

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA  
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ  
INSTITUTUL DE CARDIOLOGIE**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 616.132.2-007.271-089.844-076

**CIOBANU LUCIA**

**PATOGENIA ȘI PREDICTORII RESTENOZEI  
CORONARIENE INTRA-STENT**

**321.03 – CARDIOLOGIE**

**Autoreferatul  
tezei de doctor habilitat în științe medicale**

Chișinău, 2015

Teza a fost elaborată în Laboratorul Cardiologie Intervențională al **IMSP Institutul de Cardiologie din Republica Moldova**

**Consultanți științifici:**

**Costin Sava**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

**Cobeț Valeriu**, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar

**Referenți oficiali:**

**Istrati Valeriu**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

**Tinică Grigore**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

**Șaptefrați Lilian**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

**Componența Consiliului științific specializat:**

**Vataman Eleonora** **Președinte**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

**Jalbă Eulita** **Secretar științific**, doctor în științe medicale, conferențiar universitar

**Grosu Aurel** doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

**Grib Liviu** doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar

**Botnari Victor** doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

**Carauș Alexandru** doctor habilitat în științe medicale, profesor cercetător

**Lutan Vasile** doctor habilitat în biologie, profesor universitar

Susținerea va avea loc la 6 martie 2015, ora 14<sup>00</sup>, în ședința Consiliului științific specializat DH 51 321.03-02 din cadrul IMSP Institutul de Cardiologie (Republica Moldova, mun. Chișinău, str. N. Testemițanu, 20), etajul 3, sala de conferințe.

Teza de doctor habilitat, lucrările științifice și autoreferatul pot fi consultate la biblioteca IMSP Institutul de Cardiologie și la pagina web a C.N.A.A. ([www.cnaa.md](http://www.cnaa.md)).

Autoreferatul a fost expediat la \_\_\_\_ ianuarie 2015

**Secretar științific  
al Consiliului științific specializat**

**Jalbă Eulita**  
doctor în științe medicale,  
conferențiar universitar

**Consultant științific**

**Costin Sava**  
doctor habilitat în științe medicale,  
profesor universitar

**Consultant științific**

**Cobeț Valeriu**  
doctor habilitat în științe medicale,  
conferențiar universitar

**Autor**

**Ciobanu Lucia**  
doctor în științe medicale,  
conferențiar cercetător

## INTRODUCERE

**Actualitatea temei și nivelul de studiere a acesteia.** Afecțiunile coronariene reprezintă cauza principală a mortalității cardiovasculare și se impun ca o povară socio-economică importantă în toate țările de pe glob. Tratatamentul leziunilor coronariene severe (stenoza coronariană, infarctul miocardic acut, angina pectorală instabilă) prin angioplastie, inițial cu balon și ulterior cu implantare de stent bar-metalic (BMS) și stent activ farmacologic (DES), a deschis noi perspective și speranțe.

Totodată, revascularizarea indusă prin stentarea arterei coronariene, care a demonstrat pe parcursul ultimilor 15-20 de ani o eficiență terapeutică superioară, poate fi asociată de fenomenul de restenoză intra-stent (RIS), evoluția căreia anihilează beneficiul PCI (procedură coronariană percutană) și necesită reabordarea segmentului cu RIS. Prezentările clinice ale RIS confirmate coronaro-angiografic se impun ca regulă prin apariția sau accentuarea anginei pectorale, precum și prin infarct de miocard. Deși incidența RIS s-a redus până la 15-35% în cazul stenturilor bar-metalice și 2-7% pentru stenturile DES, problema RIS rămâne una din abordările de actualitate ale cardiologiei intervenționale, interesul pentru acest domeniu având la bază 2 motivații de suport:

- Dificultatea tehnico-metodologică a manevrei de reabordare a arterei coronariene în cazul RIS și costurile mari ale acesteia;
- Incertitudinea patogeniei RIS care rămâne o formulă cu multe necunoscute, fapt ce limitează posibilitățile diagnostice, pronosticul, precum și elaborarea strategiilor farmacologice de prevenire a restenozei prin modularea țintelor patogenetice cheie.

Rezultatele acumulate în cadrul studiilor clinico-experimentale efectuate în vederea decelării fiziopatologiei restenozei intra-stent sau a restenozei induse prin injuria mecanică a arterei au conturat unele evenimente importante care asociază hiperplazia neointimei, substratul morfologic al RIS.

În acest context sunt remarcabile evidențele care sugerează rolul reorganizării matricei extracelulare, disfuncției endoteliale, al sistemului de regenerare celulară prin celulele endoteliale progenitoare, și al proliferării și migrării celulare etc. [1, 2, 3]. Cu toate acestea mecanismele cheie ale proceselor patologice iminente sunt în mare măsură necunoscute, obiectivele cercetărilor care se desfășoară actualmente în acest sens sunt proiectate pe 2 aspecte cardinale [4]:

- Are patogenia RIS mecanisme comune cu paternul evoluției injuriilor aterosclerotice și cel al remodelării vasculare?

- În majoritatea cazurilor dezvoltarea RIS se produce după cca 5-6 luni de la momentul PCI, interval care este mult mai scurt decât cel ce specifică evoluția injuriilor aterosclerotice. Totodată ea nu are caracter reversibil comparativ cu remodelarea arterelor periferice sau coronariene.

Preocupările noastre de bază pe parcursul a mai multor ani sunt în consonanță cu abordările cardiologiei intervenționale mondiale în planul de studiu al patogeniei restenozei intra-stent și consemnează următoarele priorități și direcții:

- Elucidarea rolului stresului oxidativ și al inflamației sistemice (IS) nespecifice, două mecanisme cheie recunoscute în patogenia injuriilor și remodelării vasculare (inclusiv și a remodelării miocardului), în procesul de hiperplazie a neointimei.

- Evaluarea rolului stresului oxidativ și răspunsului inflamator în impactul traumatic al manevrei de implantare a stentului, dat fiind că aceștia sunt vizați drept factorii trigger ai leziunilor endoteliale induse prin injurii mecanice, activarea statusului protrombotic și alte deranjamente ale hemostazei, cât și prin activarea neuroendocrină [5, 6].

- Elucidarea caracterului modificării interstițiului peretelui coronarian, predilect al proteinelor scheletice principale, cum ar fi colagenul fibrilar I, III și IV, fibronectina, laminina și tenascina. Acestea reglează nu numai integritatea structurală a straturilor inerente (intima și media musculară), dar asigură și interacțiunea activă dintre diferite componente ale lor. Totodată, matricea extracelulară influențează nemijlocit fiabilitatea migrării celulare și, deci, poate fi o determinantă însemnată a gradului de hiperplazie a neointimei pe contul creșterii numărului diferitor celule. La această conotație este oportună decelarea corelației dintre evidențele morfologice ale reorganizării matricei extracelulare și titrele markerilor circulanți care reflectă activarea sintezei sau degradării proteinelor scheletice, colagenul fibrilar fiind în deosebi important ca material organic de bază al interstițiului.

- Aprecierea relației dintre disfuncția endotelială, deficitul de oxid nitric, pe de o parte, și stresul oxidativ, impactul citokinic, pe de altă parte. Carența de oxid nitric este un mecanism de potențare a acțiunii mitogene și de creștere a diferitor factori neuroendocrini (*i.e.* endotelina 1, Ang II), iar diminuarea expresiei NOsec asociază remodelarea vasculară și se corelează cu vasomotricitatea periclitată.

Comprehensivitatea acestor abordări va permite o înțelegere integrală mai profundă a patogeniei restenozei intra-stent. Totodată, studiul complex al stresului oxidativ, al răspunsului inflamator și reorganizării matricei intercelulare prin intermediul markerilor specifici va evidenția predictorii fiabili ai riscului RIS.

Sub aceste aspecte **scopul studiului** constă în:

Evaluarea mecanismelor patogenetice și a predictorilor restenozei intra-stent.

**Obiectivele studiului:**

1. Evaluarea aspectelor clinice, parametrilor biologici și a factorilor de risc cardiovascular asupra apariției restenozei.
2. Estimarea rolului inflamației sistemice în evoluția restenozei intra-stent prin determinarea în dinamică a nivelelor circulante ale citokinelor și chemokinelor iminente la pacienții cu și fără RIS.
3. Evaluarea rolului stresului oxidativ în evoluția restenozei intra-stent prin determinarea în dinamică a titrelor circulante ale produselor de peroxidare a lipidelor și proteinelor, precum și ale componentelor sistemului antioxidant la pacienții cu și fără RIS.
4. Analiza paternelui morfologic al RIS și indicilor remodelării coronariene estimați prin metoda IVUS (ultrasonografia intravasculară) și OCT (tomografie coerentă optică).
5. Evaluarea expresiei și cantității de RLO (radicali liberi de oxigen), TNF- $\alpha$  și IL-1 $\beta$  în paternel tisular al stentului stenozat, precum și corelarea acestora cu conținutul lor în serul sanguin.
6. Determinarea expresiei și cantității e-ARN (acid ribonucleic extracelular), estimat drept un factor cu acțiune trigger asupra răspunsului inflamator și apoptozei celulare în paternel tisular al stentului stenozat, precum și a corelării cu cantitatea RLO, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  și gradul de restenoză.
7. Evaluarea caracterului reorganizării matricei extracelulare în segmentul coronarian cu RIS prin determinarea paternelui morfologic al colagenului fibrilar de tip I și III (raportul cantitativ colagen fibrilar/colagen fibrilar degradat).
8. Evaluarea markerilor degradării, C1P (telo-peptidul carboxi-terminal al colagenului I) și sintezei PICP (peptidul carboxi-terminal al procollagenului I) ai colagenului fibrilar de tip I în segmentul coronarian precum și corelarea lor cu gradul de restenoză, numărul de macrofage în zona neointime.
9. Determinarea în dinamică a modificărilor sanguine ale oxidului nitric la pacienții suși angiopalstiei.
10. Evaluarea *in vitro* a acțiunii Ang 1-7 mediate prin receptorii *mas* asupra reactivității vasculare periferice și coronariene pe fondalul disfuncției endoteliale diabetogene, precum și acțiunea Ang 1-7 asupra efectului vasoconstrictor al Ang II.

### **Noutatea științifică și originalitatea studiului.**

În premieră absolută s-a determinat expresia și cantitatea ARN extracelular în paternul tisular al segmentului coronarian cu RIS.

Pentru prima dată s-a efectuat corelarea cantității ARN extracelular prezent în media și zona neointimei a restenozei cu indicii cantitativi ai TNF-alpha, IL-1B, RLO și gradul de restenoză. Implicația inflamației și stresului oxidativ este confirmată și prin evaluarea nivelurilor circulante ale markerilor iminenți.

S-au adus noi dovezi privind particularitățile reorganizării matricei extracelulare în patogenia RIS, rolul acesteia și a activării colagenazei IV care scindează lamina elastică internă și contribuie la migrarea celulară și hiperplazia neointimei. Acumularea în neointimă a moleculelor de colagen degradat constituie în asociere cu miocitele netede secretoare un mecanism de hiperplazie a acesteia. S-au obținut evidențe noi cu privire la turnover-ul colagenului I (PICP, CITP).

Pentru prima dată s-a demonstrat, că destrucția și reorganizarea matricei extracelulare asociază evoluția restenozei intra-stent. Oportunitățile bine definite sunt: reducerea ratei de sinteză a colagenului fibrilar de tip I, augmentarea degradării colagenului fibrilar de tip I, acumularea colagenului de tip III, creșterea semnificativă a raportului colagen III/I odată cu avansarea gradului de restenoză. De consemnat că devierile markerilor PICP și CITP în țesut și sânge sunt similare.

În premieră pentru Republica Moldova a fost aplicată metoda de evaluare a paternului morfologic al leziunilor coronariene la pacienții expuși angioplastiei prin OCT cât și s-a evaluat mecanismul restenozei în stenturile DES.

În premieră mondială s-a apreciat efectul Ang 1-7 asupra reactivității vasculare periferice și coronariene în disfuncția endotelială diabetogenă, precum și rolul receptorilor *mass* în promovarea acțiunii vasoconstrictoare a Ang II.

**Rezultatele principal noi pentru știință și practică obținute** constau în elucidarea unor mecanisme noi ale hiperplaziei neointimei și reorganizării matricei extracelulare ce se află la baza evoluției restenozei intra-stent, prin care s-au consolidat repere importante ale patogenei remodelării coronariene negative după angioplastie, contribuind astfel la optimizarea diagnosticului și pronosticului RIS, precum și la conturarea țintelor terapeutice de prevenire sau atenuare a restenozei.

### **Semnificația teoretică.**

Rezultatele obținute contribuie la elucidarea mecanismelor oportune ale restenozei intra-stent, la integrarea apanajului fiziopatologiei ce vizează hiperplazia neointimei. S-a completat și

perfectat conceptul ce vizează rolul inflamației și al stresului oxidativ în remodelarea coronariană negativă după angioplastie.

A fost descifrat rolul e-ARN ca factor trigger al procesului inflamator din restenoză și decelată reducerea activității RNA-azei la pacienții cu RIS, evidențe care se pot utiliza în elaborarea unor metode de creștere a acestui ferment atât pe cale endogenă, cât și prin intervenții exogene (e.g. stenturi îmbibate cu această enzimă).

S-au desemnat particularități inedite privind interacțiunea diferitor componente ale sistemului renină-angiotensină-aldosteron și rolul receptorilor *mass* în reactivitatea vasculară periferică și coronariană compromisă prin disfuncția endotelială.

### **Valoarea aplicativă.**

Studiul prezent a consolidat criteriile importante de apreciere a riscului RIS și trombozei prin intermediul tomografiei de coerențe optice și al ultrasonografiei intravasculare, precum și a fezabilității diagnostice a marcherilor care se corelează autentic cu indicii morfofuncționali estimați invaziv. Rezultatele studiului oferă noi opțiuni de diagnostic și pronostic al restenozei intra-stent prin utilizarea marcherilor inflamației nespecifice și ai stresului oxidativ cu valoare predictivă concludentă privind hiperplazia neointimei. Au fost argumentate unele strategii terapeutice farmacologice aplicate cu scopul prevenirii sau atenuării RIS prin modularea mecanismelor patogenetice cheie ale acestei complicații.

### **Aportul personal în efectuarea lucrării**

Elaborarea conceptului și design-ului de studiu, adaptarea chestionarului și selectarea metodelor de studiu, colectarea materialului, participarea nemijlocită la efectuarea atât a analizelor de laborator cât și a investigațiilor de diagnostic și tratament. Procesarea statistică, analiza tuturor materialelor acumulate și redactarea tezei.

### **Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere:**

1. În lotul general de 438 de pacienți care au fost supuși angioplastiei angina pectorală și leziunile multiconariene s-au constatat în 86,76% și, respectiv, 81,74% de cazuri. Incidența diabetului zaharat la pacienții care au dezvoltat restenoză intra-stent a fost net superioară comparativ cu indicele lotului de pacienți fără RIS: 38,48 *versus* 27,1%.
2. Aplicarea metodei IVUS a individualizat superioritatea numerică a cazurilor de prezență a restenozei focale în stenturile DES comparativ cu BMS: 83,3 *vs* 19,4%, iar raportul ariei de hiperplazie a neointimei a avut o relație inversă:  $1,4 \pm 1,3$  *vs*  $2,5 \pm 0,7$  mm<sup>2</sup>. Vizualizarea segmentului coronarian prin OCT permite identificarea paternelor morfologice de evoluție a RIS, care în stenturile de generație nouă excelează față de stenturile de prima generație prin valori mai reduse în medie cu 20% ale ariei de hiperplazie a neointimei.

3. În premieră mondială s-a demonstrat, că evoluția restenozei intra-stent este asociată de majorarea semnificativă a expresiei și cantității ARN extracelular în paternul tisular al RIS, care deja în media musculară a RIS de grad moderat atinge cote duble față de indicele inerent arterei coronariene normale.
4. Creșterea expresiei ARN extracelular în restenoza intra-stent impune conotații patogenetice certe vizavi de hiperplazia neointimei, substratul de bază al RIS, întrucât cantitatea acestuia demonstrează corelații de intensitate înaltă cu conținutul TNF-alpha ( $r=+0,8838$ ), de radicali liberi de oxigen ( $r=+0,799$ ) și cu numărul de macrofage pe o unitate de suprafață a neointimei ( $r=+0,8375$ ).
5. Rezultatele microscopiei fluorescente indică asupra fenomenului de reorganizare a matricei extracelulare în RIS, manifestată prin degradarea exagerată a colagenului fibrilar de tip I, iar moleculele de colagen I denaturat prezentând o componentă importantă a neointimei. Cantitatea markerului de sinteză a colagenului fibrilar de tip I (PITP) scade proporțional gradului de restenoză la rate de până la 75-85%, iar a markerului de degradare (CITP), dimpotrivă – se elevează la rate de până la 3,5-3,8 ori.
6. Augmentarea procesului de scindare a colagenului fibrilar de tip I se anunță ca o repercusiune a activării metaloproteinazei-2 (MMP-2 sau colagenaza IV) pe fondalul diminuării expresiei inhibitorului ei specific, iar degradarea matricei extracelulare și a laminei elastice interne cu conținut bogat de colagen fibrilar de tip IV deține un rol concludent în migrarea celulelor musculare netede vasculare ce preiau fenotipul secretor.
7. Determinarea nivelelor circulante ale markerilor de degradare și sinteză a colagenului fibrilar de tip I, e-RNA, precum și ale RNA-azei la pacienții cu restenoză intra-stent trece în evidență modificări similare cu cele atestate în studiul morfologic, fapt ce semnifică valoarea lor predictivă pentru riscul de evoluție a RIS.
8. Utilizarea panoului multi-marker tradus prin estimarea în sânge a peste 35 de markeri ai stresului oxidativ și inflamației sistemice aduce la apel rolul acestora în remodelarea coronariană negativă după angioplastie, fapt ce este în consonanță cu datele studiului morfologic ce evidențiază creșterea expresiei RLO, TNF-alpha și IL-1beta. Valoare de predictor al riscului RIS dețin DAM, AAT, rezistina, heregulina-1beta, IL-6 și IL-8.
9. Evaluarea *in vitro* a reactivității vasculare periferice și coronariene în disfuncția endotelială diabetogenă denotă rolul acțiunii Ang 1-7 mediată prin receptorii *mass* în controlul benefic al vasomotricității compromise de carența de NO. Efectul vaso- și coronarocnstrictor al Ang II este semnificativ diminuat de către Ang 1-7, iar blocarea receptorilor *mass*, dimpotrivă, se expune prin efect de potențare.



### **Implementarea rezultatelor științifice**

Rezultatele științifice au fost implementate în Clinica Institutului de Cardiologie, în procesul de instruire la Catedra Cardiologie, Catedra Fiziopatologie și Fiziopatologie Clinică cât și în activitatea de cercetare a Laboratorului Științific Central al Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu".

### **Aprobarea rezultatelor științifice.**

Rezultatele lucrării au fost prezentate la diferite foruri științifice de nivel național și internațional: Al 48-lea Congres Național de Cardiologie, România, Sinaia, 2009; World Congress of Cardiology, Beijing, 2010; Congress of European Society of Cardiology, Stockholm, 2010; Российский Конгресс кардиологов, Москва, 2010; Congress of European Society of Cardiology, Frontiers in Cardiovascular Biology, Berlin, 2010; II-й Евразийский Конгресс кардиологов и IV-й Национальный съезд кардиологов Республики Беларусь, Минск, 2011; Conferința Științifico - Practică „Actualități în cardiologie”, Chișinău, 2011; Al 50-lea Congres Național de Cardiologie, România, Sinaia, 2011; Conferința Națională în Medicină Internă, Chișinău, 2011; Al 51-lea Congres Național de Cardiologie, România, 2012; Congresul European de Cardiologie, Germania, Munich, august 2012; Al 52-lea Congres Național de Cardiologie, România, Sinaia, 2013; MoldMedizin&MoldEnt, Chișinău, 2012; MoldMedizin&MoldEnt, Chișinău, 2013; Sesiunea XIX a zilelor uniunii medicale balcanice. Simpozionul cardiologie, Republica Moldova, Chișinău, 2013; The Belgian and International Trade Fair for Technological Innovation. Bruxelles, 2013; ESC Congress. Frontiers in Cardiovascular Biology. Barcelona, 2014-2 rapoarte; World Congress of Cardiology. Australia, Melbourne, 2014 – 2 rapoarte; ESC Congress. Heart Failure, Atena, 2014; ESC Congress. Barcelona, 2014 – 3 rapoarte; 53-lea Congres Național de Cardiologie din România, 2014; MoldMedizin&MoldEnt, Chișinău, 2014; III-lea Congres Euroasiatic de Cardiologie, Rusia, Moscova, 2014 (raport în ședința plenară).

Materialele tezei au fost aprobate la ședința laboratorului științific „Cardiologie intervențională” al IMSP Institutul de Cardiologie din 23.10.2014 (proces verbal nr. 2); la ședința Seminarului Științific de Profil „Boli interne” (321.01) din cadrul IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” (hotărârea SȘP din 24.11.2014) și la nivelul Seminarului Științific de Profil, specialitatea „Cardiologie și reumatologie” (14.00.06) din cadrul IMSP Institutul de Cardiologie din 28.11.2014 (proces verbal nr. 13).

**Publicațiile la tema tezei.** La tema tezei au fost publicate 94 de lucrări științifice, inclusiv o monografie, 6 articole de sinteză, 4 articole în reviste de circulație internațională, 21 articole în reviste naționale recenzate, 1 articol în culegeri științifice naționale, 1 articol în culegeri

științifice internaționale, 54 de comunicări rezumative incluse în materialele congreselor internaționale, 2 brevete de invenții distinse cu 5 medalii de argint la Saloane de Inventică europene și mondiale, 9 din publicațiile menționate sunt de monoautorat.

**Volumul și structura tezei.** Teza este scrisă în limba română, expusă pe 251 pagini și constă din introducere, 7 capitole, sinteza rezultatelor, concluzii generale, recomandări practice, rezumate în limba română, rusă și engleză și bibliografia cu 272 de referințe. Materialul ilustrativ include 91 de tabele și 41 de figuri.

**Cuvinte-cheie:** restenoza intra-stent, inflamația sistemică, stresul oxidativ, predictorii ai restenozei, angiocoronarografie, ultrasonografie intracoronariană, tomografia de coerență optică, acid ribonucleic extracelular.

## CONȚINUTUL TEZEI

### 1. REPERE CONCEPTUALE CONTEMPORANE ALE REMODELĂRII CORONARIENE NEGATIVE ȘI EVOLUȚIA RESTENOZEI INTRA-STENT

La acest compartiment de investigații se face o trecere în revistă a literaturii de specialitate, care se referă la complexitatea reperelor conceptuale privind fiziopatologia evoluției remodelării coronariene negative după angiopalstie și a restenozei intra-stent. Sunt expuse dovezile stipulate în literatura de domeniu vizavi de rolul inflamației sistemice și stresului oxidativ în remodelarea vasculară și coronariană, inclusiv în formatul reacției de răspuns la injuria vasului. Sunt evidențiate principiile abordării panoului multi-marcher în evaluarea intensității și diseminăției inflamației sistemice, a stresului oxidativ, precum și predictorilor de diagnostic și prognoză a remodelării coronariene negative. Sunt elucidate mecanismele prin care interfața ce angrenează răspunsul inflamator, stresul oxidativ și disfuncția endotelială contribuie la acumularea în zona neointimei a celulelor proinflamatoare și stimularea expresiei moleculelor de adeziune intercelulară. Este desemnată semnificația fiziopatologică a markerilor specifici ai inflamației sistemice și stresului oxidativ, originea celulară a acestora, modalitatea de interacțiune și valoarea diagnostică. În contextul exacerbării leziunilor endoteliale coronariene în cadrul manevrei de implantare a stentului sunt descrise beneficiile ale acțiunii vasotrope a Ang 1-7, mediară prin receptorii mass, manifestate prin contracararea efectelor mitogene, de creștere și vasoconstrictorii Ang II mediate prin receptorii AT1. Sunt elucidate cauzele și factorii care periclitează mecanismele oportune de control al migrării și proliferării celulare (în primul rând a celulelor musculare netede coronariene), procese ce se află la baza hiperplaziei neointimei, substratul morfologic al restenozei intra-stent. Un accent deosebit este acordat caracterului reorganizării matricei extracelulare care facilitează migrarea miocitelor netede coronariene cu fenotip secretor. Este trecut în evidență rolul metaloproteinazelor MEC, familii de enzime

proteolitice cu conținut de serină și cisteină, în sinteza și degradarea componentelor proteice ale citoscheletului interstițial, precum și al factorilor trigger ai activării acestora. Sunt relatate posibilitățile de utilizare a markerilor de sinteză și degradare a colagenului fibrilar de tip I și III în estimarea turnover-ului acestei proteine importante a MEC. Prin prisma relatărilor recente ce vizează ARN extracelular drept o moleculă de alarmă a injuriei celulare sunt expuse evidențele de angrenare a factorilor proinflamatori și factorilor trigger ai apoptozei celulare, precum și rezultatele experimentale cu referire la aportul ARN-azei în atenuarea leziunilor celulare induse. Au fost expuse entitățile și posibilitățile diagnostice inerente metodelor contemporane invazive de vizualizare a leziunilor coronariene, cum ar fi IVUS și OCT.

## **2. MATERIALUL DE STUDIU ȘI METODELE DE INVESTIGARE**

### **2.1. Proiectarea cercetării și protocolul de studiu**

Prezentul studiu și-a propus drept obiectiv evidențierea premiselor (factorii de risc) care condiționează apariția și dezvoltarea restenozei, precum și evaluarea mecanismelor patogenetice ale acestei complicații severe ce poate apare după intervenția PCI.

Lotul general de studiu a încadrat succesiv 438 de pacienți care au suportat în diferite perioade de timp procedura de angioplastie coronariană efectuată la nivelul Departamentului Cardiologie Intervențională al Institutului de Cardiologie. O parte din aceștia au fost recrutați când după o perioadă de timp s-au prezentat pentru consult medical cu acuze încadrabile în semiologia fenomenului de restenoză, confirmată apoi angiografic. O altă parte din ei au fost depistați activ, invitând rând pe rând pacienți care la examenele angiografice anterioare aveau restenoze de grade moderate – până la 50% și care între timp s-ar fi putut constitui în restenoze periculoase. Toți cei 438 de pacienți incluși în studiu prezentau stenoze coronariene de >50%, pentru care ulterior au fost supuși procedurii PCI cu implantarea de stent.

Pentru fiecare din acești pacienți s-a completat un chestionar care includea informații anamnestice, clinice, tehnica PCI etc., cca 560 indicatori.

După procedura de angioplastie lotul general (438 pacienți) a fost divizat în 2 loturi: lotul 1 includea pacienții care au dezvoltat restenoză (în continuare pacienții cu restenoză - 117) și lotul 2 - pacienții care nu au dezvoltat restenoză (în continuare pacienții după angioplastie - 321). La rândul-le, aceste 2 loturi au fost subdivizate în 4 subploturi: subplotul 1 a inclus pacienți cu restenoză care sufereau și de DZ (38 pacienți) și subplotul 2 pacienții care au dezvoltat restenoză după PCI dar fără DZ (43 pacienți). În subplotul 3 s-au inclus pacienții după angioplastii care nu au dezvoltat restenoză dar sufereau de DZ (36 pacienți), iar în subplotul 4 – pacienții care nu au dezvoltat restenoză după PCI și nu sufereau de DZ (40 pacienți).

Diagrama de ansamblu a studiului realizat este prezentată în figura nr.1.

La pacienții din ambele loturi și, respectiv, din cele 4 subloturi au fost evaluați markerii stresului oxidativ, markerii inflamației precum și valorile NO. Aceiași indicatori au fost evaluați și la lotul martor – 50 de persoane sănătoase. Markerii sus numiți au fost evaluați preprocedural, și la 24 ore, 1, 3, 6 și 12 luni postprocedurale. Un grup de 39 pacienți a fost examinat prin OCT și încă 47 pacienți - prin IVUS.

Un alt bloc de investigații s-a realizat pe punctul unui studiu experimental (montat pe animale de laborator), care a estimat parametrii reactivității vasculare periferice și coronariene în contextul disfuncțiilor endoteliale diabetogene. De asemenea a fost evaluat rolul Ang. 1-7 și a receptorilor *mass*.

Explorările morfologice au fost realizate pe țesutul preluat din zona restenozei intrastent de la 19 pacienți decedați. Studiul morfologic a inclus determinarea în segmentul vasului restenozat a ARN extracelular, MMP2, colagenului tip I, III, PICP și C1P, TNF-alfa, RLO, IL-1 beta, macrofagelor.

### Design-ul studiului

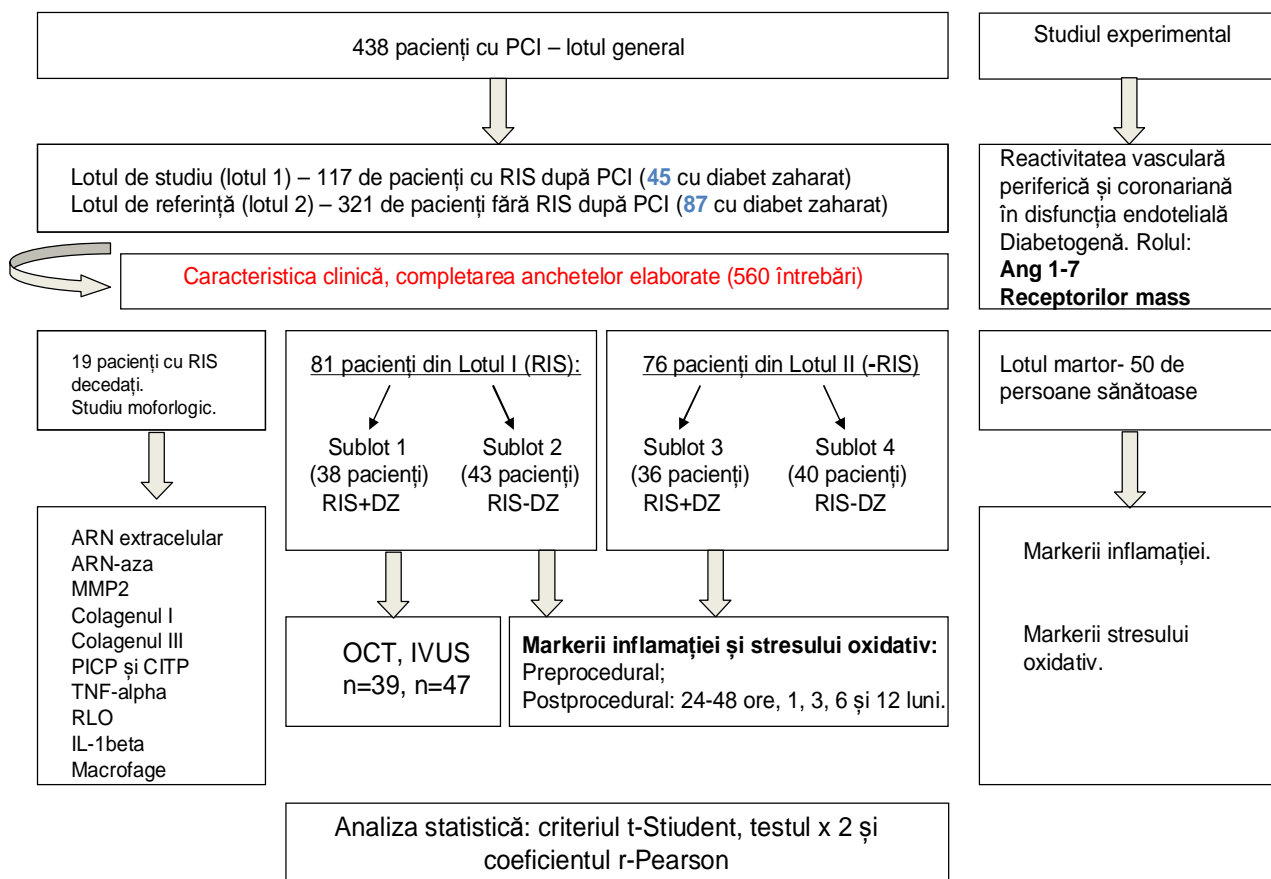


Figura 1.

## 2.2 Analiza multiaspectuală a parametrilor clinico-statutari și morfo-funcționali care concură la apariția restenozei

Obiectivul central al studiului inițiat s-a axat asupra restenozei, de aceea cercetările și analizele s-au realizat în vederea evidențierii premiselor ce concură la dezvoltarea acestei grave complicații. Cercetările de profunzime s-au concentrat deci asupra pacienților la care la diferite etape poststentare s-a produs complicația de restenozare a segmentului abordat, iar rezultatele fiind comparate cu cele ale pacienților ce nu au produs această complicație.

Astfel, apariția restenozei s-a analizat în funcție de apartenența de sex, în relație cu premisele anatomice ale injuriei vasculare, cu modalitatea de abordare tehnică, cu tipul de stent montat, cu programul de conduită terapeutică postintervențională, inclusiv medicația cu statine și îndeosebi în funcție de statutul diabetic al acestor pacienți.

În tabelul 2.1. sunt prezentate datele clinico-statutare și factorii de risc major pe care îi comportă pacienții ce se pretează intervenției de revascularizare coronariană.

Tabelul 2.1. Parametrii clinico-statutari de ansamblu ai pacienților încadrați în studiu (n=438)

Caracteristici evaluate	Indicator general
Vârsta	35 – 78 (58,49± 0,38)
Sexul	bărbați – 333 femei – 105
FE	53,08±0,35
Leziuni monovasculare	80 (18,3%)
Leziuni multivasculare	358 (81,8%)
Angină stabilă	380 (86,8%)
Angină instabilă	29 (6,6%)
IM anamnestic	266 (60,8%)
Diabet zaharat	132 (30,1%)
Tabagism	27 (6,2%)
Dislipidemie	327 (74,7%)
HTA	386 (88,1%)

## 2.3 Evaluarea indicatorilor stresului oxidativ și al inflamației la pacienții supuși angioplastiei

Determinarea gradului de leziuni tisulare s-a efectuat și prin studiul proceselor de peroxidare cu radicali liberi, stării sistemului antioxidant și altor parametri homeostazici la pacienții supuși angioplastiei:

- Intensitatea proceselor de peroxidare a lipidelor (PPL) la pacienți a fost estimată în serul sanguin după nivelul dialdehidei malonice, produșilor proteici de oxidare avansată (PPOA), produselor finale de glicare avansată (PFG), albuminei ischemic-modificate (AIM), oxidului nitric (NO) și a S-nitrozotiolilor;

- Potențialul antioxidant a fost apreciat prin studierea activității antioxidante totale (AAT), nivelului superoxidismutazei și catalazei, conținutului de grupări tiolice ale proteinelor, dipeptidelor histidinice și ceruloplasminei în serul sanguin;

- Parametrii ciclului glutationic au fost apreciați prin evaluarea activității glutationreductazei, glutationperoxidazei, glutation-S-transferazei,  $\gamma$ -glutamyltranspeptidazei;

- Determinarea gradului de exocitoză a hidrolazelor lizozomice în urma destrucției biomembranelor celulare și degranulării leucocitelor în focarul patologic s-a realizat pe baza determinării activității N-acetil-  $\beta$ -D-glucozaminidazei în serul sanguin [7];

- Valorile ceruloplasminei – o proteină a fazei acute a inflamației cu proprietăți antioxidante și care prognosticează evoluția procesului inflamator au fost estimate în serul sanguin conform metodei descrise de Колб В.Г., Камышников В.С.[8], iar dipeptidele histidinice au fost dozate prin metoda elaborată de Северин С.Е. [9].

#### 2.4. Studiul morfologic

Explorările morfologice s-au efectuat pe paternul tisular al restenozei preluat de la 19 pacienți cu RIS decedați, investigațiile fiind realizate în colaborare cu dl Sava Costin, dr. hab. med., prof. universitar, șeful Departamentului Biologie Moleculară și Structurală al Institutului Max-Planck de Cercetare a Inimii și Plămânului (Bad-Nauheim, Germania).

**Microscopia fluorescentă.** Criosecțiunile cu grosimea de 5  $\mu$ m au fost uscate și spălate în bufer salin fosfat (BSF). După incubare de 30 min cu albumină de ser bovin, mostrele au fost incubate circa 12 ore cu anticorpi primari (tab. 2.2).

Tabelul 2.2. Chiturile de anticorpi, proveniența acestora, caracteristicile funcționale și diluțiile utilizate în cursul investigațiilor morfologice

Anticorpi	Clonul/Număr de catalog	Firma	Sursa	Diluția
Collagen I	COL-1	Sigma	Monoclonal	1:50
Collagen III	600-401-105-0.1	Rockland	Policlonal	1:300
PINP	ABIN1173987	Biocompare	Policlonal	1:100
CITP	-	Cadou de la Dr. Risteli*	Policlonal	1:100
CD68	PG-M1	Dako	Monoclonal	1:50
TNF-alpha	AS-1	Santa Cruz	Monoclonal	1:100
IL6-beta	16806-1-AP	Acris	Policlonal	1:500
SM-actina	1A4	Sigma	Monoclonal	1:250
MMP2	5G3	Acris	Monoclonal	1:100
TIMP1	PA1-85923	ThermoScientific	Policlonal	1:200

Acidul ribonucleic extracelular s-a determinat prin Sytox® după metoda descrisă de Hector A. Cabrera-Fuentes, Marisol Ruiz-Meana, Sawa Kostin, et al. [10].

Apoi, mostrele au fost spălate în BSF și incubate timp de 60 min cu anticorpi secundari (IgG) către biotina murină sau de iepure (Dianova), după ce s-au incubat cu streptavidină conjugată (Cy2 sau Cy3). Nucleele au fost colorate în albastru prin DRAQ5 (Alexis) sau DAPI (probe moleculare). Secțiunile tisulare au fost examinate utilizând microscopia confocală laser (Leica TCSSP2). Pentru a individualiza secțiunile optice confocale s-au utilizat linzele Leica Planapo x 40/1.00 sau x 63/1.32. Fiecare imagine scanată avea o rezoluție de 1024 x 1024 pixels. Pentru a ameliora calitatea imaginilor, fiecare din aceasta a fost racordată la intensitate medie a semnalelor și transferată în dispozitivul grafic de silicon, pentru a obține imagine tridimensională, utilizând sistemul multi-canal de procesare Bitplane (Elveția).

**Determinările cantitative prin imunofluorescență.** Au fost examinate criosecțiunile de la cel puțin 2 blocuri tisulare diferite. Toate mostrele au fost simultan imunologic marcate cu anticorpi primari și secundari în condiții identice de fixare și diluare. Secțiunile prelucrate în BSF și care n-au fost expuse la anticorpii primari au servit drept martor negativ. La fiecare probă preluată de la pacient au fost analizate randomizat cel puțin 10 câmpuri de viziune prin intermediul microscopului imunofluorescent Leica (Leitz DMRB), aplicând obiectivul Planapo x 40. Criosecțiunile marcate imunologic au fost studiate prin analiza de imagine (Leica) și *Software*-ul Image J. Pentru fiecare proteină s-a stabilit un set specific, menținut constant în toate măsurările. Zona marcajului specific al MPM-2 (metaloproteinaza matricei-2) și al ITMPM-2 s-a calculat ca valoare procentuală din marcajul pozitiv inerent ariei tisulare.

**Hibridizarea *in situ*.** A fost aplicată pentru analiza micro-ARN/145 și micro-ARN/143. Prima bandă a ADN-lui complementar s-a sintetizat din ARN miocardial uman. Reacțiile de transcripție inversă realizate prin intermediul Superscript II (Invitrogen) și OligodT (Promega) au fost urmate de reacția PCR cu polimeraza 5U Taq (0,2 pmol) iminentă micro-ARN/145. Secvențele amplificate prin PCR au fost purificate, clonate în pCRII-TOPO vector (Invitrogen) și ordonate. Probele sintetizate pe TOPO-ANP au fost liniarizate prin *plasmid* Hind III și EcoRI, utilizând ARN-polimeraza T7 sau Sp6 (Promega) și marcate prin digoxigenină. Hibridizarea *in situ* s-a efectuat utilizând anticorpi către digoxigenina conjugată prin alcalina fosfată. Intensitatea micro-ARN/145 s-a determinat utilizând Image J și s-a estimat ca unități de intensitate pe arie tisulară.

**Examenul cantitativ prin PCR în timp real.** ARN-ul total a fost extras din țesutul vascular, utilizând reagentul TRIzol (Invitrogen Life Technologies, USA). După tratarea cu AND-aza (enzima care catalizează scindarea hidrolitică a legăturilor fosfodiesterice ale AND-ului, TURBO DNA-free Ambion, ARN (100 ng) a fost transcris invers (Superscript II, Invitrogen). ADNc a fost amplificat în sistemul PCR (reacția de polimerizare în lanț) în timp real

(PCR-TR) iCycler. Mostrele au fost supuse la 3 măsurări cu cel puțin 2 repetări independente ale experimentului.

Cantitatea relativă a transcriptului normalizată cu ARN 18 S s-a calculat urmând procedurile standarde acceptate [11,12].

### **2.5. Metodele de procesare statistică**

Semnificația discrepantei statistice între loturi a fost estimată utilizând coeficientul de încredere t-Student. Pentru determinarea acestuia s-au calculat valorile mediei aritmetice (M), ale erorii medii a mediei aritmetice (m) și ale sumei devierilor pătrate. Probabilitatea erorii a fost calculată utilizând tabelele speciale pentru valoarea **p** în funcție de valoarea coeficientului de încredere **t**. Devierea valorii medii a indicelui explorat față de valoarea de referință (sau martor) se consideră statistic semnificativă, dacă probabilitatea erorii nu depășește 5%, deci  $p < 0,05$ . Pentru aprecierea semnificației diferenței dintre valorile absolute s-a utilizat testul  $X^2$ , iar a corelației dintre variabilele loturilor de comparare – coeficientul r Pearson.

## **3. PARAMETRII CLINICO-STATUTARI AI BOLNAVILOR CORONARIENI SUPUȘI INTERVENȚIEI DE ANGIOPLASTIE**

### **3.1. Structura de gender, vârstă și alți parametri clinici și biologici ai bolnavilor încadrați în cercetare**

Conform unui program acceptat în Departamentul cardiologie intervențională ca fiind de protocol pentru conduita diagnostică și curativă a bolnavilor suferinzi de CPI (cardiopatie ischemică), pacienții cu stenoze ale vaselor coronariene, sunt examinați minuțios, sub multiple aspecte și din diferite unghiuri de vedere, pentru a surprinde și cataloga precondițiile incriminate ca având valoare în dezvoltarea stenozei coronariene în general și a complicației de restenoză în special.

În studiu au fost înrolați, precum am menționat, 438 de pacienți care au urmat procedura de angioplastie, dar ne-am concentrat ca efort de investigare asupra a 117 pacienți care la diferite etape de evoluție postintervențională au produs complicația de restenoză a vaselor coronariene pe care s-au montat diferite tipuri de stent.

Pornind de la faptul că factorii etiologici ai restenozei nu se cunosc, analiza precondiției și postcondiției poate contribui la descifrarea patogeniei restenozei.

Sorginta afecțiunii de cardiopatie ischemică se definește de impactul ce combină asocierea unor factori de risc major pentru dezvoltarea și eventuala vulnerabilitate a plăcii ateromatoase, cum ar fi hipercolesterolemia, fumatul, diabetul zaharat și alte condiții clinice și premise biologice, prin care asemenea pacienți necesită abordare sistemică în scopul stabilizării profilului de risc înalt, care poate condiționa obliterarea diferitor segmente ale



circuitului magistral, inclusiv în sistemul coronarian (tabel 3.1).

Din cele constatate în lotul general de studiu a reieșit, că circa 88% de pacienți sufereau de HTA gr.II și III; dislipidemiile prezentau circa 74,7%, o treime din pacienți suferă de diabet zaharat. Obișnuința tabagică era prezentă la 6,2% din cei examinați. De notat că peste 2/3 din pacienți (70,4%) practică un regim de activitate fizică moderată sau de regim intensiv, în schimb o treime din pacienți sunt evident predispuși spre sedentarism. De consemnat și unele diferențe de gender pentru unii factori de risc major: femeile din lotul destinat cercetării mai des au prezentat hipertensiune arterială de gradul III decât bărbații (65,1% și, respectiv, 41,57%)  $p < 0,001$ . Tot la acestea s-a atestat mai des diabetul zaharat – 41,9% față de 26,3% printre bărbați,  $p > 0,01$  (tabelul 3.1). Printre femei se evidențiază mai puțini fumători – 1,9% versus 7,1% la bărbați, chiar dacă aceste valori nu au atins semnificație statistică ( $p > 0,05$ ).

Tabelul 3.1. Factorii de risc evaluați la pacienții din lotul general prezentați în funcție de sex

Factorul de risc estimat	Lotul general		Bărbați(333)		Femei(105)		$\chi^2$	P
	abs.	%	abs.	%	abs.	%		
HTA								
• gr. II	178	40,6	148	44,58	30	28,57	19,28	<0,001
• gr. III	207	47,3	138	41,57	69	65,71		
Obezitate sau supraponderie	151	34,5	119	35,74	32	30,48	0,97	>0,05
Dislipidemie	327	74,7	246	73,87	81	77,14	0,45	>0,05
Diabet zaharat	132	30,1	88	26,43	44	41,90	9,08	>0,01
Fumători	27	6,2	25	7,51	2	1,90	4,33	>0,01
Activitatea fizică								
• Minimă <30min	121	27,6	93	27,93	28	26,67	3,07	>0,05
• Moderată 30-45min	301	68,7	225	67,57	76	72,38		
• Intensivă >45min	16	3,7	15	4,50	1	0,95		

Spectrul de asociații morbide, invariabil prezente la bolnavii suferinzi de cardiopatie ischemică, a fost examinat la început pentru lotul general de pacienți selectați pentru studiu, apoi și în secțiune de subploturi (cu și fără restenoză, apoi și la restenoticiile cu și fără diabet zaharat, funcție de vârstă și pe sexe etc.). Rezultatele angiogramelor obținute au evidențiat prevalența categorică a pacienților cu leziuni multivasculare (bi- și triconariene) – 358 (81,8%), numai 80 (18,3%) pacienți prezentau leziuni monovasculare.

### 3.2. Tehnicile de intervenție percutană aplicate în lotul general de pacienți

Complicația de restenoză este rezultanta unui concurs de multiple circumstanțe, deși în principal se incriminează două ca fiind definatorii pentru evoluția postintervențională: traumatismul dublu – unul provocat de balonul de predilatate și expandarea endoprotezei vasculare (stentului) și cel de al doilea – procesul inflamator suscitată de prima circumstanță cu

toate consecințele ce emerg din declanșarea acestuia. Astfel prin extinderea excesivă a stentului cu presiune mare este traumatizată intima vasului, injurie ce amplifică riscul de rupere coronariană. Subdimensionarea stentului (diametrul nepotrivit sau umflarea neadecvată) este la fel grevată de riscuri care reies din incongruența geometrică ce creează condiții de tromboză acută și restenoză intrastent, uneori chiar la etape tardive postoperaționale.

Prin intervențiile percutane efectuate în lotul general (438 de pacienți) s-au implantat 582 de stenturi, inclusiv 69 (10,9%) de stenturi implantate direct și 513 (88,1%) prin predilatări cu balon. La un pacient în medie au revenit 1,33 de stenturi. Au prevalat stenturile medicamentoase – 309 (53,1%) față de cele bar metalice – 273 (46,9%). Lungimea stenturilor montate a fost de la 16,51 mm la 20,40 mm, iar în diametru stenturile au măsurat între 3,04 și 3,21 mm. Presiunea medie de umflare a fost de 14,41 Atm.

### 3.3. Coroborarea complexului de parametri ce specifică lotul care a produs restenoză intrastent cu cei ai pacienților ce nu au produs această complicație

Precum am mai specificat, ținta cercetărilor inițiate de noi a fost restenoza intrastent, complicație clinică confirmată prin coronaroangiografie.

Tabelul 3.2. Parametrii clinici de ansamblu ai pacienților ce au dezvoltat restenoză comparați cu cei ai pacienților cu angioplastii ce nu au făcut restenoză

Parametrul evaluat	Lotul cu restenoză (117)		Lotul fără restenoză (321)		$\chi^2$	P
	Nr. de pacienți	%	Nr. de pacienți	%		
<b>Tipul anginei</b>						
Stabilă	89	76,07	291	90,65	25,35	<0,01
a. CF II	17	19,10	102	35,05	8,15	>0,01
b. CF III	72	80,89	189	64,94		
Instabilă	23	19,65	10	3,12		
<b>IM în anamnestec</b>	75	64,12	190	59,21		
QIM	52	69,33	131	68,94	1,29	>0,05
Non Q	23	30,66	59	31,05		
By-pass anterior	8	6,83	11	3,42	16,94	>0,01
<b>Insuficiență cardiacă</b>						
I NYHA	2	1,71	9	2,80	3,51	>0,05
II NYHA	97	82,91	253	78,82		
III NYHA	18	15,38	51	15,89		
HTA						
• gr. II	42	35,90	136	42,50	3,56	>0,05
• gr. III	64	54,70	143	44,69		
Exces de greutate sau obezitate	93	79,49	58	18,07	143,18	<0,01
Dislipidemie	84	71,80	242	75,40	0,69	>0,05
Diabet zaharat	45	38,48	87	27,10	4,58	>0,05
Fumători	21	17,95	6	1,87	38,32	>0,05

Clinica pacienților cu restenoză (117) se caracterizează prin următorii indicatori: angina pectorală stabilă a fost înregistrată în 76,1% de cazuri, inclusiv 81% aveau clasa funcțională III. Angina instabilă prezentau 23 (19,65%) de pacienți. Din anamneza celor 117 pacienți ce au produs restenoză s-a precizat că 75 (64,1%) aveau antecedente infarct miocardic, inclusiv cu unda Q – 69,3% sută și 30,6 la sută – fără unda Q. În grupul pacienților cu restenoză 8(6,8%) persoane au fost supuse anterior intervenției chirurgicale de By-pass. Majoritatea pacienților cu restenoză sufereau de insuficiență cardiacă II NYHA (82,9%). Spre comparație în lotul de pacienți cu angioplastii care nu au dezvoltat complicația de restenoză sufereau de angină pectorală stabilă 291 pacienți (90,7%) inclusiv de clasa funcțională III - 189 persoane (64,9%). Angina instabilă s-a înregistrat la 3,1% (10 persoane) din pacienți. Antecedente de infarct miocardic aveau 190 (59,2%) de pacienți, predominând cel cu unda Q (68,9%). 11 (3,4%) pacienți au suportat anterior operația de By-pass aorto coronarian anterior. Majoritatea pacienților (253 ori 78,8%) prezentau insuficiență cardiacă de gradul II NYHA (tab. 3.2).

În total la cei 117 pacienți au fost depistate 124 restenoze. La pacienții din lotul cu restenoză intrastent s-au implantat 72 de stenturi metalice. Cel mai frecvent restenoza s-a dezvoltat pe stentul metalic de tip Vision – 41,7% pacienți. Pe locul doi în lotul cu restenoza s-a plasat stentul metalic tip Driver - în proporție de 27,8% cazuri.

Stenturile medicamentoase au dezvoltat restenoza mai rar. În total la pacienții lotului cu restenoza au fost implantate 42 de stenturi medicamentoase. Cel mai frecvent implantate au fost stenturile medicamentoase acoperite cu Everolimus – în proporție de 43%, urmate de stenturile impregnate cu Paclitaxel și Sirolimus – în 16,7% cazuri. Mai puține cazuri au fost rezolvate cu stenturile medicamentoase acoperite cu Zotarolimus. Conform studiului nostru am obținut date care ne vorbesc că la pacienții ce au dezvoltat restenoză presiunea medie de umflare atât pentru stentul DES cât și BMS a fost mai mare. Același lucru putem spune și despre lungimea și diametrul stentului, deci la pacienții ce au dezvoltat restenoză se determină o lungime de stent mai mare versus pacienții ce nu au dezvoltat restenoză, diametrul stenturilor atât DES cât și BMS s-a determinat a fi mai mic la pacienții cu restenoză, datele fiind statistic valide (tabel 3.3).

La pacienții lotului cu angioplastii coronariene care nu au dezvoltat restenoza au fost implantate 468 stenturi dintre care: 201 – stenturi simple și 267 – stenturi medicamentoase. Cel mai frecvent au fost implantate stenturile metalice tip Vision – în 44,7 % cazuri, urmate de tipul Liberte în – 17,1% cazuri și Driver – în 11,9% cazuri.

Tabelul 3.3. Caracteristica tehnică comparată a intervențiilor percutane efectuate în lotul cu restenoze și în cel care nu a produs restenoze

Principiul tehnic considerat	Lotul cu restenoze (117/124 restenoze)	Lotul fără restenoze (321)	$\chi^2$	P
	abs. (%)	abs. (%)		
Cu stentare directă	20 (3,43)	21 (5,0)		
- BMS (metalic simplu)	72 (12,3)	201 (34,5)	9,42	<0,01
- DES (stent medicamentos)	42 (7,21)	267 (45,8)	9,42	<0,01
Presiunea medie de umflare stent simplu	14,93 atm.	14,07 atm.		<0,001
Presiunea medie de umflare DES	14,51 atm.	14,06 atm.		<0,05
Lungimea medie a stentului bar metalic	20,20 mm	19,3 mm		<0,05
Diametrul mediu al stentului bar metalic	3,24 mm	3,19 mm		<0,05
Lungimea medie a stentului DES	23,56 mm	22,7 mm		<0,05
Diametrul mediu al stentului DES	2,99 mm	3,16 mm		<0,05

#### 3.4. Medicația pacienților supuși intervenției de angioplastie analizată de pe poziția unui factor ce concură sau protejează de complicația restenotică

Materialele acumulate au fost examinate și evaluate comparativ pentru loturile de fond – bolnavii care au dezvoltat restenoză (117) și bolnavii care au evoluat favorabil după revascularizare (321). Am examinat aceiași parametri separat pe grupuri clinice de bolnavi cu și fără diabet, precum și medicația cu statine, care se consideră un factor protectiv important.

Majoritatea pacienților înrolați în studiu au fost hipertensivi, prezentând și dislipidemii, fiind tratați cu grupele de medicamente bine cunoscute, raportul cărora este prezentat mai jos. Înainte și după PCI se observă o administrare sistematică a B-blocantelor în proporție de 92,2% și 89,7%, urmată de administrarea sistematică a IEC 71,9% pre și 72,4% post PCI. Nitrații de lungă durată și nitroglicerina au fost administrate în proporții mai mari înainte de PCI și determinată în declin post abordarea segmentului stenozat. Clopidogrelul a fost administrat sistematic înainte de PCI în proporții mai mici 9,1% decât după procedura de revascularizare 9,5%. Referindu-ne la statine observăm o administrare nesistematică a acestora înainte de procedură în proporții de 51,8% pacienți, același lucru confirmându-se și după abordarea stenozei coronariene.

În lotul pacienților care au dezvoltat restenoză se observa o tendință de majorare postprocedurală a administrării  $\beta$ -blocantelor de la 72,6 la 87,9%, IEC de la 59,8 la 76,0%, antagoniștilor de Ca de la 8,5 la 11,7%, aspirinei de la 86,3 la 96,3%. Statinele au fost administrate într-o proporție de 27,4% înainte de abordarea restenozei și mult mai frecvent – după abordarea acesteia - 74,2%.

### 3.5. Vulnerabilitatea bolnavului diabetic analizată din perspectiva evenimentului de restenoză

Diabetul este recunoscut demult ca factor independent și agravant în evoluția mai multor afecțiuni, inclusiv a cardiopatiei ischemice și bolii coronariene.

În cazul pacienților diabetici din studiul prezent s-a dedus că cel mai frecvent factor morbid de risc ar fi hipertensiunea arterială, care se atestă de grad mai avansat decât la non-diabetici: gradul III - 56,8 față de 43,3%; tot la ei se înregistrează mai frecvent statutul de obez sau excesul corporal - 41,7% față de 31,4%. Diabeticii sunt și mai predispuși la sedentarism: 32,6% versus 25,5% la non diabetici.

Analiza comparată a pacienților diabetici și non diabetici privind frecvența maladiilor de context a relevat următoarele: se atestă diferențe pentru incidența patologiei vasculare periferice (18,9% și, respectiv, 13,8%) și cea a sistemului urinar (26,5% și 18,3%).

### 3.6. Incidența comparată a complicației restenotice printre pacienții diabetici și nondiabetici

Toți pacienții suspecți clinic ca având restenoză (acuze de durere toracică, dispnee accentuată la efort, test de efort pozitiv, etc.) au fost examinați prin coronarografie repetată urma să estimeze parametrii complicației stenotice. Aceiași procedură au urmat și pacienții diabetici, restenoza confirmată angiografic la care s-a comparat cu cea dezvoltată de bolnavii non-diabetici.

Analizând restenozele pe criterii de severitate constatăm că gradul afectării a fost de 2-3 ori mai înalt la diabetici, inclusiv pentru fiecare tip de stenozare (50-75%; 75-90%; 90-99% și ocluzie). Acest coraport se menține și pentru tipul restenozei (tabelul 3.4).

Tabelul 3.4. Repartiția restenozelor pe criteriul de severitate la diabetici și nondiabetici

Criteriul evaluat	Nondiabetici	%	Diabetici	%	$\chi^2$	P
Total restenoze documentate	72	61,54	45	38,46		
Severitatea restenozei						
- 50-75%	3	4,16	7	15,55	4,15	<0,05
- 75-90%	10	13,88	15	33,33		
- 90-99%	25	34,72	35	77,77		
- ocluzie	12	16,66	17	37,77		
Tipul restenozei						
- la margine de stent	7	9,72	9	20,00	2,27	<0,05
- izolată intrastent	14	19,44	19	42,22		
- difuz intrastent	13	18,05	21	46,66		
- difuz proliferativ	12	16,66	18	40,00		
- ocluzie totală	4	5,55	7	15,55		

Nu am tentat să analizăm ca scenariu evolutiv complicațiile, multe din ele majore, cum ar fi

tromboza acută sau placa ulcerată intracoronariană, care de obicei evoluează imprevizibil – cu consecințe medicale dramatice – IMA (infarct miocardic acut), moarte subită etc., pe care le implică reabordarea restenozei, aceasta fiind un capitol la care s-au emis deducții postulate prin realizarea studiului anterior al dlui dr. Ion Popovici „Optimizarea diagnosticului și tratamentului invaziv prin evidențierea predictorilor morfofuncționali și biochimici ai restenozei coronariene, 2011”.

Consemnăm faptul că restenoza este un proces lent (survine după 3-4 luni și se poate afișa clinic, ca regulă, la etapa de 5- 6 luni postintervenționale), iar în asemenea condiții rămâne timp suficient pentru a evalua posibilitatea unei reabordări intervenționale sau chirurgicale, urmând a premedica pacientul în vederea minimalizării riscurilor pe care le comportă această complicație evolutivă a bolnavilor revascularizați.

#### **4. EVALUAREA MARCHERILOR STRESULUI OXIDATIV ȘI INFLAMAȚIEI SISTEMICE LA PACIENȚII SUPUȘI ANGIOPLASTIEI**

Stresul oxidativ (SO) și inflamația sistemică (IS) sunt conceptual vizate drept factori patogenetici reductibili ai afecțiunilor cardiovasculare. Evidențele acumulate consolidează și aportul acestora în remodelarea vasculară și miocardului. În acest context am estimat rolul SO și IS în dezvoltarea restenozei intra-stent după angioplastie confirmată prin angiocoronarografie, aplicând panoul multi-marcher, realizat prin determinarea în sânge a setului principal de marcheri specifici cunoscuți la ora actuală. Marcherii au fost evaluați comparativ la pacienții care au dezvoltat RIS (lotul I) și cei fără restenoză (lotul II, de referință), drept indice martor fiind marcherul iminent persoanelor sănătoase. În scopul evidențierii conexiunii diabetului zaharat cu SO și IS marcherii au fost analizați în fiecare lot funcție de prezența sau absența DZ.

##### **4.1. Evaluarea nivelelor circulante ale markerilor stresului oxidativ.**

Pentru estimarea intensității stresului oxidativ s-a apreciat conținutul seric al produselor de peroxidare a lipidelor și proteinelor, precum și componentele cheie ale sistemului antioxidant. După angioplastie sau manevra de reabordare a stentului cu RIS marcherii au fost estimați la distanța de 24 ore, 1, 3, 6 și 12 luni.

La pacienții cu RIS nivelurile circulante ale DAM și PPOA, indicatorii cheie ai activității SO sunt semnificativ elevate comparativ cu marcherii pacienților fără RIS cu 40,4 și, respectiv, 21,8% (tab.4.1).

Comparativ cu indicele martor, DAM și PPOA elevează la pacienții supuși angioplastiei cu 34-88%. Remarcabil, că DAM are valoare semnificativ superioară în medie cu 28% la pacienții cu diabet zaharat, atât în lotul cu restenoză, cât și în lotul de referință. La pacienții

diabetici și concentrația produselor finale ale glicării, un factor de stimulare a formării RLO, este semnificativ mai mare, în special în lotul cu RIS (20,2%).

Tabelul 4.1. Valorile serice ale dialdehidei malonice și produselor proteice oxidate avansat

Marcher (valoarea martor)	Lot I (RIS)	Lot II, (-RIS)	P	Restenoză		P	Angioplastie		P
				+DZ sublot 1	-DZ sublot 2		+DZ sublot 3	-DZ sublot 4	
	M±m			M±m			M±m		
DAM, μm/l (4,81±0,44)	9,66± 0,61***	6,88± 0,26***	<0,001	11,63± 1,03***	9,09± 0,71***	<0,05	7,98± 0,40***	6,2± 0,23*	<0,001
PPOA, μm/l (47,0±2,60)	62,27± 2,87***	51,12± 2,40	<0,01	62,04± 3,67**	62,31± 3,32***	>0,05	53,78± 2,37	48,00 ±4,40	>0,05

Legendă: diferențe semnificative față de lotul martor: \* - P<0,05; \*\* - P<0,01; \*\*\* - P<0,001;

Nivelul circulant al oxidului nitric nu diferă semnificativ între subploturi, dar se estimează semnificativ depreciat cu 19,7% la pacienții cu RIS vs lotul de referință.

Concentrația sanguină de S-nitrozotoli, desemnați drept carieri ai NO, este cu peste 25% mai mică în loturile I și II față de marcherul martor.

Activarea SO la pacienții supuși angioplastiei este determinată de periclitarea sistemului antioxidant, majoritatea marcherilor căruia sunt diminuați în raport cu nivelul martor, declinul lor fiind net mai concludent la pacienții cu RIS (tab. 4.2).

Tabelul 4.2. Nivelul seric al marcherilor sistemului antioxidant

Marcher (valoarea martor)	Lot I (RIS)	Lot II (-RIS)	P	Restenoză		P	Angioplastie		P
				+DZ sublot 1	-DZ sublot 2		+DZ sublot 3	-DZ sublot 4	
	M±m			M±m			M±m		
AAT, mM/L (0,46±0,02)	0,37± 0,006	0,35± 0,007**	<0,05	0,36± 0,01**	0,38± 0,007**	>0,05	0,38± 0,01	0,32± 0,006***	<0,001
SOD, u/c. (1106,35 ±36,61)	840,21± 34,13 ***	1067,38 ±37,01	<0,01	1031,12 ±102,76	800,59± 33,27***	<0,05	1038,54 ± 55,50	1096,22± 49,56	>0,05
Catalaza, mM/L (22,2±1,55)	15,29± 0,66 ***	18,44± 0,82*	<0,01	18,93± 1,37	14,73± 0,72***	<0,01	15,37± 0,88***	22,04± 0,84	<0,001
Ceruloplas- mina, mg/l (367±19,8)	302,40± 7,17 **	334,05 ±9,56	<0,01	297,29 ±24,22*	302,9± 7,54**	>0,05	315,2 ±13,38*	352,8±1 2,66	<0,05
GR, nM/s.l (112,46± 14,16)	105,65± 4,69	101,34 ±4,03	>0,05	96,23± 10,55	107,2 ±5,19	>0,05	91,72 ± 5,90	110,9± 4,76	<0,05
GPO, nM/sl (238,18 ±5,85)	214,12± 13,84	214,84 ±14,46	>0,05	199,37 ±14,72*	219,24 ±17,95	>0,05	198,84 ±16,02*	230,85±2 3,97	>0,05

Legendă: diferențe semnificative față de lotul martor: \* - P<0,05; \*\* - P<0,01; \*\*\* - P<0,001;

Activitatea antioxidantă totală, un parametru integral al capacității antioxidante, este semnificativ diminuat în medie cu 22% la pacienții supuși angioplastiei față de markerul martor.

Nivelul circulant al SOD se decelează semnificativ redusă cu 24% numai la pacienții cu RIS, iar conținutul seric al catalazei este semnificativ subiacent nivelului martor în ambele loturi.

Totuși, catalaza la pacienții cu RIS este cu 17,1% ( $p < 0,01$ ) mai mică comparativ cu pacienții fără restenoză.

Ceruloplasmina circulantă este semnificativ diminuată vs markerul martor numai la pacienții cu RIS, recul constituind 17,7%.

Componentele sistemului glutathion-redox (GR și GPO), cât și activitatea glutathion-S-transferazei nu au un declin semnificativ față de valoarea markerilor martor.

Merită atenție faptul că manevra de PCI sau reabordare a stentului cu RIS se impune prin creșterea intensității stresului oxidant, dată fiind elevarea în primele 24 de ore a DAM și PPOA, pe măsură ce AAT și alți marcheri ai defensivei antioxidante diminuează.

#### **4.2. Evaluarea nivelurilor circulante ale markerilor inflamației sistemice.**

Obiectivul de fond s-a proiectat asupra determinării conținutului seric al TNF-alpha, interleuchinelor și chemochinelor, precum și al 2 marcheri remarcați prin abordare actuală a sistemului de control al impactului adipokinelor asupra funcției endoteliale, rezistenței la insulină și răspunsul inflamator.

Majoritatea citokinelor proinflamatoare au niveluri elevate în sânge la pacienții supuși angioplastiei, acestea fiind mai mari la pacienții care au dezvoltat RIS (tab. 4.3).

Conținutul seric al IL-6 și IL-8 a demonstrat un survol semnificativ peste nivelul martor la pacienții din ambele loturi. La pacienții cu restenoză intra-stent IL-6 și IL-8 au valori cu 12-17% mai mari decât marcherii inerenți lotului de referință. Un patern similar de modificare suportă și concentrația sanguină a TNF-alpha, una din citochinele importante în vederea diseminării procesului inflamator. Aceasta este la pacienții fără RIS cu 21% mai mare vs markerul martor, iar la pacienții cu RIS – cu 30%. Se anunță oportună elevarea în deosebi concludentă a acestor marcheri la pacienții diabetici care dezvoltă restenoză. Astfel, în cadrul lotului I sporul acestor marcheri față de indicii pacienților non-diabetici atinge cote de până la 57%.

La pacienții diabetici indiferent de prezența RIS este notabilă majorarea conținutului seric al MCP-1 (proteina chemoatractantă a monocitelor), discrepanța în loturile I și II constituind 48 și, respectiv, 57%. Proteina sCD care are rol însemnat în pasajul transendotelial al celulelor proinflamatoare este semnificativ majorată cu peste 30% la pacienții supuși angioplastiei, dar nu se constată decalaj autentic între loturile I și II.



O particularitate importantă stabilită la pacienții supuși angioplastiei se conturează la analiza rezistinei și heregulinei-1beta. Rezistina, o adipokină implicată în instalarea insulino-rezistenței, crește semnificativ, cu precădere la pacienții cu RIS (44,6%). Heregulina-1beta, vizată drept o citochină cu acțiune antiinflamatoare, dimpotrivă scade semnificativ în sânge, de asemenea mai pronunțat la pacienții cu restenoză (38,9%). La pacienții diabetici rezistina are o creștere evidentă numai în cazul evoluției RIS, demarcând o rată de 48%. În mod similar și heregulina-1beta la pacienții diabetici se depreciază notabil în cazurile de restenoză, reculul față de markerul pacienților non-diabetici fiind de circa 40%.

Tabelul 4.3. Nivelul seric al markerilor inflamației sistemice

Marker (valoarea martor)	Lot I	Lot II	P	Restenoză		P	Angioplastie		P
				+DZ	-DZ		+DZ	-DZ	
	M±m			M±m			M±m		
IL-6, pg/ml (4,7±0,18)	6,55± 0,39 ***	5,63± 0,27**	>0,05	8,22± 0,59 ***	5,23 ± 0,29	<0,001	6,33± 0,33***	4,94± 0,37	>0,01
IL-8, pg/ml (4,92±0,2)	6,65± 0,33 ***	5,93± 0,38*	>0,05	7,59 ± 0,55***	5,94± 0,32	>0,01	6,86± 0,55**	5,00± 0,43	>0,01
TNF-α pg/ml (5,47±0,3)	7,13± 0,33 ***	6,64± 0,24**	>0,05	7,79± 0,68**	6,64± 0,25 ***	>0,05	7,29± 0,25***	5,99± 0,35	<0,01
MCP-1, pg/ml (303±9,1)	353,95 ±31,72	386,23 ±26,83	>0,05	434,34± 3,96 *	293,66 ± 1,08	>0,01	473,06± 37,4***	299,40± 22,50	<0,01
sCD-40, pg/ml (336±15)	431,08± 28,16**	457,6±2 5,07***	>0,05	469,92± 59,47*	398,71± 13,23 **	>0,05	537,77± 34,95***	377,46± 21,54	<0,01
Rezistina, ng/ml (2,04±0,1)	2,95± 0,13***	2,66± 0,12***	>0,05	3,60± 0,16 ***	2,43± 0,11 *	<0,01	2,87± 0,14***	2,45± 0,18	>0,05
Hereguli- na-1beta (5,5±0,25)	3,36± 0,16***	3,96± 0,16***	<0,05	2,76± 0,13 ***	4,18± 0,19***	<0,01	3,70± 0,20***	4,23± 0,25***	>0,05

Legendă: diferențe semnificative față de lotul martor: \* - P<0,05; \*\* - P<0,01; \*\*\* - P<0,001;

Prin urmare diabetul zaharat și inflamația sistemică au o interfață comună în fiziopatologia RIS, iar rezistina și heregulina-1beta au în acest sens valoare predictivă.

Așadar, aplicarea panoului multi-marker demonstrează cu certitudine rolul stresului oxidativ și inflamației sistemice în patogenia restenozei intra-stent și, totodată, tranșează în acest sens valoarea predictivă pertinentă a unor markeri, cum ar fi: DAM, PPOA, AAT, catalaza, SOD, IL-6, IL-8, TNF-alpha, rezistina și heregulina-1beta.

## **5. ASPECTELE MORFOLOGICE ANALIZATE PRIN ULTRASONOGRAFIA INTRACORONARIANĂ ȘI TOMOGRAFIA DE COERENȚĂ OPTICĂ LA PACIENȚII CU RESTENOZĂ INTRA-STENT**

### **5.1 Mecanismele de restenoză intrastent analizate prin Ultrasonografia Intracoronariană**

Ecografia intravasculară (IVUS) este o tehnică ultrasonografică de imaging diagnostic, care permite vizualizarea în timp real a endoteliului vascular, adică la momentul efectuării examenului coronarografic. Examenul poate decela acumularea progresivă a plăcii în peretele arterei și poate furniza informații importante despre configurația plăcii vulnerabile, care se poate mobiliza și stenoza (prin îngustare) artera [13]. Beneficiul utilizării IVUS ca metodă complementară în timpul reintervenției pentru restenozarea DES-urilor și datele prezentate nu au elucidat, însă, la modul satisfăcător diferența mecanismelor care induc restenoza vaselor după aplicarea DES sau BMS. Pe de altă parte dezvoltarea strategiilor de diagnostic și tratament al restenozei, ar putea contribui la formularea tratamentului individualizat, prin care să se indice aplicarea DES sau BMS, în dependență de gradul riscului de dezvoltare a restenozei.

În acest aspect ne-am propus examinarea concomitentă prin angiografie și cu ajutorul ultrasonografiei intracoronariene la pacienții care s-au prezentat cu restenoză intra-stent, pentru a reuși precizarea mecanismelor de restenozare și clasificarea modelelor morfologice de restenoză intrastent ce s-a produs în cele două grupuri - DES și BMS.

În intervalul august 2010 – iulie 2011, prin colaborarea între Spitalul Riuniti di Bergamo (Bergamo, Italia) și Institutul de Cardiologie din Moldova au fost identificați 47 pacienți cu angină recurentă cauzată de restenoza intrastent care îndeplineau criteriile protocolului de studiu.

Imaginile angiografice au fost memorizate electronic și analizate de către Laboratorul Centrului Coordonator. Calculul automatizat al gradului de stenoză (QCA) s-a efectuat cu ajutorul unui soft special (CMS, MEDIS, Leiden, Olanda). Documentarea angiografică a restenozei intrastent a fost definită ca o reducere cu  $> 50\%$  din diametru lumenului vasului la nivelul stentului.

Analiza cantitativă și calitativă a înregistrărilor prin IVUS s-a efectuat cu ajutorul unui program de procesare specială (Echo Plaque, Indec Systems, Mountain View, California). Înregistrările IVUS s-au efectuat în secțiuni separate la distanță de 1 mm una de alta și au încadrat toată lungimea stentului, apoi și 10 mm din segmentul vasului de referință – în sens proximal și distal, în conformitate cu standardele recunoscute. În regim semiautomat au fost determinate contururile lumenului vascular al stentului și ale adventiceii (EEM – *external elastic membrane*). Variabilele analizate cuprindeau aria de secțiune transversală a lumenului, stentului

și EEM. Aria de hiperplazie intimală intrastent a fost definită ca aria stentului minus aria lumenului. Restenoza, conform datelor IVUS, a fost definită ca un segment intrastent cu o arie a lumenului de  $< 4 \text{ mm}^2$ ; restenoza se considera focală, când lungimea segmentului stenotic era de  $\leq 10 \text{ mm}$ , leziunile multifocale au fost cele dominante, restenoza difuză a fost codificată ca îngustarea lumenului de  $> 10 \text{ mm}$  în lungime, cu sau fără implicarea marginilor stentului. Indicele liber de restenoză a fost calculat ca lungimea segmentului liber de restenoză raportat la lungimea totală a stentului. Aria plăcii a fost determinată ca aria EEM minus suprafața stentului. Pentru verificarea eficienței tratamentului au fost utilizate criteriile MUSIC [14].

*Rezultate QCA-IVUS.* Tuturor pacienților din studiu li s-a efectuat examinarea QCA și IVUS. Nu am relevat diferențe semnificative între ariile de secțiune transversală ale segmentelor de referință ale celor două grupuri (DES vs BMS,  $p=0.26$ ). De asemenea lungimea stentului examinat și aria minimă de secțiune transversală, precum și suprafața medie a stentului au prezentat valori comparabile pentru cele două grupuri.

Comparabili s-au dovedit și indicii de expansiune și simetricitate a stenturilor metalice și celor medicate, ceea ce confirmă că strategiile de implantare originală a stentului au întrunit condiții similare. Diferențe de considerat s-au apreciat pentru lungimea segmentului restenozat [15], pentru incidența restenozei focale și indicii de absență a restenozei [14]. Aceste date pledează în favoarea conceptului că suportul morfopatologic al restenozei se diferă în cele două grupuri. Dacă în stenturile metalice restenoza prezintă un fenomen difuz, mai mult sau mai puțin omogen, în stenturile medicate acesta este focal cu alternarea zonelor de răspuns perfect. De consemnat, că aria de secțiune transversală minimă a lumenului a coincis cu aria minimă de secțiune transversală a stentului la 42% din stenturile medicate și la doar 16% din cele metalice. De menționat și faptul că în majoritatea cazurilor observate restenoza focală a stenturilor medicate s-a poziționat marginal (73%) și aproape în jumătate de cazuri (48%) reprezenta un proces care implica ambele margini, așa-numitul fenomen de „candy restenosis” care conferă segmentului afectat aspectul angiografic și ultrasonografic de „bomboană”. Într-un caz de restenoză a stentului medicat, analiza IVUS a depistat fractura stentului. Fenomenul a fost cauzat de tortuozitatea excesivă a vasului tratat, ceea ce sugerează că tehnica implantării stentului medicat este importantă: în cazurile în care stentul original nu a fost expansionat la modul adecvat, planează riscul dezvoltării restenozei, ca de altfel și în cazurile expansiunii excesive aplicate unui segment tortuos de arteră coronariană. În arterele coronariene pe care s-au montat stenturi medicate (DES) aria transversală a vasului calculată la nivelul membranei elastice externe cât și aria plăcii (diferența dintre aria EEM și aria stentului) a fost semnificativ mai mare, fapt care s-a soldat și cu diferențe între indicii de remodelare a vasului. Acest fenomen induce

ideea că implantarea stentului medicat provoacă o reacție cronică inflamatorie la nivelul segmentului tratat. Cât privește hiperplazia neointimală (țesutul care acoperă stentul în direcția lumenului), suprafața acesteia a fost net mai intensă în stenturile metalice, evidență care susține conceptul că mecanismul de bază al restenozei în stenturile metalice este proliferarea neointimală, cauzată de migrarea celulelor musculare netede, un proces reparativ fiziologic, dar exagerat în cazurile studiate.

Datele angiografice și cele de la examinarea IVUS post-procedurală sunt prezentate în tabelul 5.1.

Tabelul 5.1. Analiza angiografică a leziunilor restenotice

<b>Parametrul evaluat</b>	<b>DES N=36</b>	<b>BMS N=18</b>	<b>P</b>
<b>Date preprocedurale</b>			
Diametrul de referință (mm)	2.71±0.32	2.88±0.31	0.26
Lungimea restenozei (mm)	5.06±0.57	15.14±5.94	0.001
Lungimea totală a stentului (mm)	21.22±5.13	19.52±4.76	0.92
Diametrul minim al lumenului (mm)	1.01±0.36	0.71±0.27	0.07
Restenoză focală, n (%)	10 (83.3%)	2 (11.1%)	0.002
Restenoză difuză, n (%)	2 (16.7%)	16 (89.9%)	0.002
<b>Date postprocedurale</b>			
Diametrul de referință (mm)	2.70±0.34	2.85±0.35	0.27
Diametrul minim al lumenului (mm)	2.54±0.33	2.66±0.39	0.50
% de stenoza reziduală în stent	5.72±6.34	6.52±7.41	0.53
Delta diametrului minim (mm)	1.24±0.30	1.68±0.46	0.001

Analiza rezultatelor obținute prin intermediul tehnicilor de vizualizare intracoronariană permite dezvoltarea strategiilor personalizate pentru tratamentul percutan al aterosclerozei coronariene, iar studiul nostru s-a conceput ca un studiu pilot observațional, mai mult generator de ipoteze, care ar putea fi verificate în cadrul marilor studii organizate în mod randomizat.

## **5.2 Restenoza în stenturile medicate studiată prin Tomografia de Coerență Optică**

Tomografia prin coerență optică (OCT) este o metodă inovativă care permite analiza peretelui vasului la nivel de microstructură *in vivo*, în timp real. Deoarece se poate examina morfologia leziunilor și realiza măsurări precise, OCT creează condiții ideale pentru măsurarea proprietăților țesutului vascular. Rapoartele OCT au arătat că diferite aspecte optice ale țesutului restenotic prezintă un grad înalt de corelație cu datele obținute de la analiza morfologică a țesutului, realizate cu ajutorul metodelor de histopatologie. Potrivit acestor rapoarte, aspectul morfologic, mecanismul și timpul necesar formării țesutului restenotic în DES ar putea fi diferite de cele observate în BMS [16, 17, 18]. Pentru a obține o perspectivă asupra mecanismelor,

aspectelor morfologice, cât și a evoluției în timp a RIS, am evaluat caracteristicile leziunilor restenotice în DES de primă generație și DES de generația actuală, utilizând OCT (C7 System/Dragonfly Catheter, St Jude Medical, Westford, MA).

*Angiografia coronariană cantitativă (QCA).* Calculul QCA a fost realizat online de către un expert calificat, folosind un software pentru măsurare cardiovasculară dedicată (QAngio XA 7.1 Medis Medical Imaging System, Leiden, The Netherlands), selectând imaginea coronarografică în faza post-diastolică.

*Analiza secțiunilor de Tomografie de Coerență Optică.* Imaginile OCT au fost achiziționate folosind tehnica non-ocluzivă, utilizând sonda specială Dragonfly Imaging cateter (LightLab Imaging Inc, Westford, MA, U.S.A.). Secțiunile OCT au fost analizate fiecare 1mm de distanță intrastent, măsurând aria de secțiune transversală a stentului (CSA-cross sectional area), hiperplazia neointimală (NIH-Neointimal Hyperplasia) și aria de secțiune transversală a lumenului coronarian rezidual (MLA). Pentru analiză morfologică a țesutului restenozat am folosit următoarele criterii OCT, certificate din punct de vedere a analizei histopatologice: 1) neointima morfologic omogenă; 2) neointima morfologic heterogenă; și 3) neo-ateroscleroza. Caracteristicile RIS au fost comparate sub aspect temporal (grupul 1 cu RIS < 1 an, grupul 2 RIS > 1 an). Generațiile de DES au fost comparate între ele cât și cu BMS.

În intervalul august 2012 – iulie 2014, prin colaborarea între Spitalul Papa Giovanni XXIII di Bergamo (Bergamo, Italia) și Institutul de Cardiologie din Republica Moldova (Chișinău) au fost identificați 39 pacienți cu angină recurentă sau sindrom coronarian acut, cauzate de restenoza intrastent care îndeplineau criteriile de selecție. Studiul curent a încadrat 66 de stenturi, inclusiv 44 de stenturi (28 pacienți) erau de prima generație DES, alte 22 de stenturi (11 pacienți) erau de generația recentă și încă un stent Nobori™. Toți pacienții studiați s-au prezentat pentru recidiva sindromului anginos: 35 de pacienți cu angină stabilă (CF III-IV) și 4 cu angină instabilă (Braunwald cl. III sau infarct miocardic).

În funcție de caracteristicile clinice bazale la timpul implantului de stent nu au existat diferențe majore între două grupuri, cu excepția unei prevalențe mai mari de infarct miocardic anterior în interiorul grupului cu stent de generația actuală în ceea ce privește restenoza precoce și cea tardivă ( $p = 0,04$ ). În termen de restenoza precoce artera circumflexă s-a prezentat mai des ca vas ce necesita tratament repetat în grupul cu stent de prima generație comparativ cu grupul de stent de generația actuală ( $p = 0,04$ ). Toți pacienții urmau tratament cu Aspirină.

*Analiza datelor de coronarografie.* Stenturile medicate de prima generație s-au prezentat mai frecvent cu restenoză focală, iar în grupul de stenturi de generația actuală aspectul de restenoză difuză s-a atestat mai frecvent în cazurile de restenoză precoce ( $p=0.02$ ). Datele

cantitative s-au prezentat a fi similare în grupul cu stenturi de prima generație, când au fost comparate în termen de restenoză precoce și tardivă. În grupul de stenturi de generația actuală restenoza precoce avea un aspect difuz, comparativ cu restenoza tardivă, un diametrul minim de arie (MLA) și un procent de stenoză (% stenoză) mai accentuat ( $p < 0.01$ ). Tipurile de stent care au falimentat (ex.: Cypher vs Taxus) în internul unei generații nu au prezentat diferențe statistice. Perioada liberă de restenoză a fost comparabilă între generații în cazul restenozei precoce. În caz de restenoză tardivă această perioadă a fost mai lungă pentru stenturile de prima generație (37 luni DES de prima generație vs 15.8 luni DES de generația actuală,  $p < 0.001$ ).

*Analiza cantitativă prin OCT nu a găsit diferențe de lungime a leziunii restenotice între stenturile de prima și a doua generație. Valorile ariei de secțiune transversală a țesutului restenotic au fost mai joase în grupul de stent de generația actuală atât în cazul de restenozei precoce cât și tardive ( $p < 0.01$ ) (tabelul 5.2).*

Tabelul 5.2. Analiza cantitativă prin OCT

Variabile	Stent de prima generație		P	Stent de generația actuală		P
	<1 an	>1 an		<1 an	>1 an	
CSA media stent, mm <sup>2</sup>	5.0±2.1	5.1±1.7	0.88	8.4±3.2	4.3±1.1	<0.01
CSA media lumen, mm <sup>2</sup>	1.6±1.3	1.6±1.2	0.86	3.2±1.3	1.9±0.5	<0.01
NIH CSA, mm <sup>2</sup>	3.5±1.0	3.5±0.9	0.91	5.2±2.4	2.4±0.7	<0.01
NIH area %	72.1±12.1	71.4±14.9	0.79	61.1±8.4	55.5±5.2	<0.01
Lungimea segm. de stenoză, mm	7.1±11.9	5.3±6.7	0.62	6.4±6.4	4.7±2.5	0.50

Analiza calitativă a constatat un aspect omogen al țesutului restenotic, predominant atât în restenoza precoce, cât și în cea tardivă produsă pe stenturile de prima generație (tabelul 5.3).

În stenturile de prima generație aspectele de heterogenitate au fost mai puțin evidente în restenoza precoce, dar ele devin mai frecvente în restenoza tardivă. În stenturile de generația actuală aspectul de heterogenitate s-a atestat prevalent atât în restenoza precoce, cât și în cea tardivă. De vreme ce aspectul omogen tindea să dispară cu timpul, aspectele de neoateroscleroză au prezentat o creștere importantă anume în faza de restenoză tardivă. În timpul investigațiilor intravasculare și al tratamentului repetat nu s-au notificat complicații intraprocedurale și postprocedurale. Toți pacienții au fost externați vii din spital după o perioadă medie de spitalizare de  $5.7 \pm 2.3$  zile cu ameliorarea simptomatologiei anginoase (CCS, CF II– 76%, CF I – 24%).

Important de consemnat că relația dintre aspectul morfologic al RIS determinat prin OCT și sumarul clinic al celor investigați nu este încă bine definită. Susținem ipoteza că distincția dihotomică în aspectul optic omogen și heterogen al țesutului restenotic la momentul actual nu

are o corelație clinică *di per se*. Nu există date cu privire la riscul de evenimente clinice corelate cu un aspect optic particular, cum ar fi cel omogen, pestriț sau stratificat. Neoateroscleroză, un aspect important prezent în analiza noastră, și anume corelația între instabilitatea plăcii și evenimentele clinice, este descrisă în literatură doar la nivel de ipoteză. În studiul nostru, plăcile vulnerabile din interiorul țesutului restenozat au fost rareori prezente, deși numeric se găseau într-o proporție mai mică în DES de generația actuală. Prevalența lor s-a dedus similară în cele două generații de DES, inclusiv în funcție de prezentarea temporală a restenozei. Rolul prognostic al neo-aterosclerozei în RIS are nevoie de investigații suplimentare. Analiza QCA și OCT a leziunilor a relevat caracteristici mai puțin severe în generația actuală de DES, evidență conceptual conformă cu incidența mai mică de restenoză și de revascularizări repetate prezentate de studiile clinice *postmarketing* ale acestor stenturi.

Tabelul 5.3. Analiza calitativă prin OCT

Variabile	Stent de prima generație		P	Stent de generația actuală		P
	<1 an	>1 an		<1 an	>1 an	
Omogenă	132 (42.7)	515 (70.8)	<0.01	155 (31.2)	32 (22.1)	<0.01
Heterogenă	117 (37.9)	161 (22.2)	<0.01	283 (57.1)	85 (58.6)	<0.01
Stratificat	9 (7.7)	69 (42.9)		40 (14.1)	26 (31.7)	
Pătat	87 (75)	74 (46.0)		211 (7.5)	50 (58.8)	
Pestrit	21 (18.1)	18 (11.2)	<0.01	32 (11.3)	9 (10.6)	0.50
Neoatheroscleroza	60 (19.4)	51 (7.0)	<0.01	58 (11.7)	28 (19.3)	0.01
Lipide	59 (19.1)	34 (4.7)	<0.01	49 (9.9)	26 (17.9)	0.01
Calciu	20 (6.5)	10 (1.4)	<0.01	7 (1.4)	4 (2.8)	0.28
TCFA	3 (1.0)	7 (1.0)	0.99	2 (0.4)	0 (0.0)	0.98
Macrofage	3 (1.0)	6 (0.8)	0.73	3 (0.6)	0 (0.0)	0.35
Microvase	8 (2.6)	2 (0.3)	<0.01	1 (0.2)	1(0.7)	0.35
Semnal atenuat	-700±280	1100±430	<0.01	1780±800	2100±670	<0.01
Semnal difuz	230±75	730±175	<0.01	1100±280	1400±230	0.01

Per ansamblu, ținem să subliniem că OCT are limite intrinseci în analiza calitativă a țesutului restenotic, astfel că diferențierea unora dintre aspectele optice a fost dificilă. Descoperirile OCT nu au fost confirmate prin analiza histopatologică.

Per ansamblu, datele noastre sugerează că fenomenul de restenoză în generația actuală de DES are un aspect morforlogic și comportamental în timp diferit de restenoză produsă în prima generație de DES. Viitoarele studii prospective ar trebui să evalueze relația dintre diferitele aspecte morfologice ale țesutului restenotic cu eventualele evenimente clinice.

## 6. MODIFICĂRI ULTRASTRUCTURALE ȘI MOLECULARE REPERATE ÎN AREALUL DE RESTENOZĂ CORONARIANĂ INTRA-STENT

### 6.1 Răspunsul inflamator în patogeneza restenozei intra-stent

Pornind de la o serie de premise ca cele ce țin de implicarea acidului ribonucleic extracelular (eARN) în dezvoltarea și exacerbarea leziunilor aterosclerotice, în remodelarea vasculară periferică (e.g. artera carotidă), care s-au demonstrat în condiții de alterare mecanică în experimente pe animale [19], dar și de relația semnificativă între răspunsul inflamator și concentrația eARN, ne-am propus să evaluăm cantitatea de eARN în peretele coronarian uman ce a produs complicația de restenoză intrastent de diferit grad precum și expresia Il-1 $\beta$ , TNF-alfa, numărul de macrofage și conținutul de radicali liberi de oxigen (RLO), raportul cantitativ al diferitor proteine ale matricei extracelulare (colagenul de tip I, III și IV, metaloproteinazele, acizii microRNA 143/145).

În acest context, am constatat ca nivelul de eARN prezent în peretele arterei coronariene se află în raport direct cu gradul de severitate a restenozei. Un spor semnificativ se atestă deja în RIS de grad minim (Figura 6.1), indice care va crește de peste 2 ori în restenoza de grad moderat (Figura 6.2). Important de menționat, că în RIS moderată cantitatea de e-ARN este mult peste valorile estimate în RIS de grad minim. Cantitatea de eARN în cazul restenozei severe depășește multiplu valoarea indicelui respectiv în RIS moderată (Figura 6.2). În RIS de grad sever cantitatea eARN depășește în medie de 4 ori indicele din control.

Sub acest aspect este conceptual importantă prezența unei corelări semnificative între cantitatea eARN cu numărul de macrofage pe o parte (Figura 6.3A) și nivelul de expresie a TNF-alpha (Figura 6.3B) - pe de altă parte. Coeficientul de corelare este de +0,8375 ( $p < 0,001$ ) și, respectiv, +0,8838 ( $p < 0,001$ ). Un coeficient de corelare strânsă între eARN și numărul de macrofage practic identic cu cel apreciat între eARN și TNF-alpha indică, totodată, și asupra unor relații strânse între expresia citochinei proinflamatorii și procesul de acumulare a macrofagelor, ultimele fiind surse ale TNF-alpha.

Pornind de la premisa că la pacienții cu restenoză are loc iminenta majorare a conținutului de radicali liberi în circuitul sanguin (vezi cap. 4), ne-am propus să determinăm prezența lor cantitativă în diverse straturi (adventice, medie și restenoză) ale vasului restenozat, comparația fiind trasată cu nivelul lor în peretele de vas neafectat. Important de consemnat, că estimarea cantitativă a ROS (radicalii liberi de oxigen), e-RNA și MMP2 a evidențiat o corelație veridică atât între ROS și e-RNA (Figura 6.4A) cât și între ROS și MMP2 (Figura 6.4B), ceea ce, probabil, relevă interdependența proceselor trigger ce se află la originea activării



stresului oxidativ, a metaloproteinazelor matricei extracelulare, precum și a răspunsului inflamator declanșat de e-ARN [20].

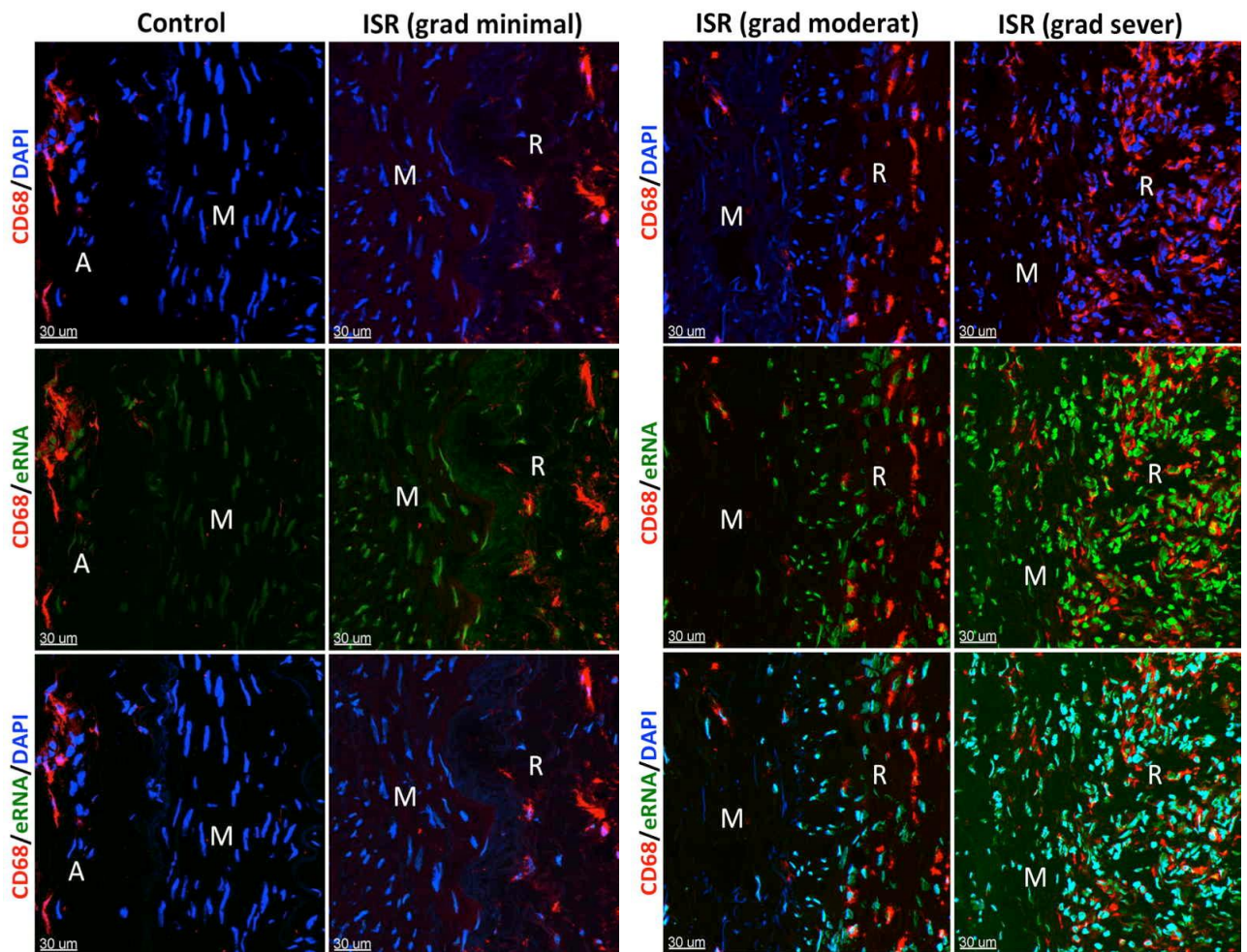


Figura 6.1 Numărul macrofagelor CD68-pozitive și expresia e-ARN în adventice (A), media (M) în segmentul de vas normal (panourile din stânga) și în zonele de restenoză (R) de grad minim (panourile din dreapta). Se observă că inclusiv în restenoza de grad minim expresia e-ARN și numărul de macrofage sunt crescute comparativ cu vasul neafectat. De menționat că în vasul neafectat macrofagele sunt cantonate preponderent în adventice.

Figura 6.2 Cantitatea macrofagelor CD68-pozitive și expresia e-ARN în adventice (A), media (M) și în neointima din zonele de restenoză (R) examinate într-un stent cu restenoză de grad moderat (panourile din stânga) și într-un stent cu restenoză de grad sever (panourile din dreapta). Se atestă clar că expresia marcantă a e-ARN și creșterea numărului de macrofage se corelează fidel cu severitatea restenozei. De menționat abundența de macrofage, în special în zona restenozei.

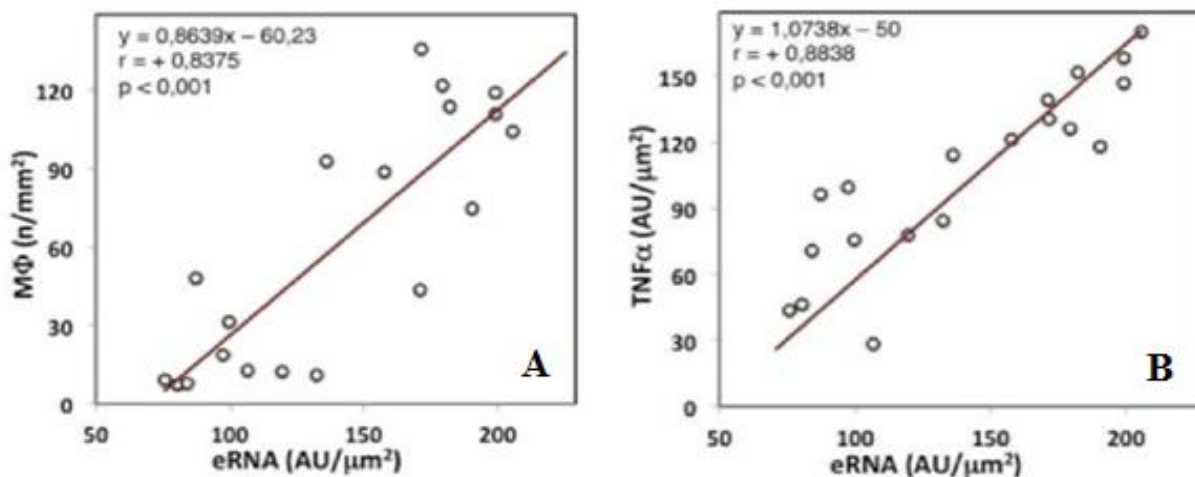


Figura 6.3 Corelația pronunțată între numărul de macrofage în materialul restenozei și conținutul e-ARN (A) și între cantitatea e-ARN și conținutul TNF-alpha (B).

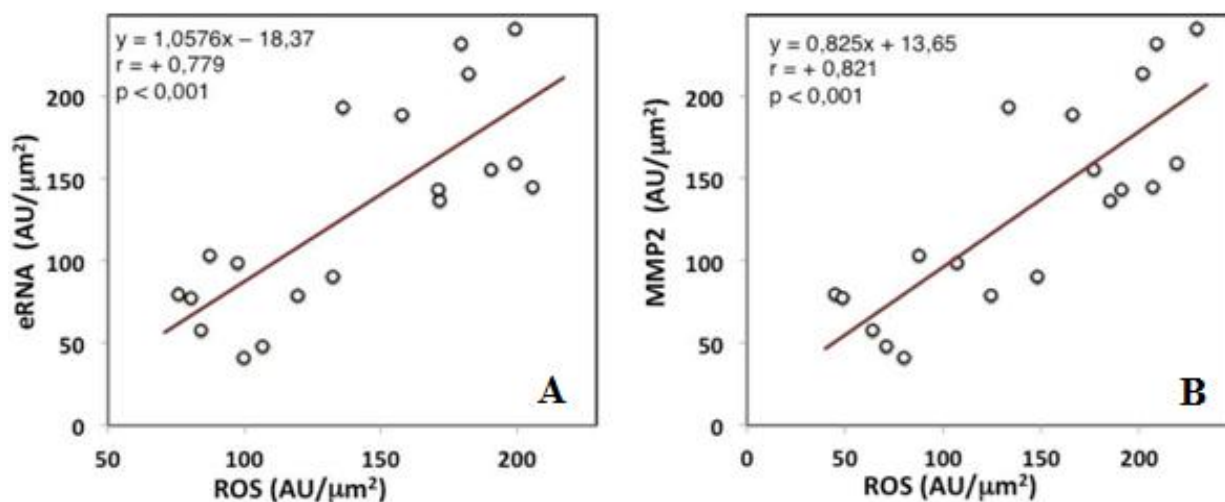


Figura 6.4. Corelațiile cantitative semnificative dintre ROS și e-RNA (A) și dintre ROS și MMP2 (B) apreciate în stenturile cu restenoză.

## 6.2 Metabolismul colagenului matricei extracelulare în evoluția restenozei coronariene intra-stent

Proteinele scheletice de bază ale matricei extracelulare (MEC) sunt colagenul de tip I și III (80-95%), restul fiind reprezentate de laminină, elastină, fibronectină și colagene nefibrilare de tip IV și VI. Elastina și colagenul de tip IV este componenta structurală principală a laminelor elastice externă și internă. În arterele coronariene expresia colagenului III din matricea extracelulară crește odată cu capacitatea vasocontractilă și nivelul stresului mecanic exercitat de

miocard, de aceea colagenul III este mai concentrat în arterele coronariene musculare endocardice.

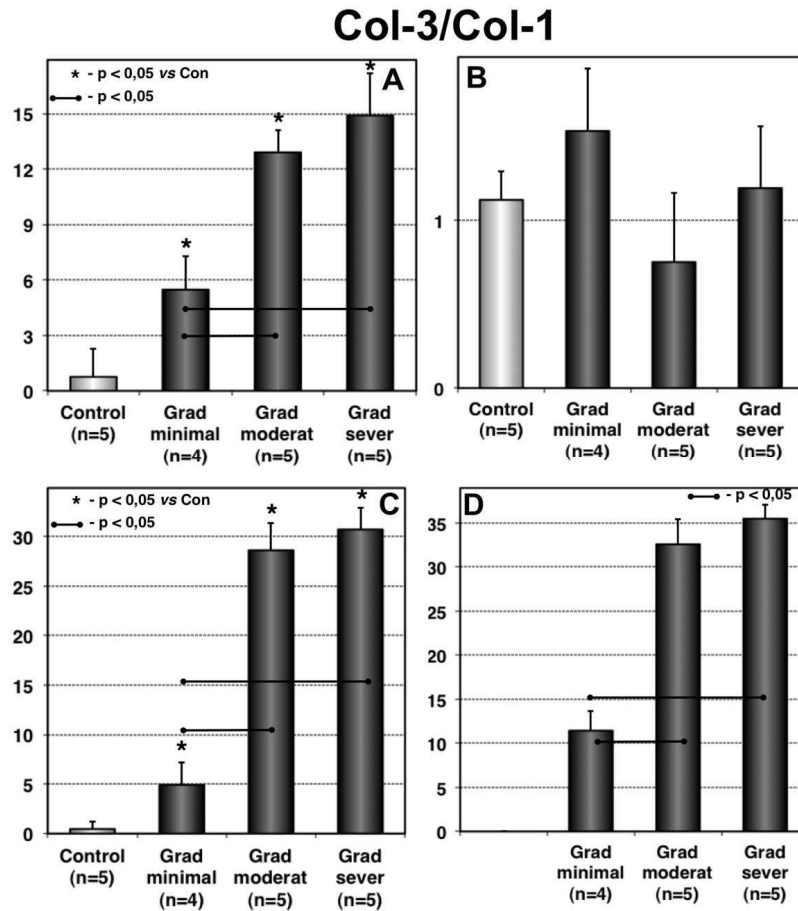


Figura 6.5. Determinarea cantitativă a raportului colagen tip III/tip I în peretele vascular total (A), adventice (B), media (C) și în zonele de restenoză (D). De menționat că în comparație cu media și zonele de restenoză, raportul colagen tip III/tip I din adventice nu se modifică semnificativ funcție de gradul restenozei.

Estimările cantitative demonstrează că atât în peretele integral, cât și în media musculară, raportul colagen tip III/tip I este crescut semnificativ - de 4-7 ori, inclusiv în restenoza minoră. Sporul acestui raport devine categoric în restenoza moderată și severă, incrementul atingând valori cuprinse între 20-30 de ori. În adventice variațiile raportului nu sunt semnificative. Estimările efectuate pentru raportul colagenului III/tip I pe zonele de restenoză de grad moderat și sever indică majorări de 2,5-3 ori față de indicele apreciat în restenoza de grad minim (Figura 6.5).

Creșterea valorilor de CITP apreciate în restenoza intra-stent, ca fiind un indicator al gradului de scindare a colagenului I, se corelează autentic cu majorarea MMP2 și a raportului

MMP2/TIMP2, fapt ce indică semnificația patogenetică a factorilor ce amplifică expresia metaloproteinazelor și accentuează degradarea proteinei principale a matricei extracelulare .

Din imaginile confocale ale unui segment de vas sănătos comparate cu cele reperate pe zonele de restenoză minoră observăm că raportul dintre colagenul tip I sintetizat și cel denaturat este relativ balansat (Figura 6.6), pe când în restenoza de grad moderat și sever se remarcă diminuarea practic completă a sintezei de colagen tip I și o majorare multiplă a colagenului de tip I denaturat, în special în media și neointima zonei de restenoză (figura 6.7).

Important de menționat, că degradarea colagenului I progresează odată cu avansarea gradului de restenoză, iar atenuarea sintezei de novo a colagenului I, dimpotrivă, devine mai accentuată. Prin urmare, evoluția RIS se manifestă prin periclitarea metabolismului din matricea extracelulară, iar acumularea colagenului denaturat în zona neointimei determină gradul de proliferare a acesteia și, deci, severitatea restenozei.

Determinarea cantitativă a colagenului tip I sintetizat *de novo* a demonstrat că rata de sinteză a colagenului nu se modifică semnificativ în RIS de grad minim, dar procesul urmărit se diminuează subit chiar în situația unei restenoze de grad moderat. Valoarea markerului PICP se estimează micșorată de 3-3,5 ori față de indicele de referință în media musculară și peretele coronarian intact. În schimb progresiunea RIS până la cote severe determină diminuarea cu încă 7-12% a markerului de sinteză a colagenului I, fapt ce extinde reculul markerului la o diferență de peste 5 ori. În zona neointimei declinul PICP în gradele de restenoză moderată și severă față de gradul minim ajunge să fie considerabil și atinge în medie cote de 11-20%.

Pe acest fundal se urmărește augmentarea notabilă a degradării colagenului de tip I. Markerul specific CITP se atestă în creștere concludentă deja în RIS de grad moderat - cu 250 și chiar 420% peste indicele de referință în peretele integral și, respectiv, în media musculară. În adventicea segmentului coronarian cu RIS de grad moderat CITP depășește cu aproximativ 50% indicele de referință, iar în RIS severă - cu peste 80% ( $p < 0,05$ ). În pattern-ul restenozei de grad moderat și sever CITP se atestă de valori semnificativ elevate față de RIS de grad minor - diferență de 3-3,3 ori.

Modificările iminente ale PICP și CITP decelate în RIS au condus la creșterea marcată a raportului CITP/PICP față de indicele de referință, care în RIS de grad moderat și în cea severă atinge creșteri de cca 4-6 ori în peretele integral și de 7-10 ori - în media musculară. De remarcat detaliul, că modificări similare ale markerului de sinteză și degradare a colagenului de tip I s-au apreciat și în serul pacienților cu restenoză intra-stent - comparativ cu indicii de referință (vezi capitolul IV).



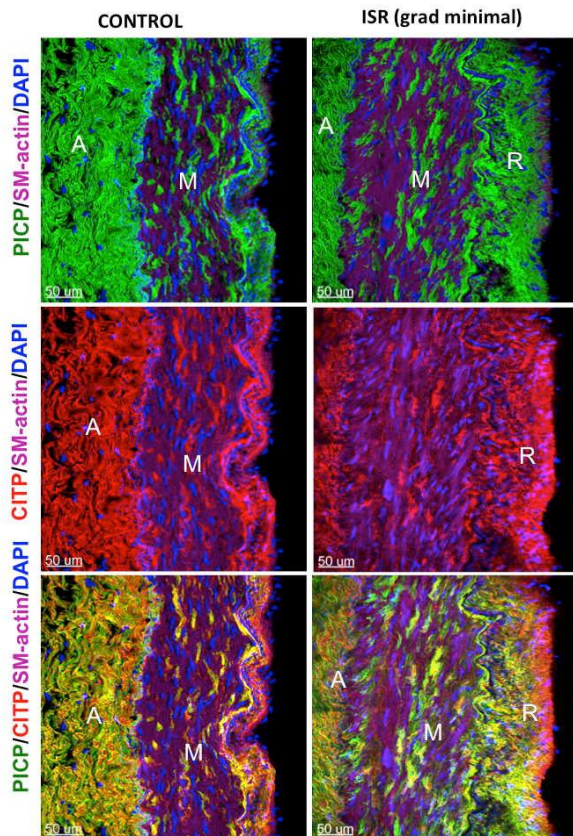


Figura 6.6. Imaginile confocale ale unui segment de vas sănătos comparate cu cele reperate pe zonele de restenoză minoră demonstrează ca raportul dintre colagenul tip I sintetizat (PICP) și cel denaturat (CITP) este relativ balansat.

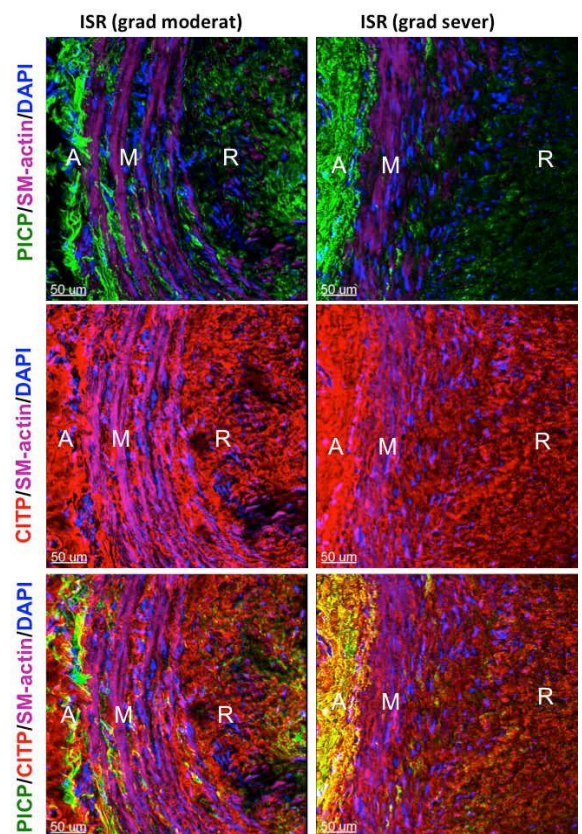


Figura 6.7. Imagini confocale ale unui fragment de vas coronarian cu restenoză de grad moderat – sever, colorat prin imunohistochimie triplă cu anticorpi către colagenul I nou sintetizat (PICP), colagenul I denaturant (CITP) și SM-actină. În aceste forme de restenoză se remarcă diminuarea completă a sintezei de colagen tip I, în schimb crește substanțial colagenul tip I denaturat, mai pregnant în media (M) și neointima de restenoză (R). Această diferență devine și mai evidentă în imaginile suprapuse (panourile de jos).

## 7. EVALUAREA REACTIVITĂȚII VASCULARE PERIFERICE ȘI CORONARIENE ÎN DISFUNȚIA DIABETOGENĂ ȘI A EFECTULUI ANG 1-7 MEDIAT PRIN RECEPTORII MASS

Disfuncția endotelială este un factor crucial pentru declanșarea și susținerea remodelării vasculare în diferite paterne ale dishomeostaziei circulatorii. Periclitarea sintezei factorilor derivați de endoteliu, în primul rând, a oxidului nitric compromise nu numai vasomotricitatea, dar și controlul efectelor mitogene și de creștere ale factorilor neuroendocrini, cum ar fi NE, ET-1 și Ang II [21]. Cercetările recente aduc la apel oportunitatea acțiunii vasotrope a Ang 1-7 mediate prin receptorii *mass* în vederea contracarării efectelor detrimentală ale Ang II mediate

prin receptorii AT1. În acest context conceptual este importantă estimarea rolului Ang 1-7 în promovarea reactivității vasculare periferice și coronariene în disfuncția endotelială diabetogenă (DED).

### 7.1. Evaluarea *in vitro* a reactivității vasculare periferice în disfuncția endotelială diabetogenă și a efectului Ang 1-7.

Nivelul răspunsului constrictor al inelelor izolate de aortă indus de factorii neuroendocrini (Phe, NE, ET-1 și Ang II) a fost estimat în raport cu nivelul contracției maxime induse prin depolarizare cu soluția de KCl (50 mM), platoul respectiv servind drept indice de referință (100%). Vasodilatarea endotelii dependentă și efectul Ang 1-7 ( $10^{-7}$ - $10^{-5}$  M) s-au apreciat în raport cu reducerea platoului constrictor al Phe ( $10^{-6}$  M) la administrarea carbacolului ( $10^{-7}$ - $10^{-5}$  M) și, respectiv, a Ang 1-7.

Ațiunea factorilor neuroendocrini în diferite concentrații s-a impus în DED prin platouri constrictoare semnificativ superioare paternului martor (tab. 7.1).

Tabelul 7.1. Platoul constrictor al aortei la acțiunea factorilor neuroendocrini

Stimulare	Martor (n=9)	DED (n=10)
Phe ( $10^{-6}$ M)	54,5±3,6%	73,2±4,4% (+34,3% vs martor) p<0,01
NE ( $10^{-6}$ M)	41,9±3,2%	59,6±4,1% (+42,2% vs martor) p<0,01
Ang II ( $10^{-6}$ M)	29,7±2,1%	45,1±3,3% (+51,9% vs martor) p<0,001
ET-1 ( $10^{-6}$ M)	71,6±5,8%	93,4±6,1% (+34,8% vs martor) p<0,01

Efectul vasoconstrictor maxim este inherent ET-1, iar cel mai concludent spor față de indicele martor s-a estimat la acțiunea Ang II. Remarcabil, că în condiții de blocare a receptorilor *mass* prin intermediul agonistului specific A779 efectul vasoconstrictor al Ang II a fost semnificativ potențat, platoul constrictor elevând cu 36,4%. Pe de altă parte, premedicația inelelor izolate de aortă cu Ang 1-7 a redus semnificativ vasoconstricția indusă de Ang II, platoul constrictor fiind depreciat cu 32,8% (tab. 7.2).

Tabelul 7.2. Platoul constrictor al aortei la acțiunea factorilor neuroendocrini

Ang II ( $10^{-6}$ M)	A779 ( $10^{-6}$ M) + Ang II ( $10^{-6}$ M)	Ang 1-7 ( $10^{-6}$ M) + Ang II ( $10^{-6}$ M)
29,7±2,1%	61,5±4,2% (p<0,05 vs Ang II)	30,3±2,8% (p<0,05 vs Ang II)

Evidențele obținute indică *per ansamblu* asupra capacității Ang 1-7 de a ameliora răspunsul vascular periferic la acțiunea vasoconstrictoare a Ang II în disfuncția endotelială diabetogenă și demonstrează semnificația receptorilor *mass* [22]. În acest context este însemnat și efectul Ang 1-7 de reducere *per se* a platoului constrictor al Phe, rata căreia este mai

concludentă comparativ cu decalajul platoului iminent acțiunii carbacolului în raport cu paternul martor. Astfel, la acțiunea Ang 1-7 în concentrațiile  $10^{-7}$ - $10^{-5}$  M platoul constrictor al Phe în DED este elevat față de nivelul martor cu 5-8,2%, iar la stimularea colinergică această discrepanță este mult mai pronunțată, atingând cote de 17-36%.

## 7.2. Evaluarea *in vitro* a reactivității coronariene în disfuncția endotelială diabetogenă și a efectului Ang 1-7.

În contextul efectelor vasotrope benefice ale Ang 1-7 mediate prin receptorii *mass* identificate pe inelele izolate de aortă în disfuncția endotelială este inteligibilă cercetarea particularităților acestora în reglarea rezervei funcționale coronariene (RFC). Elucidarea acestora poate conduce la materializarea unor noi ținte terapeutice vizavi de ameliorarea fenomenului coronarian Gregg, precum și a perfuziei coronariene compromise la distanță după manevra de angioplastie. Sub aceste aspecte am evidențiat ca pertinente următoarele abordări:

- \* Evaluarea RFC la acțiunea Ach și Brk, inclusiv pe fondalul blocării receptorilor B2.
- \* Evaluarea efectului *per se* al Ang 1-7 mediat prin intermediul receptorilor *mass* asupra RFC.
- \* Evaluarea rolului mecanismului de hiperpolarizare a miocitului neted coronarian în reglarea fenomenului coronarian Gregg în DED pe modelul cordului izolat izovolumic.

Datele obținute trec în evidență micșorarea semnificativă a RFC în disfuncția endotelială diabetogenă la acțiunea vasorelaxantă a acetilcolinei sau bradikininei (tab. 7.3).

Tabelul 7.3. Valoarea RFC la stimulare colinergică și kininergică

Lot	Acetilcolina (Ach)		Bradikinina (Brk)	
	$10^{-7}$ M	$10^{-5}$ M	$10^{-7}$ M	$10^{-5}$ M
Martor (n=8)	24,3±1,6%	35,8±2,4%	14,7±0,9%	22,6±1,2%
DED (n=7)	15,2±1,1%** -38% vs martor	23,8±1,8%** -34% vs martor	11,8±1,1% -20% vs martor	15,6±1,3%* -31% vs martor

Legendă: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – semnificația discrepantei comparativ cu lotul martor

Creșterea fluxului coronarian este în DED mai mică față de indicele martor cu până la 38% la acțiunea Ach și cu 31% la acțiunea Brk. De menționat, că blocarea receptorilor B2 ai bradikininei a atenuat efectul coronarodilatator al nonapeptidului, dar fenomenul dat a fost mult mai accentuat în lotul martor, în deosebi, în cadrul perfuziei coronariene la presiune elevată, 100 cm col. H<sub>2</sub>O: 84,9 vs 54,9% (tab. 7.4).

Prin urmare în DED crește aportul receptorilor B1 în promovarea coronarodilatării induse de bradikinină, ceea ce poate fi un mecanism compensator în disfuncția endotelială.

Tabelul 7.4. Valoarea RFC la acțiunea bradikininei pe fondalul blocării receptorilor B2

Lot	Presiunea perfuziei 70 cm col H <sub>2</sub> O		Presiunea perfuziei 100 cm col H <sub>2</sub> O	
	Brk	HOE-140+Brk	Brk	HOE-140+Brk
Martor	16,4±1,1%	5,25±0,44%	21,7±1,9%	3,27±0,25%
DED	11,3±0,81%*	8,4±0,65%*	14,1±1,2%*	6,35±0,58**

Legendă: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01 – semnificația discrepantei comparativ cu lotul martor

Administrarea Ang 1-7 s-a impus printr-o RFC similară lotului martor. Pe fondalul stimulării receptorilor *mass* efectul coronaroconstrictor al Ang II concludent se depreciază, iar în condițiile de blocare a receptorilor *mass* prin A779, dimpotrivă, este potențat (tab. 7.5).

Tabelul 7.5. Valoarea RFC la acțiunea Ang II în funcție de activitatea receptorilor *mass*

Lot	Ang II (10 <sup>-6</sup> M)	Ang 1-7 + Ang II	A779 + Ang II
Martor	16,3±1,4%	9,4±0,8%&	25,4±2,2%&
DED	23,8±1,9%*	13,5±1,2%*&	36,3±2,7%*&

Legendă: \* - p<0,05 vs lotul martor; & - p<0,01 vs Ang II

Coronarodilatarea mediată prin mecanismul de hiperpolarizare nu este afectată în DED, acțiunea peroxidului de hidrogen inducând o creștere mai pronunțată a fluxului coronarian în toate concentrațiile aplicate (tab. 7.6).

Tabelul 7.6. Rezerva funcțională coronariană la acțiunea peroxidului de hidrogen

Lot	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10 <sup>-7</sup> M)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10 <sup>-6</sup> M)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10 <sup>-5</sup> M)
Martor (n=8)	9,4±0,6 %	12,5±0,7 %	14,9±1,2 %
DED (n=7)	10,8±0,8 % (p>0,05)	15,3±1,0 % (p<0,05)	19,6±1,4 % (p<0,05)

Așadar, rezultatele studiului fundamental tranșează unele particularități oportune ale reactivității coronariene și vasculare periferice în DED: 1) creșterea aportului receptorilor B1 în promovarea efectului coronarodilatator al bradikininei; 2) fezabilitatea mecanismului de hiperpolarizare în reglarea fenomenului coronarian Gregg [23]; 3) efectul vaso- și coronarodilatator al Ang 1-7 nu este compromis, iar stimularea receptorilor *mass* se impune prin atenuarea semnificativă a acțiunii vaso- și coronaroconstrictoare a Ang II.



## CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE

### Concluzii generale

1. În studiul nostru rata incidenței diabetului zaharat la pacienții cu RIS s-a decelat în medie cu 42% peste indicele inerent pacienților fără RIS: 38,5% vs 27,1%. Evoluția RIS pe fondalul diabetului zaharat se impune prin creșterea cu 40-41,6% a cazurilor de restenoză severă - de 90-99% și total ocluzivă comparativ cu paternul non-diabetic.
2. Rezultatele studiului morfologic au demonstrat, că hiperplazia neointimei care conduce la restenoza intra-stent este determinată de componenta celulară impusă prin acumularea în zona neointimei a miocitelor netede vasculare cu fenotip secretor și macrofagelor, precum și de componenta moleculară -acumularea colagenului degradat predilect de tip I.
3. Destrucția și reorganizarea matricei extracelulare este o precondiționare oportună a restenozei intra-stent, care facilitează migrarea miocitelor netede vasculare cu fenotip secretor. Creșterea expresiei MMP2 este asociată de reducerea cantitativă, în raport direct de gradul RIS a markerului sintezei colagenului fibrilar de tip I (PICP) cu până la 75-85%, în timp ce markerul degradării (CITP) crește de 3,5-3,8 ori în media RIS de grad moderat și sever.
4. Rata degradării colagenului de tip III, evaluată în studiul nostru, este semnificativ depreciată față de cea a colagenului de tip I, fapt ce determină creșterea raportului cantitativ colagen III/I în relație directă cu gradul restenozei la cote de 5-6 ori în media RIS de grad moderat și sever. Proprietățile elastice scăzute ale colagenului fibrilar de tip III față de colagenul I poate fi un patern important al remodelării coronariene negative și un factor de periclitare a motricității coronariene.
5. Evaluarea nivelurilor circulante ale markerilor sintezei și degradării colagenului de tip I poate fi fiabilă în vederea predicției riscului de evoluție a restenozei intra-stent, dat fiind că valorile acestora sunt notabil similare modificărilor markerilor în paternul tisular al RIS apreciate morfologic. Astfel, conținutul sanguin al PINP scade semnificativ – cu 53,3% la pacienții cu RIS, iar CITP elevează cu 187,6%, determinând un raport CITP/PINP majorat de 6,2 ori.
6. Datele studiului nostru au demonstrat pentru prima dată, că evoluția restenozei intra-stent este asociată de creșterea expresiei ARN extracelular în paternul tisular al segmentului coronarian iminent, utilizând metoda de hibridizare *in situ* și kitul "SYTO RNA Select". Rezultatele cantitative au decelat o majorare a e-ARN proporțională gradului de restenoză, aceasta atingând cote de 95% în peretele integral și, respectiv, 280% - în media musculară.

7. Elevarea e-ARN se anunță nu numai un predictor al restenozei intra-stent, dar și drept un eventual factor patogenetic al acesteia, dată fiind corelarea pozitivă și de intensitate înaltă a acesteia cu indicii cantitativi ai markerilor stresului oxidativ și inflamației nespecifice apreciați în paternul tisular al RIS:  $r(\text{e-ARN} - \text{RLO}) = +0,779$ ;  $r(\text{e-ARN} - \text{TNF}\alpha) = +0,88$ ;  $r(\text{e-ARN} - \text{numărul de macrofage}) = +0,86$ .
8. Datele obținute denotă, că stresul oxidativ și inflamația nespecifică sunt mecanisme patogenetic importante în dezvoltarea restenozei intra-stent. Suportul morfologic pertinent al acestei evidențe constă în stabilirea creșterii în paternul tisular al RIS a expresiei radicalilor liberi de oxigen,  $\text{TNF}\alpha$  și IL-1beta în raport direct cu gradul restenozei. Conținutul RLO se elevează dublu deja în restenoza minimală, excelând indicele martor de 6 ori în restenoza severă, iar IL-1beta urmează un spor maxim de 160% inerent restenozei severe.
9. Estimarea nivelelor circulante ale markerilor stresului oxidativ la pacienții cu RIS confirmă rolul acestora în evoluția restenozei. Cele mai reprezentative evidențe ale activării stresului oxidativ se anunță prin creșterea cu până la 68% a dialdehidei malonice și a produselor proteice oxidate avansat, care este o consecință a incompetenței sistemului antioxidant, manifestată prin reducerea semnificativă a activității antioxidante totale, glutatation-reductazei, SOD și catalazei.
10. Augmentarea răspunsului inflamator nespecific în RIS, atestată morfologic, se traduce coerent și prin valorile markerilor specifici determinate în sânge. Sunt importante în acest sens majorarea semnificativă a  $\text{TNF}\alpha$ , IL-6, IL-8, sCD40, MIP-1beta și rezistinei, iar pe de altă parte – diminuarea cu 42% a heregulinei-1beta. Acești markeri, cât și markerii stresului oxidativ, se pot evalua în calitate de predictor ai riscului RIS la pacienții expuși angioplastiei.
11. Aplicarea metodei IVUS a individualizat superioritatea numerică a cazurilor de prezență a restenozei focale în stenturile DES comparativ cu BMS: 83,3 vs 19,4%, iar raportul ariei de hiperplazie a neointimei a avut o relație inversă:  $1,4 \pm 1,3$  vs  $2,5 \pm 0,7$  mm<sup>2</sup>. Vizualizarea segmentului coronarian prin OCT permite identificarea paternelor morfologice de evoluție a RIS, care în stenturile de generație nouă excelează față de stenturile de prima generație prin valori mai reduse în medie cu 20% ale ariei hiperplaziei neointimei.
12. Evaluarea *in vitro* a reactivității vasculare periferice și coronariene pe fondalul disfuncției endoteliale diabetogene evidențiază rolul Ang 1-7 în promovarea vasomotricității mediate prin receptorii *mass* drept un mecanism compensator vizavi de vasodilatarea endoteliu

dependentă compromisă. Efectul vaso- și coronarodilatator al Ang 1-7 nu este afectat în disfuncția endotelială, efectul Ang II fiind potențat în condițiile blocării receptorilor *mass* sau prezervat la premedicație cu Ang 1-7.

13. Rezultatele principal noi pentru știință și practică obținute constau în elucidarea unor mecanisme noi ale hiperplaziei neointimei și reorganizării matricei extracelulare ce se află la baza evoluției restenozei intra-stent, consolidând repere importante ale suportului patogenetic al remodelării coronariene negative după angioplastie, contribuind, astfel, la optimizarea diagnosticului și pronosticului RIS, precum și la conturarea țințelor terapeutice de prevenire sau atenuare a restenozei.

### **RECOMANDĂRI PRACTICE**

Au fost consolidate criteriile importante de apreciere a riscului RIS și trombozei prin intermediul tomografiei coerente optice și al ultrasonografiei intracoronariene, precum și a fezabilității diagnostice a markerilor care se corelează autentic cu indicii morfofuncționali estimați invaziv. Rezultatele studiului oferă noi opțiuni de diagnostic și pronostic al restenozei intra-stent prin utilizarea markerilor inflamației nespecifice și ai stresului oxidativ cu valoare predictivă concludentă privind hiperplazia neointimei. Este oportună întemeierea strategiilor terapeutice farmacologice aplicate cu scopul prevenirii sau atenuării RIS prin modularea mecanismelor patogenetice cheie ale restenozei.

### **Bibliografie**

1. Chen HY., Hermiller J., Sinha AK., et al. Effects of stent sizing on endothelial and vessel wall stress: potential mechanisms for in-stent restenosis. *J Appl Physiol.* 2009, 106(5): 1686-1691.
2. Kang S., Mintz G., Park D., et al Mechanisms of in-stent restenosis after drug-eluting stent implantation. *Intravascular ultrasound analysis. Circulation:Cardiovasc. Interv.* 2011, 4:9-14.
3. Koskinas KC, Chatzizisis YS, Antoniadis AP. Role of endothelial shear stress in stent restenosis and thrombosis. *Pathophysiologic mechanisms and implications for clinical translation. J Am Coll Cardiol,* 2012, 59(15): 1337-1349.
4. Hirschberg K., Entz L., Szab G., Merkely B., Restenosis following endovascular interventions: clinical and experimental studies. *Intern J Intern Med,* 2009, 150(28): 1307-1312.
5. Giampaolo N. Inflammation: a key mechanism of adverse reactions to coronary stent and a target for future therapies. *Current Vasc Pharmacol.* 2013, 11(4): 377-387.

6. 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.
7. Шараев П.Н. и др. Способ определения активности N-ацетил- $\beta$  D-гексозаминидазы в моче. *În: Клин. лабор. д-ка*, 2004, №5 с. 40-42.
8. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии, Минск, 1982. 340 с.
9. Северин С.Е. Определение гистидинсодержащих дипептидов. Практикум по биохимии. Москва: Изд-во МГУ, 1989, с.191-195.
10. Hector A. Cabrera-Fuentes, Marisol Ruiz-Meana, Sawa Kostin, et. al. RNase1 prevents damaging interplay between extracellular RNA and TNF- $\alpha$  in cardiac ischaemia/reperfusion injury. *On: Thrombosis and Haemostasis*, 2014, nr. 6, 1-10.
11. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *În: Nucleic Acids Res*, 2001, 29, p. 45.
12. Попович И. Роль микро-РНК 143/145 в развитии внутривенного рестеноза. *În: Кардиология*, 2011, № 9, с. 17-21.
13. Kume T, Akasaka T, Kawamoto T, et al. Assessment of coronary arterial plaque by optical coherence tomography. *Am J Cardiol* 2006; 97: 1172-1175.
14. Takarada S, Imanishi T, Kubo T, et al. Effect of statin therapy on coronary fibrous-cap thickness in patients with acute coronary syndrome: Assessment by optical coherence tomography study. *Atherosclerosis*. 2009; 202: 491-497.
15. Murata A, Wallace-Bradley D, Tellez A, et al. Accuracy of optical coherence tomography in the evaluation of neointimal coverage after stent implantation. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010; 3: 76-84.
16. Dangas GD, Claessen BE, Caixeta A, et al. In-stent restenosis in the drug-eluting stent era. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:1897–907.
17. Morice MC, Colombo A, Meier B, et al. Sirolimus- vs paclitaxel-eluting stents in de novo coronary artery lesions: the REALITY trial: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006;295:895–904.
18. Yabushita H, Bouma BE, Houser SL, et al. Characterization of human atherosclerosis by optical coherence tomography. *Circulation* 2002;106:1640–5.
19. Simsekylmaz S, Cabrera-Fuentes HA, Kostin S et al. The role of extracellular RNA in atherosclerotic plaque formation in mice. *Circulation*, 2013;129(5):598-606.

20. Ciobanu L., Popvici M., Costin S., Popovici I., Cobeț V., Ivanov V. Extracelular RNA and extracelular matrix reorganization in the in-stent restenosis. ESC Congress. Barcelona, 2014. În: European Heart Journal, 2014, 35, Abstract, Supplement, p.802.
21. Popovici M., Cobeț V., Ciobanu N., Popovici I., Ciobanu L., Ivanov V. Reactivitatea cardiovasculară în insuficiența cardiacă. Chișinău, 2010, 210 p.
22. Ciobanu L., Cobeț V., Todiraș M., Popovici M. Reactivitatea vasculară periferică în disfuncția endotelială: rolul Ang 1-7 și receptorilor *mass*. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2013, 1(37), p.10-14.
23. Ciobanu L., Cobeț V., Todiraș M. Fenomenul coronarian Gregg în disfuncția endotelială diabetogenă: mecanisme compensatorii de reglare. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2013, 1(37), p.15-19.

## LISTA LUCRĂRILOR PUBLICATE LA TEMA TEZEI

### 1. Monografii

#### 1.2. monografii colective (cu specificarea contribuției personale)

1. Popovici M., Cobeț V., Ciobanu N., Popovici I., **Ciobanu L.**, Ivanov V. Reactivitatea cardiovasculară în insuficiența cardiacă. Chișinău, 2010, 210 p.

#### 2. Articole de sinteză

2. Popovici M., Cobeț V., Popovici I., Ciobanu N., Ivanov V., Todiraș M., **Ciobanu L.**, Moraru I. Unele semnificații ale reactivității coronariene în insuficiența cardiacă. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2008, nr.4, p.40-57. Categoria B.
3. Popovici M., Cobeț V., Popovici I., Ivanov V., Ciobanu N., Moraru I., **Ciobanu L.** Oportunități de reglare a perfuziei coronariene. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2008, nr.4, p.240-255. Categoria B.
4. **Ciobanu L.** Determinarea biomarkerilor de citoliză miocardică oportunitate pentru diagnosticul rapid al infarctului miocardic acut. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2008, nr.4 (18) p.268-275. Categoria B.
5. Popovici M., Cobeț V., Popovici I., Ivanov V., Ciobanu N., Moraru I., **Ciobanu L.** Perfuzia coronariană și stresul miocardic: relații reciproce. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2008, nr.4(18), p.23-32. Categoria B.
6. **Ciobanu L.** Markerii cardiovasculari: valori predictive și semnificații fiziopatologice. Curierul medical, 2012, nr. 6, p.47-53. Categoria B.
7. Sîrbu V., **Ciobanu L.**, Guagliumi G., Valcecchi O., Popovici I., Popovici M. Tomografia prin coerența intracoronariană. Curierul Medical, 2013, nr.5, p.44-49. Categoria B.

#### 3. Articole în diferite reviste științifice

##### 3.1. în reviste internaționale cotate ISI și SCOPUS

8. Попович М.И., Кобец В.А., Тодираш М.Т., Иванов В.М., Попович И.М., Чебану Н.В., Морару И.Л., **Чебану Л.М.** Изменение активности эндотелиновой системы при экспериментальной недостаточности сердца. În: Кардиология, 2005, Том 45, №8, с.33-36.
9. Попович М. И., Кобец В.А., Чебану Н.В., Иванов В.М., Тодираш М.П., Попович И.М., Морару И.Л., **Чебану Л.М.** Некоторые особенности сосудистой реактивности при сердечной недостаточности. În: Кардиология, 2010, №7, с.38-42.

10. **Чобану Л.М.**, Сырбу С.И., Попович И.М., Иванова В.М., Чобану Н.И., Гудумак В.С., Попович М.И. Иммуноферментный метод выявления  $Ca^{2+}$  атф-азы саркоплазматического ретикулула – нового биологического маркера острого инфаркта миокарда. În: Клиническая лабораторная диагностика, № 5, 2013, с.39-42. **Импакт фактор 0,858, SCOPUS.**

### 3.2. în reviste din străinătate recunoscute

11. Popovici M., Cobeț V., Todiraș M., Ivanov V., Popovici I., Ciobanu N., Moraru I., **Ciobanu L.** Unele efecte terapeutice ale antagoniștilor receptorilor endotelinici în insuficiența cardiacă experimentală. În: Revista Română de Cardiologie, vol. XX, nr.1, 2005, p.7-9.

### 3.3. în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei

12. Popovici M., Cobeț V., Malcoci A., **Ciobanu L.**, Popovici I., Moraru I. Variabilitatea ritmului cardiac la acțiunea acută a fluorului. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2005, nr.2(2), p. 98-102. Categoria B.
13. Popovici M., Costin S., Cobeț V., Ivanov V., Ciobanu N., Popovici I., Moraru I., **Ciobanu L.** Inerențe patogenetice ale insuficienței cardiace cardiomiopatie. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2006, nr.1(5), p.42-49. Categoria B.
14. Popovici M., Ciobanu N., Cobeț V., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.**, Moraru I. Elasticitatea arterială: mecanisme de afectare și indicii ei în patologia cardiovasculară. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2008, nr.4(18), p.32-40. Categoria B.
15. Chelea Iu., Guzun L., Popovici M., Costin S., Cobeț V., Ciobanu N., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.**, Moraru I. Manifestări morfofuncționale ale cardiotoxicității doxorubicinei. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2008, nr.4(18), p.231-239. Categoria B.
16. Popovici M., Rudi V., Cobeț V., Jalbă U., Ivanov V., **Ciobanu L.**, Jucovschi C. Factorii de risc ai bolilor cardiovasculare – Proiectul “Lăpușna”. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2010, nr.2(25), p.22-34. Categoria B.
17. **Ciobanu L.** Noi oportunități în diagnosticul precoce al infarctului miocardic acut. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2010, nr.2(25), p.111-121. Categoria B.
18. Popovici I., Sîrbu V., Valsecci O., **Ciobanu L.**, Popovici M. Mecanismele de restenoză intrastent analizate prin ultrasonografia intracoronariană. Curierul Medical, nr.5(323), 2011, p. 6-14. Categoria B.
19. **Ciobanu L.**, Cobeț V., Ciobanu N., Popovici M. Produsele finale ale glicării și elasticitatea arterelor periferice în insuficiența cardiacă. În: În: Curierul medical Nr. 4, 2012(328), p. 32-35. Categoria B.
20. **Ciobanu L.**, Popovici I., Cobeț V., Ivanov V., Costin S., Evaluation on the inflammation markers in in-stent restenosis. În: Curier medical. 2012, nr.5 (329), p.3-7. Categoria B.
21. **Ciobanu L.**, Cobeț V., Todiraș M., Popovici M. Reactivitatea vasculară periferică în disfuncția endotelială: rolul Ang 1-7 și receptorilor mass. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2013, 1(37), p.10-14. Categoria B.
22. **Ciobanu L.**, Cobeț V., Todiraș M. Fenomenul coronarian Gregg în disfuncția endotelială diabetogenă: mecanisme compensatorii de reglare. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2013, 1(37), p.15-19. Categoria B.
23. **Ciobanu L.** Evaluarea markerilor stresului oxidativ în perioada timpurie după angioplastia coronariană. În: Curierul Medical, 2013, V.56, nr.5, 104-109. Categoria B.
24. **Ciobanu L.**, Costin S., Popovici I., Cobeț V., Popovici M. ARN extracelular – un predictor nou și un eventual mecanism al restenozei intra-stent. În: Curierul Medical, 2014, V.57, nr.1, p. 36-40. Categoria B.

25. **Ciobanu L.** Dinamica de durată a markerilor stresului oxidativ la pacienții cu restenoză intra-stent după revascularizarea repetată țintă. În: Curierul Medical, 2014, V.57, nr.1, 30-35. Categoria B.
26. **Ciobanu L.** Evaluarea markerilor inflamației la pacienții cu restenoză intra-stent expuși revascularizării. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, 2014, 1(42), p. 257-264. Categoria B.
27. Costin S., **Ciobanu L.**, Popovici I., Cobeț V., Popovici M. Colagenul matricei extracelulare în restenoza coronariană intra-stent. În: Curierul Medical, 2014, V.57, nr.3 3-8. Categoria B.

#### **3.4. în reviste aflate în proces de acreditare**

28. Popovici M., Sârbu S., Cobeț V., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.** Determinarea serică a Ca-ATPasei în diagnosticul infarctului miocardic acut. Arta Medica. Revistă medicală științifico-practică, 2004, nr.5 (8) 3-6.
29. Popovici M., Nalivaico O., Todiraș M., Cobeț V., Ciobanu N., Ivanov V., **Ciobanu L.**, Popovici I. Reactivitatea endotelinică a arterei pulmonare în hipertensiune arterială pulmonară. În: Arta Medica, 2005, nr.2 (11), 25-28.
30. **Ciobanu L.** Noi oportunități pentru diagnosticul IMA. În: Arta medica, 2008, nr. 5(32), p.23-27. Categoria B.
31. Popovici M., Cobeț V., Ciobanu N., Popovici I., Ivanov V., Moraru I., **Ciobanu L.** Opțiuni de evaluare și terapeutice ale disfuncției endoteliale. În: Arta Medica, 2005, nr. 3 (12) p.7-10.

#### **4. Articole în culegeri științifice**

##### **4.1. culegeri de lucrări ale conferințelor internaționale**

32. Попович М. И., Костин С.И., Кобец В.А., Гузун Л., Чобану Н.В., Иванов В.М., Попович И.М., Морару И.Л., **Чобану Л.М.** Клеточная смерть и инотропный ответ миокарда при сердечной недостаточности. În: Материалы конференции РФ, посвященной 80-летию академика Е.И.Чазова. 2009, с.209-219.

##### **4.2. culegeri de lucrări ale conferințelor naționale**

33. Popovici M., Cobeț V., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.** Complianța diastolică a cordului în hipertensiune coronariană și metode de corecție. În: Anale științifice ale USMF „N.Testemițanu”, vol. II, 2005, p.430-436

#### **5. Materiale/ teze la forurile științifice**

##### **5.1. conferințe internaționale (peste hotare)**

34. Popovici M., Sârbu S., Cobeț V., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.** The serum cardiac sarcoplasmic Ca-ATPase immunoassessment: a new diagnostic marker of acute myocardial infarction. European Congress of Cardiology. Abstract: P 1618, p.2003.
35. Popovici M., Cobeț V., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.** Unele particularități funcționale ale cordului în energodeficiență acută. Corecție cu magneziu. În: Revista română de cardiologie. Rezumatele al XLII-lea Congres Național de Cardiologie, Vol. XVIII, 2003, p.183.
36. Попович М., Сырбу С., Кобец В., Иванов В., Попович И., **Чебан Л.** Содержание в крови сердечной саркоплазматической Са-АТФ-азы при остром инфаркте миокарда. Российский национальный Конгресс Кардиологов. În: Материалы конгресса, Москва, 7-9 октября, 2003, с.262.
37. Ivanov V., Popovici I., Guzun L., Cobeț V., **Ciobanu L.**, Costin S., Popovici M. Altered balance between circulating endothelial progenitor cells and apoptotic endothelial cells in patients with coronary artery disease. ESC Congress 2005, Abstract Number 83673..
38. Popovici M., Cobeț V., Nalivaico O., Todiraș M., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.** Reactivitatea vasculară endotelinică în patologia cardiovasculară (date clinico-experimentale). În: Revista română de cardiologie. Vol. XX, 2005, p.117-118.
39. Ivanov V., Popovici I., Costin S., Cobets V., **Ciobanu L.**, Popovici M. Correlation

- between circulating progenitor endothelial cells and apoptotic endothelial cells with the number of altered coronary arteries in CAD. În: Revista română de cardiologie, Vol. XX, 2005, A,74.
40. Popovici M., Cobets V., Nalivaico O., Todiras M., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.** Endothelinic vascular reactivity in cardiopulmonary pathology (research and clinical data). În: Revista română de cardiologie, Vol. XX, 2005, A,75.
  41. Popovici M., Cobets V., Nalivaico O., Todiras M., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.** The endothelin vascular reactivity in the cardiovascular pathology (clinic-experimental data). În: Revista Română de Cardiologie, al XLIV-lea Congres Național de Cardiologie, România, Poiana Brașov, 2005, vol. XX (Supl. A), A,118.
  42. Popovici M., Ivanov V., Ciobanu N., Costin S., Cobeț V., Popovici I., **Ciobanu L.** Unele particularități ale remodelării vasculare în insuficiența cardiacă. În: Revista Română de cardiologie, 2006, A, 71.
  43. Попович М.И., Чобану Н.В., Кобец В.А., Тодираш М.Т., Попович И.М., Морару И.Л., Антон Е.А., **Чобану Л.М.** Клинико-экспериментальные проявления эндотелиальной дисфункции при сердечной недостаточности. În: Материалы Российского Национального Конгресса Кардиологов и Конгресса Кардиологов стран СНГ. Кардиология без границ, 9-11 октября, Москва 2007, с.250.
  44. Попович М.И., Иванова В.М., **Чобану Л.М.**, Рудик В.Ф. Сравнительная эффективность и безопасность лечения спиролином (БИОР), ловастатином а также их комбинацией у пациентов с гиперлипидемией. În: Материалы Российского Национального Конгресса Кардиологов и Конгресса Кардиологов стран СНГ. Кардиология без границ, 9-11 октября, Москва, 2007, с.114-115.
  45. Попович М.И., Морару И.Л., Кобец В.А., Тодираш М.П., Чобану Н.В., Попович И.М., **Чобану Л.М.** Изменение сосудистой реактивности при гипоксическом прекондиционировании. În: Материалы Российского Национального Конгресса Кардиологов и Конгресса Кардиологов стран СНГ. Кардиология без границ, 9-11 октября, Москва, 2007, с.249.
  46. Popovici M., Cobeț V., Ivanov V., Popovici I., Ciobanu N., Moraru I., Anton E., **Ciobanu L.** Unele evidențe de remodelare coronariană funcțională în insuficiența cardiacă. Al 46-lea Congres Național de Cardiologie (Sinaia-România, 15-18 septembrie 2007), În: Revista Română de Cardiologie, vol. XXII, Supliment, A, 103-104.
  47. Popovici M., Cobeț V., Ivanov V., Todiraș M., Ciobanu N., Popovici I., Moraru I., Anton E., **Ciobanu L.** Răspunsul vascular periferic în afectarea doxorubicinică a cordului. Al 46-lea Congres Național de Cardiologie (Sinaia-România, 15-18 septembrie 2007), În: Revista Română de Cardiologie, vol. XXII, Supliment, A, 117-118.
  48. Popovici M., Kobets V., Popovici I., Ciobanu N., Moraru I., Anton E., **Ciobanu L.** Several evidences of coronary functional remodeling in heart failure. Al 46-lea Congres Național de Cardiologie (Sinaia-România, 15-18 septembrie 2007), În: Revista Română de Cardiologie, vol. XXII, Supliment, A, 104.
  49. Popovici M., Kobets V., Todiras M., Ciobanu N., Popovici I., Moraru I., Anton E., **Ciobanu L.** The peripheral vascular response in the doxorubicin induced heart failure. Al 46-lea Congres Național de Cardiologie (Sinaia-România, 15-18 septembrie 2007), În: Revista Română de Cardiologie, vol. XXII, Supliment, A, 118.
  50. Popovici M., Popovici I., Ivanov V., Ciobanu N., Moraru I., Todiraș M., **Ciobanu L.** Vitamina E crește rezerva funcțională coronariană în insuficiența cardiacă. Al 47-lea Congres Național de Cardiologie (Sinaia-România, 19-23 septembrie 2008), În: Revista Română de Cardiologie, 2008, vol. XXIII, Supliment, A, 140-141.
  51. Popovici M., Kostin S., Kobets V., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu N.**, Ciobanu L., Moraru I. Conceptual frontiers of the heart failure. În: Official Journal of the Balkan



- Medical Union, First Congress of Emergency Medicine of the Republic of Moldova, 2008, vol. 2 (suppl. 3), p. 46.
52. Ivanov V., Popovici M., Popovici I., Cobeț V., **Ciobanu L.**, Costin S. Statinele reduc nivelul hidroxidului lipidic circulant și acumularea LDL în celulele endoteliale. Al 47-lea Congres Național de Cardiologie (Sinaia-România, 19-23 septembrie 2008), În: Revista Română de Cardiologie, 2008, vol. XXIII, Supliment, A, 159-160.
  53. Popovici M., Cobeț V., Popovici I., Ivanov V., Ciobanu N., Moraru I., Todiraș M., **Ciobanu L.** Reactivitatea coronariană endotelică în impactul ischemic. Al 47-lea Congres Național de Cardiologie (Sinaia-România, 19-23 septembrie 2008) În: Revista Română de Cardiologie, 2008, vol. XXIII, Supliment, A, 165-166.
  54. Popovici M., Kobets V., Ciobanu N., Ivanov V., Popovici I., Anton E., **Ciobanu L.**, Moraru I. How to antagonize the endothelinic receptors for a better therapeutic effect in heart failure. Abstracts of the Congres ESC, Acute Cardiac Care, Paris, 2008, abstracts/poster, 20155.
  55. Popovici M., Cobeț V., Ciobanu N., Popovici I., Ivanov V., Moraru I., **Ciobanu L.** Reactivitatea arterială și coronariană în insuficiența cardiacă. Al 48-lea Congres Național de Cardiologie (Sinaia-România, 19-22 septembrie 2009), (Poster). În: Revista Română de Cardiologie. 2009, vol. XXIV, supliment, A, 137.
  56. Popovici M., Cobeț V., Popovici I., Ciobanu N., Ivanov V., **Ciobanu L.**, Moraru I. Mediated by hyperpolarization coronary dilation in heart failure. Al 49-lea Congres Național de Cardiologie, România, Sinaia, 2010. În: Revista Română de Cardiologie, 2010, vol. XXV, Supliment, A, 67.
  57. Popovici M., Kobets V., Ciobanu N., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.**, Moraru I. Arterial stiffening – a pattern of many cardiovascular disorders. The 3rd World Congress of Cardiology. Beijing. 2010, abstr.29483.
  58. Popovici M., Cobeț V., Ciobanu N., Popovici I., Ivanov V., **Ciobanu L.**, Moraru I., Todiraș M. Reactivitatea vasculară periferică în insuficiența cardiacă. Al 49-lea Congres Național de Cardiologie (Sinaia-România, 7-9 octombrie 2010). În: Revista Română de Cardiologie, 2010, vol. XXV. Supliment, A, 219.
  59. Popovici M., Kobets V., Ciobanu N., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.**, Moraru I. Inotropic cardiac response in the doxorubicin induced heart failure. ESC Congress, Frontiers in Cardiovascular Biology, Berlin, 2010, abstr., p.35.
  60. Popovici M., Cobeț V., Popovici I., Ciobanu N., Ivanov V., **Ciobanu L.**, Moraru I., Anton E., Todiraș M. Fenomenul coronarian Gregg în disfuncția endotelială diabetogenă. Al 50-lea Congres Național de Cardiologie (Sinaia-România, 29 septembrie - 01 octombrie 2011). În: Revista Română de Cardiologie, 2011, vol. XXVI, Supliment, A, 27.
  61. Popovici M., Popovici I., Costin S., Cobeț V., Ivanov V., Ciobanu N., **Ciobanu L.** Predictors of neointima hyperplasia in in-stent restenosis. ESC Congress, Germania, Munich, 2012, P4151.
  62. Popovici M., Cobeț V., Ciobanu N., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.**, Moraru I., Todiraș M. Peripheral arterial stiffness and reactivity in heart failure. ESC Congress, Germania, Munich, 2012, P1005.
  63. Popovici M., **Ciobanu L.**, Cobeț V., Ciobanu N. Complianța arterelor periferice și produsele finale ale glicării în insuficiența cardiacă. 51-lea Congres Național de Cardiologie din România. În: Revista Română de Cardiologie, 2012, vol. XXVII, Supliment, A, 63.
  64. **Ciobanu L.**, Popovici I., Cobeț V., Ivanov V., Popovici M., Costin S. Rolul inflamației în restenoza intrastent. În: Romanian Journal of cardiology, 2012, Vol.22, Supplement A, 83-84.

65. Grosul I., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.**, Popovici M. Evenimentele cardiovasculare majore, inflamația și tratamentul cu statine la pacienții supuși intervențiilor coronariene percutane cu implant de stent. În: Romanian Journal of cardiology. 2012, Vol.22, Supplement A, 158-159.
66. Panfile E., Ivanov V., Grosul I., Dumanschi C., **Ciobanu L.** Major cardiovascular events and inflammation among patients that underwent percutaneous coronary intervention with stent implantation. În: Archives of the Balkan Medical Union, 2013, 3(48), (Suppl.), p. 94-95.
67. **Ciobanu L.**, Cobeț V., Todiraș M., Popovici M. Rolul Ang 1-7 și receptorilor masă privind reactivitatea vasculară și coronariană în disfuncția endotelială diabetogenă. În: Romanian Journal of cardiology, 2013, vol.23, supplement, B,75-76.
68. **Ciobanu L.** Markerii morfologici și circulanți ai restenozei intra-stent. În: Romanian Journal of cardiology, 2013, vol.,23, supplement, B,148-149.
69. **Ciobanu L.** Evaluarea markerilor stresului oxidativ în perioada timpurie după angioplastie coronariană. Congresul National de Cardiologie, 3 –5 octombrie 2013, Sinaia, România. În: Revista Română de Cardiologie, 2013, vol.,23, Supliment, B,178-179.
70. **Ciobanu L.**, Popovici I., Cobeț V., Popovici M., Costin S. Evaluarea markerilor turnover-ului colagenului de tip I în restenoza intra-stent. În: Romanian Journal of cardiology, 2013,vol.23, supplement, B,248-250.
71. Panfile E., **Ciobanu L.**, Dumanschi C., Lazu M., Ivanov V. Modificări ale PCR-hs în intervențiile percutane la diverse grupe de pacienți cu angor pectoral stabil. În: Romanian Journal of cardiology, 2013,vol.23, supplement, B,175-176.
72. Попович М., **Чобану Л.**, Попович И., Костин С., Кобец В. Новые патогенетические аспекты доказательной базы внутрискрентного рестеноза. III Евразийский Конгресс кардиологов. 20-21 февраля, 2014, с.29.
73. **Ciobanu L.**, Popovici M., Panfile E., Cobeț V., Ivanov V., Moraru I., Todiraș M. Peripheral and coronary vasodilator response in chronic weary heart. ESC Congress. Frontiers in Cardiovascular Biology. Barcelona, 2014. Abstract 7541.
74. Cobeț V., **Ciobanu L.**, Panfile E., Popovici I., Ivanov V., Popovici M. Factors influencing coronary remodeling after stenting. ESC Congress. Frontiers in Cardiovascular Biology. Barcelona, 2014. Abstract, 75335.
75. Popovici M., **Ciobanu L.**, Cobeț V., Todiraș M., Moraru I. The Ang 1-7 mediated vascular and coronary reactivity in diabetic endothelial dysfunction. World Congress of Cardiology. Australia, Melbourne, 2014, Abstract, PT,239.
76. Popovici M., **Ciobanu L.**, Costin S., Popovici I., Cobeț V. Predictors of the coronary in-stent restenosis. World Congress of Cardiology. Australia, Melbourne, 2014. Abstract, PT,202.
77. Cobeț V., **Ciobanu L.**, Panfile E., Moraru I. Compensatory mechanisms of coronary reserve regulation in heart failure. ESC Congress. Heart Failure. Atena, 2014. Abstract, 66996.
78. Cobeț V., **Ciobanu L.**, Popovici M., Ivanov V., Popovici I., Panfile E. Evidences of inflammation and oxidative stress implication in the in-stent restenosis evolution. ESC Congress.Barcelona,2014.În:European Heart Journal,2014, 35,Abstract, Supplement, p. 80
79. **Ciobanu L.**, Popovici M., Costin S., Popovici I., Cobeț V., Ivanov V. Extracelular RNA and extracelular matrix reorganization in the in-stent restenosis. ESC Congress. Barcelona, 2014. În:European Heart Journal,2014, 35,Abstract, Supplement, p.802.
80. Cobeț V., Panfile E., **Ciobanu L.**, Popovici I., Ivanov V., Popovici M. Statin dosage and major adverse cardiovascular events after coronary angioplasty. ESC Congress. Barcelona, 2014. În:European Heart Journal, 2014, 35,( Abstract Supplement ), p.296.

81. **Ciobanu L.**, Costin S., Popovici I., Cobeț V., Popvici M. Predictori morfologici inediți ai restenozei coronariene intra-stent. 52-lea Congres Național de Cardiologie din România, 2014. În: Romanian Journal of Cardiology, 2014, Supplement, p. 125.
82. Popovici M., Popovici I., Ivanov V., **Ciobanu L.**, Calenici E., Surev A., Melnic T. Primele totalizări în realizarea programului național de tratament invaziv al infarctului miocardic acut in Republica Moldova. În: Romanian Journal of Cardiology, 2014, Supplement, p. 232.

### 5.2. conferințe internaționale în republică

83. Popovici M., Kostin S., Kobets V., Ivanov V., Popovici I., Ciobanu N., **Ciobanu Lucia**, Moraru I. Conceptual frontiers of the heart failure. În: Archives of the Balkan Medical Union, Chisinau, September, 2008, vol., 43, nr.3-supplement, p.46.
84. Panfile E., Ivanov V., Grosul I., Dumanschi C., **Ciobanu L.** Major cardiovascular events and inflammation amongst patients that underwent percutaneous coronary intervention with stent implantation. În: Archives of the Balkan Medical Union, 2013, vol., 48, nr.3-supplement, p. 94.
85. **Ciobanu L.** Coronary stent implantation impact on oxidative stress. În: Archives of the Balkan Medical Union, 2013, vol., 48, nr.3-supplement, p.96.
86. **Ciobanu L.** Collagen I synthesis and degradation markers assaying in the in-stent restenosis. În: Archives of the Balkan Medical Union, vol., 48, nr.3-supplement, 2013, p.97.

### 5.3. conferințe naționale

87. Popovici M., Sârbu S., Cobeț V., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.** Metodă de diagnostic precoce a infarctului miocardic acut. Buletin oficial de proprietate industrială, nr.8, 2004,

### 6. Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții

88. Brevet de invenție nr. 2513. Metodă de diagnostic precoce al infarctului miocardic acut/ Popovici M., Sârbu S., Cobeț V., Ivanov V., Popovici I., **Ciobanu L.** BOPi nr. 8/2004, p. 36.
89. Brevet de invenție nr. 2930. Metodă de evaluare a afecțiunilor endoteliale ale vaselor coronariene și a capacității lor de regenerare/ Ivanov V., Popovici M., Costin S., Popovici I., Cobeț V., **Ciobanu L.** BOPi nr. 12/2005.
90. Popovici M., Ivanov V., Costin S., Popovici I., Cobeț V., **Ciobanu L.** Evaluating tool of atherosclerotic endothelial coronary injuries. **Medalie de argint**, Eureka, 2006.
91. Popovici M., **Ciobanu L.**, Ivanov V., Cobeț V., Popovici I., Ciobanu N. The serum SR-ATP-ase (SERCA2a) - a marker of acute myocardial infarction”, **medalie de argint**. Salonul Expoziției Internaționale: ”Noi tehnologii de diagnostic și tratament”, Polonia, 2011.
92. **Ciobanu L.**, Popovici M., Ivanov V., Popovici I., Costin S., Cobeț V. The circulating endothelial progenitor cells assessment – a feasible tool of the coronary injuries diagnosis and prognosis. **Medalie de Argint**, Brussels, Eureka, 2012.
93. **Ciobanu L.**, Popovici M., Ivanov, V., Popovici, I., Costin S., Cobeț V. „Serum SR-ATP-(SERCA2a) a marker of acute myocardial infarction and reinfarction”. **Medalie de Argint**. Salon International des Inventions. Geneve, 2012.
94. **Ciobanu L.**, Popovici M., Ivanov V., Popovici I., Costin S., Cobeț V., Syrbu S. The circulating SR-Ca-ATP-ase and endothelial progenitor cells – markers of myocardial injuries. **Medalie de Argint**. The Belgian and International Trade Fair for Technological Innovation. Bruxelles, 22.10.2013.

## ADNOTARE

### **Ciobanu Lucia. Patogenia și predictorii restenozei coronariene intra-stent.**

Teză de doctor habilitat în științe medicale. Chișinău, 2015. Structura tezei: introducere, 7 capitole, sinteza rezultatelor, concluzii generale și recomandări practice, bibliografie (272 de surse), 251 de pagini de text de bază, 91 de tabele, 41 de figuri. Rezultatele obținute au fost relatate în cadrul a 94 de publicații științifice.

**Cuvinte cheie:** restenoză intra-stent, inflamația sistemică, stresul oxidativ, predictorii ai restenozei, angiocoronarografie, ultrasonografie intracoronariană, tomografia de coerență optică, acid ribonucleic extracelular. **Domeniul de studiu:** cardiologie. **Scopul și obiectivele lucrării:** Evaluarea factorilor de risc și mecanismelor patogenetice ale restenozei intra-stent, utilizând metodele de OCT și IVUS, markerilor inflamației sistemice și stresului oxidativ cu valoare predictivă asupra RIS și rolului diabetului zaharat. Determinarea particularităților reactivității *in vitro* a arterelor periferice și coronariene la acțiunea Ang 1-7 mediată de receptorii *mas* în disfuncția endotelială diabetogenă. **Noutatea și originalitatea științifică:** în premieră a fost decelată creșterea expresiei și cantității ARN extracelular în paternul tisular al RIS, corelarea notabilă directă cu cantitatea de TNF-alpha, IL-1beta și radicalii liberi de oxigen, augmentarea degradării colagenului fibrilar de tip I în contextul reorganizării matricei extracelulare; examinarea pacienților cu RIS prin intermediul panoului multimarker a evidențiat activarea inflamației sistemice și stresului oxidativ; în premieră s-a demonstrat rolul compensator al acțiunii Ang 1-7 mediate de receptorii *mas* în reactivitatea vasculară periferică și coronariană compromisă în disfuncția endotelială diabetogenă. **Rezultatele principial noi pentru știință și practică obținute** constau în elucidarea mecanismelor hiperplaziei neointimei și reorganizării matricei extracelulare în restenoză intra-stent, consolidând noi repere ale suportului patogenetic al remodelării coronariene negative, contribuind astfel la optimizarea diagnosticului și pronosticului RIS, precum și la conturarea țintelor terapeutice. **Semnificația teoretică:** A fost elucidat fenomenul creșterii expresiei ARN extracelular în paternul tisular al RIS și rolul acestuia în declanșarea răspunsului inflamator și creșterii sintezei de RLO. S-a decelat prevalența degradării colagenului fibrilar de tip I asupra sintezei acestuia, determinată de creșterea expresiei MMP-2 și reducerea cantitativă a inhibitorului ei specific. S-a relevat fezabilitatea Ang 1-7 de a contracara prin intermediul receptorilor *mas* acțiunea vaso- și coronaro-constrictoare a Ang II. **Valoarea aplicativă a lucrării:** prin implementarea metodelor IVUS și OCT au fost consolidate criteriile de estimare a riscului restenozei și trombozei; este evaluată valoarea predictivă a markerilor inflamației sistemice și stresului oxidativ, precum și ai sintezei și degradării colagenului fibrilar de tip I. **Implementarea rezultatelor științifice:** majoritatea postulatelor emise au fost valorificate în activitatea clinică a Institutului de Cardiologie și s-au încadrat în procesul didactic și de cercetare la USMF "Nicolae Testemițanu".

## АННОТАЦИЯ

### **Чебан Лучия. Патогенез и предикторы коронарного внутрисстенного рестеноза.**

Диссертация на соискание ученой степени доктора хабилитат медицинских наук. Кишинев, 2015 г. Работа состоит из введения, 7 глав, обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций, библиографии (272 источника), 251 страницы общего текста, 91 таблица, 41 рисунок. Результаты исследования опубликованы в 94 научных работах.

**Ключевые слова:** внутрисстенный рестеноз (ВСР), системное воспаление, оксидативный стресс, предикторы рестеноза, ангиокоронарография, оптическая когерентная томография (ОКТ), внутрисосудистая ультразвуковая визуализация (ВСУЗИ), в нектоточная рибонуклеиновая кислота. **Область исследования:** кардиология. **Цель и задачи исследования:** Выявление факторов риска и патогенетических механизмов ВСР на основе методов ОКТ и ВСУЗИ, а также определения маркеров системного воспаления и оксидативного стресса. Определение характера опосредованного действия ангиотензина 1-7 (Анг 1-7) через mass-рецептор на реактивность периферических и коронарных артерий при диабетической эндотелиальной дисфункции (ДЭД). **Научная новизна и оригинальность:** впервые показано увеличение экспрессии и количества внеклеточного РНК (РНКвн) в тканевом субстрате ВСР; установлена прямая корреляция фактора некроза опухоли-альфа, интерлейкина-1 бета и свободных радикалов кислорода (СРК) с содержанием РНКвн; доказана роль повышенного распада фибриллярного коллагена типа I в процессе реорганизации внеклеточного матрикса; установлена активация системного воспаления и оксидативного стресса; доказана эффективность использования панели ММ в диагностике ВСР; впервые выявлена компенсаторная роль Анг 1-7 в сосудистой реактивности при ДЭД.

**Основные полученные для науки и практики результаты** состоят в выяснении процессов гиперплазии неоинтимы и реорганизации внеклеточного матрикса при ВСР, что вносит вклад в понимание патогенеза негативного ремоделирования коронарных сосудов, способствуя, таким образом, оптимизации диагностики и прогноза ВСР, а также определению терапевтических мишеней. **Теоретическая значимость:** обнаружен феномен увеличения РНКвн при ВСР и установлена роль РНКвн в генезе воспалительного ответа и увеличении СРК. Доказано преобладание распада фибриллярного коллагена I над его синтезом, обусловленное повышением экспрессии металлопротеиназы-2. Показано свойство Анг 1-7 подавлять сосудосуживающий эффект ангиотензина-II, в том числе на коронарных сосудах.

**Прикладное значение:** внедрение методов ВСУЗИ и ОКТ позволило установить критерии оценки риска рестеноза и тромбоза; выявлена предикторная ценность маркеров системного воспаления и оксидативного стресса, а также распада фибриллярного коллагена типа I.

**Основные результаты внедрены** в клиническую деятельность Института Кардиологии и в учебно-исследовательской программе Государственного Университета Медицины и Фармации «Николае Тестемицану».

## ANNOTATION

### **Ciobanu Lucia. Pathogenesis and predictors of the in-stent coronary restenosis.**

Thesis of Doctor Habilitatus in medical sciences. Chisinau 2015. The thesis structure: introduction, 7 chapters, synthesis of the results obtained, general conclusions and practice recommendations, bibliography of 272 sources, 251 pages of basic text, 91 tables and 41 figures. The results have been published in 94 scientific works.

**Key words:** in-stent restenosis, systemic inflammation, oxidative stress, predictors, angiocoronarography, intravascular ultrasonography, optical coherence tomography, extracellular ribonucleic acid.

**Domain of study:** cardiology. **The goal and study objectives:** Evaluation the risk factors and pathogenic mechanisms of the restenosis, using methods of OCT and IVUS, of systemic inflammation and oxidative stress marchers with predictive value on RIS and diabetes mellitus role. The *in vitro* determination of the traits of peripheral and coronary reactivity in diabetogenic endothelial dysfunction in receptor *mass* mediated Ang 1-7 action.

**Novelty and scientific originality:** it has been primary underlined extracellular RNA (e-RNA) expression and quantity raising in RIS, direct robust correlation with content of TNF-alpha, IL-1beta and reactive oxygen species (ROS), augmentation of the fibrillar collagen type I degradation regarding extracellular matrix reorganization; using the multi-marcher panel in patients with RIS was established systemic inflammation and oxidative stress activation; primary was demonstrated the compensatory role of Ang 1-7 action mediated by mass receptor concerning coronary and peripheral vascular reactivity in diabetogenic endothelium dysfunction.

**The new results obtained for science and practice** comprise deciphering of the mechanisms of neointima hyperplasia and extracellular matrix reorganization of in-stent restenosis, reinforcing new aspects of pathogenetic support of the negative coronary remodeling, leading thus to RIS diagnostics and prognostics optimization, as well as to therapeutic targets outlining.

**Theoretical value:** The phenomenon of e-RNA increase in the tissue pattern of RIS and the its role in triggering of inflammatory response and ROS boosting was elucidated. The higher ratio of fibrillar collagen type degradation than synthesis due to MMP-2 expression raising and its tissue specific inhibitor reducing was detected. Was revealed the Ang 1-7 feasibility dependent of mass receptor to counteract the Ang II mediated vaso- and coronaroconstriction.

**Practical value:** have been consolidated the criteria of restenosis and thrombosis risk assay by implementation of IVUS and OCT; it is evaluated the predictive value of the markers of systemic inflammation, oxidative stress, as well as fibrillar collagen type I synthesis and degradation.

**Implementation of the study results:** the most important results were employed in the clinical practice of the Institute of Cardiology as well as in the didactic and researching syllabus of the State Medical and Pharmaceutical University "Nicolae Testemițanu".

**CIOBANU LUCIA**

**PATOGENIA ȘI PREDICTORII RESTENOZEI  
CORONARIENE INTRA-STENT**

**321.03 – CARDIOLOGIE**

**Autoreferatul  
tezei de doctor habilitat în medicină**

---

Aprobat spe tipar: 19.01.2015  
Hârtie ofset. Tipar ofset  
Coli de tipar

Formatul hârtiei 60x84 1/16  
Tiraj 60 ex.  
Comanda nr.

---

Tipografia