

Școala doctorală în domeniul Științe medicale

Cu titlu de manuscris
C.Z.U.: 617.735:616.12-008.331.1-078:577.1(043.2)

Pavlovschi Ecaterina

Markerii biochimici ai retinopatiei hipertensive

315.01. Biochimie medicală

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

Chișinău, 2022

Teza a fost elaborată la Catedra de biochimie și biochimie clinică
a Universității de Stat de Medicină și Farmacie ”Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

Conducător științific:

Tagadiuc Olga,
dr. hab. șt. med., prof. univ.

Conducător prin cotutelă:

Bendelic Eugen,
dr. hab. șt. med., prof. univ.

Membrii comisiei de îndrumare:

Borovic Djina,
dr. șt. med.
Stratulat Silvia,
dr. șt. med., conf. univ.
Pantea Valeriana,
cerc. șt.

Susținerea va avea loc la 4.05.2022, ora 14⁰⁰, în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat, din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu” (bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, biroul 205), aprobată prin decizia Consiliului Științific al Consorțiului (*proces verbal nr.26, din 03.03.2022*).

Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

Președinte:

Vișnevschi Anatolie,
dr. hab. șt. med., prof. univ.

Membri:

Tagadiuc Olga,
dr. hab. șt. med., prof. univ.
Bendelic Eugen,
dr. hab. șt. med., prof. univ.
Ambros Ala,
dr. șt. med., conf. univ.

Referenți oficiali:

Foia Georgeta-Liliana,
dr. șt. med., prof. univ.
prof. abilitat UMF “Grigore T. Popa”, Iași (România)
Chiriac Vera,
dr. șt. med.
Stratulat Silvia,
dr. șt. med., conf. univ.

Autor

Pavlovschi Ecaterina

CUPRINS

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII	5
CONȚINUTUL TEZEI	8
1.MECANISMELE IMPLICATE ÎN DEZVOLTAREA RETINOPATIEI HIPERTENSIVE.....	8
2.MATERIALE ȘI METODE DE STUDIU A MARKERILOR BIOCHIMICI ÎN RETINOPATIA HIPERTENSIVĂ.....	8
2.1. Metodologia cercetării	8
2.2. Pregătirea materialului biologic și metodele biochimice de investigații	9
2.2.1. Colectarea probelor.....	9
2.2.2. Investigații biochimice	9
2.3. Tehnologii informaționale și procedee de analiză statistică a rezultatelor.....	9
3. MODIFICĂRI BIOCHIMICE ÎN EVOLUȚIA RETINOPATIEI HIPERTENSIVE.....	10
3.1. Modificările indicilor stresului oxidativ în RH	10
3.2. Modificările indicilor sistemului antioxidant în RH	11
3.3. Modificările indicilor ischemiei în RH	14
3.4. Modificările indicilor SRA în evoluția RH	14
3.5. Modificările indicilor metabolismului lipidic în progresarea RH.....	15
3.6. Analiza corelațiilor.....	16
4.SINTEZA REZULTATELOR STUDIULUI.....	19
CONCLUZII GENERALE.....	24
RECOMANDĂRI PRACTICE	25
BIBLIOGRAFIE	25
INFORMAȚII PRIVIND VALORIFICAREA REZULTATELOR CERCETĂRII	27

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța problemei cercetate. Hipertensiunea arterială (HTN), cea mai frecventă maladie cardiovasculară, constituie o importantă problemă de sănătate publică, prevalența acesteia variind între 5-10% în țările subdezvoltate și 20-30% în cele industrializate, la nivel mondial atestându-se o afectare de cca 40% a persoanele cu vârsta de peste 25 ani [1]. Studiile epidemiologice vaste bazate pe populație au indicat faptul că 3 – 14% din adulții non-diabetici cu o vârstă > 40 ani au modificări caracteristice RH, remarcându-se o prevalență mai înaltă în grupa de vârstă 40 – 60 de ani, bărbații fiind mai predispuși de a dezvolta retinopatie, conform studiilor din India, pe când în cele europene se remarcă o mai mare afectare a genului feminin [2].

Fiind supranumită "killerul silențios", HTN constituie un factor de risc pentru o serie de patologii oculare, însă anume retinopatia hipertensivă (RH), în care vasele retiniene suferă modificări, este cea mai des întâlnită, pericolul fiind în neconștientizarea prezenței bolii, datorită inexistenței semnelor premonitorii, simptomele de obicei dezvoltându-se în stadiile tardive [3].

În articolele de ultimă oră, cercetătorii utilizează și consideră RH un marker pentru o serie de afecțiuni vasculare, cât și un semn prevestitor al riscului de accident vascular cerebral, al maladiilor cardiovasculare, microalbuminuriei, bolii cronice renale și chiar a decesului. Însă deocamdată, evaluarea semnelor hipertensive ale retinopatiei apare doar în ghidurile clinice pentru gestionarea pacienților cu HTN [4].

RH posedă un fenotip vascular complex, astfel incluzând trei etape fiziopatologice separate, ce creează un spectru larg de modificări vasculare retiniene, ce reflectă severitatea și durata amplificării TA. Aceste modificări se explică prin capacitatea specifică de autoreglare a vaselor retiniene ca răspuns la modificările TA și permite menținerea unui flux vascular retinian stabil prin vasoconstricție arterială activă. Mecanismele de autoreglare explică vasoconstricția arterială, precum și specificele exsudate „vătoase” și hemoragiile profunde asociate cu ocluziile arteriolare [5]. Adicional autoreglării, a doua caracteristică a circulației retiniene este prezența unei bariere hemato-retiniene (BHR), leziunea căruia este responsabilă pentru hemoragiile superficiale retiniene, edemul retinian și exsudatele profunde („exsudatele uscate”) [2].

Se atestă o interrelație între dezvoltarea complicațiilor hipertensive microvasculare și macrovasculare și leziunile generate de prezența radicalilor liberi. Mai multe căi biochimice au fost asociate cu amplificarea formării de radicali liberi la pacienții cu HTN, care ar putea fi considerat unul dintre mecanismele patogenice ale HTN și, probabil, din mecanismele dezvoltării RH [6]. Stresul oxidativ și nitrosativ a fost direct incriminat în mecanismele dezvoltării rigidității vasculare și disfuncției endoteliale în corelație cu hipertensiunea [7].

Astfel, este unanim recunoscut rolul stresului oxidativ (SO) și nitrosativ (SN) în dezvoltarea HTN și a RH. În același timp, numărul studiilor referitor la mecanismele prin care acest proces este implicat în afectarea retinei rămân a fi incomplet elucidate. Rolul SO și SN în dezvoltarea RH a fost demonstrat indirect prin identificarea amplificării activității gamma-glutamil transferaze și a nivelurilor de feritină în sângele pacienților cu RH, a corelării modificărilor valorilor GSH/GSSG și a LDL-Col cu dinamica vaselor retiniene la pacienții cu hipertensiune [8]. Cu toate acestea, este încă controversat dacă SO și SN au un efect cauzal în dezvoltarea RH sau sunt o consecință a leziunilor tisulare [9]. Datele existente sunt insuficiente și pentru a atribui cu certitudine rolul diferitor factori (SO, SN, sistem antioxidant, inflamație etc.) în lanțul verigilor patogenice ale retinopatiei hipertensive, precum și a utiliza markerii specifici în diagnosticul, prognosticul și monitorizarea stării patologice.

Studiile anterioare ale modificărilor metabolice asociate RH și aprecierea utilității unor

markeri în diagnosticul stării patologice au fost efectuate în serul sangvin al pacienților. Totodată, ochiul este un organ cu un anumit grad de autonomie structurală, funcțională și metabolică, modificările sangvine nefiind o reflecție fidelă a schimbărilor oculare. Filmul lacrimal este un lichid biologic policomponent, compoziția căruia este direct corelată cu structurile oculare (integritatea și funcționalitatea lor) și reflectând primar modificările fiziologice și patologice locale. Fiind convențional accesibilă, lacrima reprezintă un material biologic valoros pentru cercetarea aparatului vizual [10]. Investigarea diferitor markeri reprezentativi în lacrimă în diverse patologii oculare ar putea fi un instrument util în diagnosticul lor datorită varietății semnificative și prezenței în diferite compartimente/structuri ale ochiului a multipli compuși chimici [10].

Totuși, până în prezent diagnosticul RH se bazează preponderent pe evaluarea oftalmologică a pacienților. Unicitatea vaselor retiniene ține de accesibilitatea ușoară pentru o examinare fizică, însă consultul fizic depinde de dexteritatea și experiența medicului-oftalmolog și este în mare măsură subiectiv. În acest context, markerii biochimici ar putea fi utili nu doar în înțelegerea mecanismelor patogenice RH și estimarea pe deplin a modificărilor metabolice patologice la nivelul retinei cauzate de HTN, ci și în obiectivizarea și cuantificarea modificărilor în cadrul diagnosticului RH și în stabilirea unei tactici de tratament corecte, personalizate, precum și în monitorizarea eficienței tratamentului și evoluției retinopatiei.

Urmare a celor expuse, este imperativă identificarea unor markeri obiectivi ai afectării oculare în HTN, care să se contureze ca indici promițători explicativi și markeri de laborator ai dereglărilor metabolice.

Scopul cercetării a fost studierea rolului stresului oxidativ, al sistemului antioxidant și sistemului renină-angiotensină în patogenia retinopatiei hipertensive și identificarea unor markeri de laborator pentru diagnosticul și monitorizarea patologiei.

Obiectivele cercetării:

1. Studiul modificărilor indicilor SO și ai sistemului antioxidant în ser și lacrimă la pacienții cu HTN primară cu diferit grad de RH.
2. Evaluarea markerilor SRA în ser și lacrimă la pacienții cu HTN primară cu diferit grad de RH.
3. Identificarea corelațiilor modificărilor biochimice cu gradul de severitate a RH
4. Stabilirea unor markeri biochimici de diagnostic precoce și prognostic al evoluției RH.

Metodologia cercetării științifice. S-a efectuat un studiu analitic, observațional pe un eșantion reprezentativ de pacienți cu HTN primară cu RH fără tratament specific antihipertensiv, divizați în subloturi de studiu în funcție de severitatea RH, respectând toate cerințele științifice și principiile etice de cercetare instituționale, naționale și internaționale. În scopul realizării obiectivelor tezei, au fost investigate lacrima și serul sangvin pentru aprecierea indicilor metabolici ai SO, sistemului antioxidant și SRA și ischemiei. A fost obținut avizul pozitiv al Comitetului de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” pentru realizarea studiului (proces verbal nr. 35, la nr. 34, din data de 08.02.2018).

Noutatea și originalitatea științifică a rezultatelor obținute. Cercetarea a completat cunoștințele existente la ora actuală privitor la patogenia RH, fiind analizate modificările biochimice și reflectarea acestora în sânge și lacrimă. Au fost dozați markerii stresului oxidativ, de protecție antioxidant, de afectare ischemică și a sistemului renină-angiotensină atât în sânge, cât și în lacrimă, cu identificarea prezenței corelațiilor sero-lacrimale ale indicilor evaluați. S-a demonstrat faptul că ochiul este din punct de vedere structural autonom, cu sisteme defensive specifice, ceea ce îi permite ulterior să reziste efectelor SO. A fost sugerată ideea lipsei unui indice

fiabil singular, relevant pentru toate stadiile RH, aprecierea manifestărilor clinice tinzând să rămână și în continuare prioritară.

Aprobarea rezultatelor științifice. Rezultatele cercetării au fost prezentate, discutate și aprobate la mai multe foruri științifice naționale și internaționale: Conferința științifică anuală a specialiștilor din cadrul IMSP IMU “*Actualități și controverse în managementul urgențelor medico - chirurgicale*”, Chișinău, Moldova, 10 noiembrie 2017; *7th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*, USMF “Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Moldova, 3-5 mai 2018; Conferința științifică anuală a tinerilor specialiști din cadrul IMSP IMU “*Performanțe și perspective în urgențele medico-chirurgicale*”, Chișinău, Moldova, 18 mai 2018; Conferința științifică anuală IMSP IMU “*Actualități și controverse în managementul urgențelor medico-chirurgicale*”, Chișinău, Moldova, 7 decembrie 2018; *VII Bukovinian International Medical Congress, BIMCO 2020*, Bukovinian State Medical University, Cernăuți, Ucraina, 7-10 aprilie 2020. *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*, Chișinău, Moldova, 20 - 23 octombrie 2020; *XXI International Scientific and Practical Conference International Trends in Science and Technology*, Varșovia, Polonia, 31 ianuarie 2020; *7th Lublin International Medical Congress, LIMC 2020*, Medical University of Lublin, Lublin, Polonia, 26-28 noiembrie 2020; *VIII Bukovinian International Medical Congress, BIMCO 2021*, Bukovinian State Medical University, Cernăuți, Ucraina, 6-9 aprilie 2021; *International Scientific Conference on Medicine 2021*, University of Latvia, Riga, Letonia, 23-24 aprilie 2021; *EURETINA 2021 Virtual*, 9-12 septembrie 2021.

Cuvinte cheie: retinopatie hipertensivă, stres oxidativ, specii reactive ale oxigenului, sistem antioxidant, hipoxie, sistem renină-angiotensină

1. MECANISMELE IMPLICATE ÎN DEZVOLTAREA RETINOPATIEI HIPERTENSIVE

Capitolul 1 prezintă o sinteză a literaturii de specialitate, concepută astfel încât să reliefeze actualitatea studiului efectuat. În subcapitolul 1 sunt descrise implicațiile stresului oxidativ în patogeneza afectării sistemului vizual, mecanismele generatoare de SRO și modificările patobiochimice induse de acestea, cât și mecanismele de protecție antioxidantă, cu indicii biochimici reprezentativi. În subcapitolul 2 este demonstrată relevanța disfuncției endoteliale și a factorilor endoteliali și inflamatori ca efect al SO în dezvoltarea retinopatiei hipertensive, fiind explorat rolul și consecințele implicării sistemului renină-angiotensină în HTN și RH, cât și ale inflamației în generarea de intermediari de oxigen reactiv, cu un rol crucial în patogeneza și dezvoltarea HTN și respectiv și a RH. În subcapitolul 3 sunt expuse particularități ale mecanismelor biochimice în dezvoltarea manifestărilor clinice în RH.

2.MATERIALE ȘI METODE DE STUDIU A MARKERILOR BIOCHIMICI ÎN RETINOPATIA HIPERTENSIVĂ

2.1. Metodologia cercetării. A fost realizată o cercetare de tip analitic, observațional (de cohortă). Studiul planificat a fost efectuat pe un eșantion reprezentativ de pacienți cu HTN primară cu RH, divizați în subloturi de studiu în funcție de severitatea RH. Cercetarea a fost efectuată în perioada anilor 2018-2020 în strictă conformitate cu Principiile Declarației de la Helsinki privind studiul pe subiecți umani, aceștia fiind incluși în cercetare doar după semnarea acordului informat. Protocolul cercetării a fost avizat de către Comitetului de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu”, cu emiterea avizului favorabil sub nr.34 din data de 12.02.2018.

Studiul a inclus 90 de pacienți hipertensivi, dintre care 38 (42.2%) bărbați și 52 (57.8%) femei. Respondenții din lotul de cercetare au fost stratificați conform gradelor de severitate a RH, fiind utilizată clasificarea Keith-Wagner-Barker, bazată pe examinarea fundului de ochi. Grupul 1 (GI) a inclus 36 pacienți cu gradul I de RH - cu îngustare arteriolară retiniană generalizată ușoară. Vârsta pacienților a variat de la 27 până la 73 de ani, vârsta medie fiind de 52.56 ± 12.20 ani. Divizarea după gen a inclus: 15 bărbați (42%) și 21 femei (58%). Grupul 2 (GII): 35 de pacienți cu gradul II a RH cu îngustare focală definită și "nipping" arteriovenos. Vârsta pacienților a variat de la 37 până la 88 de ani, vârsta medie fiind 63.49 ± 11.23 ani. Divizarea după gen a inclus: bărbați 15 (43%) și 20 femei (57%). Grupul 3 (GIII): 19 pacienți cu gradul III a RH cu semne de retinopatie de gradul II cât și a hemoragiilor retiniene și a exsudatelor vâtoase. Vârsta pacienților a variat de la 45 până la 84 de ani, vârsta medie fiind 64.63 ± 13.01 ani. Divizarea după gen a inclus: 8 bărbați (42%) și 11 femei (58%). În studiu nu au fost incluși pacienți cu gradul IV al RH - cu retinopatie severă de grad III și edem papilar, din cauza asocierii cu alte patologii, care au constituit criteriile de excludere.

Prin urmare, studiul a inclus final 90 de pacienți ce s-au adresat pentru un consult de rutină la Centrul Medical „Ovisus”, de la care au fost colectate (simultan cu manipulările clinice de rutină) probe de sânge și lacrimă pentru analiza biochimică.

Criteriile de selecție/includere 1.Pacienții cu valori normale ridicate ale TA și HTN primară și RH confirmată după un consult oftalmologic specific detaliat (determinarea acuității vizuale, autorefracto-keratometria, perimetria, biomicroscopia segmentului anterior și a fundului de ochi, ultrasonografia globului ocular, tonometria, pahimetria, gonioscopia, OCT a zonei maculare și a papilei nervului optic la necesitate); 2.Vârsta cuprinsă între 27 - 88 ani; 3.Pacienții care au semnat acordul informat; 4.Pacienți care sunt în stare să înțeleagă și să răspundă la întrebările puse.

Criteriile de excludere 1.Solicitarea de a nu participa/ieși din studiu; 2.Vârsta sub 27 ani și peste 88 ani; 3.Pacienți cu maladii cronice ce influențează tabloul metabolic (maladii endocrine cu prevalență diabet zaharat, maladii metabolice, patologii renale, patologii neurologice și alte comorbidități somatice severe); 4.Persoane cu boli ale sistemului vizual (traumatisme oculare și cranio-cerebrale în antecedente, atrofiile nervului optic de diferită geneză, glaucom, retinopatie diabetică, procese inflamatorii acute și cronice, uveite); 5.Tratament ce poate influența modificările markerilor.

2.2. Pregătirea materialului biologic și metodele biochimice de investigații

2.2.1. Colectarea probelor. Pentru analiza markerilor de interes, au fost colectate probe de sânge venos (5 ml), care ulterior coagulării au fost centrifugate timp de 7 minute la 1500 rotații/minut. Serul a fost separat și transferat în eprubete Eppendorf și păstrat la -45°C . Proba de lacrimă a fost colectată din unghiul extern al fantei palpebrale cu ajutorul unei seringi de unică folosință pentru insulină, după o iritare ușoară preventivă al unghiul extern al fantei palpebrale cu balsam aromatic vietnamez „Golden Star”. Serul și lacrima au fost distribuite în microtuburi Eppendorf și congelate (-40°C) până la testarea biochimică. Toate probele au fost codificate.

2.2.2. Investigații biochimice: au fost efectuate după metode adaptate de colaboratorii Laboratorului de biochimie al USMF “Nicolae Testemițanu” pentru spectrofluorimetrul cu microplăci Synergy H1 (Hydrid Reader) (BioTek Instruments, SUA) și spectrofotometrul Power Wave HT (BioTek Instruments, SUA). Prin metode spectrofotometrice și imunoenzimatice au fost evaluate în ser și lacrimă **indicii stresului oxidativ și sistemului antioxidant:** *oxidul nitric (NO)* [11], *S-nitrozotoli* [12], *dialdehida malonică (DAM)* [13], *produși proteici de oxidare avansată*

(PPOA) [14], *activitatea antioxidantă totală* [15], *catalaza (CAT)* [16], *superoxid dismutaza (SOD)* [17], *glutathionul redus (GSH)* [18], *glutathion peroxidaza (GPx)* [19], *glutathion reductaza (GR)* [20], *SH-grupări tiolice* [21]; **-ischemiei:** *albumina ischemic-modificată (AIM)* [22]; **-sistemului renin-angiotensină:** *angiotensina II (Ang II)*, *activitatea enzimei de conversie a angiotensinei (ECA)* – conform instrucțiunilor tehnice ale kiturilor standard Human angiotensin II, ANG-II Elisa Kit și ACE Elisa Kit ale companiei MyBioSource, Inc. (USA); **-metabolismului lipidic:** *trigliceridele (TAG)*, *colesterolul total (COL total)*, *LDL-colesterol*, *HDL-colesterol* - urmând instrucțiunilor tehnice a kiturilor standard ale companiei DAC-Spectromed (Moldova); **-proteinelor totale** – conform instrucțiunilor tehnice a kiturilor standard ale companiei DAC-Spectromed (Moldova).

2.3. Tehnologii informaționale și procedee de analiză statistică a rezultatelor.

Prelucrarea statistică a rezultatelor investigațiilor biochimice s-a efectuat utilizând pachetul software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versiunea 23.0, fiind utilizate testele de normalitate Kolmogorov-Smirnov și Shapiro-Wilk, testul Lavene, testul non-parametric Kruskal-Wallis, testul post-hoc pentru comparații PostHocDunn, coeficientul de corelație al rangurilor (Spearman).

3. MODIFICĂRI BIOCHIMICE ÎN EVOLUȚIA RETINOPATIEI HIPERTENSIVE

Studiul a avut ca scop elucidarea impactului stresului oxidativ, al ischemiei și modificărilor în SRA asupra evoluției RH, efectuându-se analiza și interpretarea modificărilor markerilor selectați.

3.1. Modificările indicilor stresului oxidativ în RH. În studiul realizat au fost consemnate diferențe statistic semnificative între cantitatea NO determinată în serul sangvin între grupe odată cu amplificarea RH ($p=0.039$), însă nu și în lacrima pacienților ($p=0.158$) (figura 1).

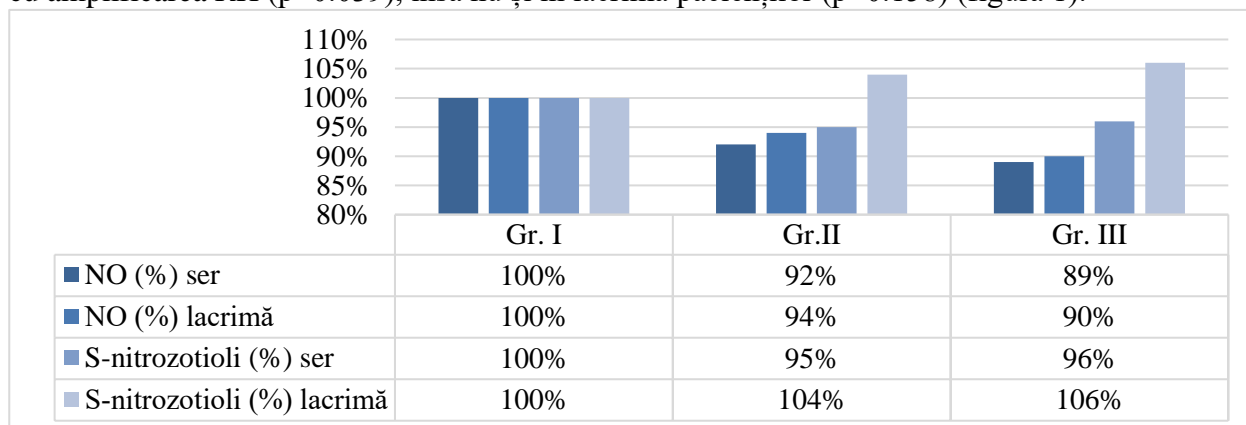


Figura 1. **Modificarea cantității de NO și a valorilor de S-nitrozotioli în serul și lacrima pacienților cu diferit grad de RH**

A fost atestată o corelație slabă între gradul de retinopatie și nivelul de NO în ser ($r_s=-0.265$, $p=0.012$), însă nu și în lacrimă ($r_s=-0.203$, $p=0.056$), și nici între valorile NO în cele 2 lichide studiate ($r_s=0.070$, $p=0.513$). Nivelul de S-nitrozotioli în grupele cercetate nu a înregistrat modificări statistic veridice nici în ser ($p=0.694$), nici în lacrimă ($p=0.706$) (figura 1). Nu a fost determinată o corelație între gradul de retinopatie și nivelul de S-nitrozotioli în ser ($r_s=-0.049$, $p=0.647$) și în lacrimă ($r_s=-0.076$, $p=0.475$) și nici între valorile S-nitrozotioli în cele 2 probe studiate ($r_s = 0.142$, $p = 0.181$).

Cu scopul analizei efectelor nocive ale SO asupra biomoleculelor s-a determinat nivelul

DAM – produsul final al peroxidării lipidelor, precum și al PPOA – produsul modificărilor oxidative ale proteinelor [23]. Valorile DAM, au relevat doar tendințe statistic neconcludente de creștere în ser ($p=0.628$) și diminuare în lacrimă ($p=0.527$) (figura 2). În ser a fost remarcată amplificarea continuă a valorilor DAM, spre deosebire de lacrimă unde valorile s-au diminuat. Nu a fost depistată vreo corelație între indicele biochimic studiat și gradul retinopatiei în ser ($r_s=-0.102$, $p=0.338$) și nici în lacrimă ($r_s=-0.008$, $p=0.408$), însă s-a evidențiat o corelație slab pozitivă ($r_s=0.277$, $p=0.008$) între valorile DAM din cele 2 probe de interes.

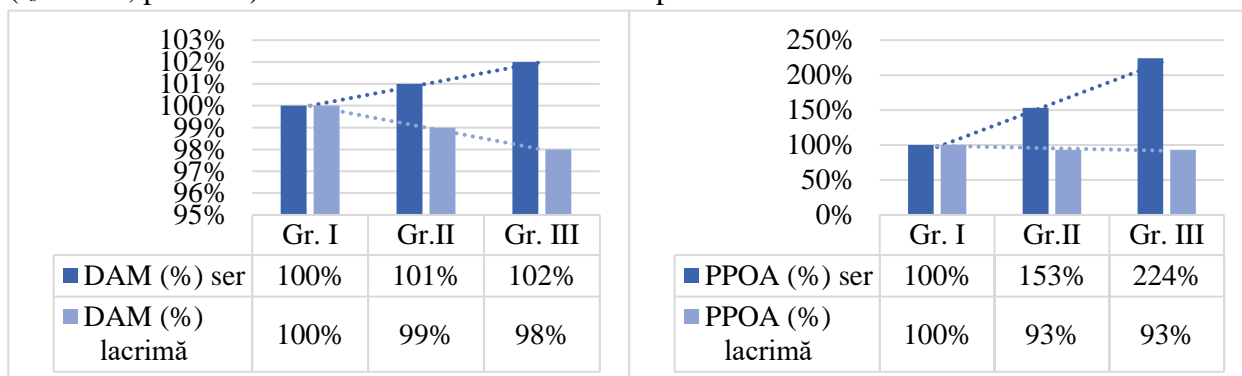


Figura 2. Evoluția nivelurilor DAM în serul și lacrima pacienților concomitent cu progresarea în grad a RH

Figura 3. Modificările PPOA în serul și lacrima pacienților în diferite grade ale RH

Printre indicii de laborator care au fost analizați în contextul modificărilor oxidative ale proteinelor induse de SO sunt producții proteice de oxidare avansată (PPOA). În studiu nostru nu au fost semnalate diferențe statistic semnificative între PPOA în serul sanguin ($p=0.071$) și în lacrima ($p=0.655$) pacienților odată cu progresarea RH (figura 3). A fost remarcată o corelație pozitivă slabă între gradul retinopatiei și nivelul de PPOA în ser ($r_s=0.243$, $p=0.021$), sugerând o amplificare a SO și a deteriorării oxidative a proteinelor concomitent cu evoluția retinopatiei, spre deosebire de PPOA în lacrimă ($r_s=-0.037$, $p=0.731$), ce ar sugera o posibilă protecție la nivel local capabilă să contracareze efectele SO, atestată de creșterea AAT în lacrimă. Nu s-a stabilit nici o corelație ($r_s=0.035$, $p=0.745$) între valorile PPOA între cele 2 probe de interes.

3.2 Modificările indicilor sistemului antioxidant în RH. Valorile lacrimale ale AAT au oferit rezultate promițătoare, fiind determinată o creștere incontestabilă, semnificativă statistic a valorilor AAT pe măsură ce RH a avansat în grad ($p=0.003$) (figura 4).

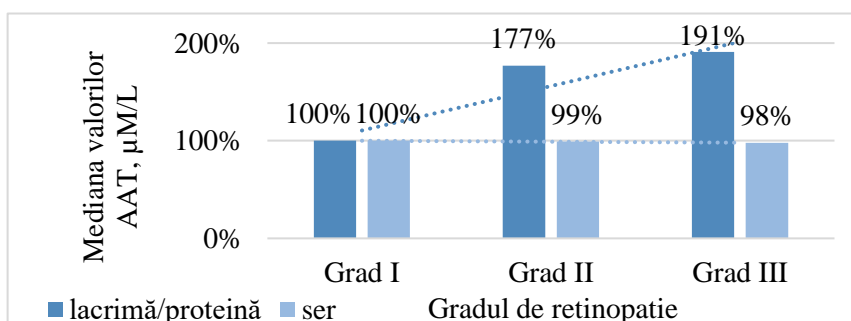


Figura 4. Evoluția valorilor AAT în serul și lacrima pacienților cu RH

Nu s-a determinat o modificare statistic semnificativă între grupuri a valorilor AAT în ser, spre deosebire de cele din lacrimă, dar totuși s-a remarcat o tendință de diminuare treptată pe măsură ce RH a progresat ($p=0.182$), cu cca 3% ($p>0.05$) (figura 5). S-a stabilit o corelație negativă slabă semnificativă statistic între nivelurile AAT în lacrimă și ser ($r_s=-0.226$, $p=0.032$). Nu a fost

consemnată o corelație semnificativă între AAT în ser cu gradul RH ($r_s=-0.164$; $p=0.123$), în timp ce AAT în lacrimă a demonstrat o corelație pozitivă slabă semnificativă, cu gradul RH ($r_s=0.357$, $p=0.001$). E de menționat corelația semnificativă statistic, moderată a AAT în lacrimă cu antioxidanții individuali precum SOD ($r_s=-0.446$, $p=0.000$) și catalaza lacrimală ($r_s=0.365$, $p=0.000$), care posibil explică augmentarea AAT în lacrimă la pacienții cu RH.

Activitatea în lacrimă a SOD a fost statistic semnificativ mai mică decât în ser în toate grupurile studiate cu 25%. O corelație pozitivă slabă semnificativă a fost atestată între nivelurile SOD lacrimale și serice ($r_s=0.336$, $p=0.001$). S-a stabilit o diferență semnificativă statistic a SOD în ser ($p=0.035$) și lacrimă ($p=0.027$) între grupuri, valorile diminuându-se în ambele cazuri pe măsură ce RH a progresat (Tabel 1). În ambele fluide cercetate, activitatea SOD a prezentat o corelație semnificativă, slabă, negativă cu gradul RH ($r_s=-0.246$, $p=0.019$ în ser; $r_s=-0.284$, $p=0.007$ în lacrimă).

Activitatea catalazei în lacrimă a fost statistic semnificativ mai mică decât în ser cu 30% în toate grupurile studiate ($p=0.033$). Nu au existat diferențe în nivelul catalazei în ser ($p>0.05$) între grupuri. S-a observat o tendință de creștere a activității catalazei în serul pacienților pe măsură ce RH a progresat. Activitatea catalazei în ser nu a arătat o corelație cu gradul RH ($r_s=0.143$; $p=0.177$). Nu s-au identificat corelații între nivelurile serice și lacrimale ale catalazei ($r_s=0.125$, $p=0.239$), în timp ce activitatea catalazei lacrimale a arătat o corelație slabă semnificativă, pozitivă cu gradul RH ($r_s=0.261$, $p=0.013$). Rezultatele obținute au prezentat o activitate antioxidantă diminuată a SOD și una amplificată a catalazei, care ar putea fi interpretată drept un mecanism de rezistență celulară împotriva unui SO exacerb. Eventual, scăderea activității SOD, stabilită în cercetare, a condiționat creșterea producției de $O_2^{\cdot-}$ și ulterior a peroxidului de hidrogen. Ca urmare, necesitatea de detoxifiere a H_2O_2 a indus creșterea activității catalazei. În această ordine de idei, am putea stipula că a fost demonstrat impactul SO asupra dezvoltării RH.

Tabelul 1. Nivelurile SOD și catalazei în ser și lacrimă raportate la evoluția RH

Kruskal-Wallis	SOD/Me (LQ, UQ)		Catalaza/Me (LQ, UQ)	
	ser (u/mL)	lacrimă (u/mL)	ser (μ M/L)	lacrimă (μ M/L)
	p=0.035	p=0.027	p=0.362	p=0.033
GI	1467.37 (1343.54, 1530.62) 100%	1123.89 (974.55, 1193.58) 100%	32.20 (27.25, 38.55) 100%	22.07 (15.35, 25.75) 100%
GII	1451.40 (1315.58, 1515.31) 99%	1057.52 (933.63, 1163.72) 94%	33.03 (29.58, 40.39) 103%	24.77 (21.47, 28.08) 112%
GIII	1352.86 (1212.92, 1431.29) 92%	942.48 (898.23, 1121.24) 84%	34.23 (29.43, 44.59) 106%	26.13 (20.57, 27.63) 118%

Notă: Me – mediana; LQ – quartila de jos; UP – quartila de sus;

Pentru a examina una din verigile cardinale ale sistemului de apărare antioxidantă - sistemul glutatationului, la pacienții cu retinopatie hipertensivă, a fost evaluată concentrația glutatationului redus (GSH) și activitățile principalelor enzime implicate în metabolismul glutatationului - glutatation peroxidază (GPx) și glutatation reductază (GR). Valorile lacrimale ale celor trei markeri cercetați au prezentat creșteri corelate cu avansarea gradului RH.

O tendință de fluctuație nesemnificativă statistic a nivelurilor de glutatation redus (GSH) între grupuri ($p=0.357$) a fost observată în lacrimă. Valorile identificate pentru GI – 153.36 μ M/L, IQR 92.97, GII - 153.36 μ M/L, IQR 62.15 și respectiv GIII – 153.36 μ M/L, IQR 123.62 [24].

În lacrimă, valorile GPx au fost 289.75 nM/s·L, IQR 93.38 în grupul I, 308.55 nM/s·L, IQR 146.16 (+6%, p=0.182) în grupul II și 357.27 nM/s·L, IQR 129.92 (+17%, p=0.077) în al III-lea grup de pacienți cu RH. S-a observat o diferență semnificativă statistic între grupul I - 289.75 nM/s·L, IQR 93.38 și III - 357.27 nM/s·L, IQR 129.92 (p=0.004). Mai mult, a fost atestată o fluctuație veridică a nivelurilor GPx între grupuri în lacrimă (p=0.015) pe măsură ce RH a progresat (figura 5).

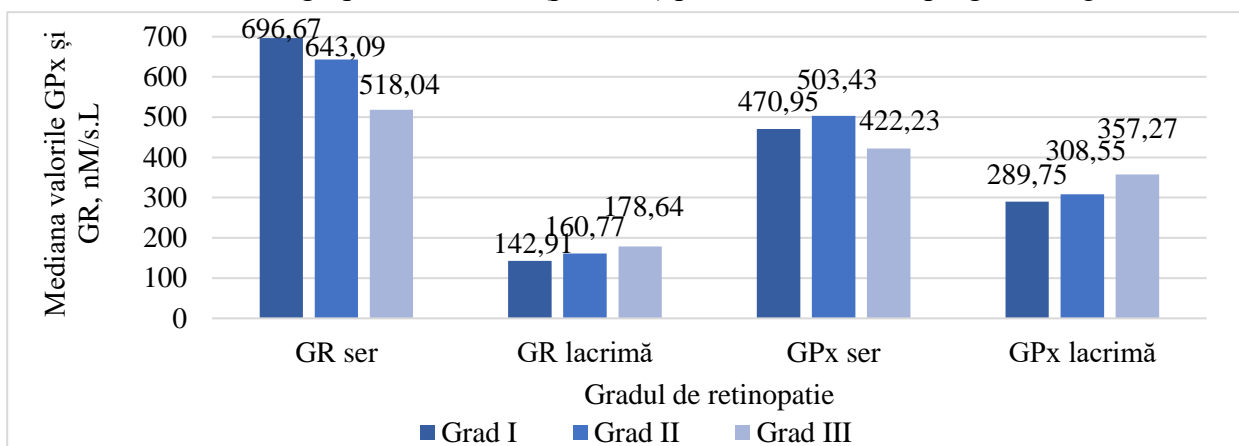


Figura 5. Dinamica activității GPx și GR în ser și lacrimă raportate la stadiul RH

Activitatea GR a prezentat diferențe semnificative statistic între grupuri, asemănătoare modificărilor GPx, atestându-se o amplificare a valorilor în eșantionul lacrimal (p=0.032) odată cu avansarea RH, în GII în comparație cu GI +12%, p=0.492) și în GIII comparativ cu GII (+25%, p=0.009). În plus, s-a observat o modificare concludentă între GIII și GI, p=0.045 (figura 7). În ser, valorile conținutului de GSH și ale activității GPx nu s-au modificat cardinal între grupuri, spre deosebire de activitatea GR a cărei valoare a fost micșorată esențial (p=0.010).

Modificări statistic ne semnificative ale activității GPx în ser (p=0.223) au fost atestate în timpul evoluției gradului retinopatiei. Nivelul seric al GPx în GII a crescut comparativ cu GI +7%, p>0.05), a scăzut în GIII comparativ cu GII (-18%, p>0.05) (figura 5). Spre deosebire de GSH și GPx, activitatea GR serică a prezentat o dinamică diferită, de scădere, statistic semnificativă între grupuri (p=0.010). În comparații de grup, nivelul seric de GR în GII a scăzut comparativ cu GI -8%, p=0.345 și continuă să se micșoreze în GIII -18%, p = 0.027. O modificare semnificativă statistic a fost observată în GIII comparativ cu GI - p=0.003.

S-a stabilit o corelație negativă semnificativă slabă între nivelurile GSH lacrimale și serice ($r_s = -0.361$, p=0.000), în timp ce nici o corelație nu există între activitățile GPx ($r_s = -0.170$, p=0.109) și GR ($r_s = -0.039$, p=0.714) în lacrimă și ser. Analiza asocierilor fezabile ale modificărilor nivelului GSH cu activitatea enzimelor, care consumă GSH ca cofactor pentru detoxifiere și activitate antioxidantă a identificat corelații pozitive medii semnificative între următorii markeri: GPx și GR în lacrimă ($r_s = 0.417$, p=0.000) și GSH și GPx seric ($r_s = 0.409$, p=0.000). În ambele fluide cercetate, nivelul GSH nu a corelat cu gradul RH ($r_s = -0.008$, p=0.941 în ser; $r_s = 0.039$, p=0.716 în lacrimă). Activitatea GPx în ser nu a demonstrat o corelație cu gradul RH ($r_s = -0.053$; p=0.621), în timp ce GPx în lacrimă a avut o corelație pozitivă slabă semnificativă cu gradul RH ($r_s = 0.299$, p=0.004). În ambele fluide cercetate, activitatea GR a prezentat o corelație semnificativă slabă și pozitivă cu gradul RH ($r_s = 0.297$, p=0.004 în ser/ $r_s = 0.252$, p=0.017 în lacrimă).

Conținutul de grupări tiolice ale proteinelor s-au remarcat și ele printr-o distribuție nesemnificativă statistic atât în lacrimă (p=0.877), cât și în ser (p=0.640). S-a constatat că cantitatea grupărilor tiolice ale proteinelor în ser, în GII a crescut comparativ cu GI +12%, p>0.05, urmată de o diminuare a valorilor la pacienții din GIII comparativ cu GII -8%, p>0.05. În proba

de lacrimă, conținutul de grupări tiolice ale proteinelor au fost 157.72 $\mu\text{M/g}\cdot\text{prot}$ (IQR 45.83) în grupul I, 150.98 $\mu\text{M/g}\cdot\text{prot}$ (IQR 32.35) în grupul II și 150.98 $\mu\text{M/g}\cdot\text{prot}$ (IQR 32.35) în al III-lea grup de pacienți cu RH. Nu s-au identificat corelații sero-lacrimale pentru conținutul de grupări tiolice ale proteinelor ($r_s=0.162$, $p=0.128$) și nici a fiecărei dintre mostre cu gradul RH ($r_s=-0.040$, $p=0.709$ pentru lacrimă, $r_s=0.039$, $p=0.718$ pentru ser).

3.3 Modificările indicilor ischemiei în RH. RH se caracterizează prin afectarea progresivă a vaselor retiniene, care poate fi asociată cu ischemia țesutului. AIM este un marker specific al afectării ischemice. AIM s-a remarcat prin valori diferite, statistic semnificative în serul sangvin ($p=0.006$), al pacienților în timpul evoluției RH. În comparații de grup, nivelul AIM seric în GII nu s-a deosebit comparativ cu GI (+3%, $p=0.378$), dar a crescut la pacienții GIII comparativ cu GII (+17%, $p=0.016$). Nu au existat diferențe în conținutul AIM în probele de lacrimă ($p=0.160$) între grupuri. Nu s-au identificat corelații sero-lacrimale pentru AIM ($r_s=-0.159$, $p=0.134$), în timp ce AIM serică a prezentat o corelație pozitivă moderată semnificativă, cu gradul RH ($r_s=0.307$, $p=0.003$). Prezența nivelurilor amplificate de AIM serice în RH și corelația cu severitatea retinopatiei sugerează că ischemia subsecventă dereglărilor microcirculatorii pe fundal de SO și dislipidemie, poate fi incriminată în mecanismul dezvoltării acesteia.

3.4 Modificările indicilor SRA în evoluția RH. S-a evidențiat o creștere semnificativă statistic a nivelurilor serice de Ang II în același timp cu avansarea în grad a RH ($p=0.039$). Un tablou invers, exprimat prin diminuarea statistic semnificativă a valorilor Ang II în grupuri, se observă în lacrimă ($p=0.035$). În comparații de grup, nivelul seric al Ang II în GII crește în comparație cu GI (+42%, $p=0.264$) cât și în GIII în comparație cu GII (+18%, $p=0.153$) (figura 6). O diferență statistic semnificativă s-a remarcat între GI și GIII cu $p=0.011$. În lacrimă se evidențiază o micșorare graduală a valorilor, cu evidențierea diminuării statistic semnificative de -26% între GI și GII, cu $p=0.022$ și între GI și GIII de -26% cu $p=0.028$ (figura 6).

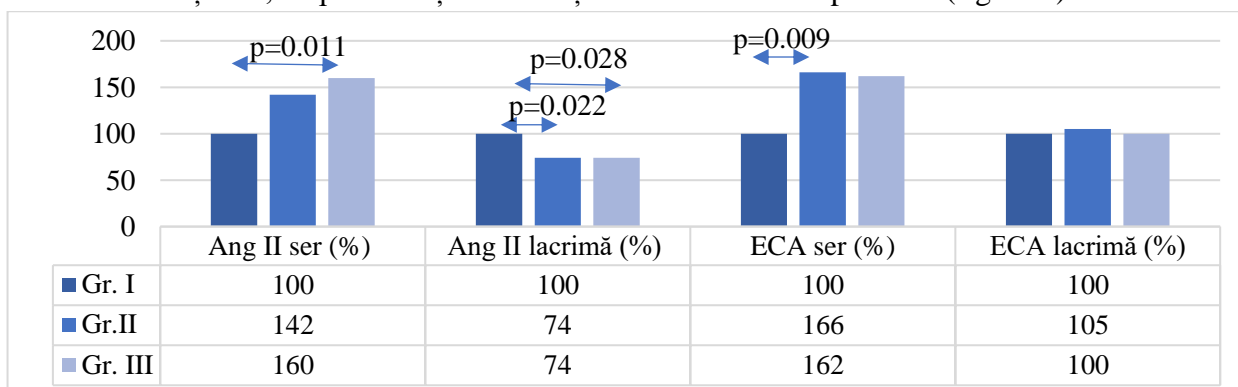


Figura 6. Dinamica valorilor Ang II și ECA în ser și lacrimă la pacienții cu diferit grad de RH

S-au identificat corelații sero-lacrimale negative, de putere slabă, statistic semnificative ale Ang II ($r_s=-0.323$, $p=0.045$). Mai mult, nivelurile Ang II atât în ser, cât și în lacrimă au demonstrat o corelație medie semnificativă statistic cu gradul RH, în ser fiind pozitivă - $r_s=0.413$, $p=0.009$, în timp ce în lacrimă negativă - $r_s=-0.357$, $p=0.026$. Concomitent s-a evidențiat și o majorare semnificativă statistic a nivelurilor serice de ECA ($p=0.032$) și ne semnificativă în lacrimă ($p=0.536$). În comparații de grup, nivelul seric al ECA în GII crește în comparație cu GI (+66%, $p=0.009$), menținându-se la același nivel în GIII, $p=0.242$) (figura 6). În lacrimă se evidențiază o fluctuație statistic neveridică a valorilor începând cu o amplificare de +5% în GII comparativ cu GI, $p>0.05$ și revenire ulterioară la valorile inițiale în GIII (figura 6). Nivelul ECA atât în ser, cât și în lacrimă nu a demonstrat prezența unei corelații semnificativă statistic cu gradul RH. S-a evidențiat și o creștere semnificativă statistic a nivelurilor serice de Ang II în același timp cu

avansarea în grad a RH ($p=0.039$). Nivelul seric al Ang II în GII a crescut în comparație cu GI cu +42%, iar în GIII în comparație cu GII cu +18%. Mai mult, nivelurile Ang II atât în ser, cât și în lacrimă au demonstrat o corelație medie semnificativă statistic cu gradul RH, în ser fiind pozitivă – $r_s=0.413$, $p=0.009$, în timp ce în lacrimă negativă – $r_s=-0.357$, $p=0.026$. Prin urmare, creșterea statistic semnificativă a nivelului Ang II în ser la pacienții cu RH și corelarea acesteia cu severitatea retinopatiei, confirmă participarea activă a SRA în dezvoltarea RH.

3.5 Modificările indicilor metabolismului lipidic în progresarea RH. O imagine completă a modificărilor statutului lipidic în probele de ser ale pacienților hipertensivi cu grad diferit de retinopatie sunt prezentate în figura 7.

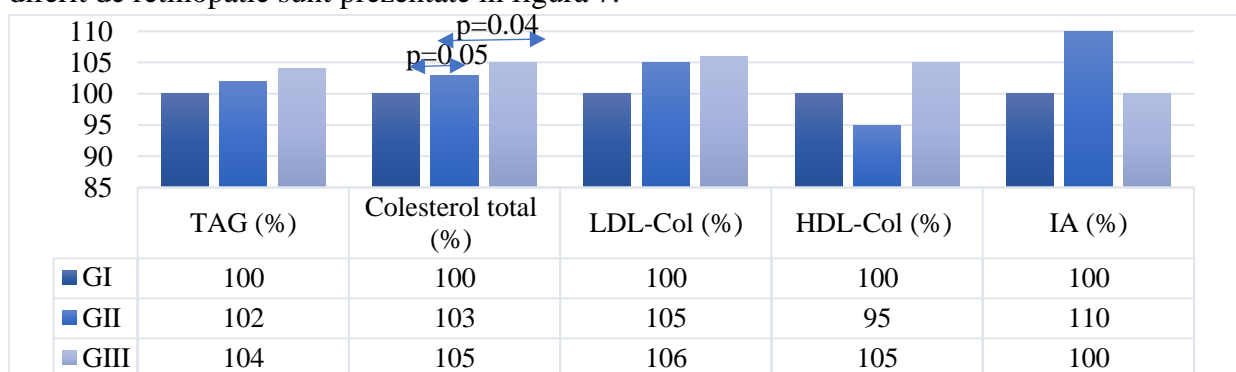


Figura 7. **Modificările nivelurilor serice ale lipidelor și a indicelui aterogen al plasmei la pacienții cu grad diferit de RH**

Nota: TAG – triglicerid; LDL-Col – LDL-colesterol; HDL-Col – HDL - colesterol; IA – indicele aterogenic;

Nu au fost atestate modificări ale nivelurilor serice de TAG între grupuri în timp cu progresarea RH în grad ($p=0.061$). În comparații pereche, nivelul TAG în GII tinde să crească în comparație cu GI (2.03 (IQR 0.18) mM/L față de 2.07 (IQR 0.15) mM/L) și în GIII în comparație cu GII (2.10 (IQR 0.25) mM/L vs. 2.07 (IQR 0.15) mM/L). Nivelurile TAG au demonstrat o corelație slabă pozitivă semnificativă statistic cu gradul RH ($r_s=0.249$, $p=0.018$). A fost atestată o creștere semnificativă statistic a nivelului seric de colesterol total între grupuri, pe măsură ce RH a avansat ($p=0.017$). În comparații de grup, nivelurile totale de colesterol din GII și GIII au fost semnificativ mai mari comparativ cu GI: 5.63 (IQR 0,69) mM/L față de 5.49 (IQR 0.51) mM/L, $p=0.05$ și respectiv 5.76 (IQR 0.82) mM/L față de 5.49 (IQR 0.51), $p=0.04$ (figura 7).

Nivelul total de colesterol a demonstrat o corelație pozitivă, semnificativă statistic ($p=0.005$), slabă ($r_s=0.292$) cu gradul RH. Valorile LDL-Col seric au demonstrat o corelare nesemnificativă cu gradul RH ($r_s=0.129$, $p=0.225$), pe când cele ale HDL-Col nu au fost corelate cu gradul patologiei ($r_s=0.084$, $p=0.429$). Nici unul din acești markeri ai metabolismului lipoproteinelor nu s-au modificat statistic concludent între grupuri (LDL-Col – $p=0.302$, HDL-Col – $p=0.153$). Conținutul de LDL-Col a manifestat o tendință neglijabilă de creștere cu cca 6% (GI=2.94 (IQR 0.55) mM/L; GII=3.09 (IQR 0.37) mM/L; GIII=3.13 (IQR 1.16) mM/L), iar cel al HDL-Col a fluctuat neînsemnat odată cu avansarea RH (GI=1.24 (IQR 0.28) mM/L; GII=1.18 (IQR 0.20) mM/L; GIII=1.30 (IQR 0.36) mM/L) (figura 7). Rezultatele studiilor sugerează implicarea tulburărilor metabolismului lipidic în dezvoltarea RH, prin disfuncție endotelială și afectarea barierei sanguine retiniene, ce vor favoriza lipidele serice și exsudarea lipoproteinelor.

3.6 Analiza corelațiilor. Analizând modificările ce au avut loc în ser și în lacrimă în timpul evoluției RH în grad, au fost atestate puține corelații sero-lacrimale, toate fiind de putere slabă (tabelul 2).

Tabelul 2. **Corelații sero-lacrimale ale indicilor biochimici la pacienții cu RH**

Indice	Coefficientul de corelație r_s	Veridicitate p
DAM	$r_s = 0.277$	$p = 0.008$
AAT	$r_s = - 0.226$	$p = 0.032$
SOD	$r_s = 0.336$	$p = 0.001$
GSH	$r_s = - 0.361$	$p = 0.000$
Ang II	$r_s = - 0.323$	$p = 0.045$

Ochiul este un organ înalt specializat cu structură relativ autonomă ce este caracterizat prin prezența barierelor hemato-retiniană și sânge-umoare apoasă, particularități de dinamică a fluidelor și a proceselor metabolice, precum și de condițiile de funcționare specifice determinate de contactul direct cu mediul ambiant. Astfel, este posibil că autonomia structurală determină lipsa corelațiilor sero-lacrimale, iar prezența barierelor anterior menționate asigură întreținerea unor medii biochimic diferite, pentru a asigura funcționarea optimă a secțiunilor individuale ale ochiului. Un factor contributor probabil ar fi și dereglările vasculare specifice retinopatiei, ce pot fi explicate prin capacitatea specifică de autoreglare a vaselor retiniene ca răspuns la modificările TA, asigurând în final păstrarea unui flux vascular retinian stabil prin vasoconstricție arterială activă [7]. Adicional vasoconstricției, leziunea barierelor locale poate fi responsabilă nu doar de apariția hemoragiilor superficiale retiniene, edemul retinian și exsudatele profunde („exsudatele uscate”), ci și de dereglările schimbului de substanțe între structurile oculare și sânge. O consecință a acestui fenomen poate fi probabil și lipsa corelărilor între modificările indicilor la nivel local (lacrimă) cu modificările sistemice (sânge) [2].

O altă ipoteză ar fi că modificările locale au o pondere mai mică în modificările la nivel general atât datorită particularităților structural-metabolice relevate anterior, cât și datorită dimensiunilor relativ mici ale organului vizual. Ar fi de menționat și faptul că nivelul parametrilor în ser ar putea fi condiționat și de prezența altor factori sistemici.

Corelațiile sero-lacrimale analizate ar putea fi discutabile. Însă, nu este posibilitatea de a compara rezultatele obținute cu rezultatele altor cercetători, datorită insuficienței altor studii cu referire la RH, și lipsa unor cercetări de analiză a markerilor cu caracter predictiv, sau explicativ și nici a corelațiilor posibile sero-lacrimale. Un studiu mai amplu cu utilizarea unui lot mai mare de pacienți ar putea elucida întrebările apărute.

Analiza datelor obținute ne-a demonstrat că nivelurile markerilor cercetați în serul și lacrima pacienților nu întotdeauna ar fi un predictor independent al severității RH, fapt susținut prin corelații slabe între valorile markerilor și gradul RH (tabelul 3).

Deși cercetat mai puțin în retinopatie, există dovezi convingătoare că un SRA local există în retină, iar Ang II influențează disfuncția vasculară și inflamația. SRA este un sistem de reglare cu o durată lungă, care asigură o acțiune modulatorie asupra structurii și funcțiilor organelor și țesuturilor, fapt confirmat și în studiul prezent cu referire la sistemul vizual. În RH s-a identificat o creștere a nivelurilor serice de Ang II și diminuarea valorilor indicelui în lacrimă în același timp cu avansarea în grad a RH, modificările fiind statistic semnificative atât în ser ($p=0.039$) cât și lacrimă ($p=0.035$). Nivelurile lacrimale și serice ale Ang II au manifestat o legătură corelativă negativă, semnificativă statistic ($r_s=- 0.323$, $p=0.045$). De asemenea, valorile Ang II au fost veridic corelate cu gradul RH atât în lacrimă ($r_s=-0.357$, $p=0.026$), cât și în ser ($r_s=0.413$, $p=0.009$), puterea asocierii fiind slabă, dar mai importantă comparativ cu celelalte corelații identificate. Merită a fi evidențiate și corelațiile între markerii SRA: Ang II și ECA, în ser și lacrimă.

Tabelul 3. Corelațiile indicilor biochimici în ser și lacrimă cu gradul RH

Ser			Lacrimă		
Indice	Coefficient de corelație	Veridicitate	Indice	Coefficient de corelație	Veridicitate
NO	$r_s = -0.265$	$p = 0.012$	AAT	$r_s = 0.357$	$p = 0.001$
PPOA	$r_s = 0.243$	$p = 0.021$	SOD	$r_s = -0.284$	$p = 0.007$
SOD	$r_s = -0.246$	$p = 0.019$	CAT	$r_s = 0.261$	$p = 0.013$
GR	$r_s = 0.297$	$p = 0.004$	GPx	$r_s = 0.299$	$p = 0.004$
AIM	$r_s = 0.307$	$p = 0.003$	GR	$r_s = 0.252$	$p = 0.017$
Ang II	$r_s = 0.413$	$p = 0.009$	Ang II	$r_s = -0.357$	$p = 0.026$
TAG	$r_s = 0.249$	$p = 0.018$			
Col	$r_s = 0.292$	$p = 0.005$			

Au fost identificate corelațiile pozitivă a activității ECA serice cu nivelul seric al Ang II ($r_s = 0.356$, $p = 0.026$) și negativă cu Ang II lacrimală ($r_s = -0.509$, $p = 0.001$). Depistarea legăturilor corelaționale confirmă implicarea SRA în patogenia RH. ECA joacă un rol de bază în funcționarea sistemului, posedând capacitatea de a transforma Ang I în Ang II – un puternic vasoconstrictor, care amplifică TA și în același timp, dezintegrează bradikinină cu proprietăți opuse. Datorită faptului că receptorii Ang II au fost localizați în vasele sangvine retiniene, un rol al SRA în reglarea tonusului vascular retinian este plauzibil, arteriolele răspunzând la Ang II cu vasoconstricție. Studii adiționale sunt necesare pentru aprecierea exhaustivă a particularităților modificărilor SRA ocular și a rolului lor în RH.

Practic toți markerii sistemului antioxidant în lacrimă (AAT, SOD, CAT, GPx, GR) corelează cu gradul RH. Corelațiile indicilor sistemului antioxidant sunt toate pozitive (AAT - $r_s = 0.357$, $p = 0.001$, CAT - $r_s = 0.261$, $p = 0.013$; GPx - $r_s = 0.299$, $p = 0.004$ și GR - $r_s = 0.252$, $p = 0.017$), cu excepția SOD ($r_s = -0.284$, $p = 0.007$). Prin urmare, în RH protecția inițială față de SRO (neutralizarea O_2^- de către SOD) este diminuată, iar ulterior compensator cresc activitățile enzimelor (CAT, GPx, GR) ce atenuează efectele compușilor formați subsecvent – H_2O_2 , peroxizi lipidici, etc. Per total, modificările corelate ale activității enzimelor antioxidante asigură o creștere continuă, semnificativă statistic a valorilor AAT pe măsură ce RH a avansat în grad ($p = 0.003$), ce și a determinat un grad sporit de protecție antioxidantă locală comparativ cu nivelul sistemic.

În ser s-a atestat o modificare corelată a activității SOD și CAT ($r_s = 0.390$, $p = 0.000$), ce asigură protecție primară de O_2^- și H_2O_2 în SO, precum și a activității SOD și GPx ($r_s = 0.438$, $p = 0.000$) și activității SOD cu conținutul de GSH ($r_s = 0.395$, $p = 0.000$) ce asigură eliminarea peroxizilor organici – produși secundari ai SO. Astfel organismul asigură o protecție echilibrată în unison de către componenta enzimatică a SAO a organismului de efectele HTN.

La nivel lacrimal au fost stabilite mai puține corelații între elementele SAO, AAT fiind corelată negativ moderat cu activitatea SOD ($r_s = -0.446$, $p = 0.000$) și pozitiv moderat cu conținutul de GSH ($r_s = 0.405$, $p = 0.000$). Numărul redus de corelații la nivel lacrimal nu permite a face concluzii privind coordonarea răspunsului AO la nivelul lacrimii spre deosebire de răspunsul sistemic reflectat de corelațiile serice.

Totodată în lacrimă s-a constatat o legătură între funcționalitatea sistemelor AO și RA, reflectate de corelații medii negative a Ang II cu AAT ($r_s = -0.611$, $p = 0.000$) și conținutul de GSH ($r_s = -0.447$, $p = 0.004$) și pozitivă cu activitatea SOD ($r_s = 0.493$, $p = 0.001$). Adițional, analiza asocierilor fezabile ale modificărilor nivelului GSH cu activitatea enzimelor, care consumă GSH ca cofactor pentru detoxifiere și activitate antioxidantă, a identificat corelații pozitive medii semnificative între următorii markeri: GPx și GR în lacrimă ($r_s = 0.417$, $p = 0.000$) și GSH seric și

GPx seric ($r_s=0.409$, $p=0.000$). Luând în considerare toate dovezile experimentale, se presupune că SO și perturbările metabolismului glutationului, sunt imperativ legate de patogeneza RH.

A fost identificată și corelarea markerilor SO cu indicii statutului lipidic și a ultimilor între ei în ser. Conținutul de DAM a fost corelat direct, cu putere medie cu nivelul TAG ($r_s=0.464$, $p=0.000$), valorile cărora au crescut progresiv odată cu majorarea severității RH. Considerăm că fenomenele atestate ar putea fi o probă suplimentară a impactului dislipidemieii în propagarea SO în HTN și dezvoltarea complicației ei – a RH.

Adițional, lipsa unui număr mai mare de corelații ar putea fi explicată și de numărul relativ limitat de pacienți, extinderea studiului putând elucidă unele incertitudini. O altă opțiune ar necesita creșterea și diversificarea numărului de markeri reprezentativi, precum izoprostanii, hidroxiperoxizii lipidici, tioredoxinele, glutaredoxinele, VEGF etc., ce ar putea fi mult mai fiabili în explicarea patobiochimiei RH.

4. SINTEZA REZULTATELOR STUDIULUI

Modificările serice și lacrimale obținute în cercetare ne permit deducerea unor ipoteze privitor la impactul SO și SRA, rolul defensiv al sistemului antioxidant, precum și evoluția acestora în cadrul celor 3 grade ale RH, cât și conturarea unor indici de laborator ai patologiei cercetate.

În ser, s-a constatat inițial în gradul II al RH, încercarea de a menține statutul relativ compensat clinic prin fluctuația logică a valorilor markerilor de interes, fie prin amplificarea fie prin diminuarea acestora (tabelul 4).

Tabelul 4. Evoluția indicilor cercetați în ser (%) raportată la avansarea gradului de RH

	Gradul retinopatiei			Veridicitatea p
	GI	GII	GII	
	Indicii stresului oxidativ			
1. NO	100%	92%	89%	p=0.039
2. S-nitrozotiolii	100%	95%	96%	p=0.694
3. DAM	100%	101%	102%	p=0.628
4. PPOA	100%	153%	224%	p=0.071
	Modificările indicilor ischemiei			
5. AIM	100%	103%	120%	p=0.006
	Activitatea SAO			
6. AAT	100%	99%	97%	p=0.182
7. SOD	100%	99%	92%	p=0.035
8. CAT	100%	103%	106%	p>0.05
9. GSH	100%	102%	97%	p=0.010
10. GPX	100%	107%	90%	p=0.223
11. GR	100%	92%	74%	p=0.010
12. gr.-SH	100%	112%	104%	p=0.640
	Modificările SRA			
13. Ang II	100%	142%	160%	p=0.039
14. ECA	100%	166%	162%	p=0.032
	Modificările în metabolismul lipidic			
15. TAG	100%	102%	104%	p=0.061
16. Col	100%	103%	105%	p=0.017
17. LDL-Col	100%	105%	106%	p=0.302

18. HDL-Col	100%	95%	105%	p=0.153
-------------	------	-----	------	---------

În studiul nostru, a fost identificată diminuarea NO cu 8% în gr. II al RH, explicată cel mai probabil prin faptul că NO•, în calitate de mesager secund interacționează cu anionul superoxid formând peroxinitritul (ONOO-), fiind factor determinat în inducerea SO. Disfuncția endotelială, care se caracterizează prin afectarea biodisponibilității NO, este un factor de risc important atât pentru dezvoltarea HTN, cât și pentru cea a RH și poate reprezenta o legătură majoră între afecțiuni. Înțelegerea rolului NO în reglarea TA poate avea implicații pentru îmbunătățirea tratamentului și reducerea riscului pentru dezvoltarea morbidităților [25]. Ulterior, am emis ipoteza că scăderea concentrației circulante a S-nitrosotiolilor în HTN în gradul II al bolii cu 5% rezultă în leziuni endoteliale și afectează biosinteza de NO. Aceste modificări pot contribui la dezvoltarea leziunilor specifice vasculare la nivelul retinei în RH. Creșterea ușoară a concentrației de DAM în ser ne indică o intensificare a peroxidării lipidice și prin urmare faptul că țesuturile au fost expuse SO, iar transformările structurale patologice ale proteinelor, cu formarea PPOA, atestă acțiunea SRO asupra lor. Astfel, amplificarea deteriorării oxidative a proteinelor în gr.II cu \uparrow 53%, care este stimulată în condiții de SO, vine în tandem cu creșterea ușoară a valorilor produșilor clasici ai oxidării peroxidice a lipidelor (DAM +1%), aceste rezultate confirmând faptul că proteinele sunt mai susceptibile comparativ cu lipidele în condițiile de HTN și afectare retiniană.

Pentru a contracara efectele SO, corpul uman utilizează o diversitate de mecanisme antioxidante, care includ și glutatationul. În studiul nostru, prezența unui dezechilibru pe moment compensat în sistemul antioxidant este susținut de valorile relativ nemodificate în ser ale markerilor precum AAT și GSH. Însă conform rezultatelor obținute se observă un dezechilibru enzimatic în gr. II al RH, exprimat prin diminuarea activității SOD (8%) și creșterea activității CAT (6%), precum și prin amplificarea valorilor GPx în ser cu 7% și reducerea valorilor GR cu 8% (tabelul 4).

Posibil menținerea la nivel normal a AAT este determinată de modificările coordonate a compușilor cheie ai sistemului AO. Astfel, diminuarea activității SOD este constrabalansată de creșterea activității CAT. Prin urmare, evoluția diversității enzimatice: SOD, catalază și peroxidază cu scopul eliminării intermediarilor reactivi, sugerează că o proporție semnificativă de O₂ este redusă pe această cale. Cercetările din ultimul deceniu au arătat că HTN este asociată cu o serie de perturbări în metabolismul glutatationului, fenomenul fiind constat și de studiul actual.

Este de notat și majorarea grupărilor -SH cu 12% în gr II a RH. Augmentarea nivelului de grupări tiolice la pacienții din studiu ar putea fi un mecanism compensator de contracararea SO și efectelor sale nocive, precum și de menținere a integrității structurale și funcționale a elementelor celulare și celulei integre.

Cunoaștem că implicarea SRA în RH pledează în favoarea majorității ipotezelor de elucidare a patogeniei RH, în special cea ischemică și de participare a SO. Deși inițial adaptative, modificările care însoțesc HTN și eventual RH, și anume disfuncția endotelială, vasoconstricția, în cele din urmă pot deveni inadaptative și pot duce la progresia RH. Observăm în gradul II o amplificare a nivelului Ang II cu 42% și a activității ECA cu 66%, modificare care este asociată cu micșorarea cu -8% a conținutului de NO (tabelul 4). Totodată, Ang II diminuează biodisponibilitatea NO prin promovarea SO.

Leziunile în gradul III al RH devin mai marcate. Astfel, în gradul III al RH este mai evidentă diminuarea SOD (-8%), la pacienții din studiul actual. Prin urmare, acest declin sugerează un deficit în mecanismele de apărare antioxidante, care ulterior ar afecta capacitatea pacienților

hipertensivi de a elimina anionul superoxid circulant și ar determina o creștere a leziunilor vasculare, induse de SRO.

Pe de altă parte, expresia crescută a catalazei a fost determinată în HTN, un polimorfism în regiunea promotor a catalazei fiind asociat cu nivelul ridicat de TA. În studiul nostru, în GIII se observă o majorare de +6% a catalazei, care posibil compensează capacitatea redusă a SOD de neutralizare a O_2^- și creșterea subsecventă a cantității de H_2O_2 [26].

Mai mult, din câte se cunoaște, studiul nostru a subliniat pentru prima dată scăderea nivelurilor de SOD seric și lacrimal și creșterea nivelurilor de catalază serică și lacrimală în RH. De asemenea s-a subliniat că la pacienții hipertensivi cu RH, în ambele fluide cercetate, activitatea SOD a arătat o corelație slabă semnificativă, negativă cu gradul RH ($r_s = -0.246$, $p = 0.019$ în ser / $r_s = -0.284$, $p = 0.007$ în lacrimă). A fost atestată și o corelație pozitivă slabă semnificativă între nivelurile SOD serice și lacrimale ($r_s = 0.336$, $p = 0.001$). Cu toate acestea, chiar dacă nu s-a identificat nicio corelație cu catalaza serică, catalaza lacrimală a prezentat o asociere slabă semnificativă, pozitivă cu gradul RH ($r_s = 0.261$, $p = 0.013$).

Cercetarea noastră reliefează faptul că progresarea HTN și respectiv a RH, induce pe lângă deteriorarea vaselor și modificări metabolice caracterizate prin majorarea cantității markerului biochimic indicator al ischemiei tisulare, precum este AIM, în ser. Acest fapt se remarcă cu predilecție în gradul III a RH. În SO formarea AIM este determinată de expunerea la radicalii liberi, ca urmare a modificărilor care apar în rețeaua microvasculară, inclusiv în cea retiniană. Astfel s-au determinat rezultate statistice semnificative în ser cu creșterea în gradul III a RH a valorii cu 20%, $p = 0.006$. În gr. III a RH se aprofundează și disfuncția vasculară, vizibilă fiind diminuarea Ang II cu încă 18%.

Astfel, amplificarea SO este în continuarea susținută de diminuarea cu încă 3% a NO în gr. III. Totodată creșterea nivelurilor de PPOA cu 124% comparativ cu gr. I al RH ne indică că proteinele sunt expuse unei agresiuni extreme cu o posibilă deteriorare a enzimelor, inclusiv și a celor studiate. Astfel fiind explicată diminuarea activității enzimatice.

Ulterior se aprofundează dezechilibrul în sistemul antioxidant, care în mare măsură rămâne totuși compensat, fapt demonstrat prin valorile AAT relativ nemodificate. SOD se micșorează cu -8%, urmat de GPx cu 10% și mai mult GR cu -26%, ceea ce favorizează generarea substanțială de O_2^- , deci și a H_2O_2 , cât și procesul de peroxidare. Prin mișorare de GPx suferă procesul de neutralizare a peroxizilor, cât și prin diminuarea GR - reconvertirea GSSG în glutation redus (GSH), pentru a menține eficacitatea antioxidantă a GSH.

De menționat sunt și modificările în metabolismul lipidic (tabelul 4). Nivelurile majorate ale lipidelor, vizualizate pe măsura progresiei RH, induc disfuncția endoteliului vascular și ulterior o biodisponibilitate redusă a NO, remarcată și în cercetarea noastră. Peroxidarea lipidelor din lipoproteine ale peretelui vascular generează producția locală de specii carbonil reactive, ce interferează cu implicarea macrofagelor, activarea și proliferarea celulelor și, în cele din urmă, duc la modificări chimice ale proteinelor vasculare, prin produsele finale de lipoxidare avansate. Ca urmare, toate aceste procese vor afecta structura și funcția peretelui vascular [27]. Am remarcat faptul că tulburările metabolismului lipidic cu siguranță pot influența evoluția RH. HTN și hiperlipidemia nu numai că stimulează dezvoltarea aterogenezei, dar duc și la o serie de modificări degenerative la nivelul pereților arteriali de dimensiuni medii și mari. Rezultatele studiilor efectuate au demonstrat tulburări ale biomarkerilor statutului lipidic în retinopatia indusă de hipertensiune. TAG și nivelul colesterolului total au prezentat o corelație cu gradul RH, modificări remarcate în timp de alți oameni de știință. Aceste perturbări pot fi explicate prin faptul că lipidele

joacă un rol cheie în dezvoltarea HTN și a celor mai frecvente complicații ale acesteia. Succesiv, putem sugera implicarea tulburărilor metabolismului lipidic în dezvoltarea RH, prin disfuncție endotelială și afectarea barierei sanguine retiniene, ce vor favoriza lipidele serice și exsudarea lipoproteinelor. Discrepanțele evidențiate atestă necesitatea continuării cercetării.

În lacrimă tabloul manifestărilor SO diferă de cel vizualizat în ser. Inițial, se observă o diminuare similară a NO, cu -6% în gr.II și cu încă -4% în gr.III, ce susține ipoteza amplificării SO. Adicional însă, rezultatele obținute în gradul II a RH au prezentat o activitate antioxidantă diminuată a SOD de -6% și una amplificată a catalazei +12%, care ar putea fi interpretată drept un mecanism de apărare celulară împotriva unui SO exacerb. Eventual, scăderea în continuare a activității SOD de -10% în gr.III, stabilită în cercetare, cât și corelațiile persistente au condiționat creșterea producției de SRO și ulterior a peroxidului de hidrogen. Ca urmare, necesitatea de detoxifiere a H₂O₂ a indus creșterea activității catalazei cu încă 6% în gr.III (tabelul 5).

Tabelul 5. Evoluția indicilor cercetați în lacrimă (%) raportată la gradul de RH

	Gradul retinopatiei			Veridicitatea p
	GI	GII	GII	
Indicii stresului oxidativ				
1. NO	100%	94%	90%	p=0.158
2. S-nitrozotiolii	100%	104%	106%	p=0.706
3. DAM	100%	99%	98%	p=0.527
4. PPOA	100%	93%	93%	p=0.655
Activitatea SAO				
5. AAT	100%	177%	191%	p=0.003
6. SOD	100%	94%	84%	p=0.027
7. CAT	100%	112%	118%	p=0.033
8. GSH	100%	100%	100%	p=0.357
9. GPX	100%	106%	123%	p=0.015
10. GR	100%	112%	137%	p=0.032
11. gr.-SH				p=0.877
Modificările indicilor ischemiei				
12. AIM	100%	89%	94%	p=0.160
Modificările SRA				
13. Ang II	100%	74%	74%	p=0.035
14. ECA	100%	105%	100%	p=0.536

Amplificarea SO, indirect este reflectată prin activarea semnificativă a sistemului antioxidant, ce încearcă o compensare a SOD. Observăm o majorare semnificativă în gradul II a GPx cu 6%, GR cu 12%. În gr. III, sistemul antioxidant se activează și mai mult comparativ cu RH II, amplificându-se CAT cu +6%, GPx cu +17%, GR cu +25%, cu GSH păstrat. Totodată se diminuează SOD cu 10%. Aceste amplificări au determinat augmentarea AAT cu 77% în gr.II și cu 91% în gr.III al RH comparativ cu gr.I. Modificările lacrimale atestă o creștere treptată, statistic semnificativă a nivelului AAT, explicată prin amplificarea mecanismelor locale de protecție împotriva SO la pacienții cu RH, elucidând în același timp și potențialul de rezistență a retinei față de HTN, prezentând o apărare antioxidantă superioară datorită capacității crescute de antioxidant lacrimal. Astfel, sugerăm că pacienții cu RH gestionează nivelurile fluctuante de oxigen mai eficient, datorită protecției antioxidante locale amplificate. Prin urmare, ochii pacienților din studiu posedă o capacitate amplificată de a face față intermediarilor toxici de oxigen, acest fapt explicând potențial evoluția treptată și întârziată a etapelor retinopatiei.

Rezultatele obținute au prezentat o activitate antioxidantă diminuată a SOD și una amplificată a catalazei, care ar putea fi interpretată drept un mecanism de apărare celulară împotriva unui SO exacerb. Eventual, scăderea activității SOD, stabilită în cercetare, cât și corelațiile persistente au condiționat creșterea producției de SRO și ulterior a peroxidului de hidrogen. Ca urmare, necesitatea de detoxifiere a H_2O_2 a indus creșterea activității catalazei. În același timp în lacrimă se atestă un rezultat invers celui din ser, marcat prin valori crescute ale GPO, GR, GSH. Adițional, s-a remarcat că nu în cazul tuturor indicilor de laborator cercetați persistă corelația sero-lacrimonă, ceea ce ne permite să concluzionăm că nu vorbim despre prezența unei interdependențe a fenomenelor care are loc în retină cu modificările biochimice în ser.

Presupunem că dezechilibru funcțional între Ang II, care se diminuează semnificativ în gradul II a RH cu -26% și NO joacă un rol patogenetic important în leziunea hipertensivă a aparatului vizual. De-a lungul timpului, s-a sugerat că Ang I, Ang II și angiotensinogen nu sunt capabile să traverseze barierele dintre ochi și sângele circulant (tabelul 5).

Observăm că în gradul III al RH, pornind de la un nivel determinat, Ang II este produsă în aceeași cantitate din substratul disponibil și rămâne diminuat. Rezultatele date ar susține prezența unui SRA funcțional localizat în pereții vasculari. Rezultatele studiului nostru sugerează că rezistența ochiului la factorii declanșatori ai RH ar putea fi datorată prezenței unui sistem de reglare și protecție local, însă această ipoteză necesită cercetări ulterioare.

În SO generarea de AIM este determinată de expunerea la radicalii liberi, ca consecință a modificărilor în rețeaua microvasculară, inclusiv în cea retiniană. Însă spre deosebire de ser unde nivelul AIM se amplifică semnificativ, în lacrimă în gr.II se atestă un tablou atipic prin micșorarea AIM cu 11%, urmată însă de o creștere ușoară cu 5% în gr.III a RH. Fenomenul necesită studii ulterioare pentru elucidarea veridicității, amplitudinii și rolului în RH.

Fiind o afecțiune multifactorială, de-a lungul timpului au fost propuse o serie de mecanisme pentru a explica căile de dezvoltare a complicațiilor microvasculare oculare la pacienții cu RH.

Rezultatele studiului cât și corelațiile identificate ne-au permis să concluzionăm că are loc o potențare a producerii sistemice, cât și potențial și local de SRO, ce ulterior vor induce modificări oxidative ale diferitor molecule cercetate, cât și reducerea activității de protecție antioxidantă a unor enzime. Aceste concluzii pot fi susținute de diminuarea fie și statistic nesemnificativă a NO în ser cu -11% / în lacrimă -10%, a cantității de S-nitrozotolioli în ser - 4%, amplificarea nivelului de DAM în ser cu +2% și a PPOA în ser cu +124%.

E nevoie de menționat faptul că astfel de markeri precum s-nitrozotolioli, DAM și PPOA în lacrimă au prezentat valori antagoniste celor din ser, DAM -2%, S-nitrozotolioli +6%, PPOA - 7%.

Cel mai probabil majorarea conținutului de S-nitrozotolioli în lacrimă, pe fundalul diminuării nivelului de NO poate fi o consecință a metabolizării intensive a NO, și implicarea lui în procesele de S-nitrozilare a proteinelor și a altor compuși tiolici cu consumul NO. Însă, reducerea DAM în lacrimă s-ar putea datora faptului că nivelul acestuia din lacrimă nu reflectă activitățile de peroxidare a lipidelor la nivelul retinei.

Datele demonstrate pe moment nu sunt suficiente pentru a propune utilizarea de sine stătătoare a biomarkerilor stresului oxidativ evaluați în cercetarea noastră pentru diagnosticul retinopatiei hipertensive. Însă, ei ar putea fi incluși la markerii de laborator ce pot aplicați în diagnosticul RH și a monitorizării progresării stării patologice, fie a tratamentului aplicat, valorile de referință pentru indicii de laborator respectivi necesitând a fi determinate prin investigații ulterioare.

CONCLUZII GENERALE

1. Ochiul este un organ unic, cu sisteme defensive specifice, ceea ce îi permite să reziste efectelor stresului oxidativ, fapt demonstrat prin devierile cantitative nesemnificative ale produșilor precum oxidul de azot, S-nitrozotiolii, dialdehida malonică și produșii proteici de oxidare avansată în lacrimă, comparativ cu modificările importante ale unor din acești indici în serul sangvin (diminuarea oxidului de azot și creșterea produșilor proteici de oxidare avansată).

2. În retinopatia hipertensivă protecția inițială față de speciile reactive de oxigen asigurată de SOD este diminuată, compensator atestându-se amplificarea activităților enzimelor (catalaza, glutatation peroxidaza, glutatation reductaza), ce atenuază efectele compușilor formați subsecvent (H_2O_2 , peroxidii lipidici, etc.). Modificările corelate ale activității enzimelor antioxidante induc o majorare persistentă, semnificativă statistic a valorilor AAT pe măsură ce retinopatia hipertensivă a avansat în grad ($p=0.003$), ce și a determinat un grad sporit de protecție antioxidantă locală comparativ cu nivelul sistemic.

3. În retinopatia hipertensivă s-a determinat o creștere a valorilor serice și o micșorare a celor lacrimale ale angiotensinei II concomitent cu avansarea în grad a retinopatiei hipertensive, devierile fiind statistic veridice atât în ser ($p=0.039$) cât și în lacrimă ($p=0.035$), manifestând și o legătură corelativă negativă, semnificativă statistic ($r_s=-0.323$, $p=0.045$). Valorile angiotensinei II au fost veridic corelate cu gradul retinopatiei hipertensive atât în lacrimă ($r_s=-0.357$, $p=0.026$), cât și în ser ($r_s=0.413$, $p=0.009$), puterea asocierii fiind mai pregnantă comparativ cu celelalte corelații identificate în cercetare.

4. A fost stabilit un număr redus de corelații statistic veridice, slabe între valorile indicilor studiați în lacrimă și ser (dialdehida malonică, activitatea antioxidantă totală, SOD și GSH), între gradul de retinopatie și nivelul compușilor în ser (NO, PPOA, SOD, GR, AIM, TAG și Col) și lacrimă (AAT, SOD, CAT, GPx și GR), doar conținutul de angiotensină II prezentând corelații moderate cu gradul retinopatiei, precum și între valorile stabilite în lichidele studiate.

5. Dificultățile stratificării pacienților cu RH în grupe conform gradului retinopatiei în conformitate cu rezultatele examenului clinic ar putea fi depășite prin complementarea cu evaluarea valorilor serice și/sau lacrimale ale angiotensinei II și ale celor lacrimale ale AAT, CAT, GPx și GR.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Se recomandă continuarea studiului științific al retinopatiei hipertensive cu:
 - a) mărirea eșantionului de subiecți, inclusiv cu retinopatie hipertensivă de gradul IV, pentru identificarea modificărilor specifice etapei cele mai avansate a patologiei;
 - b) extinderea spectrului de markeri ai stresului oxidativ și nitrosativ, ai sistemului antioxidant și disfuncției endoteliale vasculare pentru stabilirea cu certitudine a valorii diagnostice, prognostice și de monitorizare a markerilor ce manifestă tendințe de modificare și potențială utilitate practică în studiul actual;
 - c) elucidarea posibilității utilizării antioxidantilor naturali și sintetici în prevenția și/sau tratamentul retinopatiei hipertensive.
2. Se propune evaluarea în practica oftalmologică ca marker pentru susținerea diagnosticului de RH, a nivelului Ang II și a markerilor sistemului antioxidant (AAT, CAT, GPx și GR).
3. E oportună includerea în curriculum-ul la Biochimie, Fiziopatologie și Oftalmologie a temelor/subiectelor referitor la rolul stresului oxidativ și nitrosativ, ai sistemului antioxidant și disfuncției endoteliale vasculare în dezvoltarea retinopatiei hipertensive.

BIBLIOGRAFIE

1. Fraser-Bell S, Symes R, Vaze A. Hypertensive eye disease: a review. *Clin Exp Ophthalmol*. 2017;45(1):45-53. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27990740/>
2. Erden S, Bicakci E. Hypertensive retinopathy: incidence, risk factors, and comorbidities. *Clin Exp Hypertens*. 2012;34(6):397-401. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22468968/>
3. Botnaru V, Corlateanu A, Chesov D, Cuzimihih G. *Medicina internă Breviar: Modulul cardiologie*. Chișinău; 2008, pp.150-154.
4. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens*. 2013;31(7):1281-1357. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23817082/>
5. Ambresin A, Borruat FX. Hypertension artérielle et œil [Hypertension and the eye]. *Rev Med Suisse*. 2015;11(499):2366-2372. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26852552/>
6. Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990-2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2017;5(12):1221-1234. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29032195/>
7. Mozos I, Luca CT. Crosstalk between Oxidative and Nitrosative Stress and Arterial Stiffness. *Curr Vasc Pharmacol*. 2017;15(5):446-456. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28155616/>
8. Karaca M, Coban E, Felek R, Unal M. The association of oxidative stress with hypertensive retinopathy. *Clin Exp Hypertens*. 2013;35(1):16-19. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22571627/>
9. Touyz RM. Reactive oxygen species in vascular biology: role in arterial hypertension. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2003;1(1):91-106 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15030300/>
10. McDermott AM. Antimicrobial compounds in tears. *Exp Eye Res*. 2013;117:53-61 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23880529/>.
11. Gudumac V, Tagadiuc O, Rîvneac V, Sardari V, Pantea V, et al. Investigații biochimice. Volumul II. Micrometode. Elaborare metodică. Tipogr. "Elena-VI", 2010, 97 p. ISBN 978-9975-106-06-1
12. Gudumac V., Rîvneac V., Tagadiuc O., Sardari V., et al. Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică. Sub red. Valentin Gudumac. Univ. de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Ch.: S.n., 2012. Tipogr. „Tehnica-Info”. 162 p.(pag.101)
13. Gudumac V, Tagadiuc O, Andronache L, Știrba O, Pantea V. Procedeu de dozare a dialdehidei malonice în materialul biologic. Certificat de inovator nr. 5157 din 14.12.2012
14. Gudumac V, Tagadiuc O, Andronache L, Știrba O, Sardari V. Procedeu de dozare a produșilor proteici de oxidare avansată. Certificat de inovator nr. 5164 din 14.12.2012
15. Gudumac V, Rîvneac V, Tagadiuc O. et al. Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică USMF „Nicolae Testemițanu”. Tipografia „Tehnica-Info”. Chișinău, 2012; 162 p
16. Baciu E, Nastas I. Procedeu de determinare a activității catalazei. Certificat de inovator nr. 3122 din 09.11.1996.
17. Tagadiuc O, Gudumac V, Pantea V. Procedeu de dozare a activității superoxid dismutazei. Certificat de inovator nr. 4891 din 15.07.2010.
18. Andronache L, Tagadiuc O, Gudumac V, Gulea A. Optimizarea procedurii nitroprusidic de evaluare a glutatoniului redus în materialul biologic. *Analele Științifice ale USMF „N. Testemițanu”*. 2009;1(10):184-189. ISSN 1857-1719.
19. Tagadiuc O, Andronache L, Știrba O, Sardari V, Pantea V. Determinarea glutatoni peroxidazei. Certificat de inovator nr. 5161 din 26.10.2012.
20. Gudumac V, Tagadiuc O, Andronache L, Știrba O, Sardari V. Determinarea glutatoni reductazei în eritrocite și ser sangvin. Certificat de inovator nr. 5172 din 06.11.2012
21. Gudumac V, Tagadiuc O, Andronache L., Pantea V. Determinarea conținutului de grupe tiolice ale proteinelor. Certificat de inovator nr. 5173 din 07.11.2012.
22. Gudumac V, Tagadiuc O. Metodă de determinare a capacității albuminei ischemic modificate de legare a cobaltului. Brevet de invenție nr. MD 4054 din 11.06.2009. <http://www.db.agepi.md/Inventions/details/a%202009%200116/Des~a%202009%200116>
23. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem*. 1997;43(7):1209-1214. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9216458/>

24. **Pavlovschi E**, Pantea V, Borovic D, Tagadiuc O. Glutathione-related antioxidant defense system in patients with hypertensive retinopathy. *Rom J Ophthalmol*. 2021 Jan-Mar;65(1):46-53. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7995505/>
25. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation*. 2001;104(2):191-196. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11447085/>
26. **Pavlovschi E**, Pantea V, Borovic D, Tagadiuc O. Tear and serum superoxide dismutase and catalase activities in hypertensive retinopathy. *Russian Open Medical Journal*. 2021; 10: e0305. <https://romj.org/2021-0305>
27. Fu Z, Chen CT, Cagnone G, et al. Dyslipidemia in retinal metabolic disorders. *EMBO Mol Med*. 2019;11(10):e10473. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31486227/>

INFORMAȚII PRIVIND VALORIFICAREA REZULTATELOR CERCETĂRII
LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI MANIFESTĂRILOR ȘTIINȚIFICE la care au fost prezentate rezultatele cercetărilor la teza de doctor în științe medicale cu tema „Markerii biochimici ai retinopatiei hipertensive”

● **Articole în reviste ISI, SCOPUS și alte baze de date internaționale:**

1. **Pavlovschi E.**, Pantea V., Borovic D., Tagadiuc O. Glutathione-related antioxidant defense system in patients with hypertensive retinopathy. In: *Rom J Ophthalmol*. 2021; 65(1):46-53. doi: 10.22336/rjo.2021.9 (**SJR: 0.252**).
2. **Pavlovschi E.**, Pantea V., Borovic D., Tagadiuc O. Study of ischemia modified albumin (IMA) as a biomarker in hypertensive retinopathy. In: *Med Pharm Rep*. 2021;94(2):185-190. doi: 10.15386/mpr-1815 (**IS: 1.28 / SJR: 0.35**)
3. **Pavlovschi E.**, Borovic D., Pantea V., Lîsîi L., Tagadiuc, O. Biomarkers of Lipid Status and Metabolism in Retinal Hypertensive Disorder. In: *Journal of Biosciences and Medicines*, 2021;9:77-89. <https://doi.org/10.4236/jbm.2021.94006> (**IF: 0.87**)
4. **Pavlovschi E**, Pantea V, Borovic D, Tagadiuc O. Tear and serum superoxide dismutase and catalase activities in hypertensive retinopathy. In: *Russian Open Medical Journal* 2021;10:e0305. doi: 10.15275/rusomj.2021.0305 (**SJR: 0.14**)
5. **Pavlovschi E.**, Pantea V., Borovic D., Tagadiuc O. Serum depletion and tear increase of total antioxidant capacity in hypertensive retinopathy. In: *Arch Balk Med Union*. 2021;56(3):291-297. <https://doi.org/10.31688/ABMU.2021.56.3.02> (**SJR: 0.15**)

● **Articole în reviste științifice naționale acreditate:**

✓ **articole în reviste de categoria B**

6. **Pavlovschi E**, Stratulat S, Ambros A, Borovic D, Tagadiuc O. Evaluarea modificărilor markerilor OCT în retinopatia hipertensivă. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2020, nr. 1(65), pp. 296-299. ISSN 1857-011

● **Articole în reviste aflate în proces de acreditare:**

7. **Pavlovschi E.** Rolul factorilor de creștere endoteliali (VEGF) în retinopatia hipertensivă. În: *Culegeri de lucrări științifice al Institutului de Medicină Urgentă. Articole originale și activitatea inovativă aa. 2015–2018*. Tipogr. „Sirius”. 2019; 144 p. ISBN 978-9975-57-2606

● **Articole în lucrările conferințelor științifice:**

✓ **internaționale desfășurate peste hotare**

8. **Pavlovschi E.** Emerging Concepts of the ocular molecular-metabolic effects of the hypertension, In: *XXI International Scientific and Practical Conference International Trends in Science and Technology*. Warsaw, Poland, 2020, pp. 48-52, ISBN 978-83-956628-1-2

● **Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice naționale și internaționale**

✓ **internaționale**

9. **Pavlovschi E.** Nitric Oxide: the synthesis and effects at the level of the retina. In: *7th International medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chișinău, 2018, pp. 197-198.
10. **Pavlovschi E.** Association of hypertensive retinopathy with different laboratory indices in patients with essential hypertension. In: *Abstract book of the congress BIMCO*. Chernivtsi, Ukraine, 2020, p. 75. ISSN 2616-5392.
11. **Pavlovschi E.** Nitric oxide levels in tear and serum of patients with hypertensive retinopathy. In: *7th Lublin International Medical Congress for students and young doctors*. Lublin, Poland, 2020, p. 245.

12. **Pavlovski E.** Serum and tear malondialdehyde level as a potential stress marker in hypertensive retinopathy. In: *BIMCO Bukovinian International Medical Congress «BIMCO JOURNAL» Abstract book of the congress BIMCO*. Chernivtsi, Ukraine, 2021, p. 157. ISSN 2616-5392.
13. **Pavlovski E**, Pantea V, Tagadiuc O. Measurement of total antioxidant activity of tear and serum samples of the patients with hypertensive retinopathy, In: *The International Scientific Conference on Medicine, organized within the frame of the 79th International Scientific Conference of the University of Latvia*. Riga, Latvia, Medicina (Kaunas) 2021;57(Supplement 1), p. 17. ISSN 1648-9233.
14. **Pavlovski E**, Borovic D, The use of advanced oxidation protein products to monitor oxidative stress levels in patients with hypertensive retinopathy. In: *EURETINA 2021 Virtual*, 9-12 September 2021. <https://www.euretin.org/events/euretin-2021-virtual/>
- ✓ **naționale**
15. **Pavlovski E.** Dereglările activității catalazei în retinopatia hipertensivă. În: *Cartea de abstracte a Congresului consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2020, p.59
- **Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții**
16. **Pavlovski E**, Pantea V, Borovic D, Tagadiuc O. Certificat de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și drepturilor conexe, “Sistemul antioxidant al glutationului la pacienții cu retinopatie hipertensivă”, Seria O Nr.6879 din 25.03.2021 IDNO: 1007600000794
- **Participări cu comunicări la foruri științifice:**
- ✓ **internaționale**
17. **Pavlovski E.** Nitric oxide: the synthesis and effects at the level of retina. *7th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chișinău, 3-5 mai, 2018.
18. **Pavlovski E.** Emerging Concepts of the ocular molecular-metabolic effects of the hypertension, *XXI International Scientific and Practical Conference International Trends in Science and Technology*. Warsaw, Poland, January 31, 2020.
19. **Pavlovski E.** Association of hypertensive retinopathy with different laboratory indices in patients with essential hypertension, VII Bukovinian International Medical and Pharmaceutical Congress Of Students And Young Scientists - BIMCO, 7-8 april 2020 (**Locul II**)
20. **Pavlovski E.** Nitric oxide levels in tear and serum of patients with hypertensive retinopathy. *Lublin International Medical Congress*, Lublin, Poland, 26th – 28th November 2020
21. **Pavlovski E.** Serum and tear malondialdehyde level as a potential stress marker in hypertensive retinopathy, *BIMCO Bukovinian International Medical Congress, Chernivtsi, Ukraine, «BIMCO JOURNAL» Abstract book of the congress BIMCO, 6-9 April 2021*, pag.157 ISSN 2616-5392
22. **Pavlovski E**, Pantea V, Tagadiuc O, Measurement of total antioxidant activity of tear and serum samples of the patients with hypertensive retinopathy, *The International Scientific Conference on Medicine, organized within the frame of the 79th International Scientific Conference of the University of Latvia*. Riga, Latvia, 23-24 April 2021. Medicina (Kaunas) 2021;57(Supplement 1), p.17, ISSN 1648-9233
23. **Pavlovski E**, Borovic D. The use of advanced oxidation protein products to monitor oxidative stress levels in patients with hypertensive retinopathy, *EURETINA 2021 Virtual*, 9-12 September 2021 <https://www.euretin.org/events/euretin-2021-virtual/>
- **Participări cu postere la foruri științifice:**
- ✓ **naționale**
24. **Pavlovski E**, Borovic D. Concepte curente a retinopatiei hipertensive. Conferința științifică anuală a specialiștilor din cadrul IMSP IMU “*Actualități și controverse în managementul urgențelor medico - chirurgicale*”. Chișinău, 10 noiembrie 2017
25. **Pavlovski E**, Tagadiuc O. Posibilii factori de risc biochimici predictivi ai retinopatiei hipertensive. Conferința științifică anuală a specialiștilor din cadrul IMSP IMU “*Actualități și controverse în managementul urgențelor medico - chirurgicale*”. Chișinău, 10 noiembrie 2017
26. **Pavlovski E.** Rolul factorilor de creștere endoteliali (VEGF) în Retinopatia Hipertensivă. Conferința științifică anuală a tinerilor specialiști din cadrul IMSP IMU “*Performanțe și perspective în urgențele medico-chirurgicale*”. Chișinău, 18 mai 2018.
27. **Pavlovski E**, Borovic D. Angiotensina II în patogenia retinopatiei hipertensive. (Poster) Conferința științifică anuală a tinerilor specialiști din cadrul IMSP IMU “*Performanțe și perspective în urgențele medico-chirurgicale*”. Chișinău, 18 mai 2018

28. **Pavlovschi E**, Borovic D, Tagadiuc O. *Mecanismele biochimice și markerii retinopatiei diabetice. Conferința științifică anuală IMSP IMU "Actualități și controverse în managementul urgențelor medico-chirurgicale."* Chișinău, 7 decembrie, 2018.
29. **Pavlovschi E**, Borovic D. Nivelurile plasmaticice ale VEGF ca un marker util pentru detectarea leziunilor microvasculare timpurii în hipertensiune. *Conferința științifică anuală IMSP IMU "Actualități și controverse în managementul urgențelor medico-chirurgicale."* Chișinău, 7 decembrie, 2018.
30. **Pavlovschi E**. Dereglările activității catalazei în retinopatia hipertensivă. *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 20 - 23 octombrie 2020