
TEZĂ DE DOCTORAT – REZUMAT

Bisfenol A – efecte asupra parametrilor hemodinamici, remodelării atriale electrice și aritmogenității atriale

Doctorand **Vasile-Bogdan Halațiu**

Conducător de doctorat **Prof. dr. Dan Dobreanu**



INTRODUCERE:

Bisfenolul A (BPA) este în zilele noastre unul dintre cei mai utilizați agenți chimici sintetici în producția materialelor plastice și a rășinilor epoxidice. Acest compus este prezent într-o gamă variată de produse de larg consum, cum ar fi: recipiente din plastic pentru alimente, sticle de plastic, biberoane, conserve, produse media, țevi de plastic, produse și dispozitive medicale, produse de papetărie etc. Prezența BPA în toate aceste produse de larg consum face ca expunerea umană la acest compus să fie una importantă și continuă. În Statele Unite ale Americii, prezența BPA a fost pusă în evidență în urină, la peste 90% din populația generală. Expunerea la acest compus a fost incriminată în apariția diverselor patologii, studiile epidemiologice sugerând o posibilă legătură între expunerea la BPA și o serie de patologii cardiovasculare precum boala coronariană ischemică și hipertensiunea arterială. Efectul BPA asupra sistemului cardiovascular este atribuit efectului acestuia asupra receptorilor estrogenici de tip β , BPA fiind un agonist al acestora. În studii experimentale, efectuate în marea lor majoritate *in vitro*, expunerea acută și adesea la doze suprafiziolgice, BPA a fost incriminat în modularea dinamici ionului de Ca^{2+} . În plus, au fost observate interacțiuni directe cu multiple canale ionice și un important efect profibrotic. Din punct de vedere mecanistic, toate aceste interacțiuni pot explica efectul proaritmie ventricular observat în studii anterioare.

Având în vedere faptul că, aceste mecanisme nu stau doar la baza aritmiilor ventriculare, ci și a fibrilației atriale (FA), este de așteptat ca BPA să aibă importante efecte proaritmice supraventriculare. Cu toate acestea, efectul BPA asupra aritmogenității atriale nu a fost evaluat până în prezent. Astfel, cercetarea de față își propune să evalueze pentru prima dată, *in vitro* și *in vivo*, efectele expunerii cronice la concentrații relevante pentru expunerea umană, dar și suprafiziolgice de BPA asupra parametrilor hemodinamici, remodelării atriale electrice și aritmogenității atriale într-un model experimental de FA la șobolan.

METODOLOGIA CERCETĂRII:

Efectele BPA au fost evaluate în cadrul unui studiu experimental efectuat în cadrul Laboratorului de Fiziologie și Fiziopatologie Cardiovasculară din cadrul Disciplinei de Fiziologie a Universității de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din Târgu Mureș. Datorită specificității de sex a răspunsului la BPA, studiul a fost desfășurat pe șobolani femele, respectând normele internaționale în vigoare (*International Council for Laboratory Animal Science Guidelines* - 2010/63/EU), cu acordul prealabil al Comisiei de Etică a Cercetării a universității (nr. 28/01.02.2018).

Toate animalele au fost adăpostite individual, într-un mediu controlat, cu un ciclu lumină/întuneric de 12/12 ore, cu acces liber la apă și hrană pe tot parcursul studiului. Studiul a inclus 22 de șobolani adulți femele din rasa Wistar, randomizați în 3 loturi, după cum urmează: lotul Control ($n = 7$), lotul BPA – expus la doze relevante clinic pentru expunerea umană ($n = 7$) și lotul hBPA – expus la doze toxice de BPA ($n = 8$). Bisfenolul A a fost administrat zilnic șobolanilor din loturile BPA și hBPA, în apa de băut, timp de 9 săptămâni înainte de începerea protocoalelor experimentale, în timp ce animalele din grupul Control au primit apă, fără adaos de BPA.

După 7 săptămâni de administrare a BPA animalele au fost implantate cu dispozitive ECG de radiotelemetrie. După o săptămână de recuperare post-operatorie, a fost măsurată presiunea arterială sistolică (PAS) și s-a efectuat o înregistrare ECG continuă/24 ore la șobolani conștienți, nerestricționați, și s-au determinat frecvența cardiacă și încărcătura aritmică atrială spontană bazale. Ulterior, toate animalele au fost supuse unui protocol unic de stimulare electrică transesofagiană descris anterior, pentru evaluarea efectul expunerii la BPA asupra inducibilității FA. La sfârșitul protocolului de stimulare, la toate animalele s-a efectuat o nouă înregistrare ECG continuă/24 ore pentru determinarea încărcăturii aritmice atriale post-stimulare electrică programată. Ulterior, animalele au fost eutanasiate și de la fiecare animal s-a prelevat atriul stâng, pentru studiul electrofiziologic.

REZULTATE:

Studiul 1: Efectele bisfenolului A asupra masei corporale și a inducibilității fibrilației atriale

Scopul acestui studiu a fost de a evalua efectele expunerii cronice la doze relevante clinic, respectiv toxice de BPA asupra masei corporale și a inducibilității FA într-un model animal de FA prin stimulare electrică transesofagiană programată la șobolani adulți femele.

Masa corporală medie a animalelor la finalul studiului a fost de $276,00 \pm 18,79$ g. După 9 săptămâni de expunere la BPA, animalele din grupul Control (292 g [288-300 g]) au avut o masă corporală semnificativ mai mare decât cele din loturile BPA (275 g [264-282 g], $p = 0,04$) și hBPA (264 g [260-283 g], $p = 0,02$).

Analizând diferența de masă corporală pe parcursul studiului a fost observat un câștig semnificativ mai mare în greutate după 9 săptămâni de studiu la animalele din grupul Control (22 g [17-27 g]) comparativ cu animalele din grupurile BPA (12 g [5-21 g], $p = 0,02$) și hBPA (10 g [7-12 g], $p = 0,001$). Nu s-a găsit nicio diferență semnificativă în ceea ce privește numărul de animale la care s-a indus cel puțin un episod de FA în urma aplicării protocolului de stimulare electrică transesofagiană programată între grupuri (toate valorile $p > 0,05$), procentul de animale la care s-a indus FA a variat între 60,00 % din numărul total de animale din lotul Control, până la 83,88% din numărul total de animale din lotul hBPA. Numărul de episoade de FA induse per animal a variat între 0 și 12. Animalele din lotul Control au prezentat în medie $3,40 \pm 1,99$ episoade de FA pe parcursul protocolului de stimulare electrică transesofagiană programată, cele din lotul BPA $5,50 \pm 1,77$ episoade, respectiv cele din lotul hBPA $1,57 \pm 0,57$ episoade de FA. Nu a fost observată o diferență statistică între numărul mediu de episoade de FA induse între cele trei grupuri (toate valorile $p > 0,05$). Analizând numărul total de cicluri de stimulare aplicate, la animalele din lotul Control $31,90 \% \pm 13,59\%$ din ciclurile de stimulare au fost urmate de episoade de FA, la animalele din lotul BPA $57,62 \% \pm 17,56 \%$, iar la lotul hBPA $10,48 \% \pm 3,81 \%$. Nu s-au observat diferențe semnificative între lotul Control și BPA sau hBPA (ambele valori ale $p > 0,05$), însă la lotul BPA s-a observat faptul că un număr semnificativ mai mare de cicluri de stimulare au fost urmate de episoade de FA comparativ cu lotul hBPA ($p = 0,04$). Nici un animal din lotul hBPA nu a prezentat FA susținută, definit ca și episod de FA cu durată de peste 10 min, pe parcursul protocolului de stimulare transesofagiană electrică programată. În lotul Control două animale, iar în lotul BPA trei animale au prezentat episoade de FA cu durată de peste 10 minute, pentru aceste animale, protocolul de stimulare fiind oprit după înregistrarea episodului aritmic susținut ($p = 0,28$).

Studiul 2: Efectele bisfenolului A asupra parametrilor hemodinamici și asupra încărcăturii aritmice spontane și post-stimulare electrică transesofagiană programată la șobolani

Scopul acestui studiu a fost de a evalua efectele expunerii cronice la BPA asupra parametrilor hemodinamici (presiune arterială sistolică și frecvența cardiacă) și asupra încărcăturii aritmice spontane și post-stimulare electrică transesofagiană programată la șobolani.

Nu au fost observate diferențe semnificative statistic între cele trei grupuri în ceea ce privește valoarea PA după 7 săptămâni de administrare de BPA sau apă de băut (105 mmHg [97,5 – 117,5 mmHg]; 110 mmHg [100 – 127,5 mmHg]; 110 [110 – 120 mmHg]; $p = 0,47$). Frecvența cardiacă medie/24 ore obținută la înregistrarea ECG de 24 de ore, efectuată înaintea aplicării protocolului de stimulare electrică transesofagiană programată, a variat între 328 și 430 bătăi/min, fără a se observat diferențe semnificative statistic între cele trei loturi (326,6 bătăi/min [348,4 – 406,5 bătăi/min]; 364,1 bătăi/min [354,9 – 375,6 bătăi/min]; 352,4 bătăi/min [347,1 – 364,6 bătăi/min]; $p = 0,48$). În cele ce urmează vor fi prezentate rezultatele obținute la înregistrările ECG/24 ore obținute imediat după aplicarea protocolului de stimulare esofagiană. Rezultatele fac de asemenea referire la aritmiile supraventriculare: numărul de ESA, respectiv numărul și durata episoadelor de FA. La înregistrarea ECG/24 ore post stimulare electrică transesofagiană programată, s-a observat o creștere semnificativă statistic a numărul de ESA/24 ore la grupul hBPA, comparativ cu grupurile BPA și Control (6,66 [3,78 – 15,38]; 7,96 [3,29 – 12,54]; 20,02 [13,68 – 38,69]; $p = 0,02$). S-a observat de asemenea o diferență semnificativă statistic între numărul de episoade de FA spontană/24 ore după aplicarea protocolului de stimulare electrică la cele 3 loturi (1,11 [0,00 – 1,85]; 1,10 [0,54 – 2,02]; 4,97 [3,84 – 15,55]; $p = 0,003$). Post stimulare electrică programată s-au observat diferențe semnificative statistic în ceea ce privește durata episoadelor de FA spontană evaluate pe înregistrările ECG/24 ore între loturile Control, BPA și hBPA (1,60 [0,84 – 2,96]; 5,75 [2,37 – 14,04]; 27,53 [14,34 – 85,06]; $p = 0,001$). Analizând componentele de frecvență înaltă ale HRV, a fost observată o diferență semnificativă statistic între loturile Control, BPA și hBPA ($5,37 \text{ msec}^2$ [4,68 – 5,71 msec^2]; $8,78 \text{ msec}^2$ [7,81 – 9,68 msec^2]; $9,22 \text{ msec}^2$ [7,60 – 11,68 msec^2]; $p = 0,003$). De asemenea, la analiza raportului dintre componentele de frecvență joasă și cele de frecvență înaltă, au fost observată o diferență semnificativă statistic între loturile Control, BPA și hBPA (0,36 [0,27 – 0,37]; 0,34 [0,24 – 0,37]; 0,23 [0,17 – 0,29]; $p = 0,01$).

Studiul 3: Evaluarea efectului expunerii cronice la bisfenol A asupra activității electrice atriale *in vitro*

Scopul acestui studiu a fost de a evalua efectele expunerii cronice la BPA asupra activității electrice *in vitro*, în absența și după expunere la stimuli proaritmogeni: stimulare simpatică, stimulare parasimpatică și supraîncărcare cu Ca^{2+} .

Nu au fost observate diferențe semnificative statistic între viteza depolarizării, DPA 50% și DPA 90% între cele trei grupuri în absența stimulilor proaritmogeni sau la supraîncărcarea cu Ca^{2+} (toate valorile $p > 0,05$). Ca și răspuns la stimularea simpatică, a fost observată o diferență semnificativă statistic între cele trei loturi cu privire la DPA 50 (3,00 msec [-1,90 – 7,65 msec]; 0,95 msec [-2,75 – 3,00 msec]; 8,42 msec [4,16 – 14,66 msec]; $p = 0,02$). De asemenea, ca și răspuns la stimularea simpatică cu soluție de adrenalină, a fost observată o diferență semnificativă statistic între loturile Control, BPA și hBPA în ceea ce privește DPA 90 (13,30 msec [1,15 – 20,7 msec]; -1,20 msec [-9,80 – 3,30 msec]; 19,96 msec [12,46 – 28,72 msec]; $p = 0,004$). Evaluarea răspunsului activității electrice celulare, în prezența stimulării parasimpatice, a arătat o diferență semnificativă statistic între loturile Control, BPA și hBPA cu privire la viteza depolarizării (5,67 mV/sec [-11,40 – 8,00 mV/sec]; -6,26 mV/sec [-19,77 – -3,40 mV/sec]; 13,15 mV/sec [9,81 – 19,96 mV/sec]; $p = 0,004$). Nu a fost observată o diferență semnificativă statistic între cele trei loturi referitor la parametrul DPA 50 ca și răspuns la stimularea parasimpatică (-5,30 msec [-10,05 – -3,40 msec]; -5,00 msec [-8,25 – -2,55 msec]; -9,90 msec [-14,72 – -6,82 msec]; $p = 0,16$). Ca răspuns la stimularea parasimpatică cu soluție de acetilcolină, nu a fost observată o diferență semnificativă statistic între loturile Control, BPA și hBPA în ceea ce privește parametrul DPA 90 (-16,60 msec [-21,95 – -12,35 msec]; -14,70 msec [-26,95 – -7,75 msec]; -29,74 msec [-35,74 – -13,12 msec]; $p = 0,22$).

CONCLUZII:

În concluzie, studiul de față este primul care studiază și demonstrează un efect proaritmîc supraventricular al expunerii cronice la BPA, efect mai exprimat în cazul dozelor suprafiziologice. Mecanismul exact prin care BPA exercită aceste efecte la nivel atrial, respectiv care este doza minimă de BPA de la care efectele proaritmice sunt susceptibile să apară rămâne de văzut. Cercetarea de față deschide astfel noi să noi direcții de cercetare înspre elucidarea efectului cardiotoxic al BPA.