

functional endothelial progenitor cells in patients with coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25: 1-6.

70. Strehlow K., Werner N., Berweiler J. et al., *Estrogen increases bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation. Circulation, 2003, 107: 3059-65.*

71. Laufs U., Werner N., Link A. et al., *Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. Circulation, 2004, 109: 220-6.*

72. Prior B., Yang H., Terjung R., *What makes vessels grow with exercise training? J Appl Physiol, 2004, 97: 1119-28.*

73. Sandri M., Adams V., Gielen S. et al., *Effect of exercise and ischemia on mobilization and functional activation of blood-derived progenitor cells in patients with ischemic syndromes. Circulation, 2005, 111: 3391-9.*

Rezumat

Celulele progenitoare derivate de măduva oaselor sunt implicate în procesele de reparație tisulară. În lucrarea prezentă au fost evaluate viziunile contemporane asupra rolului celulelor endoteliale progenitoare în reendotelizare și neovascularizare, precum și oportunitățile de reglare a sechestrării lor în sânge, de aderare la zona alterativă, migrațiune, proliferare și diferențiere. De asemenea, sunt expuse unele posibilități diagnostice ale maladiilor cardiovasculare prin estimarea acestor celule în sânge și cultură, de asemenea și ultimele realizări aplicative în cardiologie.

Summary

Bone marrow derived progenitor cells are implicated in the processes of tissular reparation. In present work are evaluated the contemporary visions upon endothelial progenitor cells in reendothelization and neovascularization as well as the regulatory opportunities of their sequestration into blood, attachment to alterative zone, proliferation and differentiation. Are also emphasized a few diagnostic possibilities of cardiovascular maladies thereby of these cells estimation in blood and culture, and the recent applied realization in cardiology.

CORELAȚIA UNOR MARCHERI POLIMORFI AI GENELOR ENZIMEI DE CONVERSIE A ANGIOTENSINEI 1 ȘI A RECEPTORILOR TIP 1 AI ANGIOTENSINEI 2 CU EXTINDEREA PROCESULUI ATEROSCLEROTIC ÎN ARTERELE CORONARIENE

Valeriu Istrati¹, dr.h. în medicină, prof.univ., **Diana Manea**¹, dr. în medicină, conf. univ., **Nicolae Barbacar**², dr.h. în biologie, prof.univ., **Oleg Calenici**³, dr.h. în medicină, **Ghenadie Calin**¹, lector univ., **Victor Popescu**⁵, dr. în biologie, **Vladimir Gura**⁴, **Andrei Ichim**¹, dr. în medicină, conf.univ.,
USMF „N.Testemițanu”¹, Institutul de Genetică al AȘ RM², Institutul de Cardiologie³,
Spitalul Clinic Republican⁴, Laboratorul de Genetică al USMF „N.Testemițanu”⁵

Deși în domeniul descifrării mecanismelor patogenetice ale CPI și în tratamentul ei au fost obținute succese incontestabile, totuși incidența acestei maladii în țările cu un nivel înalt de dezvoltare continuă să dețină primul loc printre cauzele mortalității.

Heterogenitatea incidenței CPI este considerabilă în diverse populații, fapt care, în mare măsură, ține de prevalența anumitor factori de risc. Printre factorii de risc nemodificabili predispoziția genetică are o pondere deosebită. Cercetările din ultimii ani în domeniul biologiei și geneticii moleculare au adus argumente majore în favoarea implicării factorilor genetici în patogeniza aterosclerozei. Dintre factorii de risc genetici, cel mai mult au fost studiați polimorfismul genetic al enzimei de conversie a angiotensinei II (ACE) și polimorfismul genetic al receptorilor tip 1 ai angiotensinei II (AT1R).

Polimorfismul genetic al genelor ACE și AT1R și bolile coronariene

Rezultatele cercetărilor confirmă faptul că o concentrație mai înaltă a ACE în peretele vascular induce o sinteză suplimentară locală a angiotensinei II, care difundează în circuitul sangvin și influențează structura și funcția endoteliului vascular, realizând o acțiune vasospastică marcată și o proliferare a celulelor netede musculare ale țesutului vascular cu migrația lor ulterioară în intimă.

În cercetarea prezentă am analizat polimorfismul A1166C din a treia parte netranslată a genei AT1R și polimorfismul INSERTION / DELETION (I/D), care constă în prezența (insertion) sau absența (deletion) fragmentului din 287 de nucleotide *alu*-repetitive în intronul 16 al genei ACE. Se poate presupune că variațiile expresivității sau structurii enzimei de conversie a angiotensinei sau a receptorilor AT1R drept rezultat al mutațiilor în structura genelor vor duce la modificări ale tonusului vascular și la proliferarea elementelor peretelui vascular. Din aceste motive genele ACE și AT1R sunt considerate unele dintre cele mai importante gene-candidate pentru inițierea afecțiunilor coronariene.

Scopul lucrării a fost aprecierea incidenței variantelor alelice ale genei AT1R (polimorfismul 1166A/C) și ale genei ACE (polimorfismul I/D) la pacienții cu cardiopatie ischemică pentru evidențierea pe viitor a markerilor predictorilor molecular - genetici ai evenimentelor acute ale CPI.

Obiectivele lucrării au inclus determinarea variantelor alelice 1166A/C ale genei ATR1 și I/D ale genei ACE la pacienții cu CPI de origine aterosclerotică, confirmată coronaroangiografic, pentru stabilirea valorii lor diagnostice.

Material și metode. Obiectul studiului l-au constituit 90 de pacienți, vârsta medie $57,58 \pm 0,85$ ani, cu diagnosticul clinic de cardiopatie ischemică, confirmată prin testele specifice instrumentale (ECG, EcoCG și coronarografie), care s-au aflat sub observație în următoarele instituții medicale: Clinica Cardiologică Republicană, Spitalul Clinic Republican, Clinica Spitalului Militar.

Vârsta de debut clinic al maladiei (stabilită prin anamneză sau în baza documentelor medicale) a fost cuprinsă între 35-62 de ani. Vârsta medie de debut clinic al bolii a fost de $54,49 \pm 1,309$ ani.

În cadrul cercetărilor în lotul de bază au fost evidențiați 10 pacienți, la care s-au determinat următorii parametri: (1) Indicele Masei Corporale $< 27 \text{ kg/m}^2$; (2) colesterolul seric $< 4,2 \text{ mmol/l}$; (3) HDL-colesterolul $> 1,0 \text{ mmol/l}$; (4) LDL-colesterolul $< 3,2 \text{ mmol/l}$; (5) trigliceridele serice $< 2,3 \text{ mmol/l}$; persoanele în cauză au negat tratamentul antilipidemic în antecedente. În conformitate cu protocolul Institutului INSERM din Paris al examinării subiecților cu CPI, acești 10 pacienți au format lotul de persoane cu risc redus al CPI după indicii lipidemiei serice.

Lotul de control a fost constituit din 77 de persoane fără maladii cardiovasculare sau diabet zaharat, fapt care s-a verificat prin culegerea anamnezei, completarea chestionarului CINDI, examinarea clinică și efectuarea ECG, selectate pentru a corespunde lotului de bază după sex și vârstă.

Analize genetice. Probele de ADN au fost extrase din sânge prin metoda de prelucrare cu Proteinaza K și purificare cu amestec fenol: cloroform: alcool izoamilic (25:24:1). Reacția de polimerizare în lanț (PCR) s-a efectuat după recomandările standard și condițiile expuse în lucrarea lui Rigat B. (7).

Rezultate și discuții. Conform datelor colectate, a fost creată o bază de date, care conține informații despre cele două grupe de persoane incluse în studiu – lotul de pacienți cu date clinico-instrumentale ale aterosclerozei coronariene manifeste și lotul martor. Analiza electroforetică a fragmentelor genomice amplificate a demonstrat prezența secvențelor, care formează genotipurile II, DD și ID ale genei ACE și identificarea spectrelor polimorfe de AND în gena AT1R cu depistarea corespunzătoare a genotipurilor AA, AC și CC.

Polimorfismul I/D al genei ACE

În mediul pacienților cu CPI genotipul DD-ECA s-a înregistrat în 27,5 % de cazuri. Astfel, genotipul DD al genei ECA s-a constatat veridic mai frecvent în mediul pacienților cu CPI comparativ în lotul martor, unde s-au înregistrat doar 12% de purtători ai genotipului DD ($p=0,038$) (tab. I).

Distribuția genotipurilor I/D –ACE în loturile de bază

	<i>Lotul martor (n=77)</i>	<i>Lotul de bază de pacienți (n=90)</i>	<i>p (χ^2)</i>	<i>p (Fisher)</i>
Genot. II	32 % (25)	19,6 % (20)	0,091	0,106
Genot.ID	56 % (45)	52,9 % (54)	0,722	0,733
Genot.DD	12 % (10)	27,5 % (28)	0,032*	0,038*

Notă: * p< 0,05.

În lotul similar de pacienți s-a determinat genotipul II-ECA în 19,6% de cazuri, incidența lui fiind de 1,6 ori mai mică comparativ cu subiecții din lotul martor, însă statistic această diferență este ne semnificativă (p=0,106).

Implicațiile polimorfismului I/D al genei ECA în gradul de manifestare a procesului aterosclerotic s-a cercetat prin studiul frecvenței genotipurilor I/D în raport cu numărul arterelor coronariene majore afectate (stenoză mai mare de 60%), pacienții cu CPI fiind repartizați în 3 loturi - cu leziune monocoronariană, cu leziuni bicoronariene și cu leziuni tricoronariene (tab.2).

Incidența genotipurilor I/D ale genei ECA în raport cu gradul de afectare a arterelor coronariene

<i>Indicii</i>	<i>Genotip II</i>	<i>Genotip ID</i>	<i>Genotip DD</i>	<i>Total</i>
Cu leziune monocoronariană	18,5 %	56 %	25,5 %	31 % (28)
Cu leziuni bicoronariene	15,5 %	46 %	38,5 %	45 % (40)
Cu leziuni tricoronariene	14,5 %	57 %	28,5 %	24 % (22)

Astfel, nu am constatat o evidență concludentă a corelației genotipului DD-ECA cu un număr mai mare al arterelor coronariene afectate (p=0,09).

Polimorfismul A1166C al genei AT1R

În ambele loturi examinate predomina varianta genei AT1R cu alela A în poziția 1166 (genotipurile AA și AC), fapt înregistrat și în studiile efectuate anterior în mai multe populații (1,2).

În lotul martor s-a determinat următoarea repartizare a genotipurilor investigate: AA - 69,8%; AC – 23,37%; CC – 7,79% (fig.1). Incidența variantei AA a fost cea mai înaltă (de 8,5 ori mai mare comparativ cu incidența variantei CC).

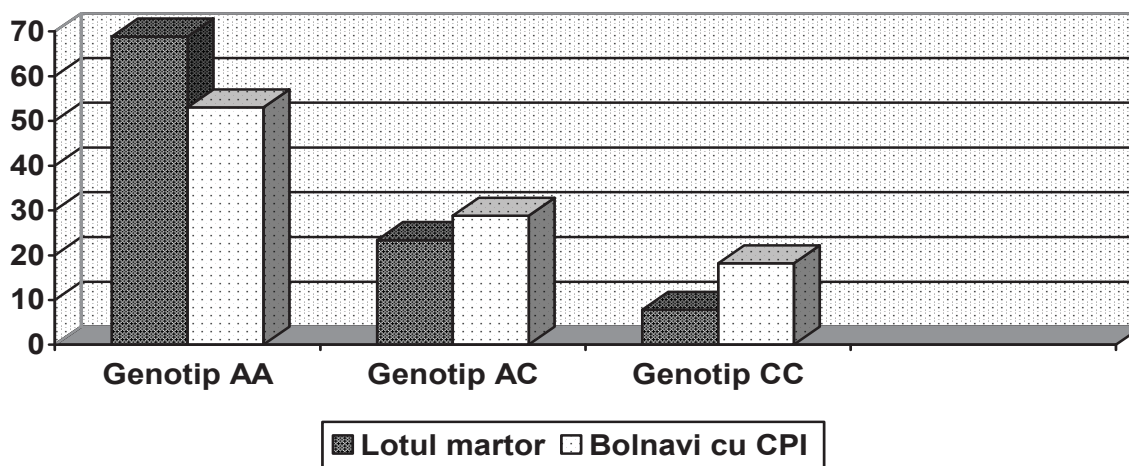


Figura 1. Incidența comparativă a genotipurilor A/C ale genei AT1R în lotul martor și în lotul pacienților cu CPI

Între pacienții cu CPI incidența genotipurilor investigate s-a distribuit în felul următor : AA - 53,03% de cazuri; AC – 28,78% de cazuri; CC – 18,19% cazuri (fig.1). Incidența homozigotelor CC a fost statistic concludent mai înaltă în lotul pacienților cu CPI (18,19% în lotul cu CPI și 7,79% în lotul martor)(p=0,048).

Implicațiile variantelor alelice 1166A/C - AT1R în gradul de manifestare a procesului aterosclerotic s-a cercetat prin studiul frecvenței genotipurilor A/C în raport cu numărul arterelor coronariene majore afectate (stenoză mai mare de 60%) (tab.3).

Tabelul 3

Incidența variantelor alelice ale genei AT1R (după markerul polimorf 1166A/C) în raport cu gradul de afectare a arterelor coronariene

<i>Indicii</i>	<i>Genotipul AA</i>	<i>Genotipul AC</i>	<i>Genotipul CC</i>
Persoane fără CPI	32 %	56 %	12 %
Cu leziune monocoronară	19 %	57 %	24 %*
Cu leziuni bicoronariene	15,5 %	46 %	38,5 %*
Cu leziuni tricoronariene	14,5 %	57 %	28,5 %*

Frecvența determinării genotipului CC este veridic mai înaltă (versus lotul martor) la pacienții cu afectare bi- și tricoronariană (38,5% și 28,5%, p<0,05). Dar în lotul pacienților cu leziuni tricoronariene incidența genotipului CC este mai joasă comparativ cu mediul pacienților cu leziuni bicoronariene (28,5 % și 38,5%).

Astfel, în baza comparării distribuirii genotipurilor în loturile formate nu am constatat o evidență statistic veridică a corelației genotipului DD-ECA sau a genotipului CC-AT1R cu un număr mai mare al arterelor coronariene afectate (p=0,09).

Polimorfismul I/D al genei ACE la persoanele cu risc redus al CPI

În acest studiu au fost cercetate particularitățile incidenței genotipurilor I/D ale genei ACE la pacienții considerați cu risc redus al CPI după parametrii lipidemiei serice (tab.4).

În mediul pacienților „cu risc coronarian redus” genotipul II al genei ECA s-a apreciat numai la o singură persoană (10 % cazuri). Genotipul DD-ECA s-a înregistrat în 40 % de cazuri semnificativ mai frecvent comparativ cu lotul martor (p=0,041).

Tabelul 4

Distribuția genotipurilor la pacienții cu risc redus coronarian după indicii lipidemiei serice

<i>Genotipul I/D</i>	<i>II</i>	<i>ID</i>	<i>DD</i>
Lotul martor (n=77)	32 %	56 %	12 %
Lotul de pacienți cu CPI (n=90)	20 %	53 %	27 %
Lotul de pacienți cu risc redus al CPI: IK < 27 kg/m ² și + normolipidemie (n=10)	10 % (1)	50% (5)	40% (4)
p (χ^2)	0,032*		0,030*
p (Fisher)	0,049*		0,041*

* p < 0,05.

Conform datelor prezentate mai sus, persoanele cu risc redus al CPI după criteriile indicilor profilului lipidic și ai masei corporale, dar posesoare ale genotipului DD-ECA, manifestă mai frecvent semne clinice ale CPI comparativ cu purtătorii altor genotipuri (II sau ID) .

Astfel, în mediul pacienților cu indici normali ai lipidogramei semnificația genotipului DD-ECA în calitate de factor de risc este statistic mai înaltă.

Problema privind semnificația genelor AT1R și ACE (directă sau indirectă) în patogenia CPI

rămâne nesoluționată. În afară de comunicările despre semnificația genotipurilor CC al genei AT1R și DD al genei ACE în patogenia CPI (1,2,3,4,5) se publică rapoarte, în care se demonstrează absența unei astfel de corelații (6,7), fapt care impune efectuarea cercetărilor suplimentare în populații aparate.

Concluzii

1. S-a determinat o asociație pozitivă statistic semnificativă a prezenței variantelor alelice CC al genei AT1R și DD al genei ACE cu manifestarea cardiopatiei ischemice.
2. S-a constatat că la pacienții cu manifestări ale CPI prezența concomitentă a genotipurilor CC-ATR1 și a DD-ACE nu se înregistrează mai frecvent comparativ prezența lor separată (în cercetarea noastră nu s-a confirmat efectul lor sinergic).
3. Nu s-a determinat o corelație certă între variantele genetice 1166 A/C - AT1R sau I/D - ACE și gradul de afectare a arterelor coronariene.
4. Incidența genotipului DD-ACE a fost semnificativ mai înaltă, inclusiv în mediul pacienților cu CPI fără unii factori de risc „clasici” (dislipidemie, exces de masă corporală).
5. În perspectivă analiza genotipică în familii va permite estimarea gradului de risc de dezvoltare a CPI.

Bibliografie selectivă

1. C. Fatini, R. Sestini et al., *Molecular assay for the RAS complex: ACE, AGT, AT1R genes and increased risk of coronary heart disease*. Biomedicine Database, 0117.
2. Cambien F., Poirier O. et al., *Deletion polymorphism in the gene ACE is a potent risk factor for myocardial infarction*. Nature 1992, 359: 641-644.
3. Poirier O, Georges J. et al., *New polymorphisms of angiotensin II type 1 receptors gene and their associations with myocardial infarction and blood pressure: the ECTIM study*. J Hypertens 1998; Oct 16:10:1443-1447.
4. Л.О. Минушкина, Д.А. Затеищиков и др., *Дисфункция эндотелия: связь с полиморфизмом гена рецептора (m1) ангиотензина 2 у больных ИБС*. // Кардиология, 2000, 1, стр. 20-24.
5. Alvarez R., Reguero J. et al., *Angiotensin converting enzyme and angiotensin II receptor 1 gene polymorphisms: association with early coronary disease*. Cardiovasc Res.; vol.40, 1998, pag.375-379.
6. Steeds R., Wardle A. et al., *Analysis of the postulated interaction between the angiotensin II subtype 1 receptor gene A1166C polymorphism and the insertion/deletion polymorphism of ACE gene on risk of myocardial infarction*. JACC 2001; vol. 154, pag.123-128.
7. Rigat B., Hubert C., Corvol P. et al., *PCR detection of the insertion-deletion polymorphism of the human ACE gene*. Nucleic Acid Research 1991; 20: 1433.
8. Rice G., Foy C. et al., *Angiotensin converting enzyme and angiotensin II type 1-receptor gene polymorphisms and risk of ischemic heart disease*. Cardiovasc. Res. 1999; vol. 41, pag.746-753.
9. Robertson L.A., Khairillah P.A., *Effects of angiotensinII and some analogues on vascular permeability in the rabbit*. Circulat. Res. 1972;31:923-921.

Rezumat

Studiul a avut ca scop cercetarea incidenței variantelor alelice ale genei AT1R (mutația *nosens* A1166C) și genei ACE (polimorfismul I/D) la pacienții cu cardiopatie ischemică (CPI) și aprecierea corelației lor cu gradul de extindere a procesului aterosclerotic în arterele coronare. Au fost examinați 90 de pacienți cu CPI; lotul martor l-au format 77 de persoane fără maladii cardiovasculare. Incidența genotipurilor CC al genei AT1R și DD al genei ACE s-a determinat semnificativ mai înaltă în mediul pacienților cu CPI, dar ele nu au manifestat un efect sinergic. Genotipul DD al genei ACE a demonstrat o corelație cu un risc mai înalt al CPI chiar și la „persoanele cu risc redus”.

Summary

The study has the purpose to assess the incidence of some allelic variants of AT1R gene (*nosens* A1166C mutation) and of ACE gene (I/D polymorphism) in patients with ischemic heart disease (IHD) and to appreciate their correlation with the extension of atherosclerotic process in coronary arteries. 90 patients with IHD were examined; in the control group were included 77 persons without cardiovascular diseases. Among the patients with IHD was appreciated a significantly higher incidence of the CC genotype of AT1R gene and of DD genotype of ACE gene, but these markers didn't show a synergic effect. The DD genotype of ACE gene was correlated with a higher risk of IHD even in "low risk patients".

INHIBITORII ENZIMEI DE CONVERSIE ȘI FIBRILAȚIA ATRIALĂ: POSSIBILITĂȚI NOI DE APLICARE

Larisa Sclearov, dr. în medicină, **Aurel Grosu**, dr. h. în medicină, prof.univ., **Vitalie Cazacu**, doctorand, **Octavian Cenușă**, colaborator științific,
Institutul de Cardiologie

Strategia terapeutică în fibrilația atrială (FA) a dat naștere la numeroase controverse, care până în prezent sunt numai parțial rezolvate. Întrucât FA este o aritmie complexă în raport cu geneza ei și heterogenă din punctul de vedere al expresiei clinice, s-au propus mai multe opțiuni terapeutice în concordanță cu timpul apariției și durata FA.

Introducerea în practica medicală în ultimele două decenii a inhibitorilor enzimei de conversie a angiotenzinei II (IEC) este unul din progresele semnificative realizate în tratamentul afecțiunilor cardiovasculare. IEC se utilizează în prezent cu unele limitări în toate etapele disfuncției ventriculare asimptomatice sau ale insuficienței cardiace simptomatice.

Studiile experimentale au demonstrat că IEC previn dezvoltarea hipertrofiei VS, proliferarea interstițiului miocardic și dezvoltarea miofibrozei [5].

Inhibiția sistemului renină-angiotensină s-a dovedit a fi eficientă în prevenirea remodelării cardiace structurale în FA experimentală prin reducerea fibrozei atriale și a duratei medii a FA [6]. Dovezile efectului antiaritmie al IEC sunt în augumentare. Trialul din Danemarca (TRACE) a demonstrat că scăderea semnificativă a mortalității la pacienții cu disfuncție ventriculară stângă, care au administrat IEC, este condiționată, pe de o parte, de influența proceselor de remodelare, iar, pe de altă parte, de reducerea instalării tulburărilor de ritm până la 47% [7]. Într-o analiză retrospectivă a pacienților cu disfuncție ventriculară stângă incluși în studiul SOLVD, administrarea enalaprilului s-a asociat cu o reducere de 78% a incidenței FA. Prin urmare problema aprecierii locului IEC în ansamblul tratamentului medicamentos al FA rămâne actuală.

Obiectivul studiului l-a constituit estimarea eficienței asocierii IEC a angiotenzinei II-enalapril maleat la tratamentul antiaritmie (AA) cu amiodaronă în menținerea ritmului sinusal după conversia fibrilației atriale.

Materiale și metode. Studiul a fost realizat cu participarea a 118 pacienți (93 bărbați, 25 femei), vârsta medie 50,3±0,6 ani, cu FA persistentă nonvalvulară, heterogenă din punct de vedere etiologic: în prezența cardiopatiei ischemice (29,7%), hipertensiunii arteriale (36,4%), cardiomiopatiei dilatative (9,3%) și FA primară (24,6%). Pacienții incluși în studiu prezentau semne clinice de IC: clasa funcțională NYHA I-30%, NYHA II- 54%, NYHA III- 16%.

Prezența bolilor cardiace asociate FA a fost relevată în baza anamnezei, examenului fizic, evaluărilor ECG și EcoCG. La 29 (24,6%) de pacienți s-a constatat FA primară, FA care a apărut în absența oricărei condiții preexistente. Pacienții au fost examinați și tratați în clinica Institutului de Cardiologie pe parcursul anilor 1996-2001. Durata de supraveghere a variat între 6-98 de luni. Criteriile de includere în studiu au fost durata FA peste 48 de ore, mărimea transversală a AS ≤ 60 mm.

Explorările paraclinice au inclus ECG de repaus în 12 derivații standard la aparatul „Bioset-