

## Evaluation of the oxidative stress markers in the early period after coronary angioplasty

L. Ciobanu

Department of Interventional Cardiology, Institute of Cardiology, Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: Cancelaria2004@mail.ru. Manuscript received July 01, 2013; accepted October 10 2013

### Abstract

Oxidative stress refers to a well known pathogenic tool of cell lesions. This article aims at the identification of the circulating levels of the oxidative stress basic markers in patients undergoing coronary angioplasty. Before the stent implantation the activation of oxidative stress has been found in patients who need a coronary angioplasty, the fact that has been manifested by a significant increase (up to 118%) of malonic dialdehyde (MAD) and advanced oxidation protein products and by a significant decrease of glutathionreductase (GR) and superoxiddismutase (SOD) (within 19.75-26.8% compared to the indices of healthy persons). In the early studied period (60 min-24 hours) following the angioplasty such a significant rise of MAD as by 32.3% has been detected while the blood content of main antioxidant enzymes, GR, SOD and glutathionperoxidase has fallen by 10-24.6% in comparison with the pre-procedure values. Along with the oxidative stress activation, a significant decline of the nitric oxide concentration in blood has been found before the angioplasty, the amount of which becomes more conspicuous in the first 48 hours after the stent implantation. Generally the obtained data suggest that the traumatic impact of stent implantation on heart and coronary endothelium enhances free oxygen radicals production whose damaging action is poorly limited in the early period due to the antioxidant defense lessening. The decline of nitric oxide level, the predictor of endothelium injuring, mainly due to its anion superoxide metabolization, is correlated with the antioxidant enzymes reducing. So it is proven that DAM, SOD and glutathion-redox system enzymes are the markers of oxidative stress level assessment after angioplasty.

**Key words:** coronary angioplasty, oxidative stress, markers

## Evaluarea markerilor stresului oxidativ în perioada timpurie după angioplastia coronariană

### Introducere

Rolul stresului oxidativ (SO) în fiziopatologia afecțiunilor cardiovasculare este confirmat prin evidențe opulente obținute în studii clinice și fundamentale, privind evoluția aterosclerozei, cardiopatiei ischemice, insuficienței cardiace congestive, aritmiilor cardiace, hipertensiunii arteriale, accidentului vascular cerebral etc. [1, 2, 3, 4].

Sub acțiunea radicalilor liberi de oxigen (RLO) se produce oxidarea componentelor structurale principale ale membranelor celulei și organitelor celulare, fapt care rezultă în periclitarea permeabilității membranare, funcționalității pompelor ionice (*imprimis* SERCA2a, Ca-ATP-aza reticulului

sarcoplasmatic), sintezei macrofosfaților energetici (ATP și creatinfosfatul) în urma decuplării fosforilării oxidative mitochondriale, activarea proteinazelor interstițiale și reorganizarea matricei extracelulare. Alterarea endoteliocitului coronarian, asociată de micșorarea expresiei NOsec (nitric oxid sintetaza endotelială constitutivă) și declinul cantitativ al oxidului nitric (NO) declanșează un set de evenimente oportune, care conduc la potențarea efectelor mitogene, de creștere și migrare celulară inerente acțiunii factorilor neuroendocrini, paracrini și autocrini. De menționat în acest context, că RLO reduc și viabilitatea NO, efect determinat de interacțiunea acestuia din urmă cu anionul superoxid ( $O_2^-$ ) în cadrul căruia se formează

peroxinitritul (ONOO<sup>-</sup>), un radical citotoxic cu proprietăți vasoconstrictoare și protrombotice [5, 6].

Pe fundalul disfuncției endoteliale și carenței de NO se accentuează acțiunea stimulatorie a SO asupra răspunsului sistemic inflamator nespecific, la baza căreia se anunță însemnată creșterea expresiei proteinei C reactive (PCR), citokinelor proinflamatoare (IL-1, IL-6, IL-8, IL-18, TNF- $\alpha$ ) și a moleculelor de adeziune intercelulară, cum ar fi MCP-1 (proteina chemoatractantă a monocitelor-1) și selectinele E și P. Drept consecință este augmentat pasajul celulelor proinflamatoare circulante (monocite și neutrofile) în spațiul subendotelial care susțin procesul inflamator și, totodată, activează SO, dat fiind că acestea reprezintă surse importante de RLO.

Stresului oxidativ i se atribuie un aport notabil în apoptoza celulară, mecanismele iminente constând, pe de o parte, în activarea caspazelor, creșterea expresiei receptorilor TNF- $\alpha$ , iar pe de altă parte, în diminuarea expresiei Bcl-2, proteina endogenă antiapoptotică. Activarea caspazelor reprezintă calea intrinsecă de inducere a apoptozei, la noima căreia se anunță importantă afectarea (inclusiv depolarizarea necontrolată) membranei aparatului mitocondrial (sursa principală a RLO în miocard), difuzia în spațiul citozolic a citocromului C din zona intermembranară a mitocondriilor și activarea primară a caspazei 9, care amorsează ulterior activarea caspazelor 3, 6 și 7. Fiind proteaze cisteinice potente, caspazele scindează și degradează materialul proteic al celulei (inclusiv ADN), inițiind, astfel, moartea celulară programată. Itinerarul extrinsec al apoptozei celulare este conceput prin receptorii membranari spre TNF- $\alpha$ , care angajează sistemul de semnalizare intracelulară de activare a caspazelor intermediată prin caspaza 8, independentă de implicarea mitocondriilor, aceasta determinând, totodată, și afectarea expresiei proteinelor antiapoptotice. Influența SO asupra apoptozei poate fi în conexiune și cu labilizarea de către RLO a lizozomilor și eliberarea consecventă a catepsinelor B, D, G și L (proteaze lizozomale) [7]. Recent J. Mo și colab. (2013) au demonstrat că stimularea apoptozei celulare de către SO este mediată prin inhibiția situsurilor intracelulare Notch1-IC (e.g. de către peroxidul de hidrogen), care la rândul său acționează ca inhibitor al factorului de inducere a apoptozei, ASK-1 (Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1) și, respectiv, al cascadei inițiate de p38-MARK (p38 Mitogen-Activated Protein Kinase) [8].

Stresul oxidativ este vizat actualmente și drept o interfață pertinentă a promovării acțiunii detrimentale a diabetului zaharat asupra endotelului vascular, proceselor de proliferare, hiperplazie, migrare celulară și remodelare vasculară. La această conotație sunt evidențiate mai multe aranjamente [9, 10, 11]. În primul rând, diabetul stimulează *per se* formarea RLO. În al doilea rând, RLO contribuie concludent la afectarea afinității receptorilor la insulină, dezvoltarea sindromului de insulinorezistență și a repercusiunilor acesteia. În rândul trei, SO conduce la formarea „memoriei metabolice” sau „memoriei hiperglicemice”, care se tratează ca o condiție de perpetuare a alterării celulare chiar și când stresul hiperglicemic este atenuat (*i.e.* normalizarea nivelului circulant de

glucoză) prin terapie agresivă. În acest context, se vehiculează semnificația cercului vicios, componentele căruia sunt RLO și expresia factorului p66 (*shock-proteine66*, proteina cu acțiuni de inducere a sintezei mitocondriale a RLO), care inhibă activitatea NOsec și reduce concentrația sanguină de NO. Potrivit datelor relatate de F. Paneni și colab. (2012), supresia genei care controlează expresia p66 conduce la o ameliorare net concludentă a disfuncției endoteliale și la o teșire mai pronunțată a SO în peretele vascular murin după anihilarea atacului hiperglicemic, comparativ cu patternul nemodificat al genei, fapt care demonstrează valoarea fiziopatologică a „memoriei metabolice” [12]. Nu în ultimul rând este vehiculat rolul RLO în glicarea neenzimatică a proteinelor peretelui vascular și interstițiului miocardic, fapt care condiționează creșterea *stiffness*-lui vascular și perturbarea funcției lusitrope a cordului. Activitatea SO se corelează autentic cu nivelurile circulante ale produselor finale ale glicării avansate, cu gradul de reducere a complianței arterelor periferice, precum și cu declinul rezervei funcționale coronariene, îndeosebi la pacienții diabetici [13].

Conturate *per ansamblu*, efectele menționate ale stresului oxidativ reprezintă instrumente patogenetice redutabile ale patologiei coronariene și cardiace, influențate și potențate de diferiți factori de risc cardiovascular (diabet, dislipidemie, hiperhomocisteinemie, tabagism, hipertensiune arterială, obezitate etc.) mai consistent fiind abordată, în acest context, stenoza coronariană, sindromul coronarian acut și remodelarea miocardului post-infarkt [14, 15, 16].

Sub acest aspect trebuie de subliniat, că markerii stresului oxidativ sunt în continuă ascensiune implementați în estimările diagnostice, predicția prognostică a maladiilor cardiovasculare, precum și monitorizarea eficienței formulelor terapeutice aplicate.

Succesul tratamentului leziunilor coronariene severe (stenoza > 70% și sindromul coronarian acut) este astăzi strâns legat de tehnica de angioplastie cu implantare de stent. Totodată, este de menționat că în multe cazuri, evoluția post-procedurală a angioplastiei este compromisă prin diferite complicații cardiovasculare majore, printre care se notează infarctul miocardic acut, apariția sau agravarea anginei pectorale, restenoza intra-stent (RIS), progresarea stenozei în alt segment de arteră coronariană, *stroke*, tormboza acută, subacută și cronică etc. Un loc deosebit printre acestea îl ocupă RIS, care se dezvoltă în medie după 6 luni de la implantarea stentului, anihilând efectul revascularizării induse și necesită, prin urmare, reabordarea stentului stenozat, o manevră foarte dificilă din punct de vedere tehnico-metodologic și mai costisitoare decât angioplastia primară. Elucidarea factorilor și mecanismelor patogenetice care se află la baza dezvoltării RIS este o problemă actuală și extrem de importantă a cardiologiei intervenționale, acesta fiind și un obiectiv central de studiu al laboratorului nostru pe parcursul ultimilor 5 ani. Cercetările biochimice și morfologice, efectuate de noi în acest sens, au adus la apel mai multe evidențe ce pot consolida verigi importante vizavi de formarea și hiperplazia neointimei, substratul morfologic al restenozei: i) activarea răspunsului inflamator în

primele 72 de ore și la distanța de 3 și 6 luni de la momentul angioplastiei; ii) micșorarea expresiei și cantității micro-aci-zilor-ARN-143/145 în media segmentului arterial restenozat, asociată de migrarea miocitelor netede vasculare cu fenotip secretor și acumularea lor în neointimă; iii) activarea colagenazei IV, asociată de activarea *turnover*-ului colagenului fibrilar de tip I în petele arterei coronariene.

Conceptual aceste modificări sunt orchestrate de mai mulți factori, dintre care stresul oxidativ poate avea o marjă certă de implicare. În acest context, este oportună evaluarea activității SO atât în perioada timpurie după impactul traumatic al angioplastiei (e.g. în primele 24-72 de ore), cât și la distanță, în primul rând, pentru perioada confirmării angiocoronarografice a RIS. Rezultatele derivate pot fi un suport relevant privind confirmarea valorii predictive a markerilor SO la pacienții eligibili la angioplastie vizavi de riscul evoluției RIS, precum și argumentarea aplicării tratamentului antioxidant.

Sunt împărțite opiniile privind rolul modificărilor morfofuncționale și biochimice ale peretelui arterei coronariene declanșate de impactul traumatic al manevrei de implantare a stentului, precum și gradul de diseminare a acestora prin intermediul mediatorilor leziunii tisulare asupra remodelării coronariene negative iminente RIS sau exacerbării stenozei în alt segment de vas. Alterarea endoteliului, discontinuitatea acestuia, stresul mecanic asupra zonei subendoteliale, stresul neuroendocrin local manifestat prin eliberarea exagerată a norepinefrinei și ischemia tranzitorie, eruperea în sânge a conținutului ateromului, segregarea receptorilor pentru adeziunea celulară, creșterea expresiei inductibile a factorului tisular, activarea macrofagilor, fibroblaștilor, infiltrarea celulară și eliberarea în cantități sporite a RLO sunt cele mai importante de răspuns la impactul traumatic. Stresul oxidativ este o manetă importantă pe suportul acestor modificări, care determină cert severitatea și durata lor de evoluție (spasmul coronarian distal, afectarea vasomotricității și ischemia tranzitorie, de exemplu, se instalează deja după 4 ore de la momentul angioplastiei pentru o perioadă de până la 8 zile, iar elevarea troponinelor se detectează după 12 ore [24, 25]).

**Scopul studiului:** evaluarea markerilor stresului oxidativ la pacienții expuși angioplastiei în primele 48 de ore după implantarea stentului.

### Material și metode

În studiu au fost incluși 60 de pacienți eligibili la angioplastie cu implantare de stent: 48 de bărbați și 12 femei (vârsta medie  $56,42 \pm 0,31$  ani). O mare parte din pacienți prezentau diferiți factori de risc cardiovascular: diabet zaharat 66% (45 de pacienți), hipertensivi cu diferite grade de hipertensiune arterială – 100% (60 de pacienți), fumători – 49% (29 de pacienți), dislipidemii – 64% (41 de pacienți). Majoritatea pacienților au prezentat angor pectoral CF III și angor pectoral instabil, 30% dintre pacienți au avut infarct miocardic în anamneză.

Markerii stresului oxidativ s-au determinat în probele sanguine, preluate inițial (preprocedural) și după manevra de angioplastie (postprocedural), după 60 min și 24 de ore. În

scopul aprecierii activității stresului oxidativ au fost estimați următorii markeri:

1. Produsele de oxidare ale proteinelor și lipidelor:
  - produsele proteice avansat oxidate (PPAO);
  - dialdehida malonică (DAM).
2. Componentele enzimaticice ale sistemului antioxidant:
  - glutatation reductaza (GR) și glutatation peroxidaza (GPO);
  - superoxid-dismutaza (SOD) și catalaza.
3. Componentele neenzimaticice ale sistemului antioxidant:
  - ceruloplasmina (CRP).

De asemenea, a fost determinat și nivelul circulant al NO, calificat drept marker nu numai al disfuncției endoteliale, dar și al SO, preprocedural, precum și după 60 min, 24 și 48 de ore de la momentul angioplastiei. 40 de persoane sănătoase au format lotul de referință, la care s-au apreciat aceiași markeri ai SO și cu care s-au comparat evidențele lotului de studiu.

Diferența datelor între loturi, precum și privind compararea valorilor postprocedurale cu cele preprocedurale, în cadrul aceluiași lot, au fost analizate statistic, semnificația discrepanței fiind evaluată utilizând criteriul t-Student. Marja erorii < 5% a fost considerată statistic semnificativă.

### Rezultate și discuții

Modificările nivelurilor circulante ale produselor de oxidare a proteinelor și lipidelor în perioada postprocedurală timpurie sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1

Dinamica concentrațiilor serice ale PPAO și DAM la pacienții supuși angioplastiei

Indice	Lot de referință	Lot de studiu		
		Nivel pre-procedural	Nivel postprocedural	
			60 min	24 de ore
PPAO, $\mu\text{M/L}$	$45,28 \pm 2,44$	$70,09 \pm 5,3$ ; $p < 0,01$	$68,46 \pm 5,4$ ; $p < 0,01$	$66,06 \pm 5,5$ ; $p < 0,01$
DAM, $\mu\text{M/L}$	$4,26 \pm 0,2$	$9,3 \pm 0,7$ ; $p < 0,01$	$12,31 \pm 0,15$ ; $p < 0,01$ ; $p_1 < 0,05$	$10,59 \pm 0,11$ ; $p < 0,01$

**Legendă:** p – semnificația discrepanței *versus* indicele de referință;  $p_1$  – semnificația discrepanței *versus* indicele preprocedural.

Rezultatele obținute indică valori preprocedurale semnificativ crescute ale PPAO și DAM la pacienții supuși angioplastiei față de indicii lotului de referință. Astfel, concentrația sanguină a PPAO se estimează la 54,8% peste patternul de referință, nivelul DAM fiind superior cu un decalaj și mai pronunțat, egal în medie cu 118%.

Pentru perioada postprocedurală timpurie, markerii PPAO și DAM au avut dinamici distincte. Conținutul sanguin al PPAO nu s-a modificat semnificativ în perioada de 24 de ore, comparativ cu valoarea preprocedurală și, la sfârșitul acesteia, depășește markerul de referință cu 58,9% ( $p < 0,01$ ).

Contrar PPAO, nivelul circulant al DAM elevează semnificativ în primele 60 min după angioplastie, rata incrementului

constituind 32,3 ( $p < 0,05$ ) față de valoarea preprocedurală. După 24 de ore, nivelul DAM rămâne ridicat față de indicele preprocedural, dar cu o marjă aflată în limitele erorii admisiibile:  $10,59 \pm 0,11$  versus  $9,3 \pm 0,7$   $\mu\text{M/L}$ .

Estimarea componentelor enzimice principale ale sistemului antioxidant scoate în evidență anumite particularități (tab. 2).

Tabelul 2

**Dinamica valorilor sanguine ale GPO, GR, SOD și CRM la pacienții supuși angioplastiei**

Indice	Lot de referință	Lot de studiu		
		Nivel pre-procedural	Nivel postprocedural	
			60 min	24 de ore
<b>GPO, nM/s.L</b>	$242,6 \pm 5,86$	$231,8 \pm 9,6$	$209,3 \pm 7,9$ ; $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	$224,17 \pm 10,4$
<b>GR, nM/s.L</b>	$112,5 \pm 10,3$	$82,34 \pm 5,8$ ; $p < 0,05$	$62,06 \pm 6,1$ ; $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	$60,5 \pm 5,2$ ; $p < 0,05$ $p_1 < 0,01$
<b>SOD, u/c</b>	$1147,4 \pm 16,6$	$920,7 \pm 15,2$ ; $p < 0,05$	$820,5 \pm 13,5$ ; $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	$866,2 \pm 14,3$ ; $p < 0,05$
<b>CRP, mg/L</b>	$366,6 \pm 11,2$	$323,5 \pm 12,7$	$304,3 \pm 11,4$ $p < 0,05$	$307,4 \pm 13,7$ ; $p < 0,05$

**Legendă:** p – semnificația discrepantei versus indicele de referință;  $p_1$  – semnificația discrepantei versus indicele preprocedural.

Majorarea preprocedurală, precum și precoce după angioplastie a produsului de bază al peroxidării lipidice, DAM, s-a asociat cu descreșterea cantitativă a componentelor sistemului antioxidant.

Astfel, nivelul seric preprocedural al GPO este nesemnificativ depreciat ( $231,8 \pm 9,6$  versus  $242,6 \pm 5,86$  nM/s.L), comparativ cu markerul de referință. În primele 60 min după angioplastie, însă, se reduce semnificativ, cu circa 10% vs valoarea preprocedurală și, deși, se redresează la sfârșitul perioadei de 24 de ore, rămâne sub valoarea preprocedurală ( $224,17 \pm 10,4$  versus  $231,8 \pm 9,6$  nM/s.L).

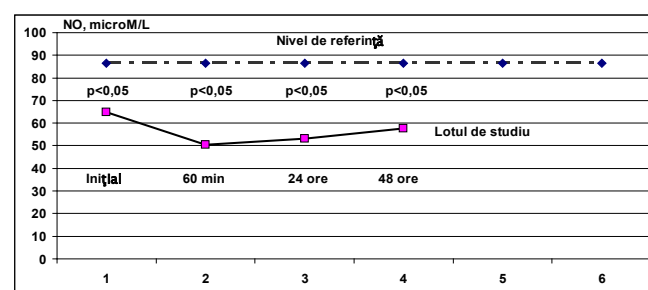
Conținutul seric al GP, atestat la pacienți înainte de angioplastie, este semnificativ diminuat cu 26,8% față de indicele de referință și suportă o reducere notabilă după implantarea stentului. La distanța postprocedurală de 1 oră se decelează un recul de 24,6%, iar la sfârșitul perioadei de 24 de ore – 26%. Pe fundalul acestor modificări, rata micșorării GR, comparativ cu valoarea de referință a indicelui, consemnează în medie 46% după 24 de ore din momentul angioplastiei.

Valoarea preprocedurală a SOD se anunță semnificativ micșorată cu 19,75%, în raport cu indicele de referință. De remarcat faptul, că în primele 60 min după angioplastie, conținutul SOD în sânge scade semnificativ cu 10,8% vs nivelul care a anticipat implantarea stentului și are la această perioadă un recul de 28,5% față de markerul lotului de referință. Pentru perioada cuprinsă între 60 min și 24 de ore, SOD se redresează

cantitativ cu circa 6%, rămânând astfel, deși nesemnificativ, sub nivelul preprocedural:  $866,2 \pm 13,3$  vs  $920,7 \pm 14,2$  u/c. Decalajul față de indicele de referință este semnificativ și constituie 24,5%.

Nivelul circulant al CRP înaintea angioplastiei este micșorat, dar nesemnificativ, comparativ cu indicele de referință:  $323,5 \pm 12,7$  vs  $366,6 \pm 11,2$  mg/L. La intervalele timpurii studiate ale perioadei postprocedurale, CPL descrește semnificativ față de nivelul preprocedural, dar atinge valori reduse semnificativ față de markerul de referință: 60 min –  $304,3 \pm 11,4$  vs  $366,6 \pm 11,2$  mg/L; 24 de ore –  $307,4 \pm 13,7$  vs  $366,6 \pm 11,2$  mg/L.

Așadar, majorarea notabilă a conținutului sanguin al dialdehidei malonice în primele 60 min ale perioadei postprocedurale se realizează pe fundalul diminuării cantitative semnificative a GP și SOD. Remarcabilă este dinamica oxidului nitric (fig. 1).



**Fig. 1.** Dinamica nivelului circulant al NO după angioplastie (p – semnificația discrepantei versus indicele de referință).

Nivelul circulant preprocedural al NO este semnificativ depreciat cu 25,1% față de patternul de referință:  $64,8 \pm 5,1$  vs  $86,5 \pm 6,2$   $\mu\text{M/L}$ . În primele 60 min după angioplastie, nivelul NO descrește cu 17,9% și atinge cote medii de  $53,2 \pm 4,4$   $\mu\text{M/L}$ , ceea ce este cu aproximativ 40% sub valoarea de referință. Ulterior, dinamica NO se estimează în ascensiune teșită, nivelul markerului după 24 și 48 de ore rămânând semnificativ inferior față de valoarea de referință și nesemnificativ vs valoarea preprocedurală.

Datele obținute demonstrează că afecțiunea coronariană severă este asociată de activarea stresului oxidativ, dovada principală în acest sens fiind elevarea semnificativă a PPAO și DAM (produselor oxidării proteinelor și lipidelor de către RLO) de 1,55-2,18 ori. De menționat în acest context, că elevarea preprocedurală marcantă a PPAO și DAM se constată pe fundalul unui statut antioxidant care angrenează valori semnificativ reduse ale GR și SOD, nivelurile circulante ale GPO și CRP fiind de asemenea micșorate, dar nesemnificativ. Sub acest aspect, este plauzibilă admiterea unei rate de sinteză a RLO peste posibilitățile defensive ale sistemului antioxidant.

Procedura de implantare a stentului s-a impus prin elevarea conținutului sanguin al DAM cu peste 32% în primele 60 min, fenomen asociat de micșorarea semnificativă a nivelurilor circulante ale GPO, GR și SOD. Prin urmare, impactul traumatic al implantării stentului reprezintă un factor de activare a stresului oxidativ, iar deprecierea capacității sistemului antioxidant ar fi factorul cauzal determinativ.

Atât GPO, cât și GR, sunt enzime importante ale sistemului glutational-redox, care se caracterizează prin expresie inductibilă, proces care se desfășoară rapid.

Enzima GPO face parte din familia a 8 peroxidaze (izoenzimele 1 și 4 sunt componentele intracelulare, iar GPO-3 abundă în spațiul extracelular și plasmă), care atenuează activitatea și impactul SO prin 2 modalități:

1. Analogic catalazei neutralizează peroxidul de hidrogen prin transformarea lui în molecule de apă conform reacției:  $2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GS-SG} + 2\text{H}_2\text{O}$ .

2. Metabolizează hidroperoxizii lipidici (produsele peroxidării lipidelor care provoacă injurii de membrană și afectează funcționalitatea celulară).

Ulterior, glutationul disulfid (GS-SG) este transformat în glutation monomeric (SGH), substratul de neutralizare a peroxidului de hidrogen, prin catalizarea acestei reacții de reducere de către GR. Deci, GPO și GR asigură defensivă antioxidantă în acțiune de tandem, iar deficitul uneia din acestea și reduce considerabil fezabilitatea sistemului glutation-redox.

O altă enzimă antioxidantă importantă SOD asigură transformarea anionului superoxid în peroxid de hidrogen mult mai inofensiv [17]. Sunt individualizate 3 forme ale SOD: intracelulară, mitocondrială și extracelulară sau interstițială. În sânge este determinată activitatea sau cantitatea SOD extracelulare (tetramer care conține cupru și zinc). Cordul este cel mai bogat organ în SOD, deoarece produce cantități maxime de radicali liberi de oxigen. În controlul activității SO în miocard, rolul dominant îi revine SOD mitocondriale (dimer ce conține Mn). Posibil că din acest motiv nivelul plasmatic al SOD, determinat de noi la pacienții cu afecțiuni coronariană, nu a fost modificat în măsura GPO și GR.

Ceruloplasmina, o alfa2-globulină care conține Cu (transportă aproximativ 70% din cuprul seric) și sintetizată în ficat, nu a variat notabil în probele sanguine preprocedurale față de patternul de referință. Acțiunea ei antioxidantă este mult mai slabă, comparativ cu efectul GPO, GP, SOD și catalazei, aceasta fiind datorată, de fapt, celor două proprietăți cunoscute: 1) oxidează  $\text{Fe}^{2+}$  în  $\text{Fe}^{3+}$  și reduce astfel rata de formare a RLO în cadrul reacției Fenton inițiate de  $\text{Fe}^{2+}$ ; 2), atenuează răspunsul inflamator și diseminarea inflamației prin inhibarea histaminazei serice, având drept rezultat eliberarea RLO din neutrofile, monocite și macrofagi.

Potrivit evidențelor noastre, DAM și GR sunt markerii stresului oxidativ, care au devieri sanguine cantitative concludente atât la estimarea preprocedurală, cât și în perioada precoce (în special 60 min) după angioplastie cu implantare de stent.

W. Gerritsen și colab. (2006, 2008) consideră DAM drept un marker al stresului oxidativ global și util în evaluarea injuriilor miocardului pacienților, supuși corecției intervenționale a afecțiunilor coronariene, inclusiv privind estimarea eficacității diferitor metode tehnice aplicate în acest sens [18, 19].

Formarea excesivă a RLO în această perioadă, caracterizată prin acțiune contondentă asupra arterei coronariene, ar fi datorată:

- activării neuroendocrine și autooxidării catecolaminelor;

- activării lipooxigenazei, ciclooxigenazei, xantinoxidazei, NAD(P)H-oxidazei și citocromului P450;
- augmentării răspunsului inflamator nespecific;
- episoadelor tranzitorii de ischemie a miocardului. Procedura PTCA (Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty) este considerată drept un model de ischemie-reperfuție [20].

Sunt oportune, în acest context, datele relatate de A. Blann și colab. (1993), potrivit cărora cel mai precoce vârf cantitativ al RLO la pacienții supuși angioplastiei cu balon, se constată la sfârșitul primelor 10 min de la momentul manevrei și elevează în perioada de 60 min, când sunt evidente injuriile endoteliale [21].

M. Gur și colab. (2007) au obținut date propice utilizării raportului dintre capacitatea totală oxidantă și capacitatea totală antioxidantă drept un marker relevant al estimării SO în cadrul PTCA, deoarece acest indice s-a corelat în studiul lor cu alți markeri ai SO, precum și cu gradul de leziune cardiacă în perioada timpurie după angioplastie [22].

S. Apostolovic și colab. (2006) au evaluat markerii SO după 10 min, 6, 12, 24, 48 și 72 de ore de la implantarea stentului [23]. Evidențele autorilor sunt similare rezultatelor noastre dar, totodată, specifică o tendință de atenuare a SO la sfârșitul perioadei de 72 de ore, determinată de majorarea catalazei. Dialdehida malonică este, de asemenea, individualizată drept un marker important privind estimarea impactului stresului oxidativ în perioada timpurie după angioplastie.

R. Juni și colab. (2013) relatează despre corelația strânsă între markerii stresului oxidativ, inflamației și disfuncției endoteliale pentru perioada incipientă după angioplastie (72 de ore) și coroborează ideea privind necesitatea identificării surselor relevante de sinteză a RLO în scopul acțiunii atenuante direcționate asupra SO și remedierii atât a endotelului, cât și a inflamației nespecifice [26].

A. Curcio și colab. (2011) indică și asupra raportului dintre intensitatea SO și gradul de proliferare și migrare a miocitelor netede coronariene, piesa importantă în hiperplazia neointimei și evoluția RIS [27].

Sunt însemnate în plan conceptual opiniile autorilor, potrivit cărora cea mai timpurie creștere a nivelului anionului superoxid (radical liber foarte agresiv) în cadrul procedurii de angioplastie are loc în endoteliu și spațiul endotelial, ea fiind ulterior extinsă în media musculară și adventicea vasculară [26, 28, 29]. În adventice activarea fibroblaștilor accentuează producția RLO și conduce la activarea *turnover*-lui colagenului matricei interstițiale de tip I. Markerii circulanți ai activării sintezei colagenului și degradării acestuia elevează în sânge deja după 8 ore de la implantarea stentului [30].

Degradarea intensivă a colagenului tranșează migrarea celulară și contribuie la formarea și hiperplazia neointimei.

Așadar, markerii SO, inflamației, disfuncției endoteliale și reorganizării matricei interstițiale pot avea valoare predictivă crucială privind dezvoltarea RIS. Evaluarea acestora în cadrul conceptului „multimarker” este direcția prioritară a preocupărilor noastre și țintește spre individualizarea markerilor

ce se impun prin variații pertinente la pacienții cu RIS după angioplastie și pot, astfel, ameliora arsenalul diagnostic și prognostic. Totodată, corelarea markerilor circulanți cu markerii morfologici, identificați în peretele arterei coronariene prin diverse tehnici microscopice, precum și cu markerii imagistici estimați prin OCT și IVUS, va lărgi comprehensivitatea fiziopatologiei RIS și confirmă concludent valoarea predictivă *per se* a markerilor biochimici în acest sens.

### Concluzii

Afecțiunea coronariană severă la pacienții eligibili pentru angioplastie este asociată de activarea stresului oxidativ, manifestată prin elevarea semnificativă a conținutului seric al produselor de oxidare a proteinelor și peroxidare a lipidelor, PPAO și DAM, cu 54,8 și, respectiv, 118%, în timp ce nivelurile circulante ale enzimelor antioxidante, GR și SOD, sunt semnificativ reduse cu până la 26,8%.

În perioada precoce, care urmează după angioplastie, se constată exacerbarea impactului oxidativ, evidențele pertinente atestate după 60 min, fiind prezentă creșterea conținutului seric al DAM cu 32,3% față de nivelul preprocedural, iar pe de altă parte – diminuarea semnificativă a GPO, GR și SOD cu până la 24,6%.

Activarea preprocedurală și postprocedurală a stresului oxidativ este însoțită de micșorarea semnificativă a nivelului circulant de NO, declinul maxim al markerului disfuncției endoteliale față de patternul de referință, fiind decelat în primele 60 min de la impactul traumatic inerent implantării stentului.

### References

- Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J. Hypertens.* 2000;18(6):655-673.
- Hutcheson R, Rocic P. The metabolic syndrome, oxidative stress, environment and cardiovascular disease: the heart exploration. *Exp. Diab. Res.* 2012; doi:10.1155/2012/271028.
- Cavalca V, Veglia F, Squellerio I, et al. Glutathione, vitamin E and oxidative stress in coronary artery disease: relevance of age and gender. *Eur. J. Clin. Invest.* 2009;39(4):267-272.
- Misra M, Sarwat M, Bhakuni P, et al. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. *Med. Sci. Monit.* 2009;15(10):209-219.
- Kuster G, Lancel S, Zhang J, et al. Redox-mediated reciprocal regulation of SERCA and Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchanger contributes to sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> depletion in cardiac myocytes. *Free Radic. Bio. Med.* 2010;48(9):1182-1187.
- Pacher P, Beckman, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol. Rev.* 2007;87(1):315-424.
- Lin Y, Epstein D, Liton P. Intralysosomal iron induces lysosomal membrane permeabilization and cathepsin D-mediated cell death in trabecular meshwork cells exposed to oxidative stress. *IOVS.* 2010;51(12):6483-6495.
- Mo J, Zoon J, Ann E, et al. Notch1 modulates oxidative stress-induced cell death through the suppression of apoptosis signal-regulating kinase 1. *PNAS.* 2013; doi:10.1073/pnas.1209078110.
- Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ. Res.* 2010;107:1058-1070.
- Naudi A, Jove M, Ayala V, et al. Cellular dysfunction in diabetes as maladaptive response to mitochondrial oxidative stress. *Exp. Diabetes. Res.* 2012;69:625-631.
- Paneni F, Beckman J, Creager M, et al. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences and medical therapy: part I. *Eur. Heart J.* 2013; doi:10.1093/eurheart/ehf/149 (11 pages).
- Paneni F, Mocharla P, Akhmedov A, et al. Gene silencing of the mitochondrial adaptor p66shc suppresses vascular hyperglycemic memory in diabetes. *Circ. Res.* 2012;111:278-289.
- Yamagishi S, Maeda S, Matsui T, et al. Role of advanced glycation end products and oxidative stress in vascular complications in diabetes. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2012;1820(5):663-671.
- Hori M, Nishida K. Oxidative stress and left ventricular remodeling after myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.* 2009;81:457-464.
- Benfato M, Medeiros M, Salomon T. Coronary artery disease and oxidative stress. In: Coronary Artery Diseases. Dr. I. Chaikovsky (Ed.). Croatia, 2012;332. <http://www.intechopen.com/books/coronary-artery-diseases/coronary-artery-disease-and-oxidative>, Chapter 1;9-34.
- Kaya Y, Cebi A, Demir H, et al. Correlations between oxidative DNA damage, oxidative stress and coenzyme Q10 in patients with coronary artery disease. *Int. J. Med. Sci.* 2012;9(8):621-626.
- McCord JM, Edeas MA. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed. Pharmacother.* 2006;59(4):139-142.
- Gerritsen W, Boven W, Boss D, et al. Malondialdehyde in plasma, a biomarker of global oxidative stress during mini-CABG compared to on- and off-pump CABG surgery: a pilot study. *Interact. CardioVasc. Thorac. Surg.* 2006;5(1):27-31.
- Gerritsen W, Boven W, Driessen A, et al. Myocardial oxidative stress and cell injury comparing three different techniques for coronary artery bypass grafting. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2008;34(5):969-975.
- Juni R, Duckers H, Vanhoutte, et al. Oxidative stress and pathological changes after coronary artery interventions. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013;61(14):1471-1481.
- Blann A, Midgley H, Burrows G, et al. Free radicals, antioxidants and endothelial cell damage after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Coronary Artery Dis.* 1993;4(10):905-910.
- Gur M, Yildiz A, Demirbag R, et al. The effect of coronary angioplasty on oxidative and antioxidative status. *Arch. Turk. Soc. Cardiol.* 2007;35:21-27.
- Apostolovic S, Perisic Z, Cosic V, et al. Oxidant stress after coronary stent implantation. *Medicine and Biology.* 2006;13(2):78-83.
- Tamimi H, Davies G, Hackett, et al. Abnormal vasomotor changes early after coronary angioplasty. A quantitative arteriographic study on their time course. *Circulation.* 1991;84:1198-1202.
- Salehi R. The changes of cardiac troponin I and creatine kinase MB after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *J. Cardiovasc. Thorac. Res.* 2009;1(1):11-15.
- Juni RP, Duckers HJ, Vanhoutte PM, et al. Oxidative stress and pathological changes after coronary artery interventions. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013;61(14):1471-1481.
- Curcio A, Torella D, Indolfi C. Mechanisms of smooth muscle cell proliferation and endothelial regeneration after vascular injury and stenting: approach to therapy. *Circ. J.* 2011;75(6):1287-1296.
- Kochiadakis G, Arfanakis D, Marketou M, et al. Oxidative stress after stent implantation: a randomized comparative study of sirolimus-eluting and bare metal stents. *Int. J. Cardiol.* 2009;142:33-37.
- Shi Y, Wang D. Increased NAD(P)H oxidase and ROS in coronary arteries after balloon injury. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001;21:739-745.
- McGavigan AD, Maxwell PR, Dunn FG. Time course of early changes in plasma markers of collagen turnover following percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Can. J. Cardiol.* 2010;26(9):471-474.

