

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII, MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE AL
REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris
CZU: 616.127-005.8-07:577.12(043.2)

Timercan Tatiana

**EVALUAREA UNOR MODIFICĂRI METABOLICE (GLUCIDICE,
LIPIDICE) ȘI INFLAMATORII ÎN INFARCT MIOCARDIC ACUT –
STUDIU PRECLINIC EXPERIMENTAL**

Biochimie medicală – 315.01

Teză de doctor în științe medicale

Conducător științific:

Lîsîi Leonid,
doctor habilitat în științe medicale,
profesor universitar, Om Emerit,
Laureat al Premiului de Stat al RM

Consultant științific:

Braniște Tudor,
doctor habilitat în științe medicale,
conferențiar universitar

Autor:

Timercan Tatiana

Chisinau, 2020

© Tatiana Timecan, 2020

CUPRINS

ADNOTAREA.....	5
LISTA ABREVIERILOR.....	8
Introducere	11
1. INFARCTUL MIOCARDIC ACUT: MECANISMELE PATOBIOCHIMICE	19
1.1 Stresul oxidativ.....	20
1.2 Inflamația.....	29
1.3 Modificările metabolice.....	36
1.4 Concluzii.....	44
2. MATERIAL ȘI METODE DE STUDIU.....	46
2.1 Modelul experimental.....	46
2.1.1 Pregătirea materialului biologic pentru studiul histologic.....	50
2.1.2 Evaluarea histologică a materialului biologic.....	51
2.1.3 Mortalitatea.....	46
2.2 Pregătirea materialului biologic.....	54
2.3 Metodele de cercetare.....	54
2.3.1 Indicatorii metabolici la șobolani cu infarct miocardic acut.....	56
2.3.2 Moleculele de semnalizare celulară în infarct miocardic experimental.....	58
2.3.3 Indicatorii ischemiei/hipoxiei și leziunii tisulare în infarct miocardic indus de izoproterenol.....	58
2.4 Prelucrarea statistică.....	60
2.5 Concluzii.....	62
3. SEMNIFICAȚIA CLINICO-DIAGNOSTICĂ A MODIFICĂRILOR METABOLICE.....	64
3.1 Modificările metabolismului glucidic în infarctul miocardic experimental.....	64
3.2 Indicii metabolismului lipidic în infarctul indus de izoproterenol.....	73
3.3 Corelațiile sero-tisulare ale indicilor metabolici în infarct experimental	85
3.4 Concluzii.....	86
4. SEMNIFICAȚIA CLINICO-DIAGNOSTICĂ A MARKERILOR ÎN INFARCTUL MIOCARDIC ACUT.....	88
4.1 Biomarkerii inflamației în infarct experimental.....	88
4.2. Indicii ischemiei/hipoxiei și leziunii tisulare.....	93
4.2.1 Modificările markerilor stresului oxidativ.....	93
4.2.2 Estimarea indicilor hipoxiei tisulare.....	104

4.2.3 Importanța diagnostică a indicilor integrității structurale.....	110
4.3 Corelațiile sero-tisulare ale citokinelor și indicilor ischemiei/hipoxiei și leziunii tisulare în infarct experimental	116
4.4 Concluzii.....	117
CONCLUZII GENERALE.....	120
RECOMANDĂRI.....	121
BIBLIOGRAFIA.....	122
ANEXE.....	151
Anexa 1. Corelațiile sero-tisulare a indicilor metabolismului glucidic.....	151
Anexa 2. Corelațiile sero-tisulare a indicilor metabolismului lipidic.....	152
Anexa 3. Corelațiile dintre nivelele citokinelor în ser și homogenatul cardiac.....	153
Anexa 4. Corelațiile sero-tisulare ale indicilor stresului oxidativ.....	154
Anexa 5. Corelațiile sero-tisulare a nivelelor metaboliților NO.....	155
Figura A5.1 Corelațiile nivelelor NO_2^- și NO_3^- în ser și homogenat.....	155
Figura A5.2 Corelațiile sero-tisulare a variabilelor NO total și raport $\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$	156
Anexa 6. Valoarea corelațiilor sero-tisulare a indicilor hipoxiei tisulare.....	157
Anexa 7. Corelațiile sero-tisulare a indicilor leziunii tisulare.....	158
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII.....	159
CV-ul AUTORULUI.....	160

ADNOTAREA

Timercan Tatiana “Evaluarea unor modificări metabolice (glucidice, lipidice) și inflamatorii în infarct miocardic acut – studiu preclinic experimental”, teză de doctor în științe medicale, biochimie medicală – 315.01, Chișinău, 2020.

Structura tezei: introducere, 4 capitole, concluzii generale, bibliografie din 298 titluri, 7 anexe, 115 pagini de text de bază, 20 tabele, 28 de figuri. Rezultatele obținute sunt publicate în 21 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: infarct miocardic acut, izoproterenol, stres oxidativ, ischemie, hipoxie tisulară, inflamație, citokine, metabolism.

Scopul studiului: Aprecierea unor markeri metabolici și inflamatori în dinamica infarctului miocardic acut și identificarea interrelației dintre ei și pronosticul bolii prin elaborarea unui ansamblu patobiochimic de evaluare precoce.

Obiectivele cercetării: Determinarea în dinamica infarctului miocardic acut a unor valori ai metabolismului glucidic și lipidic, indicilor procesului inflamator, markerilor stresului oxidativ și a leziunii tisulare; identificarea corelațiilor dintre parametrii biochimici în ser și homogenat, cât și raportarea modificărilor respective la etapele IMA cu determinarea unei constelații biochimice pentru constatarea precoce a severității IMA.

Noutatea și originalitatea științifică a cercetării: S-a apreciat interrelația devierilor metabolice și inflamatorii în țesutul cardiac și sânge la diferite etape ale infarctului miocardic experimental. S-a stabilit spectrul de indici biochimici în ser și homogenat cu valoare diagnostică și predictivă înaltă pentru IMA, confirmând utilitatea biomarkerilor menționați.

Problema științifică importantă soluționată în teză: Fundamentarea experimentală a rolului modificărilor metabolice, inflamației și stresului oxidativ în inducerea și progresarea leziunilor tisulare din IMA, fapt care confirmă oportunitatea estimării corelațiilor valorilor sero-tisulare a markerilor biochimici, contribuind la stabilirea predictorilor de diagnostic și pronostic.

Semnificația teoretică a lucrării: Rezultatele cercetării impun o viziune clară în interpretarea mecanismelor patobiochimice ale IMA prin prisma modificărilor metabolice și inflamatorii. În etapele patogenice ale leziunii miocardice au fost corelate valorile serice și tisulare a markerilor inflamației, stresului oxidativ și leziunii tisulare. Studiul confirmă prezența în patobiochimia procesului a fazei de preinfarct.

Valoarea aplicativă a cercetării: Studiul poate servi drept punct de reper a unor cercetări mai aprofundate, ce ar contribui la crearea unui algoritm corelațional al markerilor biochimici.

Implementarea în practică: Rezultatele studiului sunt aplicate în procesul instructiv metodic în cadrul Catedrei de biochimie și biochimie clinică. Postulatele de bază ale lucrării pot fi luate în considerație și aplicate în medicina practică pentru diagnosticul și monitoringul pacienților cu IMA.

АННОТАЦИЯ

Тимеркан Татьяна, «Оценка метаболических (углеводных, липидных) и воспалительных изменений при остром инфаркте миокарда - доклиническое экспериментальное исследование», кандидатская диссертация в области медицинских наук, медицинская биохимия - 315.01, Кишинев, 2020.

Структура диссертации: введение, 4 главы, общие выводы, библиография из 298 наименований, 7 приложений, иллюстрирована 20 таблицами, 28 рисунками и состоит из 115 страниц основного текста. Результаты опубликованы в 21 научной работе.

Ключевые слова: острый инфаркт миокарда (ОИМ), изопротеренол, окислительный стресс, ишемия, гипоксия тканей, воспаление, цитокины, обмен веществ.

Цель исследования: изучить изменения метаболических и воспалительных маркеров в динамике острого инфаркта миокарда, выявить взаимосвязь между ними и прогнозом заболевания для создания патобиохимического анализа ранней диагностики.

Задачи исследования: изучить изменения в динамике острого инфаркта миокарда некоторых показателей углеводного и липидного обмена, воспалительного процесса, маркеров окислительного стресса, тканевой гипоксии и повреждения; выявление корреляций между биохимическими параметрами в сыворотке и ткани, соотношение соответствующих изменений с этапами ОИМ и определение биохимического созвездия для раннего выявления степени тяжести ОИМ.

Новизна и оригинальность исследования: впервые была оценена взаимосвязь изменений метаболических и воспалительных показателей в сердечной ткани и крови с этапами ОИМ. Установлен спектр биохимических показателей в сыворотке и ткани имеющих высокое диагностическое и прогностическое значение.

Решенная научная задача: экспериментально подтверждена роль метаболических изменений, воспаления и окислительного стресса в возникновении и развитии поражения тканей при ОИМ; доказана необходимость выявления корреляций между биохимическими показателями в сыворотке и ткани, способствуя определению диагностических и прогностических предикторов данной патологии.

Теоретическая значимость: результаты дают четкое представление о патобиохимических механизмах ОИМ через призму метаболических и воспалительных изменений. В патогенетических этапах ОИМ были исследованы в сыворотке и ткани маркеры воспаления, окислительного стресса и тканевого повреждения. Полученные данные подтверждают наличие преинфарктного периода в патобиохимии процесса.

Прикладная ценность: может служить отправной точкой для дальнейших исследований, способствующих созданию корреляционного алгоритма биохимических маркеров.

Внедрение научных результатов: применяются в учебном и научном процессе на Кафедре биохимии и клинической биохимии ГУМФ им. Н. Тестемицану.

ANNOTATION

Timercan Tatiana, „Assessment of several metabolic (carbohydrate, lipid) and inflammatory disorders in acute myocardial infarction - experimental study”, PhD thesis in medical science, medical biochemistry – 315.01, Chişinau, 2020.

Structure of thesis: introduction, 4 chapters, general conclusions, bibliography of 298 titles, 7 annexes, illustrated by 20 tables, 28 figures and has 115 pages of basic text. The results obtained are published in 21 scientific papers.

Key words: acute myocardial infarction, isoproterenol, oxidative stress, ischemia, tissue hypoxia, inflammation, cytokines, metabolism.

Aim of the study: Dynamic assessment of several metabolic and inflammatory markers of myocardial infarction in order to determine the interrelation between these parameters and disease prognosis by development of a pathobiochemical panel for early evaluation.

Research objectives: Dynamic assessment of carbohydrate and lipid metabolism parameters, the markers of inflammatory process, oxidative stress, tissue hypoxia and tissue damage markers; to identify the sanguine-tissue correlations of biochemical parameters and the correlation of biochemical changes with the stages of AMI in order to establish the biochemical constellation for the early detection of IMA severity.

The novelty and the scientific originality: For the first time the interrelation of the metabolic and inflammatory deviations in the cardiac tissue and blood in different stages of experimental myocardial infarction was assessed. The spectrum of biochemical parameters in serum and homogenate having high diagnostic and predictive value for AMI was established.

The scientific problem solved in the thesis: resides in the experimental confirmation of the role of metabolic changes, inflammation and oxidative stress in the induction and progression of tissue lesions in AMI. It confirms the opportunity to estimate the correlations of the serum and tissue values of the biochemical markers, contributing to the establishment of diagnostic and prognostic predictors for this pathology.

Theoretical significance: The obtained results impose a clear vision in the interpretation of the pathobiochemical mechanisms of the AMI through the prism of metabolic and inflammatory changes. We assessed the values of the biomarkers of inflammation, oxidative stress and tissue injury in the pathogenetic stages of myocardial injury. The study proves the presence of the pre-infarction phase in the process's pathobiochemistry.

The applicative value of the research: The study can serve as a reference point for further research, which would contribute to the creation of a correlational algorithm of biochemical markers.

Implementation of the scientific results: The results of the study are applied in the teaching process at the Department of Biochemistry and Clinical Biochemistry. The basic postulates of the paper can be applied in practical medicine for the diagnosis and monitoring of patients with AMI.

LISTA ABREVIERILOR

ACC – Colegiul American al Cardiologilor
ADP – adenzin difosfat
AG – acizi grași
AGE – produșii finali de glicare avansată
AIM – albumina ischemic modificată
AMPc – adenzin monofosfat ciclic
ATP – adenzin trifosfat
 β -LP – beta-lipoproteinele
BCV – boli cardiovasculare
BH₄ – tetrahidrobiopterina
BIC – boala ischemică a cordului
BRS – bloc de ram stâng al fascicolului His
CABG – by-pass aorto-coronarian
CETP – proteina de transfer a esterilor de colesterol
ClO⁻ – hipocloridul
CML – carboximetilizina
COX – ciclooxigenaza
CV – cardiovascular
Cys – cisteina
DAM – dialdehida malonică
DAMPs – paterne moleculare de semnalizare
DZ – diabet zaharat
ECD – domen extracelular
ECG – electrocardiograma
ERK1/2 – kinaze reglate de semnale extracelulare
ESC – Societatea Europeană a Cardiologilor
FAD – flavin adenindinucleotid
FMN – flavin mononucleotid
GC – guanilatciclaza
GMPc – guanozin monofosfat ciclic
GOLD – dimerul glioxal-lizină
H₂O₂ – peroxidul de hidrogen

HbA_{1c} – hemoglobina glicată
 HDL-C – HDL-colesterol
 hs-PCR – proteina C reactivă cu sensibilitate înaltă
 ICD – domen intracelular
 IL-6 – interleukina-6
 IMA – infarctul miocardic acut
 IQR – abaterea intercuartilă
 ISO – izoproterenol
 JNK – kinaza c-Jun N-terminală
 L-Arg – L-Arginină
 LCAT – lecitin colesterol acil transferaza
 LDH – lactat dehidrogenaza
 LDL – lipoproteine cu densitate joasă
 LDL-C – LDL-colesterol
 LDL-R – receptorul lipoproteinelor cu densitate joasă
 LPL – lipoprotein lipaza
 LR – lanțul respirator
 MAPKs – proteinkinaze mitogen-activate
 MMP – metaloproteaze matriceale
 mTNF α – forma membranară a factorului de necroză tumorală α
 NAD⁺ – nicotinamid adenin dinucleotid
 NADPH – nicotinamid adenin dinucleotid fosfat
 NF-kB – factorul nuclear kappa B
 NO – oxidul nitric
 NO⁻ – radicalul oxidului nitric
 NO₂⁻ – nitrit
 NO₃⁻ – nitrat
 non-HDL-C – non-HDL-colesterol
 NOS – nitric oxid-sintaza
 NOX – NADPH-oxidaza
 NSTEMI – infarct miocardic fără supradenivelarea segmentului ST
 O₂⁻ – anionul superoxid
 O²⁻ – oxigenul singlet
 OH[·] – radicalul hidroxil

OMS – Organizația Mondială a Sănătății

ONOO⁻ – peroxinitritul

oxLDL – lipoproteine de densitate joasă oxidate

PBS – tampon fosfat salin 0.1 M, pH 7.4

PCI – angioplastia coronariană percutană

PDH – piruvat dehidrogenaza

PKC – proteinkinaza C

POL – peroxidarea lipidelor

PPOA – produși proteici de oxidare avansată

Rac1 – substratul 1 al toxinei botulinice C3 înrudit cu Ras (Rat Sarcoma)

RAGE – receptorul pentru produșii finali de glicare avansată

SCA – sindromul coronarian acut

SCA-NSTE – sindromul coronarian acut fără supradenivelarea segmentului ST

SCA-STE – sindromul coronarian acut cu supradenivelarea segmentului ST

SCV – sistemul cardiovascular

SO – stresul oxidativ

SOD – superoxid dismutaza

SRA – specii reactive de azot

SRO – specii reactive de oxigen

STEMI – infarct miocardic cu supradenivelarea segmentului ST

sTNF α – forma solubilă a factorului de necroză tumorală α

TACE – enzima de conversie a factorului de necroză tumorală α

TC – colesterolul total

TG – trigliceridele

TMD – domen transmembranar

Tn – troponina

TNFR1 – receptorul factorului de necroză tumorală α tip I

TNFR2 – receptorul factorului de necroză tumorală α tip II

TNF α – factorul de necroză tumorală α

TnT – troponina T

TRAF3IP2 – factori asociați cu receptorul TNF

UE – Uniunea Europeană

VLDL – lipoproteine cu densitate foarte joasă

VS – ventriculul stâng

XO – xantinoxidaza

Introducere

Actualitatea și importanța problemei abordate. Incidența infarctului miocardic acut (IMA) pe Terra este în creștere continuă (fig. 1), fiind însoțită de consecințele nefaste și un pronostic rezervat [51][76][108][236].

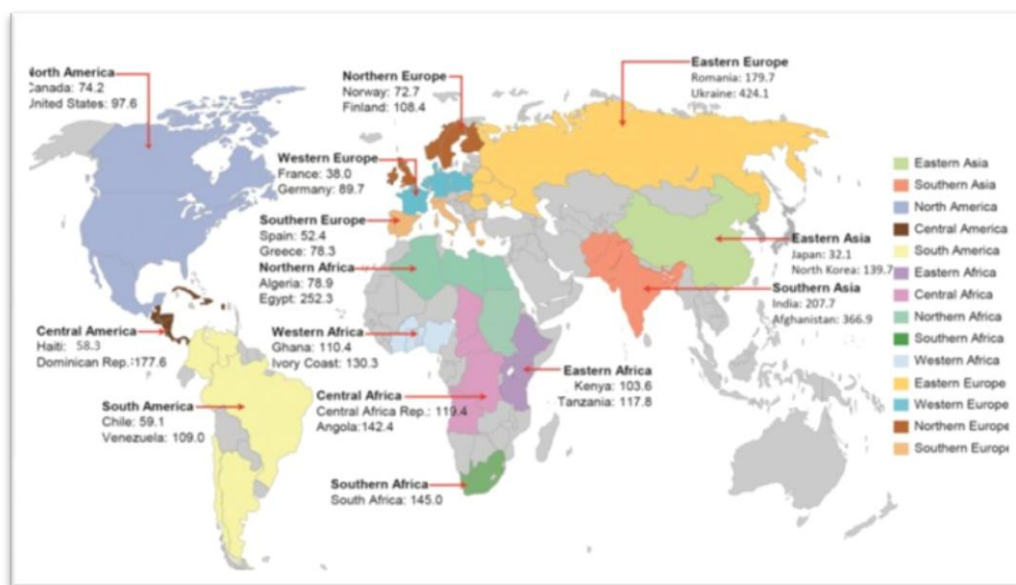


Figura 1. Mortalitatea prin maladia ischemică a cordului/100.000 [75]

În 2015 mortalitatea prin boli cardiovasculare (BCV) a atins cifra de 17 mln (31%) din totalul de 54 mln decese pe glob, din ele cota afecțiunilor coronariene a constituit 48% [228]. Conform rezultatelor studiilor epidemiologice recente (2019) se estimează că către 2030 BCV vor fi cauza a 23 mln decese anual [259].

IMA rămâne o cauză majoră a decesului și dizabilității atât în SUA, cât și în Europa [29] [147][232]. Datele prezentate de Asociația Americană a Cardiologilor indică că în SUA costul financiar direct și indirect al BCV atinge \$320.1 billione per an [109][110].

Raportul european privind statistica BCV (*European cardiovascular disease statistics*) a menționat că anual BCV provoacă 45% de decese în Europa și 37% de decese în Uniunea Europeană (UE) [193][285 p.11]. Boala ischemică a cordului (BIC) reprezintă una din formele clinice majore ale BCV, provocând 19% din toate decesele printre bărbați și 20% din decesele printre femei [285 p.11].

Cercetările recente au raportat că în Europa sunt peste 85 mln de persoane diagnosticate cu BCV (48% bărbați și 52% femei), BIC revenind 41% din BCV la bărbați și 30% din BCV la femei [285 p.53].

Costul global al BCV pentru economia UE a fost estimat la €210 bilioane anual, din această sumă în jur de 53% au constituit cheltuielile serviciului de ocrotire a sănătății, 26% au revenit pierderii productivității și 21% îngrijirii “neoficiale” a persoanelor cu BCV [285 p.9].

Conform datelor statistice cel puțin jumătate din pacienții cu sindrom coronarian acut (SCA) decedează într-o oră de la debutul simptomelor clinice până a ajunge la spital [180]. Mortalitatea intraspitalicească este mai mare la pacienții cu infarct miocardic cu supradenivelarea segmentului ST (STEMI) față de cei cu SCA-NSTE (7% vs 3-5%), la 6 luni ratele de mortalitate fiind similare pentru ambele maladii (12% și 13% respectiv) [181].

În Republica Moldova prevalența BIC a înregistrat o tendință de creștere constantă, atingând cifra de 386.8/10000 populație în 2015 și 404.2/10000 populație în 2016 corespunzător. În aceeași perioadă incidența BIC a prezentat o scădere nesemnificativă de la 33.2/10000 populație raportate în 2015 până la 32.3/10000 populație înregistrate în 2016, pe când incidența IMA a constituit 5.9/10000 populație (2015) și 6.3/10000 populație (2016) [182], cu prevalența IMA în localitățile rurale (239.4‰ față de urban 205.8‰) [193].

Conform Biroului Național de Statistică în 2017 în Republica Moldova mortalitatea prin BCV a alcătuit 58.4% din toate decesele, dintre care BIC a constituit 52.5% și 8.5% au revenit infarctului miocardic acut, iar în 2019 BCV au provocat 58% decese, respectiv BIC – 52.6% și IMA – 8.7% [259].

Supravegherea pe termen lung a demonstrat că ratele de deces au fost mai înalte la pacienții cu SCA-NSTE față de cei cu SCA-STE, prezentând 2 puncte procentuale diferență la 4 ani [181].

Descrierea situației în domeniul de cercetare și identificarea problemelor de cercetare. Infarctul miocardic acut poate fi definit în funcție de caracteristicile clinice, electrocardiografice (ECG), biochimice și morfopatologice. Termenul de “infarct miocardic” reflectă moartea miocitelor cardiace, determinată de ischemia prelungită.

Infarctul miocardic poate fi recunoscut atunci, când sunt majorate nivelele sanguine ale biomarkerilor. Investigarea biomarkerilor cardiospecfici permite să diagnosticăm IMA, să determinăm starea clinică în angor pectoral instabil, să efectuăm diagnosticul diferențial între ischemie și IMA (anoxie), să evaluăm eficacitatea terapiei trombolitice, să prezicem riscul de dezvoltare a consecințelor adverse pe termen scurt și/sau lung.

„*Standardul de aur*” în diagnosticul IMA îl constituie la moment testul de evaluare a troponinelor. Complexul proteic al troponinelor este atașat de filamentele fine ale aparatului contractil a mușchiului striat [189][287]. El constă din 3 subunități codificate de gene diferite: *troponina C* (TnC, masa moleculară 18 kDa) – fixează ionii de calciu și induce modificări

conformaționale transmise prin fosforilare troponinelor cardiace T și I; *troponina I* (cTnI, masa moleculară 23.5 kDa) – inhibă Mg^{2+} -ATP-aza actomiozinică și induce relaxarea musculară prin întreruperea legăturii actina-miozina; *troponina T* (cTnT, masa moleculară 33.5 kDa) – interacționează cu cTnI, cTnC și tropomiozina pentru a atașa complexul troponinic la filamentele miofibrilare fine, facilitând contracția [17][52][268].

Troponina C este exprimată atât în miocitele scheletale, cât și în cele cardiace. Secvențele aminoacidice ale troponinelor T și I sunt unice pentru mușchiul cardiac [52]. Troponinele cardiace T și I, posedând specificitate și sensibilitate înaltă, permit identificarea leziunilor cardiace necrotice, dar frecvent rămân nemodificate în caz de ischemie cardiacă [268][287].

Creșterea troponinelor cardiace are loc aproximativ peste 4-6 ore de la debutul evenimentului cardiac, respectiv sunt depistate doar consecințele unei ischemii prelungite [30]. Deoarece riscul cel mai înalt de dezvoltare a consecințelor letale se înregistrează în primele ore ale IMA, identificarea precoce a ischemiei cardiace este crucială atât pentru managementul eficient, cât și pentru pronosticul bolii.

Algoritmle contemporane de diagnostic al IMA accentuează importanța estimării biomarkerilor cardiaci. Ideal ar fi identificarea markerilor care reflectă ischemia anterior modificărilor necrotice.

S-a stabilit că ischemia cardiacă declanșează stresul oxidativ cu formarea în exces a speciilor reactive de oxigen și speciilor reactive de azot, care induc modificările biochimice ale macromoleculelor celulare (DNA, proteine, lipide, etc) și activează răspunsul inflamator local și/sau sistemic [228].

Studiile experimentale recente sugerează că nivelele serice ale markerilor stresului oxidativ – *albumina ischemic modificată (AIM)*, *produși proteici de oxidare avansată (PPOA)*, *dialdehida malonică (DAM)*, *metaboliții oxidului nitric (NO)*, *lactatul*, *lactat dehidrogenaza (LDH)* sunt utili în identificarea precoce a ischemiei acute a miocardului.

Deși pe parcursul ultimelor decenii au fost elaborate și implicate în practică un șir de teste care favorizează identificarea precoce a leziunii cardiomiocitului, panoul standardizat de biomarkeri de diagnostic și pronostic a SCA lipsește.

Viabilitatea miocardului ischemiat în mare măsură depinde de metabolismul anaerob al glucozei. Este cert că variabilitatea glicemică reprezintă un factor important care contribuie la severitatea bolii coronariene, fluctuațiile acute ale glicemiei exacerbează stresul oxidativ și inflamația [123][179].

Un factor pivotal în patogeneza IMA reprezintă și dereglările metabolismului lipidic [135]. Lipidele plasmatice (colesterolul total (TC) și LDL-C elevate, HDL-C micșorat) reprezintă atât factori de risc pentru dezvoltarea aterosclerozei, precum și factori de pronostic la pacienții cu boli coronariene [48][142].

În literatura de specialitate sunt prezentate date contradictorii privind mecanismele patobiochimice ale infarctului miocardic acut. Totodată există un șir de divergențe referitor la corelația dintre nivelele serice ale indicilor sus-menționați și severitatea modificărilor tisulare.

Scopul studiului: Aprecierea unor markeri metabolici și inflamatori în dinamica infarctului miocardic acut și identificarea interrelației dintre ei și pronosticul bolii prin elaborarea unui ansamblu de indicatori patobiochimici de evaluare precoce.

Obiectivele cercetării:

1. Determinarea în dinamica infarctului miocardic acut a modificărilor metabolismului glucidic și lipidic.
2. Evaluarea intensității procesului inflamator la diferite etape ale IMA.
3. Studiul markerilor stresului oxidativ și ai leziunii tisulare.
4. Identificarea corelațiilor dintre parametrii biochimici în ser și homogenat, raportarea modificărilor respective la etapele IMA și determinarea unei constelații biochimice pentru constatarea precoce a severității IMA.

Metodologia cercetării științifice. Studiul preclinic experimental a fost efectuat pe 55 șobolani repartizați în 5 **loturi**: L1 – intacti; L2 – control NaCl 0,9%; loturile experimentale cu infarct miocardic reprodus prin injectarea subcutanată a soluției de *izoproterenol* 100 mg/kg și sacrificați peste 6 ore (L3), 24 ore (L4) și 7 zile respectiv (L5). De la toate animalele, inclusiv șobolanii decedați, s-a prelevat materialul biologic – sângele și țesutul (inima).

S-au utilizat următoarele metode de cercetare:

- *spectrofotometrică* (glucoza, produșii finali de glicare avansată, trigliceridele, β -LP, colesterolul total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, non-HDL-colesterol, albumina ischemic modificată, produșii proteici de oxidare avansată, metaboliții oxidului de azot, dialdehida malonică, lactatul, LDH-P și LDH-L);
- *imunoenzimatică* (hemoglobina glicată, interleukina-6, factorul de necroză tumorală α , troponina T);
- *morfolologică* – prezența modificărilor tisulare care corespund fazelor de evoluție a IMA.

Datele obținute au fost procesate statistic cu ajutorul funcțiilor și modulelor programei computerizate *Statistical Package for the Social Science* (v.23, SPSS Inc. Chicago, IL, USA)

și prezentate în diferite tipuri de tabele și figuri realizate în *EXCEL* și *GraphPad* (*GraphPad Prism Software, v.5.03, San Diego, CA*). Pentru prelucrarea statistică a datelor au fost utilizate: testul statistic nonparametric *Kruskal-Wallis*, testul *Dunn*, coeficientul nonparametric de corelație ρ *Spearman*. Analiza statistică a datelor s-a efectuat în perioada stagierii în cadrul programului MEDEA Erasmus Mundus la Universitatea Paul Sabatier, Toulouse, Franța.

Studiul a fost aprobat de Comitetul de Etică a Cercetării a USMF N.Testemițanu (aviz favorabil Nr. 37 la Nr. 27 din 23.03.2015).

Noutatea și originalitatea științifică a cercetării. A fost realizat un studiu științific experimental comparativ a devierilor metabolice și inflamatorii în IMA în țesutul cardiac și sânge cu scopul aprecierii corelării serice și tisulare a metaboliților în etapele procesului patologic. Sunt furnizate dovezi suplimentare privind mecanismele patobiochimice ale infarctului miocardic acut.

În premieră în Republica Moldova indicii biochimici au fost estimați concomitent în ser și țesutul cardiac și identificat coeficientul de corelație între ei la diferite etape.

În dinamica IMA au fost apreciați markerii *metabolismului glucidelor și lipidelor* – glucoza, HbA1c, AGE, trigliceridele, β -LP, colesterolul total, LDL-colesterol, HDL-colesterol și non-HDL-colesterol. A fost elucidată implicarea *citokinelor inflamatorii* (IL-6 și TNF- α) și biomarkerilor *stresului oxidativ* (AIM, PPOA, metaboliții NO) în evoluția și pronosticul IMA. S-a confirmat importanța diagnostică a *indicilor leziunii tisulare* (DAM și TnT) în identificarea precoce a leziunilor membranare. S-a stabilit spectrul de indici biochimici în ser și homogenat cu valoare diagnostică și predictivă înaltă pentru IMA.

Originalitatea studiului constă în identificarea corelațiilor între valorile serice și tisulare a parametrilor biochimici prestabiliți cu raportarea modificărilor respective la etapele IMA – în final este apreciată valoarea unei constelații de indici biochimici. Totodată au fost aduse dovezi concludente confirmând utilitatea diagnostică și de pronostic a biomarkerilor menționați.

Semnificația teoretică a lucrării. Rezultatele cercetării impun o viziune clară în interpretarea mecanismelor patobiochimice ale IMA prin prisma modificărilor metabolice lipidice și glucidice estimate atât prin nivelele serice, cât și prin valorile lor tisulare.

În apariția și dezvoltarea SCA și IMA s-a accentuat rolul crucial al citokinelor inflamatorii.

În mecanismele patogenezele ale leziunii miocardice în IMA au fost estimate și corelate valorile serice și tisulare a markerilor inflamației, stresului oxidativ și leziunii tisulare.

Studiul realizat confirmă prezența în patobiochimia procesului a unei faze în amonte IMA – faza de preinfarct.

Valoarea aplicativă a cercetării. Studiul experimental pe animale mici cu utilizarea izoproterenolului poate servi drept punct de reper pentru inițierea unor cercetări mai aprofundate, ce ar contribui la crearea unui algoritm corelațional al markerilor biochimici strict necesar în prognozarea evoluției IMA și optimizarea managementului timpuriu și personalizat.

Extrapolarea datelor ar permite recomandarea screening-ului biochimic cu scop de identificare a pacienților cu risc major de a dezvolta IMA la faza de preinfarct.

Implementarea în practică. Rezultatele studiului sunt aplicate în procesul instructiv metodic în cadrul Catedrei de biochimie și biochimie clinică la nivel universitar și postuniversitar. Postulatele de bază ale lucrării pot fi luate în considerație și aplicate în medicina practică (diagnostic de laborator, cardiologie, medicină de urgență, terapie intensivă, etc.) pentru diagnosticul și monitoringul pacienților cu IMA.

Volumul și structura tezei. Teza este expusă pe 161 pagini și include adnotarea (în limbile română, rusă, engleză), lista abrevierilor, introducere, 4 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie din 298 surse, 7 anexe, declarația privind asumarea răspunderii, CV-ul autorului. Materialul ilustrativ conține 20 tabele și 28 de figuri.

Cuvinte-cheie: infarct miocardic acut, izoproterenol, stres oxidativ, hipoxie tisulară, inflamație, citokine, metabolism.

În **Introducere** sunt prezentate actualitatea și importanța științifico-practică a problemei abordate, sunt formulate scopul și obiectivele studiului, noutatea științifică a rezultatelor obținute, importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării, raportarea rezultatelor.

Capitolul 1. Infarctul miocardic acut: mecanismele patobiochimice cuprinde definiția și clasificarea contemporană a infarctului miocardic, sinteza datelor din literatura de specialitate privind mecanismele patobiochimice ale IMA. Sunt analizate și elucidate rolul stresului oxidativ, inflamației și modificărilor metabolice (glucidice, lipidice) în apariția și progresarea leziunilor tisulare. Sunt analizați și menționați factorii care posedă semnificație clinico-diagnostică și de pronostic în IMA.

Capitolul 2. Material și metode de studiu include design-ul studiului care reflectă loturile evaluate, etapele de pregătire a materialului biologic pentru studiul biochimic și histologic, rezultatele evaluării histologice, mortalitatea înregistrată. Sunt descrise principiul metodelor de cercetare utilizate, precum și metodele de prelucrare statistică.

Capitolul 3. Semnificația clinico-diagnostică a modificărilor metabolice evidențiază și argumentează rolul și contribuția modificărilor metabolismului glucidic și lipidic în apariția și progresarea maladiei, riscul complicațiilor și pronosticul nefast.

Capitolul 4. Semnificația clinico-diagnostică a markerilor în infarctul miocardic acut relevă rolul, valoarea diagnostică și evidențiază semnificația clinică a citokinelor, biomarkerilor ischemiei/hipoxiei și leziunii tisulare în patobiochimia maladiei, precum și utilitatea evaluării indicilor menționați în diagnosticul precoce a IMA.

În **Concluzii și recomandări** sunt prezentate concluziile finale bazate pe rezultatele obținute, precum și formulate recomandările practice.

Publicații la tema tezei. Materialele tezei au fost publicate în 21 lucrări științifice (8 cu titlu de monoautor), inclusiv:

- articole în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS – 2,
- articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, categoria B – 3,
- articole în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare) – 1,
- articole în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova) – 1,
- articole în lucrările conferințelor științifice naționale – 2,
- teze în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare) – 6,
- teze în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova) - 3,
- teze la conferințe naționale – 3.

Aprobarea rezultatelor științifice. Materialele tezei au fost raportate în cadrul forumurilor științifice:

✓ **internaționale (peste hotare)**

- *Annual Young Medical Scientists Conference 2017 (AYMSConf 2017)*, October 27-29th 2017, Kyiv, Ukraine;
- *IBC - SOFIA 2017, 2nd INTERNATIONAL BIOMEDICAL CONGRESS of SOFIA 2017*, November 17-19th 2017, Sofia, Bulgaria;
- *Modern Technologies of Diagnostic and Monitoring of Therapy in Experimental, Clinical Medicine and Pharmacy*, January 15, 2018, Brno, Czech Republic.

✓ **internaționale (Republica Moldova)**

- *5th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera.* Chișinău, Moldova, 14-17 mai 2014;
- *6th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera.* Chișinău, Moldova, 12-14 mai 2016;
- *7th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera.* 3-5 mai 2018, Chișinău, Moldova;

✓ **naționale**

- *Zilele Universității și Conferința științifică anuală, USMF “Nicolae Testemițanu”* 18-20 octombrie 2017;
- *Zilele Universității și Conferința științifică anuală, USMF “Nicolae Testemițanu”* 17-19 octombrie 2018;
- *Zilele Universității și Conferința științifică anuală, USMF “Nicolae Testemițanu”* 16-18 octombrie 2019.

Teza a fost discutată, aprobată și recomandată pentru susținere la ședința Catedrei de biochimie și biochimie clinică din 05.03.2020 (proces verbal nr. 16); ședința Seminarului Științific de Profil **315. Biochimie și biologie moleculară** al USMF “Nicolae Testemițanu” din 16.04.2020, proces verbal nr. 1.

1. INFARCTUL MIOCARDIC ACUT: MECANISMELE PATOBIOCHIMICE

Infarctul miocardic acut constituie o problemă majoră medico-socială, actuală în pofida realizărilor obținute în diagnostic, tratament, profilaxie și reabilitare. Actualitatea IMA este determinată de nivelul înalt și creșterea continuă a incidenței, invalidizării și letalității premature, în special printre persoanele de vârstă tânără apte de muncă.

Sindromul coronarian acut reprezintă un termen larg care include angina pectorală instabilă, infarctul miocardic fără supradenivelarea segmentului ST (NSTEMI) și cu supradenivelarea segmentului ST (STEMI) [51]. **Infarctul miocardic** reprezintă necroza miocardului ca urmare a ischemiei acute, cauzată de ocluzia completă sau parțială a unei artere coronariene [32][181]. S-a confirmat că moartea celulelor cardiace nu are loc imediat la debutul ischemiei miocardului, dar aproximativ ≥ 6 ore [189].

Deși anual câteva milioane de persoane se adresează la departamentul de urgență cu simptome sugestive pentru sindrom coronarian acut, doar aproximativ 1.4 milioane de persoane sunt internate cu SCA dintre care aproape 70% sunt diagnosticați cu angină instabilă și/sau NSTEMI [51]. Totodată la pacienții cu NSTEMI evaluarea simptomelor clinice și estimarea precoce a biomarkerilor cardiaci sunt cruciale pentru stabilirea diagnosticului [51][186].

Ghidurile elaborate recent de Colegiul American al Cardiologilor și Societatea Europeană a Cardiologilor (ACC/ESC) menționează că orice creștere a troponinelor peste limita superioară de referință (percentila 99) în contextul clinic sugestiv este definită ca un indice al infarctului miocardic acut [51].

Conform Protocolului Național [180][181], termenul de *infarct miocardic* ar trebui folosit când există dovada necrozei miocardice într-un context clinic sugestiv pentru ischemie miocardică, totodată prezența oricărui din următoarele criterii stabilește diagnosticul de infarct miocardic:

- dinamica enzimatică a biomarkerilor cardiaci (preferabil troponina (Tn)) cu cel puțin o unitate deasupra percentilei 99 a limitei superioare de referință alături de cel puțin unul din următoarele criterii [180][181]:

- simptome de ischemie miocardică;
- noi modificări ale segmentului ST-T sau bloc de ram stâng al fascicolului His (BRS) nou apărut;
- apariția unei Q patologice pe electrocardiogramă (ECG);

- dovada imagistică a unei pierderi noi de miocard viabil și/sau apariția unei noi regiuni cu anomalie de cinetică segmentală;

- identificarea trombului intracoronarian proaspăt la coronarografie și/sau la autopsie.

Conform *Clasificării universale a infarctului miocardic* în prezent se disting următoarele tipuri de infarct [181][269]:

- **IM tip 1:** *Infarctul miocardic spontan*
- **IM tip 2:** *Infarctul miocardic secundar unui dezechilibru ischemic*
- **IM tip 3:** *Moartea cardiacă*
- **IM tip 4a:** *Infarct miocardic asociat angioplastiei coronariene percutane (PCI)*
- **IM tip 4b:** *Infarct miocardic asociat trombozei intrastent*
- **IM tip 4c:** *Infarct miocardic asociat restenozei intrastent*
- **IM tip 5:** *Infarct miocardic asociat CABG (by-pass aorto-coronarian).*

Conform ipotezei lui *Mythili and Malathi* (2015) în patogeneza infarctului miocardic se disting următoarele etape: (1) leziunea endoteliului; (2) instabilitatea plăcii aterosclerotice, însoțită de scăderea fluxului sangvin și creșterea consumului de oxigen; (3) ischemia miocardului; (4) necroza cardiomiocitelor, (5) inflamația, – fiecare etapă fiind caracterizată prin modificări metabolice și eliberarea biomarkerilor specifici [189].

În patobiocimia infarctului miocardic rolul esențial revine stresului oxidativ (SO), inflamației și modificărilor metabolice.

1.1 Stresul oxidativ

Identificarea precoce a ischemiei miocardului este critică atât pentru estimarea consecințelor SCA, cât și la evaluarea eficacității tratamentului aplicat [10].

Cu toate că leziunea celulară pe parcursul ischemiei este un proces multifactorial, datele recente sugerează implicarea pivotală a stresului oxidativ (SO) în patogeneza sa [126]. Speciile reactive de oxigen (SRO) sunt produse din oxigenul molecular în rezultatul metabolismului celular normal, fiind împărțite în radicali liberi și non-radicali [207]. Radicalii liberi sunt atomi sau molecule înalt reactive cu unul sau mai mulți electroni nepereche în membrana externă [158][207]. Durata de viață a radicalilor variază de la 1 ns – perioada de înjumătățire a radicalului hidroxil ($\text{OH}^\bullet$), până la ~10 s – perioada de înjumătățire a oxidului nitric, sau câteva zile – timpul de înjumătățire a melaninei [251].

Radicalii liberi (radicalul hidroxil ($\text{OH}^\bullet$), anionul superoxid (O_2^-), peroxidul de hidrogen (H_2O_2), oxigenul singlet (O^{2-}), hipocloridul (ClO^-), radicalul oxidului de azot ($\text{NO}^\bullet$), peroxinitritul (ONOO^-)), cu denumirea comună de specii reactive de oxigen și specii

reactive de azot (SRA), sunt generați în organismul uman de către un șir de sisteme endogene și participă în semnalizarea celulară ca mesageri subcelulari în căile de reglare a genelor, precum și transducerea semnalelor care modulează contracția, relaxarea și creșterea celulelor musculare netede vasculare [184][185][207][251].

Expunerea la nivele joase și/sau moderate ale SRO are un rol important în semnalizarea fiziologică, declanșează un răspuns de supraviețuire, inclusiv creșterea celulară și adaptarea la stres, fortifică sistemul de protecție antioxidantă responsabil de efectele cardioprotectoare, evidențiind calea de semnalizare Nrf2 ca un mecanism important de citoprotecție miocardică [77][92][110][185][207][296].

Stresul oxidativ se dezvoltă când apare dezechilibrul între producerea în exces și/sau neutralizarea insuficientă a SRO, inclusiv peroxidul de hidrogen (H_2O_2), anionul superoxid, radicalul hidroxil ($OH^\cdot$), anionul peroxinitrit ($ONOO^-$), și sistemele de apărare antioxidantă [77][92][184]. Radicalii liberi posedă o reactivitate foarte înaltă și atacă macromoleculele importante (DNA, proteine, glucide, lipidele membranelor celulare și/sau a nucleului) [94][110][207][296]. Totodată se activează cascadele intracelulare de transducere și transcripție a semnalului în care rolul principal revine proteinkinazelor mitogen activate (MAPKs), factorului nuclear kappa B (NF-kB), ERK1/2 și JNKs – fenomen denumit “semnalizarea redox”, inclusiv calea inflamatorie MAPKp38 implicată în remodelarea cardiacă, cardiomiopatie și insuficiență cardiacă [184][251].

Leziunile celulare și/sau dereglările homeostatice rezultante în disfuncția endotelială, necroza și apoptoza celulelor, sunt implicate în mecanismele patogenice ale bolilor cardiovasculare, inclusiv maladia ischemică a cordului, ateroscleroza, aritmiile cardiace, hipertensiunea, etc. [185][251].

Producerea în exces a SRO joacă un rol esențial în dezvoltarea BCV, inclusiv în patogeniza bolii ischemice a cordului și IMA [94][110][184]. Formarea excesivă a radicalilor liberi rezultă în pierderea funcției și integrității membranelor miocardului [134]. Peroxidarea fosfolipidelor din membrana cardiomiocitului provoacă modificări ale permeabilității și supraîncărcarea intracelulară cu calciu, care rezultă în lezarea cardiomiocitului [274].

Atât cercetările clinice, cât și cele experimentale a stresului oxidativ au demonstrat că SRO provoacă leziunile oxidative ale DNA-ului mitocondrial, modifică permeabilitatea mitocondrială, iar depolarizarea membranei, decuplarea fosforilării oxidative și dereglarea respirației celulare induc lezarea mitocondriei, eliberarea *citocromului c*, activarea caspazelor și apoptoza [92][184][251].

Rolul major al SRO în dezvoltarea IMA este argumentat prin asocierea pozitivă a statutului redox al miocardului atât cu extinderea necrozei, cât și cu leziunea prin reperfuzie [185]. Datele experimentale aduse arată că exacerbarea SO în miocard are loc ca răspuns la ischemie/reperfuzie, hipertrofie și insuficiență cardiacă [184].

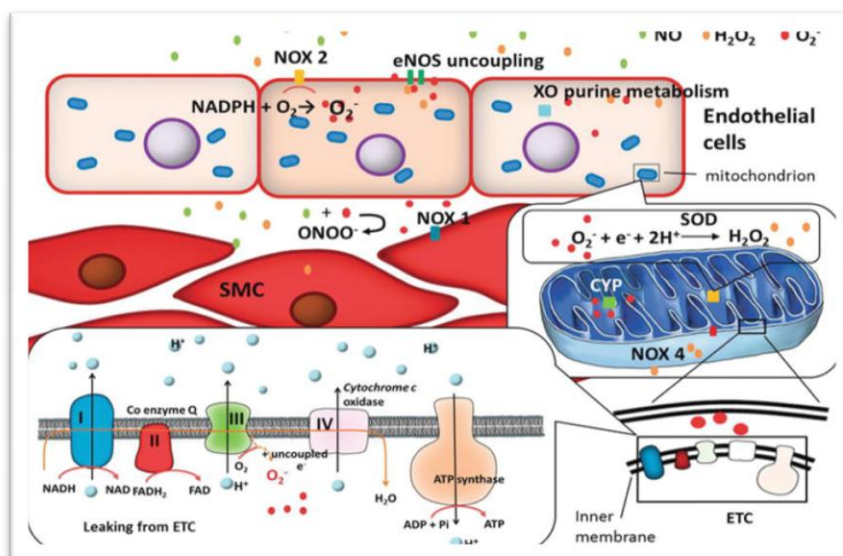


Figura 1.1 Sursele principale de SRO și SRA [111]

Este cert că miocardul postinfarct conține multe surse capabile să producă SRO (fig.1.1) [111][279], cele mai importante fiind:

- NADPH-oxidazele (NOX), în special expresia sporită a NOX₂, catalizează reducerea unui electron al O₂ cu generarea anionului superoxid (O₂⁻) folosind ca sursă de electroni NADPH [110][185];
- decuplarea eNOS provocată de lipsa substratului L-Arginină (L-Arg) și/sau cofactorului tetrahidrobiopterina (BH₄) rezultând în producerea O₂⁻ în loc de NO [77][92][184];
- xantinoxidazele (XO) din endoteliul vascular generează ca produși secundari O₂⁻, H₂O₂, și OH[•]; ischemia tisulară favorizează convertirea xantindehidrogenazei în xantinoxidază cu formarea acidului uric și O₂⁻ [185];
- ciclooxigenaza și lipoxigenaza
- enzimele microsomale și
- activitatea mitocondriilor în care aportul insuficient de oxigen induce sinteza sporită de SRO în lanțul respirator [77][92][184][185].

În bolile ischemice SRO și radicalii liberi, produși preponderent de lanțul respirator mitocondrial, sunt responsabile de peroxidarea fosfolipidelor mitocondriale [274].

Mitocondriile sunt sursa importantă de SRO responsabile de lezare miocardului atât în ischemie, cât și reperfuzie [296].

Experimental a fost confirmat că NADPH oxidazele și xantinoxidaza sunt surse majore de superoxid în arterele coronariene la pacienții cu maladia coronariană [77][279].

O cale de formare a SRO este peroxidarea lipidelor (POL) mediată fie prin mecanisme neenzimatic (radicalii hidroxil și peroxil, SRO derivate din NOX și/sau eNOS decuplată), fie prin mecanismele enzimatice (mieloperoxidaza, lipooxygenaza, ciclooxygenaza, citocrom P₄₅₀, etc.) [77][158][207]. Procesul menționat implică metabolizarea acizilor grași (AG) polinesaturați, în special linoleic și arahidonic, din membrana celulară, declanșând o reacție în lanț. Radicalii liberi secundari formați, inclusiv DAM și aldehidele nesaturate, servesc ca mesageri secunzi, ori reacționează direct cu alte biomolecule celulare majore, formând aglomerate proteice și agravează leziunile biochimice [77][134][158][207][251].

Ca rezultat al peroxidării lipidelor are loc oxidarea DNA-ului genomic (mutațiile), disfuncția și inactivitatea enzimelor; lezarea proteinelor și membranelor, fapt care duce la dereglarea permeabilității membranare, supraîncărcarea intracelulară cu Ca²⁺, modificarea structurii și funcției proteinelor, favorizând rearanjarea structurală a membranei [92][184][207]. Peroxidarea fosfolipidelor induce unele schimbări conformaționale în molecula apoB100, cu creșterea captării particulelor oxLDL de către celulele vasculare [77]. A fost confirmat că peroxidarea lipidelor este un mecanism al leziunii celulare, utilizat ca indicator al SO în patogeneza IMA, iar produșii peroxidării lipidelor sunt biomakeri indirecti ai SO [134][207].

Peroxizii lipidici derivați din acizii grași polienici sunt instabili, rapid se scindează formând compuși secundari, care se pot acumula în țesut pe parcursul ischemiei la presiune joasă a oxigenului [132][253].

Dialdehida malonică (DAM) este cel mai cunoscut produs secundar al peroxidării lipidelor, care poate servi ca biomarker al stresului oxidativ, leziunilor membranei celulare, și un indicator veridic al leziunii oxidative a celulelor și țesuturilor [97][211][253]. Rezultatele prezentate indică că DAM estimată în ser reflectă adecvat statutul redox al miocardului [175].

Studiile efectuate recent *in vivo* denotă rolul crucial al SRO și NO în patogeneza aterosclerozei [77]. S-a presupus că modificarea oxidativă a lipoproteinelor și fosfolipidelor, inclusiv oxidarea AG polinesaturați din LDL (lipoproteinele cu densitate joasă), activarea celulelor endoteliale, expresia moleculelor de adeziune, infiltrarea/activarea macrofagilor sunt facilitate de SO vascular și inhibate de NO endotelial [77][251].

Oxidul nitric (NO) reprezintă o moleculă mică nepolară cu număr impar de electroni care îi asigură proprietățile de radical liber lipofilic gazos cu efecte biologice multiple [53][133][257]. NO este o moleculă de semnalizare autocrină și paracrină cu durată de viață scurtă, difuzie înaltă prin membrane, implicată în procesele metabolice, biosintetice, de semnalizare și transport membranar [53][62][133][168][170][203].

Acest mesager este generat de către NO-sintaze care necesită ca cofactori tetrahidrobiopterina, NADPH, FAD și FMN [62][168][228][294]. Mecanismul enzimatic include transferul electronului cu oxidarea în 2 etape succesive a 5 electroni ai azotului terminal al guaninei din L-arginină [53][62][294], generând L-citrulina și NO în prezența oxigenului și NADPH [168][184][203].

Cardiomiocitele conțin 3 isoforme NOS, codificate de gene diferite: nNOS (NOS-1) neuronală constitutivă; iNOS (NOS-2) endotoxin- sau citokin-inducibilă; și eNOS (NOS-3) endotelială constitutivă [53][62][236][294]. Rolul dual al NO depinde de izoforma NO-sintazei implicate (nNOS, eNOS, iNOS), care manifestă dependență de Ca^{2+} , expresie și activitate diferită [251].

Izoformele NOS au rol variat în ateroscleroză: eNOS și nNOS sunt ateroprotectoare, pe când iNOS este proaterogenă [77]. NOS-1 și NOS-3 sunt Ca^{2+} /calmodulin dependente; iar NOS-2 este indusă de mediatorii proinflamatori, fiind Ca^{2+} /calmodulin independentă cu rol major în reglarea funcției vasculare [37][53][168][226][257]. Citokinele circulante (IL-1b, IL-6, TNF- α , IFN- γ) Ca^{2+} -independent induc expresia iNOS în cardiomiocite, favorizând generarea speciilor reactive de azot care mediază efecte depresive în miocard [184].

NO este produs de toate celulele miocardului, inclusiv celule endoteliale, cardiomiocitele și fibrele nervoase și regulează funcția cardiacă prin efecte vascular-dependente și vascular-independente [176][257]. Efectele vascular-dependente includ reglarea tonusului coronarian, trombogeneza, proprietățile proliferative și inflamatorii, angiogeneza [62][228][295], pe când cele vascular-independente cuprind acțiunea directă a NO asupra contractilității cardiomiocitului și respirației mitochondriale [176].

A fost stabilit că în concentrații mici NO asigură supraviețuirea, controlează tonusul și structura vaselor, inhibă adeziunea și agregarea trombocitelor, exercită efecte antiinflamatorii, previne proliferarea și migrarea celulelor musculare netede [53][55][62][97][168][294]. Concentrațiile mai înalte de NO favorizează degradarea celulelor, apoptoza și/sau îmbătrânirea fiziologică [257].

Sinteza și/sau secreția redusă a NO provoacă spasmul arterei coronariene [168][295]. Deficitul acut de NO duce la disfuncție endotelială cu perfuzie tisulară neadecvată [108].

eNOS generează concomitent NO și O_2^- . În lipsa substratului L-arginina și cofactorului tetrahidrobiopterina eNOS se decuplează (monomerizează) generând O_2^- [236] responsabil de exacerbarea SO și disponibilitatea redusă a NO – mecanisme implicate în patobiocimia bolilor cardiovasculare [168][279].

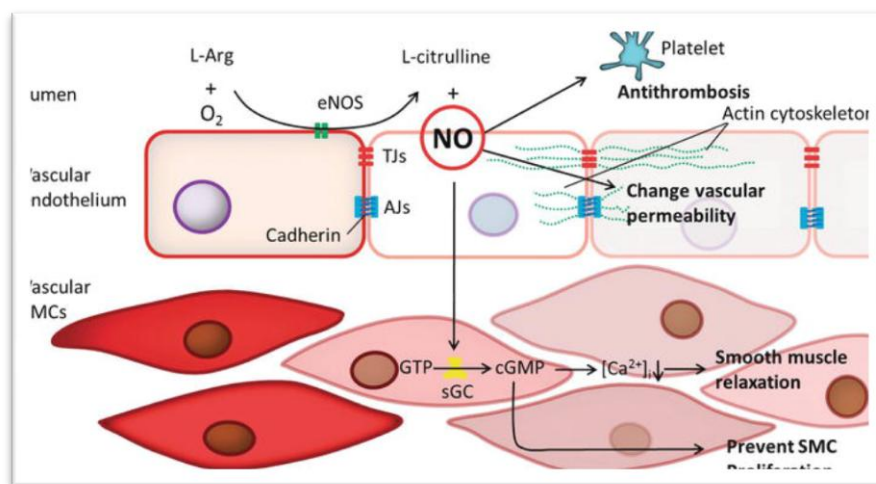


Figura 1.2. Biosinteza și efectele metabolice ale NO [111]

Majoritatea efectelor metabolice (fig. 1.2) ale NO sunt mediate de activarea guanilatciclazei solubile (GC) și sinteza de GMPc [53][77][111][168][257][279]. Au fost descrise și mecanismele GMPc-independente în acțiunea NO [62][77].

Activarea guanilatciclazei solubile cu formarea GMPc reprezintă calea majoră de semnalizare a NO în SCV care include formarea S-nitrosotiolilor prin modificarea resturilor de Cys ale proteinelor, inclusiv NOX și eNOS, explicând astfel efectele celulare multiple, inclusiv vasodilatarea, semnalizarea nervoasă, biogeneza mitocondrială și angiogeneza [77][203].

Condițiile fiziologice ($NO > SRO$) favorizează S-nitrozilarea, pe când în SO dezechilibrul NO/SRO provoacă reacțiile de oxidare (S-glutationilarea, formarea intramoleculară a punților disulfidice și/sau oxizilor sulfurici) [77]. Experimental a fost demonstrat că NO eliberat de endoteliul vascular și cardiomiocite previne captarea de către peretele arterial a LDL [77], posedă proprietăți antiinflamatorii și anti-apoptotice [33], modulează contracția cardiacă [184].

Datele publicate menționează că în spațiul extracelular NO generat de NOS este oxidat rapid sub acțiunea oxihemoglobinei în **nitrit** (NO_2^-) și **nitrat** (NO_3^-) [53][133][168]. Aceste molecule, transportate în sânge, depozitate în țesut, au posibilitatea de a fi convertite înapoi la

NO în condiții fiziologice și patologice, fiind o sursă alternativă importantă *căii oxigen-dependente clasice L-arginina-NOS* în stările hipoxice [170].

Experimental a fost confirmat că *calea non-enzimatică nitrat-nitrit-NO* este dependentă de pH, presiunea oxigenului, concentrația substratului (nitrit) și agentului reducător [168]. Se activează această cale gradual la scăderea presiunii oxigenului (în aportul insuficient de oxigen) și contribuie la semnalizarea citoprotectoare în ischemie și reperfuzie, vasodilatare, modulează respirația celulară și răspunsul celular la stres ischemic [170].

Se consideră că NO format din nitrit sub acțiunea mioglobinei îi revine rolul crucial în reglarea metabolismului energetic și utilizarea oxigenului în miocard în caz de hipoxie [168][170], deoarece posedă un efect cardioprotector grație reducerii consumului de oxigen în miocard, micșorării frecvenței cardiace în timpul sistolei și creșterea eficienței metabolice a miocardului [257]. Totodată nitritul circulant reprezintă un estimator atractiv al formării endoteliale a NO, iar nitratul este util la determinarea turnover-ului total azot/NO [133].

Cuantificarea formării *in vivo* (plasmă, țesut) a NO include determinarea concentrației sumare a metaboliților săi ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) în calitate de indicator de substituție a NO [133][168]. Timpul de înjumătățire a NO și raportul nitrat (NO_3^-)/nitrit (NO_2^-) depind de tipul și cantitatea SRO, pO_2 , pH, concentrația metalelor de tranziție și tiolilor [133], iar nivelele circulante ale nitritului corelează invers cu riscul BCV [203].

Pe parcursul ischemiei și reperfuziei nitritul, grație nitrozării (imEDIATE și tardive) a complexului I al lanțului respirator, inhibă formarea SRO, activarea porului de tranziție a permeabilității mitocondriale și eliberarea *citocromului c* [170]. Concomitent, s-a demonstrat că xantin-oxidoreductaza, complexe de lanțului respirator (LR), citocromul P_{450} și NOS pot utiliza nitritul în calitate de acceptor de electron alternativ oxigenului la formarea NO [170].

Efectele detrimental ale SO exacerbat rezultă în disfuncția NO endogen implicat în reglarea proceselor de oxidare a lipidelor membranare și/sau lipoproteinelor [251]. În stări patologice NO poate reacționa cu anionul superoxid (O_2^-) și formează peroxinitritul (ONOO^-) – un oxidant citotoxic foarte puternic stabil în soluții alcaline [133][208][228], care induce oxidarea BH_4 , mecanism cheie în decuplarea NOS cu producerea mai sporită de superoxid [77][92][184][251].

Peroxinitritul atacă și lezează biomoleculele prin mecanisme multiple: 1) oxidează direct cisteina și triptofanul [62][97]; 2) induce peroxidarea lipidelor, fragmentarea DNA, lezează complexe LR și disfuncția mitocondrială [53][251][274]; 3) declanșează activarea kinazelor stres-dependente, stresul reticolului endoplasmatic, moartea celulară dependentă de poli(ADP-ribozo)polimeraza-1; 4) activează metaloproteinele matriceale și factorii de

transcripție pro-inflamatorii redox-dependenți (NF-κB), promovând inflamația, disfuncția endotelială, remodelarea și insuficiența cardiacă [33][279].

Prin izomerizare peroxinitritul formează nitrat, iar fiind protonat (ONOOH) se descompune în NO₂ și radicalul hidroxil cu proprietăți oxidante și de nitrare puternice, capabil să lezeze moleculele celulare inclusiv DNA și proteinele [158][203].

Recent a fost confirmat că peroxinitritul provoacă decuplarea activității eNOS, generarea SRO și limitarea biodisponibilității NO, fiind responsabil de leziunile structurale ale macromoleculelor, dereglarea funcțională a miocardului și dezvoltarea leziunii prin ischemie-reperfuzie [92].

Au fost aduse dovezi experimentale concludente că hiperlipidemia sporește atât producerea SRO, inclusiv ONOO⁻, fapt care rezultă în alterarea funcției cardiace, cât și nivelului seric al nitrotirozinei – un marker al generării sistemice a peroxinitritului [251]. LDL și oxLDL stimulează producerea de O₂⁻ / ONOO⁻ și decuplarea eNOS, iar prin inhibarea activității eNOS scade sinteza endotelială a NO [77].

Evaluarea intensității SO poate fi efectuată atât direct prin identificarea radicalilor liberi, cât și indirect prin măsurarea biomarkerilor redox [175]. Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a definit ca biomarker orice compus, structură, proces sau produs măsurabil care influențează ori prezice incidența bolii și/sau consecințelor [80]. Modificările oxidative ale macromoleculelor celulare majore, induse de SRO și SRA endo- și/sau exogene, sunt utilizate ca markeri ai SO care permit stratificarea pacienților preponderent în baza mecanismelor patogenice și nu doar în baza severității bolii [80][158].

Albumina ischemic modificată (AIM) reprezintă un biomarker promițător în identificarea precoce a leziunii miocardului indusă de ischemie anterior debutului modificărilor necrotice ireversibile [41][126][129][189][231][254].

Albumina serică îndeplinește funcții importante, inclusiv menține presiunea coloidal-osmotică, fixează și transportă diferiți compuși (bilirubina, AG, Ca²⁺, Mg²⁺, medicamente, etc.) [30]. Albumina umană este sintetizată în ficat și reprezintă cea mai abundentă proteină multifuncțională a sângelui, compusă din 585 aminoacizi (66.5 kDa), cu perioada de înjumătățire 19-20 zile [41][85]. Capătul N-terminal conține secvența N-Asp-Ala-His-Lys, unde primii 3 aminoacizi au capacitatea și specificitatea înaltă de legare a metalelor (cobalt, cupru, nikel) [1][30][85][86].

Regiunea N-terminală a albuminei este degradată, fiind expusă la ischemie, hipoxie, acidoza și acțiunea radicalilor liberi [126][129][297]. Concomitent scade și capacitatea de legare a metalelor, generând AIM (fig. 1.3) [30][86][102][126][129][236][241]. S-a presupus

că lezarea oxidativă a secvenței N-terminale are un caracter cumulativ, reparația fiind lentă [41]. Schimbările sus-menționate apar peste câteva minute după un eveniment ischemic, augmentând rapid nivelul seric al AIM, fapt care precede cu mult creșterea troponinelor cardiace și peptidelor natriuretice [30][85][86][254].

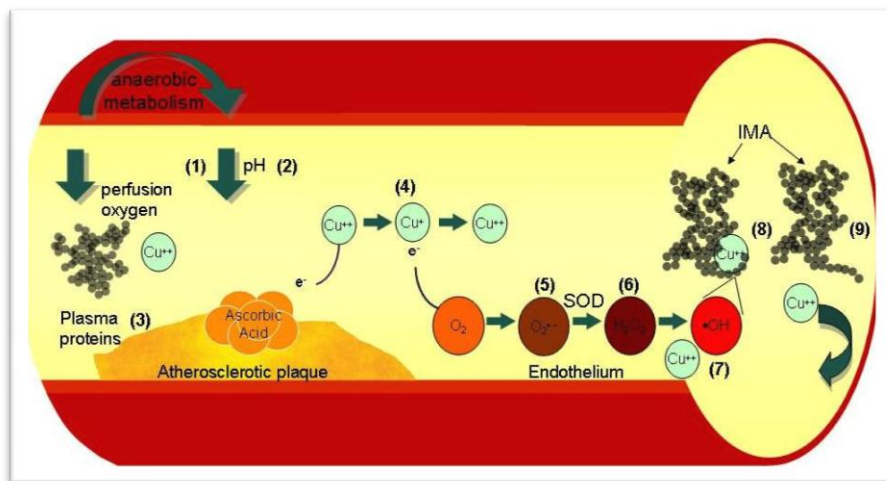


Figura 1.3. Mecanismul de formare a AIM [86]

AIM reprezintă unul din markerii SO care crește în stadiile inițiale ale ischemiei, posedă sensibilitate și valoare predictivă înaltă și poate fi utilizat pentru depistarea precoce a ischemiei miocardului [42][102][109][129]. În același timp AIM fiind un indice al leziunii ischemice și/sau oxidative în infarctul miocardic, corelează cu controlul glicemic insuficient și dislipidemia [42].

Produșii proteici de oxidare avansată (PPOA) sunt formați în timpul stresului oxidativ prin reacția proteinelor plasmatice cu oxidanții clorinați [108][162][276]. Radicalii liberi atacă proteinele, dereglându-le structura primară, secundară și tridimensională [165], favorizează disocierea subunităților catalitice ale enzimelor, disfolding-ul, agregarea și/sau fragmentarea [278][298], prin oxidarea resturilor de aminoacizi induce rearanjări structurale subsecvente (crearea punților disulfidice, grupe carbonil, legături încrucișate, etc.) [1][171][217][297].

Durata lungă de viață a proteinelor modificate le face biomarkeri atractivi ai SO, de aceea PPOA împreună cu resturile carbonilice sunt biomarkeri ai leziunii oxidative a proteinelor [85][98][162].

Nivelele crescute ale PPOA sistemice posedă efecte deteriorante asupra miocardului: 1) exercită un efect pro-apoptotic asupra cardiomiocitului prin activarea căii superoxid-dependentă Nox2/Rac1/TRAF3IP2/JNK responsabilă de translocarea Bax în mitocondrii,

eliberarea citocromului *c* cu activarea caspazei-3 și moartea celulei; 2) inhibă expresia Bcl-2 și Bcl-x; 3) stimulează expresia componentelor sistemului renin-angiotensina-aldosteron cu activarea enzimei de conversie; 4) stimulează formarea SRO prin mecanismul mediat de familia NOX (NOX2 și NOX4) a NADPH oxidazelor; 5) prin intermediul receptorilor RAGE/MAPK și/sau NF-kB induce disfuncția endotelială [276][297].

Cardiomiocitele bogate în mitocondrii au un consum mai înalt de oxigen și predispun celulele la SO [110]. În final perturbările majore induse de SO și ischemie afectează căile metabolice, inclusiv metabolismul energetic (aminoacizilor, oxidarea acizilor grași, glicoliza), ciclul ureei, modificările menționate fiind utile pentru stratificarea precoce a riscului în IM [10].

Se sugerează că dezvoltarea SO contribuie la disfuncția endoteliului vascular – devenind un biomarker de risc cardiovascular care precedă dezvoltarea aterosclerozei [158][251].

Recent a fost lansată ipoteza că SO, SRO și inflamația conlucrează prin punți moleculare complexe și urmate de activarea mecanismelor multiple responsabile de remodelarea țesutului cardiac [92][274].

1.2 Inflamația

Studiile recente au elucidat rolul major al inflamației în patogeniza bolilor cardiovasculare aterosclerotice [67][105][211].

IMA este definit ca o maladie plurifactorială în care rolul central le revine proceselor inflamatorii [246]. Experimental a fost identificată asocierea complexă a bolii coronariene, inclusiv infarctul miocardic, cu activarea răspunsului inflamator, biomarkerii inflamației fiind utilizați la estimarea riscului cardiovascular [95][120][167].

S-a evidențiat că răspunsul persistent și exacerbat la stimulii proinflamatori, manifestat prin nivelele plasmatice crescute ale citokinelor inflamatorii și activarea NF-kB, este implicat în patogeniza anginei pectorale instabile, frecvent provocată de ruptura plăcii aterosclerotice cu tromb suprapus [155].

Ocluzia prelungită a arterei coronariene induce moartea cardiomiocitelor în zona irigată cu declanșarea unei reacții inflamatorii intense [120]. Citokinele proinflamatorii secretate precoce în IMA reprezintă factorii-cheie de reglare și de propagare a răspunsului inflamator necesar pentru reparația eficientă a țesutului infarctizat, vindecarea și cicatrizarea miocardului, totodată inflamația în exces duce la remodelarea adversă a VS și fibroza cardiacă postinfarct [73][78][96][221][235].

În procesul inflamator se disting următoarele după *Huang S. and Frangogiannis N.G. (2018)* [120]:

- *faza de alarmă* caracterizată prin eliberarea proteinelor DAMP care stimulează căile imune;
- *faza de mobilizare a leucocitelor* însoțită de recrutarea neutrofilelor, monocitelor și limfocitelor în zona necrotizată;
- *faza de rezoluție* asociată cu supresia semnalizării proinflamatorii și înlăturarea infiltratului leucocitar, precum și inițierea etapei de reparare a zonei infarctizate.

Celulele cardiace necrotizate eliberează un șir de paterne moleculare de semnalizare DAMPs, rezultând în activarea cascadei de semnalizare a inflamației și inducerea expresiei citokinelor proinflamatorii (IL-6 și TNF- α), considerată semn distinctiv al răspunsului inflamator postinfarct [120][221]. Cascadele de semnalizare se unesc la nivelul complexului proteic nuclear NF-kB, care manifestă efecte pleiotrope, controlează transcripția DNA, producerea citokinelor și supraviețuirea celulelor [33].

Este cert că necroza cardiomiocitelor declanșează atât răspunsul inflamator sistemic, cât și reacția locală cu recrutarea celulelor inflamatorii circulante [120]. Amplificarea răspunsului inflamator sistemic reflectă agravarea aterosclerozei indusă de influxul leucocitelor, accelerarea creșterii și destabilizării plăcii aterosclerotice. Astfel markerii inflamației sistemice (e.g., TNF- α și IL-6) pot fi considerați predictorii ai consecințelor clinice adverse (deces, infarct recurent, disfuncția contractilă a cordului, insuficiență cardiacă) la pacienții cu IMA [63][73][211][283].

În ultimii 30 ani atât studiile experimentale *in vitro*, cât și cele *in vivo* au demonstrat implicarea sistemului imun în remodelarea adversă [33]. SO și răspunsul inflamator sunt considerate mecanismele de bază a remodelării cardiace deoarece prin activarea metaloproteazelor matriceale (MMP) provoacă modificări a matrixului extracelular, rezultând în sinteza collagenului și fibroza miocardului [274].

Căile de semnalizare proinflamatorii sunt implicate în extinderea pierderii cardiomiocitelor, declanșarea degradării matrixului, înlăturarea celulelor moarte din zona infarctului, precum și în formarea cicatricii care păstrează integritatea structurală a ventriculului. Semnalizarea proinflamatorie de lungă durată și/sau extinsă va accentua remodelarea adversă prin activarea proteazelor, degradarea matrixului cardiac extracelular, transducerea mecanismelor apoptotice în cardiomiocite și favorizarea proceselor fibrogenice în miocardul neinfarctizat [73][120].

Citokinele reprezintă molecule pleiotrope implicate în comunicarea intercelulară și menținerea homeostazei celulare [95][119][237]. Orice celulă nucleată din miocard, inclusiv cardiomiocitele, este capabilă să secrete citokine proinflamatorii ca răspuns la leziune, factori inflamatori și/sau de stres [61].

Ateroscleroza reprezintă un proces inflamator asociat cu complicații severe [229]. Dezechilibrul între mecanismele antiinflamatorii și factorii proinflamatori rezultă în progresarea aterosclerozei [155].

Citokinele – molecule proteice mici multifuncționale cu rol important în comunicarea intercelulară, creșterea, diferențierea și migrarea celulară, apoptoză, reacții imune, menținerea homeostazei celulare, determină gradul inflamației și contribuie la aterogeneză [95][119][125]. Dovezile experimentale concludente confirmă implicarea citokinelor proinflamatorii în toate etapele de dezvoltare și progresare a aterosclerozei, leziunea prin reperfuzie, procesul de reparare și cicatrizare postinfarct [79][235].

Bolile cardiovasculare reprezintă boli pro-inflamatorii însoțite de secreția mediatorilor inflamației, inclusiv TNF- α și IL-6 [95]. În infarctul miocardic atât în țesutul infarctizat, precum și în țesuturile vecine are loc un răspuns inflamator imun, manifestat prin necroza acută, hipertrofie, apoptoza cardiomiocitelor și remodelarea ventriculară [270]. Miocardul sănătos nu expresează TNF- α , pe când în patologie sunt generate cantități excesive care contribuie la leziunea prin ischemie/reperfuzie reversibilă și/sau ireversibilă, remodelarea miocardului postinfarct și dezvoltarea insuficienței cardiace [6][138].

Leziunile tisulare din infarctul miocardic, precum și fenomenul de ischemie/reperfuzie, stimulează sinteza și secreția TNF- α în cardiomiocite, efectul citokinei fiind dependent de cantitatea și durata expresiei [16][61][270]. TNF- α stimulează producerea IL-6 și augmentează dereglările metabolice caracteristice infarctului miocardic, fiind asociat direct cu procesul inflamator și BCV [95].

IL-6 este o citokină multifuncțională care reglează răspunsul celular și umoral, cu rol pivotal în inflamație și leziunea celulară, nivelele ridicate fiind asociate cu risc sporit de evenimente cardiovasculare [243]. A fost confirmat rolul IL-6 în recrutarea și activarea celulelor inflamatorii ca răspuns la ischemie și în perioada de reperfuzie a miocardului infarctizat, inclusiv stimularea sintezei hepatice a proteinelor de fază acută [185].

Leziunea miocardului induce o creștere semnificativă a nivelelor serice ale IL-6, necroza tisulară fiind un stimul puternic al răspunsului inflamator și contribuie la dezvoltarea și instabilitatea plăcii aterosclerotice, astfel în IMA magnitudinea elevării citokinelor reflectă extinderea necrozei miocardului [246]. Se sugerează că IL-6 circulantă este un marker

independent puternic a riscului sporit de mortalitate la pacienții cu angină pectorală instabilă care furnizează informație suplimentară importantă fiind estimat împreună cu indicatorii clasici de stratificare a riscului [159].

Studiile experimentale multiple au elucidat implicarea IL-6 în semnalizarea cardiometabolică [96][156], inițierea răspunsului hepatic de fază acută care însoțește infarctul miocardic [146][233][261], inflamația și leziunea tisulară [234]. În ischemia acută nivelele IL-6 servesc un indicator al instabilității plăcii aterosclerotice prezent și detectabil anterior primului IM [234].

S-a presupus că în IMA miocardul ischemiat și/sau necrotic este sursa majoră de IL-6 [159]. Se confirmă că IL-6 este produsă atât de celulele miocardului, cât și de celulele inflamatorii activate de necroza tisulară, fiind implicată în procesul de vindecare a mușchiului cardiac [146][177].

Cercetările efectuate au identificat IL-6 drept mediator major care protejează cordul după leziunea prin ischemie-reperfuzie grație declanșării proceselor reparative endogene prin activarea fibroblastelor și macrofagilor cardiaci, formarea cardiomiocitelor noi și micșorarea numărului de celule apoptotice post infarct. Dar semnalizarea îndelungată și/sau excesivă înrăutățește funcția cardiacă prin reducerea contractilității și inducerea hipertrofiei miocardului [79][177].

Deși posedă și efecte antiinflamatorii, în final acțiunea IL-6 asupra SCV este detrimentală, – accelerează dezvoltarea bolilor cardiovasculare deoarece activează celulele endoteliale, are efecte protrombotice asupra trombocitelor, favorizează proliferarea celulelor musculare netede și acumularea lipidelor în macrofagi [233].

Au fost aduse dovezi concludente că IL-6 posedă proprietăți proinflamatorii puternice: (1) stimulează sinteza metaloproteazelor și expresia LDL-receptorilor în macrofagi; (2) micșorează activitatea lipoprotein lipazei (LPL); (3) majorează captarea LDL-colesterolului, inclusiv transportul și acumularea LDL oxidate în macrofagi; (4) contribuie la dezvoltarea și destabilizarea plăcii aterosclerotice favorizând, în final, declanșarea SCA [67][96][106][233][237][261].

Superfamilia TNF constă din 19 liganzi și 29 receptori care exercită acțiuni *proinflamatorii* (prin activarea NF- κ B), *proliferativă* (prin intermediul diferitor MAPK) și *apoptotică* [6].

TNF- α reprezintă o proteina transmembranară de tip II (mTNF α), aranjată în homotrimeri stabili cu activitate biologică [95][138][275][282]. Din forma membranară, prin clivare proteolitică sub acțiunea metaloproteazei – enzima de conversie TNF- α (TACE ori

ADAM17), este eliberată forma trimerică solubilă a TNF- α (sTNF α) [16][138][275][282]. Conform datelor prezentate forma solubilă sTNF α reprezintă forma activă a mTNF α , cu potențial proinflamator mai puternic comparativ cu TNF- α membranar [138][270].

Transducerea semnalului este mediată prin intermediul atât a receptorilor transmembranari constituiți din domeniile extracelular (ECD), transmembranar (TMD) și intracelular (ICD), cât și cei solubili alcătuiți doar din domeniul extracelular (ECD). S-a demonstrat că formele solubile ale receptorilor sunt generate prin scindarea proteolitică a domeniilor extracelulare, cu rol pivotal în modularea răspunsului imun, fixarea și inactivarea TNF- α și contribuind la apoptoza celulară [95][282].

Receptorii TNF- α (TNFR1 și TNFR2) sunt expresați de majoritatea celulelor cardiace, inclusiv cardiomiocite [242]. S-a stabilit că cardiomiocitele umane expresează TNFR1 funcționali activați de forma membranară și de trimerul solubil al TNF- α , iar TNFR2, care se conține preponderent în celulele sistemului imun și cord, interacționează cu sTNF- α [138][275].

Postinfarct TNF- α se combină cu TNFR tip 1 și/sau tip 2. Asocierea cu TNFR1 este detrimentală pentru funcția miocardului, fiind implicată în reacția inflamatorie și remodelarea ventriculară, apoptoza cardiomiocitelor și cardiotoxicitate, iar semnalizarea prin TNFR2 are efecte cardioprotectoare, cu rol cardinal în supraviețuirea celulară [95][104][119][196][270]. S-a confirmat faptul că TNFR1 mediază moartea cardiomiocitelor, pe când TNFR2 – reparația [275].

Receptorii TNF- α recrutează proteina adaptor TRADD pentru inițierea cascadei de semnalizare care implică NF- κ B, MAPK sau caspazele [275]. S-a stabilit că efectul proinflamator al TNF- α este mediat prin proteinele NF- κ B-reglate, precum IL-6, iNOS, COX2, toate fiind mediatori majori ai inflamației [6] și induc dereglările metabolice caracteristice BCV, inclusiv și infarctului miocardic [95].

Există o corelație între nivelele circulante a TNF- α și expresia receptorilor TNF- α miocardici: TNF- α majorat este responsabil de micșorarea expresiei receptorilor TNFR [113][119]. S-a demonstrat că TNF- α și TNFR1 sunt expresate pe parcursul infarctului miocardic în zona infarctizată și non-infarct a miocardului, pe când TNFR2 este expresat doar în zona infarctizată [57][270].

Efectele cardiovasculare ale TNF- α sunt mediate prin: (1) vasoconstricția COX-dependentă; (2) diminuarea biodisponibilității NO; (3) sinteza SRO; (4) disfuncția endotelială cu creșterea permeabilității vasculare prin activarea TNFR1, care induce rearanjarea PKC-

dependentă a citoscheletului actinic și formarea breșelor intercelulare; (5) transcitoza majorată a lipoproteinelor cu densitate joasă cu rol pivotal în aterogeneză [275].

Experimental s-a demonstrat că în ischemie tranzitorie TNF- α circulante nu sunt secrete, pe când ocluzia temporară și/sau permanentă a arterelor coronariene induce rapid expresia citokinelor proinflamatorii [16][138][275]. Ischemia acută stimulează eliberarea cantităților mari de sTNF α preformat din macrofagi, celule limfoide, mastocite, celule endoteliale, fibroblaști și țesut neuronal [89][138]. Ischemia/reperfuzia subacută a miocardului rezultă în formarea autocrină și eliberarea îndelungată a TNF- α din miocard indusă de hipoxie, stimularea α -adrenergică, acidoza lactică și activarea complementului [138].

În zona infarctizată TNF- α rămâne majorat timp de câteva săptămâni și contribuie la apoptoza cardiomiocitelor, pe când în cea peri-infarct la 1 săptămână postinfarct depășește puțin valorile bazale [122][242]. Totodată valorile înalte ale TNF- α în zona peri-infarct reduc funcția contractilă, suprimă inflamația, induc apoptoza cardiomiocitelor și declanșează fibroza care prin atragerea celulelor stem stabilizează zona de infarct, deși poate contribui și la remodelarea structurală cu disfuncția diastolică în miocardul izolat [18][242].

Necroza acută a cardiomiocitelor în cordul afectat declanșează un răspuns intens inflamator cu scopul de a repara miocardul lezat, însă inflamația excesivă duce la remodelarea ventriculară adversă și insuficiență cardiacă [25][73].

Activarea căilor de transducție a semnalului TNF- α contribuie la disfuncția vasculară, dezvoltarea și progresarea aterosclerozei, remodelarea cardiacă adversă post IMA și insuficiența cardiacă [275]. Nivelele ridicate ale TNF- α favorizează disfuncția cronică postinfarct a ventriculului stâng prin menținerea unei inflamații locale însoțite de creșterea activității MMP-2, degradarea matrixului și colagenului, cu apoptoza cardiomiocitelor [242][262].

Dovezi experimentale multiple confirmă că TNF- α participă în dezvoltarea bolilor cardiovasculare, fiind implicat în apariția și progresarea aterosclerozei, leziunea prin ischemie/reperfuzie a miocardului, patogeneza bolii coronariene și disfuncției miocardice [36][65][125][138]. Modificările structurale ale miocardului induse de TNF- α , precum hipertrofia cardiomiocitelor, fibroza interstițială și dilatarea, favorizează disfuncția și remodelarea miocardică după evenimentele coronariene acute [25][167][194][255].

În dependență de concentrație, durata expunerii, localizare și tipul receptorului activat TNF- α manifestă efecte duale, fiind implicat atât în regenerarea/proliferarea tisulară, cât și în distrucția țesutului [95][242][282].

Deci TNF- α posedă efecte bidirecționale dependente de nivelele TNF- α : acționează ca o moleculă de semnalizare la concentrații joase fiziologice, efectele fiind benefice în remodelarea postinfarct, dar induce leziuni celulare ireversibile la concentrații mai ridicate [25][138][242][270].

Sinteza TNF- α este reglată la nivel post-transcripțional, iar efectul citokinei asupra funcției cardiace depinde de cantitatea și durata expresiei TNF- α : expresia de scurtă durată reprezintă un răspuns adaptiv la stres, pe când expresia prolongată este maladaptivă și induce decompensarea cardiacă [16].

A fost identificat că nivelele circulante relevante ale TNF- α sunt asociate cu disfuncția endotelială a arterelor coronariene [50][138].

La persoanele sănătoase concentrațiile TNF- α sunt joase și nu influențează funcția contractilă, pe când concentrațiile mai înalte ale TNF- α în miocard contribuie la disfuncția contractilă [242][275] și, posibil, la hibernarea miocardului [114][138].

TNF- α reduce contractilitatea miocardului prin: (1) decuplarea semnalizării β -adrenergice; (2) majorarea cantității de NO și peroxinitrit în miocard; (3) dereglarea homeostazei intracelulare a calciului cu inducerea disfuncției diastolice și/sau sistolice [25][138].

Datele publicate menționează că creșterea precoce postIMA a TNF- α contribuie la stabilizarea funcției VS, pe când stimularea îndelungată cu TNF- α induce disfuncția VS în faza tardivă. În mod ideal postinfarct creșterea TNF- α trebuie să fie rapidă și tranzitorie pentru a activa expresia TNFR2 și căile de semnalizare cardioprotectoare din miocitele și fibroblastele cardiace [138][275].

A fost lansată ipoteza că nivele plasmatice elevate ale TNF- α prezic riscul bolilor cardiovasculare la persoanele sănătoase, corelând în viitor cu gradul de dereglare a funcției cardiace [61][138][195]. De altfel expresia citokinei este crescută semnificativ la pacienții cu boala ischemică a cordului [119], inclusiv cei cu IMA. Recent se sugerează prezența unei corelații concludente între nivelul seric al citokinelor TNF- α și IL-6 cu dimensiunile și severitatea infarctului miocardic [119].

Se presupune că TNF- α miocardic este un reglator important al inflamației locale și leziunii cardiace la pacienții cu IMA, contribuind la disfuncția contractilă a miocardului și moartea celulară postinfarct [119].

Este cert că factorii de risc cardiovascular (dislipidemia, hipertensiunea, diabetul, etc.) lezează endoteliul vascular și induc un răspuns inflamator care rezultă în activarea celulelor endoteliale, însoțită de expresia sporită a moleculelor de adeziune celulară, scăderea

semnificativă a NO, generarea SRO, creșterea permeabilității endoteliului, captarea și oxidarea LDL cu exacerbarea aterogenității și reacțiilor inflamatorii [155][229]. Totodată răspunsul inflamator are efecte duale: pe de o parte este necesar la inițierea procesului benefic de reparație a cordului lezat, pe când supraactivarea provoacă moartea cardiomiocitelor, hipertrofie, fibroză și pierderea arhitecturii normale a cordului [33][73].

S-a observat că nivelele citokinelor sunt asociate atât cu severitatea bolii coronariene, cât și cu rata mortalității [56][125]. S-a evidențiat asocierea dintre nivelele elevate ale markerilor inflamației și riscul crescut a consecințelor cardiovasculare la persoanele aparent sănătoase, precum și la pacienții cu angină pectorală stabilă și/sau instabilă și IMA [54].

IL-6 și TNF- α , fiind implicate în inflamația vasculară și ateroscleroză, pot prezice evenimentele cardiovasculare, sugerând posibilitatea estimării citokinelor în diagnosticarea bolii coronariene la persoanelor aparent sănătoase [167].

1.3 Modificările metabolice

BCV sunt cauza lider a morbidității și mortalității, ateroscleroza având un rol premordial în etiologie [158]. Perioada care urmează după SCA reprezintă intervalul critic de timp cu risc sporit al evenimentelor ischemice recurente pe termen scurt și/sau deces [202][238]. Modificarea concentrației plasmatice a lipidelor în acest timp cu certitudine contribuie la dezvoltarea consecințelor vasculare [54]. De aceea determinarea în primele zile după internare a modificărilor serice a lipidelor asigură luarea deciziilor clinice privind necesitatea terapiei hipolipemiante [216].

Studiile clinice și experimentale au furnizat dovezi concludente privind rolul etiologic al colesterolului și au confirmat rolul patogen al inflamației în ateroscleroză [105][251]. Este cert faptul că atât nivelele înalte ale colesterolului seric, precum și acumularea sa în țesutul cardiac, sunt asociate cu leziunea cardiovasculară grație implicării sale în progresarea aterosclerozei, cât și prin modificarea compoziției, structurii și stabilității membranei celulare [134].

Parametrii lipidici sunt utili pentru identificarea factorilor de risc a bolilor cardiovasculare [51].

Hiperlipidemia, caracterizată prin concentrațiile majorate de LDL, TG și AG liberi însoțite frecvent de scăderea HDL, și dislipidemia sunt cauzele maladiilor cardiovasculare (ateroscleroza, boala ischemică a cordului, etc.) și metabolice în patogeniza cărora rolul crucial revine stresului oxidativ și inflamației implicate în alterarea funcției cardiace [246][251].

Hiperlipidemia potențează independent efectele adverse ale hiperglicemiei și sporește producerea SRO, inclusiv ONOO^- . Totodată hipertrigliceridemia și hipercolesterolemia sunt asociate cu disfuncția celulelor endoteliale, biodisponibilitatea redusă a NO provocată de carența tetrahidrobiopterinei și/sau L-Arg responsabile de decuplarea eNOS, peroxidarea LDL, glicarea proteinelor, autooxidarea glucozei, elevarea SO și condiții proinflamatorii [77][251].

S-a constatat că perturbarea metabolismului cardiac este consecința primară a ischemiei miocardului și SO [10]. De altfel dereglările metabolismului lipidic induse de ischemia/reperfuzia miocardului pot fi clasificate în: (1) modificările β -oxidării AG și (2) modificările dependente de activarea fosfolipazelor și altor enzime lipolitice cu lezarea componentelor structurale importante ale membranei celulare [93].

S-a constatat că cu cât este mai sever IMA, cu atât mai puternic activitatea simpaticului stimulează sinteza și activarea lipoproteinlipazei responsabile de scindarea TG circulante în glicerol și AG [45]. Datele prezentate în literatură indică că stresul ischemic provoacă lipoliza și eliberarea necontrolată de AG liberi și glicerol, fapt confirmat prin nivele serice elevate ale glucozei, glicerolului, AG și lipoproteinelor în STEMI [10][246]. Alți savanți au evidențiat în ischemie o lipoliză activă fără modificări măsurabile ale conținutului TG [140].

AG din lipoproteinele bogate în TG reprezintă o sursă de energie crucială pentru supraviețuirea celulei [45][218]. Cercetările recente confirmă importanța LDL-colesterolului (LDL-C) și TG în IMA, și anume micșorarea în faza acută a anginei instabile și/sau NSTEMI a nivelului TG plasmatic este considerată marker al ischemiei recurente [45]. Scăderea semnificativă a conținutului TG corelează cu lipoliza accelerată indusă de ischemie, totodată turnoverul accelerat al TG cardiace modulează răspunsul la leziunea prin ischemie/reperfuzie a miocardului [140].

Hipertrigliceridemia poate fi provocată atât de producerea majorată, cât și de eliminarea redusă a lipoproteinelor grație inhibiției activității lipoprotein lipazei [211][246]. Se presupune că dezvoltarea BCV este influențată de elevarea lipoproteinelor bogate în TG, precum și modificările lipoproteinelor asociate cu metabolismul perturbat al TG [45]. S-a observat că creșterea cantității de lipoproteine bogate în TG este secundară reesterificării AG plasmatici, totodată mobilizarea AG liberi și secreția hepatică de VLDL majorează nivelul TG [246].

Evidențierea rolului metabolismului TG cardiace endogene în determinarea consecințelor stresului cardiac a permis lansarea ipotezei că TG depozitate sunt benefice în

ischemie/reperfuzie, deoarece menținerea ratelor înalte ale turnoverului TG în reperfuzia după ischemia acută manifestă efecte cardioprotectoare prin sechestrarea AG în fondul comun al TG [140].

TG sunt unica fracție lipidică implicată atât în retenția, cât și îndepărtarea colesterolului, fiind evidențiată asocierea neliniară proporțională între nivelul TG <2 mmol/L și riscul IMA [64].

O scădere semnificativă a valorilor colesterolului total în faza inițială a evenimentului coronarian acut este atribuită atât răspunsului inflamator, cât și captării sporite de către celule în scop plastic [246].

LDL sunt transportatorii majori ai colesterolului spre țesuturi [158]. LDL-C înalt este un factor de risc al bolilor cardiovasculare cu un rol important în dezvoltarea aterosclerozei [45][251]. LDL-C este crucial la etapa inițială intraspitalicească pentru supraviețuirea celulei care se confruntă cu stresul sever, ischemie și răspuns inflamator reactiv deoarece se utilizează pentru sinteza membranelor celulare și hormonilor steroizi [45]. În faza acută, necătând la sinteza sporită a LDL, nivelul LDL-C scade grație activității crescute a receptorului LDL (LDL-R), iar micșorarea concentrației LDL-C în ziua II de spitalizare poate fi cauzată de terapia administrată [246].

Recent ateroscleroza este asociată cu oxLDL-C în calitate de compus responsabil de apariția bolii [158]. În timpul peroxidării lipidelor compușii reactivi, inclusiv DAM și lizofosfatidele, acumulându-se în LDL interacționează cu radicalii aminoacizilor și modifică apoB100 [77][251]. Se presupune că proprietățile proaterogene ale oxLDL sunt mediate de fosfolipidele oxidate din molecula LDL [77].

Oxidarea LDL este un proces complex însoțit de modificarea oxidativă a proteinelor și lipidelor, fapt care favorizează acumularea colesterolului [158]. Este cert că oxLDL sunt aterogene, citotoxice, stimulează eliberarea TNF- α , fiind implicate în formarea plăcii aterosclerotice [251]. Au fost aduse dovezi concludente că LDL și oxLDL exacerbează SO prin stimularea producerii endoteliale a SRO (superoxid și/sau peroxinitrit) responsabile de decuplarea eNOS, iar micșorarea activității eNOS scade sinteza endotelială a NO care inhibă oxidarea LDL [77].

HDL exercită efecte antiaterogene prin mecanisme multiple, inclusiv metabolizarea și transportul produșilor de oxidare a lipidelor și colesterolului de la periferie spre ficat, protejarea endoteliului, efecte antiinflamatorii, antioxidante și antitrombotice [134][251][280]. Totodată transferul glucozei din sânge în țesut are o relevanță clinică potențială atât datorită micșorării complicațiilor vasculare grație eliminării excesului de

glucoză din sânge, cât și prin furnizarea suficientă a glucozei în țesuturi pentru generarea energiei în caz de ischemie/anoxie când glucoza devine substratul metabolic principal pentru viabilitatea celulelor [247].

Studiile epidemiologice au identificat o corelație inversă între HDL-colesterol și boala coronariană a cordului, nivelele scăzute ale HDL-C fiind asociate cu riscul crescut de boli coronariene [218][280].

Valorile HDL-C depind de activitatea proteinei de transfer a esterilor de colesterol (CETP) – un factor cheie în distribuția lipidelor neutre (TG, colesterol esterificat) între HDL și lipoproteinele bogate în apoB (VLDL, LDL) [200][292]. CETP reprezintă o glicoproteină hidrofobă, care se sintetizează în ficat și țesutul adipos și este asociată la complexul LCAT-HDL [161 p.403][291].

Funcția ei este stimulată de hipercolesterolemie și hipertriacilglicerolemie. Proteina respectivă mediază transferul esterilor de colesterol și a TG de la chilomicroni și VLDL spre HDL și LDL, reglând în plasmă concentrația, compoziția și dimensiunile particolelor HDL [200][291].

Modificarea oxidativă a HDL dereglează capacitatea de „transport invers al colesterolului” a apolipoproteinei A-I, precum și funcția antiinflamatorie a HDL [251]. Se sugerează că capacitatea serică de eflux a colesterolului poate fi un predictor mai bun al bolii coronariene comparativ cu nivelul HDL-C [280].

În IMA răspunsul de fază acută manifestă efecte cantitative și calitative asupra HDL, și anume inflamația prin creșterea activității lipazei endoteliale și fosfolipazei A2 solubile micșorează nivelul HDL, substituind apo-A1 cu amiloidul A seric [246]. A fost demonstrat că valorile plasmatice ale HDL-colesterolului sunt asociate puternic cu eliminarea sporită a glucozei în faza acută a infarctului miocardic [247].

Reacția catalizată de CETP facilitează atât efluxul colesterolului din celule, precum și transportul colesterolului de la țesuturile periferice spre ficat [198][291]. Micșorarea activității CETP circulante este asociată cu valorile serice înalte ale HDL-C și riscul scăzut al bolilor coronariene, inclusiv IMA [198][200]. Creșterea transferului realizat de CETP se depistează la subiecții cu afecțiuni cardiovasculare și la cei cu diabet insulino-dependent [161 p.403].

Experimental a fost demonstrat că la animalele de laborator activitatea CETP variază în dependență de specie, șobolanii fiind o specie CETP-deficientă cu risc aterogen scăzut [200][292].

Studiile epidemiologice au confirmat asocierea între nivelele înalte ale colesterolului total, LDL-C și nivelele joase ale HDL-C cu incidența și mortalitatea prin maladia

coronariană [211][246]. Raportul TC/HDL-C este un estimator superior al riscului bolii coronariene; nivele joase ale HDL-C însoțite de elevarea raportului TC/HDL-C fiind markeri ai apariției și severității bolii. Totodată modificările raportului TC/HDL-C sunt predictorii mai buni de reducere a riscului bolii coronariene comparativ cu modificările înregistrate de fracțiile colesterolului [218].

A fost lansată ipoteza că concentrațiile înalte ale TG la subiecții cu nivel obișnuit sau micșorat al HDL-C pot fi considerate marker surogat al intoleranței la glucoză, fiind utile la identificarea persoanelor cu risc al bolii coronariene care nu pot fi depistați cu ajutorul factorilor de risc cardiovascular convenționali [64].

Se consideră că ischemia este axa principală responsabilă de adaptarea celulei la deficitul de oxigen cu scopul de a menține activitatea metabolică [10].

Ischemia provoacă necroza celulelor, grație întreruperii aportului de oxigen și glucoză care va duce la imposibilitatea de a genera ATP prin fosforilarea oxidativă în mitocondrii, rezultând în insuficiența proceselor energo-dependente [93][126]. Aportul insuficient de oxigen favorizează comutarea spre metabolismul anaerob sporind absorbția, extragerea și oxidarea glucozei care nefiind complet oxidată în mitocondrii, se transformă în citosol în lactat [66][183][296]. Se observă trecerea de la utilizarea lactatului la generarea lui de către miocard, fenomen însoțit de perturbarea homeostazei celulare: se micșorează cantitatea ATP cu acumularea ADP, fosfat anorganic, lactat și H^+ ; scade pH-ul intracelular și capacitatea de contracție [10][66][93][126][183][236][284].

Dezvoltarea acidozei tisulare și producerea de lactat sunt recunoscute ca markeri senzitivi ai protecției inadecvate și a debutului ischemiei miocardice [204]. Efectul primar al ischemiei este disfuncția mitocondrială cauzată de sinteza aerobă redusă a ATP-ului [66]. Ischemia prelungită inhibă glicoliza grație nivelelor crescute de lactat și protoni, precum și, respectiv, disponibilității reduse de NAD^+ [183].

Miocitele sunt capabile simultan să producă, elibereze și oxideze lactatul [91]. IMA contribuie la generarea lactatului prin: (1) hiperglicemia accentuată de catecolamine; (2) oxigenarea insuficientă a țesuturilor cu inhibarea complexului PDH – mecanisme responsabile de accelerarea metabolismului anaerob și augmentarea producerii de lactat [9].

Lactatul majorează concentrația SRO și expresia nucleară a factorului NRF-2, reduce activitatea enzimelor antioxidante (catalaza, SOD), modulează homeostazia redox prin creșterea nivelului de NADH grație conversiei lactatului în piruvat de către LDH, cu activarea ulterioară a NADH oxidazei și generarea SRO în țesutul cardiac [84].

Gradul dereglărilor hemodinamice, ischemia miocardică și valorile glicemiei sunt factorii principali care influențează concentrația lactatului în etapa precoce a STEMI [151]. Valorile înalte ale lactatului seric determinate la internare permit identificarea pacienților cu IMA, corelând cu riscul înalt de pronostic nefavorabil pe termen scurt post IMA [9][82]. S-a presupus că concentrația serică a lactatului, determinată la adresare, indică pacienții cu durere toracică provocată de boli cardiace critice (IMA, insuficiența cardiacă congestivă severă, aritmii decompensate), pe când nivelele normale a lactatului posedă valoare predictivă negativă înaltă pentru IMA [14].

Cercetările efectuate au demonstrat corelația directă între severitatea acidozei miocardice și consecințele ischemiei cardiace pe termen lung, menționându-se rata mai joasă de supraviețuire în acidoză [204][225]. S-a stabilit că hiperlactatemia la pacienții STEMI identifică lotul de pacienți cu risc înalt pentru deces precoce și complicații intraspitalicești (edem pulmonar acut, aritmii) [152]. Au fost aduse dovezi că în SCA monitorizarea în dinamică a lactatului prezintă o asociere concludentă atât cu mortalitatea pe termen scurt, cât și pe termen lung [90].

Corelația statistic semnificativă între nivelele lactatului și morbiditatea și mortalitatea postoperatorie a permis lansarea ipotezei că acidoza metabolică instalată în perioada ischemiei poate induce un răspuns inflamator ca urmare a reperfuziei [225].

Oxidarea lactatului generează piruvat, care este transportat în matrixul mitocondrial și metabolizat în acetyl-CoA sub acțiunea complexului PDH. Cota înaltă de oxidare a AG sporește raporturile NADH/NAD^+ și acetyl-CoA/HS-CoA care inhibă PDH implicată în oxidarea glucozei și lactatului în miocard [183]. Lactatul, piruvatul și raportul lactat/piruvat pot servi indici ai disfuncției miocardice, raportul cardiac lactat/piruvat poate fi utilizat ca marker al metabolismului aerob, lactatul tisular și/sau raportul cardiac lactat/piruvat sunt indicatori de încredere a leziunii ischemice, corelând invers cu recuperarea post-ischemică [130].

În IMA nivelele joase sau obișnuite ale AG măresc producerea lactatului în ischemie, pe când nivele ridicate ale AG serici duc la scăderea extragerii lactatului fără generarea sa [66]. Lipoliza indusă de catecolamine va majora concentrația de lactat și acizi grași liberi, diminuând absorbția și oxidarea glucozei [88]. Mediatorii inflamației contribuie la glicoliză și la generarea sporită de lactat [151].

Este cert că absorbția și utilizarea lactatului de către miocard este dependentă de concentrația arterială a lactatului [88]. Oxidarea lactatului crește ca răspuns la stimularea β -

adrenergică și în prezența unei cantități ridicate de lactat în sânge [82][152]. S-a observat că lactatul poate spori oxidarea lipidelor în miocard [88].

În hipoxie cantitatea mică de energie obținută din metabolizarea glucozei impune celulele să utilizeze ca sursă de energie lipidele, cu generarea corpurilor cetonice ca produși finali, și deci elevarea nivelurilor corpurilor cetonice denotă exacerbară catabolizării acizilor grași însoțită de incapacitatea ciclului Krebs de a oxida acetil-CoA [10].

Concomitent cu dezechilibrul osmotic și ionic, epuizarea ATP perturbă activitatea pompelor ATP-dependente (Na^+/K^+ -ATPaza, Ca^{2+} -ATPaza) și canalelor ionice secundare (Na^+/H^+), inclusiv canalele de Ca^{2+} voltaj-dependente, favorizând depolarizarea membranei, însoțită de scăderea pH-ului intracelular și supraîncărcare intracelulară cu Na^+ și Ca^{2+} [93][296].

Recent au fost aduse dovezi experimentale că excesul de Ca^{2+} citosolic activează proteazele, fosfolipazele, lipazele, ATPazele și endonucleazele calciu-dependente care dereglează funcția celulei, destabilizează structura membranei și citoscheletului, sporesc lipoliza prin metabolismul AG, induc generarea radicalului superoxid, favorizează lezarea DNA și moartea celulei [93].

Hiperglicemia indusă de stres reprezintă un răspuns metabolic complex cauzat de eliberarea crescută a catecolaminelor și hormonilor cu efecte hiperglicemice și valori înalte de AG liberi [12][35][68][108][141][163][190][192]. Ca hiperglicemie în cadrul IMA este definit un nivel al glucozei care depășește 140 mg/dL [143].

Hiperglicemia și glucozuria tranzitorie sunt frecvente în perioada acută a IMA și prezintă un predictor independent al supraviețuirii, morbidității și mortalității CV [8][192][289][290]. Hiperglicemia acută la internare a fost identificată la peste 25% de pacienți cu IMA [290]. Rezultatele studiilor epidemiologice au arătat că prevalența hiperglicemiei la pacienții internați cu SCA oscilează între 3%-71% [8][11][12].

În SCA efectele detrimentală directe ale hiperglicemiei pot fi explicate prin: exacerbară SO, glicarea neenzimatică a glicoproteinelor plachetare, amplificarea inflamației și supresia imunității [252].

Hiperglicemia activează mecanismele trombogene și metaloproteinazele matriceale implicate în destabilizarea și ruptura plăcii aterosclerotice [108], favorizează generarea radicalilor liberi și citokinelor proinflamatorii, care modulează activarea Akt și induc apoptoză, confirmând ipoteza anterioară că efectul deteriorant al hiperglicemiei acute este asigurat prin stimularea leucocitelor care mediază SO și răspunsul inflamator [39][123][290].

S-a stabilit că în IMA hiperglicemia se asociază cu: 1) creșterea cantității de AG liberi, toxici pentru miocardul ischemiat, care lezează membrana celulară, provoacă supraîncărcarea cu calciu, rezultând în disfuncția contractilă și aritmii cu un pronostic rezervat [141][190][192]; 2) insulinorezistență și dereglarea utilizării glucozei în miocard cu sporirea consumului de oxigen și agravarea ischemiei [190][289]; 3) generarea SRO, inactivarea chimică a NO și inflamație [12].

Hiperglicemia, grație pierderii integrității membranare provocată de radicalii liberi, agravează leziunile miocardului produse prin fenomenul de ischemie și reperfuzie, majorând dimensiunile infarctului miocardic la animale de laborator [290].

Este bine cunoscut că în condiții fiziologice glucoza nu este toxică, totuși la concentrații mai înalte glucoza se supune autooxidării cu glicarea neenzimatică a proteinelor (fig. 1.4), astfel duce la fragmentarea proteinelor prin mecanismele mediate de radicalii liberi și SRO generate prin mecanisme diverse: oxidarea glucozei, glucotoxicitate, și fosforilarea oxidativă [251].

Hemoglobina constituie una din fracțiile majore de proteine circulante susceptibile atât la glicarea precoce, cât și avansată [240]. Glicarea este sursa majoră de SRO, specii reactive de azot și intermediari α -dicarbonilici reactivi, generați fie în calea oxidativă, precum și cea neoxidativă. În consecință se inactivează enzimele intracelulare și hormonii cu SH-grupe ale Cys în structura sa (insulina, γ -interferon, Ca^{2+} -ATP-aza reticulului sarcoplasmatic, etc.) [224].

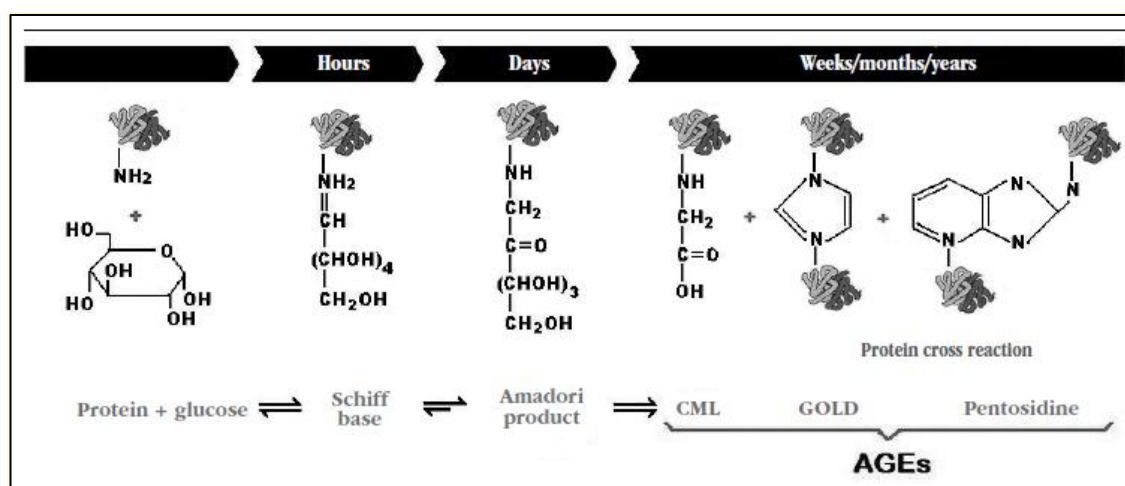


Figura 1.4 Etapele glicării neenzimatică [201]

Hemoglobina glicată (HbA1c) rezultă din reacția neenzimatică de condensare a glucidelor reducătoare cu lanțurile proteice ale hemoglobinei [224][265]. S-a observat că

glicarea hemoglobinei intensifică SO, contribuind la lezarea oxidativă a endoteliului și declanșarea răspunsului oxidativ și inflamator [240]. Nivelele în creștere ale HbA1c reflectă generarea sporită a AGE, responsabile de translocarea factorului NF- κ B și sinteza endotelială a citokinelor proinflamatorii și a moleculelor de adeziune [265], implicate în disfuncția endotelială, exacerbară SO [154] și dezechilibrul sistemului fibrinolitic endogen, cu risc înalt de stenoză a arterelor coronariene [27].

La pacienții nediabetici cu SCA hiperglicemia la internare asociată cu valorile ridicate ale HbA1c corelează cu consecințele clinice nefavorabile pe termen lung [190][252].

Aminogrupele Lys și Arg reacționează cu grupele carbonil ale glucidelor generând **produșii finali de glicare avansată** (AGEs) (fig. 1.4) [158][201]. Compușii proteici carbonilici și AGEs sunt cei mai de succes markeri ai SO în diferite boli [80].

Aprecierea AGEs în infarctul miocardic acut indică un dezechilibru a statutului glucometabolic, ce condiționează dezvoltarea stresului oxidativ la pacienții cu IMA [3][101]. Valorile crescute ale AGEs sunt asociate cu progresarea și instabilitatea plăcii aterosclerotice coronariene, și pot servi atât indicatori ai nivelului leziunilor cardiace ischemice acute, cât și ca factori de pronostic [3][223][228][286].

Hiperglicemia provoacă stresul oxidativ, sporește expresia factorilor de creștere și citokinelor (TNF- α), induce disfuncția endotelială, favorizează metabolismul eicosanoizilor cu generarea radicalului superoxid. Activarea NO-sintazelor (eNOS, iNOS) și NADPH-oxidazelor stimulează producerea în exces a NO și $O^{\cdot -}$, care interacționează generând $OOONO^{\cdot -}$ responsabil de exacerbară SO și disfuncției endoteliale. În final, au loc leziuni tisulare prin activarea căilor metabolice majore implicate în hiperglicemie: (1) calea de sinteză a hexozoaminei, (2) calea sorbitol-aldozo reductazei, (3) MAPK, și (4) proteinkinaza C [251].

1.4 Concluzii

Este cert că infarctul miocardic acut reprezintă un eveniment cardiac critic provocat de dezechilibrul dintre necesitatea celulei și aportul insuficient de oxigen la țesut din cauza obstrucției parțiale sau complete a unei artere coronariene, rezultând în ischemie acută și hipoxie tisulară. Miocardul ischemiat, grație prezenței NADPH-oxidazelor, NOS decuplate, xantinoxidazelor și dereglărilor în activitatea mitocondriilor, produce în exces specii reactive de oxigen și azot responsabile de instalarea stresului oxidativ și declanșarea procesului de peroxidare a lipidelor membranare.

Efectele detrimentală ale SO se manifestă prin modificările oxidative ale biomoleculelor celulare majore (proteine, lipide, DNA). Macromoleculele modificate (AIM,

PPOA, DAM, AGE) grație proprietăților sale servesc markeri ai ischemiei și hipoxiei tisulare, inclusiv și a leziunilor membranare caracteristice SO, care ar permite identificarea leziunilor ischemice acute reversibile anterior progresării în leziuni necrotice.

SRO generate în exces activează cascadele de semnalizare favorizând sinteza și eliberarea citokinelor proinflamatorii (IL-6, TNF- α). Răspunsul inflamator local și sistemic posedă, în dependență de intensitate, durata acțiunii și tipul receptorului, efecte clinice duale: expresia de scurtă durată reprezintă un răspuns adaptiv necesar recuperării postinfarct, pe când expresia prolongată este maladativă și induce remodelarea adversă.

Indiscutabil, ischemia, SO și inflamația afectează metabolismul celulei (energetic, glucidic, lipidic), iar modificările rezultate sunt implicate în progresarea maladiei, precum și apariția și dezvoltarea complicațiilor.

În literatura de specilitate se observă lipsa unei abordări adecvate și sunt prezentate date contradictorii privind mecanismele patobiochimice ale IMA. Este necesară argumentarea utilizării în algoritmele diagnostice a unor constelații de markeri biochimici care ar permite concretizarea mecanismelor cardinale implicate în proces cât și severitatea leziunii miocardului.

2. MATERIAL ȘI METODE DE STUDIU

Pentru a asigura realizarea eficientă a scopului și obiectivelor trasate, a fost elaborat planul metodologic, care prevedea reperaile:

- formularea argumentată a problemei;
- selectarea modelului experimental;
- elaborarea și aprobarea protocolului studiului;
- modelarea experimentală a infarctului miocardic acut la șobolani;
- colectarea materialului biologic;
- analiza și sinteza rezultatelor obținute;
- formularea concluziilor;
- elaborarea recomandărilor și aplicarea lor în practică.

2.1 Modelul experimental

În prezent multiple patologii ale cordului, inclusiv cele cauzate de ischemie, sunt modelate pe animale. Studiile experimentale elucidează la nivel de țesut și/sau structuri subcelulare atât mecanismele biochimice care stau la baza proceselor fiziologice, precum și dereglările apărute în stările patologice.

Modelarea bolilor cardiovasculare reprezintă o etapă preliminară importantă în cercetările biochimice și farmacologice care oferă o mai bună înțelegere a mecanismelor patobiochimice ale bolii. Modelul experimental al maladiei permite evidențierea și analiza profundă a mecanismelor implicate în apariția și dezvoltarea patologiei, cât și elaborarea și implementarea practică a unor noi criterii și/sau metode eficiente de diagnostic și tratament ale afecțiunii modelate.

Animalele mici (șoareci, șobolani și iepuri) sunt frecvent utilizate în calitate de animale de laborator grație dimensiunilor, costului, precum și ușurinței în manipulare și întreținere. S-au evidențiat următoarele **modele experimentale a IMA** [148]:

I. ex vivo – modelul Langerdorff (cordul izolat), considerat un model excelent pentru studierea consecințelor ischemiei acute și/sau cronice ale miocardului.

II. in vitro – utilizarea celulelor cardiace izolate (cardiomiocite, fibroblaste, etc.).

III. in vivo:

1. Pe animale mici:

- a) metoda chirurgicală - ligatura arterei coronariene descendente anterioare stângă;
- b) metoda chimică - IM indus de Izoproterenol.

2. Pe animale genetic modificate:

- a) knockout;
- b) transgenice.

Grație naturii multifactoriale ale BCV, nu există nici o specie de animale de laborator care ar corespunde ideal tuturor cerințelor. La șobolani lipsa proteinei CETP favorizează transportul colesterolului și a AG polienici preponderent prin intermediul particulelor HDL, pe când transportul TG și AG saturați implică lipoproteinele non-HDL (VLDL, IDL, LDL) [153][200][292].

Studiile epidemiologice recente indică că polimorfismul și/sau mutațiile care rezultă în micșorarea activității CETP, întâlnite la japonezi (6-8%) și caucazienii longevivi, se manifestă prin hiperalfalipoproteinemie, nivele foarte înalte ale HDL-C, și sunt asociate cu risc scăzut al bolilor coronariene, inclusiv IMA [198][200][278][291]. Dar sunt publicate și date contradictorii privind rolul antiaterogen și/sau protector al deficienței de CETP [198][291].

Pe parcursul secolelor animalele au fost larg folosite în diverse cercetări din domeniul anatomiei, toxicologiei, fiziologiei, medicinei, etc. În 1975 Parlamentul European a proclamat Declarația Universală a Drepturilor Animalelor, iar în 1979 la Congresul Internațional de Standardizare Biologică au fost elaborate și adaptate principiile fundamentale pentru standardizarea studiilor experimentale pe animale de laborator. La bază se găsește “conceptul celor trei R” (introdus în 1959 de Russel și Burch), care include:

1. *replacement* – înlocuirea, în cazurile posibile, a metodelor de testare pe animale cu metode alternative care nu necesită material biologic de origine animală;
2. *reduction* – folosirea unui număr optimal mic de animale în orice experiență fără a compromite efectul științific și calitatea studiului;
3. *refinement* – îmbunătățirea metodelor folosite, umanizarea tehnicilor în scopul diminuării suferințelor inevitabile care însoțesc studiile pe animale.

În conformitate cu principiile internaționale menționate, în studiul experimental a fost inclus numărul minim posibil de animale care permite obținerea unor rezultate statistice veridice. Manipulațiile necesare pe animale, în special sacrificarea, obligator au fost efectuate sub anestezie prin inhalare de eter sulfuric.

Cercetarea s-a efectuat pe 55 șobolani albi masculi adulți (*ratta albicans*) cu masa de 180-230 grame (vârsta 6 – 12 luni). Animalele incluse în studiu au fost întreținute la vivariul Universității de Stat de Medicină și Farmacie «N. Testemițanu» în condiții standard de vivariu: cuști de polipropilenă, temperatura în încăpere $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, alternarea ciclului zi/noapte fiecare 12 ore și cu acces liber la hrană și apă.

Pentru a evita influența ritmurilor biologice circadiene asupra rezultatelor obținute, manipulațiile pe animale, inclusiv sacrificarea și prelevarea materialului biologic (sânge, cord) necesar pentru investigațiile biochimice și histologice, s-au efectuat la aceeași oră a zilei.

Protocolul studiului a fost aprobat de Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (aviz favorabil Nr. 37 la Nr. 27 din 23.03.2015).

Studiile în domeniu au demonstrat că expunerea îndelungată la doze mari de catecolamine induce coronarospasm, aritmii, disfuncții contractile, leziuni celulare și necroza miocardului. Cel mai relevant clinic și mai frecvent utilizat model experimental de inducere a ischemiei acute, inflamației și fibrozei cardiace la șobolani este modelarea IMA prin administrarea dozelor mari de izoproterenol (ISO) [244][274].

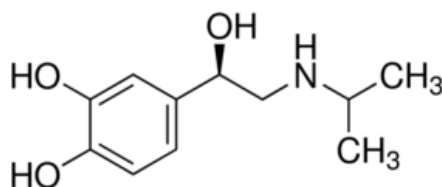


Figura 2.1 Structura chimică a izoproterenolului

(<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/286303>)

Izoproterenolul (ISO) (fig. 2.1) este un β -agonist sintetic neselectiv puternic implicat în reglarea contractilității și metabolismului miocardului. Grație schimbărilor biochimice, funcționale și structurale în țesutul cardiac se provoacă un stres oxidativ sever similar IM uman (peroxidarea lipidelor, hiperlipidemie, inflamație, pierderea miocitelor, necroză) [70][94][107][134][211][244][274].

Studiile experimentale au stabilit că ISO (fig. 2.2) amplifică consumul de oxigen, creșterea conținutului de AMPc, supraîncărcarea cu calciu, perturbarea electrolitică, autooxidarea cu formare de catecol-O-quinone, aminocromi, și adrenocromi, instalarea acidozei intracelulare, sporirea nivelului de peroxizi lipidici și dereglarea permeabilității membranare – în final generează necroza cardiacă [53][70][94][107][134][274].

S-au evidențiat 3 stadii a leziunii miocardului induse de izoproterenol: *preinfarct* (0-12 ore), *infarct* (12-24 ore) și *postinfarct* (24-48 ore) [53]. Primele modificări (până la 6 ore) sunt reprezentate de hipoxie și dezechilibrul energetic grație supraîncărcării cu calciu, urmate de SO provocat de sinteza sporită a SRO și speciilor reactive de azot, atingând efectele maxime la 24-48 ore [53][60].

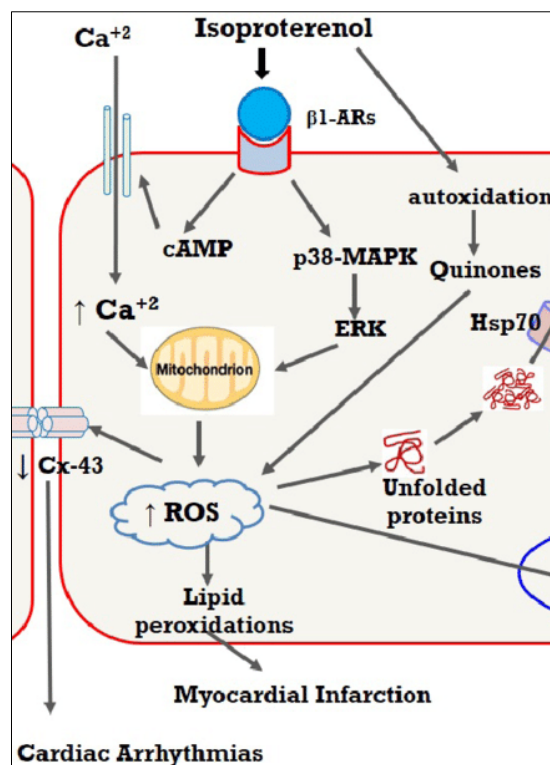


Figura 2.2 Mecanismele implicate în dezvoltarea infarctului miocardic indus de izoproterenol [70]

La analiza histologică a miocardului șobolanilor peste 6 ore după administrarea ISO se observă modificări acidofile și dispariția nucleelor ca semne de dezvoltare a mionecrozei de coagulare, elongarea și ondularea fibrelor, necroza benzilor contractile, edem și infiltrat din celule inflamatorii localizate în zona subendocardică, apex, VS, mușchii papilari și periarterial [53][94][107]. Modificările menționate sunt substituite spre ziua a șaptea postinfarct prin procesele de resorbție și reparație [73][149 p.380][242].

Datele științifice indică că IMA experimental poate fi indus prin injectarea subcutanată sau intraperitoneală a izoproterenolului în doza unică de 67 mg/kg [53][60], 100 mg/kg [107]. În alte studii este utilizată injectarea repetată la un interval de 24 ore a dozei de 85 mg/kg [94][134], 100 mg/kg [211][244], sau 150 mg/kg [5][70][74]. Se menționează concomitent în ambele cazuri o mortalitate ridicată în primele 24 ore.

Indiscutabil, orice injectare este o situație de stres acut pentru șobolan. Devierile biochimice produse de manoperă se pot suprapune și/sau maschează modificările cauzate de izoproterenol, fapt care a impus includerea în protocolul studiului a lotului intact și a unui lot de control.

Modelarea infarctului miocardic acut s-a efectuat prin administrarea subcutanată de izoproterenol hidroclohid în doza unică de 100 mg/kg dizolvat în sol. NaCl 0.9% [107]. Substanța activă Izoproterenol hidroclohid (*Sigma-Aldrich Chemie GmbH, I6504*) – fiole de 1 gr de pulbere pură.

În conformitate cu design-ul cercetării și obiectivele trasate animalele au fost împărțite în 5 loturi (tabelul 2.1).

Tabelul 2.1 Loturile de cercetare

Lotul	Denumirea	Numărul de animale	Masa medie (g)
L1	intact	11	228
L2	control	11	223
L3	preinfarct (AMI.6h)	11	219
L4	infarct (AMI.24h)	11	215
L5	postinfarct (AMI.7d)	11	214

Lotul L1 (intact) – constituit din animale, întreținute la un regim obișnuit alimentar de vivariu.

Lotul L2 (control) – a inclus animalele întreținute la un regim standard de vivariu cărora le-a fost injectată intramuscular soluție fiziologică.

Loturile experimentale: L3 preinfarct (*AMI.6h*), **L4** infarct (*AMI.24h*) și **L5** postinfarct (*AMI.7d*) – animale cărora le-a fost administrat subcutanat Izoproterenol hidroclohid în doză unică de 100 mg/kg dizolvat în soluție de 0.9% NaCl. Șobolanii au fost sacrificați peste 6 ore, 24 ore și 7 zile, reprezentând loturile studiate.

Sacrificarea s-a efectuat în condiții de anestezie cu eter sulfuric. Pentru investigațiile biochimice s-a colectat sângele și prelevat cordul. Obligator manipulațiile au fost efectuate pe mediul glaciar.

Eficacitatea modelului experimental a fost confirmată prin studiul histologic. Este binecunoscut că IMA produs prin izoproterenol este localizat preferențial sub tunica intimă a inimii, din care motiv secțiunile realizate au inclus toate tunicile cordului, inclusiv endocardul (fig. 2.3 A).

2.1.1 Pregătirea materialului biologic pentru studiul histologic

După sacrificarea șobolanilor cordul a fost extras, spălat cu soluție glaciară de NaCl 0.9% și fixat timp de 24 ore în formalină tamponată 10%, pH 7.2-7.4, cu includere ulterioară în parafină conform procedului standard. Secțiunile au fost realizate cu microtomul

Shandon, HM355S Automatic Microtome, Thermo Scientific, USA, cu grosimea de 3-5 µm și etalate pe lame silanate (**S3003, Dako, Denmark**). Colorarea a fost realizată prin metoda clasică convențională cu hematoxină-eozină (HE), utilizând hematoxilina **Harris (HHS32, Sigma Aldrich)** și eozina **CS701 (Dako, Denmark)**. Modificările histologice au fost studiate și descrise în zonele subendocardiale ale miocardului.

Conform datelor din literatura de specialitate aspectul microscopic al IM depinde de vechimea leziunii, deoarece în zona lezată se diferențiază o succesiune bine definită de modificări morfologice de la necroza de coagulare, la inflamație acută/cronică și fibroză (tab. 2.2) [149 p.380].

Tabelul 2.2 Evoluția modificărilor morfologice în infarct miocardic

Interval de timp	Aspect la microscopul optic	Aspect la microscopul electronic
0 – 30 min	-	Relaxarea miofibrilelor; scăderea glicogenului; edem mitocondrial
30 min – 4 ore	Modificările nu sunt observabile; undulare variabilă a fibrelor la periferia ariei de infarct	Ruperi ale sarcolemiei; densități amorfe mitocondriale
4 – 12 ore	Începutul necrozei de coagulare; edem; hemoragie	
12 – 24 ore	Necroză de coagulare; picnoză nucleară; miocite cu aspect intens eozinofilic; necroza benzilor contractile marginale; începe infiltrarea cu neutrofile	
1 – 3 zile	Necroză de coagulare cu pierderea nucleilor și a striatiilor; infiltrat interstițial cu neutrofile	
3 – 7 zile	Începutul dezintegrării fibrelor miocardice necrozate, cu neutrofile pe cale de dispariție; începutul fagocitozei macrofagice a celulelor moarte de la periferia ariei de infarct	
7 – 10 zile	Fagocitoza intensă a celulelor moarte; la periferie începe formarea țesutului de granulație fibrovascular	

2.1.2 Evaluarea histologică a materialului biologic

Studiul histopatologic a fost realizat la Catedra de histologie, citologie și embriologie (dl. Veaceslav Fulga, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar) a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

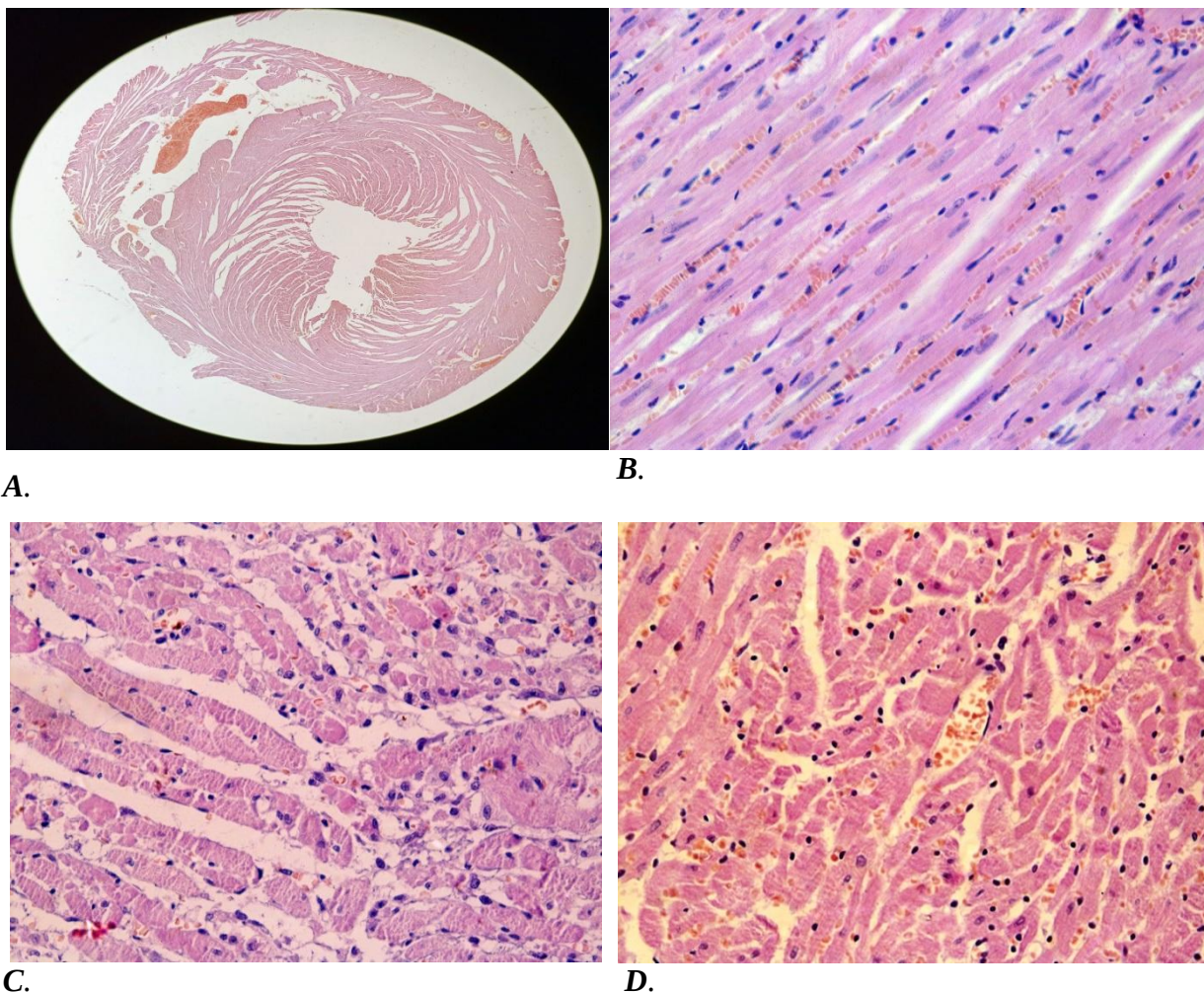


Figura 2.3 Modificările metabolice și necrobiotice cardiace

(**A** – secțiune prin atriu și ventricul, imagine de ansamblu. HE, x25; **B** – congestie vasculară cu ectazia patului venos, Sludge fenomen, edem interstițial, lipsa striăției, hemoragii vasculare prin diapedeză, hemosiderofagi solitari. HE, x400; **C** – cardiomiocitele cu sectoare alternante de hipocromie și eozinofilie focală citoplasmatică, miocite cardiace solitare cu necroză de coagulare, citoplasma omogenă, intens oxifilă, nucleul dezintegrat, lezat; celulele cardiace adiacente sectoarelor diseminate de necroză coagulativă sunt mărite în volum, citoplasma clară, optic goală; dezorganizarea arhitecturală focală. HE, x400; **D** – arii de necroză a cardiomiocitelor cu citoplasmă granulară, dezorganizarea arhitecturală microfocală; hiper celularitate limfocitară dispersă, HE x400).

Cordul examinat (figura 2.3 A, B, C, D), grație influențelor exogene, a prezentat modificări histologice exprimate prin edem interstițial accentuat cu component bazofil, dezorganizare arhitecturală focală și hemoragii focale. Totodată am depistat că, vasele sangvine arteriale de calibru mic erau spasmate și anemizate, iar venulele hiperemiate cu marginalizarea leucocitelor și migrarea lor în interstițiul cardiac (infiltrat limfoleucocitar cu

component eozinofilic solitar discret). În lumenul capilarelor au fost descrise eritrocite care formează conglomerate cu obturarea lumenului.

În cazul cardiomiocitelor au fost depistate sectoare alternante de hipocromie și eozinofilie focală citoplasmatică, iar unele miocite cardiace solitare au prezentat semne de necroză de coagulare. Totodată, celulele cardiace adiacente sectoarelor diseminate de necroză coagulativă au fost mărite în volum, cu citoplasma clară.

Semnele morfologice descrise susțin, că modelul experimental și dozele de izoproterenol utilizate în studiu au fost adecvate pentru a reproduce IMA.

2.1.3 Mortalitatea

Pe parcursul a *primelor 6 ore* (perioada preinfarct) au decedat 7 șobolani din 55 (12.73%), cu repartizarea pe loturi:

- L3 preinfarct AMI.6h – 1 din 11 (1.81%);
- L4 infarct AMI.24h – 3 din 11 (5.45%);
- L5 postinfarct AMI.7d – 3 din 11 (5.45%).

În perioada 6 – 24 ore (starea de infarct) au decedat 3 șobolani din 48 rămași (5.45%) și anume:

- L4 infarct AMI.24h – 2 din 8 (3.64%);
- L5 postinfarct AMI.7d – 1 din 8 (1.81%).

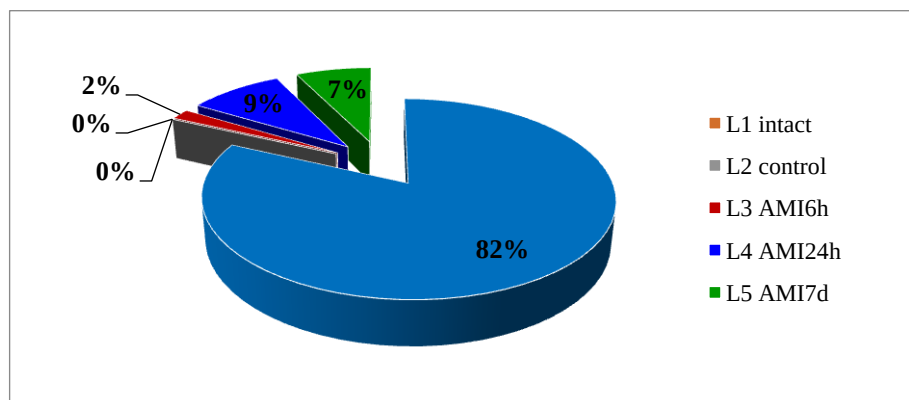


Figura 2.4 Mortalitatea generală pe loturi

Rata generală a mortalității (figura 2.4) a constituit 10 șobolani din 55 (18.18%), respectiv:

- L1 intact – 0
- L2 control – 0
- L3 preinfarct AMI.6h – 1 din 11 (1.81%);

- L4 infarct AMI.24h – 5 din 11 (9.1%);
- L5 postinfarct AMI.7d – 4 din 11 (7.27%).

Datele din literatură raportează o rată a mortalității în lotul experimental care variază de la 25% până la 33% [5][74]. În studiul nostru s-a înregistrat o rată a mortalității de 18% la animalele cu infarct experimental reprodus prin izoproterenol și 0% în loturile intact și control.

2.2 Pregătirea materialului biologic

În conformitate cu protocolul cercetării, materialul biologic obținut a fost pregătit pentru dozarea indicilor biochimici.

Cordul prelevat după sacrificarea șobolanilor a fost inițial cântărit, apoi din partea apicală s-au colectat 300 mg de țesut cardiac într-o eprubetă cu 3 ml de soluție tampon de zaharoză 0.25 M (pH 7.4) la rece, diluția finală fiind 1:10. Cu ajutorul homogenizatorului cu baghetă din teflon probele au fost homogenizate timp de 1 minut. Pentru distrugerea membranelor celulare homogenatul obținut a fost prelucrat cu 30 μ l de Triton X-100, concentrația finală alcătuind 0.1%, și plasat în frigider pentru 30 minute. Ulterior homogenatul tisular a fost centrifugat timp de 10 minute la 3000 rotații/minut. Supernatantul a fost colectat în ependorfurile curate marcate corespunzător și păstrat la temperatura – 40°C.

Sângele recoltat s-a centrifugat timp de 10 minute la 3000 rotații/minut. Serul a fost colectat în ependorfuri și păstrat la temperatura – 40°C. Procesul de pregătire a materialului biologic (homogenatul tisular, ser sangvin) s-a executat în condiții standarde pentru aprecierea activității enzimactice.

Datorită impactului produs de hemolizat asupra indicilor determinați spectrofotometric, serurile cu hemoliză au fost excluse din cercetare.

În final studiul a inclus 40 de șobolani repartizați în 5 loturi: L1 intact = 11; L2 control = 11; L3 preinfarct AMI.6h = 6; L4 infarct AMI.24h = 6; L5 postinfarct AMI.7d = 6.

2.3 Metodele de cercetare

Aplicarea metodelor biochimice și imunoenzimactice a permis evaluarea în ser și homogenat a unor indici ai metabolismului glucidic (*glucoza, hemoglobina glicată, produșii finali de glicare avansată*), lipidic (*trigliceridele, β -lipoproteinele, colesterolul total, LDL-colesterol, HDL- și non-HDL-colesterol*), inflamației (*interleukina-6 și factorul de necroză tumorală- α*), ischemiei (*albumina ischemic-modificată, produși proteici de oxidare avansată*,

derivații oxidului nitric, lactatul, lactat dehidrogenaza L și P) și leziunii tisulare (dialdehida malonică și troponina T).

Determinarea activității enzimelor și conținutului de substanțe s-a efectuat conform protocolului standardizat, fiind adaptate pentru spectrofotometrul **PowerWave HT (BioTek Instruments, SUA)** și spectro-fluorimetrul cu microplăci **Synergy H1 (Hybrid Reader) (BioTek Instruments, SUA)** (fig. 2.5).



Figura 2.5 Spectro-fluorimetrul cu microplăci Synergy H1 (Hybrid Reader) și spectrofotometrul PowerWave HT (BioTek Instruments, SUA)

Prin **metoda ELISA** conform instrucțiunilor tehnice a kiturilor standard a fost determinate conținutul de *hemoglobină glicată* și *factorul de necroză tumorală- α* (Abbexa, Marea Britanie), *interleukina-6* (Beijing 4A Biotech Co. Ltd) și *troponină T* (Elabscience, Franța). Intensitatea colorației este direct proporțională cu concentrația proteinei-țintă prezentă în materialul biologic și este determinată spectrofotometric la 450 nm cu corecția lungimii de undă de 540 nm la spectrofotometrul **PowerWave HT (BioTek, SUA)**. Rezultatele sunt calculate după *curba de calibrare* construită în baza diluțiilor consecutive ale soluției standard.

Prin **metoda spectrofotometrică** conform instrucțiunilor seturilor standard ale companiei **ELITech (Franța)** s-au determinat conținutul de *glucoză*, *trigliceride*, *colesterol total*, *HDL-colesterol*, *lactat* și activitatea *lactatdehidrogenazei L*.

Conținutul de *LDL-colesterol* și activitatea *lactatdehidrogenazei P* au fost estimate prin metoda spectrofotometrică conform instrucțiunilor tehnice a kiturilor standard ale companiei **DAC-Spectromed (Moldova)**.

2.3.1 Indicatorii metabolici la șobolani cu infarct miocardic acut

În materialul biologic au fost dozați următorii indicatori ai metabolismului glucidic (*glucoza, hemoglobina glicată, produsele finale de glicare avansată*) și lipidic (*trigliceridele, β-lipoproteinele, colesterolul total, LDL-colesterol, HDL- și non-HDL-colesterol*).

Glucoza a fost determinată în materialul biologic cu ajutorul setului de analiză ELITech (Franța) și instrucțiunilor oferite de producător. Principiul metodei se bazează pe reacția de oxidare a glucozei în acid gluconic sub acțiunea enzimei glucozo oxidaza, cu determinarea variațiilor absorbanței la lungimea de undă 500 nm. Pentru calcul s-a folosit formula:

$$(\Delta A_{\text{proba}} / \Delta A_{\text{standard}}) \cdot n,$$

unde: **n** – concentrația standardului 5.55 mM/L.

Rezultatele s-au exprimat în mM/L (ser) și mM/g/proteină (țesut).

Prin **metoda ELISA** conform instrucțiunilor tehnice a kitului standard (Abbexa, Marea Britanie) a fost estimat conținutul de **hemoglobină glicată**. Pentru calcularea rezultatelor, în baza diluțiilor consecutive ale soluției standard, s-a construit *curba de calibrare*. Datele obținute au fost exprimate în pg/mL (ser) și pg/g/proteină (homogenat).

Determinarea **produselor finale de glicare avansată** s-a efectuat după procedeul descris de Sero Luc, et al. [245]. Principiul metodei constă în măsurarea intensității fluorescenței probei de cercetat diluate în tampon fosfat la 370 (excitare) și emisia 440 nm. Intensitatea fluorescenței se exprimă în μg/mL (ser) și μg/g/proteină (țesut).

Pentru evaluarea cantitativă în materialul biologic a **trigliceridelor** a fost procurat setul de analiză standard ELITech (Franța). Principiul metodei include determinarea trigliceridelor în urma transformărilor enzimatică: (1) hidroliza trigliceridelor cu formare de glicerol și acizi grași catalizată de enzima lipoproteinlipaza; (2) fosforilarea glicerolului sub acțiunea glicerol kinazei și (3) oxidarea glicerol-3-fosfatului în dihidroxiaceton-fosfat cu participarea glicerol-3-fosfat oxidazei. Coeficientul de absorbție este citit la lungimea de undă 505 nm după incubare timp de 11 minute 30 secunde. Calculele sunt efectuate după formula:

$$(A_{\text{proba}} / A_{\text{calibrant}}) \cdot n,$$

unde: **n** – concentrația calibrantului standardizat.

Exprimarea rezultatelor are loc în serul sangvin în mM/L și în mM/g/proteină în țesut.

Determinarea conținutului de **β-lipoproteine** s-a operat conform procedeului descris de Меньшиков В., et al. [100 p.61]. Principiul metodei este bazat pe interacțiunea heparinei cu β-lipoproteinele serului sanguin cu formarea complexului heparin-lipoproteidic, cantitatea

căruia este estimată prin metoda turbidimetrică. Conținutul β -lipoproteinelor este exprimat în *unități de absorbție* și se calculează după formula:

$$(A_1 - A_0) \cdot 100.$$

Valorile **colesterolului total** au fost evaluate în materialul biologic cu ajutorul setului de analiză ELITech (Franța) și instrucțiunilor oferite de producător. La baza metodei se află reacțiile enzimatică care permit identificarea colorimetrică a colesterolului total: (1) hidroliza colesiteridelor în colesiterol și acizi grași sub acțiunea colesiterol esterazei; (2) oxidarea colesiterolului în colest-4-en-3-onă catalizată de colesiterol oxidază. Determinarea coeficientului de absorbție are loc după 325 secunde de incubare la lungimea de undă 500 nm.

Pentru calcul s-a folosit formula:

$$(A_{\text{proba}} / A_{\text{standard}}) \cdot n,$$

unde: **n** – concentrația standardului 5,17 mM/L.

Rezultatele s-au exprimat în mM/L (ser) și mM/g/proteină (homogenat).

LDL-colesterolul s-a determinat folosind instrucțiunile kitului standard DAC-Spectromed (Moldova). Metoda este bazată pe proprietatea detergenților de a dizolva colesiterolul din lipoproteinele cu densitate joasă (LDL), neafectând colesiterolul din lipoproteinele cu densitate înaltă (HDL), lipoproteinele cu densitate foarte joasă (VLDL) și chilomicroni. În rezultatul reacțiilor catalizate de colesiterol esterază și colesiterol oxidază se formează un complex colorat, iar absorbția măsurată la 600 (590 – 700) nm este proporțională concentrației LDL-colesterolului. Rezultatul se calculează prin formula:

$$(\Delta A_{\text{proba}} / \Delta A_{\text{calibrant}}) \cdot C_C,$$

unde: **C_C** – concentrația calibrantului standardizat.

Unitățile de exprimare sunt mM/L (ser) și $\mu\text{M/g/proteină}$ (țesut).

Evaluarea **HDL-colesterolului** în materialul biologic s-a operat conform instrucțiunilor tehnice a setului de analiză standard ELITech (Franța). Principiul metodei include precipitarea chilomicronilor, lipoproteinelor cu densitate foarte joasă (VLDL) și a lipoproteinelor cu densitate joasă (LDL) sub acțiunea acidului fosfotungstic și ionilor de magneziu. După centrifugare supernatantul conține lipoproteinele cu densitate înaltă (HDL), iar colesiterolul inclus în structura lor este determinat cu ajutorul coeficientului de absorbție la lungimea de undă 500 nm. Cantitatea HDL-colesterolului este exprimată în mM/L (ser) și mM/g/proteină (homogenat) și se calculează după formula:

$$(A_{\text{proba}} / A_{\text{standard}}) \cdot n \cdot 1.1$$

unde: **n** – concentrația standard 1.29 mM/L

1.1 – factorul de diluție a probelor.

Non-HDL-colesterolul a fost calculat după formula: **Non-HDL-C = TC – HDL-C**, valorile obținute fiind reprezentate prin *mM/L* (ser) și *μM/g/proteină* (țesut).

2.3.2 Moleculele de semnalizare celulară în infarct miocardic experimental

Markerii răspunsului inflamator au fost estimați utilizând instrucțiunile tehnice a kiturilor standard ELISA – **factorul de necroză tumorală-α** (Abbexa, Marea Britanie) și **interleukina-6** (Beijing 4A Biotech Co. Ltd).

La baza metodei stă utilizarea anticorpilor de captare (antiTNF-α, antiIL-6) purificați, adsorbiți pe suprafața microplăcilor capabili să fixeze specific antigenul (TNF-α, IL-6) prezent în ser și/sau homogenat. După fixarea anticorpilor de detecție conjugați cu biotina și a conjugatului enzimatic Streptavidin-HRP, s-a adăugat substratul cromogenic.

Intensitatea colorației obținute a fost direct proporțională cu concentrația TNF-α și/sau IL-6 din materialul biologic și s-a determinat spectrofotometric la 450 nm utilizând spectrofotometrul PowerWave HT (BioTek, SUA).

Rezultatele s-au calculat după *curba de calibrare* și au fost exprimate în *pg/mL* (ser) și *pg/g/prot* (țesut).

2.3.3 Indicatorii ischemiei/hipoxiei și lezinii tisulare în infarct miocardic indus de izoproterenol.

Indicatori ai ischemiei/hipoxiei tisulare în studiul nostru au fost *albumina ischemic modificată, produșii proteici de oxidare avansată, derivații oxidului nitric, lactatul, lactat dehidrogenaza L și P*, dozate în ser și țesut.

Nivelul **albuminei ischemic modificate** a fost estimat prin metoda descrisă de Gudumac V. și coaut. [99 p.56][100 p.98], bazată pe proprietatea proteinelor de a lega ionii de Co^{2+} , cu diminuarea intensității colorației soluției, care se măsoară fotometric la 492 nm. Calculul s-a efectuat conform formulei:

$$\text{Capacitatea de legare a Co} = 0.8215 \cdot [\text{A}_C - (\text{A}_{\text{EX}} - \text{A}_M)],$$

unde: A_C – extincția probei de control;

A_{EX} – extincția probei de experiență;

A_M – extincția probei martor,

0.8215 – coeficientul de calculare (nM/L) obținut în baza diluțiilor succesive ale soluției standard de CoCl_2 .

Rezultatele au fost exprimate în *μM/L* (ser) și *μM/g/proteină* (homogenat).

Produșii proteici de oxidare avansată (PPOA) au fost determinați prin procedeul Hong Yan Li et al. (2007) modificat de Gudumac V. și coaut. [100 p.97]. Principiul metodei

s-a bazat pe diluarea probei cu PBS (tampon fosfat salin 0.1 M, pH 7.4), prelucrarea cu o soluție de acid acetic, și citirea rezultatelor la riderul spectrofotometric la 340 nm în microplăci cu 96 godeuri. În baza diluțiilor consecutive a soluției standard de cloramină-T (0-100 $\mu\text{M/L}$) s-a construit curba de calibrare, necesară pentru calcularea conținutului de PPOA exprimat în ser – $\mu\text{M/L}$, și în țesut – $\mu\text{M echivalente de cloramină-T/g/proteină}$.

Dozarea **metaboliților oxidului nitric** în materialul biologic s-a efectuat prin metoda descrisă de Метельская В. А. și Гуманова Н. Г. (2005), în modificarea Gudumac V. și coaut. [99 p.57][100 p.100]. Principiul metodei include deproteinizarea materialului biologic, reducerea nitraților în nitriți, prelucrarea supernatantului obținut cu reactivul Griss și măsurarea densității optice a produsului reacției, cu determinarea concentrației NO_2^- conform curbei de calibrare, construită în baza diluțiilor succesive ale soluției stock standard de nitrit de sodiu.

Anionul NO_3^- nu reacționează cu reactivul Griss. La prelucrarea probelor studiate cu clorură de vanadiu (VCl_4) NO_3^- se reduce în NO_2^- , fapt care permite să identificăm nivelul *NO total* ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$). Concentrația NO_3^- este calculată după formula:

$$\text{NO}_3^- = \text{concentrația metaboliților sumari ai NO} - \text{concentrația NO}_2^-$$

Rezultatele sunt exprimate în $\mu\text{M/L}$ (ser) și $\mu\text{M/g/proteină}$ (homogenat).

Pentru a estima cantitativ în ser și homogenat **acidul lactic (lactat)** a fost utilizat kitul standard al companiei ELITech (Franța) cu instrucțiunile tehnice. Principiul metodei constă în oxidarea lactatului în piruvat sub acțiunea lactat oxidazei, cu evaluarea coeficientului de absorbție la lungimea de undă 550 nm după incubare 5 minute la temperatura 37°C. Calculele sunt efectuate după formula:

$$(\text{A}_{\text{proba}} / \text{A}_{\text{standard}}) \cdot n,$$

unde: **n** – concentrația standardului 4.44 mM/L.

Rezultatele sunt exprimate în mM/L în serul sangvin și în mM/g/proteină în țesut.

Activitatea lactat dehidronazelor P și L a fost determinată folosind instrucțiunile tehnice ale kiturilor standard DAC-Spectromed (Moldova) (**LDH-P**) și ELITech (Franța) (**LDH-L**). Metoda se bazează pe proprietatea enzimei de a cataliza reacția reversibilă de reducere a piruvatului în L-lactat însoțită de oxidarea NADH și diminuarea absorbției la 340 nm care corelează cu activitatea enzimei (fig. 2.6).

LDH-P (LDH₅) catalizează reducerea piruvatului cu formarea lactatului și NAD^+ , iar **LDH-L (LDH₁)** este responsabilă de oxidarea L-lactatului în piruvat cu generare de NADH.

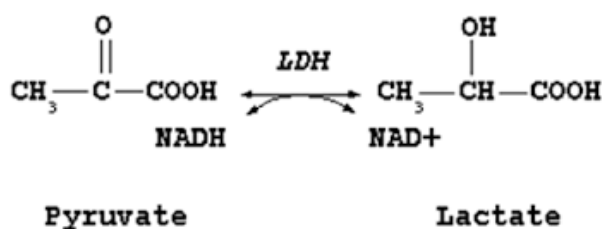


Figura 2.6 Reacția reversibilă catalizată de lactat dehidrogenază [160]

Pentru a calcula activitatea enzimei s-au utilizat formulele:

$$\text{Activitatea LDH-P (LDH}_5\text{)} = \Delta A / \text{min}_{\text{pr}} \cdot 8450$$

$$\text{Activitatea LDH-L (LDH}_1\text{)} = \Delta A / \text{min} \cdot 5610$$

Rezultatele au fost exprimate în u/L (ser) și u/g/proteină (homogenat).

În calitate de indicatori ai integrității structurale a cardiomiocitelor au fost estimate nivelele serice și tisulare ale *troponinei T* și *dialdehidei malonice*.

Produsul final al peroxidării lipidelor – *dialdehida malonică* – a fost dozat conform procedurii descris de Львовская Е.И., et al. (1991) în modificarea Gudumac V. și coaut. [99 p.53]. Metoda se bazează pe determinarea spectrofotometrică a complexului trimetinic colorat, rezultat din interacțiunea DAM cu acidul tiobarbituric. Intensitatea colorației este direct proporțională cu concentrația DAM în proba cercetată.

Conținutul de DAM se calculează folosind coeficientul molar de absorbție $\Sigma = 1.56 \cdot 10^5 \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-1}$ și este exprimat în ser în $\mu\text{M/L}$, iar în țesut în $\mu\text{M/g/proteină}$.

Troponina T (TnT) a fost determinată conform instrucțiunilor tehnice a kitului standard ELISA (Elabsience, Franța). Rezultatele exprimate în pg/mL (ser) și pg/g/proteină (homogenat) s-au calculat după *curba de calibrare*.

2.4 Prelucrarea statistică

Analiza statistică a datelor s-a efectuat în perioada stăgierii în cadrul programului MEDEA Erasmus Mundus la Universitatea Paul Sabatier, Toulouse, Franța. Rezultatele studiului au fost prezentate în diferite tipuri de tabele și figuri realizate în **EXCEL** și **GraphPad (GraphPad Prism Software, v.5.03, San Diego, CA)**. Datele obținute au fost procesate statistic cu ajutorul funcțiilor și modulelor programei computerizate **Statistical Package for the Social Science (v.23, SPSS Inc. Chicago, IL, USA)** și determinați indicatorii de bază a statisticii descriptive – *modul, media, abaterea standard, mediana și abaterea intercuartilă*.

Modul (moda, valoarea modală) este categoria cu frecvența cea mai mare [205 p.87].

Media aritmetică este suma valorilor unei variabile, raportată la numărul măsurătorilor. Reprezintă o valoare ipotetică ce poate fi obținută din orice set de date măsurate la un nivel parametric [205 p.78].

Abaterea standard măsoară modul în care rezultatele se împrăștie în jurul mediei, valorile mari indicând un grad mare de împrăștiere. Cu cât abaterea standard este mai mică, cu atât datele sunt mai grupate în jurul tendinței centrale. Abaterea standard se exprimă în aceleași unități de măsură ca și media [205 p.143].

Media și abaterea standard sunt cei doi indicatori importanți în analiza distribuției normale. Utilizarea lor este condiționată de absența unor scoruri extreme și de variabile situate cel puțin la un nivel de măsură de interval [205 p.144].

Mediana este indicatorul utilizat pentru a caracteriza tendința centrală. Ea reprezintă valoarea care împarte șirul de măsurători în două părți egale; jumătate din șirul de date va avea valori mai mici decât mediana, în timp ce cealaltă jumătate va avea valori mai mari decât mediana [205 p.83]. Atunci când avem scoruri extreme, foarte mari sau foarte mici în comparație cu setul de date, mediana este un indicator mai bun decât media [205 p.89].

Abaterea cuartilă sau abaterea intercuartilă (IQR) reprezintă un indicator al împrăștierii, independent de existența unor valori extreme. Valorile quartile sunt valorile care împart același set ordonat de date în patru părți egale. Abaterea cuartilă este diferența dintre cuartilul 3 și cuartilul 1, și poate fi *absolută* sau *relativă* (raportată la mediană) [205 p.129].

După verificarea datelor obținute, pentru a evidenția diferența semnificativă a parametrilor biochimici studiați în loturile comparate a fost utilizat testul statistic nonparametric **Kruskal-Wallis** la pragul de semnificație $p < 0.05$, fiind calculate *mediana*, *abaterea intercuartilă* și *coeficientul nonparametric de corelație ρ Spearman*.

Testul Kruskal-Wallis reprezintă alternativa nonparametrică a testului ANOVA, utilizată atunci când grupele cercetate nu îndeplinesc cerințele testelor parametrice. Pentru a fi analizate, datele ordinale sunt convertite în ranguri. Cu ajutorul testului sunt comparate concomitent medianele a două și mai multe loturi. Testul poate identifica diferențele semnificative între grupe fără a indica concret lotul ce diferă de celelalte. Dacă au fost evidențiate diferențele veridice, studiul statistic continuă prin aplicarea testului **PostHoc Dunn** de comparare a loturilor.

Coeficientul nonparametric de corelație ρ Spearman este bazat pe ranguri (*coeficientul de corelație a rangurilor*) și nu este influențat de reprezentativitatea mediei. Se utilizează când lotul de cercetare are dimensiuni mici (sub 30 cazuri), sau când cel puțin una

dintre variabile nu îndeplinește condițiile de administrare ale testelor parametrice. Scorurile originale sunt transformate în ranguri și se analizează relația dintre acestea [206 p.18].

Coeficientul ρ Spearman este folosit atunci când:

- ✓ ambele variabile se află la nivel de măsuri ordinal;
- ✓ când o variabilă se află la nivel ordinal, iar cealaltă variabilă la nivel scalar;
- ✓ când ambele se află la nivel scalar, dar cel puțin una dintre ele nu prezintă

distribuție normală.

Corelația exprimă sub formă numerică gradul de asociere dintre variabile. Raportarea corelației include trei elemente esențiale [206 p.102].

- **sensul**, dat de semnul coeficientului de corelație:

„+” (corelație pozitivă) – direcția în care evoluează o variabilă este și direcția de evoluție a celeilalte variabile

„-” (corelație negativă) – direcția de evoluție a unei variabile reprezintă evoluția inversă a celeilalte variabile.

- **semnificația** (pragul de semnificație) $p < 0.05$

- **valoarea (intensitatea)** indică puterea corelației:

0.00 – 0.20 – absența unei corelații reale sau o corelație foarte slabă;

0.21 – 0.40 – corelație slabă;

0.41 – 0.60 – corelație moderată;

0.61 – 0.80 – corelație puternică;

0.81 – 1.00 – existența unei legături foarte puternice între două variabile.

2.5 Concluzii:

Modelele experimentale pe animale mici de laborator sunt utile pentru elucidarea mecanismelor patobiochimice ale maladiilor cardiovasculare, inclusiv sindromul coronarian acut și IMA. La extrapolarea rezultatelor sunt luate în calcul și trăsăturile patobiochimice ale speciei. Izoproterenolul, un β -agonist sintetic neselectiv, administrat în doza 100mg/kg induce modificări tisulare similare infarctului miocardic acut uman, fiind pe larg utilizat în modelarea experimentală *in vivo*.

Conform scopului și obiectivelor cercetării formulate, a fost efectuat un studiu preclinic experimental care a inclus 55 de șobolani repartizați aleatoriu în 5 loturi: intact (L1); control (L2); și loturile experimentale (injectată soluția de izoproterenol hidroclicid) - preinfarct (L3), infarct (L4) și postinfarct (L5).

Metodele de cercetare aplicate (spectrofotometrică și imunoenzimatică) au permis evaluarea în materialul biologic colectat (ser și homogenatul cardiac) a unor indici ai metabolismului glucidic și lipidic, inflamației, ischemiei, hipoxiei și leziunii tisulare, care posedă valoare diagnostică și permit constatarea particularităților biochimice în evoluția IMA. Metoda morfologică a confirmat prezența în țesut a modificărilor caracteristice etapelor IMA.

Studiile experimentale efectuate pe număr redus de animale necesită aplicarea metodelor statistice specifice pentru analiza datelor primare obținute. Reieșind din numărul mic de animale incluse în studiu, la procesarea statistică a datelor obținute au fost utilizate testele neparametrice (Kruskal-Wallis, Spearman).

3. SEMNIFICAȚIA CLINICO-DIAGNOSTICĂ A MODIFICĂRILOR METABOLICE

Stresul oxidativ, prin căile de semnalizare PI3K și Akt, induce insulinorezistența adipocitelor și miocitelor, micșorează secreția de insulină, modifică procesul de captare intracelulară a glucozei și lipogeneza [258]. Dereglările metabolice induse reflectă veridic deficitul energetic, acidoza, SO, dezechilibrul ionic și leziunea cardiacă [284]. E stabilit cu certitudine că atât dezvoltarea leziunilor tisulare, precum și recuperarea funcțională a miocardului depind de statutul metabolic al cordului în perioada ischemiei [204].

3.1 Modificările metabolismului glucidic în infarctul miocardic experimental

În miocardul ischemiat deficitul de oxigen induce comutarea spre metabolismul anaerob unde rolul cardinal în producerea energiei îi revine glucozei, hiper- și hipoglicemia fiind asociate cu evenimentele cardiovasculare la pacienții cu boala coronariană [108][123]. La baza mecanismelor patobiochimice ale disfuncției miocardului stau dereglările metabolismului glucidelor [24]. SO instituit de hiperglicemia acută contribuie la exacerbară dimensiunilor infarctului pe parcursul reperfuziei [293].

Conform unor rezultate 58-70% de pacienți cu boala coronariană acută prezintă dereglări ale metabolismului glucidic [12][13][21]. În IMA prevalează hiperglicemia care, agravând consecințele pe termen scurt și lung [266], se asociază cu un pronostic rezervat. Nivelul seric al glucozei la internare este un predictor independent al mortalității [83][108][123][289] și rezultatelor adverse [139].

S-a demonstrat că în SCA severitatea disglicemiei este asociată cu pronosticul nefavorabil, risc înalt de deces [108][289] și complicații atât intraspitalicești [83][143][289], cât și pe termen lung [13][139][141]. Statutul glucometabolic acut cât și cronic sunt indicatori de pronostic post IMA [35].

Prezența unei relații lineare (creșterea proporțională) între glicemia determinată la internare și rata mortalității peste 30 zile (termen scurt) și 1 an (termen lung) sunt descrise în studiul *Cooperative Cardiovascular Project* [123][143]. Rezultatele expuse fiind similare celor prezentate în 2015 de *Angeli F. et al.* [12].

Se consideră că glicemia la internare reprezintă o componentă a stresului fiziologic acut suportat pe parcursul SCA, care grație dereglărilor metabolice agravează pronosticul și sporește mortalitatea [139][141]. S-a demonstrat că fluctuațiile acute ale glucozei manifestă efecte mai nocive comparativ cu hiperglicemia persistentă deoarece exacerbează stresul

oxidativ [87], inflamația și apoptoza [123], contribuind la dezvoltarea complicațiilor cardiovasculare [179].

Studiile clinice și experimentale au elucidat că în IMA hiperglicemia acută manifestă efecte detrimental directe asupra miocardului ischemiat prin diverse mecanisme, inclusiv disfuncție microvasculară, stres oxidativ, inflamație, apoptoză, disfuncție endotelială și hipercoagulare, responsabile de leziunile tisulare, având un pronostic nefavorabil [43][83][123][128][289][290]. Concomitent hiperglicemia acută reduce sinteza endotelială și disponibilitatea NO, dereglează funcția vasculară și atenuiază căile de transducere a semnalelor cardioprotectoare [123][141][265][290].

Pacienții hipoglicemici, precum și cei hiperglicemici, au prezentat o tendință de risc crescut atât de mortalitate intraspitalicească, cât și timp de 3 ani comparativ cu euglicemicii [289]. Studii multiple au demonstrat că în IMA hipoglicemia spontană, determinată la internare, este asociată cu mortalitatea mai înaltă [94][143], deoarece majorează nivelul catecolaminelor, induce vasoconstricția și agregarea trombocitelor responsabile de ischemie [289]. Concomitent se cunoaște că hipoglicemia exacerbează inflamația, activează neutrofilele, favorizează disfuncția endotelială și majorează riscul cardiovascular [123].

Analiza statistică a depistat o diferență veridică în ser ($p=0.0002^{***}$) a **glucozei** (tab. 3.1). Modificări esențiale în loturile de control nu s-au evidențiat.

Cel mai scăzut nivel al glucozei serice s-a înregistrat în lotul șobolanilor cu preinfarct (AMI.6h) – 4.56 mM/L, IQR 0.56 la comparare cu lotul intact (6.25 mM/L, IQR 0.45). În AMI.24h (infarct) nivelul glucozei s-a majorat – 7.00 mM/L, IQR 1.57. Nivelul glucozei în AMI.7d (postinfarct) devine egal cu 6.02 mM/L, IQR 0.75 – apropiat de cel al șobolanilor intacti (tab. 3.1).

Valorile tisulare ale glucozei s-au micșorat de la 4.94 mM/g/prot, IQR 1.09 determinate la șobolanii lotului intact până la 4.37 mM/g/prot, IQR 0.56 în AMI.24h, și au crescut în AMI.7d atingând nivelul 4.72 mM/g/prot, IQR 0.35, fiind apropiate de cele din loturile de control ($p=0.113$).

La analiza variabilelor glucoza în ser și glucoza în homogenat cu ajutorul coeficientului de corelație ρ Spearman, au fost evidențiate rezultatele: L3-AMI.6h $\rho=-0.600$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.104$); L4-AMI.24h $\rho=-0.522$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.144$) și L5-AMI.7d $\rho=0.486$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.164$) (tab. 3.2), fapt care demonstrează tendința corelației moderate, negative pentru AMI.6h (preinfarct) și AMI.24h (infarct), și pozitive în AMI.7d (postinfarct) (anexa 1 A, B, C).

Tabelul 3.1 Evaluarea glucozei, hemoglobinei glicate și AGE în infarct miocardic.

Kruskal-Wallis	Glucoza		HbA1c		AGE	
	ser (mM/L)	homo (mM/g/prot)	ser (ng/mL)	homo (ng/g/prot)	ser (μg/mL)	homo (μg/g/prot)
	p=0.0002***	p=0.113	p=0.244	p=0.116	p=0.018*	p=0.267
L1 -intact	6.25 IQR 0.45 100%	4.94 IQR 1.09 100%	2.22 IQR 1.28 100%	27.13 IQR 1.74 100%	314.24 IQR 58.43 100%	25.14 IQR 15.10 100%
L2 - control	6.53 IQR 0.94 105%	4.43 IQR 1.02 90%	1.79 IQR 1.47 81%	27.05 IQR 4.67 100%	328.18 IQR 153.22 105%	23.63 IQR 15.65 94%
L3 – AMI.6h	4.56** IQR 0.56 73%	4.97 IQR 0.84 101%	1.97 IQR 1.48 89%	28.33 IQR 4.18 104%	262.20 IQR 160.85 84%	31.62 IQR 6.66 126%
L4 – AMI.24h	7.00 IQR 1.57 112%	4.37 IQR 0.56 88%	3.34 IQR 2.58 150%	24.92* IQR 2.27 92%	354.33 IQR 81.42 113%	22.27 IQR 23.01 89%
L5 – AMI.7d	6.02 IQR 0.75 96%	4.72 IQR 0.35 96%	2.59 IQR 3.17 117%	26.95 IQR 1.60 99%	392.51** IQR 110.97 125%	24.96 IQR 8.91 99%

Nota: diferența statistic semnificativă în raport cu valorile grupului intact: ***p<0.05**;

****p<0.01; ***p<0.001**

Tabelul 3.2 Corelațiile sero-tisulare ale indicilor metabolismului glucidic

Spearman		L1 intact	L2 control	L3 AMI.6h	L4 AMI.24h	L5 AMI.7d
Glucoza	ρ	-0.118	0.382	-0.600	-0.522	0.486
	p	0.365	0.123	0.104	0.144	0.164
HbA1c	ρ	0.127	-0.542	-0.029	0.600	-0.771
	p	0.355	0.042*	0.479	0.104	0.036*
AGE	ρ	0.064	-0.082	0.200	0.086	-0.714
	p	0.426	0.405	0.352	0.436	0.055

Nota: ***p<0.05**

Nivelul cel mai mic al glucozei serice a fost identificat preinfarct în AMI.6h (L3), diminuarea fiind egală cu 27% comparativ cu lotul intact (L1) (fig. 3.1). În L4 cu infarct (AMI.24h) nivelul glucozei s-a majorat cu 39%, ca apoi să scadă în dinamică cu 16% în AMI.7d (L5 postinfarct).

Concomitent valorile tisulare ale glucozei s-au micșorat cu 12% în AMI.24h (L4), și au crescut cu 8% în AMI.7d (L5), dar sunt mai mici decât în lotul intact (fig. 3.1).

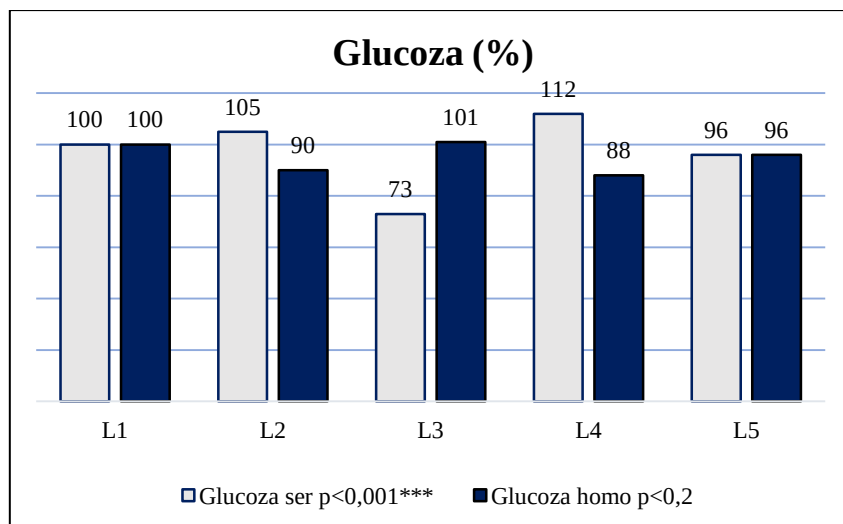


Figura 3.1 Variațiile glucozei în infarct miocardic experimental

Conform datelor publicate riscul mortalității crește proporțional când valorile glicemiei depășesc 110-120 mg/dL (6.1-6.6 mmol/L) [123][143]. Majorarea nivelului seric al glucozei cu 1 mmol/L se asociază cu sporirea cu 12-18% a riscului de mortalitate [83][123]. Au fost prezentate date experimentale care au relatat că în SCA atât glicemia la internare, precum și modificările parvenite în primele 24 ore prezic riscul mortalității pe termen scurt. Unele studii au menționat că micșorarea nivelului de glucoză cu 11 mg/dL (0.6 mmol/L) diminuează riscul cu 9% [12][143].

O altă grupă de savanți au observat că la pacienții cu IMA nivelele glucozei la internare mai mici decât <140 mg/dL (<8.0 mmol/L) sunt asociate cu scaderea riscului de mortalitate pe termen scurt [143], pe când nivelele mai înalte de 9.94 mmol/L corelează cu frecvența mai mare a aritmiilor periculoase pentru viață [281].

Se menționează că toleranța alterată la glucoză, depistată primar la externare, este un predictor important al consecințelor post IMA pe termen lung [103].

Hiperglicemia acută se asociază cu: 1) dimensiunile mai mari ale infarctului; 2) consecințele adverse și funcția dereglată a VS postIMA [123][139]; 3) risc înalt de mortalitate intraspitalicească sau complicații cardiovasculare [7][192][252]. Experimental s-a depistat că în IMA SO, indus de hiperglicemia acută, contribuie la extinderea dimensiunilor infarctului și sporirea mortalității intraspitalicești – efect proporțional cu elevarea nivelelor serice ale glucozei [83] și dependent grație contracarării efectelor cardioprotectoare ale preconditionării ischemice și medicamentoase [290].

Într-un studiu mai vechi a fost observată corelația semnificativă între hiperglicemie și dimensiunile infarctului miocardic (exprimate prin nivelele troponinelor) și mortalitatea în

STEMI și NSTEMI. S-a menționat că pacienții cu hiperglicemie de stres au prezentat valori mai înalte ale troponinelor vs diabeticii hiperglicemici, fapt care relevă o necroză miocardică mai extinsă ca consecință a hipercatecolaminemiei, precum și o asociere cu inflamație sporită [141].

S-a demonstrat că hiperglicemia acută declanșează SO în miocard cu activarea căilor neoxidative de metabolizare a glucozei [123][174]. SO se manifestă ca stare glicoxidativă, caracterizată prin acumularea proteinelor glicate, modificate ulterior până la AGE [240]. Eliberarea oxidanților și a radicalilor liberi lezează nu doar celulele, ci și matricea extracelulară, facilitând captarea lipoproteinelor bogate în colesterol, oxidarea lor și agravarea inflamației [240]. *Yang Z. et al.* au indicat că gradul SO corelează cu fluctuațiile acute ale glucozei [290].

Datele prezentate relevă rolul cardinal al modificărilor metabolismului glucozei în patobiocimia infarctului miocardic acut.

În literatura de specialitate se menționează că controlul glicemic insuficient favorizează formarea sporită și acumularea în țesutul cardiovascular a proteinelor glicate și AGE [43][252]. Efectele graduale și cumulative ale acestor compuși, cât și expresia receptorilor specifici (RAGE) sunt cardinale în dezvoltarea leziunilor vasculare severe cu complicații cardiovasculare [192][279].

Hemoglobina glicată (HbA1c) se formează prin condensarea neenzimatică a glucozei sau altor glucide reducătoare cu lanțurile α și β ale hemoglobinei A. Subfracția HbA1c apare la glicarea neenzimatică a valinei (Val) N-terminale din lanțul β [224][265]. Glicarea hemoglobinei și formarea Hb-AGE exacerbează SO celular prin eliberarea oxidanților puternici, contribuie la lezarea oxidativă a endoteliului și declanșează cercul vicios a răspunsului oxidativ/inflamator [240].

HbA1c reprezintă nivelul mediu al glicemiei pe parcursul a 2-3 luni precedente, gradul și durata hiperglicemiei fiind estimate prin nivelele ridicate ale hemoglobinei glicate [43][163][240].

În angina pectorală stabilă nivelele înalte ale hemoglobinei glicate (HbA1c) prezic severitatea, precum și consecințele nefavorabile cu majorarea riscului complicațiilor micro- și macrovasculare [27][118][265]. S-a stabilit că în SCA valorile HbA1c sunt un predictor puternic și independent atât a severității, cât și a complicațiilor; nivelele crescute ale hemoglobinei glicate fiind asociate cu risc sporit de boli CV, dimensiunile mai mari ale infarctului cu consecințe nefavorabile [27][118][252].

Unii savanți au relatat că pacienții cu STEMI nediabetici cu HbA1c ridicată prezintă un risc înalt de reinfarct în termen lung cu o eficacitate mai mică a revascularizării și o incidență mai mare de consecințe cardiace adverse [68][103].

Valorile mai înalte ale HbA1c circulante corelează cu markerii elevați ai inflamației (hs-PCR) [118], cu leziunile multivasculare [27][190] și un pronostic nefavorabil la pacienții cu SCA și IMA pe termen de 1 an [118]. HbA1c se consideră un indicator eficient al consecințelor posibile pe parcursul a unui an postinfarct [43], se indică că valorile majorate a HbA1c corelează cu rata sporită a mortalității la o supraveghere de 3 ani [7][43].

Studii multiple au demonstrat asocierea hemoglobinei glicate cu maladiile cardiovasculare și mortalitatea în populația nediabetică [243][265]. S-a observat că în SCA nivelul crescut la internare a HbA1c servește factor de risc independent al morbidității și mortalității [35][103][252].

HbA1c este pe larg utilizată în estimarea glicemiei cronice și diferențierea pacienților cu diabet zaharat (DZ) de cei cu hiperglicemie acută indusă de stres [108]. S-a observat că HbA1c, ca biomarker a controlului glicemic pe termen lung, este puțin influențată de stresul acut pe parcursul IMA [7][103][154], astfel acest indice oferă informații veridice referitor la relația dintre controlul cronic al glicemiei și consecințele clinice [192]. Totodată Hb glicată, grație avantajelor sale diagnostice (repetabilitate înaltă, posibilitatea evaluării postprandial, etc.), reprezintă testul de preferință în monitorizarea controlului glicemic [243].

S-a stabilit că HbA1c nu doar reflectă controlul metabolic, dar este și un indicator de încredere a consecințelor adverse postIMA [43], inclusiv SCA [192], argumentându-se utilizarea HbA1c în stratificarea riscului la pacienții cu STEMI acut [68].

S-a evidențiat o asociere semnificativă între nivelul glucozei și HbA1c la internare cu mortalitatea postinfarct [35]. S-a confirmat o corelație concludentă între indicii HbA1c la internare și numărul de vase afectate, demonstrând că în IMA statutul gluco-metabolic la internare, reflectat prin glicemie și HbA1c, este un factor de risc pe termen lung, asociat veridic cu consecințele clinice nefavorabile tardive [35][190].

Alte date mai recente au demonstrat lipsa asocierii statistice între HbA1c și incidența mortalității intraspitalicești în STEMI. Se argumentează că mortalitatea pe termen scurt depinde de timpul de reperfuzie, dimensiunile infarctului și/sau alte complicații precoce, pe când leziunile induse de glicemia necontrolată se vor manifesta mai târziu [154].

Datele din tabelul 3.1 demonstrează că în lotul experimental AMI.6h s-a atestat o reducere a **HbA1c** serice de la 2.22 ng/mL, IQR 1.28 (lotul intact) până la 1.97 ng/mL, IQR 1.48. În dinamica procesului s-a constatat o creștere concludentă până la 3.34 ng/mL, IQR

2.58 în AMI.24h. În AMI.7d se constată o diminuare până la 2.59 ng/mL, IQR 3.17 (p=0.244).

Concentrația tisulară a HbA1c s-a majorat de la 27.13 ng/g/prot, IQR 1.74 caracteristice lotului intact, până la 28.33 ng/g/prot, IQR 4.18 în L3 (AMI.6h); apoi înregistrând o scădere (24.92 ng/g/prot, IQR 2.27) în L4 (AMI.24h) și o creștere până la 26.95 ng/g/prot, IQR 1.60 în L5 (AMI.7d) (p=0.116) (tab. 3.1).

Pentru variabilele cercetate HbA1c în ser și HbA1c în homogenat coeficientul neparametric de corelație ρ Spearman a prezentat valorile: $\rho=0.600$ p (unilateral) >0.05 (p=0.104) în AMI.24h; și $\rho=-0.771$ p (unilateral) <0.05 (p=0.036*) în AMI.7d (tab. 3.2), indicând tendința spre o corelație pozitivă, moderată în starea de infarct (AMI.24h) și o corelație negativă, puternică pentru starea de postinfarct (AMI.7d) (anexa 1 E, F).

În loturile cercetate (fig. 3.2) se constată la 6 ore (perioada preinfarct) o reducere a HbA1c serice cu 11% față de valorile lotului intact. În dinamica evoluției procesului (24 ore) se observă o creștere concludentă cu 61% (L4) a hemoglobinei glicate în ser. În starea de postinfarct are loc o reducere vădită a HbA1c, însă valoarea ei rămâne mult mai ridicată decât în control.

Concentrația tisulară a HbA1c s-a majorat cu 4% în AMI.6h (L3) față de indicii sobolanilor intacti. În continuare se înregistrează o scădere egală cu 12% în lotul cu infarct AMI.24h (L4). La a 7 zi după infarct (L5) concentrația hemoglobinei glicate revine la valorile inițiale (fig. 3.2).

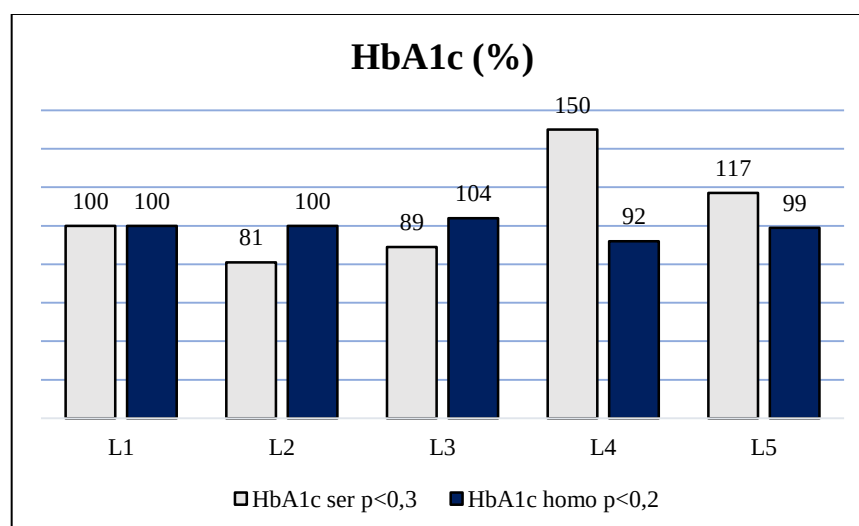


Figura 3.2 Hemoglobina glicată în infarct experimental

Riscul consecințelor cardiace majore la HbA1c >6.0% este de 3.8 ori mai înalt comparativ cu HbA1c ≤5.6%. Valoarea limită de 5.78% poate servi drept indice de referință clinic pentru profilaxia secundară și îmbunătățirea pronosticului post IMA [43]. Valorile HbA1c ≤7.1 și ≥7.8% sunt asociate cu risc mai înalt al decesului [163].

Conform datelor prezentate la fiecare majorare cu 1% a nivelului HbA1c peste 5%, riscul și consecințele BCV cresc cu 14-21% [192][281], mortalitatea cu 24% [103], riscul relativ de deces de orice cauză cu 1.24 [27][252]. Elevarea nivelului HbA1c cu 1% este însoțită de creșterea de 2.8 ori a severității leziunilor din boala coronariană [68].

A fost menționată superioritatea HbA1c față de glicemia *a jejun* în stratificarea riscului complicațiilor macrovasculare pe termen lung [243]. Valorile ridicate ale HbA1c reflectă o rezistență îndelungată la insulină cu consecințe severe, inclusiv hiperglicemia, dislipidemia, hipercoagulabilitatea și răspunsul inflamator sistemic, considerate mecanismele patobiochimice majore ale impactului advers al HbA1c mărite în cadrul bolii coronariene [118][163][192].

Totodată se consideră că HbA1c este și un predictor bun al profilului lipidic grație implicării sale atât în răspunsul inflamator cronic, cât și în faza acută activă a SCA, favorizând progresarea leziunilor și ruptura plăcii aterosclerotice [118][263].

S-a constatat că hiperglicemia, hiperlipidemia și SO sunt însoțite de formarea sporită a ***produselor finale de glicare avansată*** (AGE) [80]. Concomitent acumularea AGE în țesuturi contribuie la sinteza majorată, cât și la degradarea lentă a proteinelor intracelulare glicate de către sistemul ubiquitin-proteosomic [3][249][250].

AGE reprezintă un grup heterogen de compuși derivați ai reacției dintre glucidele reducătoare și/sau alți compuși α -carbonilici cu amino grupele proteinelor, lipidelor și acizilor nucleici [250]. A fost subliniat că AGE provoacă disfuncția tisulară și organică [249][250], grație declanșării stresului oxidativ, inflamației și apoptozei prin intermediul receptorilor RAGE [3][260].

Studiile experimentale au subliniat rolul AGE în maladiile cardiovasculare, și anume: asocierea nivelelor serice ale AGE cu severitatea bolii coronariene [260], progresia plăcii aterosclerotice în SCA [58], risc sporit pentru restenoză [46], extinderea leziunilor coronariene [137], mortalitatea generală, inclusiv frecvența BCV letale și non-letale în 12 ani [197].

Datele publicate au relevat utilitatea AGE în SCA în calitate de biomarkeri de pronostic al mortalității și reinfarctizării pe termen lung [3][227].

A fost evidențiat cercul patobiochimic vicios – statutul hiperglicemic și stresul oxidativ exacerbează formarea AGE, rezultând în generarea sporită a speciilor reactive de oxigen, mecanism responsabil de amplificarea SO [136]. Datele din literatură indică asocierea AGE, SO cu stresul reticolului endoplasmatic [101][214].

Rămâne discutabilă majorarea nivelului AGE seric în IMA evidențiată în 2004 de *Peppa M. et al.* [213]. Unele studii indică doar o creștere nesemnificativă a nivelului AGE [101], ori scăderea cantității AGE în primele 5 zile postinfarct [38], pe când altele menționează elevarea concludentă a nivelului AGE în maladii cardiovasculare [228]. Recent în STEMI au fost evidențiate modificările în dinamică ale AGE, și anume: valorile cele mai înalte înregistrate la internare, cu diminuare în ziua a doua și creștere repetată timp de cinci zile [223].

În grupele studiate s-a identificat o diferență statistic semnificativă a **AGE** în ser ($p=0.018^*$) (tab. 3.1).

Datele prezentate în tabelul 3.1 relevă că în starea de preinfarct AMI.6h s-a determinat în ser cel mai scăzut nivel al AGE (262.20 $\mu\text{g/mL}$, IQR 160.85) la comparare cu valorile lotului intact (314.24 $\mu\text{g/mL}$, IQR 58.43). Nivelul AGE a crescut în AMI.24h până la 354.33 $\mu\text{g/mL}$, IQR 81.42. Postinfarct în AMI.7d conținutul se majorează, alcătuind 392.51 $\mu\text{g/mL}$, IQR 110.97.

Cantitatea AGE în homogenat s-a majorat inițial de la 25.14 $\mu\text{g/g/prot}$, IQR 15.10 (șobolani intacti) până la 31.62 $\mu\text{g/g/prot}$, IQR 6.66 în AMI.6h, fiind cea mai mare valoare. În dinamica infarctului conținutul s-a micșorat în AMI.24h până la 22.27 $\mu\text{g/g/prot}$, IQR 23.01 față de lotul anterior. În lotul AMI.7d valorile au crescut până la 24.96 $\mu\text{g/g/prot}$, IQR 8.91 ($p=0.267$).

Variabilele AGE în ser și AGE în homogenat s-au analizat cu ajutorul coeficientului de corelație ρ Spearman (tab. 3.2). Lotul postinfarct AMI.7d a prezentat valoarea corelației $\rho=-0.714$ la un prag de semnificație p (unilateral) >0.05 ($p=0,055$), indicând tendința unei corelații puternice, negative (anexa 1 D).

Rezultatele denotă o diminuare a nivelului AGE seric cu 16% în lotul preinfarct (L3) ($p=0.018^*$). În starea de infarct (L4) apare o creștere cu 29% față de starea precedentă. În continuare valorile cresc, atingând în lotul postinfarct (L5) cele mai mari cifre (cu 12% față de starea de infarct).

În același timp valorile tisulare ale AGE au crescut cu 26% în L3 (preinfarct) ($p=0.267$), apoi în dinamica procesului au scăzut cu 37% în L4 (infarct). În L5 (postinfarct) ele sunt mai mari cu 10% decât în cel premurgător, dar se apropie de cele inițiale (fig. 3.3).

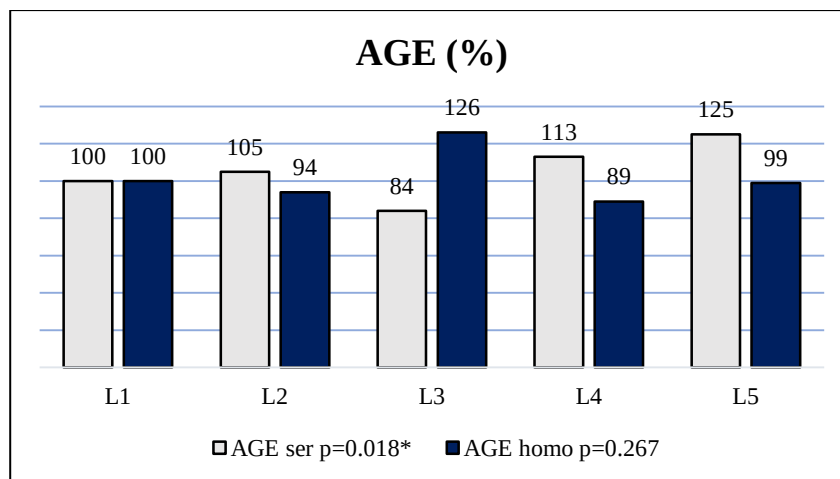


Figura 3.3 Evaluarea produșilor finali de glicare avansată

Datele obținute sunt similare celor publicate în literatură [40][199]. Modificările observate reprezintă consecințele ischemiei precoce însoțite de acumularea AGE în țesut, pe când valorile serice înalte indică agravarea leziunilor membranare grație SO exacerbat [3].

Este cert că în infarctul miocardic acut AGE denotă dezvoltarea stresului oxidativ grație dereglărilor statutului glucometabolic [101].

Prezența produselor finale de glicare avansată se află în directă dependență de gradul și extinderea stresului oxidativ, reflectând severitatea leziunilor miocardului și riscul dezvoltării complicațiilor majore, fiind argumentată utilizarea lor pentru diagnosticul și stratificarea riscului în infarctul miocardic acut [3].

3.2 Indicii metabolismului lipidic în infarctul indus de izoproterenol

Dislipoproteinemia și/sau dislipidemia reprezintă un factor cardinal în patogeneza IMA. Pentru a estima modificările metabolismului lipidic în infarctul miocardic indus de izoproterenol în materialul biologic s-a determinat nivelul *trigliceridelor* (TG), *β-lipoproteinelor* (βLP), *colesterolului total* (TC), *LDL-colesterolul*, *HDL-* și *non-HDL-colesterolul*, iar rezultatele obținute sunt prezentate în tabelele 3.3 – 3.7.

E confirmat faptul că **trigliceridele** și lipoproteinele bogate în TG induc disfuncția endotelială, stimulează adeziunea monocitelor, pătrund în placa aterosclerotică și inhibă transportul invers al colesterolului [248]. Concomitent TG majorate dereglează metabolismul LDL și HDL, sporind potențialul aterogen al LDL și micșorând efectele cardioprotectoare ale HDL [209][238].

Dacă unii savanți au indicat absența asocierii dintre LDL-C și TG cu evenimentele cardiovasculare [48], alții experimental au stabilit existența unei corelații negative puternice între nivelele serice a TG și HDL-C [238][291].

În SCA valorile TG serice <150 mg/dL (<1.7 mmol/L) sunt asociate cu un risc semnificativ mai mic al evenimentelor coronariene recurente comparativ cu nivelele mari ale TG. Se consideră că nivelele TG pot prezice evenimentele cardiovasculare, și deci lipoproteinele bogate în TG sunt o țintă terapeutică atractivă postSCA [238].

S-a apreciat o scădere a TG serice până la 1.10 mM/L, IQR 0.46 în lotul experimental AMI.24h ce corespunde IMA comparativ cu lotul intact (1.28 mM/L, IQR 0.20). În lotul postinfarct AMI.7d a avut loc o creștere a valorilor până la 1.23 mM/L, IQR 0.26 (p=0.346).

Valorile tisulare ale TG au înregistrat o micșorare nesemnificativă de la 1.86 mM/g/prot, IQR 0.12 (lotul intact) până la 1.795 mM/g/prot, IQR 0.27 în AMI.24h, însoțită de o creștere până la 2.055 mM/g/prot, IQR 0.29 (p=0.134) în starea postinfarct (tab. 3.3).

Tabelul 3.3 Nivelul trigliceridelor și beta-lipoproteinelor

Kruskal-Wallis	TG		beta LP	
	ser (mM/L)	homo (mM/g/prot)	ser (u/c)	homo (u/g/prot)
	p=0.346	p=0.134	p=0.049*	p=0.004**
L1 -intact	1.28 IQR 0.20 100%	1.860 IQR 0.12 100%	0.70 IQR 1.00 100%	0.659 IQR 0.36 100%
L2 - control	1.23 IQR 0.18 96%	1.820 IQR 0.33 98%	0.80 IQR 0.70 114%	0.509 IQR 0.35 77%
L3 – AMI.6h	1.27 IQR 0.33 99%	1.800 IQR 0.19 97%	0.20* IQR 0.33 29%	0.324** IQR 0.102 49%
L4 – AMI.24h	1.10 IQR 0.46 86%	1.785 IQR 0.27 97%	0.50 IQR 0.58 71%	0.296* IQR 0.452 45%
L5 – AMI.7d	1.23 IQR 0.26 96%	2.055 IQR 0.29 111%	1.05 IQR 1.18 150%	0.388* IQR 0.143 59%

Nota: diferența statistic semnificativă în raport cu valorile grupului intact: *p<0.05;

**p<0.01

La analiza variabilelor TG în ser și TG în homogenat cu utilizarea coeficientului neparametric de corelație ρ Spearman s-a constatat că modificările sunt neconcludente statistic, cuprinse în limitele $\rho=0.200-0.372$ (tab. 3.4), ce confirmă absența unei corelații reale

sau o legătură foarte slabă, dar aceeași tendință pentru ambele valori în starile de infarct și postinfarct.

Tabelul 3.4 Corelațiile sero-tisulare ale TG și β LP în IMA

Spearman		L1 intact	L2 control	L3 AMI.6h	L4 AMI.24h	L5 AMI.7d
TG	ρ	-0.342	0.372	-0.371	0.200	-0.232
	p	0.152	0.130	0.234	0.352	0.323
β LP	ρ	0.370	0.032	-0.500	-0.174	0.657
	p	0.131	0.463	0.156	0.371	0.078

Modificările **beta-lipoproteinelor (β LP)** au manifestat diferențe concludente atât în ser ($p=0.049^*$), cât și în țesut ($p=0.004^{**}$) (tab. 3.3).

La șobolanii în starea de preinfarct (AMI.6h) s-a atestat o diminuare statistic veridică a conținutului β LP serice de la 0.70 u/c, IQR 1.00 (valorile animalelor intacte) până la 0.20 u/c, IQR 0.33. O creștere semnificativă (0.50 u/c, IQR 0.58) în infarct (AMI.24h). În AMI.7d (postinfarct) conținutul atinge valori mai mari (1.05 u/c, IQR 1.18) față de celelalte loturi (AMI.6h și AMI.24h).

Concomitent în homogenat s-a observat o scădere a nivelului β LP de la 0.659 u/g/prot, IQR 0.36 înregistrate la șobolanii intacti, până la 0.324 u/g/prot, IQR 0.102 în AMI.6h. O reducere neînsemnată în dinamica procesului are loc la șobolanii AMI.24h (0.296 u/g/prot, IQR 0.452) și o majorare până la 0.388 u/g/prot, IQR 0.143 postinfarct, dar rămân mult mai mici decât în loturile de control (tab. 3.3).

Analizând variabilele β LP în ser și în homogenat cu ajutorul coeficientului de corelație ρ Spearman a rezultat: AMI.6h $\rho=-0.500$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.156$); și AMI.7d $\rho=0.657$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.078$) (tab. 3.4), ceea ce demonstrează tendința spre corelație negativă, moderată pentru starea de preinfarct (AMI.6h), și puternică, pozitivă postinfarct (AMI.7d) (anexa 2 A, B).

Studiul nostru a depistat o scădere a TG serice cu 14% în lotul experimental cu infarct L4 (AMI.24h), urmată de creșterea cu 10% a valorilor în lotul postinfarct L5 (AMI.7d) ($p=0.346$), ce corespunde unei reveniri la starea inițială. Totodată valorile tisulare ale TG au înregistrat o diminuare nesemnificativă în L4 (starea de infarct), care este însoțită de majorarea cu 14% în L5 (postinfarct) ($p=0.134$) (fig. 3.4 A).

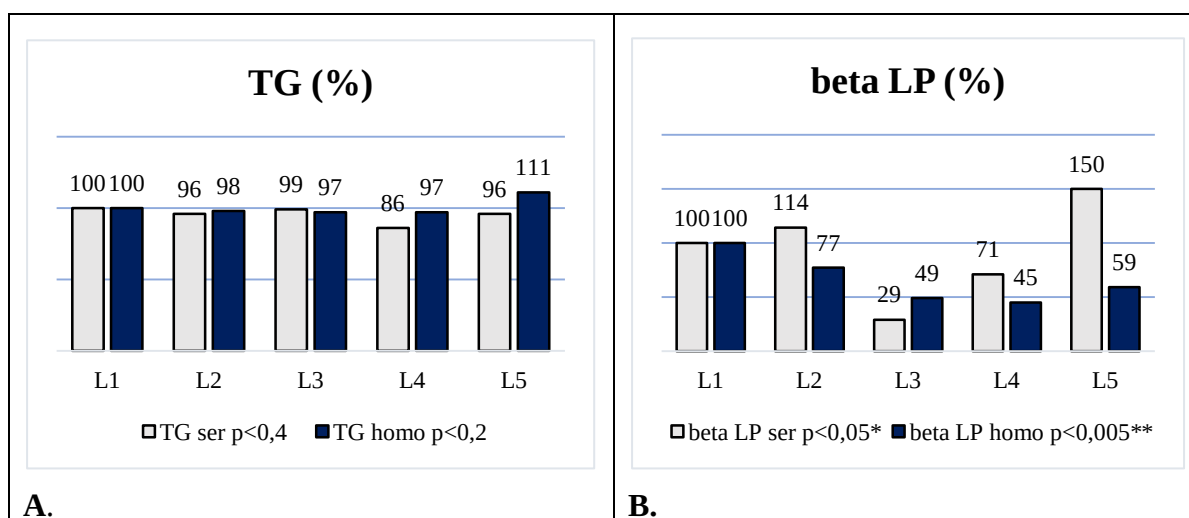


Figura 3.4 Trigliceridele și beta-lipoproteinele în IMA

Valorile βLP serice (fig. 3.4 B) au înregistrat o diminuare statistic veridică cu 71% la 6 ore (starea de preinfarct), urmată de o creștere semnificativă cu 42% la 24 ore (infarct) ($p=0.049^*$). Majorarea acestor lipoproteine continue și la a 7 zi după infarct.

Concomitent în homogenat s-a identificat o scădere veridică egală cu 51% a nivelului βLP în L3 preinfarct (AMI.6h) ($p=0.004^{**}$). O diminuare continuă cu 4% are loc în L4 starea de infarct (AMI.24h) - respectiv 55% față de valorile inițiale. În starea de postinfarct se observă o majorare cu 14% în L5 (AMI.7d), dar mult mai joasă decât valorile lotului de control.

Unii savanți au constatat că în SCA nivele TG și lipoproteinelor bogate în TG nu prezintă modificări semnificative în primele patru zile [216], pe când alții au depistat o scădere rapidă a nivelelor plasmatice imediat după evenimentul coronarian acut, urmată de creșterea cu aproximativ 50% peste nivelele bazale în 7 zile post SCA [238].

Nivelele serice ale colesterolului total și fracțiile sale reprezintă factori de risc importanți pentru bolile cardiovasculare [45][272], utilizați în clinică drept indici de laborator majori în estimarea riscului cardiovascular, managementul terapeutic și pronosticului în populație [248].

Este cert stabilit că pacienții cu maladii cardiovasculare, inclusiv IMA, prezintă nivelele veridic mai înalte ale colesterolului total, TG, LDL-C, corespunzător și raporturile TC/HDL-C, LDL-C/HDL-C și TG/HDL-C, însoțite de valori scăzute ale HDL-C [108][147][215][228][234]. Nivelul seric al lipoproteinelor prezintă o corelație pozitivă (LDL-C) și/sau negativă (HDL-C) cu dezvoltarea bolii coronariene a cordului [54], raportul TG/HDL-C fiind un predictor independent al incidentelor cardiovasculare [272].

Valorile ridicate ale lipoproteinelor aterogene (LDL împreună cu lipoproteinele bogate în TG) și joase ale HDL prezic evenimentele cardiovasculare post-SCA [238].

Concentrațiile **colesterolului total** în loturile investigate au prezentat diferențe statistice veridice în ser ($p=0.049^*$) (tab. 3.5).

Tabelul 3.5 Colesterolul total și non-HDL-colesterolul în infarct miocardic experimental

Kruskal-Wallis	Colesterol total		non-HDL-colesterol	
	ser (mM/L)	homo (mM/g/prot)	ser (mM/L)	homo (μ M/g/țesut)
	$p=0.049^*$	$p=0.055$	$p=0.080$	$p=0.456$
L1 -intact	5.69 IQR 0.62 100%	0.819 IQR 0.049 100%	4.13 IQR 0.36 100%	35.73 IQR 3.58 100%
L2 - control	5.92 IQR 0.39 104%	0.773 IQR 0.060 98%	4.05 IQR 1.12 98%	34.43 IQR 4.68 96%
L3 – AMI.6h	5.59 IQR 0.38 98%	0.801 IQR 0.114 98%	3.58* IQR 0.81 87%	34.42 IQR 1.71 96%
L4 – AMI.24h	6.26 IQR 0.60 110%	0.759* IQR 0.130 93%	4.28 IQR 0.89 104%	34.38 IQR 10.59 96%
L5 – AMI.7d	5.93 IQR 0.86 104%	0.830 IQR 0.051 101%	4.31 IQR 0.48 104%	35.70 IQR 5.48 100%

Nota: diferența statistic semnificativă în raport cu valorile grupului intact: $*p<0.05$

S-a identificat o scădere nesemnificativă a colesterolului total seric de la 5.69 mM/L, IQR 0.62 (lotul intact) până la 5.59 mM/L, IQR 0.38 în lotul experimental AMI.6h (preinfarct), urmată în lotul AMI.24h de creșterea valorilor până la 6.255 mM/L, IQR 0.60. În AMI.7d (postinfarct) are loc o micșorare până la 5.93 mM/L, IQR 0.86, dar mai mare decât în lotul preinfarct.

Valorile tisulare ale colesterolului total au înregistrat o diminuare până la 0.759 mM/g/prot, IQR 0.13 în lotul cu infarct AMI.24h comparativ cu cel intact (0.819 mM/g/prot, IQR 0.049). În AMI.7d are loc o creștere neînsemnată până la 0.83 mM/g/prot, IQR 0.051 față de starea de infarct ($p=0.055$), apropiindu-se de cele din control (tab. 3.5).

Pentru variabilele colesterol total în ser și colesterol total în homogenat în lotul AMI.24h (starea de infarct) valoarea coeficientului neparametric de corelație ρ Spearman este

de $\rho=0.600$ la un prag de semnificație p (unilateral) >0.05 ($p=0.104$) (tab. 3.6), indicând tendința unei corelații moderate, pozitive (anexa 2 C).

Tabelul 3.6 Corelațiile sero-tisulare ale fracțiilor colesterolului în IMA

Spearman		L1 intact	L2 control	L3 AMI.6h	L4 AMI.24h	L5 AMI.7d
Colesterol total	ρ	0.200	-0.309	0.371	0.600	0.029
	p	0.278	0.178	0.234	0.104	0.479
LDL-C	ρ	-0.400	-0.032	0.143	-0.058	-0.543
	p	0.111	0.463	0.394	0.457	0.133
HDL-C	ρ	0.551	0.329	0.143	0.086	-0.600
	p	0.039*	0.162	0.394	0.436	0.104
non-HDL-C	ρ	0.255	0.191	-0.371	0.486	0.086
	p	0.224	0.287	0.234	0.164	0.436

Nota: * $p<0.05$

S-a identificat o tendință de scădere cu 2% a colesterolului total seric în lotul experimental L3 (AMI.6h), urmată de creșterea cu 12% a valorilor în lotul cu infarct L4 (AMI.24h) și o micșorare egală cu 6% în L5 postinfarct (AMI.7d), atingând aceleași valori ca în lotul de control ($p=0.049^*$) (fig. 3.5).

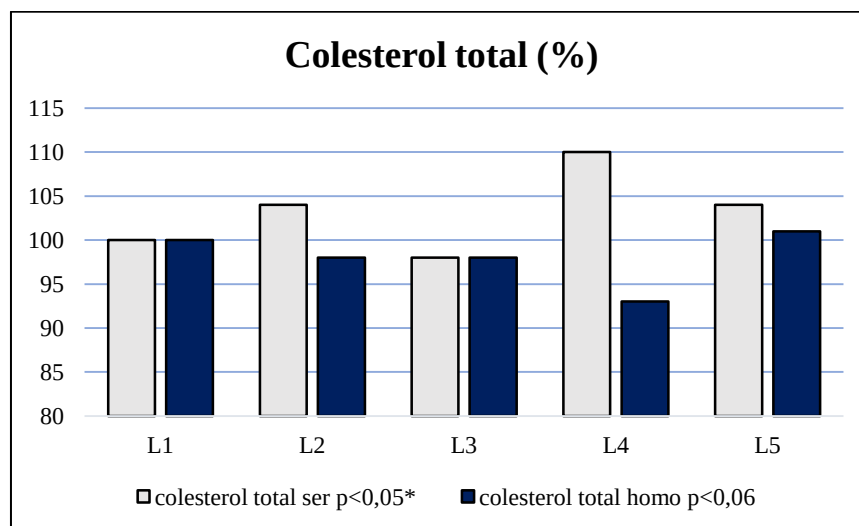


Figura 3.5 Modificările colesterolului total

Valorile tisulare ale colesterolului total au înregistrat în primele 24 ore (starea de infarct) o tendință de diminuare cu 7% rezultată în cea mai mică valoare. În continuare la 7 zile în starea de postinfarct are loc o creștere egală cu 8% ($p=0.055$).

Nivelele colesterolului scad veridic post IMA, mai ales în infarctele extinse asociate cu valorile mai ridicate ale cTnT. S-a raportat o reducere semnificativă a nivelelor TC și LDL-C cu 9% în pimele 24 ore după internare, cu micșorarea în continuare cu 13% și 17% către ziua IV, fără modificări concludente ale HDL-C și TG [239].

Lipoproteinele plasmatice sunt recunoscute ca factori de risc pe termen lung pentru evenimentele CV post IMA, nivelele înalte ale LDL-C fiind asociate cu risc CV crescut, pe când nivelele înalte ale HDL-C diminuează riscul [230].

LDL-colesterolul reprezintă un reactant negativ de faza acută [238] și reprezintă un factor major în supraviețuirea celulelor în stres acut, ischemie și inflamație, grație utilizării sale la formarea membranelor celulare și hormonilor steroizi [45].

În activitatea clinică valorile serice ale TC și LDL-C servesc drept indici majori de laborator la estimarea riscului cardiovascular, managementul terapeutic și pronosticul BCV în populație [248].

La pacienții cu STEMI, NSTEMI și angină instabilă s-a observat o scădere inițială a LDL-C, urmată de creștere peste 4 zile [238]. Este descrisă diminuarea veridică a nivelului TC și LDL-C în ziua a doua post IMA, mult mai concludentă în STEMI [239]. Se confirmă că leziunea extinsă a miocardului, grație răspunsului de faza acută și activității receptorului LDL, se asociază cu scăderea semnificativă a valorilor LDL-C [202][239].

Deci în IMA cele mai joase nivele ale LDL-C pot fi utilizate pentru identificarea pacienților cu risc mai înalt, inflamație extinsă și disfuncție hepatică [230]. Conform rezultatelor stocate în baza de date GTWG aproximativ o jumătate din pacienții cu boala coronariană au prezentat la internare nivelele LDL-C <100 mg/dL (<2.6 mmol/L) și ale HDL-C <40 mg/dL (<1.03 mmol/L) [4]. Concomitent au fost elucidate și modificările în dinamică post SCA a lipoproteinelor, reprezentate prin scăderea rapidă a LDL-C și HDL-C cu creșterea TG [238].

În studiul nostru variațiile **LDL-colesterolului** (LDL-C) au fost statistic semnificative în ser ($p=0.011^*$) (tab. 3.7).

În lotul experimental AMI.6h (preinfarct) se atestă o scădere a LDL-C seric, ce a determinat diminuarea valorilor de la 1.51 mM/L, IQR 0.39 (lotul intact) până la 1.36 mM/L, IQR 0.58. În dinamică valorile LDL-colesterolului au crescut evident până la 2.26 mM/L, IQR 0.44 în infarctul miocardic (AMI.24h). În AMI.7d (postinfarct) concentrația s-a micșorat până la 1.95 mM/L, IQR 0.52, comparativ cu starea precedentă (AMI.24h) (tab. 3.7).

Concentrația tisulară a LDL-C s-a mărit în L3 (AMI.6h) de la 11.03 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 3.57 determinate la animalele lotului intact, până la 11.92 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 8.81 ($p=0.907$),

înregistrând în continuare o reducere (până la 11.71 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 2.53) în L4 (AMI.24h), rămânând în limitele modificărilor neveridice. O creștere importantă până la 13.91 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 13.72 este depistată în starea de postinfarct (tab. 3.7).

Tabelul 3.7 Modificările nivelului LDL- și HDL-colesterolului

Kruskal-Wallis	LDL-colesterol		HDL-colesterol	
	ser (mM/L)	homo ($\mu\text{M/g/prot}$)	ser (mM/L)	homo (mM/g/prot)
	p=0.011*	p=0.907	p=0.101	p=0.873
L1 -intact	1.51 IQR 0.39 100%	11.03 IQR 3.57 100%	1.56 IQR 0.55 100%	0.212 IQR 0.041 100%
L2 - control	1.26 IQR 0.97 88%	12.01 IQR 3.36 109%	2.10 IQR 0.87 135%	0.215 IQR 0.025 101%
L3 – AMI.6h	1.36 IQR 0.58 90%	11.92 IQR 8.81 108%	1.91 IQR 0.72 122%	0.212 IQR 0.037 100%
L4 – AMI.24h	2.26** IQR 0.44 150%	11.71 IQR 2.53 106%	1.92 IQR 0.61 123%	0.232 IQR 0.038 109%
L5 – AMI.7d	1.95* IQR 0.52 129%	13.91 IQR 13.72 126%	1.51 IQR 0.25 97%	0.216 IQR 0.064 102%

Nota: diferența statistic semnificativă în raport cu valorile grupului intact: ***p<0.05;**

****p<0.01**

La analiza variabilelor LDL-colesterol în ser și LDL-colesterol în homogenat cu ajutorul coeficientului de corelație ρ Spearman lotul experimental postinfarct AMI.7d a prezentat $\rho=-0.543$ p (unilateral) >0.05 ($p=0.133$) (tab. 3.6), caracteristic unei corelații moderate, negative (anexa 2 E).

Datele din figura 3.6 indică o scădere a LDL-colesterolului seric în lotul experimental AMI.6h (L3) cu 10% față de cel intact ($p=0.011^*$), apoi valorile au crescut evident cu 60% în lotul cu infarct AMI.24h (L4). Postinfarct în AMI.7d (L5) s-au micșorat cu 24%, dar au rămas mult mai mari față de cele inițiale.

Concentrația tisulară a LDL-colesterolului s-a majorat cu 8% la 6 ore (perioada preinfarct) ($p=0.907$). În continuare se modifică nesemnificativ (cu 2%) în starea de infarct. Se depistează o creștere importantă egală cu 20% spre ziua a șaptea, atingând valori ale LDL-C fiind mai mari comparativ cu cele identificate la șobolanii intacti (fig. 3.6).

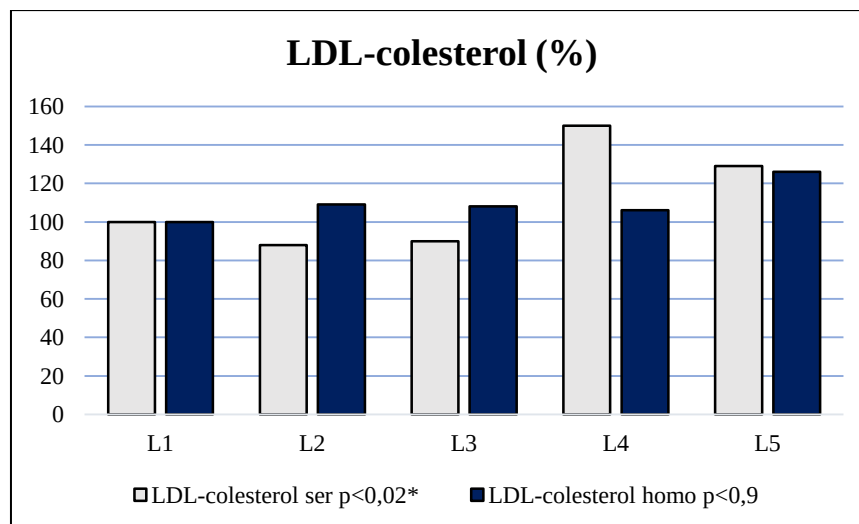


Figura 3.6 Dinamica LDL-colesterolului

S-a concretizat o diminuare derizorie în SCA a nivelelor LDL-C din ziua I spre ziua II, apoi în următoarele 2 zile – o creștere cu depășirea valorilor inițiale, modificările fiind concludente dar mici în STEMI și NSTEMI, și absența variațiilor semnificative în angina instabilă [216].

S-a demonstrat că diminuarea nivelului LDL-C cu 1.0 mmol/L se asociază cu micșorarea cu peste 20% a riscului cardiovascular [20]. Contradictoriu rezultatele raportate de savanți prezintă un paradox lipidic, nivelele cele mai joase ale LDL-C sunt asociate cu cel mai înalt risc de mortalitate intraspitalicească în IMA, pe când pacienții cu valori mai înalte ale LDL-C înregistrează un risc semnificativ mai mic [230].

În literatură se menționează că determinarea precoce a nivelului LDL-C este mai veridică vs estimare peste câteva zile postSCA. LDL-C scade cu până la 50% în primele 7 zile după IMA, magnitudinea scăderii corelând direct cu leziunea miocardului și răspunsul inflamator. Astfel nivelele LDL-C ce depășesc 66 mg/dL (1.7 mmol/L) sunt considerați predictorii veridici ai consecințelor primare și secundare nefaste [238].

Totodată s-a raportat că pacienții cu NSTEMI sever, incluși în trialul *MIRACL*, au înregistrat cele mai joase valori ale LDL-C și cele mai înalte ale markerilor inflamatori [238]. Este absentă asocierea între nivelul LDL-C și riscul evenimentelor cardiovasculare recurente la 16 săptămâni [238], rezultate similare celor publicate anterior [48][142][202].

HDL-colesterolul manifestă proprietăți antioxidante și antiinflamatorii importante deoarece inhibă producerea citokinelor, reduce moleculele de adeziune celulară, stimulează NOS endoteliale și producerea NO, scade apoptoza endotelială, micșorează reactivitatea trombocitelor, etc. [4][20][238].

Cercetările epidemiologice și clinice numeroase au confirmat asocierea între nivelele joase ale HDL și riscul înalt de boli coronariene [54][215][248]. Nivelul bazal al HDL-colesterolului este un factor de risc și un predictor independent al evenimentelor coronariene adverse majore pe termen scurt (30 zile) și lung (peste 1 an) [4][20][48][135][142][202][238]. Evaluarea HDL-C este utilă la identificarea pacienților cu risc înalt [135][142].

Unele studii subliniază că în SCA micșorarea HDL-C poate fi cauzată de captarea sporită de către celule a lipoproteinelor bogate în colesterol cu scopul de ași completa rezerva de colesterol utilizat pentru reparația leziunilor tisulare și sinteza hormonilor [47][48].

Nivelele înalte ale HDL reprezintă factori de protecție, asociindu-se cu riscul redus de dezvoltare a bolilor aterosclerotice [135]. S-a observat că majorarea nivelului HDL-C cu o deviație standard micșorează semnificativ riscul BCV [215][272].

Concretizăm că la șobolani, proteina CETP e deficientă și metabolismul lipidic, cu particularitățile sale explică potențialul aterogenic scăzut al animalelor [153][200].

Nivelul **HDL-colesterolului** (HDL-C) în lotul experimental preinfarct AMI.6h a manifestat o creștere confirmată prin sporirea valorilor de la 1.56 mM/L, IQR 0.55 (lotul intact) până la 1.91 mM/L, IQR 0.72 (tab. 3.7). În dinamica procesului s-a observat o tendință de majorare până la 1.92 mM/L, IQR 0.61 în AMI.24h, urmată în AMI.7d de o scădere până la 1.51 mM/L, IQR 0.25 ($p=0.101$).

În homogenat nivelul HDL-C a crescut în AMI.24h (starea de infarct) până la 0.232 mM/g/prot, IQR 0.038 ($p=0.873$). În lotul postinfarct AMI.7d se atestă o scădere până la 0.216 mM/g/prot, IQR 0.064, atingându-se de nivelele inițiale (tab. 3.7).

Analizând variabilele HDL-colesterol în ser și homogenat prin utilizarea coeficientului ρ Spearman, în lotul postinfarct AMI.7d s-a determinat $\rho=-0.600$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.104$) (tab. 3.6), fapt ce relevă tendința spre o corelație negativă, moderată (anexa 2 F).

HDL-colesterolul seric (fig. 3.7) a crescut cu 22% ($p=0.101$) în lotul experimental preinfarct L3 (AMI.6h) față de valorile lotului intact. În continuare în L4 (AMI.24h) se menține nivelul atins. În L5 (AMI.7d) urmează o scădere cu 26%, atingând valorile inițiale. În homogenat nivelul HDL-colesterolului a crescut în starea de infarct L4 (AMI.24h) cu 9% ($p=0.873$) față de valorile lotului intact, apoi a scăzut cu 7% în L5 (AMI.7d), atingând cifrele inițiale.

Se menționează o scădere a nivelelor HDL-C începând cu ziua a II postinfarct [246]. A fost descrisă atât micșorarea relevantă a nivelului HDL-C seric în 24 ore postSCA [135], precum și modificări neevidente în primele 2-3 zile, urmate de o scădere constantă, atingând limita inferioară către ziua a VII [238].

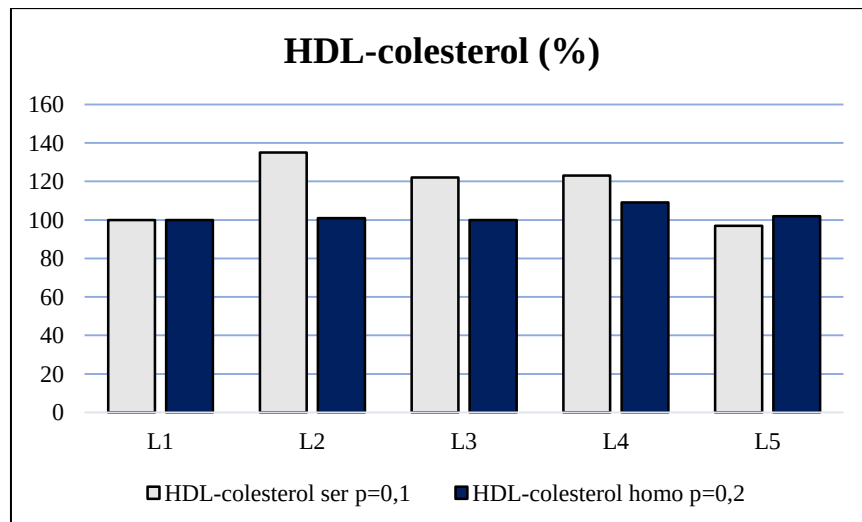


Figura 3.7 Evaluarea HDL-colesterolului

Datele publicate indică că în SCA capacitatea antioxidantă și de eflux a HDL-colesterolului scade în primele 3 zile de la debutul simptomelor și se menține joasă câteva luni, manifestând o asociere veridică pozitivă cu incidența evenimentelor cardiovasculare timp de 3 ani [238].

Savanții menționează o micșorare concludentă a valorilor serice ale HDL-C în SCA, inclusiv IMA [135][202]. Unele date subliniază că nivelele foarte joase ale HDL-C înregistrate în primele 24-48 ore după evenimentul coronarian acut sunt markeri veridici al bolii coronariene și inflamației extinse [4].

Non-HDL-C se consideră un estimator a conținutului de colesterol din toate lipoproteinele aterogene [209][272] determinat după formula: **Non-HDL-C = TC – HDL-C** [215][248].

S-a demonstrat că nivelele plasmatice ale ApoB reflectă concentrația lipoproteinelor proaterogene (VLDL, LDL), pe când nivelele non-HDL-C reflectă concentrația colesterolului transportat de aceste particole [215]. Nivelul non-HDL-C corelează bine cu concentrația totală a ApoB – lipoproteina majoră a particolelor aterogene, fiind un predictor independent al infarctului miocardic non-letal și/sau morții coronariene [209][215].

Analiza valorilor a identificat o scădere a **non-HDL-C** seric de la 4.13 mM/L, IQR 0.36 (lotul intact) până la 3.58 mM/L, IQR 0.81 (p=0.080) în lotul experimental preinfarct AMI.6h (tab. 3.5). În continuare în lotul AMI.24h are loc o creștere până la 4.28 mM/L, IQR 0.89, tendință menținută și în lotul postinfarct AMI.7d (4.31 mM/L, IQR 0.48).

Valorile tisulare ale non-HDL-C au înregistrat o diminuare până la 34.42 $\mu\text{M/g.prot}$, IQR 1.71 ($p=0.456$) în grupul AMI.6h comparativ cu cel intact (35.73 $\mu\text{M/g.prot}$, IQR 3.58), însoțită de o creștere neînsemnată până la 35.70 $\mu\text{M/g.prot}$, IQR 5.48 în AMI.7d (tab. 3.5).

S-au analizat variabilele non-HDL-C în ser și non-HDL-C în homogenat folosind coeficientul neparametric de corelație ρ Spearman care a prezentat în AMI.24h $\rho=0.486$ la un prag de semnificație p (unilateral) >0.05 ($p=0.164$) (tab. 3.6). Datele indică tendința spre corelație moderată, pozitivă (anexa 2 D).

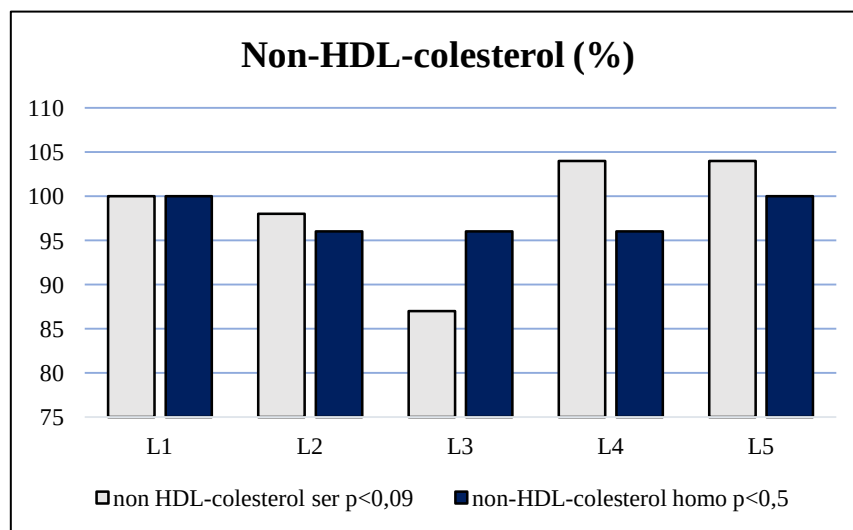


Figura 3.8 Variațiile non-HDL-colesterolului

Analiza statistică a identificat (fig. 3.8) o scădere semnificativă a non-HDL-C seric preinfarct (la 6 ore) egală cu 13% ($p=0.080$), urmată de creșterea valorilor peste 24 ore cu 17% față de starea precedentă. Aceste nivele ajunse la valori normale sunt menținute și în ziua a șaptea în starea de postinfarct.

Valorile tisulare ale non-HDL-C se micșorează cu 4% în grupul preinfarct L3 (AMI.6h) ($p=0.456$), nivel menținut și în L4 (AMI.24h). În L5 postinfarct (AMI.7d) conținutul revine la valorile inițiale.

Majorarea cu 10 mg/dL (0.3 mmol/L) a concentrației bazale de non-HDL-C și/sau TC a fost asociată cu creșterea în 5 ani cu 5% a riscului de IM non-letal și cu 6% a riscului pentru angină pectorală [209].

În populația aparent sănătoasă non-HDL-C corelează mai puternic cu maladia coronariană comparativ cu LDL-C, fiind un factor de risc al bolii coronariene ușor de determinat [215]. Superioritatea predictivă a non-HDL-C rezultă din faptul că atât TG, cât și lipoproteinele bogate în TG au un rol important în provocarea IM [209][215][248].

A fost stabilit că non-HDL-C prezice veridic incidentele cardiovasculare viitoare [215][272], fiind recomandat ca marker de risc al bolilor coronariene a cordului și țintă terapeutică secundară (după LDL-C) la pacienții cu TG majorate [209].

Valorile non-HDL-C posedă o specificitate, sensibilitate, valoare de pronostic a incidenței și mortalității cardiovasculare similară sau mai bună comparativ cu LDL-C [248].

S-a observat că modificările postinfarct ale lipidelor serice includ scăderea cu 10-20% a TC, LDL-C și HDL-C cu creșterea concomitentă aproximativ cu 20-30% a TG [246]. În aceeași perioadă s-a identificat că nivelele înalte ale LDL-C și VLDL-C corelează pozitiv cu IM și negativ cu HDL-C [134].

Unele studii raportează nivele paradoxal de joase ale LDL-C (<62.5 mg/dL sau <1.6 mmol/L) și TG (<110 mg/dL sau <1.25 mmol/L) în faza acută care corelează concludent cu IMA mai sever și rata mortalității intraspitalicești pe termen scurt. Studiile epidemiologice menționează că LDL-C și TG elevate sunt factori importanți de risc pentru BCV cu rol minor în faza acută a IMA [45].

3.3 Corelațiile sero-tisulare ale indicilor metabolici în infarct experimental

Analiza *indicilor metabolismului glucidic* prestabiliți în studiu cu ajutorul coeficientului neparametric de corelație ρ Spearman a evidențiat în *perioada preinfarct* o tendință spre o corelație moderată negativă ($\rho=-0.600$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.104$)) între valorile serice și tisulare ale glucozei (tab. 3.2) (anexa 1 A).

În *perioada de infarct* se menține corelație moderată negativă între variabilele glucoza în ser și glucoza în homogenat ($\rho=-0.522$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.144$)). Concomitent s-a determinat tendința spre o corelație moderată pozitivă între HbA1c serică și tisulară ($\rho=0.600$ p (unilateral) >0.05 ($p=0.104$)) (tab. 3.2) (anexa 1 B, E).

Perioada postinfarct s-a caracterizat prin prezența corelației moderate pozitive între valorile serice și tisulare ale glucozei ($\rho=0.486$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.164$)), și o corelație negativă puternică între variabilele AGE ($\rho=-0.714$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.055$)) (tab. 3.2) (anexa 1 C, D). De asemenea valorile serice și tisulare ale HbA1c au înregistrat o corelație negativă ($\rho=-0.771$ p (unilateral) <0.05 ($p=0.036^*$)) (tab. 3.2) (anexa 1 F).

În *perioada preinfarct* *indicii metabolismului lipidic* au prezentat tendința spre corelație negativă moderată identificată între variabilele β LP în ser și în homogenat ($\rho=-0.500$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.156$)) (tab. 3.4) (anexa 2 A).

În dinamica procesului – *starea de infarct* – s-a observat prezența unor corelații pozitive moderate între valorile serice și tisulare ale colesterolului total ($\rho=0.600$, p

(unilateral) >0.05 ($p=0.104$)) și non-HDL-C ($p=0.486$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.164$)) (tab. 3.6) (anexa 2 C, D).

În *perioada postinfarct* s-a identificat o corelație negativă moderată între conținutul LDL-C în ser și LDL-C în țesut ($p=-0.543$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.133$)) (tab. 3.6) (anexa 2 E). Totodată au fost stabilite tendințe spre corelație pozitivă puternică între valorile serice și tisulare ale β LP ($p=0.657$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.078$)) (tab. 3.4) (anexa 2 B) și o corelație negativă moderată pentru variabila HDL-C ($p=-0.600$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.104$)) (tab. 3.6) (anexa 2 F).

Datele prezentate relevă absența unor corelații puternice între valorile serice și tisulare ale indicilor metabolismului lipidic și glucidic în perioada preinfarct. În dinamica procesului, concomitent cu apariția modificărilor metabolice sunt identificate corelații moderate și/sau puternice negative și pozitive între parametrii biochimici prestabiliți în ser și homogenat, fapt ce sugerează utilitatea lor diagnostică.

3.4 Concluzii

Conform rezultatelor obținute, etapele patobiochimice ale infarctului miocardic acut posedă trăsături metabolice disctincte.

Perioada acută (preinfarct) se caracterizează prin creșterea valorilor tisulare ale glucozei, HbA1c și AGE, însoțită de scăderea nivelelor serice ale indicilor menționați.

Concomitent se atestă tendința de scădere în țesut a TG și micșorarea evidentă a valorilor tisulare a β -lipoproteinelor, reflectate prin modificările similare a valorilor serice. Se observă micșorarea neconcludentă în homogenat a nivelului de colesterol total și non-HDL-C, majorarea LDL-C și a HDL-C nemodificat. Corespunzător în ser se atestă scăderea nivelelor colesterolului total, LDL-C și non-HDL-C și tendința de creștere a HDL-C.

În ***starea de infarct*** se determină micșorarea evidentă a conținutului tisular de glucoză, HbA1c și AGE. Variațiile serice sunt reprezentate de creșterea marcată a indicilor menționați. Menținerea în homogenat a nivelului scăzut al TG și a valorilor β LP este reflectată prin diminuarea în continuare a TG serice, concomitent se atestă creșterea evidentă a β LP însă valorile sunt mai joase decât cele înregistrate la animalele intacte.

Rezultatele obținute relevă o scădere continuă a valorilor tisulare ale colesterolului total, a concentrației LDL-C cu menținerea valorilor non-HDL-C și creșterea HDL-C. În ser are loc creșterea evidentă a concentrației colesterolului total, LDL-C, HDL-C și non-HDL-C, valorile LDL-C fiind cu mult mai ridicate. Se atestă tendința unei corelații moderate între

nivelele serice și tisulare ale colesterolului total ($p=0.600$, $p>0.05$) și non-HDL-C ($p=0.486$, $p>0.05$).

Perioada postinfarct este reprezentată prin majorarea în homogenat a cantității de glucoză, HbA1c și AGE, însoțită în ser de scăderea vădită a concentrației glucozei și HbA1c. AGE crește continuu, atingând nivele mult mai ridicate. Între valorile serice și tisulare ale HbA1c s-a identificat o corelație puternice negativă ($p=-0.771$, $p<0.05$), pe când nivelul AGE denotă doar o tendință ($p=-0.714$, $p\geq 0.05$).

Se observă creșterea cantității tisulare a TG cu depășirea nivelului determinat la animalele intacte, însoțită de majorarea nivelului β LP. Modificări serice ale concentrației TG și β LP reflectă situația tisulară, interrelația fiind exprimată prin tendința unei corelații puternice ($p=0.657$, $p\geq 0.05$).

În homogenat se identifică colesterolul total mărit, creștere continuă a LDL-C și micșorarea concentrației HDL-C. Variațiile tisulare sunt însoțite de scăderea în ser a nivelului de colesterol total și LDL-C, cu menținerea non-HDL-C înalt și scăderea cantității de HDL-C. Concomitent între nivelele serice și tisulare ale LDL-C ($p=-0.543$, $p>0.05$) și HDL-C ($p=-0.600$, $p>0.05$) s-a identificat tendința unei corelații moderate.

Cu certitudine supraviețuirea și recuperarea postinfarct a cardiomiocitului este asigurată de statutul metabolic ca factor cardinal al patologiei în cauză.

4. SEMNIFICAȚIA CLINICO-DIAGNOSTICĂ A MARKERILOR ÎN INFARCTUL MIOCARDIC ACUT

Infarctul miocardic acut reprezintă moartea cardiomiocitelor cauzată de ischemie și este un eveniment cardiovascular critic pentru pacient [52][135]. Identificarea rapidă a IMA este crucială pentru inițierea cât mai precoce a tratamentului specific, deoarece confirmarea tardivă a diagnosticului de infarct miocardic sporește riscul complicațiilor severe [232]. Aprecierea valorilor serice ale biomarkerilor cardiospecfici reprezintă un indice a leziunii miocardului. Se disting cardinal markerii inflamației, stresului oxidativ, necrozei și trombozei [268].

IMA reprezintă modelul clinic de SO indus prin ischemie-reperfuzie cu nivele majorate ale SRO cât și celor de azot [108], responsabile de sinteza citokinelor inflamatorii, activarea metaloproteinazelor matriceale și inițierea leziunilor miocardice [236]. Se consideră că gradul lezării miocardului și consecințele clinice ulterioare corelează cu severitatea SO [19].

4.1 Biomarkerii inflamației în infarct experimental

Este cert că ischemia și stresul oxidativ (SO) lezează endoteliul vascular, induc răspunsul inflamator cu expresia sporită a moleculelor de adeziune celulară, diminuarea semnificativă a NO, creșterea permeabilității endoteliului, captarea și oxidarea LDL cu exacerbarea aterogenității [155][229].

Biomarkerii inflamației (TNF- α și IL-6), grație asocierii sale cu boala coronariană, sunt utilizați la estimarea riscului cardiovascular [95][167]. S-a relatat că raportul între markerii pro- și antiinflamatori este un predictor a dezvoltării evenimentului coronarian nou atât în primele 6 luni, cât și timp de un an [49][67].

Interleukina-6 reprezintă o citokină multifuncțională – mediator al fazei acute a inflamației, asociată cu disfuncție endotelială în sindrom coronarian acut care contribuie la progresarea leziunilor miocardului, remodelare vasculară și destabilizarea plăcilor aterosclerotice. Este sintetizată atât de celulele imune, cât și de componentele cardiovasculare, inclusiv miocitele ischemiate.

Se consideră că IL-6 reprezintă un marker promițător a riscului cardiac, util în selectarea pacienților pentru terapia antiinflamatorie, și este și un test predictiv pentru evenimentele cardiace adverse ulterioare [67][96][293].

Indicii **IL-6** serice au înregistrat inițial o creștere de la 95.49 pg/mL, IQR 51.49 determinate la șobolanii intacti, până la 115.63 pg/mL, IQR 36.28 în L3 preinfarct (AMI.6h) ($p=0.322$). Cu progresarea patologiei are loc o reducere până la 113.28 pg/mL, IQR 64.36 în L4 (AMI.24h) și 93.62 pg/mL, IQR 19.89 în lotul 5 (AMI.7d), revenind practic la valorile inițiale (tab. 4.1).

Tabelul 4.1 Concentrația citokinelor în infarct miocardic experimental

Kruskal-Wallis	TNF- α		IL-6	
	ser (pg/mL)	homo (pg/g/prot)	ser (pg/mL)	homo (pg/g/prot)
	p=0.221	p=0.002**	p=0.322	p=0.098
L1 -intact	9.720 IQR 1.91 100%	560.02 IQR 71.32 100%	95.49 IQR 51.49 100%	659.77 IQR 41.97 100%
L2 - control	10.420 IQR 2.08 107%	523.50 IQR 247.81 94%	119.83 IQR 102.05 126%	657.84 IQR 113.28 99%
L3 – AMI.6h	9.895 IQR 1.74 102%	560.29 IQR 94.33 100%	115.63 IQR 36.28 121%	688.73 IQR 93.61 104%
L4 – AMI.24h	11.285* IQR 2.34 116%	383.68** IQR 50.33 69%	113.28 IQR 64.36 119%	606.15* IQR 54.97 92%
L5 – AMI.7d	10.330 IQR 2.08 106%	420.65** IQR 104.05 75%	93.62 IQR 19.89 98%	655.54 IQR 39.02 100%

Nota: diferența statistic semnificativă în raport cu valorile grupului intact: * $p<0.05$;

** $p<0.01$

Valorile IL-6 în homogenat au manifestat inițial o tendință de creștere nesemnificativă până la 688.73 pg/g/prot, IQR 93.61 în lotul cu preinfarct AMI.6h comparativ cu lotul intact (659.77 pg/g/prot, IQR 41.97) ($p=0.098$), apoi are loc o scădere veridică până la 606.15 pg/g/prot, IQR 54.97 în AMI24h, și creștere în AMI.7d (655.54 pg/g/prot, IQR 39.02) – o valoare apropiată de starea inițială.

Tabelul 4.2 Corelațiile sero-tisulare ale citokinelor

Spearman		L1 intact	L2 control	L3 AMI.6h	L4 AMI.24h	L5 AMI.7d
IL-6	ρ	0.255	0.041	-0.086	0.486	-0.371
	p	0.255	0.452	0.436	0.164	0.234
TNF alpha	ρ	-0.221	-0.009	0.029	-0.257	0.371
	p	0.257	0.489	0.479	0.311	0.234

La analiza variabilelor IL-6 în ser și IL-6 în homogenat cu ajutorul coeficientului de corelație ρ Spearman în lotul experimental cu infarct AMI.24h a rezultat $p=0.486$ p (unilateral) >0.05 ($p=0.164$) (tab. 4.2), ceea ce demonstrează prezența (tendința) unei corelații moderate, pozitive (anexa 3 A).

Deci, indicii IL-6 serice au crescut cu 21% la 6 ore (lotul preinfarct) ($p=0.322$). În dinamica procesului are loc o scădere esențială spre ziua a șaptea, atingând valorile lotului intact. Valorile IL-6 în homogenat oscilează nesemnificativ în L3 (AMI.6h) și L4 (AMI.24h) ($p=0.098$), revenind la nivelul inițial în L5 (AMI.7d) (fig. 4.1).

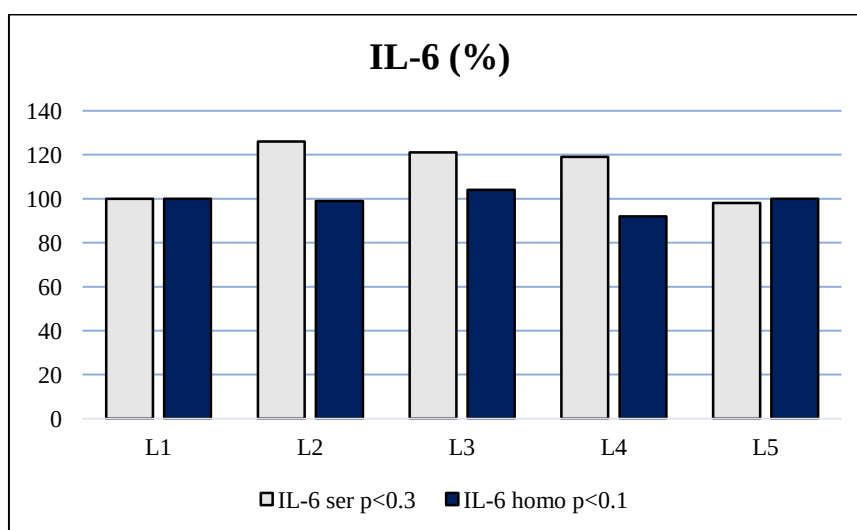


Figura 4.1 Conținutul IL-6

În SCA nivelele circulante ale IL-6 corelează cu dimensiunile infarctului și nu sunt influențate de extinderea leziunii și necrozei miocardului [67][96][131][235]. IL-6 este considerată ca factor de pronostic a evenimentelor coronariene pe termen scurt și a mortalității pe termen lung grație asocierii consecvente cu severitatea formelor clinice ale SCA [222][229][261].

Nivelele IL-6 ≥ 5 ng/L la internare corelează cu creșterea de 3.5 ori a mortalității în primele 12 luni, fiind un marker independent la identificarea pacienților cu angină pectorală instabilă și risc înalt de deces în 6-12 luni [159]. Totodată în maladiile coronariene stabile preexistente valorile mai înalte ale IL-6 sunt asociate cu un pronostic mai nefavorabil pe durata supravegherii de 2-6 ani. Ridicarea cu 1 pg/mL a IL-6 corelează cu creșterea de 1.7 ori a ratei relative de IMA viitor sau moarte subită [75][233].

Creșterea semnificativă a IL-6 la pacienții cu SCA, în special cu STEMI [67][96], confirmă conexiunea inflamației cu agravarea bolii coronariene indusă de ruptura plăcii și dimensiunile necrozei miocardului [67][235].

Factorul de necroză tumorală- α (TNF- α) se consideră biomarker al inflamației bazale, utilizat în prezicerea riscului aterotrombotic, în diagnosticul, managementul și pronosticul precoce al bolilor cardiovasculare, cu valoare predictivă concludentă în angină pectorală stabilă și SCA [121][191].

În timpul infarctului miocardic în țesutul lezat și țesuturile vecine are loc un răspuns inflamator imun, manifestat prin necroza acută, hipertrofie, apoptoza cardiomiocitelor și remodelare ventriculară [270]. Eliberarea TNF- α pe parcursul infarctului miocardic reflectă răspunsul de fază acută la necroza miocardului [16]. Producerea excesivă a TNF- α de către miocitele cardiace provoacă efecte detrimentală asupra cordului caracterizate prin inflamație, dilatarea ventriculului, congestie tisulară, mortalitate sporită [119].

Datele publicate menționează că creșterea precoce postIMA a TNF- α contribuie la stabilizarea funcției ventriculului stâng (VS), pe când stimularea îndelungată cu TNF- α induce disfuncția VS în faza tardivă [138][275]. În mod ideal postinfarct creșterea TNF- α trebuie să fie rapidă și tranzitorie pentru a activa expresia TNFR2 și căile de semnalizare cardioprotectoare din miocitele și fibroblastele cardiace [138][275].

Expunerea îndelungată la nivelele ridicate ale TNF- α prin intermediul TNFR1 provoacă disfuncția VS la baza căreia stau răspunsul inflamator local, activitatea sporită a MMP2, degradarea matrixului și colagenului, apoptoza cardiomiocitului [61][138][275].

Expresia TNF- α crește în concordanță cu severitatea leziunii aterosclerotice [16], reflectă activitatea procesului aterosclerotic servind biomarker de extindere a restenozei [31][138][166].

Studiile experimentale în IMA au elucidat modificările valorilor TNF- α , și anume o creștere neconcludentă în primele 2 zile, urmată de o ridicare marcată în 40 zile, fapt care relevă atât dereglarea statutului inflamator din cauza mecanismelor compensatorii, cât și cicatrizarea miocardului și epiteliului lezat [191].

Conform unor rezultate gradul de expresie a TNF- α și receptorilor săi corelează pozitiv cu dimensiunea infarctului, dereglarea funcției cardiace și riscul acestor patologii [196][270].

Analiza statistică a depistat o creștere veridică în ser a **TNF- α** de la 9.72 pg/mL, IQR 1.91 până la 11.285 pg/mL, IQR 2.34 în lotul experimental AMI.24h ($p=0.221$). În celelalte

loturi de animale valorile oscilează între 9.72 și 10.42 pg/mL – modificările nu sunt concludente (tab. 4.1).

Concentrațiile tisulare ale TNF- α au prezentat o scădere considerabilă de la 560.02 pg/g/prot, IQR 71.32 până la 383.68 pg/g/prot, IQR 50.33 în AMI.24h (starea de infarct) ($p=0.002^{**}$). În L5 nivelul se menține la cifre joase, dar este o creștere neconcludentă până la 420.65 pg/g/prot, IQR 104.05 (tab. 4.1).

Conform coeficientului neparametric de corelație ρ Spearman variabilele TNF- α ser și TNF- α homo au prezentat valorile corelației: L4 (AMI.24h) $\rho=-0.257$, pragul de semnificație p (unilateral) >0.05 ($p=0.311$); L5 (AMI.7d) $\rho=0.371$ la un prag de semnificație p (unilateral) >0.05 ($p=0.234$) (tab. 4.2), indicând tendința spre corelație slabă, negativă în starea de infarct (L4) și pozitivă postinfarct (L5) (anexa 3 B, C).

Analiza statistică a stabilit o creștere cu 16% a TNF- α serice peste 24 ore (starea de infarct), urmată de micșorarea valorilor egală cu 10% spre ziua a șaptea ($p=0.221$), dar mai mare decât la animalele intacte. Valorile tisulare ale TNF- α au prezentat o scădere considerabilă cu 31% în lotul experimental cu infarct L4 (AMI.24h) ($p=0.002^{**}$), însoțită de o creștere neconcludentă cu 6% în lotul postinfarct L5 (AMI.7d), dar fiind vădit mai joasă cu (25%) față de lotul intact (fig. 4.2).

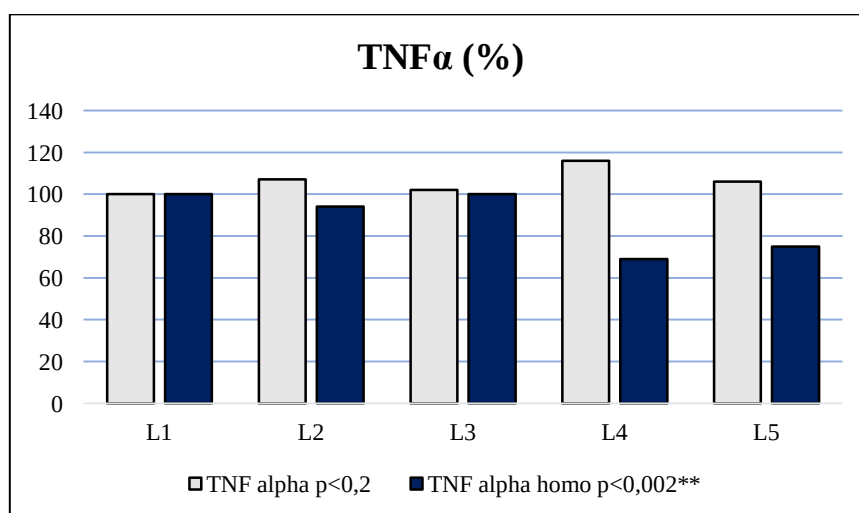


Figura 4.2 Cantitatea TNF- α

În miocardul infarctizat expresia genei TNF- α atinge vârful la 1 săptămână postinfarct și apoi descrește rapid, pe când în miocite din regiunile non-infarctizate ale miocardului RNAm TNF- α este expesat persistent din prima zi până la 5 săptămâni [25][44][270]. Dereglarea maximă a funcției și structurii cardiace are loc la 7 zile postinfarct, fapt care

corelează cronologic cu valorile de vârf ale TNF- α seric și cardiac, probabil ca consecință a supraproducerii citokinei în zona de limită a infarctului [25].

A fost accentuată legătura între supraproducerea cardiacă a TNF- α și schimbările patologice apărute în miocard – fibroza interstițială și apoptoza cardiomiocitelor [119], confirmând utilitatea nivelelor elevate ale TNF- α seric în calitate de markeri pentru identificarea pacienților cu risc înalt de dezvoltare a disfuncției organului și deces [28]. Totodată a fost propusă estimarea TNF- α ca indicator molecular a situațiilor proinflamatorii [95].

4.2. Indicii ischemiei/hipoxiei și leziunii tisulare

Ischemia miocardului este cea mai frecventă cauză care stă la baza SCA [102]. S-a stabilit cu certitudine că ischemia de lungă durată duce la moartea cardiomiocitelor, de aceea ideal ar fi să depistăm ischemia cardiacă la etapa inițială, anterior progresării sale în leziuni celulare ireversibile [41][147][254].

În prezent utilizarea biomarkerilor în diagnosticul SCA este determinată de prezența mionecrozei ca indice de substituție a ischemiei [116][231]. Este cert că markerii cardiaci ai necrozei celulare nu permit identificarea ischemiei miocardului în absența schimbărilor necrotice și nu furnizează informație veridică în primele 2-6 ore de la debutul evenimentului ischemic [41].

Dezechilibrul sistemelor prooxidative și antioxidante indus de ischemie favorizează generarea în exces a speciilor reactive de oxigen (SRO) și dezvoltarea stresului oxidativ (SO). Totodată unele studii epidemiologice recente au evidențiat că stresul psihologic provocat de dezastrele majore, de exemplu accidentul nuclear de la Cernobîl (1986) și Fukushima (2011), contribuie evident la creșterea incidenței BCV, inclusiv IMA, grație secreției sporite a hormonilor de stres responsabili de hiperglicemie, exacerbară SO, creșterea valorilor serice a colesterolului total și micșorarea HDL-C [187][271].

Intensitatea și extinderea stresului oxidativ la șobolanii cu infarct miocardic indus prin izoproterenol a fost evaluată prin estimarea în ser și homogenat a nivelului **markerilor SO** (*albumina ischemic modificată (AIM)*, *produși proteici de oxidare avansată (PPOA)*, *metaboliți NO*), **hipoxiei** (*lactat* și *activitatea lactatdehidrogenazelor L și P*) și **leziunii tisulare** (*dialdehida malonică (DAM)* și *troponina T*) (tab. 4.3 – 4.11).

4.2.1 Modificările markerilor stresului oxidativ

Stresul oxidativ alterează funcția endoteliului și joacă un rol important în patogenia bolilor cardiovasculare acute [256]. Efectele detrimentale ale SO sunt mediate de

supraproducerea prin mecanisme variate inclusiv hipoxie, ischemie/reperfuzie, inflamație, disfuncție mitocondrială, etc. a speciilor reactive de oxigen care activează căile proinflamatorii și afectează structura lipidelor, proteinelor cu perturbarea activității enzimelor [98][165].

Modificările în dinamică a markerilor SO pot servi predictor ai evoluției nefavorabile, precum și criteriu de estimare al eficacității terapiei standartizate la pacienții cu BIC stabilă [298].

Albumina ischemic modificată (AIM) reprezintă un marker sensibil, nespecific și cost-eficient care permite identificarea precoce a leziunii ischemice acute a miocardului, anterior debutului modificărilor necrotice ireversibile [41] [116] [126] [129] [189] [231] [236] [254][273].

Grație valorilor elevate a AIM la pacienții cu ischemia miocardului acest indice a fost propus și pentru diagnosticul bolii ischemice a cordului și SCA. Utilizat ca parametru biochimic alternativ ar facilita stabilirea precoce a diagnosticului clinic [126][147][164][297], îmbunătățind considerabil eficacitatea tratamentului și stratificarea riscului la pacienții suspecți pentru SCA [116][129][231].

Conform rezultatelor prezentate de *Hjortshøj S. et al.* (2009) nivele circulante ale AIM cresc imediat după debutul STEMI, ating valorile de vârf în 40 minute și revin la nivelul bazal peste 2.5 ore după revascularizarea eficientă, sugerând utilitatea evaluării AIM atunci când durata simptomelor este mai scurtă de 2-3 ore [115]. *Chawla R. et al.* (2006) și *Sbarouni E. et al.* (2008) au observat o sporire rapidă cu revenire la valorile inițiale timp de 6 ore a nivelului AIM în ischemia tranzitorie [41][241].

Rezultate contradictorii au identificat o majorare a nivelelor serice ale AIM în I și II zi postIMA [273]. Recent nu s-au înregistrat deosebiri în valorile AIM la pacienții cu și fără IM perioperator, considerându-se că au o valoare diagnostică limitată în identificarea infarctului miocardic perioperator [267].

Studii multiple au raportat valori semnificativ mai înalte ale AIM la pacienții cu SCA comparativ cu cei cu durere toracică non-ischemică [41][147][164], pe când alții au menționat o creștere neconcludentă a AIM în infarct miocardic acut [30].

O asociere nesemnificativă s-a semnalat dintre durata simptomelor și valorile de vârf ale AIM la pacienții cu STEMI, iar în NSTEMI sunt aparente fluctuații semnificative ale AIM cu valori medii mai înalte, posibil din cauza episoadelor ischemice recurente [115]. Un grup de cercetători comunică că nivelele serice ale AIM sunt evident mai înalte la pacienții cu STEMI, NSTEMI și angină instabilă versus durere toracică non-cardiacă, ce justifică că

cuantificarea AIM oferă informație diagnostică în identificarea pacienților cu ischemie miocardică acută [102].

Experimental s-a demonstrat că valorile medii ale AIM sunt semnificativ mai înalte la pacienții cu SCA, angină instabilă și IMA vs durere toracică non-ischemică și diferențe neconcludente ale AIM la pacienții cu angină instabilă și IMA. Deci AIM este utilă în diagnosticul diferențial al SCA versus durerea toracică non-ischemică, dar nu permite diferențierea între angină instabilă și IMA [231].

Tabelul 4.3 Concentrațiile markerilor stresului oxidativ

Kruskal-Wallis	AIM		PPOA	
	ser (mM/L)	homo (μM/g/prot)	ser (μM/L)	homo (μM/g/prot)
	p=0.042*	p=0.163	p=0.723	p=0.932
L1 -intact	0.280 IQR 0.025 100%	64.68 IQR 12.86 100%	92.23 IQR 29.84 100%	24.54 IQR 13.10 100%
L2 - control	0.291 IQR 0.028 101%	66.16 IQR 12.91 102%	91.17 IQR 36.35 99%	25.52 IQR 12.78 104%
L3 – AMI.6h	0.336* IQR 0.086 120%	69.67 IQR 29.21 108%	114.32 IQR 108.54 124%	22.36 IQR 7.80 91%
L4 – AMI.24h	0.304* IQR 0.046 109%	60.53 IQR 7.71 94%	111.18 IQR 92.20 121%	25.76 IQR 12.99 105%
L5 – AMI.7d	0.305* IQR 0.056 109%	69.99 IQR 11.13 108%	112.19 IQR 46.94 122%	25.27 IQR 5.24 103%

Nota: diferența statistic semnificativă în raport cu valorile grupului intact ***p<0.05**

Analiza statistică a loturilor cercetate a depistat o diferență statistic semnificativă (p=0.042*) a AIM în ser (tab. 4.3). Modificările concentrației acestor markeri în loturile de control sunt nesemnificative. Cel mai înalt nivel al AIM serice s-a înregistrat în starea de preinfarct AMI.6h (0.336 mM/L, IQR 0.086) comparativ cu lotul intact (0.28 mM/L, IQR 0.025). În evoluția afecțiunii în AMI.24h conținutul AIM s-a redus până la 0.304 mM/L, IQR 0.046, nivel menținut și în AMI.7d (starea postinfarct).

Valorile tisulare ale albuminei ischemic modificate, de asemenea nu prezintă modificări esențiale în loturile de control, dar s-au majorat de la 64.68 μM/g/prot, IQR 12.86, până la 69.67 μM/g/prot, IQR 29.21 în starea de preinfarct (AMI.6h), apoi în dinamica

evoluției afecțiunii s-au micșorat în AMI.24h până la 60.53 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 7.71. Postinfarct în AMI.7d valorile au crescut revenind la 69.99 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 11.13 ($p=0.163$) (tab. 4.3).

Tabelul 4.4 Corelațiile sero-tisulare ale markerilor stresului oxidativ

Spearman		L1 intact	L2 control	L3 AMI.6h	L4 AMI.24h	L5 AMI.7d
AIM	ρ	-0.245	-0.045	0.371	0.371	0.829
	p	0.233	0.447	0.234	0.234	0.021*
PPOA	ρ	-0.418	0.209	0.429	0.600	0.657
	p	0.100	0.269	0.198	0.104	0.078

Nota: * $p<0.05$

Variabilele AIM în ser și AIM în homo s-au analizat folosind coeficientul de corelație ρ Spearman (tab. 4.4). Lotul postinfarct (AMI.7d) a prezentat valoarea corelației $\rho=0.829$ la un prag de semnificație p (unilateral) <0.05 ($p=0.021$), indicând existența unei corelații pozitive foarte puternice (anexa 4 A).

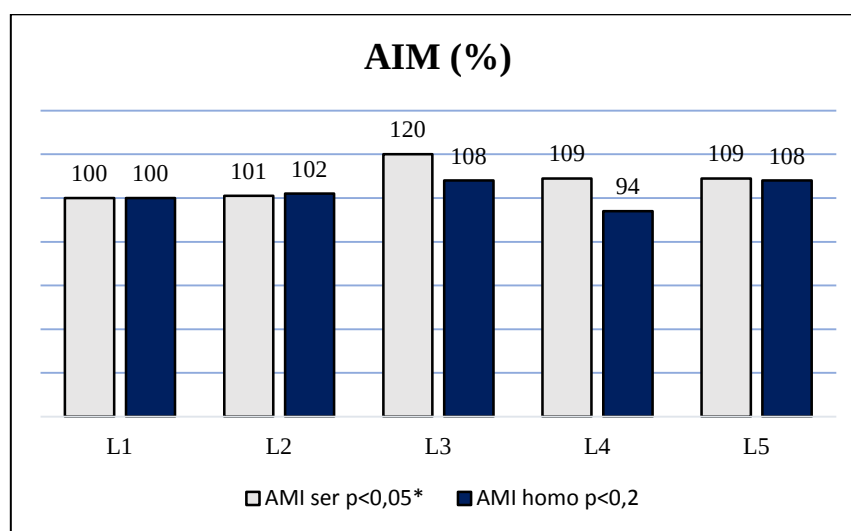


Figura 4.3 Devierile AIM

Valorile tisulare ale AIM s-au majorat inițial la 6 ore (perioada preinfarct) cu 8%, apoi în dinamică la 24 ore s-au micșorat cu 14%. La 7 zile a crescut conținutul cu 14% comparativ cu L4 (stare de infarct), revenind la valorile înregistrate în cea de preinfarct ($p=0.163$) (fig. 4.3).

Datele descrise ne permit să concluzionăm că creșterea rapidă denotă prezența leziunilor hipoxice în miocard însoțită de acumularea AIM, care este eliminată din țesutul cardiac la 24 ore.

Valorile serice ale AIM (fig. 4.3) au înregistrat cel mai înalt nivel în lotul preinfarct (L3), majorarea fiind de 20%. Evoluția ulterioară este însoțită de reducerea nivelelor AIM cu 11% la 24 ore, și menținută la 7 zile postinfarct ($p=0.042^*$), fapt care relevă trecerea modificărilor ischemice în leziuni necrotice.

Multiple studii experimentale și clinice au confirmat că AIM poate fi depistată în primele 6-10 minute de la debutul ischemiei și rămâne ridicată până la 6 ore, oferind posibilitatea de a identifica leziunile ischemice anterior dezvoltării necrozei miocardului. Conținutul ei revine la valorile inițiale în 12-24 ore datorită înlăturării radicalilor liberi sau clearance-ul accelerat al formelor cu conformația modificată [85][86][102][109][189][241]. S-a menționat o dinamică mai rapidă a AIM, și anume – majorare în câteva minute, vârful la 2-4 ore cu revinere la valorile inițiale în 6-12 ore [129][231].

AIM este depistat rapid după debutul ischemiei cardiace și rămâne majorat în condițiile ischemiei coronariene cu sau fără leziunea cardiacă, fiind un biomarker sensibil de detectare precoce a SCA la pacienții cu durere toracică acută [164][236]. Acest marker manifestă sensibilitate mai înaltă comparativ cu TnT în diagnosticul ischemiei miocardului la pacienții cu durere toracică acută [30][254]. Majorarea rapidă în etapa inițială, precum și menținerea nivelelor ridicate ale AIM confirmă utilitatea sa în calitate de marker precoce de identificare a ischemiei miocardului [71].

Au fost prezentate dovezi concludente că AIM este un predictor independent al consecințelor pe termen scurt [241] și lung la pacienții cu dureri toracice acute. Se consideră că asocierea la internare a nivelelor elevate ale AIM și TnT prezic un risc înalt de evenimente cardiace majore [85][86]. Nivelul AIM reflectă atât mărimea, cât și durata ischemiei [241], iar valoarea AIM determinată la 24 ore de la debutul simptomelor este un predictor independent și puternic al consecințelor cardiace timp de 1 an [273].

Datele obținute denotă o creștere statistic semnificativă a AIM în faza incipientă a IMA, care precede creșterea troponinelor cardiace, fiind în concordanță cu unele date publicate în literatura de specialitate [85][86].

Produșii proteici de oxidare avansată (PPOA) sunt generați în timpul stresului oxidativ prin reacția proteinelor plasmatice cu oxidanții clorinați [108][162][276]. Recent unii savanți conchid că PPOA sunt biomarkeri de preferință ai gradului modificărilor oxidative ireversibile ale proteinelor și cei mai adecvați parametri care reflectă cu acuratețe intensitatea SO în bolile aterosclerotice [98][297].

Studiile *in vitro* au demonstrat că PPOA constituie baza moleculară în patobiochimia complexă a SO, inflamației și aterogenezei, declanșând cascada de producere a SRO,

activează factorul nuclear kB (NF-kB) și transcripția mediatorilor pro-inflamatori, favorizează oxidarea LDL, cât și recrutarea leucocitelor, proliferarea celulelor musculare netede [162][297].

A fost lansată ipoteza că PPOA sunt markeri precoci, cu specificitate și sensibilitate înaltă în diagnosticul IMA, inclusiv în STEMI și cu tendință de elevare în NSTEMI [108][228][256].

În loturile de control și intact variațiile sunt mici. În lotul experimental preinfarct L3 (AMI.6h) s-a atestat o creștere veridică a PPOA serici până la 114.30 $\mu\text{M/L}$, IQR 108.54. În dinamica procesului valorile PPOA au relevat doar o tendință nesemnificativă de scădere (111.18 $\mu\text{M/L}$, IQR 92.20) în L4 (AMI.24h), și o menținere la același nivel în L5 postinfarct (AMI.7d) - 112.19 $\mu\text{M/L}$, IQR 46.94 ($p=0.723$) (tab. 4.3).

Concentrația tisulară a PPOA s-a micșorat în starea de preinfarct (AMI.6h) atingând valoare de 22.36 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 7.80. Cu apariția IMA s-a înregistrat o majorare până la 25.76 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 12.99 și o scădere neveridică până la 25.27 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 5.24 în AMI.7d (starea postinfarct) ($p=0.932$).

Analizând variabilele PPOA-ser și PPOA-homogenat cu ajutorul coeficientului neparametric de corelație ρ Spearman, au fost determinate valorile: în AMI.6h $\rho=0.429$, AMI.24h $\rho=0.600$ și AMI.7d $\rho=0.657$ p (unilateral) >0.05 (tab. 4.4), ceea ce demonstrează prezența unor corelații pozitive, moderate pentru loturile preinfarct (AMI.6h) și infarct (AMI.24h), și o corelație puternică, pozitivă în AMI.7d (starea de postinfarct) (anexa 4 B, C, D).

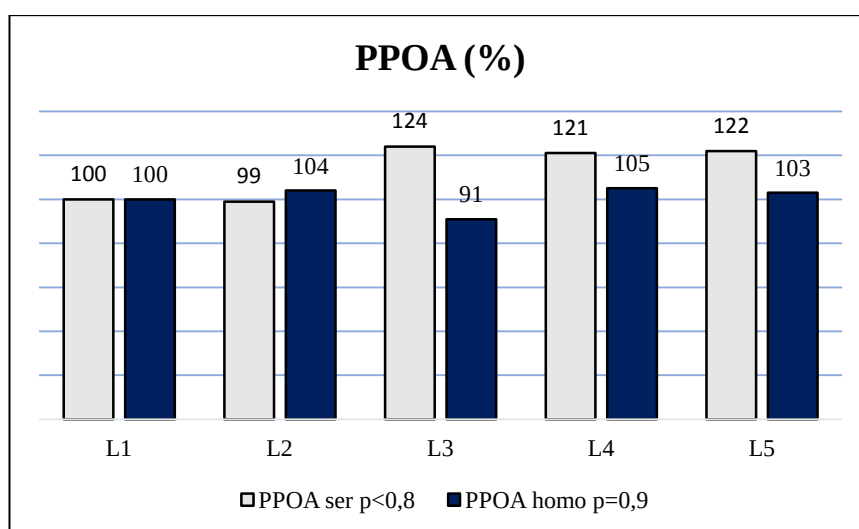


Figura 4.4 Conținutul PPOA în infarct experimental

Datele obținute în studiul nostru arată că în grupele cercetate concentrațiile PPOA nu au prezentat diferențe statistice concludente (fig. 4.4). În lotul experimental preinfarct AMI.6h (L3) s-a atestat o creștere a PPOA serici cu 24% față de cel intact, cu tendință de menținere în dinamică în stare de infarct AMI.24h (L4) și postinfarct AMI.7d (L5) ($p=0.723$).

Concentrația tisulară a PPOA s-a micșorat inițial cu 9% la 6 ore (stare preinfarct), înregistrând ulterior o majorare cu 14% în 24 ore și persistând așa spre ziua a VII postinfarct ($p=0.932$).

Rezultatele descrise sunt în concordanță cu unele date din literatura de specialitate [98][108][228][298]. Cercetările recente confirmă că PPOA reprezintă un factor de risc care contribuie la inițierea și progresarea bolii ischemice a cordului, cu rol primordial în dezvoltarea disfuncției miocardice [276][279].

Este cert că PPOA reprezintă atât biomarkeri ai lezării proteinelor induse de agenți oxidanți, precum și posibili inductori ai stresului oxidativ, proceselor inflamatorii, regenerative, de adaptare și transducție intracelulară a semnalelor [1][217][277].

Au fost aduse dovezi concludente referitor la utilitatea PPOA ca biomarkeri de preferință ai gradului modificărilor oxidative ireversibile ale proteinelor, și cel mai esențial parametru care reflectă cu acuratețe intensitatea SO în bolile aterosclerotice [98][297]. Nivelele ridicate ale PPOA au fost identificate nu doar în SCA, dar și în ateroscleroză și boli coronariene [162][256][276].

Conform unor date în maladiile cardiovasculare se înregistrează valori majorate ale **oxidului nitric** [228]. Un rol cardinal al NO a fost elucidat în instalarea și dezvoltarea IMA indus de izoproterenol, menționând o majorare a nivelului NO peste 0.5 ore după administrarea ISO, cu atingerea valorilor de vârf la 6-12 ore și revenire la valorile inițiale în 24-96 ore [53]. S-au evidențiat schimbări însoțite de creșterea treptată a activității eNOS (maxim la 24 ore) și iNOS (maxim la 12 ore) în faza preinfarct și de infarctizare urmate de micșorarea concludentă a activității ambelor izoforme în perioada postinfarct [53].

Experimental s-a demonstrat că injectarea ISO induce supraexpresia eNOS, creșterea cantității de NO responsabil de scăderea presiunii sistolice/diastolice și hipoperfuzie care rezultă în dezechilibrul energetic, apariția SO (grație formării anionului superoxid și peroxinitrit), leziuni mitocondriale și moartea celulei [53][144].

Efectele patobiochimice ale acțiunii SRO pot fi estimate și prin determinarea nivelului *metaboliților sumari ai NO (NO total), metaboliților oxidului nitric (NO_2^- și NO_3^-), și raportului NO_2^-/NO_3^-* , atât în serul sanguin, cât și în homogenat tisular.

Se consideră că nitritul circulant reprezintă un estimator atractiv al formării endoteliale a NO, pe când nitratul este util la determinarea turnoverului total azot/NO [133]. Cuantificarea formării *in vivo* (plasmă, țesut) a NO include determinarea concentrației sumare a metaboliților săi ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) în calitate de indicator de substituție a NO [133][168]. Timpul de înjumătățire a NO și raportul nitrat (NO_3^-)/nitrit (NO_2^-) depind de tipul și cantitatea SRO, pO_2 , pH, concentrația metalelor de tranziție și tiolilor [133].

Tabelele 4.5-4.7 reflectă modificările concentrației **metaboliților sumari ai NO (NO total), metaboliților oxidului nitric (NO_2^- și NO_3^-), și raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$** la șobolanii intacti cât și cu infarct miocardic acut de diferită durată de timp.

Datele prezentate în tabel confirmă că concentrația sanguină este mai labilă vs cea tisulară (tab. 4.5). S-a observat o creștere a **NO total** seric în lotul experimental AMI.6h (starea de preinfarct), cu sporirea valorilor de la 87.58 $\mu\text{M/L}$, IQR 17.05, până la 89.13 $\mu\text{M/L}$, IQR 18.61. În dinamica evoluției procesului patologic valorile NO total s-au redus până la 86.03 $\mu\text{M/L}$, IQR 6.98 în AMI.24h (starea de infarct), și au crescut cu până la 95.72 $\mu\text{M/L}$, IQR 25.77 în postinfarct ($p=0.291$).

Tabelul 4.5 Modificările nivelului NO total și a raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$

Kruskal-Wallis	NO total		Raport $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$	
	ser ($\mu\text{M/L}$)	homo ($\mu\text{M/g/prot}$)	ser	homo
	p=0.291	p=0.189	p=0.993	p=0.359
L1 -intact	87.58 IQR 17.05 100%	15.06 IQR 1.71 100%	1.46 IQR 0.61 100%	1.23 IQR 0.28 100%
L2 - control	92.23 IQR 20.15 105%	15.09 IQR 2.52 100%	1.51 IQR 0.94 103%	1.34 IQR 0.25 109%
L3 – AMI.6h	89.13 IQR 18.61 102%	16.37 IQR 1.71 109%	1.43 IQR 3.07 98%	1.23 IQR 0.35 100%
L4 – AMI.24h	86.03 IQR 6.98 98%	15.34 IQR 1.53 102%	1.45 IQR 0.70 99%	1.28 IQR 0.13 104%
L5 – AMI.7d	95.72 IQR 25.77 109%	16.04 IQR 1.86 107%	1.41 IQR 0.49 96%	1.39 IQR 0.60 113%

Nota: diferența statistic semnificativă în raport cu valorile grupului intact: * $p<0.05$

Concentrația NO total în homogenat suferă modificări în preinfarct – s-a majorat de la 15.06 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 1.71 determinate la animalele intacte, până la 16.37 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR

1.71. Apoi s-a înregistrat o scădere în AMI.24h (până la 15.34 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 1.53), dar este nesemnificativă față de loturile de control. În AMI.7d se observă o sporire până la 16.04 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 1.86 ($p=0.189$) (tab. 4.5).

Tabelul 4.6 Corelațiile sero-tisulare ale metaboliților oxidului nitric

Spearman		L1 intact	L2 control	L3 AMI.6h	L4 AMI.24h	L5 AMI.7d
NO total	ρ	0.376	0.655	-0.200	0.714	-0.086
	p	0.127	0.014*	0.352	0.055	0.436
NO_2^-	ρ	-0.219	0.296	0.771	-0.086	0.493
	p	0.259	0.188	0.036*	0.436	0.160
NO_3^-	ρ	0.323	0.114	0.486	0.638	0.143
	p	0.166	0.369	0.164	0.087	0.394
Raport $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$	ρ	0.287	0.041	0.886	0.771	0.899
	p	0.196	0.452	0.009**	0.036*	0.007**

Nota: * $p<0.05$; ** $p<0.01$

Valoarea coeficientului neparametric de corelație ρ Spearman în lotul experimental L4 (infarct) $\rho=0.714$, p (unilateral) >0.05 ($p=0.055$) (tab. 4.6) indică tendința spre o corelație puternică, pozitivă (anexa 5, fig. A5.2 A).

Tabelul 4.7 Estimarea concentrației metaboliților NO

Kruskal-Wallis	NO_2^-		NO_3^-	
	ser ($\mu\text{M/L}$)	homo ($\mu\text{M/g/prot}$)	ser ($\mu\text{M/L}$)	homo ($\mu\text{M/g/prot}$)
	p=0.378	p=0.347	p=0.785	p=0.157
L1 -intact	52.70 IQR 5.43 100%	8.52 IQR 1.38 100%	35.65 IQR 10.07 100%	7.10 IQR 1.54 100%
L2 - control	56.58 IQR 10.85 107%	8.71 IQR 0.81 102%	40.30 IQR 17.05 113%	6.25 IQR 1.58 88%
L3 – AMI.6h	54.64 IQR 11.24 104%	8.85 IQR 2.04 104%	38.37 IQR 26.35 108%	7.48 IQR 0.89 105%
L4 – AMI.24h	53.87 IQR 6.78 102%	8.36 IQR 0.83 98%	35.27 IQR 9.49 99%	6.87 IQR 1.12 97%
L5 – AMI.7d	59.29 IQR 19.38 113%	9.22* IQR 0.55 108%	39.14 IQR 14.72 110%	6.69 IQR 2.23 94%

Nota: diferența statistic semnificativă în raport cu valorile grupului intact: * $p<0.05$

Nivelul NO_2^- seric (tab. 4.7) a crescut în lotul experimental L3 (AMI.6h) de la 52.70 $\mu\text{M/L}$, IQR 5.43 până la 54.64 $\mu\text{M/L}$, IQR 11.24. În dinamică valorile NO_2^- au demonstrat o tendință de scădere până la 53.87 $\mu\text{M/L}$, IQR 6.78 în L4 (AMI.24h). Aceste valori se găsesc în limitele oscilațiilor determinate și în loturile de control. O creștere până la 59.29 $\mu\text{M/L}$, IQR 19.38 se depistează în L5 (AMI.7d) ($p=0.378$).

Concentrația tisulară a NO_2^- s-a majorat de la 8.52 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 1.38 (lotul intact) până la 8.85 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 2.04 în preinfarct (AMI.6h), înregistrând apoi o diminuare în starea de infarct (AMI.24h) până la 8.36 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 0.83. O creștere până la 9.22 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 0.55 postinfarct în AMI.7d ($p=0.347$) (tab. 4.7). E cert o creștere semnificativă a valorilor sanguine și tisulare în stările postinfarct.

Variabilele NO_2^- în ser și NO_2^- în homogenat analizate prin utilizarea coeficientului ρ Spearman (tab. 4.6) au indicat valoarea corelației $\rho=0.771$, p (unilateral) <0.05 ($p=0.036^*$) în AMI.6h (preinfarct), fapt ce confirmă o corelație puternică, pozitivă (anexa 5, fig. A5.1A). Totodată s-a demonstrat tendința unei corelații pozitive, moderate în lotul AMI.7d (postinfarct) cu $\rho=0.493$ la un prag de semnificație p (unilateral) >0.05 ($p=0.16$) (anexa 5, fig. A5.1 B).

Valorile serice ale NO_3^- (tab. 4.7) inițial s-au majorat de la 35.65 $\mu\text{M/L}$, IQR 10.07 (șobolani intacti) până la 38.37 $\mu\text{M/L}$, IQR 26.35 în L3, apoi în dinamică s-au redus până la 35.27 $\mu\text{M/L}$, IQR 9.49 în L4. În L5 au crescut până la 39.14 $\mu\text{M/L}$, IQR 14.72 ($p=0.785$). Modificările menționate se includ în limitele celor descrise și în loturile de control.

Cel mai înalt nivel al NO_3^- tisular a fost identificat în starea de preinfarct lotul AMI.6h (7.48 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 0.89) la comparare cu lotul intact (7.10 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 1.54). Ulterior s-a atestat o micșorare în AMI.24h până la 6.87 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 1.12. În AMI.7d (postinfarct) se depistează o concentrație de 6.69 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 2.23 ($p=0.158$) (tab. 4.7).

Pentru variabilele cercetate NO_3^- în ser și NO_3^- în homogenat coeficientul neparametric de corelație ρ Spearman a prezentat valorile: $\rho=0.486$ p (unilateral) >0.05 ($p=0.164$) în L3; și $\rho=0.638$ p (unilateral) >0.05 ($p=0.087$) în L4 (tab. 4.6), indicând respectiv tendința spre o corelație pozitivă, moderată în lotul AMI.6h (preinfarct) și puternică pentru AMI.24h (starea de infarct) (anexa 5, fig. A5.1 C, D).

În serul sanguin (tab. 4.5) a fost identificată o scădere a *raportului* $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ de la valorile lotului intact (1.46, IQR 0.61) până la 1.43, IQR 3.07 în L3, tendință care se păstrează în L4 (1.45, IQR 0.70) și L5 (1.41, IQR 0.49) ($p=0.993$).

Concomitent în homogenatul cardiac raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ s-a majorat de la 1.23, IQR 0.28 înrestristrate la șobolanii intacti, până la 1.28, IQR 0.13 în L4, și o tendință de creștere (1.39, IQR 0.60) în L5 ($p=0.359$) (tab. 4.5).

La analiza variabilelor raport $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ în ser și raport $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ în homogenat cu ajutorul coeficientului de corelație ρ Spearman, în loturile experimentale au fost determinate următoarele valori: AMI.6h $\rho=0.886$, p (unilateral) <0.01 ($p=0.009^{**}$); AMI.24h $\rho=0.771$ p (unilateral) <0.05 ($p=0.036^*$) și AMI.7d $\rho=0.899$, p (unilateral) <0.01 ($p=0.007^{**}$) (tab. 4.6). Cele descrise demonstrează o corelație pozitivă, moderată pentru starea de infarct (AMI.24h), și o legătură foarte puternică în stările de preinfarct (AMI.6h) și postinfarct (AMI.7d) (anexa 5, fig. A5.2 B, C, D).

Variațiile înregistrate de metabolizii NO în infarctul miocardic indus de izoproterenol sunt prezentate în figura 4.5.

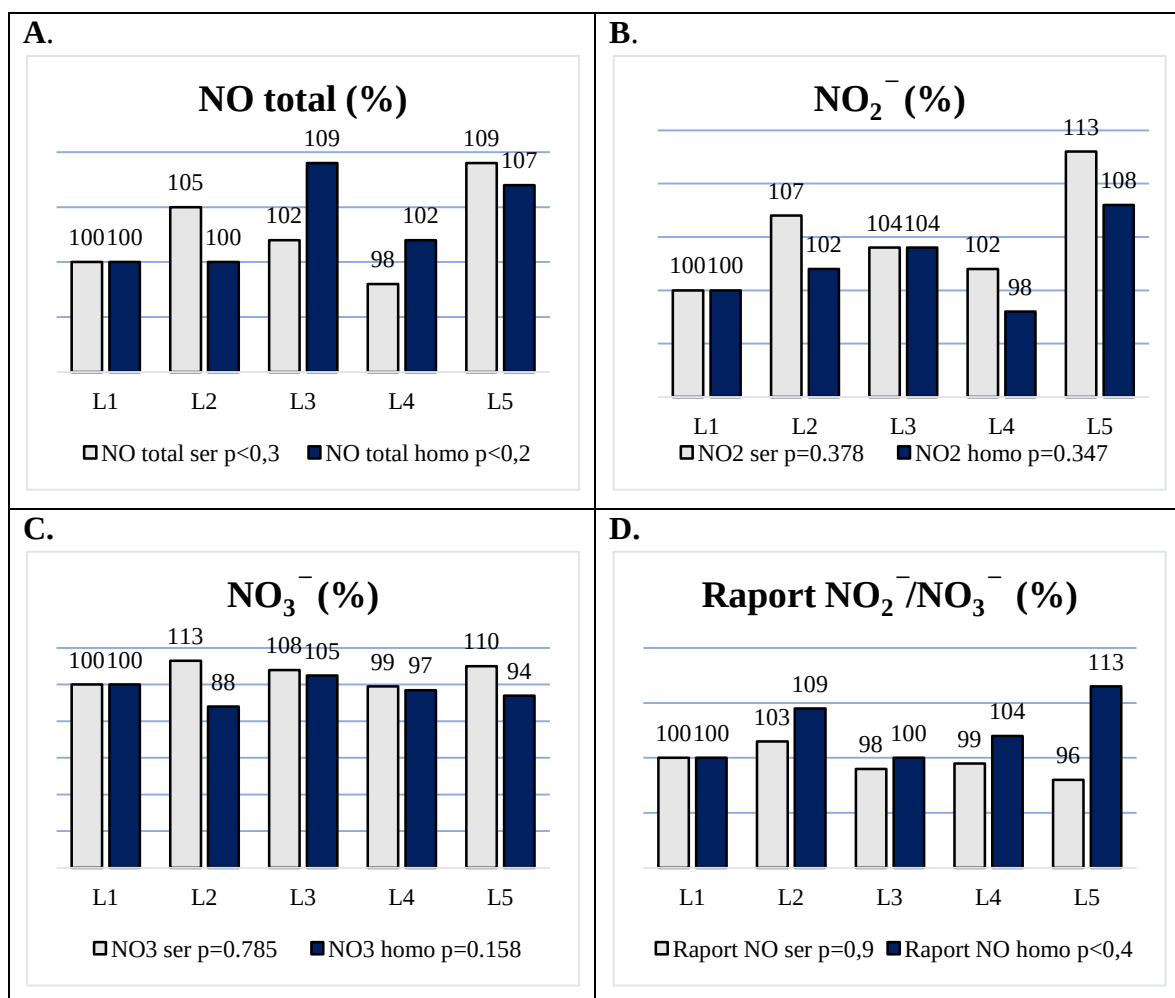


Figura 4.5 Modificările metabolizilor NO în infarct miocardic experimental

La evaluarea modificărilor concentrației **NO total** (fig. 4.5 A) nu au fost atestate diferențe veridice în ser sau în țesut. Totuși în starea de preinfarct cantitatea de NO total crește cu 9% în homogenat și este cu mult mai mare decât în ser. În faza următoare are loc o micșorare neconcludentă în ambele situații, cu tendință de creștere în faza următoare.

Nivelul NO_2^- seric a crescut în lotul experimental preinfarct – AMI.6h (L3) cu 4% față de cel intact (fig. 4.5 B). În dinamică valorile NO_2^- au demonstrat o tendință de scădere cu 2% în starea de infarct AMI.24h (L4) și o creștere cu 11% în lotul postinfarct AMI.7d (L5), comparativ cu indicii determinați în L3 și L4 respectiv. Concentrația tisulară a NO_2^- s-a majorat cu 4% în L3 preinfarct, înregistrând apoi o diminuare cu 6% în L4 (infarct) și o creștere egală cu 10% în L5 (postinfarct).

La 6 ore după modelarea experimentală valorile serice ale NO_3^- inițial s-au majorat cu 8%, ulterior în dinamică în 24 ore s-au redus nesemnificativ și au crescut cu 11% la a 7 zi (fig. 4.5 C). Cel mai înalt nivel al NO_3^- tisular a fost identificat în L3 la comparare cu lotul intact, creșterea fiind egală cu 5%. Ulterior s-a atestat o micșorare în L4 cu 8% și cu 3% în L5.

Valorile **raportului** $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ seric au înregistrat o tendință continuă de scadere în loturile cu infarct experimental, egală cu 4% în lotul postinfarct (fig. 4.5 D). Concomitent în homogenat raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ a crescut cu 4% în 24 ore și cu 13% în ziua a VII postinfarct.

Datele publicate indică o micșorare concludentă a NO în IMA atât la pacienții normo-, cât și hiperglicemici, unde insuficiența de NO este asociată cu mortalitate intraspitalicească mai înaltă [108]. O scădere semnificativă a cantității de NO a fost depistată după 12 ore în IMA experimental fără modificări evidente în dinamică. În ischemie-reperfuzie s-a înregistrat o reducere concludentă la 12, 24, 48 și 72 ore [295], contradictoriu rezultatelor obținute în studiul nostru.

4.2.2 Estimarea indicilor hipoxiei tisulare

Este indiscutabil faptul că ischemia cardiacă dereglează dramatic metabolizarea substratelor. Au fost aduse dovezi că modificările precoce induse de ischemie sunt instalarea metabolismului anaerob, producerea de lactat și acidoza tisulară, pe când necroza – cu eliberarea enzimelor cardiace (de ex. troponinele) apare mai târziu [225].

Lactatul miocardic este un marker al metabolismului anaerob care bine corelează cu gradul ischemiei, fiind considerat biomarker al hipoperfuziei și hipoxiei tisulare [130][145]. Ipoteza că evaluarea lactatului reprezintă un mijloc suplimentar util în diagnosticul precoce al IMA și leziunilor miocardului rămâne actuală [204].

Hiperlactatemia este creșterea moderată a concentrației lactatului seric (2-4 mmol/L), iar acidoza lactică reprezintă o formă a acidozei metabolice caracterizată de nivelul lactatului >5 mmol/L [9]. Valorile obișnuite ale raportului lactat/piruvat sunt 10:1, creșterea indicilor (>10:1) fiind caracteristică hipoxiei tisulare [130].

Acumularea progresivă de lactat și acidoza celulară sunt asociate cu alterarea contractilității miocardului, fiind un factor de risc în dezvoltarea aritmiilor [225].

S-a demonstrat experimental că hiperlactemia este un marker al răspunsului la stresul metabolic, asociat hipoxiei, SO și leziunii ischemice a miocardului [152][284]. În IMA are loc sporirea moderată a lactatului seric, hipoxia tisulară favorizând generarea crescută și eliminarea lentă a lactatului, iar deficitul sistemic de oxigen și colapsul circulator majorează valorile lactatului până la nivelele tipice acidozei [9].

În reperfizie eliberarea periferică a lactatului servește predictor independent al sindromului de debit cardiac scăzut postoperator, iar generarea persistentă a lactatului sugerează o recuperare întârziată a metabolismului miocardic aerob și corelează cu complicațiile hemodinamice mai severe [204][225].

Tabelul 4.8. Estimarea indicilor hipoxiei tisulare în infarct miocardic experimental

Kruskal-Wallis	Lactat		LDH-P (LDH ₅)		LDH-L (LDH ₁)	
	ser (mM/L)	homo (mM/g/prot)	ser (u/L)	homo (u/g/prot)	ser (u/L)	homo (u/g/prot)
	p=0.169	p=0.007**	p=0.0002***	p=0.983	p=0.198	p=0.287
L1 -intact	4.91 IQR 1.57 100%	4.32 IQR 0.41 100%	278.85 IQR 122.94 100%	0.57 IQR 0.29 100%	382.60 IQR 54.98 100%	364.03 IQR 62.41 100%
L2 - control	4.69 IQR 1.06 96%	4.28 IQR 0.64 99%	314.34 IQR 199.00 113%	0.57 IQR 0.44 100%	429.73 IQR 144.74 112%	331.86 IQR 97.04 91%
L3 – AMI.6h	4.09 IQR 1.30 83%	3.47* IQR 0.80 80%	56.41** IQR 29.78 20%	0.79 IQR 1.56 139%	480.22* IQR 92.57 126%	352.90 IQR 32.14 97%
L4 – AMI.24h	5.85 IQR 2.76 119%	4.33 IQR 0.44 100%	245.90 IQR 160.66 88%	0.67 IQR 0.48 117%	414.58 IQR 212.34 108%	366.78 IQR 110.65 101%
L5 – AMI.7d	4.48 IQR 1.67 91%	3.91** IQR 0.23 90%	396.48* IQR 23.13 133%	0.58 IQR 0.44 102%	407.29 IQR 149.79 107%	381.28 IQR 47.04 105%

Nota: diferența statistic semnificativă în raport cu valorile grupului intact: *p<0.05;

p<0.01; *p<0.001

Grupele investigate au prezentat diferențe statistice veridice pentru conținutul tisular ($p=0.007^{**}$) al **lactatului** (tab. 4.8).

Concentrația lactatului atât în serul sanguin, cât și în țesutul miocardic, în loturile de control nu prezintă devieri veridice. S-a depistat o micșorare a nivelului de lactat seric până la 4.09 mM/L, IQR 1.30 în lotul experimental preinfarct L3 (AMI.6h), urmată în L4 – starea de infarct (AMI 24h) de creșterea valorilor (5.85 mM/L, IQR 2.76). În L5 postinfarct (AMI.7d) se stabilește o concentrație de 4.48 mM/L, IQR 1.67 ($p=0.169$) – mult mai joasă decât în L4 (starea de infarct).

Valorile tisulare ale lactatului au înregistrat o scădere considerabilă de la 4.32 mM/g/prot, IQR 0.41 (animale intacte) până la 3.47 mM/g/prot, IQR 0.80 în grupul AMI.6h (preinfarct). În AMI.24h are loc revenirea la valorile inițiale (4.33 mM/g/prot, IQR 0.44). Cu progresul mai departe în L5 (postinfarct) se observă micșorarea conținutului de lactat atingând valorile de 3.91 mM/g/prot, IQR 0.23 ($p=0.007^{**}$) (tab. 4.8)

Variabilele lactatul în ser și în homogenat au fost analizate folosind coeficientul neparametric de corelație ρ Spearman (tab. 4.9). În AMI.6h (preinfarct) ρ este egal cu -0.714, p (unilateral) >0.05 ($p=0.055$) și relevă tendința unei corelații negative puternice (anexa 6 A).

Tabelul 4.9 Corelațiile sero-tisulare a indicilor hipoxiei

Spearman		L1 intact	L2 control	L3 AMI.6h	L4 AMI.24h	L5 AMI.7d
Lactat	ρ	0.073	0.474	-0.714	-0.257	-0.314
	p	0.416	0.070	0.055	0.311	0.272
LDH-P (LDH ₅)	ρ	0.068	-0.083	0.543	0.143	-0.853
	p	0.421	0.404	0.133	0.394	0.015*
LDH-L (LDH ₁)	ρ	-0.155	0.173	0.657	-1.000	-0.086
	p	0.325	0.306	0.078	***	0.436

Nota: * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$

Studiul nostru a identificat (fig. 4.6) o micșorare a nivelului de lactat seric cu 20% în lotul experimental preinfarct AMI.6h (L3), urmată în AMI24h (L4) de creșterea valorilor cu 36% față de starea precedentă și scăderea cu 28% în lotul postinfarct AMI.7d (L5).

Valorile tisulare ale lactatului au înregistrat aceeași tendință de modificare, dar la un nivel mai jos în starea de infarct.

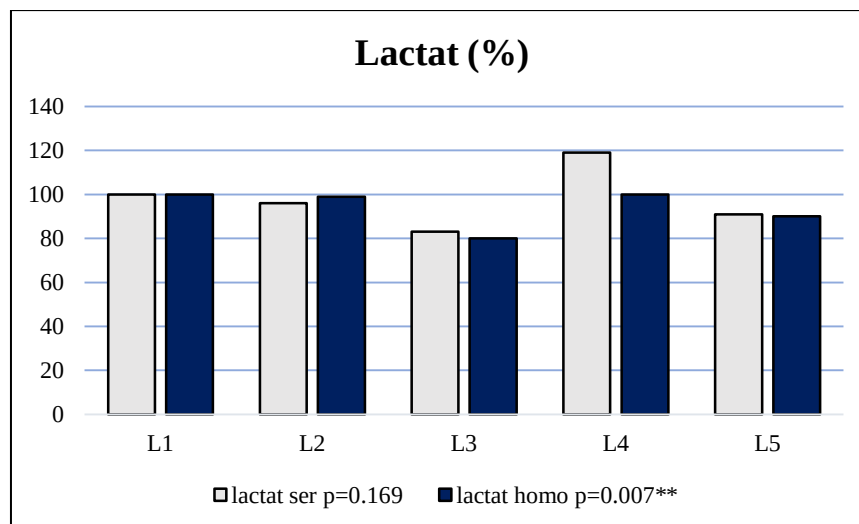


Figura 4.6. Estimarea lactatului în infarct miocardic experimental

Este descrisă asocierea pozitivă între valorile serice ale lactatului și ale troponinei I (markerul necrozei miocardului) [130][204]. Evaluarea lactatului reprezintă un mijloc suplimentar în diagnosticul precoce a leziunilor ischemice a miocardului în IMA [284]. Experimental s-a identificat o scădere a lactatului seric peste 10 minute după inducerea ischemiei [59].

Și unele date mai moderne sugerează evaluarea precoce a lactatului în STEMI atât în calitate de factor de pronostic al mortalității pe termen scurt, cât și pentru identificarea subpopulației cu risc înalt de dezvoltare a șocului cardiogen [82][145]. Concentrațiile serice ale lactatului au un impact semnificativ asupra pronosticului BCV indicând o asociere între lactatul seric ridicat (≥ 2.5 mmol/L) și dezvoltarea tardivă a șocului cardiogen [90][145].

Rezultatele obținute confirmă că lactatul în calitate de marker al IM reflectă dereglările metabolice asociate hipoxiei, fiind util în diagnosticul IMA suplimentar troponinelor cardiace.

Lactat dehidrogenaza (LDH) (EC 1.1.1.27; L-lactat: nicotinamid adenin dinucleotid [NAD^+] oxidoreductaza), reprezintă o enzimă glicolică intracelulară liberă cu localizare în citosol, care catalizează interconversia piruvatului și lactatului însoțită de transformarea cofactorului NADH și/sau NAD^+ [160][210]. Este eliberată în spațiul extracelular ca rezultat al lezării membranei sarcolemice, confirmând faptul că prezența extracelulară a enzimei este întotdeauna asociată cu necroza celulară și distrugerea țesutului [150][173][220].

S-a demonstrat că LDH reprezintă un tetramer alcătuit din două subunități majore LDHA (musculară, M) și LDHB (cardiacă, H), asamblat în 5 izoforme: homotetramerul LDH_5 (A4, LDHA) se conține preponderant în mușchii scheletali, pe când LDH_1 (B4, LDHB) există

primar în cardiomiocite și alte țesuturi oxigenate (normoxia). Izoformele LDH₂ (A1B3), LDH₃ (A2B2) și LDH₄ (A3B1) sunt tetrameri hibrizi [226].

LDH₅ umană (hLDH5) catalizează transformarea anaerobă a piruvatului în lactat cuplată cu oxidarea NADH în NAD⁺, pe când LDH₁ umană (hLDH1) favorizează reacția opusă de oxidare aerobă a lactatului. În prezent LDH este utilizată ca indicator indirect al extinderii leziunii necrotice.

Izoenzimele cardiospecifice LDH₁ și LDH₂ pot fi eliberate în circulație grație necrozei provocate de izoproterenol [244]. Concentrația LDH₁ se menține ridicată până la o săptămână postinfarct, astfel permite identificarea tardivă a accidentului cardiac, când concentrațiile celorlalți biomarkeri au revenit la valorile inițiale [29]. S-a confirmat că valorile înalte a LDH la internare sunt indicatorii unei adresări târzii [112].

Eliberarea LDH în perfuzie este pe larg utilizată ca marker surogat în estimarea dimensiunilor infarctului, fiind acceptabilă și pentru monitorizarea în dinamică a leziunii celulare rapide în modelele cordului izolat [220]. S-a constatat că eliberarea LDH este mai înaltă în reoxigenare comparativ cu ischemia, demonstrând cu certitudine că leziunea prin perfuzie este cauza majoră pentru eliberarea LDH [220]. Unele studii au relatat că ieșirea din țesut a LDH poate continua până la 96 ore postinfarct, respectiv în infarctele mai extinse perioada este mai îndelungată. Din considerente practice s-a propus de a determina cantitatea LDH la 72 ore ca marker enzimatic de preferință la estimarea dimensiunilor IM, evaluarea eficacității perfuziei și prezicerea consecințelor clinice [69].

Unele date publicate arată că activitatea serică a LDH este semnificativ mai înaltă în BIC comparativ cu lotul de control [173]. În alt studiu se confirmă că valorile majorate a LDH la internare, grație asocierii cu infarct miocardic mai extins, rata mai ridicată a consecințelor adverse, reprezintă un biomarker simplu și predictiv a perfuziei ineficiente, consecințelor clinice nefaste, precum și mortalității pe termen scurt și lung [112].

Modificările activității în ser a **LDH-P (LDH₅)** au prezentat o diferență semnificativă ($p=0.0002^{***}$) (tab. 4.8). Cea mai mică activitate a LDH-P (LDH₅) s-a atestat în starea preinfarct AMI.6h (56.41 u/L, IQR 29.78) la comparare cu lotul intact (278.85 u/L, IQR 122.94). În dinamică activitatea LDH-P (LDH₅) a crescut în AMI.24h (245.90 u/L, IQR 160.66), și în AMI.7d (396.48 u/L, IQR 23.13). Cea mai mare activitate s-a depistat în starea de postinfarct.

Activitatea LDH-P (LDH₅) în homogenat a fost cea mai înaltă în starea de preinfarct (AMI.6h) (0.79 u/g/prot, IQR 1.56) față de lotul intact (0.57 u/g/prot, IQR 0.29). În AMI.24h s-a identificat reducerea activității enzimei (0.67 u/g/prot, IQR 0.48), tendință care se menține

și postinfarct în AMI.7d (0.58 u/g/prot, IQR 0.44) ($p=0.983$) (tab. 4.8). Cea mai mică activitate s-a înregistrat în lotul postinfarct.

Pentru variabilele cercetate LDH-P (LDH_5) serică și LDH-P (LDH_5) tisulară coeficientul de corelație ρ Spearman a prezentat valorile: în L3 AMI.6h $\rho=0.543$ p (unilateral) >0.05 ($p=0.133$); și în L5 AMI.7d $\rho=-0.853$ p (unilateral) <0.05 ($p=0.015^*$) (tab. 4.9), caracteristice pentru tendința spre o corelație moderată, pozitivă în AMI.6h (preinfarct) și o legătură foarte puternică, negativă în AMI.7d (postinfarct) (anexa 6 B, C).

În lotul experimental preinfarct AMI.6h s-a atestat o creștere a activității **LDH-L** (**LDH_1**) serice (tab. 4.8), ce a determinat sporirea valorilor de la 382.60 u/L, IQR 54.98 (lotul intact) până la 480.22 u/L, IQR 92.57. În dinamică s-a constatat scăderea activității enzimei până la 414.58 u/L, IQR 212.34 în AMI.24h (starea de infarct), și până la 407.29 u/L, IQR 149.79 în lotul postinfarct AMI.7d, valorile fiind mai înalte decât la șobolanii intacti ($p=0.198$).

LDH-L (LDH_1) tisulară a înregistrat următoarele modificări ale activității (tab. 4.8): o micșorare neînsemnată de la 364.03 u/g/prot, IQR 62.41 caracteristice lotului intact, până la 352.90 u/g/prot, IQR 32.14 în AMI.6h (preinfarct), urmate de creștere repetată a valorilor în AMI.24h (infarct) (366.78 u/g/prot, IQR 110.65) și postinfarct AMI.7d (381.28 u/g/prot, IQR 47.04), activitatea fiind superioară celei înregistrate în loturile de control ($p=0.287$).

Analizând variabilele LDH-L (LDH_1) în ser și în homogenat prin utilizarea coeficientului ρ Spearman, în lotul preinfarct AMI.6h s-a determinat $\rho=0.657$ p (unilateral) >0.05 ($p=0.078$), fapt ce denotă tendința unei corelații pozitive, puternice. Totodată în AMI.24h (starea de infarct) valoarea corelației $\rho=-1.000$ arată existența unei legături negative foarte puternice (tab. 4.9) (anexa 6 D, E).

În figura 4.7 este reprezentată activitatea lactat dehidrogenazelor P și L (LDH_5 și LDH_1).

Rezultatele obținute de noi indică că cea mai mică activitate a LDH-P (LDH_5) serice (fig. 4.7 A) s-a atestat în starea preinfarct AMI.6h (L3), reducerea fiind egală cu 80% la comparare cu lotul intact. În dinamică activitatea enzimei a crescut în AMI.24h (L4) cu 68% și cu 45% în starea postinfarct AMI.7d (L5), fiind mult mai mare (cu 33%) decât în control.

În faza de preinfarct activitatea LDH-P (LDH_5) tisulară a înregistrat o creștere egală cu 39%, urmată de micșorarea activității enzimei cu 22% în 24 ore comparativ cu starea anterioară, și cu 15% la 7 zile, față de starea precedentă.

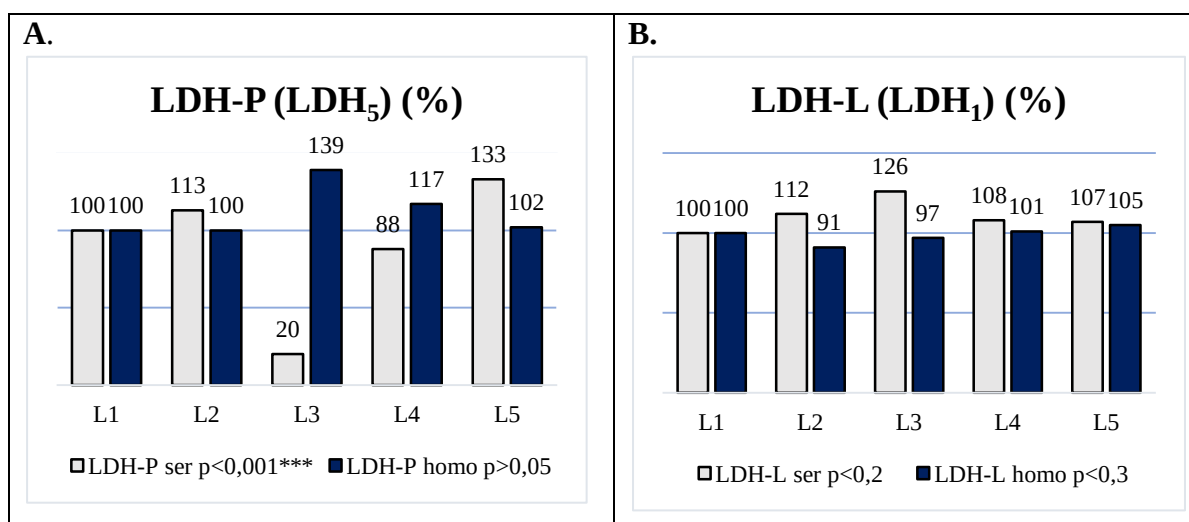


Figura 4.7 Activitatea lactat dehidrogenazelor în infarct experimental

Totodată (fig. 4.7 B) în lotul experimental preinfarct AMI.6h (L3) s-a atestat o creștere a activității LDH-L (LDH₁) serice cu 26% față de cel intact, apoi în dinamică s-a constatat scăderea activității enzimei cu 16% în AMI.24h (L4) și menținerea nivelului atins postinfarct în AMI.7d (L5). LDH-L (LDH₁) tisulară a înregistrat în perioada preinfarct o micșorare neînsemnată cu 3%, urmată de creștere repetată a valorilor cu 4% peste 24 ore și spre ziua VII postinfarct.

Experimental s-a demonstrat că nivelul seric al LDH totale crește în 24-72 ore postIMA, atinge valorile de vârf în 3-4 zile și se menține majorat de la 8 până la 14 zile, astfel LDH este un marker tardiv al IMA [51][244]. Concomitent s-a observat că activitatea LDH₁ este de obicei mai joasă decât LDH₂, însă postinfarct activitatea LDH₁ crește depășind nivelul LDH₂, fenomen denumit “*model LDH inversat*” [51][150].

A fost indicată prezența unei corelații semnificative puternice între TnT și LDH [132]. Se menționează utilitatea LDH în calitate de indicator indirect al extinderii leziunilor tisulare necrotice, inclusiv infarctului miocardic, marker nespecific al inflamației și hemolizei, deși în era pretroponinică a fost utilizată pe larg în diagnosticul biochimic al IMA la pacienții cu dureri toracice [51][127][288]

4.2.3 Importanța diagnostică a indicilor integrității structurale

Este stabilit că în patogeneza IM rolul cardinal revine speciilor reactive de oxigen (SRO) care interacționând cu lipidele membranare declanșează reacțiile de peroxidare în lanț rezultând în formarea peroxizilor și hidroperoxizilor lipidici implicați în deteriorarea țesuturilor *in vivo* [15][132][135][172].

Studiile confirmă că **dialdehida malonică (DAM)** reprezintă unul din markerii POL utilizat în estimarea SO [15][109][117][172]. DAM, un indicator veridic al leziunii oxidative a celulelor și țesuturilor, este biomarker al leziunilor membranei celulare [97]. Estimarea cantitativă a DAM poate fi un parametru excelent în aprecierea leziunilor oxidative în IMA. Se consideră că nivelul DAM reflectă indirect atât gradul POL, cât și cantitatea de radicali liberi [172][212][295].

Aprecierea nivelului DAM în infarctul miocardic acut indică un dezechilibru între mecanismele oxidative și de protecție, fapt care favorizează dezvoltarea stresului oxidativ la pacienții cu IMA [212]. Valorile semnificativ crescute ale DAM corespund etapei precoce a stresului oxidativ [97], indicând prezența leziunilor membranei cardiomiocitului induse de speciile reactive de oxigen [132]. Și alte surse confirmă că la baza maladiilor cardiovasculare se află SO exacerbat indus de SRO și POL, fapt argumentat prin valorile semnificativ mai înalte ale DAM la pacienții respectivi [97][109][172].

Experimental s-a demonstrat că fenomenele de ischemie/reperfuzie induc formarea în miocard a DAM: în ischemie se acumulează cantități mici, dar detectabile; pe când în reperfuzie are loc o creștere marcată [23][126][295]. În sindromul coronarian acut nivelul DAM este semnificativ mai înalt la pacienții nediabetici cu IMA [22][26][212][264].

Tabelul 4.10 Dinamica markerilor integrității tisulare

Kruskal-Wallis	DAM		TnT	
	ser (μM/L)	homo (μM/g/prot)	ser (pg/mL)	homo (pg/g/prot)
	p=0.843	p=0.036*	p=0.646	p=0.003**
L1 -intact	19.08 IQR 4.76 100%	4.47 IQR 0.78 100%	239.74 IQR 202.82 100%	127.78 IQR 20.93 100%
L2 - control	20.07 IQR 4.17 105%	4.70 IQR 1.25 105%	260.80 IQR 109.63 109%	125.23 IQR 53.36 98%
L3 – AMI.6h	20.07 IQR 4.03 105%	4.60 IQR 0.78 103%	289.51 IQR 106.24 121%	139.52 IQR 37.51 109%
L4 – AMI.24h	20.47 IQR 3.87 107%	3.59** IQR 0.47 80%	258.21 IQR 47.61 108%	93.80** IQR 17.86 73%
L5 – AMI.7d	20.57 IQR 5.26 108%	4.50 IQR 0.38 101%	309.85 IQR 110.35 129%	117.04* IQR 16.02 92%

Nota: diferența statistic semnificativă în raport cu valorile grupului intact ***p<0.05**;

****p<0.01**

Concentrațiile **dialdehidei malonice** sunt redade în tabelul 4.10. Conform celor expuse modificările au fost statistic veridice în homogenat ($p=0.036^*$). S-a observat o creștere a nivelului DAM serice de la 19.08 $\mu\text{M/L}$, IQR 4.76 în condiții de control, până la 20.07 $\mu\text{M/L}$, IQR 4.03 la L3 (AMI.6h). Tendința depistată de majorare se menține în lotul cu infarct AMI.24h (L4) (20.47 $\mu\text{M/L}$, IQR 3.87) și postinfarct AMI.7d (L5) (20.57 $\mu\text{M/L}$, IQR 5.26).

În homogenat concentrația DAM a manifestat o majorare de la 4.47 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 0.78 înregistrate la șobolani intacti, până la 4.60 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 0.78 în lotul preinfarct AMI.6h (L3). O scădere până la 3.60 $\mu\text{M/g/prot}$, IQR 0.47 s-a depistat în L4 – starea de infarct (AMI.24h). O revenire la valori inițiale s-a observat postinfarct în AMI.7d (L5) (4.50 $\mu\text{M/g.prot}$, IQR 0.38) ($p=0.843$) (tab. 4.10).

Tabelul 4.11 Corelațiile sero-tisulare ale indicilor integrității structurale

Spearman		L1 intact	L2 control	L3 AMI.6h	L4 AMI.24h	L5 AMI.7d
DAM	ρ	-0.178	-0.364	0.714	0.829	-0.314
	p	0.301	0.136	0.055	0.021*	0.272
TnT	ρ	0.718	-0.291	-0.429	-0.543	-0.143
	p	0.006**	0.193	0.198	0.133	0.394

Nota: * $p<0.05$; ** $p<0.01$

Variabilele cercetate DAM în ser și DAM în homogenat au rezultat cu valorile coeficientului neparametric de corelație ρ Spearman (tab. 4.11): $\rho=0.714$ p (unilateral) >0.05 ($p=0.055$) în L3 (starea preinfarct); și $\rho=0.829$ în L4 (starea infarct) p (unilateral) <0.05 ($p=0.021^*$), indicând o corelație pozitivă, puternică/foarte puternică (anexa 7 A, B).

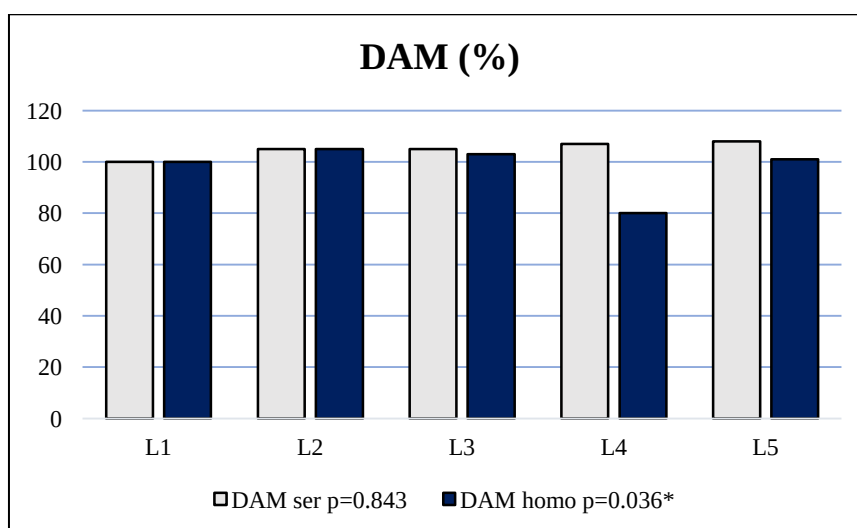


Figura 4.8 Nivelul dialdehidei malonice

În studiul nostru concentrația DAM în homogenat a manifestat inițial o majorare nesemnificativă cu 3% în starea de preinfarct AMI.6h (L3), însoțită de o scădere cu 20% în AMI.24h (L4), și revenire la valorile inițiale în perioada postinfarct (L5) (fig. 4.8). O astfel de evoluție nu corespunde unor date publicate [109][132][172][236][295].

Rezultatele obținute de noi indică o creștere nesemnificativă a nivelului DAM serice (fig. 4.8) egală cu 5% în lotul preinfarct AMI.6h (L3), tendință care se păstrează în lotul cu infarct AMI.24h (L4) și postinfarct AMI.7d (L5), depășind nivelul lotului intact cu 7% și 8% respectiv, se încadrează în limitele celor relatate de alți cercetători [80][81].

Concentrația DAM generată în țesutul cardiac în afecțiunea modelată experimental caracterizează prezența leziunilor hipoxice, dar este rapid înlăturată din țesut concomitent cu agravarea leziunilor membranare și pierderea integrității lor [2]. Nivelul ridicat în ser confirmă generarea în țesut și eliminarea în circulația sangvină a DAM.

În IMA valorile serice ale DAM cresc grație acumulării sale pe parcursul ischemiei [169], confirmând astfel leziunea membranei cardiomiocitului mediată de SRO [109][132][236]. Unele cercetări efectuate au remarcat o creștere neînsemnată a DAM serice în IMA, rezultatele fiind în contradicție cu altele menționate în literatură [80][81].

Datele prezentate argumentează concluzia că ischemia cardiacă grație generării sporite de SRO, induce stresul oxidativ și intensifică procesul de peroxidare a lipidelor, implicate în dezvoltarea modificărilor ischemice însoțite de pierderea integrității membranare, care ulterior progresează în leziuni necrotice. Discordanța în aprecierea valorică a DAM este rezultatul atât a duratei în timp a ischemiei, cât și a gradului de exprimare în diferite stadii a acestei ischemii cu modificările circulației sanguine [2].

Totodată, conform unor date publicate recent în literatura de specialitate, modificările nivelului DAM ar putea fi provocate de intensificarea biosintezei eicosanoizilor (prostaglandine, leucotriene, tromboxani) – hormoni locali cu diversă activitate fiziologică. Sinteza eicosanoizilor permite de a depăși SO, iar produsele intermediare (DAM și hidroperoxizii lipidici) se descompun cu formarea aldehydelor oxidate ulterior în acizi (capronic, azelaic, malonic, etc.), care în final sunt scindați până la CO₂ în ciclul Krebs [34][258].

Din 2000 *troponinele cardiace T și I* sunt propuse de Societatea Europeană a Cardiologilor și Colegiul American al Cardiologilor în calitate de markeri de elecție ai leziunilor miocardului grație specificității absolute față de țesutul cardiac, sensibilității înalte și capacității de a reflecta zonele microscopice de necroză a miocardului [17][52][169].

Troponinele cardiace sunt proteine reglatoare care modulează contracția și relaxarea sarcomerilor ca răspuns la Ca^{2+} citosolic și fosforilarea proteinelor, fiind implicate în activitatea mușchiului striat [52][268]. Eliberarea troponinelor reflectă gradul de dezintegrare a aparatului contractil cauzată de leziunea ireversibilă indusă de acidoza intracelulară și activarea enzimelor proteolitice prezente în miocard [268]. Ca mecanisme posibile de eliberare a troponinelor sunt menționate apoptoza cardiomiocitelor, precum și permeabilitatea tranzitorie membranară [72].

Identificarea foarte precoce (primele 1-2 ore) a necrozei miocardului grație troponinelor nu poate fi realizată, deoarece ele pot fi depistate doar aproximativ peste 2-4 ore de la debutul leziunii miocardului [52]. Creșterea întârziată a nivelelor plasmatiche a troponinelor cardiace impune o monitorizare în dinamică [232], fiind recomandată evaluarea lor la internare, repetat peste 6-9 ore, cu o testare opțională la 12-24 ore [52][124][268].

E concludent faptul că cTnT este un indicator independent veridic al evenimentelor ischemice recurente și un estimator al riscului de mortalitate printre pacienții cu SCA, cât și în angină pectorală instabilă, fiind argumentată utilizarea acestui indice în stratificarea și pronosticul riscului la pacienții stabili în condiții de ambulator [52][72][188].

În studiul nostru în loturile cercetate L1 (intact) și L2 (control) nu s-au observat modificări esențiale (tab. 4.10), valorile **troponinei T (TnT)** serice oscilând între 239.74 și 260.80 pg/mL. În lotul experimental L3 (AMI.6h) a fost estimată o majorare până la 289.51 pg/mL, IQR 106.24. În dinamica procesului valorile ating 258.21 pg/mL, IQR 47.61 în lotul infarct – L4 (AMI.24h). În etapa finală se observă o creștere la 309.85 pg/mL, IQR 110.35 în lotul postinfarct – L5 (AMI.7d) ($p=0.646$).

Nivelele tisulare ale TnT în grupurile studiate au fost statistic veridice ($p=0.003^{**}$) (tab. 4.10). În ambele loturi de control nu s-au depistat devieri esențiale. În L3 (AMI.6h) s-a observat o creștere de la 127.78 pg/g/prot, IQR 20.93 (lotul intact) până la 139.52 pg/g/prot, IQR 37.51. La AMI.24h o scădere semnificativă atingând valori până la 93.80 pg/g/prot, IQR 17.86. În starea de postinfarct (AMI.7d) concentrația atinge 117.04 pg/g/prot, IQR 16.02, fiind mai mare decât valorile precedente, dar mai mică decât nivelul inițial.

Coeficientul neparametric de corelație ρ Spearman pentru variabilele cercetate TnT serică și TnT tisulară a prezentat valorile $\rho=-0.429$ în L3 (preinfarct) și $\rho=-0.543$ în L4 (stare de infarct) la un prag de semnificație p (unilateral) >0.05 , indicând tendința spre o corelație moderată, negativă (tab. 4.11) (anexa 7 C, D).

Rezultatele studiului nostru indică creșterea cu 21% a nivelelor serice ale TnT în perioada preinfarct (primele 6 ore), urmate de scăderea cu 13% la 24 ore și majorare în

continuare cu 21% spre ziua a șaptea (postinfarct). Valorile tisulale ale TnT înregistrează o creștere cu 9% în primele 6 ore, însoțită de scăderea semnificativă egală cu 36% la 24 ore, și elevare repetată cu 19% spre ziua VII postinfarct (fig. 4.9).

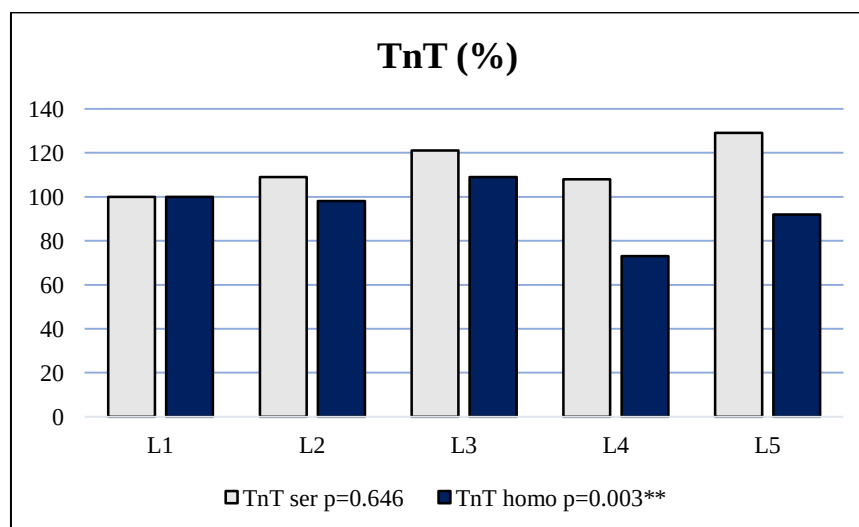


Figura 4.9 Variațiile troponinei T

Creșterea inițială (după 6 ore) denotă lezarea integrității membranei cardiomiocitului cu ieșirea în circulație a fracției citosolice libere, care este rapid eliminată grație timpului scurt de înjumătățire. Totodată prezența în sânge la 24 ore, precum și eliberarea tardivă (după 48 ore) postinfarct a cTnT este o reflectare a leziunii celulare ireversibile însoțită de degradarea miofilamentelor.

Indiscutabil, eliberarea troponinelor denotă dezintegrarea aparatului contractil cauzată de leziunea cardiomiocitelor indusă de ischemie, acidoza intracelulară și activarea enzimelor proteolitice prezente în miocard, argumentând ipoteza lansată în 2010 de *Thygesen K.* [268].

Unele studii confirmă că depistarea în probele consecutive modificării în dinamică (>20%) ale cTnT demonstrează acuitatea leziunii miocardului și ajută la diferențierea infarctului miocardic acut (sau recurent) de nivelele bazale ridicate ale troponinelor [52].

S-a stabilit prezența unei corelații lineare între TnT și dimensiunile scintigrafice ale IM [17][157]. Se consideră că concentrațiile serice ale troponinelor cardiace identificate în ziua 3-4 reflectă masa miocardului pierdut [268]. Evaluarea repetată a cTnT circulante peste 72 ore de la debutul simptomelor este un test simplu și veridic de estimare serologică a dimensiunilor zonei de infarct independent de reperfuzia coronariană precoce [157].

S-a observat că pacienții ischemici cu troponinele majorate suportă consecințe mai nefaste, fapt ce a permis lansarea ipotezei că valorile înalte ale troponinelor la pacienții cu

manifestări ischemice acute pot fi atribuite bolii coronariene mai extinse, precum și perfuziei coronare mai joase, reflectând o patologie mai severă cu risc mai înalt de dezvoltare a consecințelor cardiace majore pe termen scurt și lung [17][52][268].

Nivelele majorate îndelungate ale troponinelor cardiace permit determinarea unui număr mai mare de pacienți cu risc sporit de consecințe cardiace nefaste majore [72][124]. Este cert că creșterea concentrațiilor serice ale troponinelor reflectă gradul de lezare a miocardului, însă nu indică mecanismul patobiochimic de eliberare a lor [17][72][107][268].

Valorile bazale ale troponinelor cardiace demonstrează o asociere puternică și consecventă cu consecințele cardiovasculare viitoare, prezic mortalitatea pe termen scurt și lung în SCA [188][219].

Se consideră că deși troponinele cardiace posedă specificitate și sensibilitate înaltă în detectarea infarctului miocardic, totuși creșterea lor lentă duce la stabilirea întârziată a diagnosticului, fiind identificate doar consecințele unei ischemii îndelungate [30][267].

4.3 Corelațiile sero-tisulare ale citokinelor și indicilor ischemiei/hipoxiei și leziunii tisulare în infarct experimental

Analiza a valorilor serice și tisulare ale **citokinelor** în *perioada preinfarct* (tab. 4.2) cu ajutorul coeficientului neparametric Spearman nu a înregistrat corelații între variabilele prestabilite (IL-6 și TNF α).

Starea de infarct este caracterizată prin tendință spre corelația moderată pozitivă identificată între IL-6 în ser și în homogenat ($\rho=0.486$, p (unilateral) >0.05) și o corelație slabă negativă pentru TNF α ($\rho=-0.257$, p (unilateral) >0.05) (tab. 4.2) (anexa 3 A, B). Ulterior în *perioada postinfarct* variabilele TNF α în ser și în țesut au înregistrat o reîntoarcere spre o corelație slabă pozitivă ($\rho=0.371$, p (unilateral) >0.05) (tab. 4.2) (anexa 3 C).

Datele raportate sugerează utilizarea preferențială a citokinelor în calitate de markeri de pronostic vs markeri de diagnostic precoce în SCA.

Markerii stresului oxidativ în *perioada preinfarct* au prezentat o corelație pozitivă moderată identificată între nivelele serice și tisulare ale PPOA ($\rho=0.429$, p (unilateral) >0.05) (tab. 4.4) (anexa 4 B) și NO $_3^-$ ($\rho=0.486$, p (unilateral) >0.05) (tab. 4.6) (anexa 5, fig. A5.1 C), concordată cu o corelație puternică pozitivă și pentru variabilele NO $_2^-$ ($\rho=0.771^*$, p (unilateral) <0.05) (anexa 5, fig. A5.1A) și raportul NO $_2^-$ /NO $_3^-$ ($\rho=0.886$, p (unilateral) $<0.01^{**}$) (tab. 4.6) (anexa 5, fig. A5.2 B).

În *perioada de infarct* corelația pozitivă moderată stabilită între valorile serice și tisulare ale PPOA devine mai veridică ($\rho=0.600$, p (unilateral) >0.05) (tab. 4.4) (anexa 4 C),

iar corelația pozitivă puternică se menține pentru variabilele NO total ($\rho=0.714$, p (unilateral) >0.05) (tab. 4.6) (anexa 5, fig. A5.2 A) și NO_3^- ($\rho=0.638$, p (unilateral) >0.05) (tab. 4.6), (anexa 5, fig. A5.1 D). Concomitent și raportul $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ în ser și în homogenat a înregistrat o corelație moderată pozitivă ($\rho=0.771^*$, p (unilateral) <0.05) (tab. 4.6) (anexa 5, fig. A5.2 C).

Ulterior în *perioada postinfarct* s-au raportat corelațiile pozitive foarte puternice între nivelele serice și tisulare ale AIM ($\rho=0.829^*$, p (unilateral) <0.05) (tab. 4.4) (anexa 4 A), și a raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($\rho=0.899^{**}$, p (unilateral) <0.01) (tab. 4.6) (anexa 5, fig. A5.2 D). O corelație pozitivă puternică s-a înregistrat între variabilele PPOA-ser și PPOA-homogenat ($\rho=0.657$, p (unilateral) >0.05) (tab. 4.4) (anexa 4 D) și una moderată între valorile ale NO_2^- ($\rho=0.493$, p (unilateral) >0.05) (anexa 5, fig. A5.1 B).

Analiza **indicilor hipoxiei tisulare** cu ajutorul coeficientului Spearman (tab. 4.9) a înregistrat în *perioada preinfarct* tendința spre corelația pozitivă moderată între LDH-P (LDH_5) în ser și LDH-P (LDH_5) în homogenat ($\rho=0.543$, p (unilateral) >0.05) (anexa 6 B) și o corelație mai puternică între variabilele LDH-L (LDH_1) serică și LDH-L (LDH_1) tisulară ($\rho=0.657$, p (unilateral) >0.05) (anexa 6 D). Între nivelele lactatului în ser și homogenat s-a depistat tendința spre o corelație negativă puternică ($\rho=-0.714$, p (unilateral) >0.05) (anexa 6 A).

În dinamica procesului s-a raportat existența corelației negative veridice între variabilele LDH-L (LDH_1) în ser și în țesut ($\rho=-1.000^{***}$) în *starea de infarct* și a unei legături puternice negative între LDH-P (LDH_5) serică și LDH-P (LDH_5) tisulară ($\rho=-0.853^*$, p (unilateral) <0.05) în *perioada postinfarct* (tab. 4.9) (anexa 6 C, E).

Markerii integrității tisulare (tab. 4.11). Între nivelele DAM în ser și în homogenat s-a înregistrat în *perioada preinfarct* o corelație pozitivă puternică ($\rho=0.714$, p (unilateral) >0.05) (anexa 7 A), modificare însoțită de tendința spre corelația negativă moderată pentru TnT ($\rho=-0.429$, p (unilateral) >0.05) (anexa 7 C). Rezultate similare s-au raportat și în *starea de infarct*, unde coeficientul neparametric de corelație ρ Spearman pentru variabilele DAM în ser și în țesut este de $\rho=0.829$, p (unilateral) <0.05 (anexa 7 B) și $\rho=-0.543$, p (unilateral) >0.05 pentru TnT (anexa 7 D).

4.4 Concluzii

În *perioada preinfarct* schimbările tisulare sunt reflectate prin tendința de creștere a valorilor tisulare ale AIM, metaboliților NO (NO total, NO_2^- și NO_3^-), DAM și TnT, corelate cu nivele serice înalte ale markerilor menționați reprezentată prin corelația puternică între

valorile serice și tisulare ale NO_2 ($\rho=0.771$, $p<0.05$) și a raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($\rho=0.886$, $p<0.01$). Contradictoriu, valorilor ridicate de PPOA serice le corespund cele mai mici în țesutul cardiac.

S-a observat că activității sporite a LDH-P (LDH_5) tisulare le corespunde o activitate mică a LDH-L (LDH_1) și o cantitate mică de lactat în țesut. Concomitent în ser este înregistrată activitatea redusă a LDH-P (LDH_5) și valori mai mici ale lactatului. Fenomene contrarii se depistează în activitatea LDH-L (LDH_1). S-a determinat tendința spre corelație puternică între nivelul lactatului în ser și homogenat ($\rho=-0.714$, $p\geq 0.05$), precum și între activitatea serică și tisulară a LDH-L (LDH_1) ($\rho=0.657$, $p\geq 0.05$).

Starea de infarct este caracterizată prin micșorarea valorilor tisulare ale AIM, metabolitilor NO (NO total, NO_2^- și NO_3^-), DAM și TnT însoțite de creșterea nivelului PPOA și a raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$. Modificările menționate sunt reflectate prin nivele serice mai mici ale AIM, PPOA, NO total, NO_2^- , NO_3^- și TnT; rămân ridicate cantitățile serice a DAM și a raportului NO_2/NO_3 . Corelație puternică se atestă între concentrațiile serice și tisulare ale DAM ($\rho=0.829$, $p<0.05$) și ale raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($\rho=0.771$, $p<0.05$).

Se atestă revenirea la valorile inițiale în homogenat a cantității de lactat și o activitate joasă a LDH-P (LDH_5), față de activitatea înaltă a LDH-L (LDH_1), - situație reflectată în ser de nivelele ridicate ale lactatului, redusă a LDH-P (LDH_5) și activitatea crescută a LDH-L (LDH_1). O corelație foarte puternică înregistrată între valorile LDH-L (LDH_1) în ser și în homogenatul cardiac ($\rho=-1.000$).

Procesul inflamator este reflectat prin scăderea cantității tisulare a $\text{TNF-}\alpha$ și IL-6, însoțite de creșterea $\text{TNF-}\alpha$ și micșorarea IL-6 serice.

Perioada postinfarct are următoarele caracteristici: rămân în creștere valorile tisulare ale markerilor stresului oxidativ și leziunii tisulare, dar se evidențiază tendința de scădere a cantității PPOA, NO_3^- . În homogenat se menține mai mic nivelul TnT și NO_3^- , iar DAM, AIM, PPOA, NO total, NO_2^- și raportul NO prezintă valori mai mari comparativ cu cele ale lotului intact. În ser se păstrează nivelele ridicate ale AIM, PPOA, DAM, se observă creșterea evidentă a concentrației TnT, metabolitilor NO, și micșorarea raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$. Cele înregistrate depășesc indicii caracteristici lotului intact, cu excepția raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ care are valori mai joase. Valorile serice și tisulare ale AIM ($\rho=0.829$, $p<0.05$), cât și a raportului $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ($\rho=0.899$, $p<0.01$) relevă o corelație puternică, iar între nivelele PPOA în ser și homogenat s-a semnalat tendința unei corelații puternice ($\rho=0.657$, $p\geq 0.05$).

Concomitent cu creșterea activității LDH-L (LDH_1) și reducerea activității LDH-P (LDH_5) se micșorează valorile tisulare ale lactatului. Aceste modificări sunt cauzate și de scăderea în ser a nivelelor lactatului, majorarea activității LDH-P (LDH_5) și a activității mici a LDH-L (LDH_1). Activitatea lactat dehidrogenazelor ilustrează concentrația mai mică a lactatului seric și în homogenat. Între activitatea LDH-P în ser și țesut se înregistrează o corelație puternică ($\rho = -0.853$, $p < 0.05$).

Modificările citokinelor tisulare reprezintă revenirea la nivelul inițial a IL-6 și valori ale $\text{TNF-}\alpha$ mai mici comparativ cu valorile lotului intact. Modificările serice reflectă situația tisulară, ambele teste - $\text{TNF-}\alpha$ și IL-6 - au nivele comparative cu indicii de control.

Markerii biochimici identificați confirmă prezența ischemiei și hipoxiei tisulare, inclusiv și a răspunsului inflamator acut, care dereglează permeabilitatea și integritatea cardiomiocitului.

CONCLUZII GENERALE

1. Indicii metabolismului glucidic prezintă în perioada de infarct creșterea relevantă în comparație cu starea precedentă a nivelelor serice ale glucozei (cu 39%) ($p=0.0002^{***}$), hemoglobinei glicate și AGE (cu 29%) ($p=0.018^*$), însoțită de micșorarea cantității tisulare a glucozei, Hb glicate și AGE.

2. Modificările metabolismului lipidic au fost reprezentate prin micșorarea veridică în perioada preinfarct vs animalele intacte a nivelului seric (71%) ($p=0.049^*$) și tisular (cu 51%) ($p=0.004^{**}$) al β LP, însoțite de creșterea HDL-C în ser. În perioada de infarct se atestă creșterea concludentă comparativ cu starea precedentă în ser a β LP (cu 42%) ($p=0.049^*$) și a LDL-C (cu 60%) ($p=0.011^*$), cu schimbări nesemnificative ale valorilor tisulare. Tendința de majorare a β LP serice se păstrează și în perioada postinfarct (cu 79% față de starea de infarct) ($p=0.049^*$).

3. Răspunsul inflamator este asigurat prin sporirea în perioada preinfarct a nivelelor IL-6 serice și prin scăderea veridică a cantității de TNF α în țesut (cu 31% vs lotul intact) ($p=0.002^{**}$) în starea de infarct, cu revenire la valorile inițiale în postinfarct.

4. Markerii stresului oxidativ prezintă variații semnificative în perioada preinfarct reprezentate prin creșterea nivelelor serice ale AIM și PPOA (cu cca 20%) ($p=0.042^*$), însoțite de micșorarea cantității de lactat în ser și miocard (cu 20%) ($p=0.007^{**}$) cu referință la animalele intacte și de control. În dinamica procesului nivelele serice ale lactatului cresc în starea de infarct, reflectând agravarea hipoxiei, iar severitatea modificărilor tisulare este confirmată prin diminuarea în țesut a cantității de DAM (cu 23% în comparație cu starea precedentă, $p=0.036^*$) (biomarker ai leziunii tisulare) care corelează veridic cu valorile serice ($\rho=0.829$, p (unilateral) <0.05).

5. Datele obținute argumentează existența în patobiochimia procesului a unei faze noi premărgătoare apariției infarctului miocardic acut – perioada de preinfarct, confirmată experimental prin corelațiile modificărilor serice cu cele tisulare ale PPOA ($\rho=0.429$, $p>0.05$), NO $_2^-$ ($\rho=0.771$, $p<0.05$), NO $_3^-$ ($\rho=0.486$, $p>0.05$), lactat ($\rho=-0.714$, $p\geq 0.05$), LDH $_5$ ($\rho=0.543$, $p>0.05$), DAM ($\rho=0.714$, $p=0.055$). Analiza testelor evaluate în ser permite constatarea constelației de factori biochimici analizați în teză – AIM, PPOA, lactat – ce ar favoriza depistarea stării de preinfarct.

RECOMANDĂRI

1. Studiul efectuat confirmă că pentru aprofundarea cunoașterii patogenzei și acțiunii metabolice a unor potențiale medicamente în infarct miocardic acut este adecvat modelul experimental pe animale mici de laborator cu utilizarea izoproterenolului în doză unică de 100 mg/kg subcutanat.

2. Rezultatele obținute pot servi drept punct de reper pentru inițierea unor cercetări mai aprofundate, inclusiv clinice pe subiecți umani, și crearea unui algoritm bazat pe corelațiile markerilor biochimici pentru prognozarea evoluției bolii și optimizarea managementului timpuriu și personalizat.

3. Extrapolarea datelor ar permite recomandarea cu scop de identificare a pacienților cu risc major de a dezvolta IMA în faza de preinfarct a screening-ului biochimic prin aplicarea testelor-express de identificare a constelației de markeri stabiliți în studiu (AIM, PPOA, lactat).

BIBLIOGRAFIA

1. **TIMERCAN, T.** Current markers of myocardial ischemia: review article. In: *Moldovan Journal of Health Sciences /Revista de Științe ale Sănătății din Moldova. MJHS.* 2018, vol. 16, nr. 2, pp. 62-72 [ISSN 2345-1467](#)
2. **TIMERCAN, T., BRANISHTE, T., LÎȘÎI, L.** Malonyl dialdehyde in isoproterenol-induced acute myocardial infarction. In: *The Medical-Surgical Journal.* 2019, vol. 123, nr. 3, pp. 407-412. [ISSN online: 2286-2560. ISSN print: 0048-7848.](#)
3. **TIMERCAN, T., et al.** Advanced glycation end products in isoproterenol-induced acute myocardial infarction. In: *Medicine and pharmacy reports.* 2019, vol. 92, nr. 3, p. 235. [DOI: 10.15386/mpr-1348](#)
4. **ACHARJEE, S., et al.** Relation of admission high-density lipoprotein cholesterol level and in-hospital mortality in patients with acute non-ST segment elevation myocardial infarction (from the National Cardiovascular Data Registry). In: *The American journal of cardiology.* 2013, vol. 112, nr. 8, pp. 1057-1062. [doi: 10.1016/j.amjcard.2013.05.050](#)
5. **ACIKEL, M., et al.** Protective effects of dantrolene against myocardial injury induced by isoproterenol in rats: biochemical and histological findings. In: *International journal of cardiology.* 2005, vol. 98, nr. 3, pp. 389-394. [DOI: 10.1016/j.ijcard.2003.10.054](#)
6. **AGGARWAL, B.B., GUPTA, S.C., KIM, J.H.** Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. In: *Blood.* 2012, vol. 119, nr. 3, pp. 651-665. [DOI: 10.1182/blood-2011-04-325225](#)
7. **AGUILAR, D.** Glycated hemoglobin as a prognostic risk marker in nondiabetic patients after acute myocardial infarction: what now? In: *Circulation.* 2011, vol. 124, nr. 6, pp. 666-668. [doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.043877](#)
8. **ALAJBEGOVIĆ, S., et al.** Hyperglycemia and acute myocardial infarction in a nondiabetic population. In: *Diabetologia croatica.* 2003, vol. 32, nr. 4, pp. 169-174. [ISSN\(Print\): 0351-0042//ISSN\(Electronic\): 1846-5994](#)
9. **ALEKSANDAR, J., et al.** Hyperlactatemia and the Outcome of Type 2 Diabetic Patients Suffering Acute Myocardial Infarction. In: *Journal of Diabetes Research.* 2016, vol. 2016, article ID 6901345. [doi: 10.1155/2016/6901345](#)
10. **ALI, S.E., et al.** A comparative metabolomics approach reveals early biomarkers for metabolic response to acute myocardial infarction. In: *Scientific reports.* 2016, vol. 6, p. 36359. [doi:10.1038/srep36359](#)

11. ANGELI, F., REBOLDI, G., POLTRONIERI, C., VERDECCHIA, P. Hyperglycemia during acute coronary syndrome: prognostic implications. In: *Journal of Diabetes and Metabolism*. 2013, vol. 4, nr. 7. DOI: [10.4172/2155-6156.1000e111](https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000e111). ISSN: 2155-6156 (Electronic)
12. ANGELI, F., et al. Hyperglycemia in acute coronary syndromes: from mechanisms to prognostic implications. In: *Therapeutic advances in cardiovascular disease*. 2015, vol. 9, nr. 6, pp. 412-424. DOI: [10.1177/1753944715594528](https://doi.org/10.1177/1753944715594528)
13. ARNOLD, S.V., et al. Prevalence of glucose abnormalities among patients presenting with an acute myocardial infarction. In: *American heart journal*. 2014, vol. 168, nr. 4, pp. 466-470. doi: [10.1016/j.ahj.2014.06.023](https://doi.org/10.1016/j.ahj.2014.06.023)
14. ATTANÀ, P., et al. Lactate and lactate clearance in acute cardiac care patients. In: *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*. 2012, vol. 1, nr. 2, pp. 115–121. DOI:[10.1177/2048872612451168](https://doi.org/10.1177/2048872612451168)
15. AYALA, A., MUÑOZ, M.F., ARGÜELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. In: *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2014, vol. 2014, 31 pages. Article ID 360438. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/360438>
16. AZZAWI, M., HASLETON, P. Tumour necrosis factor alpha and the cardiovascular system: its role in cardiac allograft rejection and heart disease. In: *Cardiovascular research*. 1999, vol. 43, nr. 4, pp. 850-859. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(99\)00138-8](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(99)00138-8)
17. BABUIN, L., JAFFE, A.S. Troponin: the biomarker of choice for the detection of cardiac injury. In: *Canadian Medical Association Journal*. 2005, vol. 173, nr. 10, pp. 1191-1202. DOI: [05-041/cmaj/050141](https://doi.org/10.1503/cmaj/050141).
18. BAO, C., et al. TNFR gene-modified mesenchymal stem cells attenuate inflammation and cardiac dysfunction following MI. In: *Scandinavian Cardiovascular Journal*. 2008, vol. 42, nr. 1, pp. 56-62. DOI: [10.1080/14017430701543556](https://doi.org/10.1080/14017430701543556)
19. BAR-OR, D., BAR-OR, R., RAEL, L.T., BRODY, E.N. Oxidative stress in severe acute illness. In: *Redox Biology*. 2015, vol. 4, pp. 340-345. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.006>
20. BARTER, P. HDL-C: role as a risk modifier. In: *Atherosclerosis Supplements*. 2011, vol. 12, nr. 3, pp. 267-270. [https://doi.org/10.1016/S1567-5688\(11\)70885-6](https://doi.org/10.1016/S1567-5688(11)70885-6)
21. BARTNIK, M., et al. The prevalence of abnormal glucose regulation in patients with coronary artery disease across Europe: The Euro Heart Survey on diabetes and the heart.

- In: *European heart journal*. 2004, vol. 25, nr. 21, pp. 1880-1890.
<https://doi.org/10.1016/j.ehj.2004.07.027>
22. BASTANI, A., et al. Oxidant and antioxidant status in coronary artery disease. In: *Biomedical reports*. 2018, vol. 9, nr. 4, pp. 327-332. DOI: [10.3892/br.2018.1130](https://doi.org/10.3892/br.2018.1130)
 23. BEHERA, S., MANGARAJ, M., MOHAPATRA, P. C. Diagnostic efficacy of ischemia modified albumin and its correlation with lipid profile, oxidative stress in acute myocardial infarct patients on admission. In: *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2012, vol. 2, nr. 1, pp. 62-65. doi:[10.1016/S2222-1808\(12\)60015-2](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60015-2)
 24. BERGMAN, B.C., TSVETKOVA, T., LOWES, B., WOLFEL, E.E. Myocardial glucose and lactate metabolism during rest and atrial pacing in humans. *The Journal of physiology*. 2009, vol. 587, nr. 9, pp. 2087-2099. DOI: [10.1113/jphysiol.2008.168286](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.168286)
 25. BERTHONNECHE, C., et al. New insights into the pathological role of TNF- α in early cardiac dysfunction and subsequent heart failure after infarction in rats. In: *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2004, vol. 287, nr. 1, pp. H340-H350. DOI: [10.1152/ajpheart.01210.2003](https://doi.org/10.1152/ajpheart.01210.2003)
 26. BHAT, M.A., MAHAJAN, N., GANDHI, G. Oxidative stress status in coronary artery disease patients. In: *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*. 2012, vol. 1, pp. 236-243. ISSN [2250-3137](https://doi.org/10.1152/ajpheart.01210.2003)
 27. BIOMY, R., TWAFEEK, W., ABDELMONIEM, A., ABDELKADER, M. The relation between glycated hemoglobin and severity of coronary artery disease in non-diabetic patients with acute coronary syndrome. In: *Journal of Cardiology & Current Research*, 2017, vol. 8, nr. 4, p. 00287. DOI: [10.15406/jccr.2017.08.00287](https://doi.org/10.15406/jccr.2017.08.00287). eISSN: 2373-4396
 28. BITTAR, M.N., et al. Tumor necrosis factor alpha influences the inflammatory response after coronary surgery. In: *The Annals of thoracic surgery*. 2006, vol. 81, nr. 1, pp. 132-138. DOI:[10.1016/j.athoracsur.2005.07.037](https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2005.07.037)
 29. BODOR, G.S. Biochemical markers of myocardial damage. In: *Ejifcc*. 2016, vol. 27, nr. 2, pp. 95-111. ISSN [1650-3414](https://doi.org/10.1152/ajpheart.01210.2003) [PMID: [27683523](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27683523/)] [[PMC4975226](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27683523/)]
 30. BONORINO, N.F., LUNARDELLI, A., OLIVEIRA, J.R. Use of ischemia modified albumin for the diagnosis of myocardial infarction. In: *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2015, vol. 51, nr. 6, pp. 383-388. DOI: [10.5935/1676-2444.20150060](https://doi.org/10.5935/1676-2444.20150060)
 31. BOSE, D., et al. Release of TNF- α during stent implantation into saphenous vein aortocoronary bypass grafts and its relation to plaque extrusion and restenosis. In:

- American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2007, vol. 292, nr. 5, pp. H2295-H2299. DOI:10.1152/ajpheart.01116.2006.
32. BOTNARU, V. Boli cardiovasculare. Ediție revăzută. Chișinău, 2008. Tipografia Centrală, 524 pagini. ISBN 978-9975-78-632-4.
 33. BRIASOULIS, A., ANDROULAKIS, E., CHRISTOPHIDES, T., TOUSOULIS, D. The role of inflammation and cell death in the pathogenesis, progression and treatment of heart failure. In: *Heart Failure Reviews*. 2016, vol. 21, nr. 2, pp. 169-176. <https://doi.org/10.1007/s10741-016-9533-z>
 34. BRUEGEL, M., CEGLAREK, U., THIERY, J. Eicosanoids: essential mediators in health and disease/ Eicosanoide: bedeutende Faktoren in der Homöostase und ihre Bedeutung in der Pathogenese multipler Erkrankungen. In: *Laboratoriums Medizin*. 2009, vol. 33, nr. 6, pp. 333-339. DOI: 10.1515/JLM.2009.056
 35. CAKMAK, M., et al. The value of admission glycosylated hemoglobin level in patients with acute myocardial infarction. In: *Canadian journal of cardiology*. 2008, vol. 24, nr. 5, pp. 375-378. DOI: 10.1016/S0828-282X(08)70600-7
 36. CALABRESE, F., et al. Overexpression of tumor necrosis factor (TNF) α and TNF α receptor I in human viral myocarditis: clinicopathologic correlations. In: *Modern pathology*. 2004, vol. 17, nr. 9, pp. 1108-1118. DOI: 10.1038/modpathol.3800158
 37. CALE, J.M., BIRD, I.M. Dissociation of endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and activity in uterine artery endothelial cells. In: *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2006, vol. 290, nr. 4, pp. H1433-H1445. DOI:10.1152/ajpheart.00942.2005
 38. CELEC, P., et al. Advanced glycation end products and acute myocardial infarction. In: *Medical Principles and Practice*. 2010, vol. 19, nr. 3, pp. 244-246. DOI:10.1159/000273081
 39. CERIELLO, A., et al. Simultaneous control of hyperglycemia and oxidative stress normalizes endothelial function in type 1 diabetes. In: *Diabetes care*. 2007, vol. 30, nr. 3, pp. 649-654. DOI: 10.2337/dc06-2048
 40. CHANG, J.S., et al. Oxygen deprivation triggers upregulation of early growth response-1 by the receptor for advanced glycation end products. In: *Circulation research*. 2008, vol. 102, nr. 8, pp. 905-913. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.165308
 41. CHAWLA, R., GOYAL, N., CALTON, R., GOYAL, S. Ischemia modified albumin: A novel marker for acute coronary syndrome. In: *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2006, vol. 21, nr. 1, pp. 77-82. DOI:10.1007/BF02913070

42. CHAWLA, R., LOOMBA, R., GURU, D., LOOMBA, V. Ischemia modified albumin (IMA)-a marker of glycaemic control and vascular complications in type 2 diabetes mellitus. In: *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. 2016, vol. 10, nr. 3, pp. BC13-BC16. DOI: [10.7860/JCDR/2016/15282.7432](https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/15282.7432)
43. CHEN, C.L., et al. Glycated hemoglobin level is an independent predictor of major adverse cardiac events after nonfatal acute myocardial infarction in nondiabetic patients: A retrospective observational study. In: *Medicine*. 2017, vol. 96, nr. 18, pp. e6743. DOI: [10.1097/MD.00000000000006743](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000006743) ISSN Print: 0025-7974
44. CHEN, Y., et al. Effect of tumor necrosis factor- α on neutralization of ventricular fibrillation in rats with acute myocardial infarction. In: *Mediators of inflammation*. 2011, vol. 2011, p. 565238. DOI:[10.1155/2011/565238](https://doi.org/10.1155/2011/565238)
45. CHENG, K.H., et al. Lipid paradox in acute myocardial infarction – the association with 30-day in-hospital mortality. In: *Critical care medicine*. 2015, vol. 43, nr. 6, pp. 1255-1264. DOI: [10.1097/CCM.0000000000000946](https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000000946)
46. CHOI, E.Y., et al. Serum levels of advanced glycation end products are associated with in-stent restenosis in diabetic patients. In: *Yonsei medical journal*. 2005, vol. 46, nr. 1, pp. 78-85. DOI: [10.3349/ymj.2005.46.1.78](https://doi.org/10.3349/ymj.2005.46.1.78)
47. CORREIA, L.C., TWICKLER, M.T.B., SPOSITO, A.C. Mechanistic insights and clinical relevance of the interaction between acute coronary syndromes and lipid metabolism. In: *Seminars in vascular medicine*. 2004, vol. 4, nr. 02, pp. 197-202. DOI: [10.1055/s-2004-835378](https://doi.org/10.1055/s-2004-835378)
48. CORREIA, L.C., ROCHA, M.S., ESTEVES, J.P. HDL-cholesterol level provides additional prognosis in acute coronary syndromes. In: *International journal of cardiology*. 2009, vol. 136, nr. 3, pp. 307-314. DOI: [10.1016/j.ijcard.2008.05.067](https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2008.05.067)
49. CORTI, R., FUSTER, V., BADIMON, J.J. Pathogenetic concepts of acute coronary syndromes. In: *Journal of the American College of Cardiology*. 2003, vol. 41, supplement 4, pp. S7-S14. DOI: [10.1016/S0735-1097\(02\)02833-4](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(02)02833-4)
50. CSISZAR, A., et al. Vasculoprotective effects of anti-tumor necrosis factor- α treatment in aging. In: *The American journal of pathology*. 2007, vol. 170, nr. 1, pp. 388-398. DOI: [10.2353/ajpath.2007.060708](https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.060708)
51. DASGUPTA, A., WAHED, A. Cardiac markers. In book: *Clinical chemistry immunology and laboratory quality control*. 2014, pp. 127-44. DOI: [10.1016/B978-0-12-407821-5.00008-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407821-5.00008-5) ISBN: 978-0-12-407821-5

52. DAUBERT, M.A., JEREMIAS, A. The utility of troponin measurement to detect myocardial infarction: review of the current findings. In: *Vascular health and risk management*. 2010, vol. 6, pp. 691-699. DOI: [10.2147/vhrm.s5306](https://doi.org/10.2147/vhrm.s5306).
53. DE SÁNCHEZ, V.C., et al. Role of Nitric Oxide in Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction. In: *Cardiotoxicity of Oncologic Treatments*. IntechOpen. 2012. DOI: [10.5772/34505](https://doi.org/10.5772/34505) ISBN: 978-953-51-0273-1
54. DEEPA, M., et al. Free radicals and antioxidant status in acute myocardial infarction patients with and without diabetes mellitus. In: *Bangladesh Medical Research Council Bulletin*. 2009, vol. 35, nr. 3, pp. 95-100. DOI: [10.3329/bmrcb.v35i3.2999](https://doi.org/10.3329/bmrcb.v35i3.2999)
55. DESJARDINS, F., BALLIGAND, J.L. Nitric oxide-dependent endothelial function and cardiovascular disease. In: *Acta Clinica Belgica*. 2006, vol. 61, nr. 6, pp. 326-334. DOI: [10.1179/acb.2006.052](https://doi.org/10.1179/acb.2006.052).
56. DESWAL, A., et al. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). In: *Circulation*. 2001, vol. 103, nr. 16, pp. 2055-2059. DOI: [10.1161/01.cir.103.16.2055](https://doi.org/10.1161/01.cir.103.16.2055)
57. DETEN, A., ZIMMER, H.G. Heart function and cytokine expression is similar in mice and rats after myocardial infarction but differences occur in TNF α expression. In: *Pflügers Archiv*. 2002, vol. 445, nr. 2, pp. 289-296. doi:[10.1007/s00424-002-0930-x](https://doi.org/10.1007/s00424-002-0930-x)
58. DI GIUSEPPE, D., et al. Alteration in the redox state of plasma in heart-transplant patients with moderate hyperhomocysteinemia. In: *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2003, vol. 142, nr. 1, pp. 21-28. DOI: [10.1016/S0022-2143\(03\)00057-X](https://doi.org/10.1016/S0022-2143(03)00057-X)
59. DI MARINO, S., et al. Early metabolic response to acute myocardial ischaemia in patients undergoing elective coronary angioplasty. In: *Open heart*. 2018, vol. 5, nr. 1, pp. e000709. DOI: [10.1136/openhrt-2017-000709](https://doi.org/10.1136/openhrt-2017-000709)
60. DÍAZ-MUÑOZ, M., et al. Correlation between oxidative stress and alteration of intracellular calcium handling in isoproterenol-induced myocardial infarction. In: *Molecular and cellular biochemistry*. 2006, vol. 289, nr. 1-2, pp. 125-136. doi:[10.1007/s11010-006-9155-1](https://doi.org/10.1007/s11010-006-9155-1)
61. DINH, W., et al. Elevated plasma levels of TNF-alpha and interleukin-6 in patients with diastolic dysfunction and glucose metabolism disorders. In: *Cardiovascular diabetology*. 2009, vol. 8, nr. 1, p. 58. DOI: [10.1186/1475-2840-8-58](https://doi.org/10.1186/1475-2840-8-58)
62. DOBUTOVIĆ, B., et al. Nitric oxide and its role in cardiovascular diseases. In: *The Open Nitric Oxide Journal*. 2011, vol. 3, nr. 3, pp. 65-71. DOI: [10.2174/1875042701103010065](https://doi.org/10.2174/1875042701103010065) ISSN: 1875-0427

63. DUTTA, P., et al. Myocardial infarction accelerates atherosclerosis. In: *Nature*. 2012, vol. 487, nr. 7407, pp. 325-329. [doi:10.1038/nature11260](https://doi.org/10.1038/nature11260)
64. EGELAND, G.M., et al. Non-fasting triglycerides predict incident acute myocardial infarction among those with favourable HDL-cholesterol: Cohort Norway. In: *European journal of preventive cardiology*. 2015, vol. 22, nr. 7, pp. 872-881. [DOI: 10.1177/2047487314535681](https://doi.org/10.1177/2047487314535681)
65. ELAHI, M.M., MATATA, B.M. Genetic diversity of tumour necrosis factor: implications on cardiovascular complications of polymorphisms at position-308 in the promoter region. In: *The Cardiology*. 2005, vol. 1, nr. 3-4, pp. 179-188. [ISSN\(Print\): 1811-8194// ISSN\(Online\): 1993-6117](https://doi.org/10.1177/1811819405281117)
66. EL-AZIZ, T.A., et al. A new metabolic mechanism for absence of pain in patients with silent myocardial ischemia. In: *Archives of medical research*. 2015, vol. 46, nr. 2, pp. 127-132. [DOI: 10.1016/j.arcmed.2015.01.003](https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2015.01.003)
67. ELBADAWY, T.H., MAHROUZ, A.A.A., SAMNODY, H.H. The relation between interleukin-6 and different categories of acute coronary syndrome. In: *Research and Opinion in Anesthesia and Intensive Care*. 2015, vol. 2, nr. 2, pp. 7-15. [DOI: 10.4103/2356-9115.161311](https://doi.org/10.4103/2356-9115.161311)
68. EL-SHERBINY, I., NABIL, B., SABER, T., ABDELGAWAD, F.E. Impact of admission glycosylated hemoglobin A1c on angiographic characteristics and short term clinical outcomes of nondiabetic patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction. In: *Cardiology research and practice*. 2015, vol. 2015. Article ID 274892 <https://doi.org/10.1155/2015/274892>
69. ELSMAN, P., et al. The predictive value of cumulative lactate dehydrogenase release within the first 72 h of acute myocardial infarction in patients treated with primary angioplasty. In: *Annals of clinical biochemistry*. 2004, vol. 41, nr. 2, pp. 142-148. [DOI: 10.1258/000456304322880041](https://doi.org/10.1258/000456304322880041)
70. ELTOBSHY, S.A., et al. Effects of heme oxygenase-1 upregulation on isoproterenol-induced myocardial infarction. In: *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*. 2019, vol. 23, nr. 3, pp. 203-217. [DOI: 10.4196/kjpp.2019.23.3.203](https://doi.org/10.4196/kjpp.2019.23.3.203)
71. ERTEKIN, B., et al. Diagnostic value of ischemia-modified albumin in acute coronary syndrome and acute ischemic stroke. In: *Pakistan journal of medical sciences*. 2013, vol. 29, nr. 4, pp. 1003-1007. <http://dx.doi.org/10.12669/pjms.294.3176>

72. EVERETT, B.M. Cardiac troponin as a novel tool for cardiovascular risk prediction in ambulatory populations. In: *Trends in cardiovascular medicine*. 2017, vol. 27, nr. 1, pp. 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2016.06.002>
73. FANG, L., MOORE, X.L., DART, A.M., WANG, L.M. Systemic inflammatory response following acute myocardial infarction. In: *Journal of geriatric cardiology: JGC*. 2015, vol. 12, nr. 3, pp. 305-312. DOI: [10.11909/j.issn.1671-5411.2015.03.020](https://doi.org/10.11909/j.issn.1671-5411.2015.03.020)
74. FILHO, H.G., et al. Modelo experimental de infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos.// Experimental model of myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. In: *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*. 2011, vol. 26, nr. 3, pp. 469-476. DOI: [10.5935/1678-9741.20110024](https://doi.org/10.5935/1678-9741.20110024)
75. FISMAN, E.Z., et al. Interleukin-6 and the risk of future cardiovascular events in patients with angina pectoris and/or healed myocardial infarction. In: *The American journal of cardiology*. 2006, vol. 98, nr. 1, pp. 14-18. DOI: [10.1016/j.amjcard.2006.01.045](https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.01.045)
76. FONSECA, F.A., IZAR, M.C. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular disease across countries and ethnicities. In: *Clinics*. 2016, vol. 71, nr. 4, pp. 235-242. DOI: [10.6061/clinics/2016\(04\)11](https://doi.org/10.6061/clinics/2016(04)11)
77. FÖRSTERMANN, U., XIA, N., LI, H. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. In: *Circulation research*. 2017, vol. 120, nr. 4, pp. 713-735. DOI: [10.1161/circresaha.116.309326](https://doi.org/10.1161/circresaha.116.309326)
78. FRANGOIANNIS, N.G. The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodelling. In: *Nature reviews Cardiology*. 2014, vol. 11, nr. 5, pp. 255–265. doi: [10.1038/nrcardio.2014.28](https://doi.org/10.1038/nrcardio.2014.28)
79. FRANGOIANNIS, N.G., SMITH, C.W., ENTMAN, M.L. The inflammatory response in myocardial infarction. In: *Cardiovascular research*. 2002, vol. 53, nr. 1, pp. 31-47. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(01\)00434-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(01)00434-5)
80. FRIJHOFF, J., et al. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. In: *Antioxidants and Redox Signaling*. 2015, vol. 23, nr. 14, pp. 1144-1170. DOI: [10.1089/ars.2015.6317](https://doi.org/10.1089/ars.2015.6317)
81. FRUSTACI, A., et al. Oxidative stress-related biomarkers in autism: systematic review and meta-analyses. In: *Free Radical Biology and Medicine*. 2012, vol. 52, nr. 10, pp. 2128-2141. DOI: [10.1016/j.freeradbiomed.2012.03.011](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.03.011)
82. FRYDLAND, M., et al. Lactate is a prognostic factor in patients admitted with suspected ST-elevation myocardial infarction. In: *Shock*. 2019, vol. 51, nr. 3, pp. 321-327. DOI: [10.1097/SHK.0000000000001191](https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001191)

83. FUJINO, M., et al. Impact of acute and chronic hyperglycemia on in-hospital outcomes of patients with acute myocardial infarction. In: *The American journal of cardiology*. 2014, vol. 114, nr. 12, pp. 1789-1793. DOI: [10.1016/j.amjcard.2014.09.015](https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.09.015)
84. GABRIEL-COSTA, D., et al. Lactate-upregulation of lactate oxidation complex-related genes is blunted in left ventricle of myocardial infarcted rats. In: *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2018, vol. 51, nr. 11, pp. e7660. DOI: [10.1590/1414-431X20187660](https://doi.org/10.1590/1414-431X20187660)
85. GAZE, D.C. Ischemia modified albumin: a novel biomarker for the detection of cardiac ischemia. In: *Drug metabolism and pharmacokinetics*. 2009, vol. 24, nr. 4, pp. 333-341. DOI: [10.2133/dmpk.24.333](https://doi.org/10.2133/dmpk.24.333)
86. GAZE, D.C. Biomarkers of cardiac ischemia. In: *Ischemic Heart Disease, IntechOpen*. 2013, pp. 1-31. DOI: [10.5772/55250](https://doi.org/10.5772/55250).
87. GIACCO, F., BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. In: *Circulation research*. 2010, vol. 107, nr. 9, pp. 1058-1070. DOI: [10.1161/CIRCRESAHA.110.223545](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223545)
88. GIBB, A.A., HILL, B.G. Metabolic coordination of physiological and pathological cardiac remodeling. In: *Circulation research*. 2018, vol. 123, nr. 1, pp. 107-128. DOI: [10.1161/CIRCRESAHA.118.312017](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.312017)
89. GILLES, S., et al. Release of TNF- α during myocardial reperfusion depends on oxidative stress and is prevented by mast cell stabilizers. In: *Cardiovascular research*. 2003, vol. 60, nr. 3, pp. 608-616. DOI: [10.1016/j.cardiores.2003.08.016](https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.08.016)
90. GJESDAL, G., et al. Blood lactate is a predictor of short-term mortality in patients with myocardial infarction complicated by heart failure but without cardiogenic shock. In: *BMC cardiovascular disorders*. 2018, vol. 18, nr. 1, pp. 8. DOI: [10.1186/s12872-018-0744-1](https://doi.org/10.1186/s12872-018-0744-1)
91. GÓMEZ, H., MIZOCK, B.A. Hyperlactatemia and lactic acidosis. In: *Critical Care Nephrology: Third Edition. Elsevier Inc.*, 2019, pp. 394-404.e3 DOI: [10.1016/B978-0-323-44942-7.00067-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-323-44942-7.00067-4)
92. GONZÁLEZ-MONTERO, J., BRITO, R., GAJARDO, A.I., RODRIGO, R. Myocardial reperfusion injury and oxidative stress: Therapeutic opportunities. In: *World Journal of Cardiology*. 2018, vol. 10, nr. 9, pp. 74–86. DOI: [10.4330/wjc.v10.i9.74](https://doi.org/10.4330/wjc.v10.i9.74)
93. GOULART, V.A.M., et al. Metabolic disturbances identified in plasma samples from ST-Segment elevation myocardial infarction patients. In: *Disease markers*. 2019; vol. 2019, pp. 7676189. doi: [10.1155/2019/7676189](https://doi.org/10.1155/2019/7676189)

94. GOYAL, S.N., et al. Protective effects of cardamom in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2015, vol. 16, nr. 11, pp. 27457–27469. [doi:10.3390/ijms161126040](https://doi.org/10.3390/ijms161126040)
95. GRABAREK, B., BEDNARCZYK, M., MAZUREK, U. The characterization of tumor necrosis factor alpha (TNF- α), its role in cancerogenesis and cardiovascular system diseases and possibilities of using this cytokine as a molecular marker. In: *Folia Biologica et Oecologica*. 2017, vol. 13, nr. 1, pp. 1-8. DOI: [10.1515/fobio-2017-0001](https://doi.org/10.1515/fobio-2017-0001)
96. GROOT, H.E., et al. Plasma interleukin 6 levels are associated with cardiac function after ST-elevation myocardial infarction. In: *Clinical Research in Cardiology*. 2019, vol. 108, nr. 6, pp. 612-621. <https://doi.org/10.1007/s00392-018-1387-z>
97. GROTTTO, D., et al. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. In: *Quimica Nova*. 2009, vol. 32, nr. 1, pp. 169-174. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000100032>.
98. GRYSZCZYŃSKA, B., et al. Advanced oxidation protein products and carbonylated proteins as biomarkers of oxidative stress in selected atherosclerosis-mediated diseases. In: *BioMed Research International*. 2017, vol. 2017, article ID 4975264. [doi: 10.1155/2017/4975264](https://doi.org/10.1155/2017/4975264)
99. GUDUMAC, V., et al. Investigații biochimice. Volumul II. Micrometode. Elaborare metodică. Chișinău, 2010. Tipografia “Elena-VI”, 97 pagini. ISBN 978-9975-106-06-1.
100. GUDUMAC, V., et al. Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică. Chișinău, 2012. Tipografia “Tehnica-Info”, 162 pagini. ISBN 978-9975-63-340-6
101. GUL, A., RAHMAN, M.A., HAMID, S. Oxidative stress in myocardial infarction: advanced glycation end-products causes oxidative stress in older myocardial infarction patients. In: *Journal of Clinical Medicine and Research*. 2013, vol. 5, nr. 2, pp. 11-17. DOI: [10.5897/JCMR10.027](https://doi.org/10.5897/JCMR10.027)
102. GURUMURTHY, P., et al. Estimation of ischemia modified albumin (IMA) levels in patients with acute coronary syndrome. In: *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2014, vol. 29, nr. 3, pp. 367-371. [doi: 10.1007/s12291-013-0367-3](https://doi.org/10.1007/s12291-013-0367-3)
103. GUSTAFSSON, I., et al. Unrecognized glycometabolic disturbance as measured by hemoglobin A1c is associated with a poor outcome after acute myocardial infarction. In: *American heart journal*. 2007, vol. 154, nr. 3, pp. 470-476. DOI: [10.1016/j.ahj.2007.04.057](https://doi.org/10.1016/j.ahj.2007.04.057)

104. HAMID, T., et al. Divergent TNF receptor-related remodeling responses in heart failure: role of NF- κ B and inflammatory activation. In: *Circulation*. 2009, vol. 119, nr. 10, pp. 1386-1397. doi:[10.1161/CIRCULATIONAHA.108.802918](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.802918)
105. HANSSON, G.K. Inflammation and atherosclerosis: the end of a controversy. In: *Circulation*. 2017, vol. 136, nr. 20, pp. 1875-1877. DOI: [10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030484](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030484)
106. HASHIZUME, M., MIHARA, M. Atherogenic effects of TNF- α and IL-6 via up-regulation of scavenger receptors. In: *Cytokine*. 2012, vol. 58, nr. 3, pp. 424-430. doi: [10.1016/j.cyto.2012.02.010](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.02.010)
107. HASIĆ, S, et al. Time-dependent responses of rat troponin I and cardiac injury following isoproterenol administration. In: *Medicinski glasnik: official publication of the Medical Association of Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina*. 2011, vol. 8, nr. 1, pp. 140-145. ISSN: [18400132](https://doi.org/10.18400/132)
108. HASSAN, N.S., MAHRAN, N.A., TAWFIK, S.F., BORAI, I.H. Oxidative stress markers, 8-isoprostane & advanced oxidation protein products (AOPPs), in acute myocardial infarction patients with acute hyperglycemia. In: *International Journal of Scientific & Engineering Research*. 2014, vol. 5, nr. 5, pp. 117-126. ISSN [2229-5518](https://doi.org/10.2229/5518)
109. HAZINI, A., et al. Investigation of ischemia modified albumin, oxidant and antioxidant markers in acute myocardial infarction. In: *Postępy w Kardiologii Interwencyjnej// Advances in Interventional Cardiology*. 2015, vol. 11, nr. 4, pp. 298-303. DOI: [10.5114/pwki.2015.55600](https://doi.org/10.5114/pwki.2015.55600)
110. HE, F., ZUO, L. Redox roles of reactive oxygen species in cardiovascular diseases. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2015, vol. 16, nr.11, pp. 27770–27780. doi:[10.3390/ijms161126059](https://doi.org/10.3390/ijms161126059)
111. HE, W., KWESIGA, M.P., GEBREYESUS, E., LIU, S. Nitric oxide and oxidative stress-mediated cardiovascular functionality: From molecular mechanism to cardiovascular disease. In: *Vascular Biology. IntechOpen*. 2019. DOI: [10.5772/intechopen.82556](https://doi.org/10.5772/intechopen.82556)
112. HERMANIDES, R.S. In patients with STEMI, lactate dehydrogenase (LDH) elevation may occur early after symptom onset and is associated with poor outcome. In: *Medical Research Archives*. 2016, vol. 4, nr. 2, 23 p. ISSN [2375-1924](https://doi.org/10.2375/1924).
113. HERRERA GARZA, E.H., et al. Importance of tumor necrosis factor-alpha in the pathogenesis of heart failure. In: *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. 2002, vol. 55, nr. 1, pp. 61-66. ISSN: [1885-5857](https://doi.org/10.1885/5857)

114. HEUSCH, G., SCHULZ, R., RAHIMTOOLA, S.H. Myocardial hibernation: a delicate balance. In: *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2005, vol. 288, nr. 3, pp. H984-H999. doi:[10.1152/ajpheart.01109.2004](https://doi.org/10.1152/ajpheart.01109.2004).
115. HJORTSHØJ, S., DETHLEFSEN, C., KRISTENSEN, S.R., RAVKILDE, J. Kinetics of ischaemia modified albumin during ongoing severe myocardial ischaemia. In: *Clinica Chimica Acta*. 2009, vol. 403, nr. 1-2, pp. 114-120. DOI: [10.1016/j.cca.2009.01.033](https://doi.org/10.1016/j.cca.2009.01.033)
116. HJORTSHØJ, S., KRISTENSEN, S.R., RAVKILDE, J. Diagnostic value of ischemia-modified albumin in patients with suspected acute coronary syndrome. In: *The American journal of emergency medicine*. 2010, vol. 28, nr. 2, pp. 170-176. DOI: [10.1016/j.ajem.2008.10.038](https://doi.org/10.1016/j.ajem.2008.10.038)
117. HO, E., et al. Biological markers of oxidative stress: applications to cardiovascular research and practice. In: *Redox biology*. 2013, vol. 1, nr. 1, pp. 483-491. doi: [10.1016/j.redox.2013.07.006](https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.07.006)
118. HONG, L.F., et al. Glycosylated hemoglobin A1c as a marker predicting the severity of coronary artery disease and early outcome in patients with stable angina. In: *Lipids in health and disease*. 2014, vol. 13, nr. 1, pp. 89. doi: [10.1186/1476-511X-13-89](https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-89)
119. HOWERTON, E., TARZAMI, S.T. Tumor necrosis factor-alpha and inflammation-mediated cardiac injury. In: *Journal of Cell Science & Therapy*. 2017, vol. 8, nr.268, pp. 1-4. ISSN: 2157-7013 DOI: [10.4172/2157-7013.1000268](https://doi.org/10.4172/2157-7013.1000268)
120. HUANG, S., FRANGOIANNIS, N.G. Anti-inflammatory therapies in myocardial infarction: failures, hopes and challenges. In: *British Journal of Pharmacology*. 2018, vol. 175, nr. 9, pp. 1377–1400. DOI: [10.1111/bph.14155](https://doi.org/10.1111/bph.14155)
121. IKONOMIDIS, I., et al. Inflammatory markers in coronary artery disease. In: *BioFactors*. 2012, vol. 38, nr. 5, pp. 320-328. DOI: [10.1002/biof.1024](https://doi.org/10.1002/biof.1024)
122. IRWIN, M.W., et al. Tissue expression and immunolocalization of tumor necrosis factor- α in postinfarction dysfunctional myocardium. In: *Circulation*. 1999, vol. 99, nr. 11, pp. 1492-1498. doi: [10.1161/01.CIR.99.11.1492](https://doi.org/10.1161/01.CIR.99.11.1492)
123. ISHIHARA, M. Acute hyperglycemia in patients with acute myocardial infarction. In: *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*. 2012, vol. 76, nr. 3, pp. 563-571. DOI: [10.1253/circj.cj-11-1376](https://doi.org/10.1253/circj.cj-11-1376)
124. JAFFE, A.S., et al. It's time for a change to a troponin standard. In: *Circulation*. 2000, vol. 102, nr. 11, pp. 1216-1220. DOI: [10.1161/01.cir.102.11.1216](https://doi.org/10.1161/01.cir.102.11.1216)

125. JAVED, Q. Clinical Implications of Tumor Necrosis Factor-Alpha, Interleukin-6 and Resistin in Coronary Artery Disease. In: *World Journal of Cardiovascular Diseases*. 2014, vol. 4, pp. 416-421. <http://dx.doi.org/10.4236/wjcd.2014.49052>
126. JENA, I., et al. Evaluation of ischemia-modified albumin, oxidative stress, and antioxidant status in acute ischemic stroke patients. In: *Journal of natural science, biology, and medicine*. 2017, vol. 8, nr. 1, pp. 110-113. [DOI:10.4103/0976-9668.198346](https://doi.org/10.4103/0976-9668.198346)
127. JIALAL, I., SOKOLL, L.J. Clinical utility of lactate dehydrogenase: a historical perspective. In: *American journal of clinical pathology*. 2015, vol. 143, nr. 2, pp. 158-159. [doi: 10.1309/AJCTP0FC8QFYDFA](https://doi.org/10.1309/AJCTP0FC8QFYDFA)
128. JOSEPH, D., et al. The detrimental effects of acute hyperglycemia on myocardial glucose uptake. In: *Life sciences*. 2014, vol. 105, nr. 1-2, pp. 31-42. [doi: 10.1016/j.lfs.2014.04.009](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.04.009).
129. KANKO, M., et al. Ischemia-modified albumin use as a prognostic factor in coronary bypass surgery. In: *Journal of cardiothoracic surgery*. 2012, vol. 7, nr. 1, p. 3. [DOI: 10.1186/1749-8090-7-3](https://doi.org/10.1186/1749-8090-7-3)
130. KAPOOR, P.M., et al. Changes in myocardial lactate, pyruvate and lactate-pyruvate ratio during cardiopulmonary bypass for elective adult cardiac surgery: Early indicator of morbidity. In: *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*. 2011, vol. 27, nr. 2, pp. 225-232. [DOI: 10.4103/0970-9185.81819](https://doi.org/10.4103/0970-9185.81819)
131. KARPIŃSKI, L., PŁAKSEJ, R., KOSMALA, W., WITKOWSKA, M. Serum levels of interleukin-6, interleukin-10 and C-reactive protein in relation to left ventricular function in patients with myocardial infarction treated with primary angioplasty. In: *Kardiologia polska*. 2008, vol. 66, nr. 12, pp. 1279-1285. [ISSN Print: 0022-9032. ISSN Electronic: 1897-4279. PMID:19169974](https://doi.org/10.1111/j.1365-2035.2008.03974.x)
132. KATHYAINI, R., GAYATRI, S., SULEMAN, D. A study on malondialdehyde as an oxidative stress marker in patients with myocardial infarction at a tertiary care centre. In: *National Journal of Laboratory Medicine*. 2017, vol. 6, nr. 4, pp. 13-16. [DOI: 10.7860/NJLM/2017/29815:2252](https://doi.org/10.7860/NJLM/2017/29815:2252)
133. KELM, M. Nitric oxide metabolism and breakdown. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 1999, vol. 1411, nr. 2-3, pp. 273-289. [DOI: 10.1016/s0005-2728\(99\)00020-1](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(99)00020-1)
134. KHALIL, M.I., et al. Amelioration of isoproterenol-induced oxidative damage in rat myocardium by Withania somnifera leaf extract. In: *BioMed research international*. 2015, vol. 2015, article ID 624159. [doi:10.1155/2015/624159](https://doi.org/10.1155/2015/624159)

135. KHAN, H.A., ALHOMIDA, A.S., SOBKI, S.H. Lipid profile of patients with acute myocardial infarction and its correlation with systemic inflammation. In: *Biomarker Insights*. 2013, vol. 8, pp. 1–7. DOI: [10.4137/BMI.S11015](https://doi.org/10.4137/BMI.S11015)
136. KITANO, D., et al. A comparative study of time-specific oxidative stress after acute myocardial infarction in patients with and without diabetes mellitus. In: *BMC cardiovascular disorders*. 2016, vol. 16, nr. 1, pp. 102. doi:[10.1186/s12872-016-0259-6](https://doi.org/10.1186/s12872-016-0259-6)
137. KIUCHI, K., et al. Increased serum concentrations of advanced glycation end products: a marker of coronary artery disease activity in type 2 diabetic patients. In: *Heart*. 2001, vol. 85, nr. 1, pp. 87-91. <http://dx.doi.org/10.1136/heart.85.1.87>
138. KLEINBONGARD, P., HEUSCH, G., SCHULZ, R. TNF- α in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure. In: *Pharmacology & Therapeutics*. 2010, vol. 127, nr. 3, pp. 295-314. doi: [10.1016/j.pharmthera.2010.05.002](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.05.002).
139. KOLMAN, L., et al. Prognostic value of admission fasting glucose levels in patients with acute coronary syndrome. In: *The American journal of cardiology*. 2009, vol. 104, nr. 4, pp. 470-474. doi: [10.1016/j.amjcard.2009.04.006](https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.04.006).
140. KOLWICZ Jr, S.C., LIU, L., GOLDBERG, I.J., TIAN, R. Enhancing cardiac triacylglycerol metabolism improves recovery from ischemic stress. In: *Diabetes*. 2015, vol. 64, nr. 8, pp. 2817-2827. DOI: [10.2337/db14-1943](https://doi.org/10.2337/db14-1943)
141. KORAČEVIĆ, G., et al. Stress hyperglycemia in acute myocardial infarction. In: *Vojnosanitetski pregled*. 2014, vol. 71, nr. 9, pp. 858-869. DOI: [10.2298/VSP121103017K](https://doi.org/10.2298/VSP121103017K)
142. KORO, C.E., et al. The independent correlation between high-density lipoprotein cholesterol and subsequent major adverse coronary events. In: *American heart journal*. 2006, vol. 151, nr. 3, pp. 755.e1-755.e6. DOI: [10.1016/j.ahj.2005.12.007](https://doi.org/10.1016/j.ahj.2005.12.007)
143. KOSIBOROD, M. Blood glucose and its prognostic implications in patients hospitalised with acute myocardial infarction. In: *Diabetes and Vascular Disease Research*. 2008, vol. 5, nr. 4, pp. 269-275. DOI: [10.3132/dvdr.2008.039](https://doi.org/10.3132/dvdr.2008.039)
144. KRENEK, P., et al. Increased expression of endothelial nitric oxide synthase and caveolin-1 in the aorta of rats with isoproterenol-induced cardiac hypertrophy. In: *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2006, vol. 84, nr. 12, pp. 1245-1250. DOI: [10.1139/y06-073](https://doi.org/10.1139/y06-073)
145. KUBIAK, G.M., et al. Lactate in cardiogenic shock – current understanding and clinical implications. In: *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2018, vol. 69, nr. 1, pp. 15-21. DOI: [10.26402/jpp.2018.1.02](https://doi.org/10.26402/jpp.2018.1.02)

146. KUCHARZ, E.J., WILK, T. Dynamics of serum interleukin-6 level in patients with acute myocardial infarction. In: *European journal of internal medicine*. 2000, vol. 11, nr. 5, pp. 253-256. DOI: [10.1016/s0953-6205\(00\)00098-4](https://doi.org/10.1016/s0953-6205(00)00098-4)
147. KUMAR, A., SIVAKANESAN, R., GUNASEKERA, S. Ischemia Modified Albumin: A potent marker in acute myocardial infarction in normolipidaemic. In: *Pakistan journal of medical sciences*. 2008, vol. 24, nr. 3, pp. 364-367. ISSN 1681-715X
148. KUMAR, M., et al. Animal models of myocardial infarction: mainstay in clinical translation. In: *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2016, vol. 76, pp. 221-230. DOI: [10.1016/j.yrtph.2016.03.005](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.03.005).
149. KUMAR, V., ABBAS, A.K., ASTER, J.C. Robbins Patologie: Bazele morfologice și fiziopatologice ale bolilor. Ediția a 9-a. Volumul I. Editori: Cuculici Gh.P., Gheorghiu A.W. București. Editura Medicală Callisto, 2015., 458 pagini. ISBN 978-606-8043-16-6
150. KUMAR, V., GILL, K.D. Determination of Total Lactate Dehydrogenase Activity in Serum Sample. In: *Basic Concepts in Clinical Biochemistry: A Practical Guide*. 2018, pp. 129–130. doi: [10.1007/978-981-10-8186-6_32](https://doi.org/10.1007/978-981-10-8186-6_32)
151. LAZZERI, C., et al. Lactate in the acute phase of ST-elevation myocardial infarction treated with mechanical revascularization: a single-center experience. In: *The American journal of emergency medicine*. 2012, vol. 30, nr. 1, pp. 92-96. DOI: [10.1016/j.ajem.2010.10.008](https://doi.org/10.1016/j.ajem.2010.10.008)
152. LAZZERI, C., VALENTE, S., CHIOSTRI, M., GENSINI, G.F. Clinical significance of lactate in acute cardiac patients. In: *World journal of cardiology*. 2015, vol. 7, nr. 8, pp. 483-489. DOI: [10.4330/wjc.v7.i8.483](https://doi.org/10.4330/wjc.v7.i8.483)
153. LEONG, X.F., NG, C.Y., JAARIN, K. Animal Models in Cardiovascular Research: Hypertension and Atherosclerosis. In: *BioMed Research International*. 2015, vol. 2015, ID 528757. DOI: [10.1155/2015/528757](https://doi.org/10.1155/2015/528757)
154. LI, G., et al. Prognostic value of glycated hemoglobin among patients with ST-segment elevation myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. In: *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2017, vol. 55, nr. 8, pp. 1090-1099. DOI: [10.1515/cclm-2016-0792](https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0792)
155. LI, J.J. Inflammation in coronary artery diseases. In: *Chinese medical journal*. 2011, vol. 124, nr. 21, pp. 3568-3575. DOI: [10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2011.21.024](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2011.21.024)
156. LIBBY, P., ROCHA, V.Z. All roads lead to IL-6: a central hub of cardiometabolic signaling. In: *International journal of cardiology*. 2018, vol. 259, pp. 213-215. doi: [10.1016/j.ijcard.2018.02.062](https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.02.062).

157. LICKA, M., et al. Troponin T concentrations 72 hours after myocardial infarction as a serological estimate of infarct size. In: *Heart*. 2002, vol. 87, nr. 6, pp. 520-524. doi: [10.1136/heart.87.6.520](https://doi.org/10.1136/heart.87.6.520)
158. LIGUORI, I., et al. Oxidative stress, aging, and diseases. In: *Clinical Interventions in Aging*. 2018, vol. 2018, nr. 13, pp. 757-772. DOI: [10.2147/CIA.S158513](https://doi.org/10.2147/CIA.S158513)
159. LINDMARK, E., DIDERHOLM, E., WALLENTIN, L., SIEGBAHN, A. Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease: effects of an early invasive or noninvasive strategy. In: *JAMA*. 2001, vol. 286, nr. 17, pp. 2107-2113. doi:[10.1001/jama.286.17.2107](https://doi.org/10.1001/jama.286.17.2107)
160. LISII, D., TAGADIUC, O., SARDARI, V. Glucose metabolism in cancer and the role of ketogenic diet. In: *Curierul medical*. 2015, vol. 58, nr. 2, pp. 56-64. ISSN 1857-0666
161. LÎȘÎI, L., PAVLOVSKI, E. Biochimie medicală. Ediție a treia. Chișinău, 2019. Tipografia „Balacron”, 816 pagini. ISBN 978-9975-3288-9-0.
162. LIU, S.X., et al. Advanced oxidation protein products accelerate atherosclerosis through promoting oxidative stress and inflammation. In: *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2006, vol. 26, nr. 5, pp. 1156-1162. DOI: [10.1161/01.ATV.0000214960.85469.68](https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000214960.85469.68)
163. LIU, Y., et al. Prognostic significance of hemoglobin A1c level in patients hospitalized with coronary artery disease. A systematic review and meta-analysis. In: *Cardiovascular Diabetology*. 2011, vol. 10, nr. 1, pp. 98. DOI:[10.1186/1475-2840-10-98](https://doi.org/10.1186/1475-2840-10-98)
164. LIYAN, C., JIE, Z., YONGHUA, W., XIAOZHOU, H. Assay of ischemia- modified albumin and C-reactive protein for early diagnosis of acute coronary syndromes. In: *Journal of clinical laboratory analysis*. 2008, vol. 22, nr. 1, pp. 45-49. DOI [10.1002/jcla.20223](https://doi.org/10.1002/jcla.20223)
165. LONGINI, M., et al. Oxidative stress biomarkers: establishment of reference values for isoprostanes, AOPP, and NPBI in cord blood. In: *Mediators of Inflammation*. 2017, vol. 2017, article ID 1758432. doi: [10.1155/2017/1758432](https://doi.org/10.1155/2017/1758432)
166. LOPPNOW, H., WERDAN, K., BUERKE, M. Invited review: Vascular cells contribute to atherosclerosis by cytokine-and innate-immunity-related inflammatory mechanisms. In: *Innate Immunity*. 2008, vol. 14, nr. 2, pp. 63-87. DOI: [10.1177/1753425908091246](https://doi.org/10.1177/1753425908091246)
167. LUBRANO, V., BALZAN, S. Consolidated and emerging inflammatory markers in coronary artery disease. In: *World journal of experimental medicine*. 2015, vol. 5, nr. 1, pp. 21-32. DOI: [10.5493/wjem.v5.i1.21](https://doi.org/10.5493/wjem.v5.i1.21)

168. LUIKING, Y.C., ENGELEN, M.P., DEUTZ, N.E. Regulation of nitric oxide production in health and disease. In: *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2010, vol. 13, nr. 1, pp. 97-104. DOI: [10.1097/MCO.0b013e328332f99d](https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328332f99d)
169. LUM, G., SOLARZ, D.E., FARNEY, L. False positive cardiac troponin results in patients without acute myocardial infarction. *Laboratory medicine*. 2006, vol. 37, nr. 9, pp. 546-550. DOI: [10.1309/T94UUXTJ3TX5Y9W2](https://doi.org/10.1309/T94UUXTJ3TX5Y9W2)
170. LUNDBERG, J., WEITZBERG, E., GLADWIN, M. The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. In: *Nature Reviews Drug Discovery*. 2008, vol. 7, pp. 156–167. <https://doi.org/10.1038/nrd2466>
171. MADIAN, A.G., REGNIER, F.E. Proteomic identification of carbonylated proteins and their oxidation sites. In: *Journal of proteome research*. 2010, vol. 9, nr. 8, pp. 3766-3780. <https://doi.org/10.1021/pr1002609>
172. MADOLE, M.B., BACHEVAR, N.P., AIYAR, C.M. Study of oxidants and antioxidants in patients of acute myocardial infarction. In: *Advanced biomedical research*. 2015, vol. 4, pp. 241. DOI: [10.4103/2277-9175.168608](https://doi.org/10.4103/2277-9175.168608)
173. MAHMOOD, R. A., ZAIDAN, T. F., SHAHEED, A. M. Lactate dehydrogenase in serum and saliva of ischemic heart disease patients. In: *Journal of baghdad college of dentistry*. 2010, vol. 22, nr. 1, pp. 21-24. ISSN: 1680-0087.
174. MAPANGA, R.F., et al. Detrimental effects of acute hyperglycaemia on the rat heart. In: *Acta physiologica (Oxford, England)*. 2014, vol. 210, nr. 3, pp. 546-564. doi: [10.1111/apha.12184](https://doi.org/10.1111/apha.12184).
175. MARGARITELIS, N.V., et al. Blood reflects tissue oxidative stress: a systematic review. In: *Biomarkers*. 2015, vol. 20, pp. 97–108. DOI: [10.3109/1354750X.2014.1002807](https://doi.org/10.3109/1354750X.2014.1002807)
176. MASSION, P.B., FERON, O., DESSY, C., BALLIGAND, J.L. Nitric oxide and cardiac function: ten years after, and continuing. In: *Circulation Research*. 2003, vol. 93, pp. 388-398. DOI: [10.1161/01.RES.0000088351.58510.21](https://doi.org/10.1161/01.RES.0000088351.58510.21)
177. MAYFIELD, A.E., et al. Interleukin-6 mediates post-infarct repair by cardiac explant-derived stem cells. In: *Theranostics*. 2017, vol. 7, nr. 19, pp. 4850-4861. DOI: [10.7150/thno.19435](https://doi.org/10.7150/thno.19435)
178. MAYNARD, S.J., MENOWN, I.B.A., ADGEY, A.A.J. Troponin T or troponin I as cardiac markers in ischemic hart disease. In: *Heart*. 2000, vol. 83, pp. 371-373. DOI: [10.1136/heart.83.4.371](https://doi.org/10.1136/heart.83.4.371)
179. MI, S.H., et al. Comparison of in-hospital glycemic variability and admission blood glucose in predicting short-term outcomes in non-diabetes patients with ST elevation

- myocardial infarction underwent percutaneous coronary intervention. In: *Diabetology & metabolic syndrome*. 2017, vol. 9, nr. 1, p. 20. doi: [10.1186/s13098-017-0217-1](https://doi.org/10.1186/s13098-017-0217-1)
180. MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA. Infarctul Miocardic Acut. Protocol Clinic Național. PCN-81. Chișinău, 2014, 30 pagini. www.msmps.gov.md
 181. MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA. Sindromul Coronarian Acut și Infarctul Miocardic Acut. Protocol Clinic Național. PCN-81. Chișinău, 2017, 41 pagini. http://89.32.227.76/files/15505-PCN%2520SCA_%2520IMA.pdf
 182. MINISTERUL SĂNĂTĂȚII, MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE//AGENȚIA NAȚIONALĂ PENTRU SĂNĂTATE PUBLICĂ. Anuarul statistic al sistemului de sănătate din Moldova. Anul 2017. Incidența și prevalența generală a populației. Chișinău, 2018, 60 pagini. <https://ansp.md/wp-content/uploads/2014/07/11.Incidenta-si-prevalenta-general-a-populatiei.pdf>
 183. MITRA, B., PANJA, M. Myocardial metabolism: pharmacological manipulation in myocardial ischaemia. In: *The Journal of the Association of Physicians of India*. 2005, vol. 53, pp. 552-560. ISSN Print: 0004-5772. PMID: 16121812
 184. MORIS, D., et al. The role of reactive oxygen species in myocardial redox signaling and regulation. In: *Annals of translational medicine*. 2017, vol. 5, nr. 16, p. 324. DOI: [10.21037/atm.2017.06.17](https://doi.org/10.21037/atm.2017.06.17)
 185. MORIS, D., et al. The role of reactive oxygen species in the pathophysiology of cardiovascular diseases and the clinical significance of myocardial redox. In: *Annals of Translational Medicine*. 2017, vol. 5, nr. 16, p. 326. doi: [10.21037/atm.2017.06.27](https://doi.org/10.21037/atm.2017.06.27)
 186. MOVAHED, M.R., JOHN, J., HASHEMZADEH, M., HASHEMZADEH, M. Mortality Trends for Non-ST- segment Elevation Myocardial Infarction (NSTEMI) in the United States from 1988 to 2004. In: *Clinical cardiology*. 2011, vol. 34, nr. 11, pp. 689-692. DOI: [10.1002/clc.20968](https://doi.org/10.1002/clc.20968)
 187. MURASE, K., MURASE, J., MISHIMA, A. Nationwide increase in complex congenital heart diseases after the Fukushima nuclear accident. In: *Journal of the American Heart Association*. 2019, vol. 8, nr. 6, p. e009486. <https://doi.org/10.1161/JAHA.118.009486>
 188. MUTLU, B., et al. Prognostic importance of predischarged troponin T levels in acute anterior myocardial infarction. In: *Japanese heart journal*. 2004, vol. 45, nr. 1, pp. 43-52. DOI: [10.1536/jhj.45.43](https://doi.org/10.1536/jhj.45.43)
 189. MYTHILI, S., MALATHI, N. Diagnostic markers of acute myocardial infarction. In: *Biomedical reports*. 2015, vol. 3, nr. 6, pp. 743-748. doi: [10.3892/br.2015.500](https://doi.org/10.3892/br.2015.500)

190. NAITO, R., et al. Impact of admission glycemia and glycosylated hemoglobin A1c on long-term clinical outcomes of non-diabetic patients with acute coronary syndrome. In: *Journal of cardiology*. 2014, vol. 63, nr. 2, pp. 106-111. doi: [10.1016/j.jjcc.2013.07.009](https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2013.07.009)
191. NAPOLEÃO, P., et al. Variations in inflammatory markers in acute myocardial infarction: a longitudinal study. In: *Revista portuguesa de cardiologia: orgao oficial da Sociedade Portuguesa de Cardiologia// Portuguese journal of cardiology: an official journal of the Portuguese Society of Cardiology*. 2007, vol. 26, nr. 12, pp. 1357-1363. PMID: [18338665](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18338665/) ISSN print: [0870-2551](https://www.elsevier.com/issn/0870-2551) ISSN Electronic: [2174-2030](https://www.elsevier.com/issn/2174-2030)
192. NARAYANA, R.H., et al. Association between glycosylated hemoglobin and acute coronary syndrome in type 2 diabetes mellitus. In: *Archives of Medicine and Health Sciences*. 2015, vol. 3, nr. 1, pp. 29-33. DOI: [10.4103/2321-4848.154938](https://doi.org/10.4103/2321-4848.154938)
193. NEGARĂ, A., et al. Demensiunile morbidității cardiovasculare la vîrstnici din mediul rural. In: *Revista științifico-practică Info-Med*. 2018, vol. 2, nr. 32, pp. 58-60. ISSN [1810-3936](https://www.elsevier.com/issn/1810-3936)
194. NIAN, M., LEE, P., KHAPER, N., LIU, P. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling. In: *Circulation Research*. 2004, vol. 94, nr. 12, pp. 1543-1553. DOI: [10.1161/01.RES.0000130526.20854.fa](https://doi.org/10.1161/01.RES.0000130526.20854.fa)
195. NIKOLOPOULOU, A., et al. Common community infections and the risk for coronary artery disease and acute myocardial infarction: evidence for chronic over-expression of tumor necrosis factor alpha and vascular cells adhesion molecule-1. In: *International journal of cardiology*. 2008, vol. 130, nr. 2, pp. 246-250. DOI: [10.1016/j.ijcard.2007.08.052](https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.08.052)
196. NILSSON, L., SZYMANOWSKI, A., SWAHN, E., JONASSON, L. Soluble TNF receptors are associated with infarct size and ventricular dysfunction in ST-elevation myocardial infarction. In: *PloS one*. 2013, vol. 8, nr. 2, p. e55477. doi:[10.1371/journal.pone.0055477](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055477)
197. NIN, J.W., et al. Higher plasma levels of advanced glycation end products are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in type 1 diabetes: a 12-year follow-up study. In: *Diabetes Care*. 2011, vol. 34, nr. 2, pp. 442-447. <https://doi.org/10.2337/dc10-1087>
198. NIU, W., QI, Y. Circulating cholesteryl ester transfer protein and coronary heart disease: mendelian randomization meta-analysis. In: *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2015, vol. 8, nr. 1, pp. 114-121. doi: [10.1161/CIRCGENETICS.114.000748](https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.114.000748)

199. NOŻYŃSKI, J., et al. Advanced glycation end-products in myocardium-supported vessels: effects of heart failure and diabetes mellitus. In: *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2011, vol. 30, nr. 5, pp. 558-564. doi: [10.1016/j.healun.2010.11.006](https://doi.org/10.1016/j.healun.2010.11.006).
200. OHTANI, R., et al. Novel mutations of cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene in Japanese hyperalphalipoproteinemic subjects. In: *Clinica Chimica Acta*. 2012, vol. 413, nr. 5-6, pp. 537-543. doi: [10.1016/j.cca.2011.11.010](https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.11.010)
201. OLIVEIRA, M.I.A., et al. RAGE receptor and its soluble isoforms in diabetes mellitus complications. In: *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2013, vol. 49, nr. 2, pp. 97-108. doi.org/[10.1590/S1676-24442013000200004](https://doi.org/10.1590/S1676-24442013000200004)
202. OLSSON, A.G., et al. High-density lipoprotein, but not low-density lipoprotein cholesterol levels influence short-term prognosis after acute coronary syndrome: results from the MIRACL trial. In: *European heart journal*. 2005, vol. 26, nr. 9, pp. 890-896. DOI:[10.1093/eurheartj/ehi186](https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehi186)
203. OMAR, S.A., WEBB, A.J., LUNDBERG, J.O., WEITZBERG, E. Therapeutic effects of inorganic nitrate and nitrite in cardiovascular and metabolic diseases. In: *Journal of Internal Medicine*. 2016, vol. 279, nr. 4, pp. 315–336. doi: [10.1111/joim.12441](https://doi.org/10.1111/joim.12441)
204. ONORATI, F., et al. Troponin I and lactate from coronary sinus predict cardiac complications after myocardial revascularization. In: *The Annals of thoracic surgery*. 2007, vol. 83, nr. 3, pp. 1016-1023. DOI: [10.1016/j.athoracsur.2006.10.103](https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2006.10.103)
205. OPARIUC-DAN, C. Statistică aplicată în științele socio-umane: noțiuni de bază: statistici univariate. Constanța, 2009, 330 pagini. ISBN: [978-973-7973-63-4](https://www.isbn-international.org/en/product/978-973-7973-63-4)
206. OPARIUC-DAN, C. Statistică aplicată în științele socio-umane. Analiza asocierilor și a diferențelor statistice. Constanța. 2011, 372 pagini. ISBN: [978-973-7973-63-4](https://www.isbn-international.org/en/product/978-973-7973-63-4)
207. OZOUGWU, J.C. The role of reactive oxygen species and antioxidants in oxidative stress. In: *International Journal of Research*. 2016, vol. 3, nr. 1, pp. 1-8. ISSN [2394-5885](https://www.issn-international.org/en/product/2394-5885) (Print), ISSN [2394-5893](https://www.issn-international.org/en/product/2394-5893) (Online)
208. PACHER, P., BECKMAN, J.S., LIAUDET, L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. In: *Physiological reviews*. 2007, vol. 87, nr. 1, pp. 315-424. DOI: [10.1152/physrev.00029.2006](https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2006)
209. PACKARD, C.J., SAITO, Y. Non-HDL Cholesterol as a measure of atherosclerotic risk. In: *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2004, vol. 11, nr. 1, pp. 6-14. DOI: [10.5551/jat.11.6](https://doi.org/10.5551/jat.11.6)

210. PAN, X., SCHWARTZ, S.D. Free energy surface of the Michaelis complex of lactate dehydrogenase: a network analysis of microsecond simulations. In: *Journal of Physical Chemistry B*. 2015, vol. 119, nr. 17, pp. 5430–5436. DOI: [10.1021/acs.jpcc.5b01840](https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b01840)
211. PANDA, S., KAR, A., BISWAS, S. Preventive effect of agnucastolide C against isoproterenol-induced myocardial injury. In: *Scientific reports*. 2017, vol. 7, nr. 1, pp. 1-14. DOI: [10.1038/s41598-017-16075-0](https://doi.org/10.1038/s41598-017-16075-0)
212. PATIL, N., CHAVAN, V., KARNIK, N.D. Antioxidant status in patients with acute myocardial infarction. In: *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2007, vol. 22, nr. 1, pp. 45-51. DOI: [10.1007/BF02912880](https://doi.org/10.1007/BF02912880)
213. PEPPA, M., URIBARRI, J., VLASSARA, H. The role of advanced glycation end products in the development of atherosclerosis. In: *Current Diabetes Reports*. 2004, vol. 4, nr. 1, pp. 31–36. doi: [10.1007/s11892-004-0008-6](https://doi.org/10.1007/s11892-004-0008-6)
214. PIPERI, C., et al. Crosstalk between advanced glycation and endoplasmic reticulum stress: emerging therapeutic targeting for metabolic diseases. In: *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2012, vol. 97, nr. 7, pp. 2231-2242. doi: [10.1210/jc.2011-3408](https://doi.org/10.1210/jc.2011-3408).
215. PISCHON, T., et al. Non-high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the prediction of coronary heart disease in men. In: *Circulation*. 2005, vol. 112, nr. 22, pp. 3375-3383. DOI: [10.1161/CIRCULATIONAHA.104.532499](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.532499)
216. PITT, B., LOSCALZO, J., YČAS, J., RAICHLIN, J.S. Lipid levels after acute coronary syndromes. In: *Journal of the American College of Cardiology*. 2008, vol. 51, nr. 15, pp. 1440-1445. DOI: [10.1016/j.jacc.2007.11.075](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.11.075)
217. PIWOWAR, A. Biochemical and clinical aspects of advanced oxidation protein products in kidney diseases and metabolic disturbances. In: *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej (Online)*. 2014, vol. 68, pp. 179-190. DOI: [10.5604/17322693.1088754](https://doi.org/10.5604/17322693.1088754) e-ISSN 1732-2693
218. PLATT, D.E., et al. Circulating lipid levels and risk of coronary artery disease in a large group of patients undergoing coronary angiography. In: *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2015, vol. 39, nr. 1, pp. 15–22. DOI: [10.1007/s11239-014-1069-2](https://doi.org/10.1007/s11239-014-1069-2)
219. PLEBANI, M., ANTONELLI, G., ZANINOTTO, M. Cardiac biomarkers of acute coronary syndrome: from history to high-sensitive cardiac troponin. In: *Internal and emergency medicine*. 2017, vol. 12, nr. 2, pp. 143-145. DOI [10.1007/s11739-017-1613-0](https://doi.org/10.1007/s11739-017-1613-0)

220. POVLSEN, J.A., et al. Frequent biomarker analysis in the isolated perfused heart reveals two distinct phases of reperfusion injury. In: *International Journal of Cardiology*. 2014, vol. 171, nr. 1, pp. 9-14. DOI: [10.1016/j.ijcard.2013.11.035](https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.11.035)
221. PRABHU, S.D., FRANGOIANNIS, N.G. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: from inflammation to fibrosis. In: *Circulation research*. 2016, vol. 119, nr. 1, pp. 91-112. DOI: [10.1161/CIRCRESAHA.116.303577](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303577).
222. PUDIL, R., et al. Plasma interleukin-6 level is associated with NT-proBNP level and predicts short-and long-term mortality in patients with acute heart failure. In: *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2010, vol. 53, nr. 4, pp. 225-228. DOI: [10.14712/18059694.2016](https://doi.org/10.14712/18059694.2016).
223. QIU, H., et al. Dynamic fluctuations of advanced glycation end products and its C-terminal truncated receptor level in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction and undergoing diabetes or not: a retrospective study. In: *Medicine*. 2018, vol. 97, nr. 30, pp. e11278. DOI: [10.1097/MD.00000000000011278](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000011278)
224. RAHBAR, S. The discovery of glycated hemoglobin: a major event in the study of nonenzymatic chemistry in biological systems. In: *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005, vol. 1043, nr. 1, pp. 9-19. DOI: [10.1196/annals.1333.002](https://doi.org/10.1196/annals.1333.002)
225. RAICEA, V., KOVACS, J., MORARU, L., SUCIU, H. Coronary sinus lactate as marker of myocardial ischemia in cardiac surgery: correlation with morbidity and mortality after cardiac surgery/Lactatul din sinusul coronarian-marker al ischemiei miocardice în chirurgia cardiacă: corelații cu morbiditatea și mortalitatea postoperatorie. In: *Romanian Review of Laboratory Medicine*. 2015, vol. 23, nr. 2, pp. 189-197. DOI: [10.1515/rrlm-2015-0019](https://doi.org/10.1515/rrlm-2015-0019)
226. RANI, R., KUMAR, V. Recent update on human lactate dehydrogenase enzyme 5 (hLDH5) inhibitors: a promising approach for cancer chemotherapy: miniperspective. In: *Journal of medicinal chemistry*. 2016, vol. 59, nr. 2, pp. 487-496. DOI: [10.1021/acs.jmedchem.5b00168](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00168)
227. RAPOSEIRAS-ROUBÍN, S., et al. Advanced glycation end-products as long-term predictors of death and reinfarction after an acute coronary syndrome. In: *Biomarkers in medicine*. 2015, vol. 9, nr. 3, pp. 209-216. doi: [10.2217/bmm.14.113](https://doi.org/10.2217/bmm.14.113) ISSN 1752-0363
228. RASOOL, M., et al. Implications of advanced oxidation protein products (AOPPs), advanced glycation end products (AGEs) and other biomarkers in the development of cardiovascular diseases. In: *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2019, vol. 26, nr. 2, pp. 334-339. DOI: [10.1016/j.sjbs.2018.08.024](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.024)

229. RAZI, M.M., ABDALI, N., ASIF, S.M., AZHARUDDIN, M. Association of inflammatory cytokines/biomarkers with acute coronary syndrome and its correlation with severity and hospital outcome. In: *Journal of Clinical and Preventive Cardiology*. 2017, vol. 6, nr. 2, pp. 44-49. DOI: [10.4103/2250-3528.203532](https://doi.org/10.4103/2250-3528.203532)
230. REDDY, V.S., et al. Relationship between serum low-density lipoprotein cholesterol and in-hospital mortality following acute myocardial infarction (the lipid paradox). In: *The American journal of cardiology*. 2015, vol. 115, nr. 5, pp. 557-562. doi: [10.1016/j.amjcard.2014.12.006](https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.12.006)
231. REDDY, C.B., CYRIAC, C., DESLE, H.B. Role of “Ischemia Modified Albumin” (IMA) in acute coronary syndromes. In: *Indian heart journal*. 2014, vol. 66, nr. 6, pp. 656-662. doi: [10.1016/j.ihj.2014.12.005](https://doi.org/10.1016/j.ihj.2014.12.005)
232. REICHLIN, T., et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. In: *New England Journal of Medicine*. 2009, vol. 361, nr. 9, pp. 858-867. doi: [10.1056/NEJMoa0900428](https://doi.org/10.1056/NEJMoa0900428).
233. REISS, A.B., SIEGART, N.M., LEON, J. Interleukin-6 in atherosclerosis: atherogenic or atheroprotective? In: *Clinical Lipidology*. 2017, vol. 12, nr. 1, pp. 14-23. <https://doi.org/10.1080/17584299.2017.1319787>
234. RIDKER, P.M., RIFAI, N., STAMPFER, M.J., HENNEKENS, C.H. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. In: *Circulation*. 2000, vol. 101, nr. 15, pp. 1767-1772. DOI:[10.1161/01.cir.101.15.1767](https://doi.org/10.1161/01.cir.101.15.1767)
235. RITSCHER, V.N., et al. IL-6 signalling in patients with acute ST-elevation myocardial infarction. In: *Results in immunology*. 2014, vol. 4, pp. 8-13. DOI: [10.1016/j.rinim.2013.11.002](https://doi.org/10.1016/j.rinim.2013.11.002)
236. RODRIGO, R., LIBUY, M., FELIÚ, F., HASSON, D. Oxidative stress-related biomarkers in essential hypertension and ischemia-reperfusion myocardial damage. In: *Disease markers*. 2013, vol. 35, nr. 6, pp. 773-790. DOI: [10.1155/2013/974358](https://doi.org/10.1155/2013/974358)
237. RODRÍGUEZ, A.D., et al. Circadian variations in proinflammatory cytokine concentrations in acute myocardial infarction. In: *Revista española de cardiología*. 2003, vol. 56, nr. 6, pp. 555-560. DOI: [10.1016/s0300-8932\(03\)76916-4](https://doi.org/10.1016/s0300-8932(03)76916-4)
238. ROSENSON, R.S., BREWER, H.B., RADER, D.J. Lipoproteins as biomarkers and therapeutic targets in the setting of acute coronary syndrome. In: *Circulation research*. 2014, vol. 114, nr. 12, pp. 1880-1889. DOI: [10.1161/CIRCRESAHA.114.302805](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302805)

239. ROTT, D., KLEMPFNER, R., GOLDENBERG, I., LEIBOWITZ, D. Cholesterol levels decrease soon after acute myocardial infarction. In: *The Israel Medical Association journal: IMAJ*. 2015, vol. 17, nr. 6, pp. 370-373. ISSN: 1565-1088 (Print) PMID: [26233997](#)
240. SALEH, J. Glycated hemoglobin and its spinoffs: cardiovascular disease markers or risk factors? In: *World journal of cardiology*. 2015; vol. 7, nr. 8, pp. 449-453. doi: [10.4330/wjc.v7.i8.449](#)
241. SBAROUNI, E., GEORGIADOU, P., KREMASTINOS, D.T., VOUDRIS, V. Ischemia modified albumin: is this marker of ischemia ready for prime time use? In: *Hellenic Journal of Cardiology*. 2008, vol. 49, nr. 4, pp. 260-266. ISSN: 1011-7970 PMID: [18935713](#)
242. SCHULZ, R., HEUSCH, G. Tumor necrosis factor- α and its receptors 1 and 2: Yin and Yang in myocardial infarction? In: *Circulation*. 2009, vol. 119, nr. 10, pp. 1355-1357. DOI: [10.1161/CIRCULATIONAHA.108.846105](#)
243. SELVIN, E., et al. Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults. In: *New England Journal of Medicine*. 2010, vol. 362, nr. 9, pp. 800-811. DOI: [10.1056/NEJMoa0908359](#)
244. SENTHIL KUMARAN, K., STANELY MAINZEN PRINCE, P. Protective effects of caffeic acid on lactate dehydrogenase isoenzymes, electrocardiogram, adenosine triphosphatases, and hematology on isoproterenol- induced myocardial infarcted rats. In: *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2011, vol. 25, nr. 2, pp. 60-67. DOI: [10.1002/jbt.20359](#)
245. SÉRO, L., et al. Tuning a 96-well microtiter plate fluorescence-based assay to identify AGE inhibitors in crude plant extracts. In: *Molecules*. 2013, vol. 18, nr. 11, pp. 14320-14339. DOI: [10.3390/molecules181114320](#)
246. SHRIVASTAVA, A.K., SINGH, H.V., RAIZADA, A., SINGH, S.K. Serial measurement of lipid profile and inflammatory markers in patients with acute myocardial infarction. In: *EXCLI journal*. 2015, vol. 14, pp. 517-526. doi: [10.17179/excli2014-671](#)
247. SIEBEL, A.L., HEYWOOD, S.E., KINGWELL, B.A. HDL and glucose metabolism: Current evidence and therapeutic potential. *Frontiers in Pharmacology*. 2015, vol. 6, p. 258. doi: [10.3389/fphar.2015.00258](#).
248. SIGDEL, M., et al. Non-high density lipoprotein cholesterol versus low density lipoprotein cholesterol as a discriminating factor for myocardial infarction. In: *BMC research notes*. 2012, vol. 5, nr. 1, pp. 640. DOI: [10.1186/1756-0500-5-640](#)

249. SIMM, A. Protein glycation during aging and in cardiovascular disease. In: *Journal of proteomics*. 2013, vol. 92, pp. 248-259. DOI: [10.1016/j.jprot.2013.05.012](https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.05.012)
250. SIMM, A., et al. Protein glycation - between tissue aging and protection. In: *Experimental gerontology*. 2015, vol. 68, pp. 71-75. doi: [10.1016/j.exger.2014.12.013](https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.12.013)
251. SINGH, R., DEVI, S., GOLLEN, R. Role of free radical in atherosclerosis, diabetes and dyslipidaemia: larger- than- life. In: *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2015, vol. 31, nr. 2, pp. 113-126. DOI: [10.1002/dmrr.2558](https://doi.org/10.1002/dmrr.2558)
252. SINGH, S., BANSAL, M., RANI, K., GUPTA, V. Prognostic significance of glycosylated hemoglobin in nondiabetic patients in acute coronary syndrome. In: *Heart India*. 2016, vol. 4, nr. 1, pp. 17-22. DOI: [10.4103/2321-449X.178123](https://doi.org/10.4103/2321-449X.178123)
253. SINGH, Z., KARTHIGESU, I.P., SINGH, P., RUPINDER, K.A.U.R. Use of malondialdehyde as a biomarker for assessing oxidative stress in different disease pathologies: a review. In: *Iranian Journal of Public Health*. 2014, vol. 43, nr. 3, pp. 7-16. <http://ijph.tums.ac.ir/index.php/ijph/article/view/4858>. pISSN: 2251-6085//eISSN: 2251-6093
254. SINHA, M.K., et al. Role of “Ischemia Modified Albumin”, a new biochemical marker of myocardial ischaemia, in the early diagnosis of acute coronary syndromes. In: *Emergency Medicine Journal*. 2004, vol. 21, nr. 1, pp. 29-34. doi: [10.1136/emj.2003.006007](https://doi.org/10.1136/emj.2003.006007)
255. SIVASUBRAMANIAN, N., et al. Left ventricular remodeling in transgenic mice with cardiac restricted overexpression of tumor necrosis factor. In: *Circulation*. 2001, vol. 104, nr. 7, pp. 826-831. DOI: [10.1161/hc3401.093154](https://doi.org/10.1161/hc3401.093154)
256. SKVARILOVÁ, M., et al. Increased level of advanced oxidation products (AOPP) as a marker of oxidative stress in patients with acute coronary syndrome. In: *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*. 2005, vol. 149, nr. 1, pp. 83-87. DOI: [10.5507/bp.2005.009](https://doi.org/10.5507/bp.2005.009)
257. SMILJIĆ, S., NESTOROVIC, V., SAVIĆ, S. Modulatory role of nitric oxide in cardiac performance. In: *Medicinski pregled*. 2014, vol. 67, nr. 9-10, pp. 345-352. DOI: [10.2298/MPNS1410345S](https://doi.org/10.2298/MPNS1410345S)
258. SONNWEBER, T., et al. Arachidonic acid metabolites in cardiovascular and metabolic diseases. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2018, vol. 19, nr. 11, p. 3285. doi: [10.3390/ijms19113285](https://doi.org/10.3390/ijms19113285)
259. <https://statistica.gov.md/>

260. STIRBAN, A., GAWLOWSKI, T., RODEN, M. Vascular effects of advanced glycation endproducts: clinical effects and molecular mechanisms. In: *Molecular metabolism*. 2014, vol. 3, nr. 2, pp. 94-108. DOI: [10.1016/j.molmet.2013.11.006](https://doi.org/10.1016/j.molmet.2013.11.006).
261. SU, D., et al. Association between serum interleukin-6 concentration and mortality in patients with coronary artery disease. In: *Mediators of inflammation*. 2013, vol. 2013, nr. 8, article ID 726178. DOI: [10.1155/2013/726178](https://doi.org/10.1155/2013/726178)
262. SUN, M., et al. Excessive tumor necrosis factor activation after infarction contributes to susceptibility of myocardial rupture and left ventricular dysfunction. In: *Circulation*. 2004, vol. 110, nr. 20, pp. 3221-3228. DOI: [10.1161/01.CIR.0000147233.10318.23](https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000147233.10318.23)
263. SUN, X.Q., et al. Effect of glycated hemoglobin on heart function of the patients with revascularization of coronary artery. In: *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015, vol. 8, nr. 6, pp. 7181-7188. ISSN: [1936-2625/IJCEP0009132](https://doi.org/10.1936-2625/IJCEP0009132)
264. SUREKHA, R.H., et al. Oxidative stress and total antioxidant status in myocardial infarction. In: *Singapore medical journal*. 2007, vol. 48, nr. 2, pp. 137-142. ISSN: [0037-5675 \(Print\) PMID: 17304393](https://doi.org/10.1111/0037-5675(Print) PMID: 17304393)
265. SYED, I.A.A., KHAN, W.A. Glycated haemoglobin – a marker and predictor of cardiovascular disease. In: *JPMA-Journal of the Pakistan Medical Association*. 2011, vol. 61, nr. 7, pp. 690-695. ISSN: [0030-9982 \(Print\) PMID: 22204248](https://doi.org/10.10030-9982(Print) PMID: 22204248)
266. TATULASHVILI, S., et al. Detection of glucose metabolism disorders in coronary patients enrolled in cardiac rehabilitation: Is glycated haemoglobin useful? Data from the prospective REHABDIAB study. In: *European journal of preventive cardiology*. 2018, vol. 25, nr. 5, pp. 464-471. DOI: [10.1177/2047487317754011](https://doi.org/10.1177/2047487317754011)
267. THIELMANN, M., et al. Heart-type fatty acid binding protein and ischemia-modified albumin for detection of myocardial infarction after coronary artery bypass graft surgery. In: *The Annals of thoracic surgery*. 2017, vol. 104, nr. 1, pp. 130-137. doi: [10.1016/j.athoracsur.2016.10.051](https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2016.10.051).
268. THYGESEN, K., et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. In: *European heart journal*. 2010, vol. 31, nr. 18, pp. 2197-2204. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq251>
269. THYGESEN, K., et al. ESC Scientific Document Group, Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). In: *European Heart Journal*. 2019, vol. 40, nr. 3, pp. 237–269. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy462>

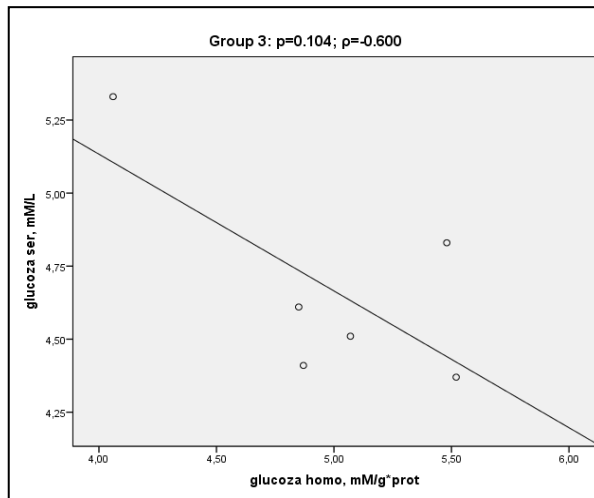
270. TIAN, M., et al. Tumor necrosis factor- α and its role as a mediator in myocardial infarction: A brief review. In: *Chronic diseases and translational medicine*. 2015, vol. 1, nr. 1, pp. 18-26. doi: [10.1016/j.cdtm.2015.02.002](https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2015.02.002)
271. TODA, H., et al. Assessment of medium-term cardiovascular disease risk after Japan's 2011 Fukushima Daiichi nuclear accident: a retrospective analysis. In: *BMJ open*. 2017 vol. 7, nr. 12, p. e018502. doi:[10.1136/bmjopen-2017-018502](https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-018502)
272. TOHIDI, M., et al. Lipid measures for prediction of incident cardiovascular disease in diabetic and non-diabetic adults: results of the 8.6 years follow-up of a population based cohort study. In: *Lipids in health and disease*. 2010, vol. 9, p. 6. DOI:[10.1186/1476-511X-9-6](https://doi.org/10.1186/1476-511X-9-6)
273. TOKER, A., et al. Serum and Saliva Levels of Ischemia- Modified Albumin in Patients with Acute Myocardial Infarction. In: *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2013, vol. 27, nr. 2, p. 99. DOI: [10.1002/jcla.21569](https://doi.org/10.1002/jcla.21569)
274. ULLA, A., et al. Coenzyme Q10 prevents oxidative stress and fibrosis in isoprenaline induced cardiac remodeling in aged rats. In: *BMC Pharmacology and Toxicology*. 2017, vol. 18, nr. 1, p. 29. doi: [10.1186/s40360-017-0136-7](https://doi.org/10.1186/s40360-017-0136-7)
275. URSCHEL, K., CICHA, I. TNF- α in the cardiovascular system: from physiology to therapy. In: *International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research*. 2015, vol. 7, pp. 9-25. <http://dx.doi.org/10.2147/IJICMR.S64894>
276. VALENTE, A.J., et al. Advanced oxidation protein products induce cardiomyocyte death via Nox2/Rac1/superoxide-dependent TRAF3IP2/JNK signaling. In: *Free Radical Biology and Medicine*. 2013, vol. 60, pp. 125-135. DOI: [10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.012](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.012)
277. VALLE GOTTLIEB, M.G., et al. Associations among metabolic syndrome, ischemia, inflammatory, oxidatives, and lipids biomarkers. In: *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010, vol. 95, nr. 2, pp. 586-591. doi: [10.1210/jc.2009-1592](https://doi.org/10.1210/jc.2009-1592)
278. VAN DER STEEG, W.A., et al. Cholesteryl ester transfer protein and hyperalphalipoproteinemia in Caucasians. In: *Journal of lipid research*. 2007, vol. 48, nr. 3, pp. 674-682. doi: [10.1194/jlr.M600405-JLR200](https://doi.org/10.1194/jlr.M600405-JLR200)
279. VARGA, Z.V., et al. Interplay of oxidative, nitrosative/nitrative stress, inflammation, cell death and autophagy in diabetic cardiomyopathy. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2015, vol. 1852, nr. 2, pp. 232-242. DOI: [10.1016/j.bbadis.2014.06.030](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.06.030)

280. VITALI, C., KHETARPAL, S.A., RADER, D.J. HDL cholesterol metabolism and the risk of CHD: new insights from human genetics. In: *Current cardiology reports*. 2017, vol. 19, nr. 12, p. 132. DOI: [10.1007/s11886-017-0940-0](https://doi.org/10.1007/s11886-017-0940-0)
281. VUJOSEVIC, S., RADOJEVIC, N., BELADA, N. Influence of admission glucose profile and hemoglobin A1c on complications of acute myocardial infarction in diabetic patients. In: *European review for medical and pharmacological sciences*. 2013, vol. 17, nr. 9, pp. 1252-1257. ISSN 1128-3602 (Print) ISSN 2284-0729 (Electronic)
282. WAJANT, H., PFIZENMAIER, K., SCHEURICH, P. Tumor necrosis factor signaling. In: *Cell Death & Differentiation*. 2003, vol. 10, nr. 1, pp. 45-65. DOI: [10.1038/sj.cdd.4401189](https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401189)
283. WANG, H., EITZMAN, D.T. Acute myocardial infarction leads to acceleration of atherosclerosis. In: *Atherosclerosis*. 2013, vol. 229, nr. 1, pp. 18-22. DOI: [10.1016/j.atherosclerosis.2013.04.004](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.04.004)
284. WANG, X., et al. Metabolic characterization of myocardial infarction using GC-MS-based tissue metabolomics. In: *International heart journal*. 2017, vol. 58, nr. 3, pp. 441-446. DOI: [10.1536/ihj.16-432](https://doi.org/10.1536/ihj.16-432) <https://doi.org/10.1536/ihj.16-432>
285. WILKINS, E., et al. European Cardiovascular Disease Statistics 2017. In: *European Heart Network*. Brussels. 2017. 192 pagini. www.ehnheart.org
286. WON, K.B., et al. High serum advanced glycation end-products predict coronary artery disease irrespective of arterial stiffness in diabetic patients. In: *Korean circulation journal*. 2012, vol. 42, nr. 5, pp. 335-340. DOI: [10.4070/kcj.2012.42.5.335](https://doi.org/10.4070/kcj.2012.42.5.335)
287. WU, A.H., et al. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. In: *Clinical chemistry*. 1998, vol. 44, nr. 6, pp. 1198-1208. ISSN: 0009-9147 (Print) //ISSN: 1530-8561 (Electronic) PMID:9625043
288. WULANINGSIH, W., et al. Serum lactate dehydrogenase and survival following cancer diagnosis. In: *British journal of cancer*. 2015, vol. 113, nr. 9, pp. 1389-1396. DOI: [10.1038/bjc.2015.361](https://doi.org/10.1038/bjc.2015.361)
289. YANG, S.W., et al. Association of dysglycemia and all-cause mortality across the spectrum of coronary artery disease. In: *Mayo Clinic Proceedings*. 2013, vol. 88, nr. 9, pp. 930-941. Elsevier. doi: [10.1016/j.mayocp.2013.05.022](https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.05.022)
290. YANG, Z., LAUBACH, V.E., FRENCH, B.A., KRON, I.L. Acute hyperglycemia enhances oxidative stress and exacerbates myocardial infarction by activating

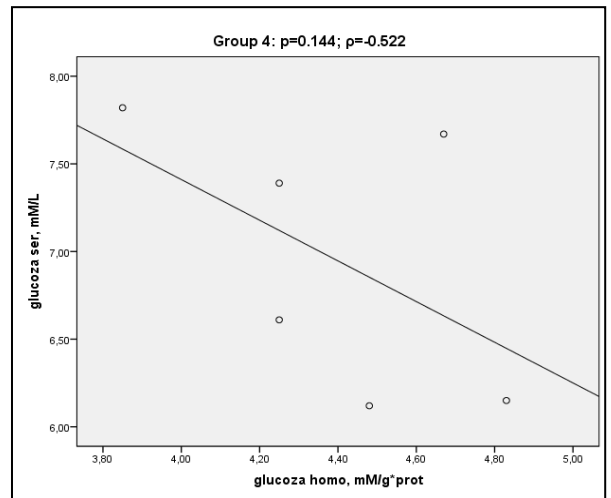
- nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase during reperfusion. In: *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2009, vol. 137, nr. 3, pp. 723-729. doi: [10.1016/j.jtcvs.2008.08.056](https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2008.08.056)
291. YOKOYAMA, S. Unique features of high-density lipoproteins in the Japanese: in population and in genetic factors. In: *Nutrients*. 2015, vol. 7, nr. 4, pp. 2359–2381. <https://doi.org/10.3390/nu7042359>
 292. ZAK, Z., et al. Effect of cholesteryl ester transfer protein (CETP) expression on diet-induced hyperlipidemias in transgenic rats. In: *Atherosclerosis*. 2005, vol. 178, nr. 2, pp. 279-286. DOI: [10.1016/j.atherosclerosis.2004.10.006](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2004.10.006)
 293. ZAMANI, P., et al. Myocardial ischemia reduction with aggressive cholesterol lowering (MIRACL) study investigators. inflammatory biomarkers, death, and recurrent nonfatal coronary events after an acute coronary syndrome in the MIRACL study. In: *Journal of the American Heart Association*. 2013, vol. 2, nr. 1, pp. e003103. doi: [10.1161/JAHA.112.003103](https://doi.org/10.1161/JAHA.112.003103)
 294. ZHANG, H., et al. Role of TNF α in vascular dysfunction. In: *Clinical Science*. 2009, vol. 116, 219-230. DOI: [10.1042/CS20080196](https://doi.org/10.1042/CS20080196)
 295. ZHAO, Y.B., et al. Variation of plasma levels of endothelin, calcitonin gene-related peptide, nitric oxide, and malondialdehyde in acute myocardial ischemia reperfusion injury in a rabbit model. In: *Genetics and Molecular Research*. 2015, vol. 14, nr. 2, pp. 5577-5584. doi: [10.4238/2015.May.25.9](https://doi.org/10.4238/2015.May.25.9)
 296. ZHOU, T., CHUANG, C.C., ZUO, L. Molecular characterization of reactive oxygen species in myocardial ischemia-reperfusion injury. In: *BioMed Research International*. 2015, vol. 2015, pp. 864946. doi: [10.1155/2015/864946](https://doi.org/10.1155/2015/864946).
 297. ŻURAWSKA-PŁAKSEJ, E., et al. Oxidatively modified forms of albumin in patients with risk factors of metabolic syndrome. In: *Journal of endocrinological investigation*. 2014, vol. 37, nr. 9, pp. 819-827. DOI: [10.1007/s40618-014-0111-8](https://doi.org/10.1007/s40618-014-0111-8)
 298. АЗИЗОВА, О.А., et al. Прогностическое значение динамики показателей оксидантного стресса у больных со стабильной ишемической болезнью сердца. In: *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2011, том 4, номер 1, стр. 4-9. ISSN: [1996-6385/eISSN: 2309-4737](https://doi.org/10.1996-6385/eISSN: 2309-4737).

ANEXE

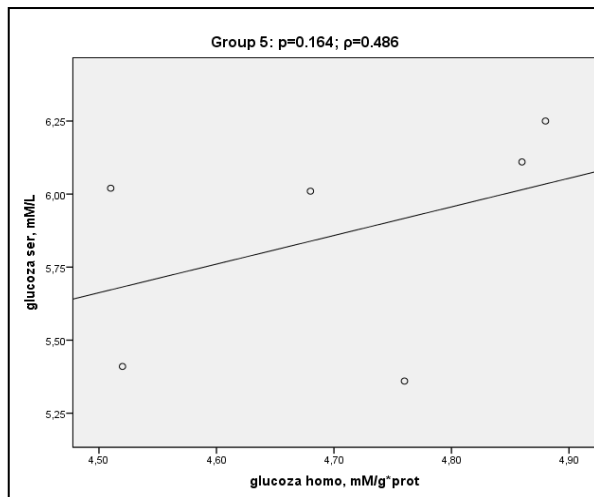
Anexa 1. Corelațiile sero-tisulare a indicilor metabolismului glucidic



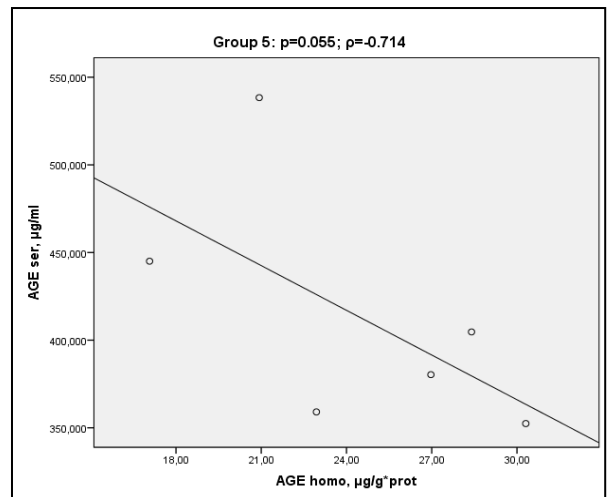
A.



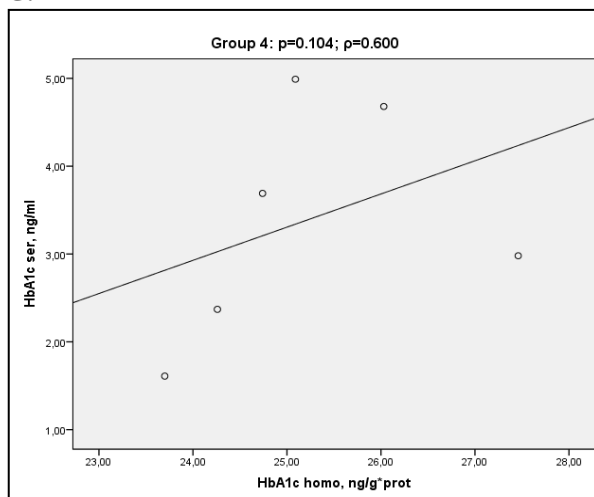
B.



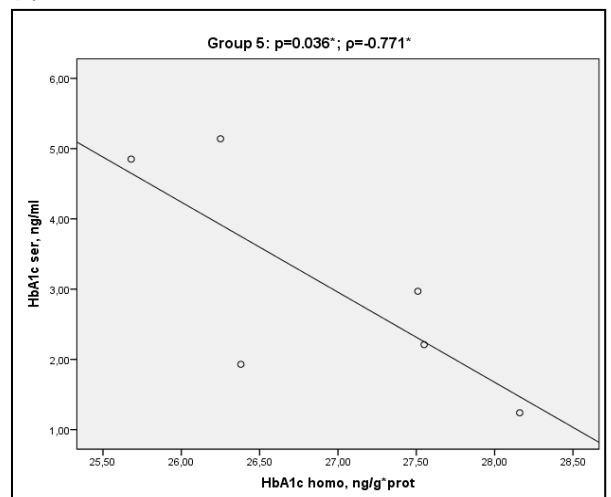
C.



D.

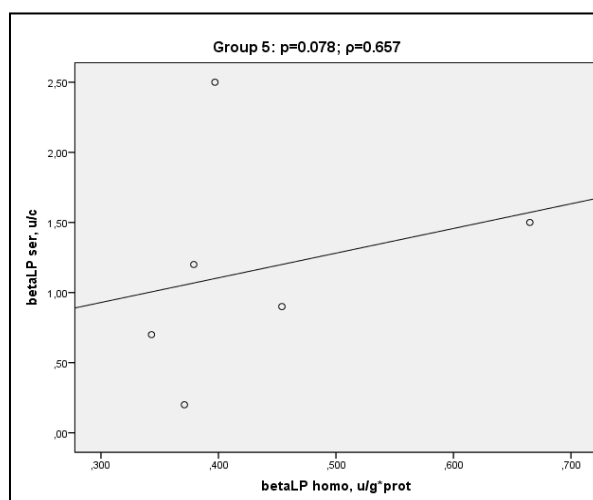
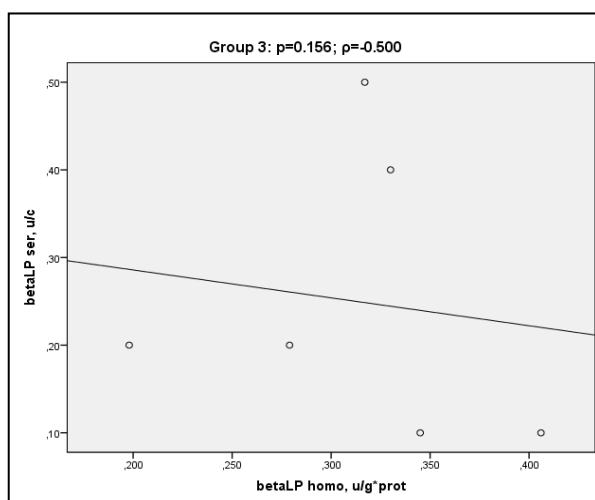


E.

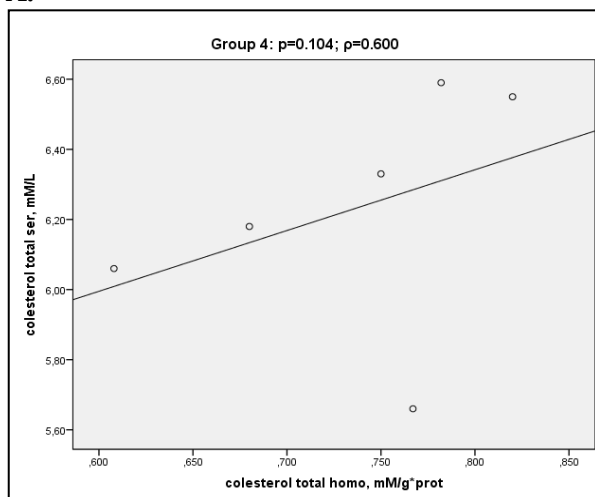


F.

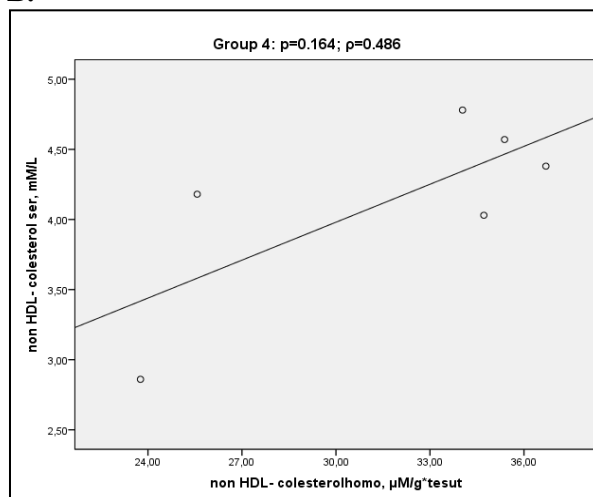
Anexa 2. Corelațiile sero-tisulare a indicilor metabolismului lipidic



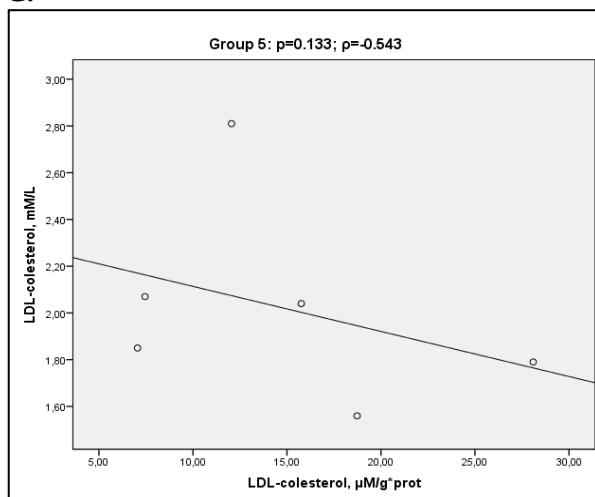
A.



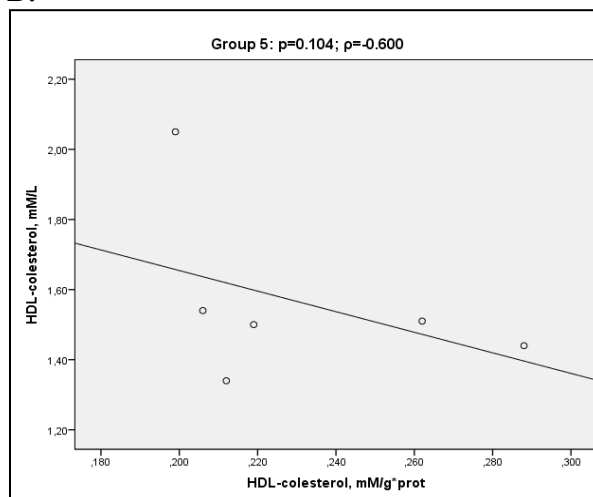
B.



C.



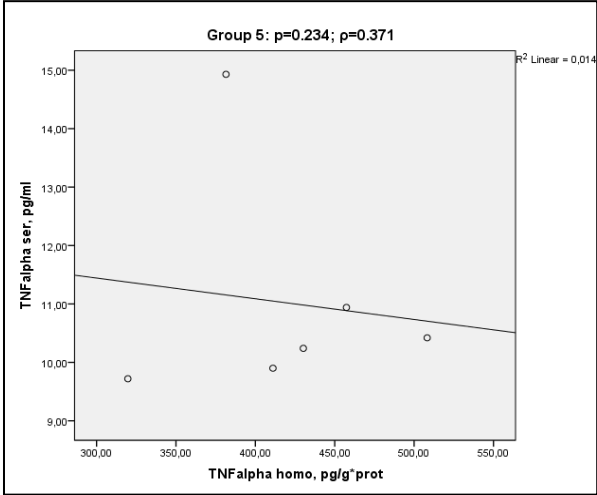
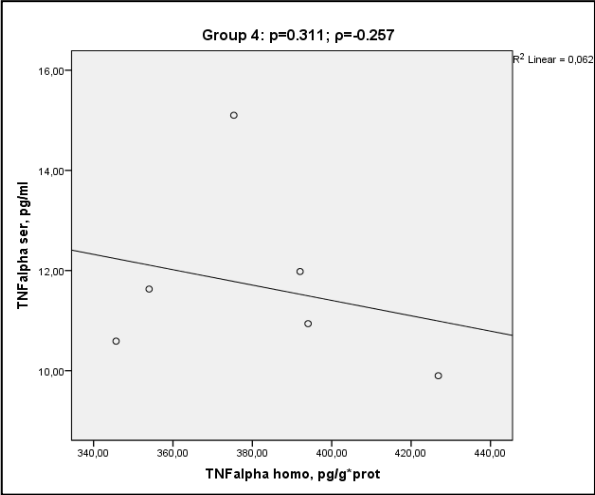
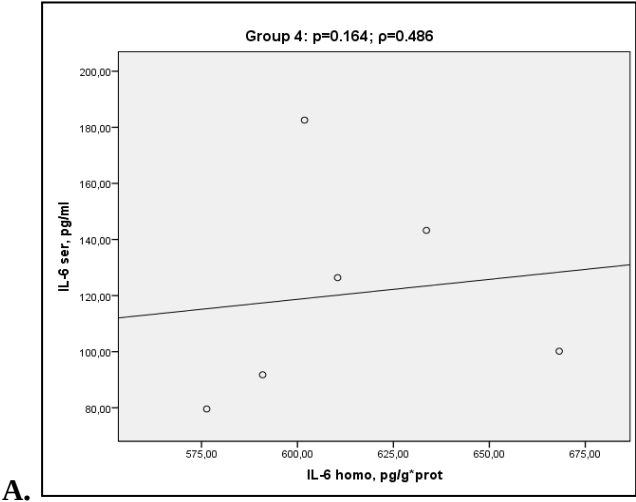
D.



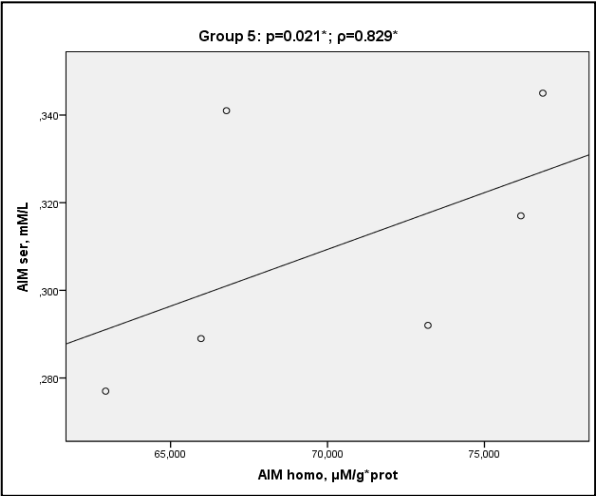
E.

F.

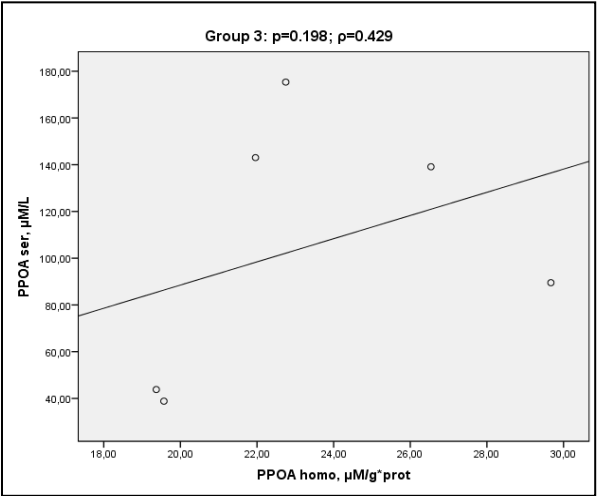
Anexa 3. Corelațiile dintre nivelele citokinelor în ser și homogenatul cardiac



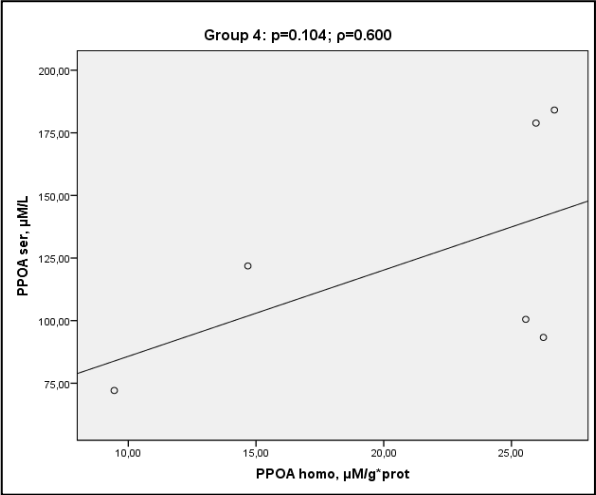
Anexa 4. Corelațiile sero-tisulare ale indicilor stresului oxidativ



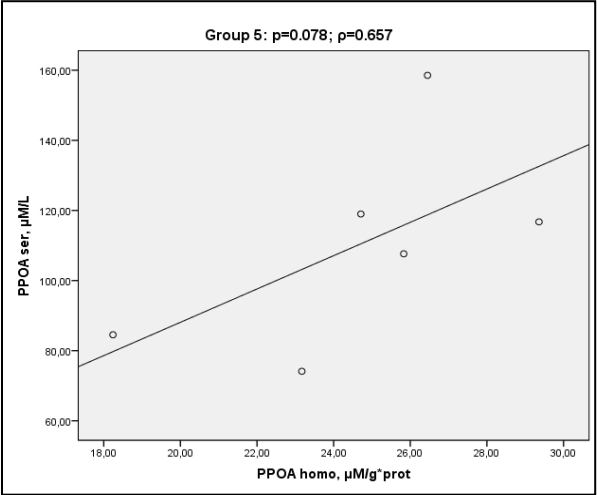
A.



B.

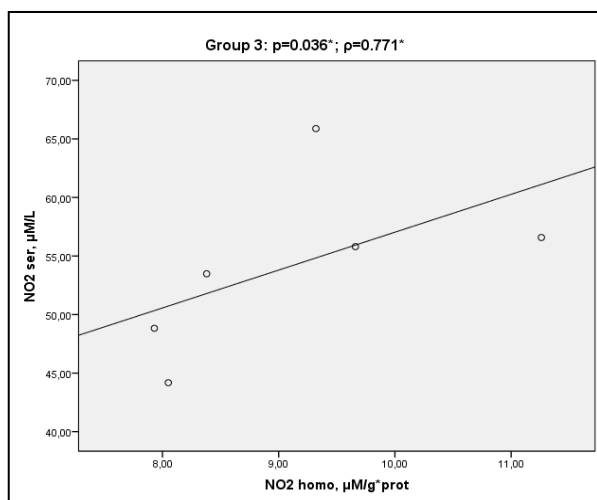


C.

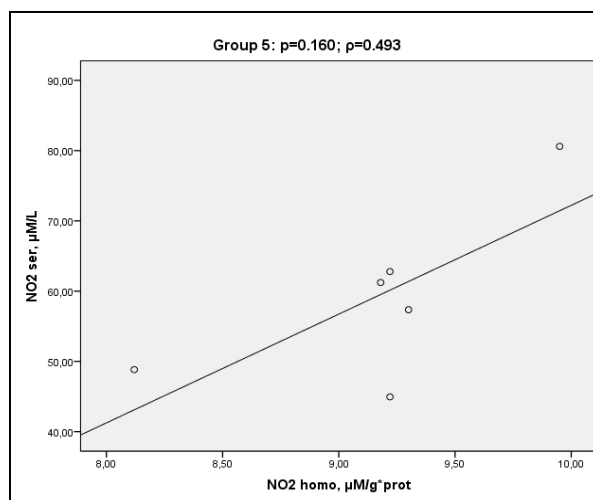


D.

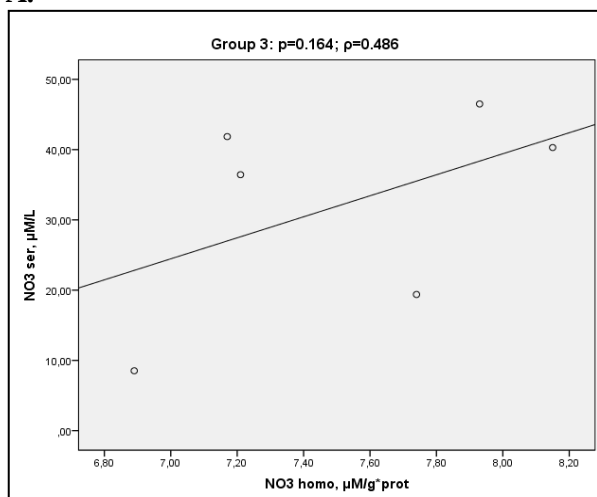
Anexa 5. Corelațiile sero-tisulare a nivelor metaboliților NO
Figura A5.1 Corelațiile nivelor NO_2^- și NO_3^- în ser și homogenat



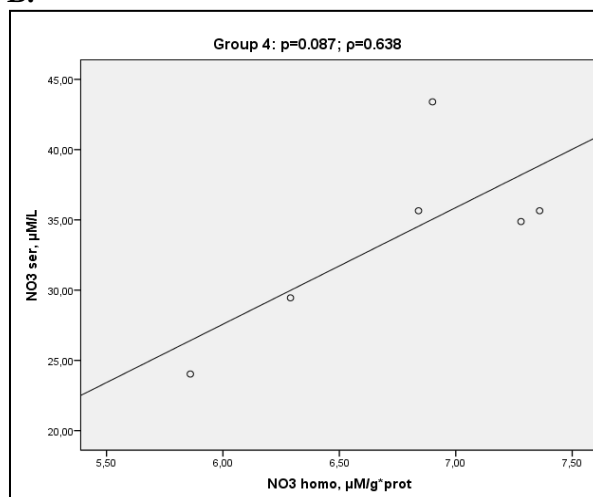
A.



B.

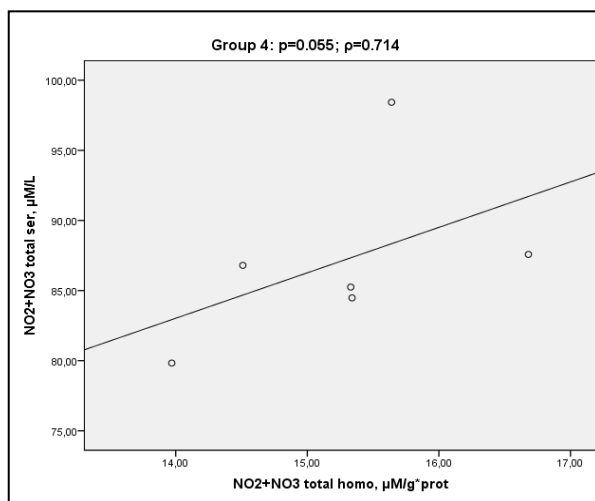


C.

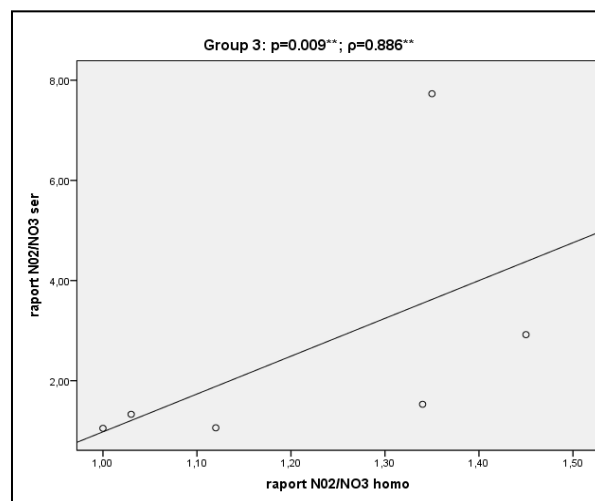


D.

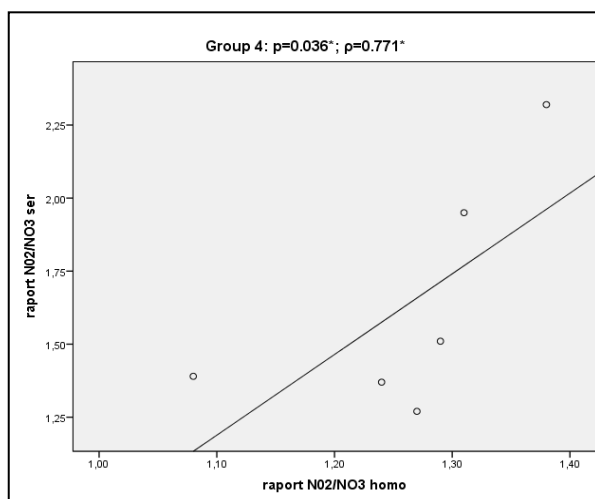
Figura A5.2 Corelațiile sero-tisulare a variabilelor NO total și raport $\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$



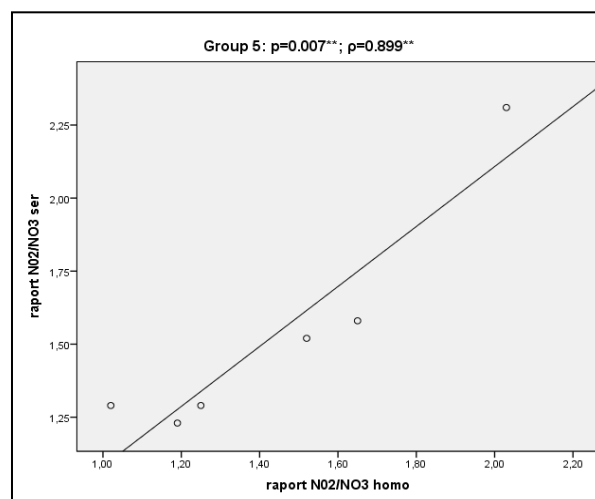
A.



B.



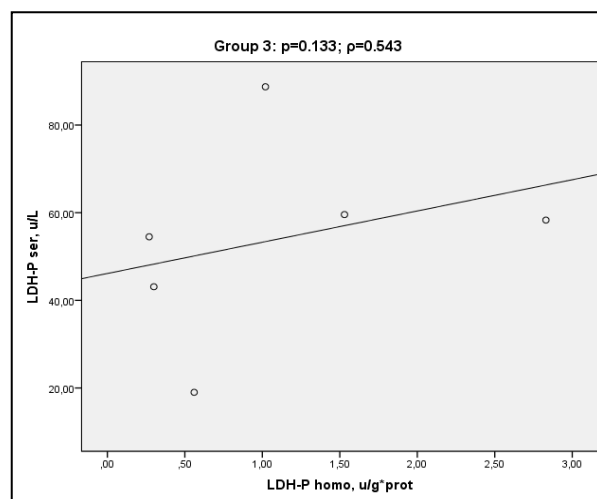
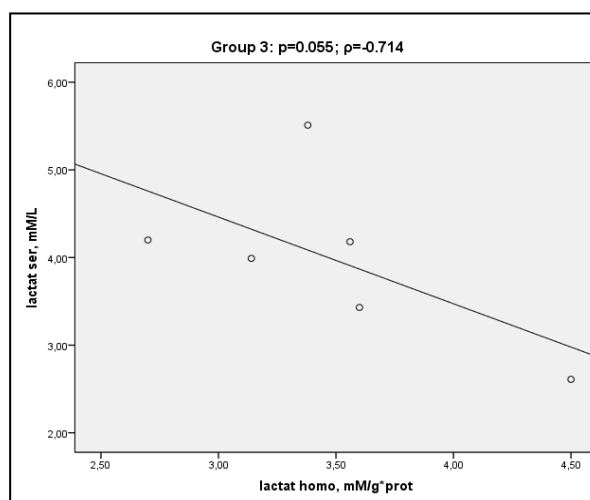
C.



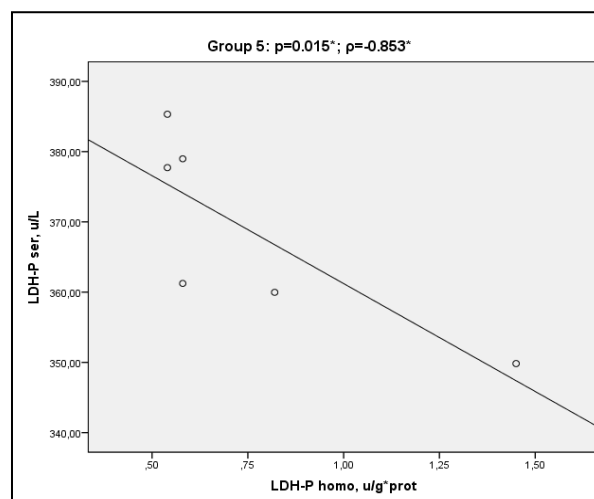
D.

Anexa 6. Valoarea corelațiilor sero-tisulare a indicilor hipoxiei tisulare

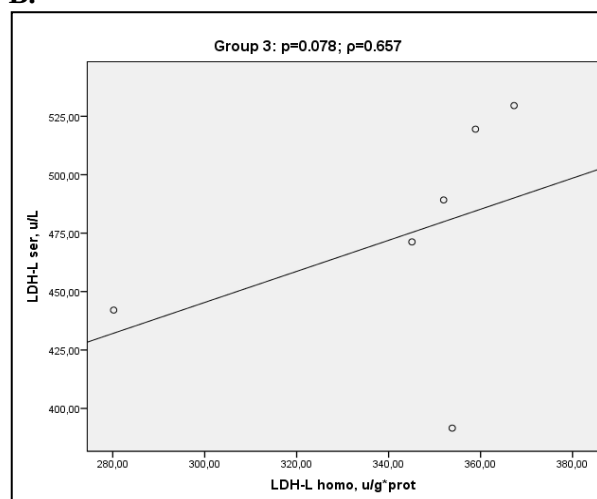
A.



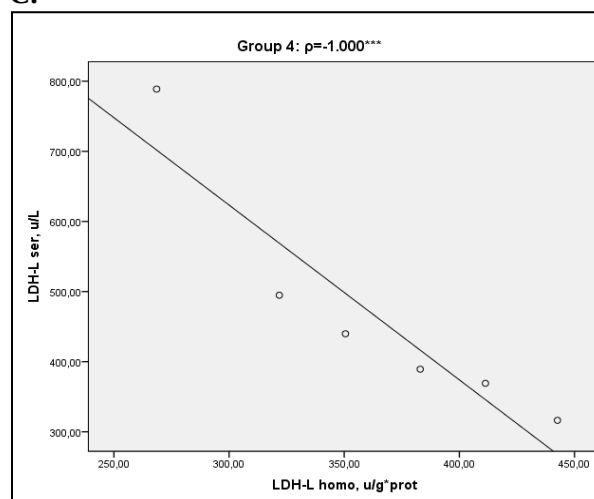
B.



C.

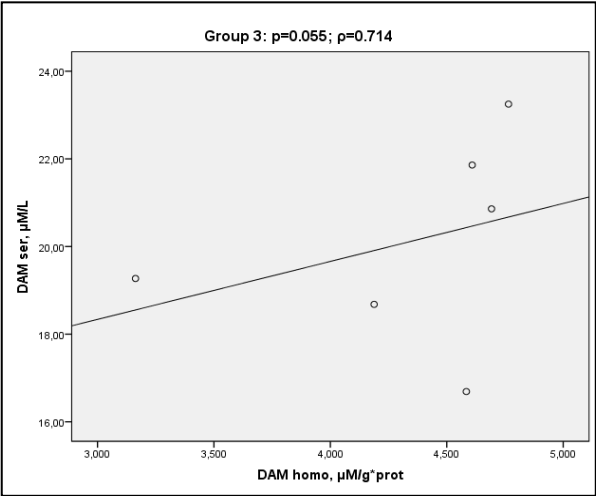


D.

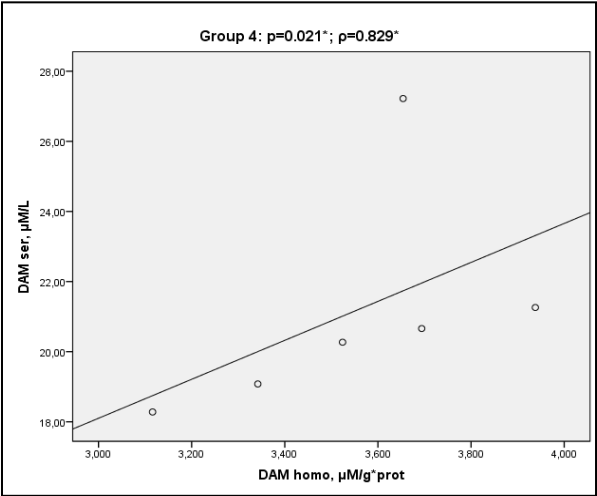


E.

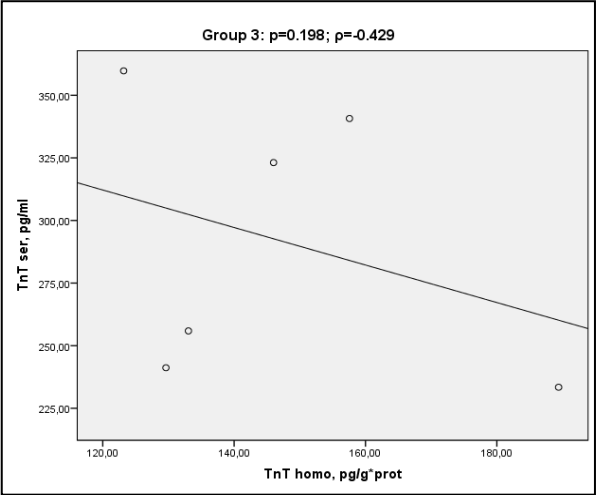
Anexa 7. Corelațiile sero-tisulare a indicilor leziunii tisulare



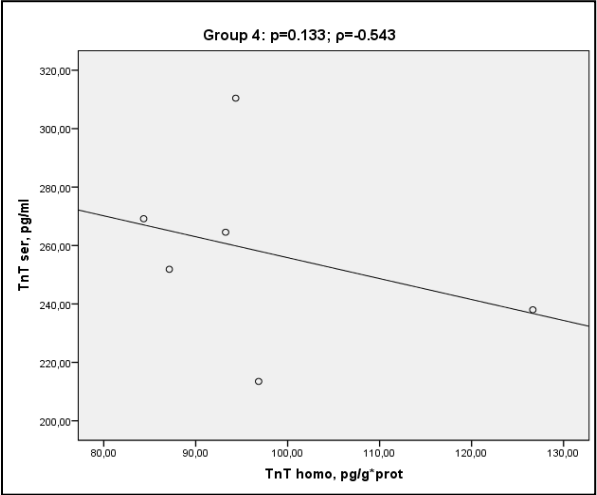
A.



B.



C.



D.

DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnata, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Numele, prenumele

Semnătura

Data

CV-ul AUTORULUI



Informații personale

Nume / Prenume	Timercan Tatiana
Adresă	Mun. Chișinău, str. Alba-Iulia 89/1
Telefon	(+373 22) 205420 Mobil 079771891 (serviciu)
E-mail	tatiana.timercan@usmf.md
Naționalitatea	Republica Moldova
Data nașterii	7 noiembrie 1974
Gen	Femenin

Experiența profesională

1992 - 1998	Asistentă medicală, școala medie Vorniceni
1998 - 2001	Rezident specialitatea „Medicina internă”, Facultatea de Rezidențiat și Secundariat Clinic USMF „N. Testemițanu”
Ianuarie 2002 - ianuarie 2006	Medic-internist, secția internare a SCM ”Sfântul Arhanghel Mihail”, mun. Chișinău
Ianuarie 2006 - prezent	Asistent universitar, Catedra de biochimie și biochimie clinică, USMF „N. Testemițanu”

Educație și formare

04.03 - 31.03.2008	Psihopedagogia învățământului superior, Facultatea Perfecționare a medicilor, USMF „N. Testemițanu”,
01.12.2008 – 30.11.2010	Cursurile de Limbi Străine, Liceul Teoretic „Spiru Haret”, mun. Chișinău

01.11.2011 – 01.11.2015	Doctorat Specialitatea Biochimie medicală, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N.Testemițanu”
Septembrie 2012 - iunie 2014	Certificat B2 (Limba engleză), Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N.Testemițanu”
Septembrie 2014 - iunie 2015	Certificat C1 (Limba engleză), Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N.Testemițanu”
23-24.06 // 01-04.07.2014	“The East European Network of Excellence for Research and Development in Chronic Diseases CHRONEX-RD” Chronic diseases management, USMF “Nicolae Testemițanu”
09.11.2015 – 06.07.2017	Erasmus Mundus Action 2 MEDEA project Universitatea Paul Sabatier, Toulouse, Franța
10 - 13.10.2017	Învățarea bazată pe Probleme, USMF “Nicolae Testemițanu”, Chișinău
Limba maternă	română
Limbi străine cunoscute	rusa, engleză
Competențe și aptitudini organizatorice	▪ Punctualitate ▪ Lucru în echipă ▪ Planificare ▪ Coordonare
Competențe și aptitudini PC	Windows, MS Office applications: Word, Excel, Power Point.
Informații suplimentare	<u>Persoana de referință</u> ▪ Olga Tagadiuc, șef Catedra de biochimie și biochimie clinică USMF „N.Testemițanu” ▪ Leonid Lîsîi, profesor universitar, Catedra de biochimie și biochimie clinică USMF „N.Testemițanu”