

8. Wakisaka. Endothelin-1 kinetics in plasma urine, and blister fluid in burn patients. *Annals of Plastic Surgery*. 1996;37(3):305-309.
9. Anita Deswal, Nancy J. Petersen. Cytokines and Cytokine Receptors in Advanced Heart Failure : An Analysis of the Cytokine Database from the Vesnarinone Trial (VEST). *Circulation*. 2001;103:2055-2059.
10. Galie N, Manes A. The endothelin system in pulmonary arterial hypertension. *Cardiovasc Res*. 2004;61:277-237.
11. Maurice Beghetti, Stephen M. Black. Endothelin-1 in Congenital Heart Disease. *Pediatr Res*. 2005;57:16R-20R.
12. Tutar HE, Imamoglu A. Plasma endothelin-1 levels in patients with left-to-right shunt with or without pulmonary hypertension. *Int J Cardiol*. 1999;70:57-62.

## Acțiunea precondiționării hipoxice asupra unor indici ai stresului oxidativ

I. Moraru

Department of Interventional Cardiology, Institute of Cardiology  
 20, N. Testemitanu Street, Chisinau, Republic of Moldova

Corresponding author: +37322727566. E-mail: moraruion@mail.ru  
 Manuscript received June 22, 2011; revised July 01, 2011

### The Hypoxic Precondition Action on Some Indices of the Oxidative Stress

The circulating levels of lipid peroxidation products such as lipid hydroperoxides and malonic dialdehyde as well as of several antioxidants such as catalase, glutathionreductase and ceruloplasmin have been found in the blood of 74 patients with arterial hypertension who underwent antihypertensive treatment and had experienced hypoxic precondition. Likewise the expression and quantity of thioredoxin were found in human umbilical endothelial cells exposed to progressive hypoxia using laser confocal microscopy and the Western Blot exam. Compared to samples obtained from patients who received only antihypertensive treatment the hypoxic precondition led to a greater increase of antioxidants levels and to a deeper decline of products of oxidative stress. Hypoxic precondition increased almost 7-fold the expression and quantity of the endotheliocyte thioredoxin.

**Key words:** hypoxic precondition, oxidative stress, thioredoxin, laser confocal microscopy.

### Воздействие гипоксического preconditionирования на некоторые показатели оксидативного стресса

Содержание в крови продуктов перекисного окисления липидов (гидроперекиси липидов и малоновый диальдегид), а также некоторых антиоксидантов (каталаза, глутатионредуктаза и церулоплазмин) было определено у 74 пациентов с артериальной гипертензией, подверженных гипоксическому preconditionированию на фоне антигипертензивной терапии. Также были исследованы экспрессия и количество тиоредоксина в эндотелиальных клетках пупочной вены человека с помощью лазерной конфокальной микроскопии и экзамена Western Blot. По сравнению с полученными данными у пациентов, получивших только антигипертензивное лечение, гипоксическое preconditionирование способствовало более выраженному увеличению уровня антиоксидантов и более значительному снижению продуктов гидроперекиси липидов. Гипоксическое preconditionирование привело к 7-ми кратному повышению экспрессии и количества тиоредоксина в эндотелиальных клетках.

**Ключевые слова:** гипоксическое preconditionирование, оксидативный стресс, тиоредоксин, лазерная конфокальная микроскопия.

### Introducere

Stresul oxidativ este vizat drept un mecanism patogenic oportun al majorității afecțiunilor somatice, inclusiv al maladiilor cardiovasculare [1]. Este inițiat de oxigen, care la cote de circa 2% nu se utilizează în mitocondriile celulei prin intermediul sistemului de citocromoxidaze până la H<sub>2</sub>O și, preluând pe orbita exterioară un electron impar, se transformă în radicali liberi sau specii reactive de oxigen (SRO), compuși chimici instabili, care grație electronului liber interacționează activ cu diferite molecule organice. În condiții fiziologice SRO

îndeplinesc funcția de mediatori în cadrul sistemului de semnalizare intercelulară, care reglează tonusul vascular și procesul de remodelare a peretelui vaselor periferice și coronariene, inerent vârstei. Primul radical în lanțul de sinteză a SRO este anionul superoxid (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), considerat unul din cei mai agresivi în ceea ce privește capacitatea de interacțiune cu grupurile de radicali din moleculele lipidice, fosfolipidice și proteice. Acumularea acestuia este limitată prin metabolizarea de către superoxidismutază – enzima ce catalizează dismutația a două molecule de O<sub>2</sub>, determinând formarea peroxidului de

hidrogen ( $H_2O_2$ ). Catalaza, localizată în peroxisomi, asigură detoxifierea peroxidului de hidrogen, format în urma reacției de superoxidismutare. Astfel, superoxidismutaza și catalaza sunt recunoscute drept enzime antioxidante, deci factori care limitează intensitatea stresului oxidativ. În reacția cu fierul bivalent ( $Fe^{2+}$ ), cunoscută ca reacția Fenton, peroxidul de hidrogen generează un alt radical liber de oxigen, anionul hidroxil ( $OH^-$ ). Interacțiunea dintre SRO și moleculele de lipide conduce la formarea diferitor compuși ai peroxidării, cum ar hidroperoxizii lipidici (HPL) și dialdehida malonică (DAM). În prezența glutatationului, glutatationperoxidaza și glutatationreductaza catalizează transformarea HPL în hidroxiacizi, contribuind la suprimarea acțiunii lor toxice asupra membranelor.

Unul dintre sistemele celulare oportune de defensivă antioxidantă este reprezentat de tioredoxină, o proteină cu o secvență specifică de aminoacizi (-Trp-Cys<sup>32</sup>-Glu-Pro-Cys<sup>35</sup>-), cantonată predilect în membranele celulare și care se implică în activitatea enzimelor oxidoreductaze în calitate de donator de hidrogen. Tioredoxina, fiind un antioxidant puternic, contracarează o serie de efecte negative, induse de stresul oxidativ: apoptoza și proliferarea celulară, menținerea structurii tridimensionale a proteinelor, modularea expresiei diferitor gene, sinteza peroxinitritului (ONOO), produs citotoxic, generat de reacția dintre oxidul nitric (NO) și anionul superoxid [2].

Atenuarea stresului oxidativ și potențarea sistemului antioxidant reprezintă o țintă terapeutică, care poate fi atinsă prin diferite modalități farmacologice și nonfarmacologice. Angrenarea celor din urmă este unul din obiectivele medicinei adaptive, la care conotație precondiționarea hipoxică (PH) sau adaptarea prin hipoxie se anunță drept o pârghie fiabilă. Una din ipotezele de fond, vehiculate vizavi de acțiunea benefică a PH asupra sistemelor funcționale de autoreglare ale organismului este determinată de capacitatea acesteia de optimizare a consumului intracelular al oxigenului și de atenuare a stresului oxidativ, efect realizat inclusiv prin modularea expresiei diferitor gene responsabile de controlul fenomenelor invocate. De menționat că acest punct de vedere necesită dovezi clinico-experimentale suplimentare.

**Scopul lucrării:** estimarea acțiunii precondiționării hipoxice asupra unor indici ai stresului oxidativ în condiții clinice și experimentale.

### Material și metode

Studiul a fost realizat în Clinica Institutului de Cardiologie, pe un lot de 74 de pacienți cu hipertensiune arterială (HTA), gr. II, aflați în tratament antihipertensiv, care a inclus metoprololul (50-150 mg/zi, în medie 75 mg/zi) și indapamida (2,5 mg/zi). 58 de pacienți (lotul de studiu) au fost expuși la 10 ședințe consecutive de hipoxie normobarică, cu panta de declin a concentrației de  $O_2$  de la 19 până la 13% (nivelul adaptogen optim al PH). Lotul de referință l-au constituit 16 pacienți, care au administrat numai tratament antihipertensiv. Toți pacienții au fost examinați conform unui protocol unic de cercetare: examen clinic general, electrocardiografic și ecocardiografic, analiza generală a sângelui și urinei, retinoscopia, analiza biochimică a sângelui (indicii stresului oxidativ, colesterolul, trigliceridele). Inițial și la sfârșitul perioadei de 10 zile s-au determinat în sânge următorii parametri ai stresului oxidativ: hidroperoxizii lipidici timpurii (HPL), dialdehida malonică (DAM), glutatationreductaza (GR), catalaza și ceruloplasmina [3, 4, 5, 6, 7]. Valorile normale ale acestor indici s-au estimat la 8 subiecți sănătoși (lotul martor).

În condiții experimentale s-a studiat expresia și cantitatea tioredoxinei în celulele endoteliale ombilicale umane în colaborare cu Laboratorul de Biologie Moleculară și Structurală, Institutul Max-Planck de Cercetări a Inimii și Plămânului, Bad-Nauheim, Germania. Cultura de celule a fost expusă PH prin acțiunea repetată a hipoxiei la concentrația de oxigen de 20, 15 și 10%. Endoteliocitele au fost examinate prin microscopie confocală laser, utilizând microscopul cu laser Leica TCS NT, echipat cu lasere argon/crypton și heliu/neon, pentru aprecierea expresiei tioredoxinei [8]. Determinarea cantitativă a tioredoxinei s-a efectuat prin metoda Western-Blot [9].

### Rezultate și discuții

Dinamica modificării nivelurilor circulante ale HPL și DAM la pacienții, care administrau terapie antihipertensivă sau asociau la aceasta PH, precum și indicii normali estimați la subiecții sănătoși sunt prezentate în tab. 1.

Nivelurile circulante ale HPL și DAM sunt semnificativ crescute la pacienții cu HTA la momentul inițierii terapiei antihipertensive. Cantitatea serică a hidroperoxizilor lipidici timpurii a devansat cu circa 90% ( $p < 0,001$ ) nivelul martor, iar cea a dialdehidei malonice – cu peste 97% ( $p < 0,001$ ).

Tabelul 1

Nivelurile serice ale HPL și DAM la pacienții cu HTA, gr. II

Indici evaluați	Lot martor (persoane sănătoase) n = 8	Pacienți cu HTA gr. II Inițial, n = 74	Tratament antihipertensiv La a 10-a zi n = 16	Tratament antihipertensiv + PH la a 10-a zi n = 58
Hidroperoxizii lipidici timpurii, ser, u.c.	2,32 ± 0,23	4,41 ± 0,3 + 90% vs martor $p < 0,001$	3,93 ± 0,25 $p < 0,01$ $p1 > 0,05$	2,41 ± 0,14 $p > 0,05$ $p1 < 0,001$ $p2 < 0,01$
Dialdehida malonică, ser, nmol/l	0,45 ± 0,04	0,89 ± 0,06 + 97,7% vs martor $p < 0,001$	0,78 ± 0,05 $p < 0,01$ $p1 > 0,05$	0,50 ± 0,02 $p > 0,05$ $p1 < 0,01$ $p2 < 0,01$

**Legendă:** p – semnificația discrepanței *versus* martor; p1 – semnificația discrepanței *versus* indicele inițial; p2 – semnificația discrepanței *versus* tratament antihipertensiv.

Elevarea aproape dublă a acestor produse mărturisește despre o activare notabilă a stresului oxidativ.

Pe parcursul a 10 zile de tratament nivelul seric al HPL s-a redus în ambele loturi, dar pe fundalul aplicării PH, declinul lor s-a decelat mult mai considerabil. Astfel, HPL în acest lot s-a depreciat cu aproape 68% ( $p < 0,001$ ), iar valoarea cantitativă a acestora nu diferă semnificativ de indicele martor. DAM a fost individualizată la o cotă de reducere de circa 44% ( $p < 0,01$ ), iar comparativ cu nivelul martor s-a decelat un decalaj de +11% ( $p > 0,05$ ). În cadrul terapiei antihipertensive fără condiționare hipoxică hidroperoxidii lipidici timpurii au descrescut în ser cu 11% ( $p > 0,05$ ), iar valoarea lor a rămas semnificativ peste indicele martor cu 69% ( $p < 0,01$ ). În mod similar și dialdehida malonică s-a micșorat cu aproape 12% ( $p > 0,05$ ), menținând o diferență substanțială versus indicele martor (+73%,  $p < 0,01$ ). Această evoluție a determinat după 10 zile valori semnificativ mai joase ale HPL și DAM în lotul aplicării PH comparativ cu cele atestate în lotul cu tratament antihipertensiv, discrepanța constituind 39 și, respectiv, 36%.

Atenuarea stresului oxidativ a fost condiționată de potențarea sistemului antioxidant, apreciată prin dinamica cantitativă a componentelor antioxidante din hematii, glutationreductaza și catalaza, precum și a nivelului seric al ceruloplasminei.

De menționat că valorile aproape duble ale produselor peroxidării lipidelor atestate inițial la pacienții cu HTA gr. II sunt corelativ asociate cu micșorarea semnificativă în eritrocite a activității GR cu 22% și a catalazei - cu 38% (tab. 2). Nivelul circulant al ceruloplasminei s-a decelat redus cu circa 35% ( $p < 0,01$ ) față de valoarea normală.

Prin urmare, activarea stresului oxidativ la pacienții cu hipertensiune arterială este concludentă și se datorează deprecierei defensivei antioxidante vizavi de impactul speciilor reactive de oxigen. Acest fenomen poate fi consemnat drept un mecanism important de afectare a endotelului vascular, asociat de metabolizarea prematură a oxidului nitric, implicând și o acțiune stimulatorie asupra expresiei citochinelor și a moleculelor de adeziune care rezultă în coroborarea procesului inflamator al peretelui vascular, propice remodelării structurale și funcționale a acestuia.

Pe parcursul tratamentului antihipertensiv micșorarea valorilor tensiunii arteriale s-a produs în paralel cu potențarea sistemului antioxidant.

În lotul pacienților expuși la PH funcția catalitică a GR eritrocitare a crescut semnificativ - cu 21% și, practic, a atins nivelul martor. Catalaza s-a elevat în hematii cu 48% ( $p < 0,01$ ) și, de asemenea, diferența față de nivelul martor se află în diapazonul erorii admisibile. Nivelul seric al ceruloplasminei a crescut cu 41,5%, valoarea ei absolută fiind numai cu 8% ( $p > 0,05$ ) mai redusă decât indicele normal. Astfel, condiționarea hipoxică a condus la o majorare cantitativă a celor 3 componente explorate ale sistemului antioxidant - până la valori statistic nesemnificative versus indicii martor.

În cadrul tratamentului antihipertensiv, creșterea acestora a fost mai puțin pronunțată și numai GR eritrocitară a atins un nivel nesemnificativ față de parametrul martor. Catalaza eritrocitară s-a consemnat majorată doar cu 11% ( $p < 0,05$ ), activitatea ei rămânând semnificativ depreciată *versus* martor - cu peste 37%.

Ceruloplasmina serică s-a majorat cu 17% la pacienții care au primit tratament antihipertensiv, dar eroarea nu depășește limitele marjei admisibile ( $p > 0,05$ ). Nivelul ei la ziua a 10-a rămâne statistic inferior - cu circa 24%, ( $p < 0,05$ ) față de valoarea inerentă persoanelor sănătoase.

Pe fundalul condiționării hipoxice, elevarea proteinei hepatice cu acțiune antioxidantă a fost mai evidentă. De menționat în acest context creșterea în medie cu 41% ( $p < 0,05$ ) a ceruloplasminei, comparativ cu nivelul ei inițial. Valoarea atestată la ziua a 10-a,  $300 \pm 13$  mg/L, nu diferă semnificativ de valoarea martor, reculul constituind circa 8%. Mai mult de atât, formula terapeutică combinată s-a impus prin niveluri circulante superioare cu 20% ( $p < 0,05$ ) *versus* cantitatea serică estimată la pacienții care au administrat numai tratament antihipertensiv.

Ceruloplasmina este importantă în cadrul evoluției HTA, asociate cu disfuncție endotelială, nu numai prin proprietățile sale de captare extracelulară a radicalilor liberi de oxigen (*imprimis* anionul superoxid), dar și prin capacitatea de reducere a adeziunii leucocitelor polimorfonucleare activate la celulele endoteliale, care cauzează exacerbarea procesului

Tabelul 2

Valoarea cantitativă a indicilor sistemului antioxidant la pacienții cu HTA gr. II

Indici evaluați	Lot martor (persoane sănătoase) n = 8	74 de pacienți cu HTA gr. II Inițial	Tratament antihipertensiv la a 10-a zi n = 16	Tratament antihipertensiv + PH la a 10-a zi n = 58
Glutationreductaza, eritrocite, nmol/sxgHb	254 ± 22	199 ± 12 -22% vs martor $p < 0,05$	219 ± 20 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	241 ± 15 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
Catalaza, eritrocite, nmol/sxgHb	2,66 ± 0,22	1,67 ± 0,008 -38% vs martor $p < 0,001$	1,85 ± 0,10 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	2,47 ± 0,13 $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$
Ceruloplasmina, ser, mg/l	325 ± 30	212 ± 12 -35% vs martor $p < 0,01$	250 ± 15 $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$	300 ± 13 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Legendă: p - semnificația discrepanței *versus* martor; p1 - semnificația discrepanței *versus* indicele inițial; p2 - semnificația discrepanței *versus* tratamentul antihipertensiv.

inflamator în peretele vascular. Ceruloplasmina este evaluată drept primul antioxidant, expresia căruia se atestă în cadrul ontogenezei uterine, iar la adulți nivelul ei seric se impune drept predictor al afecțiunilor cardiace, inclusiv grație efectului antiinflamator.

Excesul de  $H_2O_2$  este ulterior metabolizat până la molecule de  $H_2O$  prin intermediul catalazei. De menționat la această notație că pe fundalul PH această enzimă eritrocitară, de asemenea, se estimează statistic majorată cu 34% față de valoarea de referință, deci proprie lotului cu tratament antihipertensiv. Prin urmare, catalaza și ceruloplasmina pot fi acceptate drept predictorii veritabili ai evaluării stresului oxidativ, precum și drept markeri ai eficienței diferitor formule terapeutice în acest sens. De remarcat, că ceruloplasmina este considerată unul dintre primii factori antioxidanți ai ontogenezei uterine, sinteza ei fiind depistată de către trofoblaștii placentei, astfel asigurându-se defensiva fătului contra radicalilor liberi de oxigen formați în organismul mamei. Reducerea concentrației oxigenului în sângele placentar stimulează această sinteză, fapt care indică că hipoxia este unul dintre stimulii naturali ai formării *scavenger*-lui extracelular de SRO. Hipoxia intrafetală este vizată drept senzorul oportun de programare a sistemului endogen de apărare și atenuare a acțiunii alterative iminente impactului oxidativ.

Astfel, expunerea organismului matur la hipoxie moderată și dozată activează componentele sistemului de defensivă antioxidantă, determinând revendicări adaptogene complexe de ordin metabolic și funcțional, care se includ în fenomenul de condiționare hipoxică, ceea ce atenuază mecanismele patogenetice ale diferitor afecțiuni somatice, inclusiv cardiovasculară. În cadrul studiului nostru, beneficiile PH sunt interpretate drept ameliorarea funcționalității sistemului endotelial de control al tonusului vascular bazal, precum și a influențelor vegetative asupra *continuum*-lui cardiovascular, fapt care rezultă în diminuarea valorilor tensionale, precum și a indicelui stresului hemodinamic.

Printre factorii celulari care se implică oportun în contracararea acțiunii alterative a stresului oxidativ se notează sistemul tioredoxinelor (TRX), proteine cu masă moleculară mică ce conțin seleniu, cantonate în diferite celule, inclusiv în endoteliocite. Mecanismul-cheie constă în faptul că SRO se asociază cu centrul activ-redox al TRX, care ulterior este redus prin intermediul TRX reductazei în prezența NAD(P)H. Respectiv, este sugerată importanța sistemului TRX în fiziopatologia insuficienței cardiace, hipertensiunii arteriale, aritmiilor cardiace, sindromului de reperfuzie, hipertrofiei miocardului.

În acest context am estimat acțiunea condiționării hipoxice asupra expresiei și cantității TRX în cultura de celule endoteliale umane ombilicale, utilizând microscopia confocală laser și examenul Western Blot.

Calcularea TRX a fost standardizată pe actină și s-a calculat în procente față de control (cultura de endoteliocite, care nu a fost expusă la PH).

Rezultatele obținute indică că deja la concentrația oxigenului de 20%, cantitatea de TRX este în creștere față de nivelul control (fig. 1).

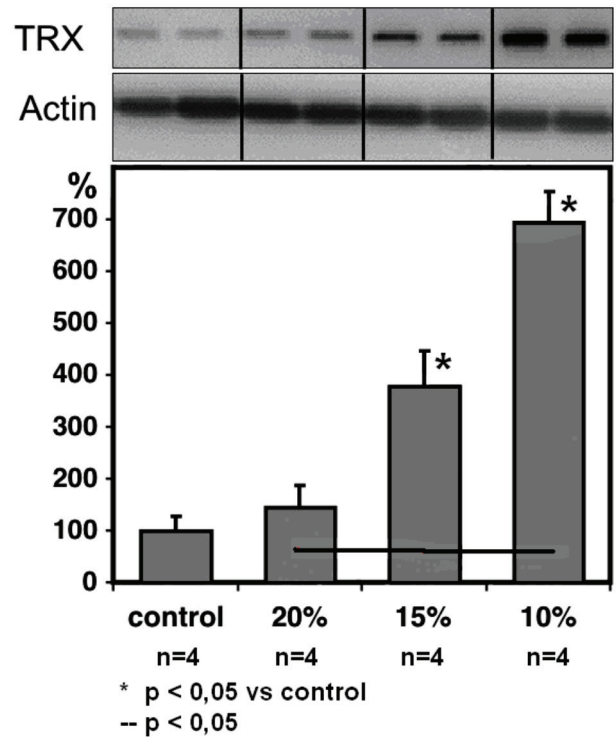


Fig. 1. Estimarea cantității de tioredoxină prin metoda Western Blot la condiționare hipoxică vs control (acceptat drept 100%).

O elevare semnificativă certă se consemnează la PH inerentă concentrației de  $O_2$  de 15 și 10%. La concentrația de 15% a oxigenului cantitatea de TRX în endoteliocite se anunță de 3,5 ori mai mare, iar la concentrația de 10% a oxigenului, majorarea conținutului tioredoxinei depășește aproximativ de 7 ori nivelul control.

Așadar, în condiționarea hipoxică, prin valorile scăzute de oxigen, se produce o sinteză mai evidentă a tioredoxinei.

Această majorare cantitativă este asociată cu creșterea expresiei tioredoxinei, atestată prin intermediul microscopiei confocale laser (fig. 2).

În blocul din mijloc al imaginii se evidențiază expresia crescută a tioredoxinei (pătratul inferior) în cadrul condiționării hipoxice la concentrația de oxigen de 10%, comparativ cu valoarea control (pătratul superior).

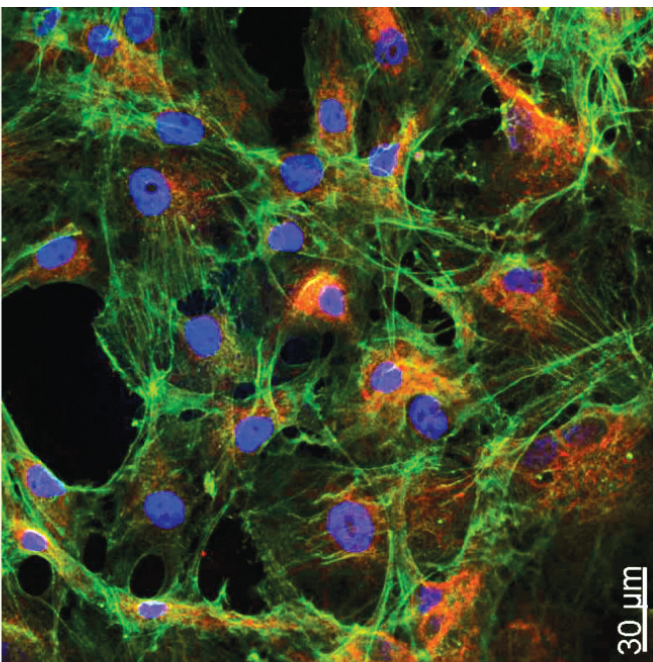
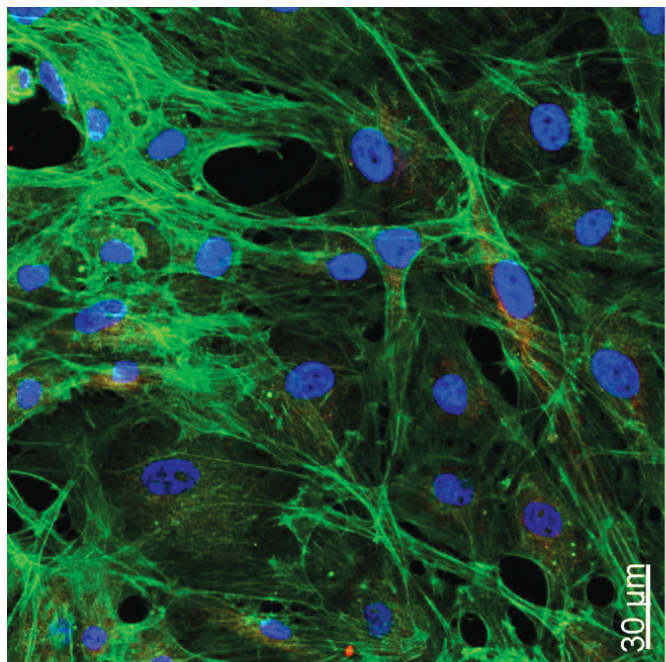
Așadar, acest fenomen mărturisește despre capacitatea PH de a potența sistemul antioxidant al endoteliocitului prin creșterea tioredoxinei. Deci, se poate prezuma că pe fundalul PH, atenuarea stresului oxidativ se datorează reducerii stocului de radicali liberi de oxigen și prin aceasta, evident, se ameliorază viabilitatea factorului endotelial de relaxare, NO.

Evidența dată se corelează autentic cu efectul PH de a majora gradul de relaxare colinergică a inelelor de aortă, mediată predilect prin NO. De altfel, creșterea expresiei de TRX în celulele endoteliale se raportează inteligibil și la efectul PH asupra micșorării nivelurilor circulante ale hidroperoxidilor lipidici timpurii și ale dialdehidei malonice, care se estimează în context cu majorarea nivelului sanguin de catalază, GR și de ceruloplasmină.

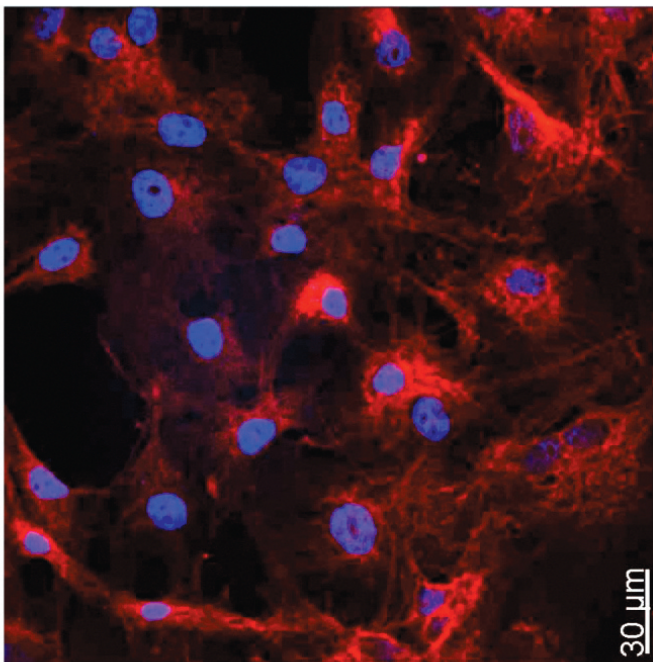
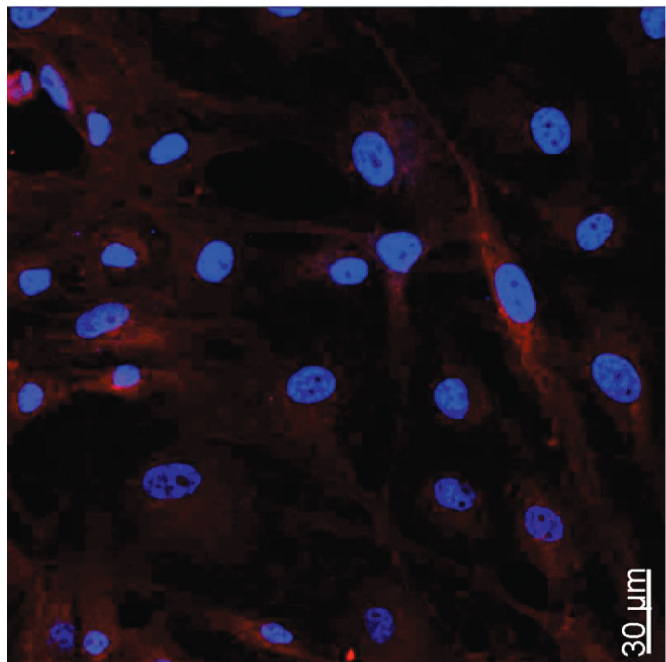


Control

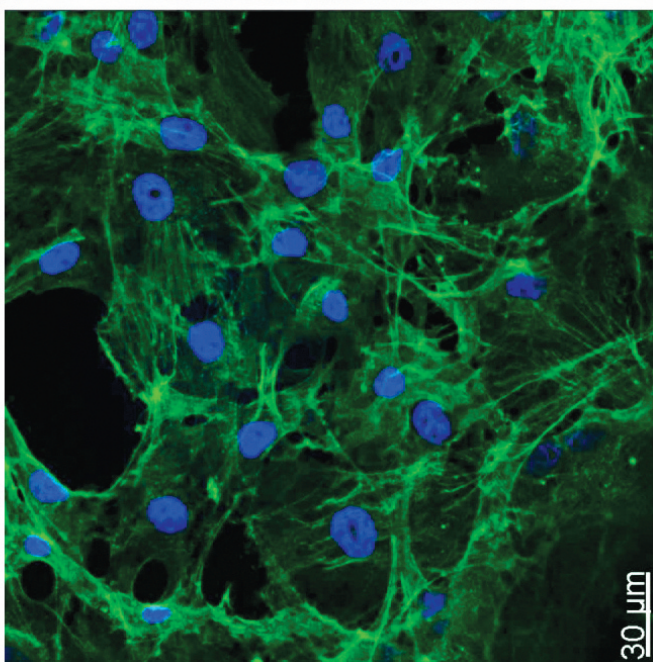
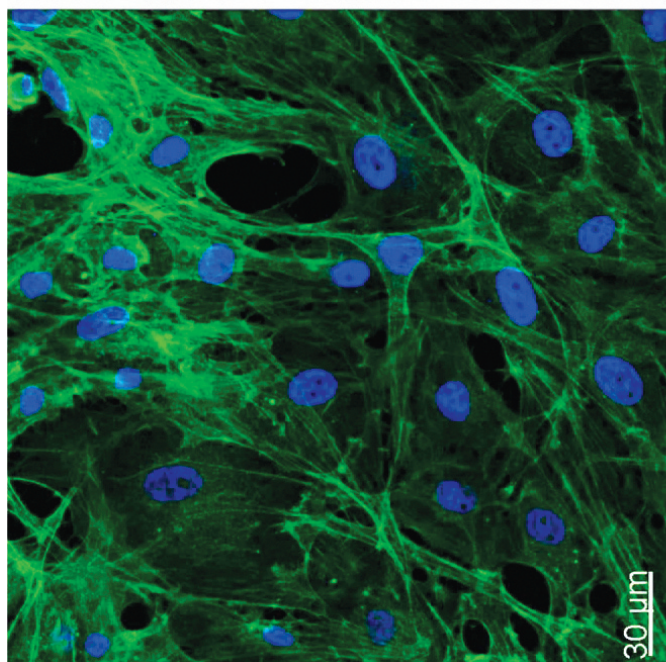
Celule preconditionate



Actina/Thioredoxina/DAPI



Thioredoxina/DAPI



Actina/DAPI

Fig. 2. Microscopie confocală laser. Expresia tioredoxinei în cultura de endoteliocite umane la preconditionare hipoxică prin concentrația de 10% a O<sub>2</sub>.



Creșterea expresiei și a cantității tioredoxinei poate fi vizată drept un efect benefic asupra sistemului intrinsec de control al tonusului vascular, fenomen determinat de limitarea ratei de metabolizare a oxidului nitric și de formare a peroxinitritului, ce posedă acțiune vasoconstrictoare marcată. Această ipoteză este în concordanță cu evidența diminuării mai pronunțate a valorilor tensiunii arteriale, cât și a indicilor elasticității arterelor de conduită și rezistive la pacienții cu HTA gr. II, expuși la PH. De menționat în acest context și efectul potențării relaxării vasculare periferice endotelii dependente, atestat *in vitro* într-un studiu anterior [10]. Acțiunea PH asupra șobolanilor albi de laborator s-a impus prin reducerea cu 15-25% mai concludentă a platoului constrictor indus prin fenilefrină la stimularea colinergică cu carbacol în diferite concentrații.

În ansamblu putem admite, că unul din beneficiile precondiționării hipoxice este definit de capacitatea acestei manevre adaptogene naturale de a atenua stresul oxidativ, la care conotație se anunță oportun fenomenul de elevare a expresiei tioredoxinei, antioxidantul principal al diferitor tipuri de celule.

#### Concluzii

1. Precondiționarea hipoxică a diminuat mai concludent activitatea stresului oxidativ, manifestată prin creșterea semnificativă a valorilor componentelor sistemului antioxidant (GR: 21% vs 10%, catalaza: 48 vs 11% și ceruloplasmina: 41,5 vs 18%) și prin declinul mai considerabil al produselor oxidării peroxidice a lipidelor: HPL: 45 vs 11% și DAM: 34 vs 13%.

2. Expunerea culturii de celule endoteliale umane la precondiționare hipoxică s-a impus prin majorarea expresiei și a cantității tioredoxinei de circa 7 ori, fapt care se interpretează prin creșterea capacității de captare a radicalilor liberi de oxigen și a viabilității moleculei de oxid nitric.

#### Bibliografie

1. Lakshmi SV, Kuppusamy P, Kutala V. Oxidative stress in cardiovascular disease. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 2009;46:421-440.
2. Berndt C, Liling C, Holmgren A. Thiol-based mechanisms of the thio-redoxin and glutaredoxin systems – implications for diseases in the cardiovascular system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293(3):H1227-H1236.
3. Гаврилов ВБ, Мишкорудная МИ. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. *Лаб. дело*. 1983;3:33-36.
4. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem*. 1979;95:351-358.
5. Власова СН, Шабунина ЕИ, Переслгина ИА. Активность глутатионозависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей. *Лаб. дело*. 1990;8:19-22.
6. Королюк МА. Метод определения активности каталазы. *Лаб. дело*. 1988;1:16-19.
7. Baciu E, Nastas I. Procedeu de determinare a ceruloplasminei. Certificat de inovator nr.3117 din 08.11.1996.
8. Kostin S. Spatio-temporal development and distribution of the intercellular junctions in adult rat cardiomyocytes in culture. *Circ Res*. 1999;85:154-167.
9. Zeevi-Levin N, Kostin S. Gap junction remodeling by hypoxia in cultured neonatal rat ventricular myocytes. *Cardiovasc Res*. 2005;66:64-73.
10. Moraru I. Efectele precondiționării hipoxice a reactivității vasculare *in vitro*. *Curierul Medical*. 2010;1:11-15.

## Studiu anatomic al vaselor perforante ale gambei

L. Feghiu

Department of Orthopedics and Traumatology, Nicolae Testemitanu State Medical and Pharmaceutical University  
190, Stefan cel Mare Avenue, Chisinau, Republic of Moldova

Corresponding author: +37322295447. E-mail: leofeghiu1@yahoo.com

Manuscript received June 13; revised July 01, 2011

### Anatomic Study of Perforator Vessels of the Leg

Detailed knowledge regarding the vascular anatomy of the leg is of particular importance in flap surgery used for defect reconstruction. Currently, preoperative Doppler examination is performed in order to elaborate a “map of perforators” at the level of the leg which makes the surgeon’s work easier. However, knowing general rules regarding the predominant sites of perforator locations and more frequent intermuscular septa through which they pass can be of real help as we know that Doppler examination can give “false positive” and “false negative” results. The aim of this anatomical study, performed on 10 cadaveric legs, was to evaluate some anatomical particularities of perforators originate from the three main arteries of the leg in order to find new reconstructive solutions in this anatomic area. The anatomical study emphasized that the biggest and the greatest number of perforators had the origin from the posterior tibial artery, followed by the peroneal artery and finally by the anterior tibial artery. The latter being the most unsuitable for perforator flap surgery as they had the smallest number of perforators per leg as well as the smallest caliber.

**Key words:** perforator vessels, septocutaneous perforators, musculocutaneous perforators.