

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „IULIU  
HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA**

**TEZĂ DE DOCTORAT  
REZUMAT**

**CONTRIBUȚII LA STUDIUL COMPARATIV AL  
EFICIENȚEI INHIBITORILOR ENZIMEI DE CONVERSIE  
A ANGIOTENSINEI ȘI AL ANTAGONIȘTILOR  
RECEPTORILOR PENTRU ANGIOTENSINA II**

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC  
PROF. UNIV. DR. LIVIU I. SAFTA**

**DOCTORAND  
GABRIELA CIOCA**

**2010**

## CUPRINS

A.	CUPRINS.....	2
B.	LISTA ABREVIERILOR UTILIZATE ÎN TEXT.....	4
C.	INTRODUCERE.....	5
D.	STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	7
I.	<i>Sistemul renină - angiotensină - aldosteron (SRAA).....</i>	8
	I.1. Descrierea SRAA.....	8
	I.2. Clasificarea și rolul receptorilor pentru angiotensina II .....	11
II.	<i>Hipertensiunea arterială esențială</i>	
	II.1. Definiție și clasificare.....	16
	II.2. Epidemiologia hipertensiuni arteriale.....	19
	II.3. Patogenia hipertensiuni arteriale esențiale.....	21
	II.4. Rolul angiotensinei II în modificările cardiovasculare produse de HTA.....	24
	II.5. Tratamentul hipertensiuni arteriale.....	31
	II.5.1. Inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei II.....	33
	II.5.2. Antagoniștii receptorilor AT1 pentru angiotensina II.....	36
E.	CERCETĂRI PERSONALE	
I.	<i>Studiu comparativ al eficienței inhibitorilor enzimei de conversie a angiotensinei și antagoniștilor receptorilor pentru angiotensina II în ameliorarea disfuncției endoteliale la subiecți cu hipertensiune arterială esențială</i>	
	I.1. Motivația cercetării.....	39
	I.2. Scopul cercetării.....	42
	I.3. Ipoteza de lucru.....	43
	I.4. Material și metodă.....	43
	I.5. Rezultate.....	55
	I.6. Interpretarea rezultatelor.....	74
	I.7. Concluzii.....	92
II.	<i>Studiu comparativ al eficienței inhibitorilor enzimei de conversie a angiotensinei și antagoniștilor receptorilor pentru angiotensina II în reducerea concentrației plasmatică a proteinei-C reactive și a interleukinei 6 la pacienți cu hipertensiune arterială</i>	
	II.1. Motivația cercetării.....	94
	II.2. Scopul cercetării.....	99
	II.3. Ipoteza de lucru.....	99
	II.4. Material și metodă.....	100
	II.5. Rezultate.....	107
	II.6. Interpretarea rezultatelor.....	129
	II.7. Concluzii.....	148
III.	<i>Aritmii cardiace centrogene experimentale induse de angiotensina II și influența glutamatului de sodiu și a candesartanului asupra acestora. Experiențe pe șobolani</i>	
	III.1. Motivația cercetării.....	150
	III.2. Scopul cercetării.....	152
	III.4. Material și metodă.....	153
	III.5. Rezultate.....	162
	III.6. Interpretarea rezultatelor.....	175
	III.7. Concluzii.....	181
F.	CONCLUZII GENERALE.....	183
G.	ANEXE.....	186
H.	BIBLIOGRAFIE.....	213

**Cuvinte cheie:** angiotensina II, disfuncție endotelială, PCR-hs, IL-6.

## INTRODUCERE

Hipertensiunea arterială și complicațiile sale (insuficiența cardiacă, accidentul vascular cerebral, infarctul miocardic) este probabil cea mai importantă problemă de sănătate publică în țările dezvoltate. Tratamentul hipertensiunii arteriale s-a schimbat fundamental în ultima decadă și tinde să fie mai adecvat și mai științific. Descoperirea medicamentelor antihipertensive cu acțiuni la diferite nivele ale lanțurilor patogenice, posibilitatea selectării de medicamente în raport cu factorii individuali și trialurile terapeutice efectuate cu metodologie riguroasă, pe grupe mari de hipertensivi, au permis elaborarea unor programe de tratament larg acceptate.

Un important mijloc terapeutic în tratamentul hipertensiunii arteriale și a complicațiilor acesteia o reprezintă inhibarea activității sistemului renină-angiotensină-aldosteron (SRAA) cu ajutorul inhibitorilor enzimei de conversie a angiotensinei (IECA) și a antagoniștilor receptorilor pentru angiotensină (ARA).

Plecând de la constatarea că funcția endoteliului vascular este un „barometru” al sănătății aparatului cardiovascular, cercetarea noastră s-a îndreptat spre evaluarea acesteia cu scopul de ne aduce contribuția la identificarea posibilelor conexiuni între mecanismele fiziopatologice care stau la baza apariției și evoluției hipertensiunii arteriale și disfuncției endoteliale, acompaniate de un proces inflamator cronic de mică intensitate (demonstrat de creșterea concentrației plasmatică a markerilor inflamatori). De asemenea, ne propunem să cercetăm eficiența comparativă a unor antagoniști ai SRAA în ameliorarea disfuncției endoteliale și a procesului inflamator cronic, asociate HTA.

Vom efectua și un studiu experimental, pe animale, vizând modificările unor parametrii cardiovasculari induse de angiotensina II, prin mecanism nervos central, și eficiența unui antagonist al SRAA, în acest context.

În acest context cercetarea noastră s-a îndreptat către:

- Identificarea rolului endoteliului vascular în creșterea tonusului vascular și în apariția procesului inflamator cronic, la subiecții hipertensivi;
- Studiarea asocierii diverșilor factori de risc identificați cu disfuncția endotelială;
- Compararea eficienței medicamentelor inhibitoare ale enzimei de conversie a angiotensinei și a antagoniștilor receptorilor AT<sub>1</sub> în restaurarea funcției endoteliale și ameliorarea inflamației vasculare, de mică intensitate, la subiecți hipertensivi;
- Evidențierea posibilității producerii unor aritmii cardiace centrogene prin administrarea intracerebroventriculară a angiotensinei II la șobolani și influența unui antagonist al AT<sub>1</sub> asupra acestora.

## CERCETĂRI PERSONALE

### **1. Studiu comparativ al eficienței inhibitorilor enzimei de conversie a angiotensinei și antagoniștilor receptorilor pentru angiotensina II în ameliorarea disfuncției endoteliale la subiecți cu hipertensiune arterială esențială**

În studiul de față, ne-am propus ca, plecând de la datele publicate în literatură referitoare la etiopatogenia hipertensiunii arteriale esențiale, să identificăm factorii potențiali contributivi la apariția și augmentarea disfuncției endoteliale la subiecți cu hipertensiune arterială esențială. Ținta precisă a studiului a fost aceea de a stabili eficiența terapiei cu inhibitori ai enzimei de conversie a angiotensinei II (IECA) comparativ cu terapia cu antagoniști ai receptorilor AT<sub>1</sub> (ARA) în reabilitarea funcției endoteliale la subiecții luați în studiu. Cuantificarea cantitativă a disfuncției endoteliale evaluate prin vasodilatația mediată de flux (FMD) și a diverșilor factori de risc identificați, precum și analiza diverselor asocieri ale acestora, au constituit un alt obiectiv al investigației noastre.

În acest scop am realizat pe durata a 12 luni un studiu clinic comparativ, deschis, randomizat, nonintervențional pe grupuri paralele de subiecți cu hipertensiune arterială esențială gradele 1, 2 și

3. Protocolul a fost avizat de Comisia Medicamentului din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Sibiu, în cadrul căruia s-a desfășurat studiul. Toți subiecții au semnat consimțământul de participare. Subiecții au fost selecționați dintre angajații societății S. C. COMPA S. A. Sibiu în urma colaborării cu Cabinetul de Medicina Muncii din cadrul Policlinicii „Paltinu” Sibiu.

Respectând criteriile de includere și excludere ale studiului, dintr-un număr de 100 subiecți selectați inițial au fost incluși în studiu un număr de 61 de subiecți hipertensivi, cu o vechime a HTA de cel puțin un an și care au fost împărțiți aleator în două loturi: lotul 1 și lotul 2. Lotul 1 a primit tratament antihipertensiv cu candesartanum (Atacand) 8 – 16 mg/zi, iar lotul 2 a primit enalaprilum 5-20mg/zi. Aceștia li s-a efectuat la debutul studiului și la 3, 6, 9 și 12 luni anamneza, examenul clinic general și investigații paraclinice: electrocardiograma (ECG), ecografia și examenul Doppler al arterei brahiale pentru determinarea vasodilatației mediate de flux (FMD), determinări biochimice: colesterol total, trigliceride, HDL-colesterol, creatinină, glicemie, transaminaze.

În lotul 1 au fost repartizați 25 (80,64%) bărbați și 6 (19,36 %) femei, cu vârsta medie de  $50,38 \pm 5,72$  ani, iar în lotul 2 - 20 (66,67%) bărbați și 10 (33,33%) femei, cu vârsta medie de  $49,90 \pm 4,20$  ani. În lotul 1 vechimea medie a HTA este de  $5,38 \pm 3,67$  ani, iar în lotul 2 este de  $7,46 \pm 6,30$  ani. Între cele două loturi nu există diferență semnificativă statistic în ceea ce privește vechimea HTA ( $p=0,1195$ ). Indicii de masă corporală nu au variat foarte mult pe parcursul studiului, marea majoritate a subiecților din cele două loturi fiind cu pre-obeizitate și obeizitate de gradul I: în lotul 1 - 23 de subiecți (74,19%), iar în lotul 2 - 27 de subiecți (90%). În lotul 2 predomină subiecții cu  $IMC > 25$  (96,66%), comparativ cu lotul 1 (80,64%). În urma măsurării taliei, putem afirma că, la inițierea studiului, în lotul 1, 12 (din 25 – 48%) bărbați și 3 (din 6 – 50%) femei prezentau obeizitate abdominală, iar în lotul 2, 10 (din 20 – 50%) bărbați și 10 (din 10 – 100%) femei. În urma analizei valorilor tensionale am constatat că, la debutul studiului în lotul 1, 18 (58,06%) subiecți se încadrau în gradul 2 de HTA, 9 (29,03%) în gradul 3 și 4 (12,90%) subiecți au avut HTAS izolată. În lotul 2, 2 (6,66%) subiecți se încadrau în gradul 1 de HTA, 16 (53,34%) în gradul 2, 12 (40%) în gradul 3 și nici un caz de HTAS izolată. Conform criteriilor stabilite prin ghidul ATP III, am concluzionat că marea majoritate a subiecților incluși în studiu au fost diagnosticați cu dislipidemie mixtă, atât la debutul studiului cât și la sfârșitul acestuia. Evaluarea ecografică a vasodilatației mediate de flux (FMD), după metoda descrisă de Celermajer DS și colaboratorii, a arătat că, inițial, din cei 61 subiecți hipertensivi examinați, 54 (88,52 %) au avut  $FMD1 < 10\%$ , iar după un an de tratament antihipertensiv doar 14 subiecți au avut  $FMD2 < 10\%$  (22,95%). La debutul studiului, FMD mediu (FMD1), pentru cei 61 subiecți examinați, a fost de  $5,03 \pm 4,17\%$ , iar după 12 luni de tratament antihipertensiv cu medicamente inhibitoare ale activității sistemului renină-angiotensină-aldosteron, valoarea medie a parametrului urmărit (FMD2) a fost de  $13,39 \pm 8,02\%$ .

Analizând rezultatele studiului nostru am constatat că în ambele loturi predomină subiecții cu disfuncție endotelială asociată hipertensiunii arteriale esențiale, neexistând diferență semnificativă statistic ( $p>0,05$ ). Aceeași echivalență se poate observa și cu privire la valoarea FMD, medie, inițială ( $p = 0,92$ ) și finală ( $p=0,46$ ). După 12 luni de tratament antihipertensiv cu *Candesartanum*, lotul 1, și *Enalaprilum*, lotul 2, s-a înregistrat o creștere a FMD în medie cu 9,63%, respectiv cu 7,04%. Comparând rata de creștere a FMD în cele două loturi, putem susține că influența celor două grupe terapeutice (în particular, a celor două medicamente, Candesartanum și Enalaprilum) asupra disfuncției endoteliale este similară, neexistând diferență semnificativă statistic ( $p = 0,224$ ). Calculând indicii de corelație între valoarea FMD, inițială, în cele două loturi de studiu, cu valoarea tensiunii arteriale sistolice, diastolice, medii și presiunea pulsului acesta este negativ și mic (apropiat de zero), pentru TAS (lot 1  $r = -0,116$ , lot 2  $r = -0,199$ ) și TAD (lot 1  $r = -0,115$ , lot 2  $r = -0,20$ ), indicând o slabă corelație între acești parametri, și nu am găsit o corelație semnificativă statistic cu PP și TAM. În ceea ce privește corelația FMD, final, cu TAS, TAD, PP, TAM măsurate după 12 luni de tratament antihipertensiv, în cele două loturi, am constatat că aceste valori nu sunt corelate. Aceste rezultate relevă faptul că disfuncția endotelială și mărirea TAS și TAD sunt factori de risc independenți. Deși cercetările recente au scos în evidență importanța presiunii pulsului (PP)

în riscul cardiovascular al hipertensivilor, în cercetarea noastră, această mărime, nu a fost corelată cu FMD în loturile studiate. În analiza noastră am observat o corelație negativă slabă, dar semnificativă statistic, a FMD, atât inițial cât și la finele studiului, cu vechimea HTA a subiecților din cele două loturi. Această observație sugerează că nu doar hipertensiunea esențială per se dar și durata acesteia afectează funcția endotelială. În ciuda tratamentului antihipertensiv corect administrat, care a redus semnificativ valorile TAS și TAD, totuși un număr de 5 (16,12%) subiecți din lotul 1 și 9 (30%) subiecți din lotul 2, nu și-au ameliorat funcția endotelială (FMD<10). Mai mult, la acești subiecți rata de creșterea a FMD este puternic negativ corelată cu vechimea HTA (lot 1  $r=-0,95$ , lot 2  $r=-0,81$ ,  $p<0,01$ ). Aceste constatări demonstrează că la subiecții hipertensivi, creșterea duratei HTA duce la o parțială ireversibilitate a funcției endoteliale. Acest fenomen poate fi rezultatul pe de o parte a stresului oxidativ, dar pot fi implicate și alte mecanisme fiziopatologice între care își găsește locul și cel care implică angiotensina II. Valoarea FMD și implicit gradul disfuncției endoteliale sunt corelate negativ, semnificativ statistic, cu vârsta subiecților. Vârsta este un parametru care a influențat în mod negativ nu numai valoarea inițială a FMD ci și rata de creștere a acestei valori după 12 luni de tratament antihipertensiv cu inhibitori ai enzimei de conversie a angiotensinei II și antagoniști ai AT1. Analizând corelația valorilor, inițiale și finale, ale FMD cu mărimea IMC am constatat că cei doi parametri nu se relaționează, dar pe de altă parte, există o corelație, negativă, semnificativă statistic între FMD inițial și talie. Această corelație nu se mai păstrează după 12 luni de tratament antihipertensiv cu IECA și ARA.

## **2. Studiu comparativ al eficienței inhibitorilor enzimei de conversie a angiotensinei și antagoniștilor receptorilor pentru angiotensina II în reducerea concentrației plasmatice a proteinei C-reactive și a interleukinei 6 la pacienți cu hipertensiune arterială**

În studiul de față ne-am propus să cercetăm particularitățile complexului modificărilor clinico-hemodinamice și metabolice la pacienții hipertensivi și să identificăm factorii de risc asociați HTA cu scopul de a contribui la elucidarea legăturii dintre procesul inflamator de mică intensitate și hipertensiunea arterială și influența acestei legături asupra rezultatelor terapiei antihipertensive cu inhibitori ai enzimei de conversie a angiotensinei II și antagoniști ai receptorilor AT1. În acest scop am realizat pe durata a 12 luni un studiu clinic comparativ, deschis, randomizat, nonintervențional pe grupuri paralele de subiecți cu hipertensiune arterială esențială gradele 1, 2 și 3. Respectând criteriile de includere și excludere, dintr-un număr de 77 subiecți selectați inițial au fost incluși în studiu un număr de 66 de subiecți hipertensivi, cu o vechime a HTA de cel puțin un an. Analiza finală s-a făcut comparând lotul 1 format din 35 subiecți cu lotul 2 format din 29 subiecți. Durata studiului a fost de 12 luni. În lotul 1 au fost repartizați 28 (80%) bărbați și 7 (20%) femei, cu o vârstă medie de  $49,6571 \pm 7,4870$  ani, iar în lotul 2 - 22 (75,86%) bărbați și 7 (24,13%) femei, cu o vârstă medie de  $49,9655 \pm 4,2718$  ani. În lotul 1 vechimea medie a HTA este de  $4,9142 \pm 3,5177$  ani, iar în lotul 2 este de  $6,4137 \pm 4,3631$  ani. Între cele două loturi nu există diferență semnificativă statistic în ceea ce privește vechimea HTA ( $p=0,1329$ ). Cei mai mulți subiecți au avut diagnosticată hipertensiunea arterială de maxim 5 ani. Indicii de masă corporală nu au variat foarte mult pe parcursul studiului, marea majoritate a subiecților din cele două loturi fiind cu pre-obezitate și obezitate de gradul I: în lotul 1 - 28 de subiecți (80%), iar în lotul 2 - 26 de subiecți (89,65%). În lotul 2 predomină subiecții cu IMC > 25 (96,55%), comparativ cu lotul 1 (82,85%). La inițierea studiului, în lotul 1, 13 (din 28 - 46,42%) bărbați și 4 (din 7 - 57,14%) femei prezentau obezitate abdominală, iar în lotul 2, 13 (din 22 - 59,09%) bărbați și 7 (din 7 - 100%) femei. În urma analizei valorilor tensionale am constatat că, la debutul studiului în lotul 1, 23 (65,71%) subiecți se încadrau în gradul 2 de HTA, 8 (22,85%) în gradul 3 și 4 (11,42%) subiecți au avut HTA sistolică izolată. În lotul 2, 1 (3,44%) subiect se încadra în gradul 1 de HTA, 15 (51,72%) în gradul 2, 13 (44,82%) în gradul 3 și nici un caz de HTAS izolată. Marea majoritate a subiecților sunt cu dislipidemie mixtă. Deoarece am observat că există o diferență între valorile medii ale fracțiilor lipidice, calculate la debutul studiului și la terminarea acestuia, în cele două loturi, am recurs la studierea semnificației

statistice a acestei observații. În urma analizei a rezultat că, la terminarea studiului, există o scădere semnificativă statistic doar a valorii medii a HDL-colesterol, atât în lotul tratat cu candesartanum ( $p=0,001$ ) cât și în cel tratat cu enalaprilum ( $p=0,23$ ). La cei 64 subiecți hipertensivi din studiu, valoarea medie globală a PCR-hs, la inițierea studiului, a fost de  $2,6301 \pm 2,2922$  mg/dl (valoarea minimă 0,29 mg/dl, valoarea maximă 9,7 mg/dl, mediana 1,6 mg/dl), iar a IL-6 a fost de  $3,6015 \pm 1,7199$  pg/ml (valoarea minimă 0 pg/ml, valoarea maximă 9,9 pg/ml, mediana 3,3 pg/ml). Valorile obținute demonstrează existența unui proces inflamator de mică intensitate la subiecții hipertensivi analizați. În urma tratamentului cu candesartanum, a subiecților din lotul 1, s-a înregistrat o scădere medie a PCR-hs de la  $2,2905 \pm 2,3996$  mg/dl la  $1,022 \pm 0,8825$ , rata de scădere medie fiind de  $1,2685 \pm 1,7973$  mg/dl ( $p < 0,001$ ) și o scădere a valorilor medii ale IL-6 de la  $3,6485 \pm 1,7133$  pg/ml la  $1,6914 \pm 2,1025$ , rata de scădere medie fiind de  $1,9571 \pm 1,8827$  pg/ml ( $p < 0,01$ ). Tratamentul cu enalaprilum a subiecților din lotul 2, a determinat o scădere medie a PCR-hs de la  $3,04 \pm 2,1240$  mg/dl la  $1,7048 \pm 1,8707$  mg/dl (rata de scădere medie fiind de  $1,3351 \pm 2,4027$  mg/dl) ( $p=0,006$ ) și a IL-6 de la  $3,5448 \pm 1,7565$  pg/ml la  $2,1689 \pm 2,3043$  pg/ml, rata de scădere medie fiind de  $1,3758 \pm 1,9527$  ( $p=0,001$ ). Pentru a compara eficiența celor două regimuri terapeutice în scăderea concentrației plasmatice a PCR-hs, în condițiile în care distribuția acestor valori, nu este normală, am comparat medianele diferențelor, corespunzătoare celor două tratamente, cu testul sumei rangurilor al lui Wilcoxon. Deoarece  $h=0$  și  $p=0.4706$  am concluzionat că tratamentele sunt echivalente în capacitatea de a reduce nivelul plasmatic al PCR-hs. Aceleași probleme au fost analizate și în cazul IL-6, concluzia noastră fiind că cele două tratamente au eficiență similară în reducerea concentrației plasmatice a IL-6. La analiza asocierii markerilor studiați am constatat că există o corelație pozitivă, semnificativă statistic, între valorile inițiale și finale ale PCR-hs și IL6 atât pentru toți subiecții incluși în studiu, cât și pentru fiecare lot în parte. Calculele statistice efectuate au arătat că nu există corelație între valorile inițiale și finale tensionale și PCR-hs și IL6 în cele două loturi. Aceste mărimi sunt independente. În consecință putem afirma că atât candesartanul cât și enalaprilul reduc concentrația plasmatică a celor doi markeri inflamatori, independent de capacitatea lor de a reduce valorile tensionale. Această observație, derivată din rezultatele studiului nostru, se încadrează în opinia generală și anume aceste două clase de medicamente au proprietăți antiinflamatorii asociate celor antihipertensive. Calcularea indicelui de corelație și a semnificației lui statistice a relevat faptul că doar valoarea PCR-hs\_1, inițială, se corelează cu mărimea taliei ( $r=0,3265$  și  $p=0,0085$ ), ceilalți indicatori necorelându-se. După un an de tratament antihipertensiv, la reevaluarea subiecților din cele două loturi, am constatat că valoarea taliei nu s-a modificat semnificativ, valoarea PCR-hs a scăzut și cele două valori nu se mai corelează statistic. În consecință, tratamentul cu enalaprilum și candesartanum au ameliorat microinflamația, identificată la debutul studiului, într-o manieră independentă de mărimea taliei și a tensiunii arteriale. Luând în calcul vechimea hipertensiunii arteriale am constatat că aceasta influențează în mod semnificativ eficiența medicamentelor studiate în scăderea concentrației plasmatice a IL6 dar nu și a PCR-hs. În cazul IL6 analiza inițială s-a îndreptat către toți cei 64 de subiecți grupați în funcție de vechimea HTA, în grupul 1 cu o vechime  $< 5$  ani și grupul 2 cu o vechime  $\geq 5$  ani. Am comparat mediile intergrupuri pentru IL6 final și diferențele IL6. Compararea s-a realizat utilizând anova1 și multcompare. Conform analizei efectuate se constată că media IL6 finală este mai mică pentru hipertensiunea de cel mult cinci ani comparată cu media analoagă pentru hipertensiunea mai veche de 5 ani ( $p=0.0195$ ). Media diferențelor valorilor IL6 (inițial minus final) este mai mare pentru hipertensiune recentă ( $p=0.0056$ ). În concluzie putem spune că subiecții cu hipertensiune diagnosticată recent răspund mai bine la tratament, în primul rând la tratamentul cu candesartanum. Din perspectiva celor spuse mai sus putem afirma că valorile crescute ale presiunii arteriale și mai mult persistența acestora determină la nivelul vaselor modificări parțial sau complet ireversibile. Acestea au repercursiuni nu numai asupra evoluției hipertensiunii arteriale spre complicațiile sale dar și asupra eficienței terapiei antihipertensive.

### 3. Aritmii cardiace centrogene experimentale induse de angiotensina II și influența glutamatului de sodiu și a candesartanului asupra acestora. Experiențe pe șobolani.

Angiotensina II componentă a sistemului renină - angiotensină - aldosteron, este o peptidă cu rol hormonal. Are acțiuni complexe în homeostazia circulatorie și hidroelectrolitică, precum și acțiuni comportamentale și hormonale. Angiotensina acționează asupra activității cardiovasculare, în condiții normale și patologice.

În controlul homeostaziei cardiovasculare, angiotensina intervine prin mecanisme periferice și nervos centrale. Efectul reglator central se datorește existenței sistemului renină-angiotensină cerebral, activ.

Mecanismele nervos centrale prin care angiotensina participă la reglarea presiunii arteriale, în condiții normale și patologice, sunt cunoscute de mult și sunt amplu documentate în literatură. Dintre acestea sunt menționate acționarea receptorilor AT1 din SNC, interacțiunile angiotensinei II cu alte sisteme de neurotransmițători (de ex. cu cel adrenergic), precum și intervenția sa la eliberarea vasopresinei din neurohipofiză.

Spre deosebire de informațiile abundente consacrate mecanismelor nervos centrale, care intervin în producerea acțiunii hipertensive, în literatura cercetată – există doar mențiuni sporadice despre tulburările ritmului cardiac provocate de angiotensină și aldosteron dar nu se fac referiri la posibilitatea intervenției unui mecanism nervos central în declanșarea acestor aritmii.

Datorită acestei situații, ne-am propus să cercetăm efectele pe care le poate produce angiotensina II asupra frecvenței și ritmului cardiac, după administrarea unor doze progresiv crescânde, în ventriculii cerebrali laterali la șobolani anesteziati.

Pentru realizarea scopului cercetării noastre experimentale am utilizat: **animale de laborator** - experimentele s-au efectuat pe șobolani albi Wistar proveniți de la biobaza UMF Cluj-Napoca.; **substanțele utilizate:** - **agoniști: angiotensina II soluție** („Angiotensin II Humana” soluție originală 1mg/ml, produsă de firma „Calbiochem”, Germania) – agonist al receptorilor AT1-angiotensinergici; **glutamatul de sodiu substanță** (Na glutamat pulvis, produs de firma S. C. Esarom România S. R. L.) – substanță aritmogenă de referință;- **antagonist: Candesartanul** substanță (Candesartan pulvis, produs de firma Astra Zeneca, Suedia) – ca antagonist al receptorilor de tip AT1 ai angiotensinei II. Protocolul experimental a respectat, în principiu, protocolul stabilit în laboratorul de stereotaxie al Catedrei de Farmacologie a UMF Cluj-Napoca, pentru cercetările în care substanțele luate în studiu, se administrează animalelor prin microinjectări în SNC. Substanțele folosite în cercetarea noastră au fost administrate intracerebroventricular (icv) cu ajutorul unei microsiringi Hamilton, adaptată aparatului stereotaxic. Înaintea microinjectării substanțelor s-a făcut o înregistrare de control a frecvenței cardiace și a ritmului cardiac, după care s-au administrat substanțele de cercetat, urmărindu-se în continuare efectul, prin înregistrarea parametrilor investigați. Înregistrarea electrocardiografei (ECG) s-a efectuat cu ajutorul unui aparat de tip „Bioscript BST 1” din dotarea catedrei cu înscriere mecanică pe indigo. ECG s-a înregistrat în derivațiile D1-D2-D3 sau D1-D2. Cercetarea noastră s-a efectuat după un protocol adecvat obiectivelor principale, după cum urmează:

**A.** Urmărirea efectelor substanțelor luate în studiu asupra parametrilor cardiaci investigați, după administrarea lor „per se”, în doze crescânde – microinjectate icv. În felul acesta s-au stabilit, prin tatonare, pe animale diferite, dozele nearitmogene și cele aritmogene ale angiotensinei II și glutamatului de sodiu. Doza de candesartan care poate bloca, după microinjectarea în icv, aritmiile centrogene, a fost stabilită prin tatonare, după ce în prealabil s-a constatat acțiunea aritmogenă prin mecanism central a angiotensinei II.

**B.** Urmărirea efectului asocierii substanțelor luate în cercetare asupra parametrilor investigați. În acest scop substanțele au fost microinjectate succesiv icv, după următoarele scheme experimentale: **AGONIST** (doză aritmogenă) – **ANTAGONIST** – **AGONIST** (doza inițială). După administrarea angiotensinei II (100 μg) s-au înregistrat pe o durată standard, de 3 minute, efectele produse, după care s-au făcut controale repetate ale parametrilor urmăriți, până la dispariția efectelor. Pe acest fond s-a administrat icv. antagonistul, iar după 10 minute s-a reinjectat

angiotensina II în doza aritmogenă inițială, efectele produse urmărindu-se după modelul descris mai sus – la prima administrare a agonistului. Asocierea agonistilor, s-a făcut după schemele de mai jos: **AGONIST 1** (glutamat de sodiu) - **AGONIST 2** (angiotensina II).

**C.** Potrivit obiectivelor principale pe care le urmărăm, comparațiile se vor face între acțiunile angiotensinei II, în diferite doze, asupra parametrilor investigați și rezultatul obținut după asocierea unor doze mici de glutamat de sodiu și angiotensină II, care administrate separat nu produc modificări semnificative ale parametrilor respectivi.

Rezultatele obținute au fost: **Angiotensina II** microinjectată icv în doză de **25 μg și 50 μg / 10 μl** nu a determinat modificări semnificative statistic ale frecvenței și ritmului cardiac. Nu au apărut aritmii. Angiotensina II microinjectată icv în doză de **75 μg / 10 μl** produce o ușoară bradicardie, de scurtă durată, la unele animale. Nu produce aritmii. După administrarea dozei de **100μg** angiotensină II apare bradicardie, urmată de bradiaritmie. Se constată pauze sinusale, alungirea intervalului PR și/sau intervalului RR, mai rar bloc atrioventricular și extrasistole ventriculare. După microinjectarea icv a **glutamatului** într-o doză mică de 500μg apare o ușoară bradicardie sinusală. Nu s-au înregistrat tulburări ale ritmului cardiac. Administrarea icv a unei doze mari de **6000 μg / 10 μl glutamat de sodiu** a fost urmată, într-un interval de timp foarte scurt, de apariția bradicardiei sinusale și de modificări ale ritmului cardiac. **Candesartanul** microinjectat în doză de **100 μg/ 10 μl** nu a produs modificări semnificative ale parametrilor investigați. Administrarea inițială a dozei de 100 μg de angiotensină II a fost urmată de apariția unor tulburări ale parametrilor studiați, care erau asemănătoare cu cele descrise la punctul anterior și după tratamentul cu candesartan, readministrarea aceleiași doze de angiotensină II nu a mai provocat modificările descrise la prima administrare. Administrarea dozei de 500 μg glutamat de sodiu nu a provocat modificări semnificative ale parametrilor urmăriți. Administrarea, în continuare, a unei doze de 75 μg angiotensină a fost urmată de apariția aritmiilor grave și de moartea animalelor. Constatând efectul agravant al asocierii celor doi agonști în dozele menționate, s-a hotărât sistarea experiențelor. Administrarea dozei de 500 μg glutamat de sodiu nu a produs modificări esențiale ale ritmului cardiac. Administrarea, în continuare, a unei doze de 25μg angiotensină II (care în administrările „per se” era nearitmogenă) a fost urmată de apariția unor tulburări ale ritmului cardiac, în majoritatea observațiilor. Compararea acestor rezultate demonstrează efectul facilitator al glutamatului de sodiu asupra potențialului aritmogen al angiotensinei II, în condițiile experimentale menționate.

Din cercetarea noastră a reieșit posibilitatea prevenirii aritmiilor cardiace centrogene provocate de angiotensina II, în cea mai mare parte a observațiilor, prin candesartan – care este un antagonist specific al receptorilor AT<sub>1</sub>. Această constatare ar pleda în favoarea intervenției unui mecanism angiotensinergic în producerea aritmiilor cardiace centrogene, provocate de dozele mari administrate de noi.

## CONCLUZII GENERALE

Rezultatele cercetării noastre demonstrează că:

1. Hipertensiunea arterială se asociază cu disfuncție endotelială și inflamație vasculară cronică, de mică intensitate, indiferent de vechimea acesteia. De asemenea, am arătat că HTA este rezultatul asocierii unui număr variabil de factori de risc. Astfel, putem afirma că severitatea și contribuția relativă a disfuncției endoteliale la fiziopatologia hipertensiunii arteriale este dependentă de particularitățile derivate din factorii de risc și individuali, care se asociază într-un mod unic la fiecare hipertensiv în parte;
2. Gradul disfuncției endoteliale la subiecții hipertensivi investigați este corelat negativ, semnificativ statistic, cu vârsta, valoarea tensiunii arteriale sistolice și diastolice, vechimea hipertensiunii arteriale și mărimea taliei;
3. Inhibitorii enzimei de conversie ai angiotensinei (Enalaprilum) și antagoniștii receptorilor AT<sub>1</sub> pentru angiotensina II (Candesartanum) au eficiență similară, după 12 luni de tratament corect



efectuat, în reducerea valorilor tensionale, refacerea funcției endoteliale și scăderea intensității procesului inflamator cronic, într-o manieră independentă de valoarea tensiunii arteriale, indicelui de masă corporală, taliei, fracțiilor lipidice și glicemiei bazale.

**4.** Eficiența celor două grupe terapeutice investigate în ameliorarea „mal funcției endoteliale” și reducerea nivelului plasmatic al markerilor inflamatori studiați este dependentă de vârsta subiecților și vechimea hipertensiunii arteriale, deoarece odată cu înaintarea în vârstă asociată cu persistența valorilor presionale crescute în vas duce la dezvoltarea unor mecanisme fiziopatologice, în peretele vascular, parțial sau complet ireversibile;

**5.** Tratamentul de lungă durată cu candesartanum și enalaprilum determină o scădere semnificativă statistic a HDL-colesterol, observație care aduce în lumină noi teme de cercetare;

**6.** Eficiența în monoterapie a IECA și ARA în reducerea valorilor tensionale, ameliorarea funcției endoteliale și a procesului inflamator cronic, poate fi interpretată în sensul scăderii riscului cardiovascular la care sunt expuși subiecții investigați. Persistența disfuncției endoteliale, a nivelului plasmatic crescut al markerilor inflamatori plus/minus a valorilor tensionale peste pragul stabilit ca țintă terapeutică ( $TAS \leq 140$  mmHg și  $TAD \leq 90$  mmHg) reprezintă criterii de selecție a subiecților pentru tratament antihipertensiv complex și supraveghere mai atentă, datorită riscului cardiovascular crescut.

**7.** Prin experiențele efectuate pe șobolani albi Wistar, anesteziați cu uretan etilic, s-a pus în evidență, după administrarea intracerebroventriculară (icv) a unor doze progresiv crescânde de angiotensina II, potențialul acestei peptide de a declanșa aritmii cardiace prin mecanism centrogen;

**8.** Aritmiile cardiace centrogene provocate print-o doză mare de angiotensina II ( $100\mu\text{g}$  icv) au putut fi blocate prin microinjectarea icv a candesartanului, antagonist al receptorilor AT1 pentru angiotensina II;

**9.** Potențialul aritmogen al angiotensinei II a fost facilitat de glutamatul de sodiu, prin asocierea succesivă a celor doi agoniști aritmogeni în doze mici, care „per se” nu sunt aritmogene;

**10.** Cercetarea noastră atrage atenția asupra potențialului aritmogen, prin mecanism nervos central, al angiotensinei II și asupra posibilității intervenției unui releu nervos central „glutamatergic”, ce participă la acțiunea aritmogenă a angiotensinei II – efecte despre care nu se fac mențiuni în literatura consultată.

## CURRICULUM VITAE

**NUME:** CIOCA  
**PRENUME:** Gabriela  
**DATA NAȘTERII:** 12 mai 1971  
**NAȚIONALITATE:** română  
**STARE CIVILĂ:** căsătorită, doi copii  
**DOMICILIUL:** Str. Aciliu, nr. 20, Sibiu, ROMÂNIA  
**TELEFON:** 0740/116996  
**E-mail:** [gabriela.cioca@ulbsibiu.ro](mailto:gabriela.cioca@ulbsibiu.ro)

### STUDII:

2005 *Master – Management Sanitar*, Universitatea „Lucian Blaga” din Sibiu, Facultatea de Medicină;  
2002 - prezent *doctorand* în domeniul fundamental Științe medicale, domeniul Medicină, în cadrul Universității de Medicină și Farmacie “Iuliu Hațieganu” din CLUJ – NAPOCA;  
1998 Universitatea “Lucian Blaga” din Sibiu, Facultatea de Medicină, specializarea *Medicină generală*, cu diplomă de licență obținută sub egida Universității de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” din TIMIȘOARA;  
1990 Liceul Sanitar din SIBIU, profilul *Sanitar*.

### SPECIALIZĂRI:

2010 - *Londra, Eudravigilance - electronic reporting of the ICSRs in the EEA*, organizată de European Medicines Agency (EMA) în colaborare cu Drug Information Association (DIA);  
2006 - *Atestat în Managementul Serviciilor de Sănătate*, Centrul Universitar SIBIU;  
2005 - medic specialist *Farmacologie Clinică*, Centrul Universitar BUCUREȘTI;  
2001 - Specializare *Operator Microcalculator* - Centrul Teritorial de Instruire Autorizat CPI, SAS SIBIU.

### CURSURI POSTUNIVERSITARE:

2007 *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies* – organizat de Universitatea “Lucian Blaga” din Sibiu în colaborare cu Societatea Română de Informatică Medicală, Academia Română și Foundation for Health Informatics and Telematics (HIT);  
2007 *Missing data in clinical trials: a practical guide* - organizat de Universitatea “Lucian Blaga” din Sibiu în colaborare cu Societatea Română de Informatică Medicală, Academia Română și Foundation for Health Informatics and Telematics (HIT);  
2005 *Corticoterapia. Prezent și viitor* - organizat de Universitatea de Medicină și Farmacie “Iuliu Hațieganu” din CLUJ – NAPOCA, Catedra de Farmacologie și Toxicologie în colaborare cu Societatea Română de Farmacologie, Terapeutică și Toxicologie Clinică;  
2002 - Modul *Psihopedagogic* – organizat de Universitatea “Lucian Blaga” din SIBIU, Departamentul pentru Pregătirea Personalului Didactic;  
2001 - *Electrocardiografie clinică practică* – organizat de Universitatea de Medicină și Farmacie “Iuliu Hațieganu” din CLUJ - NAPOCA, Catedra de Cardiologie - Institutul Inimii;

### EXPERIENȚA PROFESIONALĂ:

2007 – prezent *șef de lucrări* titular prin concurs la disciplina *Farmacologie* din cadrul Facultății de Medicină a Universității “Lucian Blaga” din SIBIU;  
2005 – prezent angajată prin concurs în Spitalul Clinic Județean Sibiu *medic specialist farmacologie clinică*, membră în Nucleul de Farmacovigilență și secretarul Comisiei Medicamentului;  
2004 – 2005 medic rezident farmacologie clinică an IV responsabil cu activitatea de *Farmacovigilență* din cadrul Spitalului Clinic Județean Sibiu;  
2004 – 2007 *asistent universitar* titular prin concurs la disciplinele *Farmacologie, Farmacologie medicală*, în cadrul Facultății de Medicină a Universității “Lucian Blaga” din SIBIU;

2001 – 2004 *preparator universitar* titular prin concurs la disciplinele **Farmacologie, Farmacologie clinică**, în cadrul Facultății de Medicină a Universității “Lucian Blaga” din SIBIU;

2000 - 2005 *medic rezident farmacologie clinică* în Centrul Universitar BUCUREȘTI;

1998 - 1999 *medic stagiar* în Spitalul Clinic Județean SIBIU;

1990 – 1992 *asistent medical* în cadrul Departamentului Hemodializă cronică al Spitalului Clinic Județean SIBIU.

**ARTICOLE/STUDII ȘTIINȚIFICE PUBLICATE – 37 (extras):**

**A. în reviste de specialitate de circulație internațională recunoscute, cotate ISI sau indexate în baze de date internaționale**

1. Cagiano R, Flace P, Bera I, Marieș L, **Cioca G** et al. *Neurofunctional effects in rats prenatally exposed to fluoxetine*. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2008, vol 12, p: 137-148, ISSN 1128-3602, cotată **ISI Web of Science**, citată de Ben-Ari Y, în lucrarea *Neuro-archaeology: pre-symptomatic architecture and signature of neurological disorders*. Trends in Neurosciences (jurnal cotat ISI Web of Science) 2008, 31(12):626-636;
2. Macovei R, Danescu I, Ionică M, **Cioca G** et al. *Acute poisoning cases admitted in the ICUII Toxicology-Emergency Clinical Hospital Bucharest in 10 years (1998-2007)*, Toxicology Letters, 2008, vol. 180, supplement 1, p: S129-S129, ISSN 0378-4274, **ISI Web of Knowledge**;
3. Danescu I, Macovei R, Caragea G, **Cioca G** et al. *Rhabdomyolysis in a venlafaxine poisoning case*. Toxicology Letters, 2008, vol. 180, supplement 1, p: S129-S129, ISSN 0378-4274, **ISI Web of Knowledge**;
4. Caragea G, Macovei R, Ionică M, **Cioca G** et al. *Urinary strontium levels determination in human osteopenic disorders*, Toxicology Letters, 2008, vol. 180, supplement 1, p: S129-S129, ISSN 0378-4274, **ISI Web of Knowledge**;
5. Ionică M, Macovei R, Caragea G, **Cioca G** et al. *Aluminum levels determination by GF-AAS for aircraft employees*. Toxicology Letters, 2008, vol. 180, supplement 1, p: S128-S129, ISSN 0378-4274, **ISI Web of Knowledge**;
6. Bera L, Manițiu I, Chicea R, Moisil I, Crețulescu R, **Cioca G**. *New generation of EHRs – XML e-form*. International Conference and Exhibition, Desio, Milano, ITALIA, 2005;
7. Moisil I, Crețulescu R, **Cioca G**, Chicea R. *Improving health management through web services*. The 10<sup>th</sup> International symposium on Health Information Management Research, ISHIMR, Thessaloniki, GRECIA, 2005;
8. Bera L, Mihalache M, Pumnea PM, Jitianu C, Mihalache C, **Cioca G**. *The biological information system - a new challenge?* International Workshop on E-he@lth in Common Europe, Overcoming the Barriers for E-health in Enlarge Europe, Krakow, POLAND, December 17-18, 2004;
9. Moisil I, Crețulescu R, **Cioca G**. *Security Options for Hospital Information Systems*. International Joint Meeting EuroMISE 2004, EFMI Symposium on Electronic Health Record, Health Registers and Telemedicine, PRAGA, 2004, ISBN 80-903431-0-4, pag.133;
10. Bera L, Manițiu I, **Cioca G**. *The Information's Reliability in Cardiovascular System*, 3<sup>o</sup> Congreso@ITIM 2002 Associazione Italiana di Telemedicina e Informatica Medica, FIRENZE-ITALIA, 2002;

**I. în reviste din țară recunoscute C.N.C.S.I.S.**

1. **Cioca G**, Boitan M, Zaharie A, Safta L. *Comparative study on the efficiency of the angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists in reducing serum C-reactive protein levels in patients with essential arterial hypertension*. Therapeutics, Pharmacology and Clinical Toxicology, 2010, vol XIV, nr. 2, p: 108-112, ISSN 2066-0170, **CNCSIS Category B+**, code 605;
2. **Cioca G**, Safta L, Goșa D. *The Angiotensin II arrhythmogenic potential through central nervous mechanism in rats*. Therapeutics, Pharmacology and Clinical Toxicology, 2009, vol XIII, nr. 3, p: 273-276, ISSN 1583-0012, **CNCSIS Category B+**, code 605;

3. **Cioca G**, Boitan M, Manițiu I et al. *Comparative study on the efficiency of the inhibitors of the Angiotensin conversion enzyme and receptor antagonists for Angiotensin II on the endothelial dysfunction in patients with essential arterial hypertension*. Therapeutics, Pharmacology and Clinical Toxicology, 2009, vol XIII, nr. 2, p: 179-182, ISSN 1583-0012, CNCSIS Category B+, code 605;
4. **Cioca G**, Safta L. *Implications of angiotensin II in cardiovascular modifications caused by essential arterial hypertension*. Timișoara Medical Journal, vol. 56, supplement 2, TIMIȘOARA, 2006, ISSN 1583-5251, pag. 162-166;
5. **Cioca G**, Safta L. *Clinical implications of nosocomial infections caused by methicillin resistant staphylococcus aureus (MRSA) in the anaesthesia and intensive care unit of Sibiu County Hospital*. Timișoara Medical Journal, vol. 56, supplement 2, TIMIȘOARA, 2006, ISSN 1583-5251, pag. 174-178;
6. **Cioca G**, Safta L. *Actiontions of the renin-angiotensin system mediated through central nervous mechanism*. Al VI-lea Congres Național de Farmacologie, Terapeutică și Toxicologie Clinică cu participare internațională, CLUJ-NAPOCA, 2005, ISBN 973-693-120-X, pag. 93-95;
7. **Cioca G**. *Sistemul renină – angiotensină. Actualități*, Sibiul Medical, Vol. 14, Nr. 4, SIBIU, 2003, ISSN 1221-2873, pag. 449-451.

#### **PARTICIPĂRI LA CONGRESE NAȚIONALE, CONFERINȚE ȘI SIMPOZIOANE:**

- 2010 - ORADEA, 2009 - BUCUREȘTI, 2008 - SIBIU, 2007 – TÂRGU-MUREȘ, 2006 - TIMIȘOARA, 2005 – CLUJ-NAPOCA, 2004 - CRAIOVA - *Congreșele Naționale de Farmacologie, Terapeutică și Toxicologie Clinică (cu participare internațională)* organizate de Universitățile de Medicină și Farmacie din orașele mai sus menționate în colaborare cu Societatea Română de Farmacologie, Terapeutică și Toxicologie Clinică și sub egida Secției de Științe Medicale a Academiei Române;
- 2007 SIBIU – *A 29 - a Conferință Internațională a Societății Române de Informatică Medicală* organizată de Universitatea “Lucian Blaga” din Sibiu în colaborare cu Academia Română și Foundation for Health Informatics and Telematics (HIT);
- 2005 SIBIU – *A XX-a Conferință Națională a Societății Române de Științe Fiziologice* organizată de Universitatea „Lucian Blaga” din Sibiu, Facultatea de Medicină, cu tema „*Actualități ale cercetării experimentale și clinice în Fiziologie*”;
- 2004 IAȘI – *A III-a Conferință Națională de Chimioterapie antibacteriană, antifungică și antivirală*, organizată de Academia de Științe Medicale și Societatea Română de Studiu al Chimioterapicelor;
- 2005 SIBIU – *Simpozionul „Terapia antiinflamatorie și antitermică în pediatrie”* organizat de Colegiul Medicilor din Sibiu, Departamentul Profesional Științific;
- 2004 SIBIU – *The 10<sup>th</sup> Romanian American Pediatric Medical Symposium* organizat de Universitatea „Lucian Blaga” din Sibiu, Facultatea de Medicină și Universitatea Louisville, Kentucky, SUA;
- 2004 SIBIU – *Simpozionul „Cefalosporinele de generația a doua – tratament de primă intenție”* organizat de Universitatea „Lucian Blaga” din Sibiu, Facultatea de Medicină și Spitalul Clinic de Pediatrie Sibiu;
- 2004 SIBIU – *Simpozionul „Statine și inhibitori moderni ai ECA în managementul riscului cardiovascular crescut”* organizat de Colegiul Medicilor din Sibiu, Departamentul Profesional Științific.

#### **ACTIVITATEA DE CERCETARE-DEZVOLTARE-INOVAR:**

- 2007 – *Studiul relației disfuncție endotelială – boală cardiovasculară prin metode imunologice și ecografice (cardiace și vasculare). Implicațiile terapeutice ale acestei corelații* – contract de cercetare nr: 217/01.02.2007, membru în echipa de cercetare;
- 2007 – *Centru de cercetare de laborator, clinică și paraclinică, în medicina respiratorie la copil* – program IMPACT/Proiect dezvoltare infrastructură admis de ANCS sub acronimul

CCMRP, nr. 1088/2007, responsabil compartiment farmacologie, membru în echipa de cercetare;

2007-2008 – *Comparison between zofenopril and ramipril in combination with ASA on the extent of cardiovascular risk in patients with systolic left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction (Smile IV trial) MEN/03/ZOF-CHF/001* – studiu clinic multicentric și multinațional, investigator clinic;

2007-2008 – *A comparison of Certoparin and Unfractionated Heparin in the prevention of Thromboembolic Events in acutely III medical patients NCT00451412* - studiu clinic multicentric și multinațional, investigator clinic;

2005 – *Neurofunctional effects of developmental sodium fluoride exposure in rats* – proiect internațional de cercetare experimentală realizat cu Universitatea din Bari, Italia, Departamentul de farmacologie și fiziologie umană și societatea farmaceutică Novartis, în valoare de 10.000 euro, responsabil proiect din partea Universității „Lucian Blaga” din Sibiu.

**MEMBRU ÎN COMITETUL ȘTIINȚIFIC:**

2010 - ORADEA, 2009 - BUCUREȘTI, 2008 - SIBIU, al *Congreselor Naționale de Farmacologie, Terapeutică și Toxicologie Clinică (cu participare internațională)* organizate de Universitățile de Medicină și Farmacie din orașele mai sus menționate în colaborare cu Societatea Română de Farmacologie, Terapeutică și Toxicologie Clinică, sub egida Secției de Științe Medicale a Academiei Române.

**MEMBRU ÎN CADRUL UNOR SOCIETĂȚI:**

- Colegiului Medicilor din România;
- Societatea Română de Farmacologie, Terapeutică și Toxicologie Clinică;
- European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT);
- Societatea Română de Informatică Medicală, afiliată EFMI și IMA;
- International Society for Clinical Biostatistics (ISCB).

**LIMBI STRĂINE:** engleză (scris, citit, vorbit).

**Sibiu, 30.11.2010**

**Dr. Gabriela CIOCA**

**UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY  
“IULIU HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA**

**DOCTORAL THESIS  
SUMMARY**

**CONTRIBUTIONS TO THE COMPARATIVE STUDY OF  
THE EFFECTIVENESS OF ANGIOTENSIN-CONVERTING  
ENZYME INHIBITORS AND OF THE ANGIOTENSIN II  
RECEPTOR ANTAGONISTS**

**THESIS ADVISOR  
PROF. LIVIU I. SAFTA, Ph.D**

**CANDIDATE  
GABRIELA CIOCA**

**2010**

## CONTENTS

<b>A. CONTENTS.....</b>	<b>2</b>
<b>B. ABBREVIATIONS.....</b>	<b>4</b>
<b>C. INTRODUCTION.....</b>	<b>5</b>
<b>D. CURRENT RESEARCH.....</b>	<b>7</b>
<b>I.     <i>The Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS)</i> .....</b>	<b>8</b>
I.1. RAAS – An Overview.....	8
I.2. The Classification and Role of Angiotensin II Receptors.....	11
<b>II.    <i>Essential Arterial Hypertension</i> .....</b>	<b>16</b>
II.1. Definition and Classification .....	16
II.2. The Epidemiology of Arterial Hypertension.....	19
II.3. The Pathogenesis of the Essential Arterial Hypertension.....	21
II.4. The Role of Angiotensin II in the Cardiovascular Modifications Caused by AHT.....	24
II.5. Arterial Hypertension Treatment .....	31
II.5.1. Angiotensin II-Converting Enzyme Inhibitors.....	33
II.5.2. Angiotensin II AT1 Receptor Antagonists.....	36
<b>E. OWN RESEARCH</b>	
<b>I.     <i>A Comparative Study on the effectiveness of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors         and Angiotensin II Receptor Antagonists in the Mitigation of Endothelial Dysfunction in         Subjects with Essential Arterial Hypertension</i></b>	
I.1. Research Rationale.....	39
I.2. Research Purpose .....	42
I.3. Work Hypothesis.....	43
I.4. Material and Method.....	43
I.5. Results.....	55
I.6. Results Interpretation.....	74
I.7. Conclusions.....	92
<b>II.    <i>A Comparative Study on the effectiveness of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors         and Angiotensin II Receptor Antagonists in the Reduction of the Plasma Concentration of         the C Reactive Protein and of Interleukin 6 in Patients with Arterial Hypertension</i></b>	
II.1. Research Rationale.....	94
II.2. Research Purpose.....	99
II.3. Work Hypothesis.....	99
II.4. Material and Method.....	100
II.5. Results.....	107
II.6. Results Interpretation.....	129
II.7. Conclusion.....	148
<b>III.   <i>Experimental Centrogenic Cardiac Arrhythmias Caused by Angiotensin II and the         Influence of Sodium Glutamate and Candesartanum on Them. Experiments on Rats</i></b>	
III.1. Research Rationale.....	150
III.2. Research Purpose.....	152
III.4. Material and Method.....	153
III.5. Results.....	162
III.6. Results Interpretation.....	175
III.7. Conclusions.....	181
<b>F. GENERAL CONCLUSIONS.....</b>	<b>183</b>
<b>G. APPENDIXES.....</b>	<b>186</b>
<b>H. BIBLIOGRAPHY.....</b>	<b>213</b>

**Key words:** angiotensin II, endothelial dysfunction, hsCRP, IL-6.

## INTRODUCTION

Arterial hypertension and its complications (cardiac insufficiency, cerebrovascular accident, myocardial infarction) are probably the most significant health risks in developed countries. The treatment of arterial hypertension changed fundamentally during the last decade and tends to become more adequate and scientific. The discovery of anti-hypertensive medication acting on several levels of the pathogenic chains, the possibility to select medicine according to individual factors and rigorous therapeutic trials performed on large groups of hypertensive patients have facilitated the development of widely accepted treatment programs.

An important therapeutic means for the treatment of arterial hypertension and its complications is the inhibition of the activity of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) by means of the angiotensin II-converting enzyme inhibitors (ACEIs) and the angiotensin receptor antagonists (ARAs).

Starting from the fact that the function of the vascular endothelium is a “barometer” of the health of the cardiovascular tract, our research focused on its evaluation in order to contribute to identifying the possible links between the physio-pathological mechanisms which cause and facilitate the evolution of arterial hypertension and endothelial dysfunction, accompanied by a low-grade chronic inflammatory process (demonstrated by the increase in plasma concentration of inflammatory markers). Moreover, we intend to analyze the comparative effectiveness of certain RAAS antagonists in mitigating the endothelial dysfunction and the chronic inflammatory process, associated with AHT.

We shall also conduct an experimental study, on animals, aimed at analyzing the changes of certain cardiovascular parameters induced by angiotensin II, through a central nervous mechanism, and the effectiveness of a RAAS antagonists in this context.

Within such context, our research focused on

- identifying the role of the vascular endothelium in increasing the vascular tonus and in the development of the chronic inflammatory process in hypertensive subjects;
- the study of the association of risk factors identified with endothelial dysfunction;
- comparing the effectiveness of drugs inhibiting the angiotensin conversion enzyme and AT1 receptors antagonists in restoring the endothelial function and mitigating the low-grade vascular inflammation in hypertensive subjects;
- highlighting the possibility to produce centrogenic cardiac arrhythmias through intracerebroventricular administration of angiotensin II to rats and the influence of an AT1 antagonist on them.

## OWN RESEARCH

### **1. A Comparative Study on the effectiveness of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II Receptor Antagonists in the Mitigation of Endothelial Dysfunction in Subjects with Essential Arterial Hypertension**

Starting from the information published in the literature on the ethiopathogenesis of essential arterial hypertension, we are aiming at identifying the factors contributing to the appearance and augmentation of the endothelial dysfunction in subjects with essential arterial hypertension. The main aim of this study was to determine the effectiveness of the AT1 receptor antagonists (ARA) in the rehabilitation of the endothelial function in subjects participating in the trial. The other objective of our investigation was the quantitative quantification of the assessed endothelial dysfunction through flow-mediated vasodilation (FMV), and the analysis of their different associations.

Thus, we conducted a 12-month comparative, open, randomized, non-interventional clinical trial on parallel groups of subjects with essential arterial hypertension, grade 1, 2, and 3. The



protocol had been approved by the Medicines Board in the Sibiu County Emergency Clinical Hospital in which the trial was performed. All subjects had signed the clinical trial agreement form. The subjects were selected from the employees of SC COMPA SA Sibiu, as a result of the collaboration with the Occupational Medicine Office of the "Paltinu" Polyclinic.

Observing the inclusion and exclusion criteria, of a number of 100 subjects initially selected we accepted 61 hypertensive subjects suffering from AHT for at least one year and who were randomly divided into two groups: group 1 and group 2. Group 1 received an anti-hypertensive treatment with candesartanum (Atacand) 8-16mg/day, and group 2 received enalaprilum 5-20mg/day. The anamnesis, the general clinical examination and para-clinical investigations were performed at the beginning of the study and at 3, 6, 9 and 12 months since the beginning of the study: electrocardiogram (ECG), echography and the Doppler test of the brachial artery to determine the flow-mediated vasodilation (FMV), bio-chemical tests: total cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol, creatinine, glycemia, transaminase.

Group 1 consisted of 25 (80.64%) men and 6 (19.36 %) women, average age  $50.38 \pm 5.72$  years, and group 2 of 20 (66.67%) men and 10 (33.33%) women, average age  $49.90 \pm 4.20$  years. In group 2, the subjects had been suffering from AHT for  $5.38 \pm 3.67$  years, and in group 2 for  $7.46 \pm 6.30$  years, on average. The difference between the age of the disease in the two groups was not statistically significant ( $p=0.1195$ ). The corporal mass index did not change significantly during the trial, the great majority of the subjects in the two groups being pre-obese or suffering from obesity grade I: in group 1 – 23 subjects (74.19%), and in group 2 – 27 subjects (90%). In group 2, subjects with BMI > 25 (96.66%) were predominant in comparison with group 1 (80.64%). At the beginning of the study, in group 1, 12 (out of 25, i.e. 48%) men and 3 (out of 6, i.e. 50%) women had abdominal obesity, and in group 2, 10 (out of 20, i.e. 50%) men and 10 (out of 10, i.e. 100%) women. As a result of the analysis of tension values we observed that, at the beginning of the study, in group 1, 18 (58.06%) subjects suffered from grade 2 AHT, 9 (29.03%) from grade 3 AHT and 4 (12.90%) subjects had isolated systolic AHT. In group 2, 2 (6.66%) subjects had grade 1 AHT, 16 (53.34%) grade 2 AHT, 12 (40%) grade 3 and none of them had isolated systolic AHT. In line with the criteria set in the ATP III guide, we concluded that the great majority of the subjects included in the study had been diagnosed with mixed dyslipidemia, both at the beginning and at the end of the study. The ecographic evaluation of the flow-mediated vasodilation (FMV), according to the method described by Celermajer DS et al, showed that, initially, out of the 61 hypertensive subjects, 54 (88.52%) had  $FMV_1 < 10\%$ , and after one year of hypertensive treatment only 14 subject had  $FMV_2 < 10\%$  (22.95%). At the beginning of the study, the average FMV ( $FMV_1$ ) for the 61 subjects was  $5.03 \pm 4.17\%$ , and after 12 months of treatment with RAAS inhibiting drugs, the average value of  $FMV_2$  was  $13.39 \pm 8.02\%$ .

Considering the results of our study, we found that in both groups the subjects with endothelial dysfunction associated with essential arterial hypertension were predominant, but there were no statistically significant differences. The same equivalence was present in the case of the FMV value, average, initial, ( $p=0.92$ ) and final ( $p=0.46$ ). After 12 months of anti-hypertensive treatment with *Candesartanum*, group 1, and *Enalaprilum*, group 2, there was an average increase in FMV of 9.63% and 7.04% respectively. Comparing the FMV increase rate in the two groups, we may argue that the influence of the two therapeutic groups (in particular that of the two drugs, Candesartanum and Enalaprilum) on the endothelial dysfunction was similar, without any statistically significant differences ( $p=0.224$ ). Calculating the index of correlation between the initial FMV value in the two groups with the value of the average systolic, diastolic arterial tension and the pulse pressure, it is negative and low (close to zero), for SAT (group 1  $r = -0.116$ , group 2  $r = -0.199$ ) and DAT (group 1  $r = -0.115$ , group 2  $r = -0.20$ ), indicating a poor correlation between these parameters and we did not find a statistically significant correlation with PP (pulse pressure) and MAT (mean arterial tension). With reference to the final FMV correlation with SAT, DAT, PP, MAT measured after 12 months of hypertensive treatment, in the two groups, we concluded that these values are not correlated. These results reveal the fact that the endothelial dysfunction and the values of SAT and DAT are independent risk factors. Although recent research have highlighted the

importance of pulse pressure (PP) in the cardiovascular risk of hypertensive patients, in our research, this value had not been correlated with FMV in the two groups. We also noticed a low negative correlation, but statistically significant, of the FMV, both initially and at the end of the study, with the age of the AHT of the subjects in the two groups. This suggests that not only essential hypertension per se but also its duration affects the endothelial function. In spite of the correctly administered anti-hypertensive treatment, which significantly reduced SAT and DAT values, 5 subjects (16.12%) in group 1 and 9 subjects (30%) in group 2 did not ameliorate their endothelial function (FMV<10). Moreover, in these subjects, the FMV increase rate is negatively correlated with the age of the AHT (group 1  $r=-0.95$ , group 2  $r=-0.81$ ,  $p<0.01$ ). These findings demonstrate that, in hypertensive subjects, the increase in the AHT duration leads to partial irreversibility of the endothelial function. This phenomenon may be the result, on the one hand, of oxidative stress, but, on the other hand, other physio-pathological mechanisms may be involved among which the one which involves angiotensin II. The value of the FMV and implicitly the grade of the endothelial dysfunction are negatively correlated, statistically significant, with the subjects' age. Age is a parameter which negatively influenced not only the essential FMV value but also the increase rate of this value after 12 months of anti-hypertensive treatment with angiotensin II-converting enzyme inhibitors and AT1 antagonists. After analyzing the correlation of the initial and final values of the FMV with the BMI value we concluded that the two parameters were not related, but, on the other hand, there was a negative, statistically significant, correlation between initial FMV and waist. This correlation was lost after 12 months of anti-hypertensive treatment with ACEI and ARA.

## **2. A Comparative Study on the effectiveness of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II Receptor Antagonists in the Reduction of the Plasma Concentration of the C Reactive Protein and of Interleukin 6 in Patients with Arterial Hypertension**

The present study deals with the particularities of the complex of clinical-hemodynamic and metabolic changes in hypertensive patients and aims at identifying the risk factors associated with the AHT in order to contribute to the elucidation of the connection between the low-grade inflammatory process and arterial hypertension and the influence of this connection on the results of the anti-hypertensive therapy with angiotensin II-converting enzyme inhibitors and AT1 receptor antagonists.

Thus, we conducted a 12-month comparative, open, randomized, non-interventional clinical trial on parallel groups of subjects with essential arterial hypertension, grade 1, 2, and 3. Observing the inclusion and exclusion criteria, of a number of 77 subjects initially selected we accepted 66 hypertensive subjects suffering from AHT for at least one year. The final analysis was performed by comparing group 1 consisting of 35 subjects and group 2 consisting of 29 subjects. The duration of the study was 12 months. Group 1 consisted of 28 (80%) men and 7 (20%) women, average age  $49.6571 \pm 7.4870$  years, and in group 2 - 22 (75.86%) men and 7 (24.13%) women, average age  $49.9655 \pm 4.2718$  years. In group 1, the average of the AHT was  $4.9142 \pm 3.5177$  years, and in group 2,  $6.4137 \pm 4.3631$  years. There were no statistically significant differences regarding the age of the AHT ( $p=0.1329$ ). Most subjects had been diagnosed with arterial hypertension maximum 5 years before. The body mass indexes did not vary considerably during the trial, the great majority of the subjects in the two groups being pre-obese or suffering from grade I obesity: in group 1 - 28 subjects (80%), and in group 2 - 26 subjects (89.65%). In group 2, predominant are subjects with BMI > 25 (96.55%), in comparison with group 1 (82.85%). At the beginning of the study, in group 1, 13 (out of 28 - 46.42%) men and 4 (out of 7 - 57.14%) women had abdominal obesity and in group 2, 13 (out of 22 - 59.09%) men and 7 (out of 7 - 100%) women. As a result of the tension values we found that, at the beginning of the study, in group 1, 23 (65.71%) subjects had grade 2 AHT, 8 (22.85%) grade 3 AHT and 4 (11.42%) subjects had isolated systolic AHT. In group 2, 1 (3.44%) subject had grade I AHT, 15 (51.72%) had grade 2 AHT, 13 (44.82%) had grade 3 AHT

and there was no case of isolated systolic AHT. Most subjects had mixed dyslipidemia. Because of the fact that we noticed a difference between the mean values of the lipid fractions, calculated at the beginning of the study and at the end of the study, in the two groups, we performed an analysis on the statistical significance of this result. The conclusion of that analysis was that, at the end of the study, there was a statistically significant decrease in the HDL-cholesterol mean value both in the group treated with candesartanum ( $p=0.001$ ) and in the treated with enalaprilum ( $p=0.23$ ). In the 64 hypertensive subjects in the study, the global mean value of the hsCRP was, at the beginning of the study,  $2.6301 \pm 2.2922$  mg/dl (minimum value 0.29 mg/dl, maximum value 9.7 mg/dl, mean value 1.6 mg/dl), and that of IL-6 was  $3.6015 \pm 1.7199$  pg/ml (minimum value 0 pg/ml, maximum value 9.9 pg/ml, mean value 3.3 pg/ml). The values obtained prove the existence of a low-grade inflammatory process in the subjects. As a result of the candesartanum treatment of the subjects in group 1, there was a mean decrease in the hsCRP value from  $2.2905 \pm 2.3996$  mg/dl to  $1.022 \pm 0.8825$ , the average decrease rate being  $1.2685 \pm 1.7973$  mg/dl ( $p < 0.001$ ) and a decrease of the mean values of IL-6 from  $3.6485 \pm 1.7133$  pg/ml to  $1.6914 \pm 2.1025$ , the average decrease rate being  $1.9571 \pm 1.8827$  pg/ml ( $p < 0.01$ ). The treatment with enalaprilum of the subjects in group 2 caused an average decrease of the hsCRP value from  $3.04 \pm 2.1240$  mg/dl to  $1.7048 \pm 1.8707$  mg/dl (the average decrease rate being  $1.3351 \pm 2.4027$  mg/dl) ( $p=0.006$ ) and of IL-6 from  $3.5448 \pm 1.7565$  pg/ml to  $2.1689 \pm 2.3043$  pg/ml, the average decrease rate being  $1.3758 \pm 1.9527$  ( $p=0.001$ ). In order to compare the effectiveness of the two therapeutic regimes in the decrease of the plasma concentration of hsCRP, given the fact that the distribution of such values is not normal, we compared the mean values of the differences corresponding to the two treatments to the Wilcoxon rank-sum test. Because  $h=0$  and  $p=0.4706$  we concluded that the treatments are equivalent in terms of their capacity of reducing the plasma level of the hsCRP. Similar problems were analyzed in the case of the IL-6, our conclusion being that the two treatments are equally effective in reducing the plasma concentration of IL-6. In the analysis of the association of studies markers we found that there was a positive correlation, statistically significant, between the initial and final values of hsCRP and IL-6 both for all subjects and for each group. The statistic calculations performed showed that there was no correlation between the initial and final tension values and hsCRP and IL-6 in the two groups. The two values are independent. Therefore, we may state that both candesartanum and enalaprilum reduce the plasma concentration of the two inflammatory markers, independently from their capacity of reducing tension values. This conclusion derived from the results of our study is in line with the general opinion that the two classes of drugs have anti-inflammatory properties associated with their anti-hypertensive characteristics. The calculation of the correlation index and its statistic significance revealed the fact that only the initial hsCRP\_1 value was correlated to waist size ( $r=0.3265$  and  $p=0.0085$ ), while all the other indicators remained uncorrelated. After one year of anti-hypertensive treatment, when the subjects in the two groups were evaluated, we found that the waist size did not change significantly, that the value of the hsCRP had decreased and the two values were not statistically correlated anymore. Therefore, the treatment with enalaprilum and candesartanum ameliorated the micro-inflammation identified at the beginning of the study independently from the waist size and arterial tension. Considering the age of the arterial hypertension we found that it influenced significantly the effectiveness of the drugs in reducing the plasma concentration of IL-6 but not of hsCRP. In the case of IL-6 the initial analysis was focused on all 64 subjects grouped according to the age of their AHT, in group 1 an AHT age  $< 5$  years and in group 2 an AHT age  $\geq 5$  years. We compared the inter-group means for final IL-6 and IL-6 differences. The comparison was made by means of ANOVA and multcompare. According to the analysis performed, we concluded that the final IL-6 mean was lower for hypertension of maximum 5 years compared to the analog average for hypertension older than 5 years ( $p=0.0195$ ). The average of the IL-6 differences (initial minus final) was higher for recent hypertension ( $p=0.0056$ ). In conclusion, we might say that subjects with recently diagnosed hypertension react better to the treatment, especially to candesartanum. Given the above, we may argue that the high values of arterial pressure and their persistence induce partially or completely irreversible blood-vessel changes. These have consequences not only on the evolution of arterial

hypertension towards its complications but also on the effectiveness of the anti-hypertensive therapy.

### 3. Experimental Centrogenic Cardiac Arrhythmias Caused by Angiotensin II and the Influence of Sodium Glutamate and Candesartanum on Them. Experiments on Rats

Angiotensin II component of the renin-angiotensin-aldosterone system is a peptide with a hormonal role. It has complex action in circulatory and hydro-electrolytic homeostasis and behavioral and hormonal actions. Angiotensin acts on cardiovascular activity under normal and pathological circumstances. In the control of the cardiovascular homeostasis, angiotensin intervenes through peripheral and central nervous mechanisms. The central adjusting effect is due to the existence of the cerebral, active renin-angiotensin-aldosterone system.

The central nervous mechanisms through which angiotensin participates in the adjustment of the arterial pressure, under normal and pathological circumstances, have been long known and researched in the literature. The literature mentions the action of the AT1 receptors in the CNS, the interaction of angiotensin II with other neurotransmitter systems (e.g. the adrenergic system) as well as its intervention in the release of vasopressin from the neurohypophysis.

The literature contains only sporadic information related to the disorders of the cardiac rhythm caused by angiotensin and aldosterone but there are no references to the possibility that a central nervous mechanism might intervene in starting such arrhythmias.

That is the reason why we decided to analyze the effects of angiotensin II on the cardiac frequency and rhythm, after administering gradually increased doses in the lateral cerebral ventricles of anesthetized rats.

In order to achieve the objectives of the research we used: *laboratory animals* – the experiments were conducted on Wistar white rats from UMF Cluj-Napoca; *substances*: - *agonists*: **angiotensin II solution** (“Angiotensin II Humana” original solution 1mg/ml, manufactured by “Calbiochem”, Germany) – agonist of AT1 angiotensinergic receptors; *sodium glutamate substance* (Na glutamat pulvis, manufactured by “Esarom”, Romania) – reference arrhythmogenic substance;- *antagonist*: **Candesartanum** substance (Candesartan pulvis, manufactured by Astra Zeneca, Suedia) – as AT1 receptor antagonist and angiotensin II antagonist. The experimental protocol observed the protocol set in the stereotaxis laboratory of the Pharmacology Department of UMF Cluj-Napoca for the research in which the substances were administered to the animals through micro-injection into the CNS. The substances were administered intracerebroventricularly (icv) by means of a Hamilton microsyringe adapted to the stereotactic device. Before microinjection, we analyzed the cardiac frequency and rhythm and the monitored them to record the effects of the injected substances. The electrocardiogram (ECG) was recorded by means of a “Bioscript BST 1” device. ECG was recorded in derivations D1-D2-D3 or D1-D2. Our research was performed in line with a protocol adequate to the main objectives, as shown below:

**A.** Monitoring the substances on the investigating cardiac parameters, after their per se administration, in gradually increased doses – microinjected icv. Thus, we ascertained the non-arrhythmogenic and arrhythmogenic doses of angiotensin II and sodium glutamate. The candesartanum dose that can block, after microinjection in icv centrogenic arrhythmias was determined after having determined the arrhythmogenic action of the angiotensin II through central mechanism.

**B.** Monitoring the effect of substance association on investigated parameters. The substances were successively microinjected in icv, according to the following experimental schemes: **AGONIST** (arrhythmogenic dose) – **ANTAGONIST** – **AGONIST** (initial dose). After administering angiotensin II (100 µg) the effects were recorded for a standard period of 3 minutes and then repeated controls were performed on the investigated parameters until the effects disappeared. The antagonist was administered icv within this context. And, after 10 minutes angiotensin II was re-injected in the initial arrhythmogenic dose, the effects being monitored in line with the scheme above – at the first administration of the agonist. The association of the agonists

was made in line with the schemes below: **AGONIST 1** (sodium glutamate) - **AGONIST 2** (angiotensin II).

**C.** According to the main objectives of our research, the comparisons shall be made between the actions of angiotensin II in different doses on the investigated parameters and the result obtained after the association of small doses of sodium glutamate and angiotensin II, which administered separately do not cause significant changes in those parameters.

The results were: **Angiotensin II** microinjected icv in a dose of **25 µg and 50 µg / 10 µl** did not cause statistically significant modifications of the cardiac frequency and rhythm. There were no arrhythmias. Angiotensin II microinjected icv in a dose of **75 µg / 10 µl** produces a short-term bradycardia, in certain animals. It does not cause arrhythmias. After administering **100µg** of angiotensin II bradycardia appeared, followed by bradyarrhythmia. There were also sinus pauses, a prolongation of the PR and/or RR interval, rarely an atrioventricular block and ventricular extrasystoles. After microinjecting icv the **glutamate** in a small dose of 500µg there was an insignificant sinus bradycardia. There were no changes in the cardiac rhythm. The icv administration of a large dose of 6000 µg / 10 µl sodium glutamate was followed, in a short period of time, by sinus bradycardia and changes in the cardiac rhythm. Candesartanum microinjected in doses of 100 µg/ 10 µl did not cause significant changes in the investigated parameters. The initial administration of 100 µg of angiotensin II was followed by changes in the parameters, similar to those described above after the candesartanum treatment; the re-administration of the same dose of angiotensin II did not cause the changes recorded after the first dose. 500 µg of sodium glutamate did not cause significant changes in the parameters. The administration of 75 µg angiotensin was followed by serious arrhythmias and death. Considering the effects caused by the association of the two agonists in the doses mentioned above, we decided to stop the experiment. The administration of 500 µg sodium glutamate did not cause essential changes in the cardiac rhythm. The administration of 25µg of angiotensin II (which in per se administrations was not arrhythmogenic) was followed by changes in the cardiac rhythm in most results. The comparison of those results demonstrated the facilitating effect of sodium glutamate on the arrhythmogenic potential of angiotensin II, under the experimental circumstances mentioned above.

Our research proved the possibility to prevent centrogenic cardiac arrhythmias caused by angiotensin II, in the majority of the results, through candesartanum – an antagonist specific to AT1 receptors. This finding would plead for the intervention of an angiotensinergic mechanism in the development of centrogenic cardiac arrhythmias, caused by high the doses we administered.

## GENERAL CONCLUSIONS

The results of our research demonstrate that:

- 1.** Arterial hypertension is associated with endothelial dysfunction and low-grade chronic vascular inflammation, irrespective of its age. Moreover, we showed that AHT is the result of a joint action of a variable number of risk factors. Thus, we could argue that the seriousness and relative contribution of endothelial dysfunction to the arterial hypertension physio-pathology is dependent on the characteristics derived from the individual risk factors, which associated in a unique manner in each and every hypertensive patient;
- 2.** The grade of the endothelial dysfunction in the hypertensive subjects considered is negatively correlated, statistically significant, with age, the value of the systolic and diastolic arterial hypertension, the age of the arterial hypertension and waist size;
- 3.** The angiotensin converting enzyme inhibitors (Enalaprilum) and the AT1 receptor antagonists for angiotensin II (Candesartanum) have similar effectiveness after 12 months of correctly conducted treatment in reducing the tension values, in restoring the endothelial function and in reducing the intensity of the chronic inflammatory process, independently from the value of the arterial hypertension, the body mass index, waist, lipid fractions and basal glycemia.

4. The effectiveness of the two therapeutic groups in ameliorating the “endothelial mal-function” and reducing the plasma level of the inflammatory markers is dependent on the age of the subjects and of their arterial hypertension, because because of the aging and in conjunction with high blood pressure values certain physio-pathological mechanisms develop in the vascular walls which are partially or completely irreversible;
5. The long-term treatment with candesartanum and enalaprilum causes a statistically significant decrease in HDL-cholesterol, fact which opens new research possibilities;
6. The effectiveness in mono-therapy of ACEI and ARA in reducing tension values, ameliorating the endothelial function of the chronic inflammatory process may be interpreted as a reduction of the cardiovascular risk to which the subjects are exposed. The persistence of the endothelial dysfunction, of the high plasma level of the inflammatory markers plus/minus of the tension values above the threshold set as therapeutic target ( $SAT \leq 140$  mmHg and  $DAT \leq 90$  mmHg) are selection criteria for subjects for complex and supervised anti-hypertensive treatment, because of the higher cardiovascular risk involved.
7. Through the experiments conducted on Wistar white rats, anesthetized with ethyl urethane, we emphasized, after intracerebroventricular (icv) administration of gradually increasing doses of angiotensin II, the potential of this peptide to start cardiac arrhythmias through centrogenic mechanism;
8. Cardiac centrogenic arrhythmias caused by a higher dose of angiotensin II (100 $\mu$ g icv) were blocked through microinjections icv of candesartanum, an antagonist of the AT1 receptors for angiotensin II;
9. The arrhythmogenic potential of angiotensin II was facilitated by the sodium glutamate, through the successive association of the two arrhythmogenic agonists in small doses, which per se are not arrhythmogenic;
10. Our research emphasizes the arrhythmogenic potential, through central nervous mechanism, of angiotensin II and the possibility that a central nervous “glutamatergic” relay, which participates in the arrhythmogenic action of angiotensin II, might intervene – effects that are not mentioned in the consulted literature.

## CURRICULUM VITAE

**First Name:** *Gabriela*  
**Last name:** *CIOCA*  
**Date of birth:** May 12, 1971, Sibiu  
**Nationality:** Romanian  
**Marital status:** married, two children  
**Residence:** 20 Aciliu Street, Sibiu - 550144, ROMANIA  
**Telephone:** 0740/116996  
**E-mail:** [gabriela.cioca@ulbsibiu.ro](mailto:gabriela.cioca@ulbsibiu.ro)

### EDUCATION:

2005 MASTER's degree – *Healthcare Management*, “Lucian Blaga” University, Sibiu, Faculty of Medicine “Victor Papiilian”;  
2002 – present *doctoral student*, fundamental area of study Medical Sciences, field Medicine, University of Medicine and Pharmacy “Iuliu Hațieganu”, CLUJ-NAPOCA;  
1998 “Lucian Blaga” University, Sibiu, Faculty of Medicine, Major subject: *General Medicine*, Degree obtained under the aegis of University of Medicine and Pharmacy Timișoara;  
1990 Nursing Care High School SIBIU, Major Subject: Nursing.

### TRAINING COURSES:

2010 - London, *Eudravigilance - Electronic Reporting of the ICSRs in the EEA*, organized by European Medicines Agency (EMA) in collaboration with Drug Information Association (DIA);  
2006 Certificate in Healthcare Services Management, University of SIBIU;  
2005 medical specialist: Clinical Pharmacologist, University of Bucharest;  
2001 – Territorial Training Center Authorized by CPI, SAS SIBIU, training program: Compatible IBM-PC Computers - *microcomputer operators*.

### FURTHER EDUCATION:

2007 *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies* – organized of “Lucian Blaga” University, Sibiu in collaboration with the Romanian Society of Medical Informatics, Romanian Academy and Foundation for Health Informatics and Telematics (HIT);  
2007 *Missing data in clinical trials: a practical guide* - organized of “Lucian Blaga” University, Sibiu in collaboration with Romanian Society of Medical Informatics, Romanian Academy and Foundation for Health Informatics and Telematics (HIT);  
2005 **University of Medicine and Pharmacy** “Iuliu Hațieganu”, CLUJ-NAPOCA, Department of Pharmacology and Toxicology in partnership with The Romanian Society for Clinical Pharmacology, Therapeutics and Toxicology, postgraduate training program: *Corticotherapy. Present and future*;  
2002 – “Lucian Blaga” University of Sibiu, Universitatea “Lucian Blaga” din SIBIU Teacher Training Department, the Psycho-pedagogical *module*;  
2001 - University of Medicine and Pharmacy “Iuliu Hațieganu”, CLUJ-NAPOCA Department for Cardiology – Heart Institute, postgraduate training program: *Practical and Clinical Electrocardiography*;

### EXPERIENCE:

2007 – present: full-time **assistant professor**, subject taught: *Pharmacology*, “Lucian Blaga” University, Sibiu, Faculty of Medicine;  
2005 – present: *Medical specialist: Clinical Pharmacologist*, the Clinical County Hospital, Sibiu;

2004 – 2005 medical intern: clinical pharmacology, 4<sup>th</sup> year of study, responsibilities: Pharmacovigilance, the Clinical County Hospital, Sibiu;  
 2004 - 2007 full-time **university assistant: Pharmacology, Medical Pharmacology**, “Lucian Blaga” University, Sibiu, Faculty of Medicine;  
 2001 – 2004 **teaching assistant: Pharmacology, Medical Pharmacology**, “Lucian Blaga” University, Sibiu, Faculty of Medicine “Victor Papilian”;  
 2000-2005 **medical intern: clinical pharmacology**, University of Bucharest;  
 1998 - 1999, **physician in training** in the Clinical County Hospital, Sibiu;  
 1990 – 1992 **registered nurse**, the Chronic Hemodialysis Department.

## **PUBLISHED SCIENTIFIC PAPERS – 37 (extract)**

### **A. In renowned academic journals, ISI or in international databases**

1. Cagiano R, Flace P, Bera I, Marieș L, **Cioca G** et al. *Neurofunctional effects in rats prenatally exposed to fluoxetine*. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2008, vol 12, p: 137-148, ISSN 1128-3602, cotată **ISI Web of Science**, citată de Ben-Ari Y, în lucrarea *Neuro-archaeology: pre-symptomatic architecture and signature of neurological disorders*. Trends in Neurosciences (jurnal cotat ISI Web of Science) 2008, 31(12):626-636;
2. Macovei R, Danescu I, Ionică M, **Cioca G** et al. *Acute poisoning cases admitted in the ICU/ Toxicology-Emergency Clinical Hospital Bucharest in 10 years (1998-2007)*, Toxicology Letters, 2008, vol. 180, supplement 1, p: S129-S129, ISSN 0378-4274, **ISI Web of Knowledge**;
3. Danescu I, Macovei R, Caragea G, **Cioca G** et al. *Rhabdomyolysis in a venlafaxine poisoning case*. Toxicology Letters, 2008, vol. 180, supplement 1, p: S129-S129, ISSN 0378-4274, **ISI Web of Knowledge**;
4. Caragea G, Macovei R, Ionică M, **Cioca G** et al. *Urinary strontium levels determination in human osteopenic disorders*, Toxicology Letters, 2008, vol. 180, supplement 1, p: S129-S129, ISSN 0378-4274, **ISI Web of Knowledge**;
5. Ionică M, Macovei R, Caragea G, **Cioca G** et al. *Aluminum levels determination by GF-AAS for aircraft employees*. Toxicology Letters, 2008, vol. 180, supplement 1, p: S128-S129, ISSN 0378-4274, **ISI Web of Knowledge**;
6. Bera L, Manițiu I, Chicea R, Moisil I, Crețulescu R, **Cioca G**. *New generation of EHRs – XML e-form*. International Conference and Exhibition, Desio, Milano, ITALIA, 2005;
7. Moisil I, Crețulescu R, **Cioca G**, Chicea R. *Improving health management through web services*. The 10<sup>th</sup> International symposium on Health Information Management Research, ISHIMR, Thessaloniki, GRECIA, 2005;
8. Bera L, Mihalache M, Pumnea PM, Jitianu C, Mihalache C, **Cioca G**. *The biological information system - a new challenge?* International Workshop on E-he@lth in Common Europe, Overcoming the Barriers for E-health in Enlarge Europe, Krakow, POLAND, December 17-18, 2004;
9. Moisil I, Crețulescu R, **Cioca G**. *Security Options for Hospital Information Systems*. International Joint Meeting EuroMISE 2004, EFMI Symposium on Electronic Health Record, Health Registers and Telemedicine, PRAGA, 2004, ISBN 80-903431-0-4, pag.133;
10. Bera L, Manițiu I, **Cioca G**. *The Information's Reliability in Cardiovascular System*, 3<sup>o</sup> Congreso@ITIM 2002 Associazione Italiana di Telemedicina e Informatica Medica, FIRENZE-ITALIA, 2002;

### **B. In Romanian journals C.N.C.S.I.S. certified**

1. **Cioca G**, Boitan M, Zaharie A, Safta L. *Comparative study on the efficiency of the angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists in reducing serum C-reactive protein levels in patients with essential arterial hypertension*. Therapeutics, Pharmacology and Clinical Toxicology, 2010, vol XIV, nr. 2, p: 108-112, ISSN 2066-0170, **CNCSIS Category B+**, code 605;



2. **Cioca G**, Safta L, Gosa D. *The Angiotensin II arrhythmogenic potential through central nervous mechanism in rats*. Therapeutics, Pharmacology and Clinical Toxicology, 2009, vol XIII, nr. 3, p: 273-276, ISSN 1583-0012, **CNCSIS Category B+**, code 605;
3. **Cioca G**, Boitan M, Manițiu I et al. *Comparative study on the efficiency of the inhibitors of the Angiotensin conversion enzyme and receptor antagonists for Angiotensin II on the endothelial dysfunction in patients with essential arterial hypertension*. Therapeutics, Pharmacology and Clinical Toxicology, 2009, vol XIII, nr. 2, p: 179-182, ISSN 1583-0012, **CNCSIS Category B+**, code 605;
4. **Cioca G**, Safta L. *Implications of angiotensin II in cardiovascular modifications caused by essential arterial hypertension*. Timișoara Medical Journal, vol. 56, supplement 2, TIMIȘOARA, 2006, ISSN 1583-5251, pag. 162-166;
5. **Cioca G**, Safta L. *Clinical implications of nosocomial infections caused by methicillin resistant staphylococcus aureus (MRSA) in the anaesthesia and intensive care unit of Sibiu County Hospital*. Timișoara Medical Journal, vol. 56, supplement 2, TIMIȘOARA, 2006, ISSN 1583-5251, pag. 174-178;
6. **Cioca G**, Safta L. *Actiontions of the renin-angiotensin system mediated through central nervous mechanism*. Al VI-lea Congres Național de Farmacologie, Terapeutică și Toxicologie Clinică cu participare internațională, CLUJ-NAPOCA, 2005, ISBN 973-693-120-X, pag. 93-95;
7. **Cioca G**. *Sistemul renină – angiotensină*. Actualități, Sibiul Medical, Vol. 14, Nr. 4, SIBIU, 2003, ISSN 1221-2873, pag. 449-451.

#### **PARTICIPATION IN NATIONAL CONFERENCES:**

- 2010 - ORADEA, 2009 - BUCUREȘTI, 2008 - SIBIU, 2007 – TÂRGU-MUREȘ, 2006 - TIMIȘOARA, 2005 – CLUJ-NAPOCA, 2004 - CRAIOVA - ***The National Congresses of Clinical Pharmacology, Therapeutics and Toxicology (with international participation)*** organized by the Universities of Medicine and Pharmacology in the above-mentioned cities in collaboration with the *Romanian Society of Clinical Pharmacology, Therapeutics and Toxicology and under the aegis of the Medical Sciences Department of the Romanian Academy*;
- 2007 SIBIU – The 29<sup>th</sup> International Conference of the Romanian Society for Medical Informatics organized by the “Lucian Blaga” University of Sibiu in collaboration with the Romanian Academy and Foundation for Health Informatics and Telematics (HIT);
- 2005 SIBIU – The 20<sup>th</sup> National Conference of the Romanian Society for Physiological Sciences organized by the “Lucian Blaga” University of Sibiu, Faculty of Medicine, on “Current Experimental and Clinical Research in Physiology”;
- 2004 IAȘI – The 3<sup>rd</sup> National Conference of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Chemotherapy, organized by the Medical Sciences Academy and the Romanian Society for the Study of Chemotherapy;
- 2005 SIBIU – Symposium “Anti-inflammatory and Anti-thermal Therapy in Pediatrics” organized by the Sibiu Doctors' College, the Professional Scientific Department;
- 2004 SIBIU – ***The 10<sup>th</sup> Romanian American Pediatric Medical Symposium*** organized by the “Lucian Blaga” University of Sibiu, Faculty of Medicine and Louisville University, Kentucky, USA;
- 2004 SIBIU – Symposium “***Second Generation Cephalosporins – First Intention Treatment***” organized by the “Lucian Blaga” University of Sibiu, Faculty of Medicine and the Clinical Pediatrics Hospital Sibiu;
- 2004 SIBIU – Symposium “***Statins and Modern Inhibitors of ECA in the Management of High Cardiovascular Risk***” organized by the Sibiu Doctors' College, the Professional Scientific Department.

#### **RESEARCH-DEVELOPMENT-INNOVATION:**

- 2007 – “*The Study of the Endothelial Dysfunction – Cardiovascular Disease through (Cardiac and Vascular) Immunological and Eco-graphical Methods. Therapeutic Implications*” research contract no.: 217/01.02.2007, member in the research team;
- 2007 – *Laboratory, Clinical and Paraclinical Research Center in Respiratory Medicine in Children* IMPACT program/Infrastructure Development Project approved by ANCS as CCMRP, no. 1088/2007, in charge with the pharmacology branch, member in the research team;
- 2007-2008 – *Comparison between Zofenopril and Ramipril in Combination with ASA on the Extent of Cardiovascular Risk in Patients with Systolic Left Ventricular Dysfunction after Acute Myocardial Infarction (Smile IV trial) MEN/03/ZOF-CHF/001* – multicentric, multinational clinical trial, clinical investigator;
- 2007-2008 – *A Comparison of Certoparin and Unfractionated Heparin in the Prevention of Thromboembolic Events in Acutely III Medical Patients NCT00451412* - multicentric, multinational clinical trial, clinical investigator;
- 2005 – *Neurofunctional Effects of Developmental Sodium Fluoride Exposure in Eats* – international experimental research project in partnership with Bari University, Italy, The Human Pharmacology and Physiology Department and Novartis, value: 10,000 Euro, project coordinator for the “Lucian Blaga” University of Sibiu.

**MEMBER IN the SCIENTIFIC COMMITTEE:**

2010 - ORADEA, 2009 - BUCUREȘTI, 2008 - SIBIU, of the *National Congresses of Clinical Pharmacology, Therapeutics and Toxicology (with international participation)* organized by the Universities of Medicine and Pharmacology in the above-mentioned cities in collaboration with the *Romanian Society of Clinical Pharmacology, Therapeutics and Toxicology* and under the aegis of the *Medical Sciences Department of the Romanian Academy*.

**PROFESSIONAL MEMBERSHIPS:**

- Romanian College of Physicians;
- Romanian Society for Clinical Pharmacology, Therapeutics and Toxicology;
- European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT);
- Romanian Society of Medical Informatics, affiliated to EFMI (*The European Federation for Medical Informatics*) and IMIA (*The International Medical Informatics Association*);
- International Society for Clinical Biostatistics (ISCB).

**LANGUAGES:** English (reading, writing, speaking)

**Sibiu, 30.11.2010**

*Assist. Prof. Dr. Gabriela CIOCA*