

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

Teză 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"

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*).

Componenta Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

Președinte:

Vișnevschi Anatolie,

dr. hab. șt. med., conf. 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

LISTA ABREVIERILOR	5
LISTA FIGURILOR	6
LISTA TABELELOR	8
INTRODUCERE	9
1.MECANISMELE IMPLICATE ÎN DEZVOLTAREA RETINOPATIEI HIPERTENSIVE.....	15
1.1. Implicațiile stresului oxidativ în patogeneza afectării sistemului vizual	15
1.1.1. Stresul oxidativ și mecanismele generatoare de specii reactive de oxigen.....	15
1.1.2. Sistemul de protecție antioxidant.....	19
1.1.3. Consecințele patologice induse de specii reactive de oxigen	23
1.2. Relevanța disfuncției endoteliale și a factorilor endoteliali și inflamatori ca efect al stresului oxidativ în dezvoltarea retinopatiei hipertensive.....	27
1.2.1. Rolul și consecințele implicării sistemului renină-angiotensină în hipertensiune și retinopatie hipertensivă.....	29
1.2.2. Stresul oxidativ și inflamația	33
1.3. Particularități ale mecanismelor biochimice în dezvoltarea manifestărilor clinice în retinopatia hipertensivă.....	34
2.MATERIALE ȘI METODE DE STUDIU A MARKERILOR BIOCHIMICI ÎN RETINOPATIA HIPERTENSIVĂ.....	39
2.1. Metodologia cercetării	39
2.1.1. Caracteristica loturilor de studiu.....	39
2.1.2. Metode de cercetare și acumulare a datelor primare	41
2.2. Pregătirea materialului biologic și metodele biochimice de investigații	43
2.2.1. Colectarea probelor.....	43
2.2.2. Determinarea indicilor stresului oxidativ	44
2.2.3. Aprecierea markerilor sistemului antioxidant.....	44
2.2.4. Dozarea indicilor ischemiei	45
2.2.5. Identificarea markerilor sistemului renină-angiotensină	46
2.2.6. Evaluarea unor indici ai metabolismului lipidic și proteic	46
2.3. Tehnologii informaționale și procedee de analiză statistică a rezultatelor.....	47
3. MODIFICĂRI BIOCHIMICE ÎN EVOLUȚIA RETINOPATIEI HIPERTENSIVE.....	49
3.1. Modificările indicilor stresului oxidativ în retinopatia hipertensivă	49

3.2. Modificările indicilor sistemului antioxidant în retinopatia hipertensivă	55
3.3. Modificările indicilor ischemiei în retinopatia hipertensivă	62
3.4. Modificările indicilor sistemului renină-angiotensină în evoluția retinopatiei hipertensive..	63
3.5. Modificările indicilor metabolismului lipidic în progresarea retinopatiei hipertensive.....	66
3.6. Analiza corelațiilor	69
4.SINTEZA REZULTATELOR STUDIULUI.....	74
4.1. Sinteza rezultatelor studiului în ser	74
4.2. Sinteza rezultatelor studiului în lacrimă	84
CONCLUZII GENERALE.....	89
RECOMANDĂRI PRACTICE	90
BIBLIOGRAFIE	91
Declarația privind asumarea răspunderii	118

LISTA ABREVIERILOR

AAT – activitatea antioxidantă totală	SNC – sistem nervos central
AG – acid gras	SRA – sistemul renină-angiotensină
AGE – compuși de glicare avansată	SRN – specii reactive ale azotului
AIM – albumina ischemic modificată	SRO – specii reactive ale oxigenului
ANG II – angiotensina II	TA – tensiune arterială
ATP – adenozină trifosfat	TAG – trigliceride
BHR – barieră hemato-retineană	U – unități
CAT – catalaza	u.c. – unități convenționale
COL – colesterol	VIF – factorul de inhibare al vasoconstricției
DAM – dialdehida malonică	vs. – versus
DE – disfuncție endotelială	
DNA – acid dezoxiribonucleic	
ECA – enzima de conversie a angiotensinei	
ET – endotelina	
g.prot. – gram de proteină	
GPx – glutation peroxidaza	
GR – glutation reductaza	
GSH – glutation redus	
GSSG – glutation oxidat	
GST – glutation-S-transferaza	
HTN – hipertensiune	
NO· – radicalul oxid nitric	
PAI -1 – inhibitorul activatorului plasminogenului	
PPOA – produși proteici de oxidare avansată	
RAGE – receptor pentru produse finale de glicare avansată	
RH – retinopatie hipertensivă	
RL – radicali liberi	
RPE – epiteliul pigmentar retinian	
SAO – sistem antioxidant	
SO – stres oxidativ	
SOD – superoxid dismutaza	

LISTA FIGURILOR

Figura 1. Diversitatea SRO, SRN și radicalilor lipidici (organici) după Bartosz B., et al.....	17
Figura 2. Reacția Fenton și Haber-Weiss.....	17
Figura 3. Reacțiile și transformările anionului superoxid după Wang Y., et al.....	18
Figura 4. Sistemul antioxidant, conform Lazo-de-la-Vega-Monroy M., et al.....	20
Figura 5. Mecanismul general catalitic al dismutării O ₂ de către Cu/Zn-SOD, după Franco M.C., et al.....	20
Figura 6. Cascada reacțiilor de peroxidare a lipidelor, conform Cipak Gasparovic A., et al.....	24
Figura 7. Sistemul renină – angiotensină, după Hollapa M. et al.....	30
Figura 8. SRA circulant și tisular, după Kurihara T. et al.....	32
Figura 9. Afectarea straturilor retiniene la acțiunea SO, după Masuda T. et al.....	35
Figura 10. Rolul SRO în mecanismele fiziopatologice ale RH.....	36
Figura 11. Design-ul studiului.....	42
Figura 12. Spectrofluorimetrul cu microplăci Synergy H1 (Hydrid Reader, SUA) și spectrofotometrul PowerWave HT (BioTek Instruments, SUA).....	43
Figura 13. Human angiotensin II, ANG-II Elisa Kit și ACE Elisa Kit.....	46
Figura 14. Modificarea cantității de NO în serul și lacrima pacienților cu diferit grad de RH.....	49
Figura 15. Fluctuația valorilor de S-nitrozotolioli în serul și lacrima pacienților odată cu avansarea în grad a RH.....	50
Figura 16. Evoluția nivelurilor DAM în serul și lacrima pacienților concomitent cu progresarea în grad a RH.....	52
Figura 17. Modificările PPOA în serul și lacrima pacienților în diferite grade ale RH.....	54
Figura 18. Evoluția valorilor AAT în serul și lacrima pacienților cu RH.....	55
Figura 19. Dinamica valorilor GSH și activitățile GR și GPx în ser și lacrimă raportate la stadiul RH.....	58
Figura 20. Conținutul de grupări tiolice ale proteinelor în ser și lacrimă în diferite stadii ale RH.....	61
Figura 21. Dinamica valorilor Ang II și ECA în ser și lacrimă la pacienții cu diferit grad de RH....	64
Figura 22. Modificările nivelurilor serice ale lipidelor și a indicelui aterogen al plasmei la pacienții cu grad diferit de RH.....	66
Figura 23. Valorile TAG serice și nivelul total de colesterol la pacienții cu grad diferit al RH...66	
Figura 24. Modificările serice de HDL-Col și LDL-Col la pacienții cu grad diferit al RH.....	67
Figura 25. Evoluția indicilor stresului oxidativ în ser în progresia RH (%)......	74
Figura 26. Activitatea SAO în ser în evoluția RH.....	77

Figura 27. Modificările SRA în ser în gr.II și gr.III a RH.....	79
Figura 28. Modificările în metabolismul lipidic în ser cu progresia RH.....	82
Figura 29. Modificările SAO în lacrima pacienților cu diferite grade ale RH.....	84
Figura 30. Modificările NO și SRA în lacrima pacienților cu RH.....	86

LISTA TABELELOR

Tabelul 1. Nivelurile SOD și catalazei în ser și lacrimă raportate la evoluția RH.....	56
Tabelul 2. Corelarea nivelurilor SOD și catalază în ser și lacrimă cu gradul RH.....	57
Tabelul 3. Corelațiile nivelurilor GSH, GPx și GR în ser și lacrimă.....	59
Tabelul 4. Corelația nivelurilor GSH, GPx și GR în ser și lacrimă cu gradul RH.....	60
Tabelul 5. Nivelurile AIM în serul și lacrima pacienților cu diferit grad al RH.....	62
Tabelul 6. Corelația dintre nivelurile AIM în ser și lacrimă și gradul RH.....	63
Tabelul 7. Corelația dintre nivelurile Ang II și ECA în ser/lacrimă și gradul RH.....	65
Tabelul 8. Corelația dintre nivelurile indicilor metabolismului lipidic și gradul RH.....	67
Tabelul 9. Corelații între nivelurile TAG, colesterol total, LDL-Col și HDL-Col în serul pacienților cu RH.....	68
Tabelul 10 Corelații sero-lacrimale ale indicilor biochimici la pacienții cu RH.....	69
Tabelul 11 Corelațiile indicilor biochimici în ser și lacrimă cu gradul RH.....	70

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei cercetate

Hipertensiunea arterială (HTN), cea mai frecventă maladie cardiovasculară, constituie o importantă problemă de sănătate publică. Prevalența HTN variază între 5-10% în țările subdezvoltate și 20-30% în cele industrializate, la nivel mondial atestându-se o afectare de cca 40% a persoanelor cu vârsta de peste 25 ani [1].

Fiind supranumită "killerul silențios", HTN reprezintă 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 constă în neconștientizarea prezenței bolii, datorită inexistenței semnelor premonitorii, simptomele de obicei dezvoltându-se în stadiile tardive [2]. Termenul de RH a fost descris pentru prima dată la sfârșitul anilor 1800, de către Marcus Gunn, la pacienții cu maladie renală hipertensivă, cercetătorii sugerând utilizarea RH drept marker al leziunilor organelor țintă [3].

Cercetătorii utilizează și consideră RH un marker pentru o serie de afecțiuni vasculare, cât și un semn prevestitor al riscului de accident vascular cerebral (AVC), al maladiilor cardiovasculare, microalbuminuriei, bolii cronice renale și chiar a decesului [3,4] Însă deocamdată, evaluarea semnelor hipertensive ale retinopatiei apare doar în ghidurile clinice pentru gestionarea pacienților cu HTN [3].

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. S-a evidențiat și o diferență etnică și rasială în incidența RH, atestându-se 17.2% la asiatici și o incidență relativ mai mică la populația albă (11.9%) și africană (13.9%). S-a remarcat 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 [5-7].

Cercetările recente au stabilit că în populația hipertensivă, pacienții cu TA înaltă, în ciuda terapiei medicamentoase, au avut o frecvență mai mare a semnelor de retinopatie, comparativ cu cei a căror TA a fost controlată sau la cei normotensivi. Această constatare indică faptul că semnele hipertensive ale retinopatiei ar putea fi și un indicator al controlului presiunii sangvine [8]. Tiparele modificărilor vasculare specifice retinei variază în funcție de valorile TA actuale și din antecedente. Constricție arteriolară retiniană generalizată apare, de obicei, la pacienții cu HTN pe termen lung și este independent asociată cu nivelurile în antecedente ale TA, măsurate cu până la 10 ani înainte de evaluarea retinei [8].

În contrast, leziunile arteriale focale cât și leziunile la nivel de retină (hemoragii retiniene, microaneurismele și exsudatele moi „vătoase”) pot indica mai multe modificări tranzitorii ale TA și sunt legate doar de TA măsurată simultan [6,8,9].

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. Cele mai comune leziuni retiniene întâlnite sunt hemoragiile și microanevrismele (3-17%). Exsudatele cu aspect vătós se întâlnesc relativ mai rar (0.3%). Îngustarea focală arteriolară și încrucișările arterio-venoase sunt atestate în 7-12%. Incidența cumulativă pe 10 ani ale acestor semne retiniene este de 16% [6].

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 „vătóase” și hemoragiile profunde asociate cu ocluziile arteriolare [10].

Adițional autoreglării, a doua caracteristică a circulației retiniene este prezența unei bariere hemato-retiniene (BHR), leziunea căreia este responsabilă pentru hemoragiile superficiale retiniene, edemul retinian și exsudatele profunde („exsudatele uscate”) [6].

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 [11].

Speciile reactive de oxigen și azot cuprind derivații reactivi ai NO și superoxidului, care sunt generați continuu și sunt mediatori esențiali ai metabolismului celular, funcționând în calitate de mesageri intra- și intercelulari, reglatori ai expresiei genelor și inductori ai morții programate a celulei. În cantități excesive, speciile reactive pot deteriora celulele musculare vasculare, interfera cu căile de semnalizare sau promova răspunsurile aberante la stres [12].

Dereglarea mecanismelor de asigurare a homeostaziei speciilor reactive de oxigen și azot, asociate cu creșterea producției și scăderea clearance-ului acestor compuși, va determina acumularea lor și activarea căilor de semnalizare sensibile la stres, oxidarea atipică, peroxidică a lipidelor și deteriorarea proteinelor, care vor provoca leziuni celulare și contribui la complicațiile vasculare ale hipertensiunii. Stresul oxidativ și nitrosativ a fost direct incriminat în mecanismele dezvoltării rigidității vasculare și disfuncției endoteliale în corelație cu hipertensiunea [13-15].

Adițional la modificările vasculare, în general, și ale celor retiniene, în particular, la afectarea retinei în hipertensiune ar putea contribui particularitățile metabolice ale țesutului și dereglările specifice ce au loc în metabolismul celulelor retiniene. Retina posedă o rată metabolică ridicată și funcționează pe deplin în condiții de respirație aerobă [16]. Totodată, metabolismul oxidativ nu este uniform în toată retina, fenomen relevat de distribuția diferită a mitocondriilor [17].

Deficiențele în metabolismul energetic, datorită discrepanțelor dintre necesități și aprovizionare, precum și de afectarea proceselor energogeneratoare mitocondriale, identificate în hiperglicemii, în mutații ale DNA-ului mitocondrial, asociate cu disfuncționalitatea proteinelor mitocondriale și în stres oxidativ, pot duce la retinopatie, deficite vizuale, degenerare neuronală și eventual la orbire [18].

Ochiul este expus constant și la acțiunea unor factori exogeni (radiații ionizante, toxine, lumină ultravioletă etc.) cu efecte potențial dăunătoare, ce pot cauza dezechilibru între oxidanți și antioxidanți și leziuni retiniene ulterioare. O depășire a factorilor de protecție va induce modificări patologice ale retinei vizualizate în cadrul fundoscopiei [19].

Astfel, este unanim recunoscut rolul stresului oxidativ și nitrosativ în dezvoltarea hipertensiunii arteriale și a retinopatiei hipertensive. În același timp, numărul studiilor referitor la mecanismele prin care acest proces este implicat în afectarea retinei rămân a fi incomplet elucidate. Rolul stresului oxidativ și nitrosativ în dezvoltarea RH a fost demonstrat indirect prin identificarea amplificării activității gamma-glutamyl transferazei și a nivelurilor de feritină în sângele pacienților cu RH [20], a corelării modificărilor valorilor GSH/GSSG și a LDL-Col cu dinamica perturbărilor în vasele retiniene la pacienții cu hipertensiune [21,22]. Cu toate acestea, este încă controversat dacă SO și SN au un efect cauzal în dezvoltarea RH sau sunt o consecință a leziunilor tisulare [23]. Datele existente sunt insuficiente și pentru a atribui cu certitudine rolul diferitor factori (stres oxidativ, stres nitrosativ, sistem antioxidant, inflamație etc.) în lanțul verigilor patogenice ale retinopatiei hipertensive, precum și a utiliza markerii specifici în diagnosticul, pronosticul 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 corelată cu funcțiile inerente ale structurilor oculare și reflectă primar modificările fiziologice și patologice locale. Fiind convențional accesibilă, lacrima reprezintă un material biologic valoros pentru cercetarea aparatului vizual [24]. 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 multiplilor compuși chimici [25,26].

În concluzie putem menționa cu certitudine că RH este o afecțiune multifactorială. De-a lungul timpului au fost propuse o serie de mecanisme pentru a explica căile de dezvoltare a complicațiilor microvasculare oculare, unul din ele fiind deteriorarea reglării vaselor retinei condiționată de mărirea sistemică a TA. Doar TA nu poate explica pe deplin expansiunea

retinopatiei, sugerând existența unor factori predispozanți și cauzali suplimentari. Pe lângă HTN esențială și secundară, o multitudine de alți factori declanșatori au fost incriminați în patogeneza RH: inflamația (demonstrându-se o cantitate amplificată de proteină C reactivă cu sensibilitate ridicată), SO (determinându-se un nivel crescut de feritină serică și gamma-glutamyl transferază), disfuncția endotelială (nivel ridicat al factorului von Willebrand), angiogeneza stimulată (concentrații scăzute de adiponectină și niveluri crescute de leptină) și factori individuali precum greutatea redusă la naștere, indicele de masă corporală ridicat, consumul de alcool etc.[20, 27-33].

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 ale 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 stresului oxidativ și ai sistemului antioxidant în ser și lacrimă la pacienții cu hipertensiune primară cu diferit grad de retinopatie hipertensivă.
2. Evaluarea markerilor sistemului renină-angiotensină în ser și lacrimă la pacienții cu hipertensiune primară cu diferit grad de retinopatie hipertensivă.
3. Identificarea corelațiilor modificărilor biochimice cu gradul de severitate a retinopatiei hipertensive.
4. Stabilirea unor markeri biochimici de diagnostic precoce și pronostic al evoluției retinopatiei hipertensive.

Metodologia cercetării științifice

S-a efectuat un studiu analitic, observațional pe un eșantion reprezentativ de pacienți cu HTN primară cu RH, 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).

Realizarea cercetării a avut loc în cadrul Catedrei de biochimie și biochimie clinică și Laboratorului de biochimie ale USMF „Nicolae Testemițanu”.

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

Publicații la tema tezei

Au fost publicate 16 lucrări științifice la subiectul tezei, inclusiv 8 articole, dintre care 6 în reviste din baze de date internaționale, 1 articol în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, categoria B), 1 articol în culegeri internaționale și 7 teze în lucrările conferințelor și congreselor științifice naționale și internaționale și un certificat de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și drepturilor conexe .

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

1. MECANISMELE IMPLICATE ÎN DEZVOLTAREA RETINOPATIEI HIPERTENSIVE

1.1 Implicațiile stresului oxidativ în patogeneza afectării sistemului vizual

1.1.1 Stresul oxidativ și mecanismele generatoare de specii reactive de oxigen

Diferiți markeri au fost analizați de-a lungul timpului, în încercarea de a elucida procesele ce stau la baza dezvoltării și progresiei HTN și respectiv și a RH. Implicarea a trei fenomene majore dețin întâietatea: 1) stresul oxidativ; 2) disfuncția endotelială; 3) inflamația [2,34].

Studii extinse încă din anii '60-'70 ai sec.20 cercetează stresul oxidativ (SO) și interesul se amplifică în permanență [35]. Fenomenul alterează homeostazia celulară, provocând un răspuns defensiv, dependent de tipul și severitatea leziunilor, cauzat fiind de un dezechilibru între generarea și acumularea excesivă a speciilor reactive de oxigen (SRO) în celule și țesuturi, și capacitatea de a le detoxifica datorată unei insuficiențe de antioxidanți endogeni [36-40].

O multitudine de agenți cauzatori sunt incriminați în promovarea generării SRO. Printre ei se enumeră factorii exogeni din dietă și mediu: poluanții, razele solare, fumul de țigară etc. De asemenea, aceștia pot fi și un rezultat al factorilor endogeni prin procese enzimatică sau non-enzimatică ce au loc în organism: producerea de energie, catabolismul incomplet sau detoxifierea hepatică. S-a demonstrat că agenții cauzatori exogeni de specii reactive au efecte celulare atât benefice cât și dăunătoare, acestea participând fie la semnalizarea celulară, fie alternativ pot provoca leziuni macromoleculare [41].

Există multe sisteme în interiorul unei celule care sunt capabile să genereze SRO/SRN. Dintre ele, mitocondriile în special complexe I și III ale lanțului transportator de electroni sunt recunoscute a fi principalul situs de producere a SRO endogene [42]. În urma proceselor hipoxice, acest proces nu este finalizat, rezultând într-o amplificare a generării radicalilor anion superoxid ($O_2^{\cdot-}$) [43].

Pe lângă mitocondrii, multe enzime sunt, de asemenea, capabile să producă SRO. Acestea includ, dar nu se limitează la, NADPH oxidază, xantin oxidază, complexul α -cetoglutarat dehidrogenază, D-aminoacid oxidazele și dihidrolipoamid dehidrogenaza [44-46].

După cum s-a menționat, generarea SRO are loc într-o serie de reacții enzimatică, cât și în reacții redox, ce stau la baza a numeroase procese care au loc în celule. În condiții fiziologice, corpul produce SRO în cadrul proceselor metabolice normale, cum ar fi glicoliza și ciclul Krebs. Vârsta și o serie de patologii pot dereglă balanța între generarea SRO și sistemul antioxidant, rezultând într-o leziune oxidativă a macromoleculilor. O amplificare intracelulară a nivelului agenților oxidanți menționați anterior, cauzează leziunea diferitor componente celulare și în consecință, activarea de căi specifice conectate cu senescența celulei [47].

Ochiul, o structură extrem de activă metabolic, constituie una din țintele majore ale

SRO/SRN, fapt datorat expunerii, inclusiv directe, la o serie de factori ambianți, precum lumina, razele UV, radiația ionizantă, presiunea crescută a oxigenului, poluanții chimici, iritanții, organisme patogene, ce sunt capabili să modifice statutul redox al celulei spre condiții prooxidante [48].

Este esențial de subliniat, că în cazul în care SO depășește pragul limită sau eventual eficacitatea mecanismelor protective, celulele declanșează căi de semnalizare alternative, ce vor induce apoptoza, necroza, piroptoza sau moartea celulară prin autofagie, cât și activarea factorilor de transcripție ce vor induce inflamația cronică și vor cauza disfuncția tisulară [49,50].

Supraviețuirea celulelor, inclusiv și a celor retiniene, necesită un echilibru între oxigen, SRO și moleculele antioxidante, oxigenul fiind oxidantul de bază ce este utilizat în timpul metabolismului oxidativ mitocondrial al diferitor molecule organice în reacții catabolice, asigurând energia celulară [51]. Un efort considerabil este dedicat elucidării mecanismelor moleculare ce leagă sistemele oxidant/antioxidant și căile ce duc la moartea celulară.

La nivel celular persistă o diversitate de SRO, precum: radicalul superoxid anion ($O_2^{\cdot-}$), peroxidul de hidrogen (H_2O_2), radicalul hidroxil (OH^{\cdot}) și oxigenul singlet (1O_2), cât și oxidul nitric (NO), care la interacțiunea cu anionul superoxid formează peroxinitritul ($ONOO^-$) (figura 1).

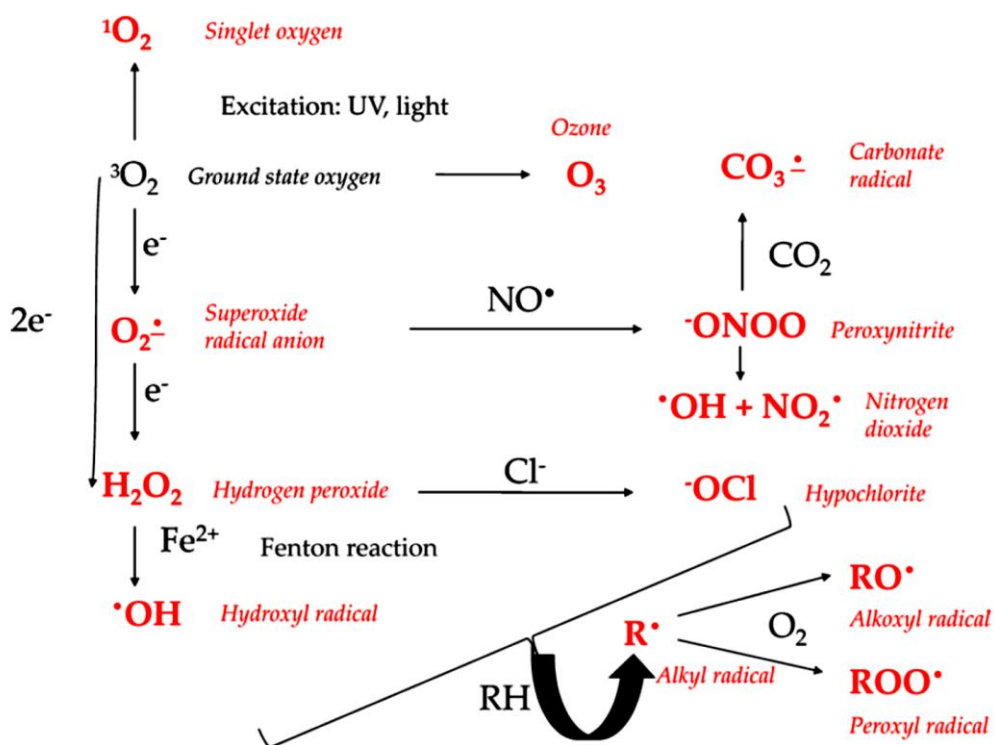
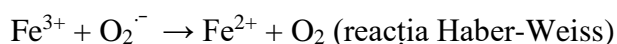


Figura 1. Diversitatea SRO, SRN și radicalilor lipidici (organici) după Bartosz B., et al. [56]

SRO și SRN sunt generate de o varietate de căi metabolice, factori fizici, chimici și biologici în condiții fiziologice și patologice [52]. Ei sunt modulatori importanți ai supraviețuirii celulare,

demonstrând o capacitate de existență independentă, fiind puternici agenți oxidanți ce conțin un electron nepereche în învelișul electronic din jurul nucleului atomic [53]. Peroxizii (hidrogenul peroxid [H₂O₂], peroxizii lipidici) și oxigenul singlet (¹O₂) au un set complet de electroni într-o stare instabilă [52]. Ulterior, un electron este pierdut și de către molecula atacată de radical, devenind la rândul său un radical liber, inducând în acest mod o serie de reacții consecutive cu afectare celulară, ca rezultat al leziunilor oxidative ale lipidelor, proteinelor, carbohidraților, acizilor nucleici și a mitocondriei per general. Progresiv, mitocondria devine cu vârsta funcțional incompetentă. Din această cauză SO se asociază cu o serie de maladii legate de vârstă [54,55].

Peroxidul de hidrogen (H₂O₂), demonstrează o reactivitate scăzută, însă are abilitatea de a penetra membranele celulare, inclusiv și membranele internă și externă mitocondriale. H₂O₂ poate reacționa cu ionul de fier celular și genera prin reacția Fenton radicali hidroxil, considerați cea mai reactivă formă de oxigen. Acesta este un mecanism amplificator al SO, unde fierul liber (Fe²⁺) reacționează cu peroxidul de hidrogen (H₂O₂), iar prin reacția Haber-Weiss rezultă în producerea Fe²⁺ în momentul când superoxidul reacționează cu Fe³⁺ [57].



Adițional ciclului redox al fierului menționat anterior, o serie de alte metale de tranziție, inclusiv Cu, Ni, Co și V, pot fi responsabile de formarea HO· în celulele vii [58].

Forma redusă a metalelor de tranziție (Mⁿ) reacționează prin reacția Fenton cu peroxidul de hidrogen (H₂O₂), ducând la generarea de ·OH. Radicalul superoxid (O₂^{·-}) poate reacționa, de asemenea, cu forma oxidată a metalelor de tranziție (M⁽ⁿ⁺¹⁾) în reacția Haber-Weiss ducând la producerea de Mⁿ, care apoi afectează din nou ciclul redox conform Ayala A. et al. (figura 2) [58].

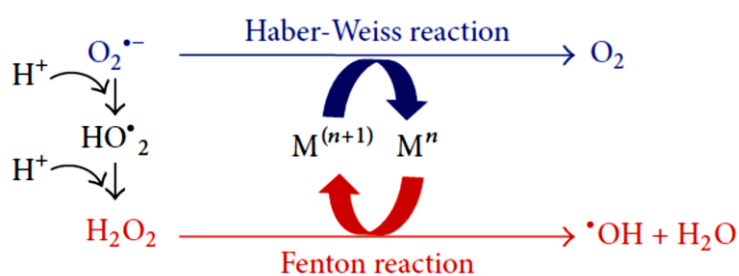


Figura 2. Reacția Fenton și Haber-Weiss [58]

În particular, anionul superoxid (O₂^{·-}) și radicalul hidroxil (OH·) cu un electron nepereche sunt cunoscuți sub numele de radicali liberi [59]. O serie de studii au demonstrat că generarea radicalului hidroxil (·OH) în retină a avut loc în timpul condițiilor ischemice, rămânând majorat și în timpul perioadelor de reperfuzie [60].

Radicalii hidroxil cauzează leziunea oxidativă a celulelor deoarece ele nespecific atacă biomoleculele localizate la mai puțin de câțiva nanometri de la locul său de generare [58].

Radicalii liberi sunt extrem de reactivi și instabili, posedând energie de activare mică și durata de viață scurtă [61]. Este de atestat faptul că ei se pot comporta atât ca prooxidanți (noțiune echivalentă cu termenul chimic de oxidant), cât și ca antioxidanți (reducători), fenomen explicat prin capacitatea lor de a dona sau a accepta un electron de la alte molecule [62].

În mod normal se atestă un echilibru dintre speciile reactive și mecanismele de apărare antioxidante, această balanță fiind mediată de către enzime responsabile de metabolizarea și neutralizarea SRO – superoxid dismutaza (SOD), catalaza, glutatation peroxidaza (GPx) și altele. [63].

Stabilitatea radicalului $O_2^{\cdot-}$ este relativă, posedând o capacitate diminuată de a interacționa cu componentele biologice [64]. Reacția care urmează, transformă $O_2^{\cdot-}$ în peroxid de hidrogen (H_2O_2), cu ajutorul enzimei superoxid dismutaza (SOD): $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$.

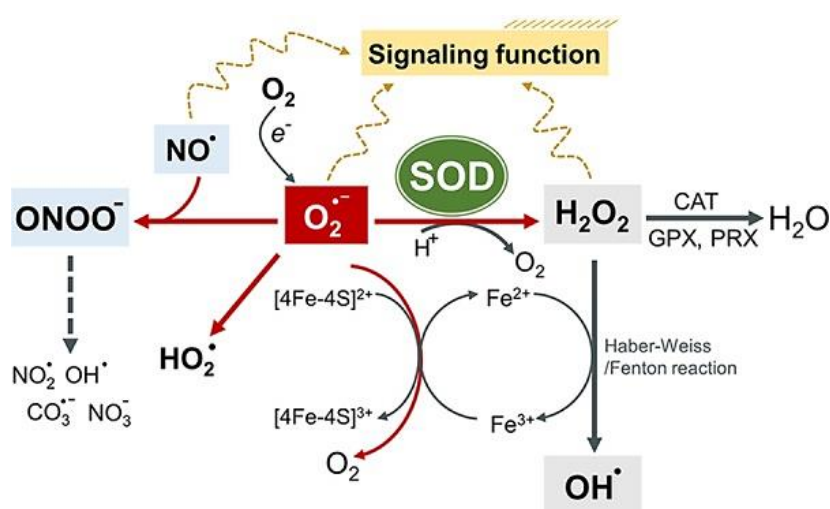
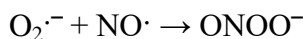


Figura 3. **Reacțiile și transformările anionului superoxid**, după Wang Y., et al. [65]

NO^{\cdot} , are un electron fără pereche, fiind astfel un radical liber extrem de reactiv, cu potențial de deteriorare celulară și tisulară. Oxidul nitric este produs prin oxidarea/reducerea treptată a L-argininei în L-citrulină de către nitric oxid sintaza (NOS), atestată în 3 izoforme: inductibilă (NOSi), neuronală (NOSn) și endotelială (NOSe) [66].

Interacțiunea, ce are loc în mitocondrii, dintre anionul superoxid și oxidul nitric se soldează cu formarea finală a peroxinitritului ($ONOO^{\cdot-}$) – cunoscut drept un radical instabil cu o reactivitate mare și cu capacitate de a media o varietate de procese biologice incluzând și inhibiția enzimelor metabolice cheie, peroxidarea lipidelor și nitrarea reziduurilor tirozinice ale proteinelor (figura 3) [67-69]. Reacția peroxinitritului cu DNA-ul rezultă în formarea 8-hidroxideoxiguanozinei, un marker al leziunii oxidative a DNA-ului, iar nivelurile amplificate intracelulare de peroxinitrit

induce depleția depozitelor de glutation, ulterior contribuind la SO și inducerea apoptozei [68].



Producerea de $ONOO^-$ are loc mult mai rapid, decât în reacția menționată anterior în care are loc transformarea $O_2^{\cdot-}$ în H_2O_2 de către enzima antioxidantă Cu/Zn-SOD, factor ce se crede a fi favorizant în declanșarea reacției [35].

Datele disponibile în literatura de specialitate, cu referire la efectele NO sunt controversate, demonstrând atât rolul lui în calitate de modulator al protecției contra leziunilor oxidative, putând acționa ca și un antioxidant, cât și efectul la nivel vascular de dilatare, regenerare endotelială, inhibarea chemotaxiei leucocitare și a aderenței plachetare [69].

A fost cercetat rolul atât benefic cât și negativ al oxidului nitric la nivelul retinei și este de evidențiat că până în prezent, descoperirile cu privire la funcția sa în autoreglarea retiniană sunt contradictorii. În timpul insuficienței de glucoză și oxigen, NO poate amplifica fluxul sangvin și preveni agregarea trombocitelor, însă poate media și efectele toxice ale eliberării aminoacizilor [70].

1.1.2. Sistemul de protecție antioxidant

În condiții fiziologice, efectele nocive ale SRO sunt contracarate de către enzime specifice și substanțe cu greutate moleculară mică care contribuie la echilibrul redox în celulă [71]. Diverse țesuturi posedă molecule care accelerează finalitatea procesului prin captarea radicalilor liberi, în acest mod protejând membrana celulară.

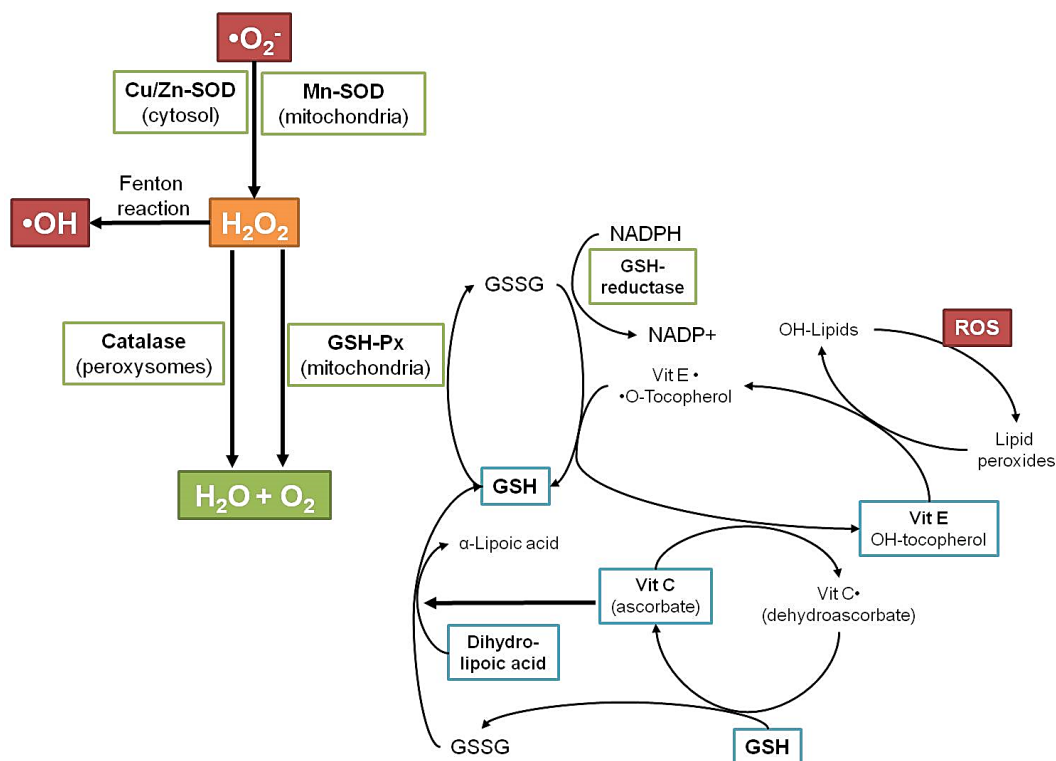


Figura 4. Sistemul antioxidant, conform Lazo-de-la-Vega-Monroy M., et al. [72]

Expunerea continuă la factorii generatori de SO a permis în timp adaptarea celulară prin crearea unor mecanisme defensive, precum prezența sistemului antioxidant cu enzimele sale (SOD, catalaza, GPx etc.) cât și a compușilor nonenzimatici (glutathionul, vitamina C, vitamina E, carotenoizii, etc.) (figura 4) [52,73].

SOD-ul, o enzimă antioxidantă de mare importanță, ale cărui izoforme pot fi diferențiate prin localizare și cofactorii metalici (Cu, Zn, Fe, Mn, Ni), acționează ca un mecanism primar de apărare împotriva radicalilor liberi prin catalizarea dismutării superoxid anion radicalului în oxigen și peroxid de hidrogen, după cum este prezentat în figura 5 [74].

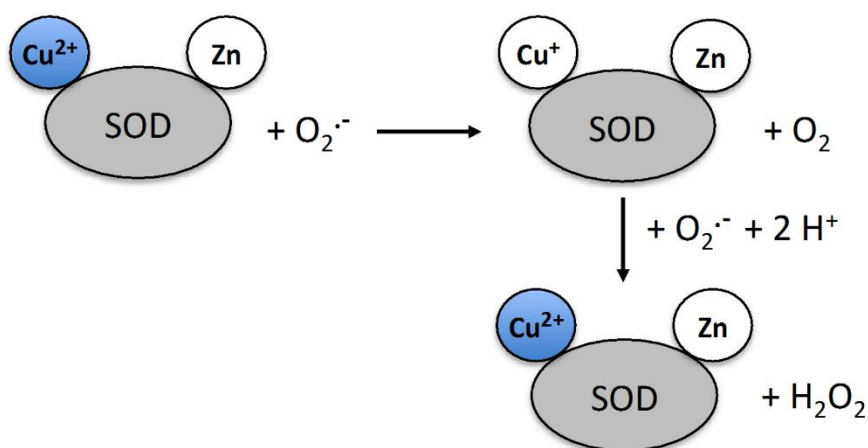


Figura 5. Mecanismul general catalitic al dismutării O_2 de către Cu/Zn-SOD, după Franco M.C., et al. [75]

La om există trei forme de superoxid dismutază: SOD_1 cu localizare în citoplasmă, SOD_2 în mitocondrie și SOD_3 în lichidul extracelular. Prima izoformă este un dimer, în timp ce celelalte două sunt tetramere. SOD_3 , prezentă intracelular, cât și extracelular și sangvin, catalizează dismutarea superoxidului în matricea extracelulară și poate fi găsit în aproape toate țesuturile în cantități diferite. Acesta, posedă și un rol reglator prin inducerea proliferării, supraviețuirii și apoptozei, modulând receptorii tirozin kinazici (RTK), legați de membrană și implicați în producerea factorilor proangiogeni. În această situație, SOD_3 acționează ca un scut protector, prevenind efectele nocive ale SRO asupra acestor receptori [76]. SOD_1 și SOD_3 conțin cupru și zinc, în timp ce SOD_2 are în centrul său activ mangan. Genele codificatoare SOD sunt localizate pe cromozomii 21, 6 și 4 (21q22.1, 6q25.3 și 4p15.3-p15.1) [77,78].

Enzima a fost identificată extracelular, situată strategic între endoteliu și celulele musculare netede. Studiile experimentale au arătat că inhibarea SOD provoacă disfuncții endoteliale. În final toate tipurile de SOD oferă un sistem esențial defensiv celular.

O serie de studii noi au subliniat niveluri constant reduse de SOD_3 în retinopatia diabetică, de SOD_2 în insuficiența renală cronică și accidentul vascular cerebral ischemic acut [79-81]. În

aceiași timp, cercetările ce țin de aprecierea activității SOD în HTN oferă date contradictorii, fiind atestate diverse rezultate – de la niveluri crescute la niveluri scăzute ale enzimei [79,82]. Rezultatele studiului efectuat de Lob și colab., au arătat că SOD₃ în mușchiul neted vascular, indiferent de nivelurile vasculare crescute de O₂⁻, nu a avut niciun efect asupra tensiunii arteriale, nici la momentul inițial, nici ca urmare a stimulării angiotensinei II (AngII) și, de asemenea, nu crește răspunsul inflamator la Ang II. Deleția prin modificări genetice ale SOD₃ atât în organele circumventriculare (CVO), cât și în mușchiul neted vascular nu a prezentat un efect mai demonstrativ decât în cazul deleției numai în CVO. Rezultatele au subliniat faptul că SOD₃ în SNC are probabil un rol mai semnificativ în modularea tensiunii arteriale decât SOD₃ la nivel de vase [79].

Catalaza și glutatión peroxidaza disociază peroxidul de hidrogen în molecule de oxigen și apă [76]. Datorită acțiunii acestor enzime, a căror sinteză pare a fi dependentă de nivelul de O₂⁻, concentrația în starea de echilibru a H₂O₂ intracelular în condiții fiziologice este menținută în intervalul 1-10 nM. În patologii, se activează unele surse enzimice suplimentare de generare a superoxidului, care contribuie la formarea unei cantități amplificate de H₂O₂ și, în consecință, se pot forma alte specii oxidative, cum ar fi radicalii hidroxilici, acidul hipocloros sau peroxinitritul [59,83,84].

Catalaza, a doua enzimă cu rol pivotal în apărarea antioxidantă, fiind considerată și principalul reglator al metabolismului peroxidului de hidrogen, este prezentă la toți aerobii și la mulți anaerobi aerotoleranți [85]. Este prezentată ca un homotetramer și este localizată în peroxizomi. Nivelurile sale serice sunt scăzute, dar joacă un rol fundamental în apărarea antioxidantă a plasmei împreună cu glutatiónul și glutatiónul peroxidat, fiind în complex mai potente la nivel circulant decât SOD, vitamina E și beta-carotenul [86].

Peroxidul de hidrogen este un reziduu al metabolismului celular al multor organisme vii și are, printre altele, o funcție de protecție împotriva microorganismelor patogene, în principal anaerobe, dar dată fiind toxicitatea sa, trebuie transformat rapid în compuși mai puțin periculoși. Această funcție este realizată cu ajutorul catalazei.

Studii recente subliniază că catalaza poate fi implicată în diferite procese celulare, fiind activă catalitic și în absența H₂O₂. În plus, enzima a demonstrat o activitate redusă oxidazică, ceea ce implică faptul că poate cataliza oxidarea unor substraturi extrem de reducătoare, cum ar fi benzidina, utilizând oxigenul molecular [83].

Catalaza, adițional peroxiredoxinelor și glutatión peroxidazelor, joacă un rol esențial în echilibrarea concentrației de H₂O₂, care permite menținerea homeostaziei celulare și adaptarea la stres. Este admis în mod obișnuit că peroxiredoxinele și glutatión peroxidazele sunt în esență responsabile de îndepărtarea H₂O₂ în concentrație scăzută, iar rolul catalazei este decisiv în

concentrații mai mari de H_2O_2 [87].

Printre enzimele participante la neutralizarea H_2O_2 se numără și glutatión peroxidaza cu rol în prevenirea peroxidării lipidelor membranare, care utilizează pentru acest proces glutatiónul redus, considerat a fi unul dintre cei mai concludenți eliminatori ai SRO, care ar putea fi utilizați ca marker al sistemului antioxidant. Cercetări ample din ultima jumătate de secol au arătat prezența glutatiónului în toate celulele. Sinteza GSH din aminoacizii săi constituenți, necesită 3 mol de ATP și este catalizată și de enzimele γ -glutamylcistein sintetază și GSH sintetază. Transcrierea și activitatea γ -glutamylcistein sintetazei sunt amplificate de mai mulți factori, printre care putem menționa: epuizarea sau conjugarea GSH, citokinele inflamatorii, antioxidanții, stresul nitrosativ și SO [88]. Sinteza diminuată a GSH-ului, cât și utilizarea sa în detoxifiere, catabolismul crescut sau defectul de regenerare a GSH din forma oxidată (GSSG), sunt parțial responsabile de amplificarea SO, implicat în patogeneza unei serii de boli [89]. Se consideră că SO este corelat cu oxidarea și epuizarea GSH, care au fost descrise la subiecții hipertensivi în comparație cu cei nehipertensivi [90,91].

Modificările în statutul redox celular par să medieze moartea celulelor fotoreceptoare. Un model *in vitro* al apoptozei fotoreceptorilor demonstrează o creștere rapidă și susținută a SRO intracelular acompaniată printr-o depleție rapidă a GSH în aceste celule [52,92].

În timpul procesului de oxidare, pierderea unui electron din molecula GSH are ca rezultat formarea a doi dimeri legați cu o punte disulfidică, o joncțiune care este reversibilă. Raportul GSH/GSSG este considerat un bun indicator al SO, comparativ de exemplu cu raportul chinol/chinonă [93].

Pentru a menține eficacitatea antioxidantă a GSH, e necesară reconvertirea GSSG în glutatión redus, proces realizat de către glutatión reductaza (GR). Prin urmare, enzimele metabolismului glutatiónului: glutatión peroxidaza (GPx) și glutatión reductaza, împreună cu enzimele producătoare de NADPH: glucoză-6-fosfat dehidrogenază și ICDH-NADPH-dependentă, aparțin mecanismului antioxidant, ce limitează toxicitatea SRO, participând la reciclarea lor. E de menționat că GSH, GR și GPx sunt localizate în diferite tipuri de celule ale retinei, care vor participa la mecanismul complex de protecție ocular împotriva SO [93].

O altă enzimă participantă în proces este glutatión-S-transferaza, care posedă proprietatea de a lega substanțele străine de gruparea $-SH$ a cisteinei din glutatión. Astfel sunt neutralizate regiunile electrofile și protejate celulele de efectele nocive ale substanțelor dăunătoare [94].

Deoarece majoritatea reacțiilor în lanț ale radicalilor liberi sunt prevenite de către moleculele ce au rolul de a le elimina, pare totuși că radicalii liberi nu constituie de cele mai multe ori cauza directă a deteriorării oxidative, ci acționează mai degrabă ca inițiatori ai leziunilor oxidative suplimentare provocate de către oxidanții non radical. Ipoteza redox descrie stresul oxidativ în

lipsa radicalilor, în care circuitele redox tiol perturbate interferează cu reglarea stării redox celulare, afectând semnalizarea celulară și homeostazia. Tiolii redox-sensibili includ aminoacidul cisteina (Cys), disulfura cistina derivată din Cys (CySS), glutationul – tripeptida care conține Cys (GSH) și disulfura de glutation (GSSG). Cuplurile redox de sulf acționează în calitate de comutatoare „on/off” reglementând expresia genelor și funcția proteinelor. Deoarece cuplurile Cys-Cys și GSH/GSSG nu sunt în echilibru, este plauzibil ca nivelurile anormale de oxidanți nonradical ar putea fi suficiente pentru a perturba funcționarea normală [52].

1.1.3. Consecințele patologice induse de specii reactive de oxigen

Efectele negative ale SRO se realizează printr-o serie de mecanisme inducătoare de leziuni celulare, vizibile ulterior sub formă de manifestări clinice. Printre ele se enumeră peroxidarea lipidică, modificări ale proteinelor, oxidarea DNA-ului, în special a celui mitocondrial și deschiderea canalelor ionice [58].

Deoarece radicalii liberi pot iniția reacții în lanț în unele molecule biologice, o serie de alte specii de radicali liberi apar în celule ca parte a acestor procese. Un exemplu primar al acestor specii secundare de radicali include radicalii intermediari formați în timpul peroxidării lipidelor [78,95].

Peroxidarea lipidelor reprezintă o cale de oxidare a lipidelor după sustragerea electronilor de către radicalii liberi, fiind un proces ce include 3 etape prezentate în figura 6: inițierea, propagarea și terminarea.

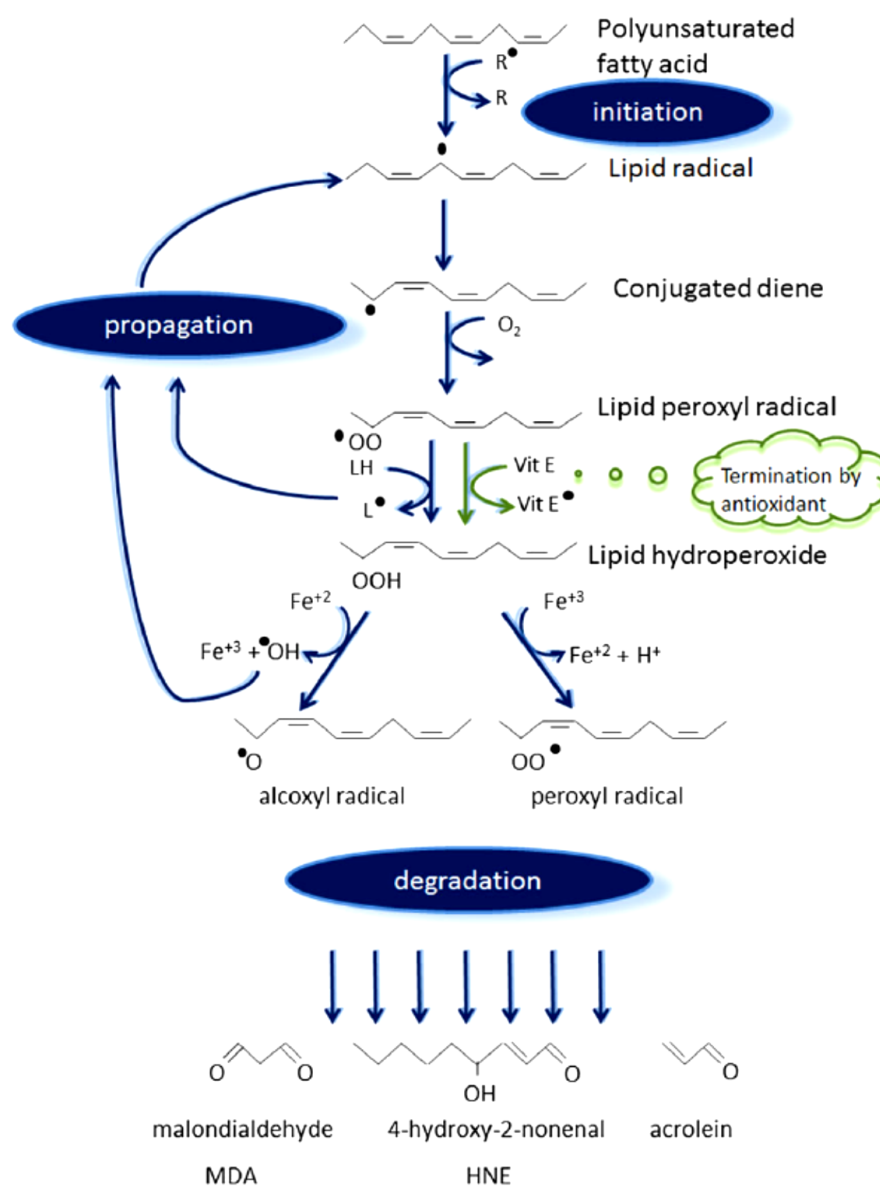


Figura 6. Cascada reacțiilor de peroxidare a lipidelor, conform Cipak Gasparovic A., et al. [35]

În inițiere, prooxidanții sustrag hidrogenul alilic formând radicalul lipidic centrat pe carbon; radicalul carbonic tinde să fie stabilizat printr-o rearanjare moleculară pentru a forma o dienă conjugată (etapa 1). În faza de propagare, radicalul lipidic reacționează rapid cu oxigenul pentru a forma un radical peroxid lipidic (etapa 2) care extrage un hidrogen dintr-o altă moleculă lipidică generând un nou radical lipidic și hidroperoxidul de lipide (etapa 3). În reacția de terminare, antioxidanții donează un atom de hidrogen speciei radicale peroxidice lipidice rezultând formarea de produse non-radical (etapa 4) [58].

Acest fenomen apare la acțiunea asupra fosfolipidelor și a colesterolului din componența membranelor celulare, cât și a lipidelor circulante, în special lipoproteinelor clasei LDL. La nivelul membranei, sunt afectați cel mai des acizii grași polinesaturați. Acest fapt este explicat prin faptul

că aceștia conțin legături duble multiple, între care sunt grupări de metilen ($-\text{CH}_2-$), care posedă atomi de hidrogen deosebit de reactivi. Produsele chimice ale acestei oxidări le constituie peroxizii lipidici sau produșii de oxidare lipidică (LOP) [96,97].

Radicalul „acid gras” nu este o moleculă foarte stabilă, așa că reacționează rapid cu oxigenul molecular, creând astfel un radical „acid gras peroxil”. Acesta la rândul lui este o specie foarte instabilă, astfel încât reacționează cu un alt acid gras, rezultând un acid gras radical diferit și un peroxid lipid (LOO^\cdot) sau un peroxid ciclic. Reacția se va opri atunci când doi radicali reacționează și vor produce o specie non-radicală. Antioxidanții pot stopa procesul, prin donarea unui hidrogen radicalului lipidic. Acesta, va fi transformat într-un non-radical, blocând reacția [98].

În etapa de terminare, antioxidanți precum vitamina E donează un atom de hidrogen speciei LOO^\cdot și formează un radical corespunzător de vitamina E care reacționează cu un alt LOO^\cdot formând produse non-radical. Odată ce este inițiată peroxidarea lipidelor, va avea loc o propagare a reacțiilor în lanț până la formarea produselor de terminare [58].

Principalii radicali incriminați în oxidarea lipidelor sunt radicalii hidroxil HO^\cdot , respectiv hidroperoxil HO_2^\cdot [58]. O celulă produce în jur de 50 de radicali hidroxil în fiecare secundă. Timp de o zi întreagă, fiecare celulă ar genera 4 milioane de radicali hidroxil, care pot fi neutralizați sau pot ataca biomoleculele [99].

Radicalul hidroperoxil (HO_2^\cdot) joacă un rol important în chimia peroxidării lipidelor. Această formă protonată de superoxid produce H_2O_2 care este capabil să reacționeze cu metale active redox, inclusiv fier sau cupru, pentru a genera în continuare HO^\cdot prin reacțiile Fenton sau Haber-Weiss. HO_2^\cdot este un oxidant mult mai puternic decât radicalul anionic superoxid și ar putea iniția oxidarea în lanț a fosfolipidelor polinesaturate, ducând astfel la afectarea funcției membranare [58].

În urma procesului de peroxidare a lipidelor rezultă produșii primari de peroxidare, anume hidroperoxizii lipidici (LOOH) și două tipuri de produși secundari, relativ stabili: aldehide nesaturate (DAM, 4-hidroxi-2-nonenal, 2-propenal sau acroleina) și izoprostani [100]. DAM se atestă a fi cel mai mutagen produs, spre deosebire de 4-hidroxi-2-nonenal care este cel mai toxic [58].

Efectul toxic al produșilor de oxidare lipidică este explicat prin 3 mecanisme: alterarea integrității membranei celulare, capabilitatea de a genera SRO adiționale sau posibilitatea de a fi degradați în compuși reactivi cu potențial lezional al DNA-ului și proteinelor [101].

Un indicator bine cunoscut al peroxidării membranelor biologice, cu efect deteriorator al integrității și permeabilității membranare, este considerată DAM – o cetoaldehydă, utilizată frecvent în calitate de marker în aprecierea leziunilor cauzate de SRO, datorită reacției facile cu

acidul tiobarbituric [58,102].

DAM rezultă în urma procesului de peroxidare a AG polinesaturați, din structura fosfolipidelor membranelor celulare sau din acid sialic și deoxiriboză, în prezența unor cantități excesive de radicali liberi de oxigen [103,104].

Ulterior DAM este capabilă să difuzeze, astfel încât să se poată lega covalent de moleculele ce posedă grupări amino, aflate la distanță față de locul sintezei sale. Exceptând producția non-enzimatică (lipooxygenarea AG), DAM poate fi formată și ca rezultat al proceselor enzimatice, drept produs secundar în cadrul reacțiilor de sinteză a tromboxanului A₂ (TXA₂) din acidul arahidonic. DAM rezultată va îndeplini anumite funcții, printre care cea de intermediar în unele căi de semnalizare și controlul expresiei unor gene [58].

DAM generată în cantități crescute ca urmare a SO, va contribui la propagarea și amplificarea efectelor SO, fiind capabilă să modifice structura proteinelor, cărora le transferă grupări carbonil prin intermediul resturilor de cisteină, histidină sau lizină de pe catenele laterale [105,106].

În celulele în care are loc oxidarea lipidelor, membrana celulară își pierde proprietățile, numeroși receptori membranari sunt inactivați, iar în celulă are loc un aflux crescut de ioni de calciu, toate acestea contribuind la modificarea permeabilității, a potențialului electric membranar și a comunicării intercelulare [107].

Proteinele cărora DAM le afectează configurația și funcția sunt importante în desfășurarea activității celulare: proliferare, diferențiere, sinteză proteică, organizare a citoscheletului, migrare, controlul activării complementului etc. Peste treizeci de proteine sunt susceptibile de a deveni ținte ale DAM: factorul 2 de elongare (eEF2), factorul H (FH) ce controlează calea alternativă de activare a complementului, anafilatoxina C_{3a}, protein kinaza C (PKC) etc. [58,107].

Modificărilor oxidative sau redox, induse de către SRO sau de SRN sunt supuse și proteinele, afectând nu doar funcția acestora, dar în același timp și modulând-o și diversificând-o în condiții de stres. Per general, modificările oxidative ale proteinelor pot fi clasificate în două categorii: ireversibile și reversibile. În timp ce oxidarea ireversibilă duce de obicei la agregarea și degradarea proteinelor, cea reversibilă caracteristică reziduurilor de cisteină poate servi adesea ca un comutator de „pornire și oprire” cu rol în reglarea funcției proteice și a căilor redox de semnalizare în condiții de stres. În contextul toleranței ischemice, inclusiv dezvoltată prin preconditionare și postconditionare, modificările redox reversibile ale cisteinei, cum ar fi S-sulfenilarea, S-nitrozilarea, S-glutationilarea și formarea de legături disulfurice pot servi ca mecanism de apărare celulară împotriva leziunii ischemice tisulare [108-112].

O serie de indici de laborator sunt analizați cu scopul aprecierii și analizării modificărilor oxidative ale proteinelor, printre ele: produșii proteici de oxidare avansată (PPOA) și albumina

ischemic modificată (AIM).

Amplificarea cantității SRO induce o serie de schimbări ale structurii proteice, modificându-le astfel în particule descoperite în 1996, numite PPOA [113]. De-a lungul timpului, PPOA au devenit un biomarker cunoscut și frecvent determinat al modificării oxidative a proteinelor, fiind rezultatul reacției dintre moleculele oxidante clorinate, cum ar fi cloraminele (NH_2Cl) și acidul hipocloros (HOCl) – obținut ca urmare a reacțiilor în care mieloperoxidaza secretată din leucocitele activate în condiții de SO utilizează ca substrat clorul [114]. Sensibilitatea albuminei la efectul oxidant al SRO este explicată de către cantitatea redusă de antioxidanți. PPOA posedă efecte chemoattractante și de stimulare a activării leucocitelor, monocitelor și limfocitelor T prin mecanism autocrin, acestea intervenind în declanșarea activității microbicide și în sinteza de $\text{TNF}\alpha$. Prin urmare PPOA nu sunt doar markeri ai SO, dar și potențial inductori ai inflamației [107,115,116].

Ischemia ocupă un rol important în patogeneza multor maladii. Astfel, AIM - un marker nespecific al ischemiei tisulare și al SO indus de ischemie/reperfuzie, identificat pentru prima dată la începutul anilor 1990, este prezentat ca un nou marker biochimic, ale cărui niveluri serice cresc în multe boli însoțite de ischemie [117]. În timpul ischemiei/reperfuziei, generarea SRO este amplificată și ulterior, aminoacizii N-terminali ai AIM sunt modificați. Această modificare scade afinitatea albuminei plasmatice de a se lega de ionii metalelor grele, cum ar fi cobalt, nichel etc. [118-119].

1.2. Relevanța disfuncției endoteliale și a factorilor endoteliali și inflamatori ca efect al stresului oxidativ în dezvoltarea retinopatiei hipertensive

În aspect patobiochimic, este de evidențiat rolul disfuncției endoteliale și al markerilor reprezentativi, și e necesar ca pe viitor clasificările atât în cazul hipertensiunii (HTN), cât și în cel al RH să cuantifice și daunele provocate la nivel vascular [52].

Endoteliul constituie un modulator al unor funcții importante precum reglarea tonusului vascular și menținerea circulației sangvine, garantând aportul necesar de O_2 și nutrienți [120]. De asemenea, este esențial și pentru sinteza și eliberarea substanțelor, ce afectează tonusul vascular (oxidul nitric, endotelina), adeziunea celulară (chemokine, molecule de adeziune), agregarea plachetară (prostaciclina) și homeostazia coagulării și fibrinolizei (inhibitori ai activatorului plasminogenului, factorul von Willebrand), având un rol antiinflamator, antitrombotic și antiproliferativ în condiții fiziologice [121].

Țesutul vascular generează SRO, cu predilecție anionul superoxid (O_2^-), în cantitate mai mare decât celelalte țesuturi. Producția de SRO este controlată astfel încât să nu depășească limita ce ar compromite oxidarea metaboliților asociați cu metabolismul lipidic, proteic, al

carbohidraților și DNA-ul în sine. La acest control, endoteliul vascular participă activ prin sinteza de oxid nitric [122].

În situații patologice de „agresiune” a endoteliului, fie de cauză metabolică (hiperglicemie, hipercolesterolemie) sau hemodinamică (hipertensiune arterială), se atestă o diminuare a conținutului de oxid nitric la nivelul endoteliului și în același timp și o creștere a producției de SRO. NO acționează ca un „gunoier” al radicalilor liberi, creșterea SRO diminuând în consecință nivelurile de NO, un proces cunoscut sub numele de scădere a biodisponibilității NO. Acest proces modifică scenariul fiziologic normal, relatat anterior (antiinflamator, antitrombotic și antiproliferativ), în unul patologic, dominat de un proces inflamator, tromboză și proliferare vasculară, fenomen cunoscut sub numele de disfuncție endotelială (DE) [123]. Asocierea inflamației, disfuncției endoteliale (DE) și a alterărilor de coagulare, formează o triadă vasculară inseparabilă într-un mediu cu risc ridicat [123].

O serie de factori generează DE prin scăderea producției de NO și, pe de altă parte, vasoconstricția asociată cu scăderea menționată, va compromite fluxul în țesuturile periferice (în special la nivel de retină). Acest cerc vicios este amplificat și de către două vasoconstrictoare puternice, cum sunt angiotensina II și endotelina ET-1, care se atestă a fi la niveluri scăzute în situații fiziologice și, dimpotrivă, foarte elevate în condiții patologice, cum ar fi în sindrom metabolic, diabet zaharat tip 2, hipertensiune arterială, hipercolesterolemie și chiar și statutul de fumător [124].

După cum am menționat anterior, endoteliul vascular joacă un rol major în reglarea funcțiilor și interconexiunii dintre peretele vascular și sistemul sangvin, motiv pentru care este considerat organul principal al reglării vasculare și al elementelor sangvine, întrunind astfel o funcție homeostatică fundamentală. În momentul în care condițiile mediului endotelial sunt alterate, așa cum se observă în cazul acțiunii factorilor de risc, precum hipertensiunea, are loc o perturbare a funcțiilor, ducând la apariția disfuncției endoteliale [125,126], caracterizată în principal printr-o disponibilitate redusă a NO. Ca urmare a acestei situații, monocitele circulante aderă la endoteliu și pătrund ulterior în zona intimă subendotelial, ca rezultat al creșterii expresiei selectinelor E și P și a moleculelor de adeziune (VCAM-1 și ICAM-1) în membrana celulelor endoteliale [125,127]. Ulterior, monocitele trec prin joncțiunile intercelulare către zona intimei subendotelial, atrase fiind de moleculele chemotactice, în special de către MCP-1 (monocyte chemotactic protein type 1), care sunt supraexpresate în aceste circumstanțe. Odată ce ajung în subintimă, monocitele se diferențiază în macrofage datorită acțiunii diversilor agenți, cum ar fi factorul stimulator al coloniilor monocitelor (M-CSF), TNF α și alții. De asemenea, M-CSF și alte citokine stimulează expresia receptorilor pentru LDL-urile oxidate, cum ar fi CD36 și SR-A (scavenger receptor A) pe suprafața macrofagelor. Această creștere va contribui la captarea LDL-urilor modificate și la

formarea ulterioară a celulelor spumoase, element distinctiv în procesul aterosclerotic [125].

În disfuncția endotelială, se pierde rolul de barieră selectivă, astfel încât lipoproteinele cu densitate mică și foarte mică (LDL și VLDL) pot trece cu ușurință în zona subendotelială, unde sunt reținute datorită interacțiunii cu rețeaua de proteoglicani și suferă procese de oxidare. Concentrațiile ridicate ale LDL-colesterolului circulant favorizează acumularea acestor molecule în zona subintimei. Oxidarea LDL-urilor este produsă prin acțiunea SRO generate de către celulele endoteliale, musculare netede și macrofage ale subintimei [128].

Cum s-a menționat anterior celulele endoteliale eliberează factori antiplachetari, protrombotici, precum și factori de relaxare (NO, factor hiperpolarizant) și constricție (Ang II, ET1), cu rol în modularea tonusului vascular. În condiții fiziologice, există un echilibru în eliberarea acestor factori [129], această balanță fiind alterată în situații de DE, predominant în cazul vasoconstrictorilor și protromboticelor, cu excepția factorului von Willebrand care descrește. La aceștia se adaugă factorii de creștere și factori hipofibrinolitici, cum ar fi PAI-1, care sunt produși în cantități infime de către endoteliu în situații normale [124].

Angiotensina A (Ang A) și factorul de inhibare al vasoconstricției (VIF) constituie substanțe vasoactive noi, detectabile prin spectrometrie de masă, ce sunt implicate în crearea unui echilibru între vasoconstricție și vasodilatare [130].

Prin urmare, anumiți markeri ar putea fi cuantificați pentru o înțelegere mai bună a mecanismelor dezvoltării HTN, respectiv a RH.

1.2.1. Rolul și consecințele implicării sistemului renină-angiotensină în hipertensiune și retinopatie hipertensivă

Explorarea SRA a avansat remarcabil în ultimii ani, de la conceptul unui sistem endocrin clasic care explica homeostazia volumului intravascular circulant și prin urmare a presiunii arteriale, la un concept mai nou, ce include SRA locale care funcționează independent în cadrul mai multor organe, inclusiv ochiul [131].

Fiind una din cele mai vechi (1898) și studiate cascade, cuprinde zeci de peptide și peptidaze angiotensinice și cel puțin șase receptori.

angiotensinei II tip 1 (AT1R) și AT2R. AT1R pare să-și exercite funcția predominant în vasele de sânge. Semnalizarea AT1R induce în mod normal vasoconstricția, spre deosebire de semnalizarea AT2R ce va induce vasodilatația. Cu toate acestea, rolurile AT1R și AT2R în condiții patologice sunt în prezent încă incerte [138,139].

SRA sistemic este un factor important în reglarea tensiunii arteriale, însă adițional există și sisteme de reglare specifice țesuturilor, responsabile pentru modificările regionale pe termen lung, care au fost identificate în diverse organe. Cu alte cuvinte, SRA nu este doar un sistem endocrin, ci și un sistem autocrin complex [132,140].

Cascada SRA clasică începe cu o proteaza aspartică renin-like, specifică, care clivează legătura peptidică dintre Leu10 și Val11 la capătul N-terminal al angiotensinogenului (AGT), o α -glicoproteină lungă de 225 de aminoacizi, pentru a forma angiotensina I (Ang I) [132].

Ang I, un prohormon slab cu efect vasoconstrictor, poate fi scindat în continuare pentru a forma Ang II. Diverse enzime participă la formarea Ang II din Ang I: ACE1, tonina, tripsina, kalikreina, catepsina G și chimaza [141-145].

ACE1 este prezentă în multe țesuturi, precum și în fluidele biologice, de ex. în plasmă [146]. Pentru a funcționa, ACE1 are nevoie de Zn^{2+} în complex cu o moleculă de apă activată și clorură pentru a îmbunătăți legarea substratului [147]. Această enzimă de bază care acționează asupra Ang I, îndeplinește doi aminoacizi (His-Leu) de la capătul carboxi terminal al Ang I pentru a forma una dintre peptidele centrale ale cascadei SRA: Ang II. Celelalte enzime menționate anterior sunt considerate a fi căi alternative de formare a Ang II, cu o importanță aparte în condiții fiziologice și patologice [148].

În 1940, Ang II o octapeptidă cunoscută și sub numele de Ang (1-8) a fost inițial izolată și caracterizată drept un vasoconstrictor puternic care crește TA și reglează echilibrul electrolitic, tonusul vascular și senzația de sete [132]. De asemenea, stimulează eliberarea de aldosteron și vasopresină și exercită acțiunile sale patologice de vasoconstricție, inducerea fibrozei și inflamație prin AT1R cuplat cu proteina G. Ulterior Ang II poate fi clivată de către ACE1, fie de aminopeptidaza A pentru a genera angiotensina III, sau de către aminopeptidaza N pentru a forma angiotensina IV. Este interesant de menționat faptul că clivarea unui rest de aminoacid (Phe) de la capătul C terminal al Ang I de către enzimele ACE2, carboxipeptidaza A sau catepsina A, duce la generarea angiotensinei (1-9) a cărei funcții biologice constau în eliberarea acidului arahidonic, promovarea formării oxidului nitric și creșterea activității de bradikinină. De asemenea angiotensina (1-9) ar putea reduce TA, scădea HTN și posibil ar juca și un rol în inhibiția funcțiilor plachetare.

Prin urmare, în plus față de rolul său clasic în reglarea TA, a volumului lichidian, precum și a echilibrului electrolitic, SRA este implicat în declanșarea procesului inflamator.

Independent de SRA sistemic, SRA intrinsece au fost identificate în diferite țesuturi (inclusiv retina) și sunt importante pentru menținerea homeostaziei locale (figura 8) [140]. Ochiul uman are propriul său SRA, ca și inima, SNC, intestinul etc. [132] Deși mecanismele patologice la nivel molecular nu sunt încă bine elucidate, SRA ocular local pare să joace un rol în patologia oculară, fiind asociat cu tulburări oculare precum: glaucomul, retinopatia diabetică, degenerescența maculară legată de vârstă etc. [132,140].

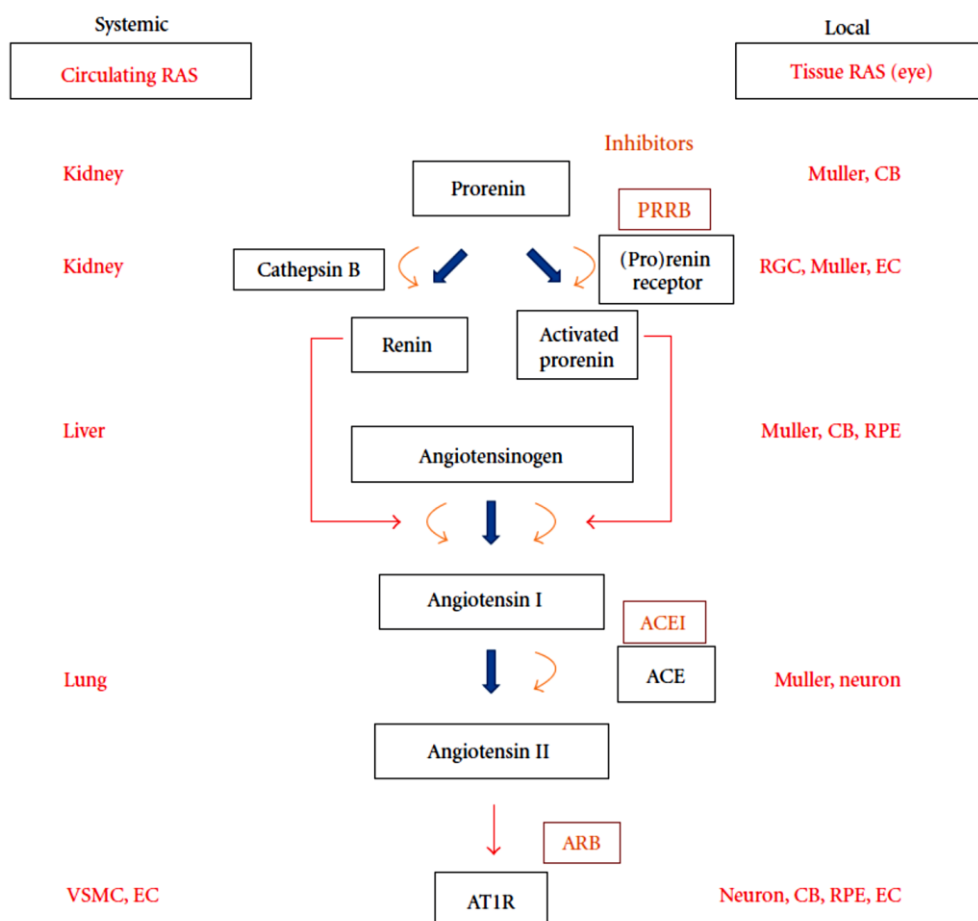


Figura 8. **SRA circulant și tisular**, după Kurihara T. et al. [140]

Notă: VSMC: vascular smooth muscle cell, EC: endothelial cell, PRRB: (pro)renin receptor blockers, ACEI: angiotensin-converting enzyme inhibitors, ARB: angiotensin II type 1 receptor blockers, AT1R: angiotensin II type 1 receptor, CB: ciliary body, RPE: retinal pigment epithelium

SRA locale au început a fi privite din perspectiva a două grupuri în baza originii Ang II: SRA extrinsec își obține Ang II din circulație, în timp ce SRA intrinsec sintetizează propriul Ang II local [150]. Cu toate că o parte din SRA locale depind de interacțiunea cu SRA circulator pentru a funcționa în totalitate, în multe organe SRA locale funcționează prevalent independent [151]. Într-adevăr, SRA locale specifice țesuturilor pot produce în mod independent diferite componente ale SRA, demonstrând astfel că SRA este nu doar un sistem circulator endocrin, ci posedă și funcții adiționale necunoscute anterior [132].

Până în prezent toate componentele centrale ale SRA, inclusiv componentele celor două axe principale: ACE1-Ang II-AT1R și ACE2-Ang (1-7)-MasR, au fost stabilite în diferite structuri oculare la diferite specii. Elementele celor două axe principale au fost identificate atât în structurile oculare retiniene, cât și în cele non-retiniene [152,153].

Chiar dacă SRA este prezent în ochiul uman, funcția și semnificația sa în patobiochimia oculară sunt încă neelucidate. Constituie încă un subiect al dezbaterii, faptul că peptidele angiotensinice identificate în ochiul uman provin parțial din compartimentul sangvin sau sunt sintetizate local.

Hiperactivitatea SRA, atât sistemic, cât și vascular, este considerat a fi unul dintre principalii mediatori ai maladiilor vasculare nu numai la pacientul hipertensiv, ci și în toate procesele legate de disfuncția endotelială și ateroscleroză. Propusă ca marker de diagnostic și de urmărire ca răspuns la tratament, evaluarea angiotensinei A II (AII) în practica clinică a fost pe moment respinsă, cu excepția cercetărilor fundamentale, întrucât implică un cost crescut. Admițând rolul important jucat de această substanță în leziunea vasculară, funcția sa în calitate de instrument în diagnosticul primelor faze și valoarea predictivă a evenimentelor pe termen mediu și lung rămâne a fi elucidată.

În timp ce se atestă că DE ocupă un rol cheie în dezvoltarea HTN, dereglarea poate fi de asemenea și un efect [154]. Astfel evaluarea markerilor DE, nu doar ar permite înțelegerea patogenezei HTN, cât și a RH, dar ne-ar permite potențial să analizăm exactitatea diagnosticului, progresia maladiei și să monitorizăm tratamentul.

1.2.2. Stresul oxidativ și inflamația

Numeroase patologii oculare sunt mediate de inflamație sau răspunsuri imune alterate semnificativ. Se atestă faptul că și SO este linkat cu inflamația: celulele inflamatoare generând intermediari de oxigen reactiv. La rândul lui, SO poate induce inflamația prin medierea expresiei genei factorului nuclear – kappa B (NF-kB) [59,155-158].

Este demonstrat faptul că inflamația joacă un rol crucial în patogeneza și dezvoltarea HTN și respectiv și a RH [159,160]. Creșterea rezistenței vasculare periferice arteriale, eventual induce procesul de remodelare vasculară, cu modificarea structurală și funcțională ulterioară a endoteliului, fapt atestat în stadiile incipiente ale HTN, în mare parte fiind datorat inflamației sistemice [160]. Rolul componentelor proinflamatorii ale SRA în modificările vasculare a fost identificat în mai multe cercetări, atât pe oameni cât și pe animale [159].

În cadrul modelelor experimentale, HTN promovează DE prin inhibiția producerii endogene de NO [161]. De asemenea modulează receptorii angiotensinei I în mușchii netezi vasculari, iar ulterior efectele vasoconstrictoare și proaterogenice ale Ang II. Ang II perpetuează inflamația

vasculară prin stimularea citokinelor inflamatorii, recrutând monocitele și inducând SO [162].

O interconexiune evidentă este demonstrată între procesul inflamator și DE, iar markerii proinflamatori sau markerii inflamației sistemice sunt catalogați și ca markeri ai DE.

Studii concludente ce vin în susținerea participării inflamației în dezvoltarea RH au demonstrat valori crescute ale proteinei C reactive – un reactant bine cunoscut al fazei acute, la pacienții cu RH, cât și o corelație a nivelului cu gradul RH [33,163].

Nivelul crescut de superoxid poate promova inflamația prin deteriorarea celulelor endoteliale, creșterea permeabilității microvasculare și recrutarea de neutrofile. SRO activează factorul de transcripție NF- κ B, ce poate crește mediatorii proinflamatori, cum ar fi citokinele, NO și prostoglandinele [52]. Celulele endoteliale sunt afectate de inflamație, inducând modificări în fenotipul lor, crescând astfel expresia mediatorilor inflamatori, a citokinelor și activarea NOSi [164]. Aceste evenimente sunt observate și în celulele epitelului pigmentar retinian (RPE). Mai mult, RPE interacționează direct cu celulele endoteliale (CE) și pot spori potențialul proangiogen al acestora, prin amplificarea proliferării și migrației. TNF- α amplifică expresia factorului de creștere endotelial vascular (VEGF), un factor angiogen major, în celulele RPE prin activarea dependentă de SRO a β cateninei [165]. SRO afectează, de asemenea, dimerizarea și autofosforilarea receptorului VEGF. În schimb, VEGF stimulează în continuare producția de SRO prin activarea NOX în celulele endoteliale [166].

1.3. Particularități ale mecanismelor biochimice în dezvoltarea manifestărilor clinice în RH

Celulele fotoreceptoare ale retinei sunt extrem de exigente din punct de vedere metabolic, având cea mai mare densitate de mitocondrii comparativ cu alte celule din corp. Atât amplificarea cât și regresia fiziologică și patologică a vaselor retinei sunt controlate de către cerințele energetice ale fotoreceptorilor [167].

Retina este extrem de bogată structural în lipide, care sunt reciclate continuu, aportul alimentar modulând și el compoziția. Fosfolipidele retiniene conțin o abundență de AG polinesaturați cu catenă lungă (aprox 45% din fosfolipidele totale), AG saturați (aprox 37% din fosfolipidele totale) și AG mononesaturați (aprox 10% din fosfolipidele totale) [168]. Analiza structurii retiniene, cât și revizuirea necesităților energetice locale, punând accent și pe metabolismul lipidic, ar oferi înțelegere mai bună a factorilor și mecanismelor implicate în dezvoltarea și progresia disfuncției retiniene.

Hipertensiunea este acompaniată de către SO și disfuncție mitocondrială, ce induce o serie întreagă de anormalități vasculare pe tot parcursul dezvoltării și progresiei RH. Dereglările mitocondriale cauzează supraproducție de radicali superoxid, inițial în lanțul transportator de

electroni. SO induce alterarea structurilor celulare, lipidelor, proteinelor și DNA-ului, și în particular afectează celulele neuronale metabolic active, precum sunt fotoreceptorii [169].

SO, fiind un fenomen extrem de complex, este linkat și cu o serie de alți factori potențial declanșatori ai RH, cum ar fi hipoxia, inflamația etc., inițiind, fie accelerând dezvoltarea maladiei [52].

Prin urmare, alterarea căilor endogene celulare de protecție împotriva SO duce la o serie de disfuncții retiniene atât funcționale cât și morfologice, cu predilecție la nivel de epiteliu pigmentar, celule endoteliale și celule ganglionare retiniene (figura 9) [59].

Menționăm că de-a lungul timpului aceste fenomene au fost studiate în diverse maladii oculare, inclusiv și de genză genetică. Pot fi enumerate aici degenerescenta maculară legată de vârstă, glaucomul, retinopatia diabetică, retinita pigmentoasă, neuropatia optică ereditară Leber și altele [36].

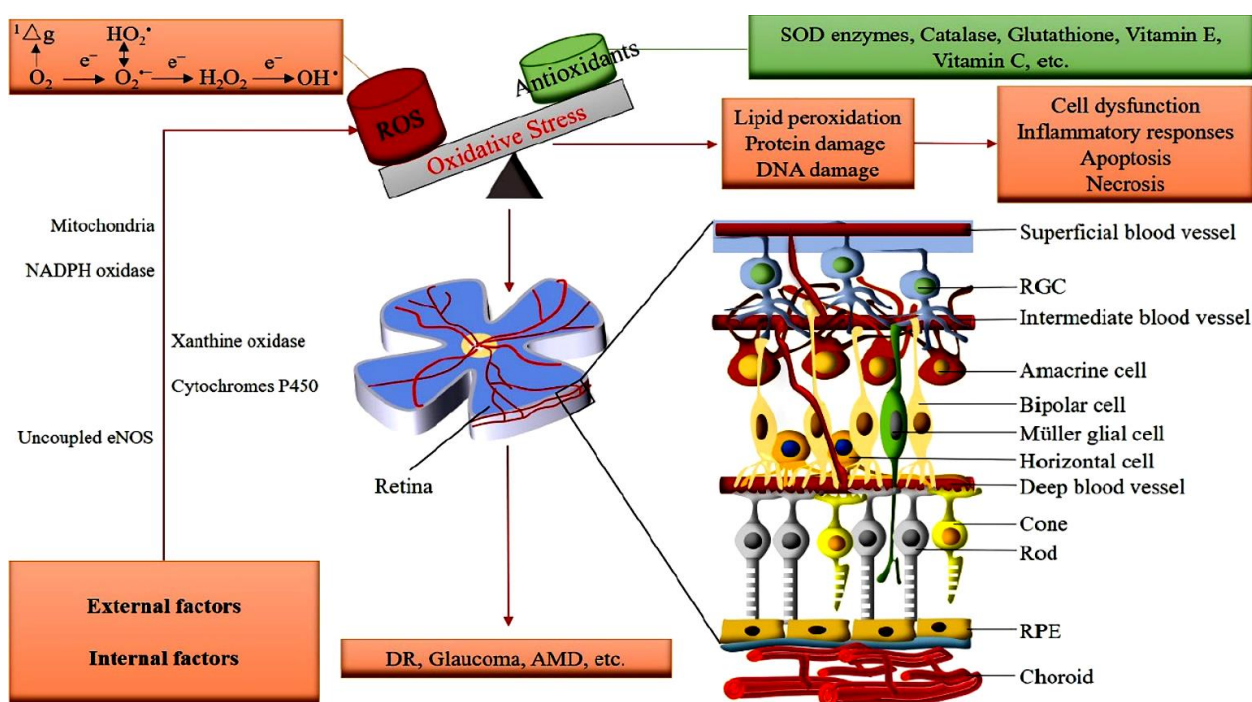


Figura 9. Afectarea straturilor retiniene la acțiunea SO, după Masuda T. et al [59]

Notă: $^1\Delta g$: oxigen singlet; $O_2^{\cdot-}$: superoxid; HO_2^{\cdot} : hidroxiperoxil; H_2O_2 : peroxid de hidrogen; OH^{\cdot} : hidroxil; NADPH oxidase: nicotinamid adenin dinucleotid fosfat oxidază; eNOS: oxid nitric sintaza endotelială; SOD: superoxid dismutaza; RGC: celule ganglionare retiniene; RPE: epiteliu pigmentar retinian; DR: retinopatie diabetică; AMD: degenerescenta maculară legată de vârstă.

Dincolo de reactivitate și specificitate, alți factori importanți sunt implicați în determinarea modului în care speciile reactive provoacă efecte celulare specifice. Acestea includ, dar nu se limitează la: (1) locul de producție, (2) localizarea și (3) reactivitatea țintei. Locul de producție al mediatorului reactiv este important în cazul speciilor foarte reactive, care au distanțe de difuzie

limitate, deoarece aceste molecule nu pot media semnalizarea în aval decât dacă ținta este în apropiere [67, 170]. Locul de producție poate permite, de asemenea, acumularea unei specii reactive, rezultând astfel concentrații locale ridicate necesare pentru semnalizare [41, 67, 170].

Retina este cu predilecție vulnerabilă la SO, acest fapt fiind datorat nivelului amplificat de utilizare al oxigenului, cât și proporției mari de acizi grași polinesaturați din structurile acesteia, ce ulterior sunt supuși peroxidării, dăunând în acest mod epiteliului pigmentar retinian (RPE). Se consideră că un impact mai mare îi revine maculei, unde se atestă un nivel ridicat de activitate metabolică și unde expunerile la lumină sunt mai mari [52].

Se cunoaște că atât SRO, dar și alți radicali au un rol într-o diversitate de fenomene fiziologice cât și patologice, prin participarea în reacții biochimice ce în final pot elucida apariția manifestărilor clinice în diverse afecțiuni, fapt atestat și în cazul retinopatiei. Este notabil că în cadrul proceselor metabolice semnificative la nivel celular cu utilizare de O₂, are loc în același timp și formarea din oxigen a SRO cu un potențial efect nociv. Prin urmare, prezența metabolismului aerob ar avea un efect dual – pe lângă menținerea viabilității și un eventual potențial lezional (figura 10).

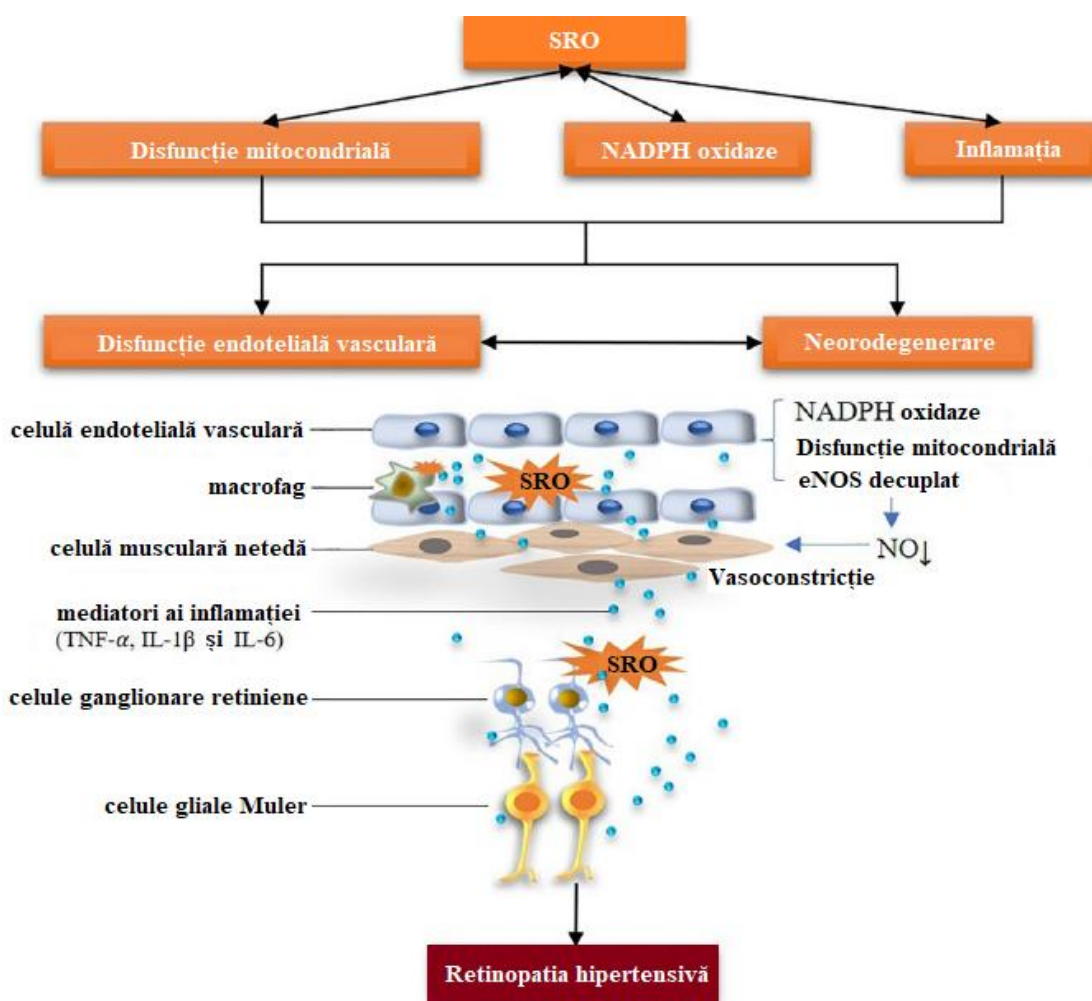


Figura 10. Rolul SRO în mecanismele fiziopatologice ale RH [59]

Pentru a elucida importanța SO în cadrul RH, e necesar să înțelegem și mecanismele ce stau la baza leziunilor oxidative la nivelul retinei. Clinic RH este definită prin prezența semnelor microvasculare retiniene la un individ cu hipertensiune. Mecanismele specifice ale deteriorării oxidative retiniene sunt unice în dependență de tipurile celulelor retiniene afectate. Morfologic și funcțional sunt afectate RPE, vasele retinei și fotoreceptorii. Date concludente ne demonstrează faptul că concentrații anormal de crescute ale produșilor oxidați pot interfera cu abilitatea celulelor RPE de a regla factorii cheie ai angiogenezei, rezultând în neovascularizarea retinei. Ca o sursă a SRO, fotoreceptorii contribuie la SO, vitalitatea conurilor și bastonașelor fiind direct afectată de către statutul redox al țesuturilor înconjurătoare. Pierderea de celule fotoreceptoare sau reducerea activităților necesitate de oxigen, cum ar fi fototransducția, pot duce la concentrații crescute de oxigen tisular, fapt explicat prin lipsa autoreglării a nivelului de oxigen al vaselor coroidiene. În contrast, arteriolele retiniene posedă această capacitate de autoreglare, dezechilibrul oxigenului indus de către disfuncția și degenerarea fotoreceptorilor observându-se clinic prin vasoconstricția vaselor [52].

Oxidul nitric este cea mai răspândită moleculă de semnalizare identificată la nivelul retinei, deoarece poate fi produsă de fiecare tip de celulă retiniană. NO este capabil să influențeze o mare varietate de mecanisme sinaptice, variind de la creșterea sau scăderea eliberării neurotransmițătorului până la modularea conductivității joncțiunii gap-ului [170].

De asemenea, NO este generat în urma ischemiei retiniene tranzitorii și joacă un rol cheie în moartea celulară întârziată. Astfel, NO este văzut în calitate de moleculă neuroprotectoare sau ca compus neurotoxic în funcție de concentrația sa locală. În RPE, NO a fost propus ca al doilea mesager în fagocitoză [171].

În SO formarea AIM este determinată de expunerea la radicalii liberi, ca urmare a modificărilor care apar în rețeaua microvasculară, inclusiv în cea retiniană. În ciuda faptului că mecanismele prin care SO apare și contribuie la dezvoltarea complicațiilor hipertensive sunt încă incerte, modificările biochimice rezultate contribuie la modificări structurale și funcționale ale microvasculaturii. Aceste deficiențe generează modificări ale fluxului sangvin al retinei, deteriorarea barierei sânge-retină și la final la ocluzia capilară și ischemie. O reducere continuă a perfuziei capilare va duce la formarea tuturor semnelor bine-cunoscute ale HR ca “leziuni albe vătoase”, anomalii microvasculare intraretinale, perle venoase și neovascularizare. În condiții ischemice, precum în RH, capacitatea albuminei de legare a metalelor de tranziție precum nichelul, cuprul și cobaltul este diminuată, rezultând astfel formarea de IMA – o variantă modificată a albuminei [6, 106, 172, 173].

Având în vedere că patologia vasculară retiniană constituie un factor important al pierderii vederii, cele mai importante cercetări care examinează retinopatia și rolul posibil jucat de SRA s-

au concentrat asupra microvascularizației. Sistemul circulator al retinei furnizează oxigen și substanțe nutritive țesutului retinian, ceea ce este esențial pentru o funcționare corectă. Retina tinde să-și mențină fluxul sangvin constant printr-un răspuns autoreglator intrinsec [131].

Principalii reglatori ai fluxului sangvin sunt pericitele vasculare [174], celulele endoteliului și celulele neuronale și gliale [175]. Una dintre cele mai importante peptide care joacă un rol crucial în reglarea tonusului vasculaturii este Ang II [176,177]. S-a demonstrat că Ang II induce apoptoza celulelor endoteliale retiniene [178] și constricția pericitelor, prin urmare, scăderea diametrului arteriolelor retiniene medii și a capilarelor, ceea ce duce la reducerea fluxului sangvin [131,179].

Etiologia RH pare a fi legată de factorii de risc vascular oculari, cât și cei sistemici, cum ar fi hipertensiunea sistemică. Raportul că unele componente ale SRA sunt crescute în sânge la pacienții cu HTN, sugerează că SRA poate fi implicat în patogeneza RH.

Până în prezent, cercetările ținute pe găsirea unei legături între SRA și retinopatie s-au bazat pe studiul microvasculaturii retiniene. S-au identificat dovezi puternice care susțin rolul Ang II în pericite și celule endoteliale în microvascularizarea retiniană. Ang II are un efect mitogen asupra celulelor endoteliale ale retinei [131].

Prin urmare, SRA este un factor redutabil care potențează procesul de remodelare vasculară în RH și se află în relații reciproce cu SO, inflamația și disfuncția endotelială.

SO și SAO, precum și SRA, sunt cu siguranță implicate în patogenia mai multor maladii, inclusiv și a HTN. RH fiind o complicația severă a HTN, care este condiționată de dereglări sistemice și locale nu este pe deplin studiată.

Studiile existente ale RH nu sunt suficiente pentru a avea un tablou exhaustiv al patologiei și în prezent, nici un marker de sine stătător nu poate oferi o imagine integră a structurii și funcției vasculare. Așadar, conceptul de multimarker în evaluarea afecțiunilor per general, inclusiv și a celor oculare este justificat, din considerentul și a multitudinii de markeri existenți, valoarea predictivă a cărora se așteaptă a fi semnificativă la diferite etape ale dezvoltării patologiei retinopatiei. Direcția prioritară de cercetare în acest sens este axată pe estimarea markerilor relativi noi, cât și a celor clasici în dezvoltarea patologiei, cât și corelarea acestora cu gradul de progresie a RH. Prin urmare, biomarkerii circulanți ar putea deveni viitorul prevenției, unui control mai bun și descreșterii morbidității legate de complicațiile oculare ale hipertensiunii.

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.

2.1.1. Caracteristica loturilor de studiu

Studiul a inclus 90 de pacienți hipertensivi, dintre care 38 (42.2%) bărbați și 52 (57.8%) femei, cu o vârstă medie de 59.36 ± 13.13 ani. Pentru a evidenția unele particularități clinico-evolutive respondenții din lotul de cercetare au fost stratificați conform gradelor de severitate a RH, fiind utilizată clasificarea Keith-Wagner-Barker, bazată [181,182] pe examinarea fundului de ochi, în corespundere cu design-ul studiului, după cum este prezentat și în figura 11:

- 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 și a numărului insuficient.

Lotul de cercetare reprezentativ a fost calculat în Programul EpiInfo 7.2.2.6, compartiment ”StatCalc – Sample Size and Power” pentru studiu analitic, observațional (de cohortă) în baza următorilor parametri:

- Intervalul de încredere pentru 95.0% de semnificație a rezultatelor.
- Puterea statistică – de 80.0%.

- Frecvența retinopatiei hipertensive conform surselor bibliografice recente în medie constituie 17.0 % [183, 184].

Rezultat:

- pentru 95.0% Îm mărimea lotului este de $n = 53$ respondenți,
- design-efect "deff" 1.5, $n = 79.5$,
- ajustarea către rata de non-răspuns, estimată de 10% ($q = 1/(1-f)$, f – rata estimată de non-răspuns de 10,0%), mărimea lotului ajustat = $79.5 \times 1.1 = 87$ de respondenți.

Neomogenitatea între grupuri nu va constitui un dezavantaj, astfel încât pentru a compara markerii studiați se va utiliza metoda directă de standardizare.

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.

Pacienții au fost evaluați utilizând un interviu pentru a determina caracteristicile demografice și clinice: vârsta, sexul, statutul marital, domiciliul, vârsta la debutul maladiei și tratamentul în caz că acesta este.

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, autorefractometria, 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 genă, glaucom, retinopatie diabetică, procese inflamatorii acute și cronice, uveite);
5. Tratament ce poate influența modificările markerilor.

2.1.2. Metode de cercetare și acumulare a datelor primare

1. Metode clinice (examenul clinic al pacientului). Cercetarea a inclus evaluarea generală a statutului pacientului (vârstă, IMC, TAS, TAD etc.), evaluarea specifică oftalmologică (determinarea acuității vizuale, autorefracto-keratometria, perimetria, biomicroscopia segmentului anterior și a fundului de ochi, ultrasonografia globului ocular, tonometria, gonioscopia, pahimetria, OCT a zonei maculare și a papilei nervului optic la necesitate).

2. Extragerea unor date din fișa medicală. În corespundere cu scopul, obiectivele și metodologia cercetării din fișele medicale ale potențialilor participanți în studiu au fost extrase datele referitor la comorbiditățile somatice severe, riscurile profesionale, traumatismele oculare și cranio-cerebrale în antecedente, maladiile asociate oculare.

3. Metode biochimice de investigare. S-a realizat evaluarea indicilor de laborator – nivelul de microalbumină, LDL și HDL-colesterol, angiotensină II, activitatea enzimei de conversie, NO (oxid nitric), S-nitrozotoli, DAM (dialdehida malonică), albumină ischemic modificată (AIM) și proteine ischemic modificate, produși proteici de oxidare avansată (PPOA), activitatea antioxidantă totală (AAT), activitatea superoxid dismutazei (SOD), catalazei, glutacion peroxidazei (GPx), glutacion reductazei (GR) și nivelul de glutacion (GSH/GSSG) și grupări tiolice proteice.

4. Metode analitice. S-a efectuat analiza corelațională a indicilor de laborator în ser și lacrimă, precum și a statutului oftalmologic cu indicii de laborator și au fost identificați cei cu potențial diagnostic și prognostic.

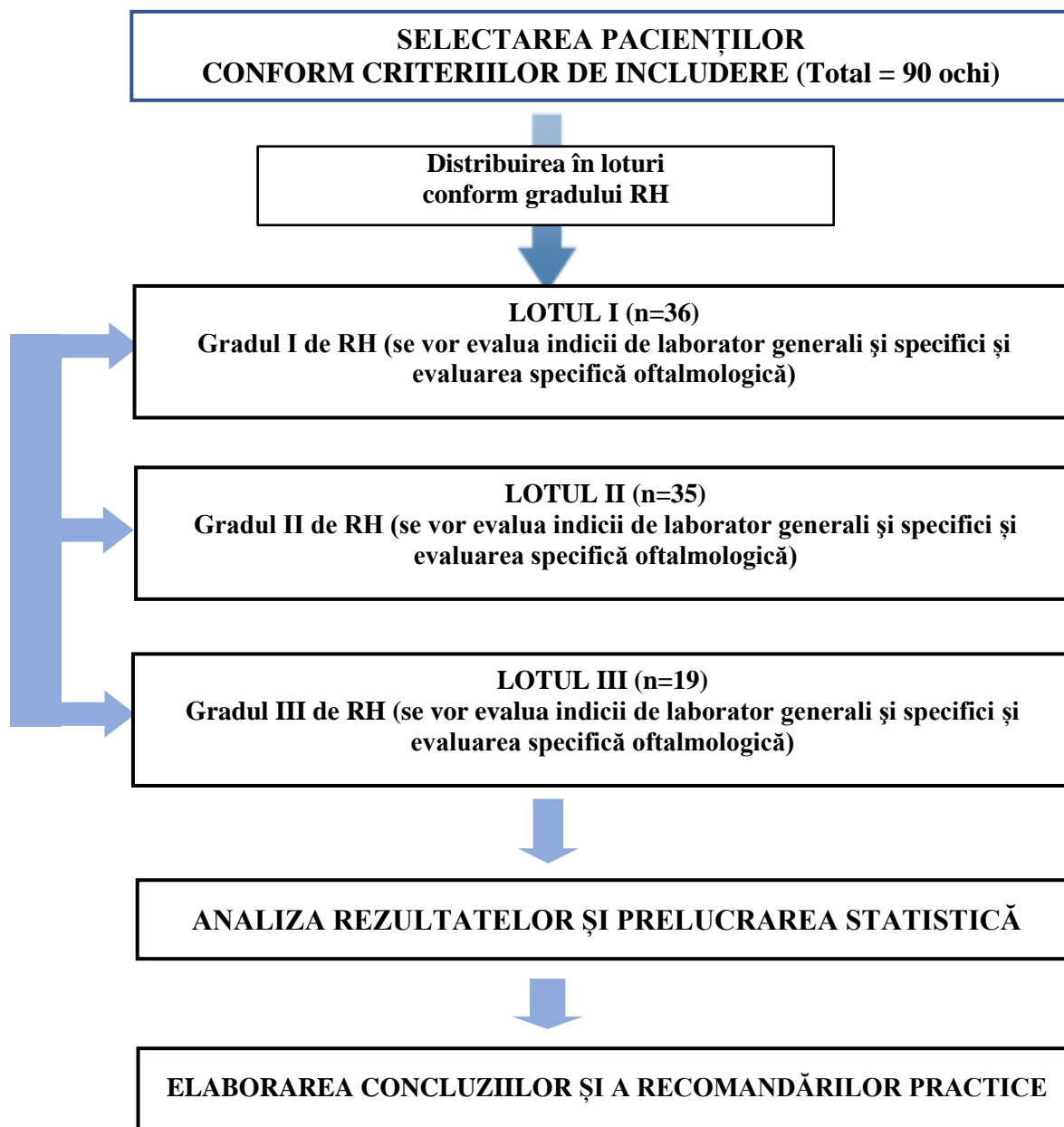


Figura 11. Design-ul studiului

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 separat.

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.

Prin metode fotocolorimetrice și imunoenzimaticice au fost evaluate în ser și lacrimă indicii:

- stresului oxidativ și sistemului antioxidant: oxidul nitric, S-nitrozotoli, dialdehida malonică, produși proteici de oxidare avansată, activitatea antioxidantă totală, catalaza, superoxid dismutaza, glutationul redus, glutation peroxidaza, glutation reductaza, SH-grupări tiolice;
- ischemiei: albumina ischemic-modificată;
- sistemului renin-angiotensină: angiotensina II, activitatea enzimei de conversie a angiotensinei;
- metabolismului lipidic: trigliceridele, colesterolul total, LDL-colesterol, HDL-colesterol);
- proteinelor totale.

Investigațiile biochimice au fost efectuate după metode adaptate de colaboratorii Laboratorului de biochimie al USMF “Nicolae Testemițanu” pentru spectrofluorimetrul cu microplăci Synergy H1 (Hybrid Reader) (BioTek Instruments, SUA) și spectrofotometrul Power Wave HT (BioTek Instruments, SUA), figura 12.



Figura 12. Spectrofluorimetrul cu microplăci Synergy H1 (Hybrid Reader, SUA) și spectrofotometrul PowerWave HT (BioTek Instruments, SUA)

2.2.2. Determinarea indicilor stresului oxidativ

Dozarea *oxidului nitric* a fost realizată conform procedurii descrise de Метельская В.А. și Гуманова Н.Г. [184] în modificarea Gudumac V. și coaut. [185]. Principiul metodei constă în deproteinizarea materialului biologic, reducerea nitraților în nitriți, prelucrarea cu reactivul Griss a supernatantului, și măsurarea ulterioară a densității optice a produsului reacției. Calculul concentrației nitritului s-a efectuat cu ajutorul curbei de calibrare și a fost exprimat în $\mu\text{mol/L}$ atât pentru ser cât și pentru lacrimă.

Determinarea nivelului de *S-nitrozotoli* a fost efectuată prin metoda descrisă de Haqqani A.S. și coaut. [186,187], modificată de Gudumac V. și coaut. [188]. Principiul metodei se bazează pe eliberarea și captarea NO_2 sub influența sulfamatului de amoniu și măsurarea intensității fluorescenței probelor la 360 nm (excitare) și 450 nm (emisie), ce se formează la interacțiunea NO_2 cu reagentul ce conține 2,3-diaminonaftalen. Ulterior, calculul a fost efectuat cu ajutorul curbei de calibrare construită în baza diluțiilor succesive ale sol. standard de S-nitrozotoli, iar rezultatele prezentate în $\mu\text{mol/L}$.

Determinarea *dialdehidei malonice* – produsul final al peroxidării lipidelor, s-a efectuat conform procedurii descrise de Галактионова Л.П. și coaut. [189], în modifi cația Gudumac V. și coaut. [190]. Metoda se bazează pe identificarea spectrofotometrică a complexului trimetic colorat, rezultat în urma interacțiunii acidului tiobarbituric cu DAM. Concentrația DAM în proba de interes este direct proporțională cu intensitatea colorației, iar rezultatul final a fost exprimat în $\mu\text{mol/L}$ pentru ambele lichide biologice cercetate.

Nivelul *produșilor proteici de oxidare avansată* a fost estimat cu ajutorul metodei propuse de către Capeillere-Blandin C., și coaut. [191], modificată de Gudumac V. și coaut. [192], aceștia fiind identificați spectrofotometric datorită absorbantei specifice la 340 nm. Cantitatea de PPOA a fost evaluată cu ajutorul curbei de calibrare a sol. standard de cloramină-T (0-100 $\mu\text{mol/L}$), structurizată în baza diluțiilor succesive. Rezultatul a fost prezentat în $\mu\text{mol/L}$.

2.2.3. Aprecierea markerilor sistemului antioxidant

Nivelul *total al antioxidanților* (AAT) a fost apreciat conform metodei bazate pe degradarea radicalului acidului 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolină-6-sulfonic (ABTS) la interacțiunea cu compușii serici cu proprietăți antioxidante și măsurarea absorbției diminuate la 734 nm [193]. Nivelurile AAT serice și lacrimale au fost exprimate în $\mu\text{M/L}$.

Activitatea *superoxid dismutazei* (EC 1.15.1.1) a fost estimată conform metodelor descrise de Матюшин Б.Н. și coaut. [194] și Дубинина Е.Е. și coaut. [195], modificate de Tagadiuc O. și coaut. [196]. Activitatea SOD s-a analizat indirect, apreciindu-se gradului de inhibare a reducerii sării de tetrazolium nitroblue (NBT) în nitroformazan. Cantitatea acestuia a fost dozată apoi

spectrofotometric la 540 nm, intensitatea colorației fiind proporțională cu cantitatea de NBT redus. Activitatea SOD este capabilă să inhibe acest proces [196]. Activitatea SOD a fost exprimată în unități convenționale (u.c.) atât pentru ser cât și pentru lacrimă.

Determinarea activității *catalazei* (EC 1.11.1.6) a fost efectuată utilizându-se procedeul descris de Корольюк M.A. și coaut. [197], modificat de Baciuc E. și Nastas I. [198], estimându-se proprietatea enzimei de a scinda molecula de H_2O_2 în H_2O și O_2 . H_2O_2 ulterior formează cu molibdatul de amoniu, un compus complex de culoare galbenă, iar descompunerea acestuia de către enzimă, induce decolorarea soluției, determinată spectrofotometric la 410 nm. Activitatea CAT corelează cu gradul decolorării și a fost exprimată în micromoli la 1 litru de ser ($\mu\text{mol/L}$).

Activitatea *glutathion peroxidazei* (EC 1.11.1.9) s-a estimat în baza testului optic Warburg, utilizându-se procedeul propus de Wendel A. [199], modificat de Tagadiuc O. și coaut. [200], determinându-se absorbanta la intervale de timp prestabilite la 340 nm. Rezultatul activității GPx a fost exprimat în nanomoli de glutathion redus pe secundă la un litru de ser sangvin sau lacrimă (nmol/s/L).

Activitatea *glutathion reductazei* (EC 1.6.4.2) s-a determinat prin metoda descrisă de Власова C.H. și coaut. [201], modificată de Gudumac V. și coaut. [202], ce are la bază testul optic Warburg. La baza metodei stă măsurarea consumului de NADPH, utilizat de către GR cu scopul reducerii GSSG, observat prin diminuarea absorbantei la 340 nm. Activitatea enzimei a fost exprimată în nanomoli de GSSG ce a fost transformat în GSH într-o secundă la un litru de ser sangvin/lacrimă ($\mu\text{mol/s/L}$).

Nivelul *glutathionului redus* a fost determinat conform procedurii descrise de Mortensen E. [203], modificat de Andronache L. și coaut. [204]. Principiul metodei are la bază interacțiunea în mediu alcalin a GSH cu ionii de cian și nitroprusiatul. Compus complex format este de culoare roșie-violetă, iar intensitatea acestei colorații este direct proporțională cu concentrația de glutathion redus în materialul biologic cercetat. Curba de calibrare construită este utilizată în calculare, fiind obținută prin diluțiile soluției standard stock de glutathion redus. Rezultatele se prezintă în $\mu\text{mol/L}$ pentru ser și lacrimă.

Conținutul de *grupări tiolice ale proteinelor* în materialul de cercetare s-a apreciat în conformitate cu procedeul propus de Ellman G. L. și Hu M.L. [205,206], modificat de Gudumac V. și coaut. [207]. Principiul metodei se bazează pe interacțiunea dintre reactivul Ellman - 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) și grupele tiolice ale proteinelor, ce va forma un compus colorat cu capacitatea maximă de absorbție la 412 nm. Rezultatul se exprimă în $\mu\text{M/g.proteină}$.

2.2.4. Dozarea indicilor ischemiei

Dozarea *albuminei ischemic modificate* a fost realizată cu ajutorul metodei descrise de

Gudumac V. și Tagadiuc O. [208], ce are la bază proprietatea albuminei de a lega ionii de cobalt (Co^{2+}), ce scade în condiții de ischemie datorită modificărilor ischemice ale structurii proteinei. Colorația soluției experimentale este determinată de conținutul ionilor liberi de Co^{2+} . Evaluarea modificării intensității colorației soluției are loc prin măsurarea spectrofotometrică a absorbanței la 492 nm. Curba de calibrare a soluției standard de CoCl_2 , construită în baza diluțiilor succesive a fost utilizată pentru efectuarea calculelor nivelului de AIM. Rezultatele finale au fost exprimate în $\mu\text{mol/L}$ atât pentru ser cât și pentru lacrimă.

2.2.5. Identificarea markerilor SRA

Nivelul *angiotensinei II* și a *enzimei de conversie a angiotensinei* a fost estimat prin metoda imunoenzimatică ELISA, utilizând-se instrucțiunile tehnice ale kiturilor standard *Human angiotensin II, ANG-II Elisa Kit* și *ACE Elisa Kit* ale companiei MyBioSource, Inc. (USA) (figura 13).



Figura 13. Human angiotensin II, ANG-II Elisa Kit și ACE Elisa Kit

2.2.6 Evaluarea unor indici ai metabolismului lipidic și proteic

Conținutul indicilor lipidici au fost apreciați prin metoda spectrofotometrică urmând instrucțiunilor tehnice a kiturilor standard ale companiei DAC-Spectromed (Moldova).

Conținutul *triacilgliceridelor* (TAG) a fost determinat utilizându-se metoda colorimetrică enzimatică GP/PAP, în baza procedurii descrise de Bucolo G și colab. și Fossati P. și colab. [209,210].

Nivelul *colesterolului total* a fost evaluat conform metodei descrise de Naito și colab. Și Melattini F. și colab. [211,212].

Metoda lui Burstein M. și colab. și Lopes-Virella M.F. și colab. a fost aplicată pentru testarea *HDL-Col* după precipitarea chilomicronilor, VLDL și LDL [213,214].

Pentru evaluarea *LDL-Col* a fost utilizată metoda de Nauck M. și colab. [215].

Conținutul de *proteină totală* a fost determinat după metoda biuretică, respectându-se instrucțiunilor setului standard al companiei Dac-SpectroMed (Moldova). Proteina din proba de

cercetare intră în reacție cu ionii de cupru în mediul alcalin, formând un complex colorat. Intensitatea culorii, măsurată la lungimea de undă de 546 nm, este proporțională cu concentrația proteinei. Cantitatea proteinei totale a fost exprimată în grame de proteină la 1 litru de ser sangvin sau lacrimă (g/L).

2.3. Tehnologii informaționale și procedee de analiză statistică a rezultatelor

În literatura științifică internațională au fost analizate date de ultimă oră ce țin de tematica tezei de doctor, fiind accesate baze de date cu predilecție de profil medical: Google scholar, HINARI, ARDI, OARE. Au fost utilizate următoarele cuvintele cheie: hypertensive retinopathy, hypertension, eye, retina, ischemia, oxidative stress, antioxidant defense system, reactive oxygen species, nitric oxide, ischemia modified albumin, glutathione peroxidase, glutathione reductase, endothelial dysfunction, renin-angiotensin system, angiotensin-converting enzyme.

Teza a fost redactată utilizându-se programul Microsoft Office versiunea 2020.

Prelucrarea statistică a rezultatelor investigațiilor biochimice s-a efectuat utilizând pachetul software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versiunea 23.0, același soft fiind utilizat pentru crearea tabelor și figurilor ce oferă vizualizarea grafică a rezultatele cercetării.

Inițial s-au analizat și ales testele propice și aplicabile în cadrul cercetării. Pentru a analiza distribuția datelor au fost utilizate testele de normalitate Kolmogorov-Smirnov și Shapiro-Wilk. Omogenitatea varianței a fost determinată utilizând testul Lavene, rezultatele acestuia fiind interpretate astfel: $p > 0,05$ prezintă că loturile nu au abateri standard diferite, iar $p < 0,05$ - faptul că acestea diferă [216]. În urma analizei distribuției datelor, cu scopul identificării diferențelor semnificative între cele 3 grupuri, a nivelului indicilor studiați a fost aplicat testul non-parametric Kruskal-Wallis, o alternativă nonparametrică a testului ANOVA, aplicată în cazul în care grupele cercetate nu îndeplinesc cerințele testelor parametrice. Testul permite compararea în același timp a medianelor a două și mai multe loturi, determinând diferențele semnificative între grupe, însă fără a elucida cu certitudine lotul ce diferă de celelalte.

Astfel, pentru a evidenția diferențele între loturi, a fost aplicat ulterior testul post-hoc pentru comparații PostHocDunn. Pragul de semnificație stabilit a fost $p < 0.05$.

Rezultatele au fost prezentate cu ajutorul indicatorilor statisticii descriptive:

- **mediana:** indicatorul utilizat pentru a caracteriza tendința centrală;
- **abaterea intercuartilă (IQR):** indicatorul ce măsoară modul în care rezultatele se dispersează în jurul mediei.

Analiza existenței unei legături de dependență între fenomenele cercetate din serul sangvin și lacrimă, a fost efectuată utilizând coeficientul de corelație al rangurilor (Spearman). Valoarea lui $p < 0,05$ a fost considerată statistic semnificativă. Intensitatea corelației a fost apreciată în modul

următor:

- 0 – 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;
- 0.8 - 1.0 – corelație foarte puternică

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 retinopatia hipertensivă

Importanța SO în patobiocimia RH pare a fi incontestabilă, fiind într-o interdependență strânsă cu o serie de mecanisme moleculare cheie, precum ischemia, inflamația, disfuncția endotelială, hipertrofia, apoptoza, migrația celulară, fibroza și angiogeneza, toate acționând sinergic. Menționăm totuși că rezultatele cercetărilor pe subiecți umani sunt neconcludente chiar și în pofida datelor disponibile care confirmă SO în calitate de factor patogenetic al HTN esențiale [217], iar modelele experimentale de HTN prezentând o formă de exces oxidativ, inclusiv și pentru formele genetice [218].

Este imperativă elucidarea rolului amplificării SO, ce constituie un mediator pivotal al leziunilor endoteliale în patologia HTN în RH [219].

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 14).

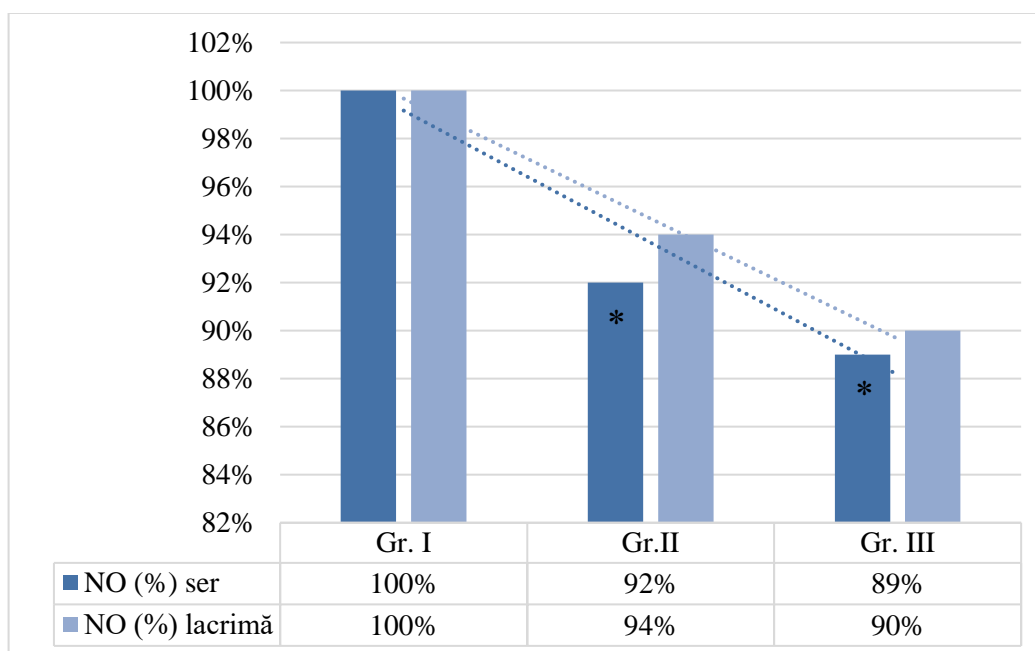


Figura 14. Modificarea nivelului de NO în serul și lacrima pacienților cu diferit grad de RH

Diferență statistic semnificativă comparativ cu gr. I a RH: * – $p<0.05$;

În serul pacienților s-a atestat o descreștere graduală statistic semnificativă a cantității de NO cu aproximativ -8% comparativ cu grupul I (de la 71.69 $\mu\text{M/L}$, IQR 11.82, până la 65.88 $\mu\text{M/L}$, IQR 15.50, $p=0.048$), ulterior fiind consemnată o altă diminuare de -3% (de la 65.88 $\mu\text{M/L}$,

IQR 15.50 până la 63.55 $\mu\text{M/L}$, IQR 14.73, $p=0.540$) în grupul III. O diferență statistic semnificativă s-a remarcat și între valorile determinate în grupul III comparativ cu grupul I (de la 63.55 $\mu\text{M/L}$, IQR 14.73 până la 71.69 $\mu\text{M/L}$, IQR 11.82, $p=0.023$).

În proba de lacrimă, valorile NO s-au evidențiat printr-o tendință continuă de scădere. Astfel, a avut loc o diminuare ne semnificativă de 6% a cantității de NO în lotul II comparativ cu lotul I (de la 55.41 $\mu\text{M/L}$, IQR 16.27, până la 51.93 $\mu\text{M/L}$, IQR 13.95, $p>0.05$), urmată de o nouă scădere de -4% (de la 51.93 $\mu\text{M/L}$, IQR 13.95, până la 49.60 $\mu\text{M/L}$, IQR 12.40, $p>0.05$).

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-nitrozotolioli în grupele cercetate nu a înregistrat modificări statistic veridice nici în ser ($p=0.694$), nici în lacrimă ($p=0.706$) (figura 15).

În ser, nivelul de S-nitrozotolioli a demonstrat o scădere ne semnificativă în GII comparativ cu GI, confirmată prin diminuarea valorilor de la 3.03 $\mu\text{M/L}$, IQR 1.18 până la 2.87 $\mu\text{M/L}$, IQR 0.61, urmată de o creștere ușoară în GIII - 2.91 $\mu\text{M/L}$, IQR 0.82.

În lacrimă, s-a atestat o tendință de creștere continuă a nivelului de S-nitrozotolioli de la 3.99 $\mu\text{M/L}$, IQR 0.86 în lotul I, la 4.13 $\mu\text{M/L}$, IQR 1.39 în lotul II și respectiv 4.23 $\mu\text{M/L}$, IQR 1.14 în lotul III.

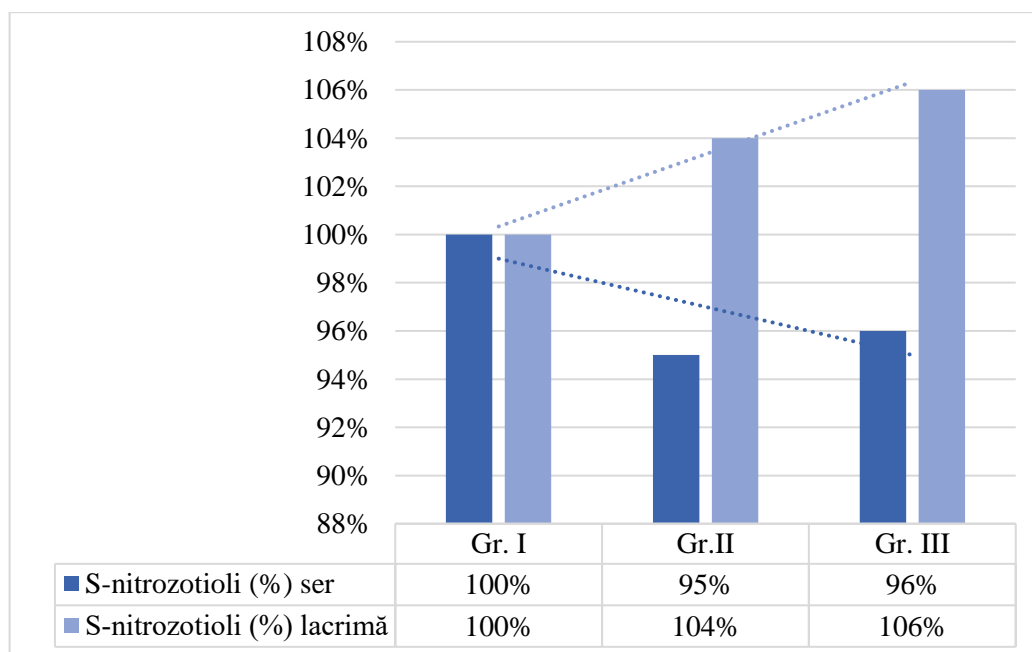


Figura 15. **Modificarea nivelului de S-nitrozotolioli în serul și lacrima pacienților odată cu avansarea în grad a RH**

Nu a fost determinată o corelație între gradul de retinopatie și nivelul de S-nitrozotolioli în ser ($r_s=-0.049$, $p=0.647$) și în lacrimă ($r_s=-0.076$, $p=0.475$) și nici între valorile S-nitrozotolioli în

cele 2 probe studiate ($r_s = 0.142$, $p = 0.181$).

Efectele biologice ale oxidului de azot sunt în mare parte mediate de S-nitrozilarea peptidelor și proteinelor pentru a produce S-nitrozotoli bioactivi, care reprezintă metaboliți mai stabili ai oxidului de azot [220], astfel modificările nivelurilor NO și S-nitrozotiolilor trebuie analizate în corelare.

NO poate produce atât efecte pozitive, cât și negative, în funcție de etapa procesului patogenic, de concentrația NO, cât și de prezența unor alți factori adiționali. NO contribuie la reglarea fiziologică a hemodinamicii oculare și a viabilității celulare și protejează celulele endoteliale vasculare și celulele nervoase împotriva factorilor patogenetici, în cazul nostru, factori predispozanți ai HTN.

Se consideră că, în condițiile unui stres oxidativ amplificat, în care anionul superoxid este sintetizat în cantități mari, activitatea NOS este modificată, nivelul de GSH scade, NO \cdot disponibil se poate reduce semnificativ, fapt demonstrat la pacienții hipertensivi, această modificare explicând DE în HTN [221-223].

Aceste ipoteze tind să explice modificările cantității de NO din studiul nostru, atestându-se reducerea acestora cu aproximativ 11% ($p = 0.039$) în ser și 10% ($p > 0.05$) în lacrimă, o dată cu evoluția RH în timp.

Așa cum a fost menționat deja și de Toda și Nakanishi-Toda (2007), este dificil să se dezvolte strategii terapeutice cu ideea de suplimentare sau diminuare a NO pentru a preveni sau trata retinopatia [224,225]. Acest fapt se datorează rolului dihotomic al NO atât în ochi cât și la nivel general. Cercetări suplimentare privind rolul NO în patogeneza retinopatiei ar fi justificate, însă una dintre strategii cu un potențial viitor ar ține de diminuarea nivelului de anion superoxid, ce ulterior ar însemna și o cantitate mai mică de peroxinitrit generat, respectiv reducându-se și leziunile tisulare.

Literatura de specialitate pe larg descrie implicarea S-nitrozotiolilor în calitate de intermediari în procesele de semnalizare dependente de NO și independente de guanilil ciclază. Proteinele tiolice reactive sunt considerate a fi o țintă intracelulară majoră a NO. Deși există rapoarte conform cărora unele enzime pot potențial influența metabolismul S-nitrozotiolului, majoritatea efectelor NO, independente de GMPc sunt atribuite proceselor nonenzimatice [220].

Interpretarea nivelurilor anormale de S-nitrozotoli în numeroase stări fiziopatologice, implică faptul că dereglarea homeostaziei acestora poate contribui la patogeneza bolii.

În studiul nostru s-a observat o tendință de reducere a concentrației de S-nitrozotoli în ser, urmată de o ușoară amplificare. Această creștere tranzitorie în gradul III a RH ar putea fi explicată prin inducerea NOSII [226].

Diminuarea nivelului de S-nitrozotoli în ser poate fi un rezultat al instalării graduale a

disfuncției endoteliale și o biosinteză alterată a NO. Această reducere nu este într-atât de considerabilă, dar se află într-o concordanță cu studiile ce demonstrează perturbarea metabolismului NO la pacienții cu HTN [227].

Cel mai probabil majorarea conținutului de S-nitrozotoli 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.

Cu scopul analizei efectelor nocive ale SO asupra biomoleculilor s-a determinat nivelul DAM – produsul final al peroxidării lipidelor, precum și al PPOA – produsul modificărilor oxidative ale proteinelor [228].

Valorile DAM, au relevat doar tendințe statistic neconcludente de creștere în ser ($p=0.628$) și diminuare în lacrimă ($p=0.527$) (figura 16). În ser a fost remarcată amplificarea continuă a valorilor DAM de la 15.20 $\mu\text{M/L}$, IQR 1.73 în GI până la 15.30 $\mu\text{M/L}$, IQR 2.18 în GII și succesiv până la 15.50 $\mu\text{M/L}$, IQR 1.79 în GIII.

Comparativ cu valorile obținute în ser, cele din lacrimă au oferit rezultate în descreștere de la 12.82 $\mu\text{M/L}$, IQR 3.33 în GI până la 12.72 $\mu\text{M/L}$, IQR 3.18 în GII și ulterior până la 12.52 $\mu\text{M/L}$, IQR 1.59 în GIII.

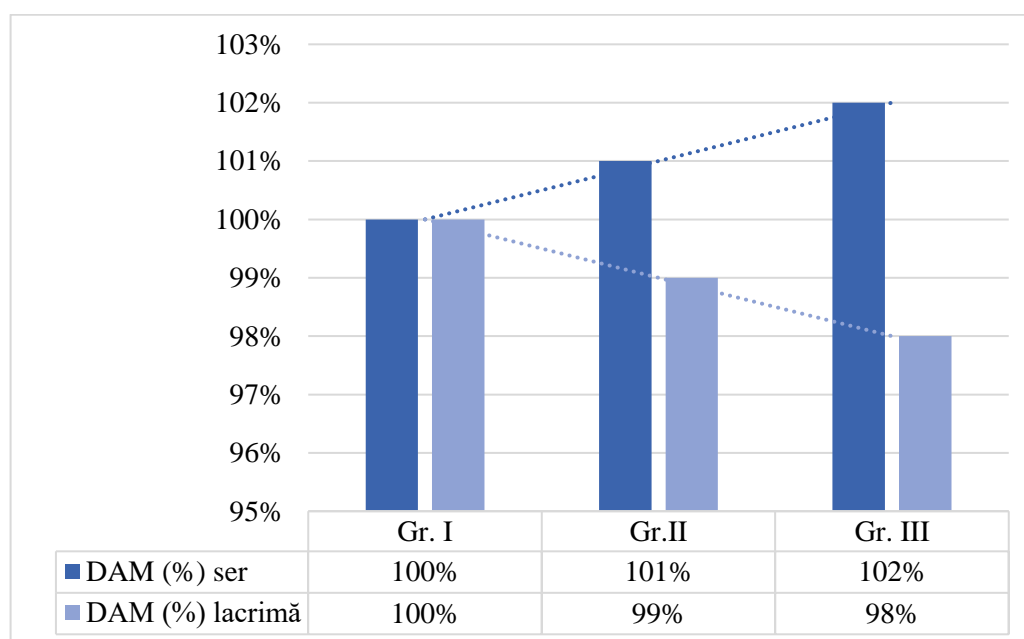


Figura 16. **Modificarea nivelurilor DAM în serul și lacrima pacienților concomitent cu progresarea în grad a RH**

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.

Fiind un produs final stabil al peroxidării lipidice, DAM este considerată a fi un marker

important al leziunii tisulare provocate de SRO, iar determinarea acestui indice biochimic în fluidele de interes, prezintă o metodă de identificare a prezenței leziunilor oxidative a lipidelor.

DAM conține două grupări aldehidice reactive capabile să interacționeze cu două molecule distincte (R_1-NH_2 și R_2-NH_2), „conjugându-le” în produse cu o structură caracteristică ($R_1-N=CH-CH=NH-R_2$) numite baze Schiff. S-a demonstrat faptul că aldehydele formate ca urmare a peroxidării lipidice au o reactivitate mai mică decât radicalii liberi și, astfel, difuzează la distanțe semnificative în celule, jucând rolul unor „mediatori secundari” ai leziunilor cauzate de SRO și SRN. Ele reacționează în mare parte cu grupările tiol și amină ale proteinelor, lipidelor, aminoacizilor și bazelor azotate ale acizilor nucleici. Subsecvent se modifică proprietățile fizice ale membranelor celulare prin amplificarea permeabilității lor pentru ionii H^+ și alte substanțe polare. Acest lucru induce perturbări ale potențialului electric al membranei, finalizând cu abolirea integrității membranelor intracelulare și a membranei celulare și inhibarea activității enzimelor membranei și a proteinelor carrier [229].

Per general, literatura de specialitate decelează faptul că concentrațiile serice de DAM sunt mai mari la pacienții hipertensivi în comparație cu persoanele normotensive, sugerând o amplificare a SO la pacienții cu HTN [230-232].

Nwanjo și colab. (2007) și Mahdi și colab. (2002) au demonstrat amplificarea nivelurilor de DAM în ser în cazurile esențiale de hipertensiune arterială [233,234].

DAM este un indice identificat în mediile și țesuturile oculare în cadrul unor modele experimentale ce țin de bolile retiniene [235] și ulterior utilizat ca biomarker al SO în mediile oculare umane [236]. Studii singulare raportează evaluarea nivelurilor DAM în mod specific în lacrimi și s-au analizat și nivelurile acestuia în raport cu vârsta [237], care nu corelează însă cu rezultatele noastre.

Printre indicii de laborator care au fost analizați în contextul modificărilor oxidative ale proteinelor induse de SO sunt produșii proteici de oxidare avansată (PPOA).

O amplificare a cantității SRO rezultă în transformări structurale ale proteinelor, modificându-le în particule patologice numite PPOA, care *de facto* reprezintă niște derivați modificați oxidativ ai albuminei, fibrinogenului și lipoproteinelor. PPOA posedă proprietăți biologice distincte, similare cu cele ale AGE-urilor, legându-se de același receptor, RAGE. Fiziologic acestea pot fi decelate în concentrații scăzute, în sângele persoanelor sănătoase, însă valorile de referință pentru subiecții sănătoși nu sunt disponibile în literatură [238,239].

În studiu nostru nu au fost semnalate diferențe statistic semnificative între PPOA în serul sangvin ($p=0.071$) și în lacrima ($p=0.655$) pacienților odată cu progresarea RH.

În serul pacienților s-a atestat inițial o tendință de creștere a PPOA cu aproximativ +52% (de la 3.27 $\mu M/L$, IQR 3.74, până la 5.00 $\mu M/L$, IQR 5.82, $p>0.05$) în grupul II comparativ cu grupul

I, urmată de o altă amplificare cu +71% (de la 5.00 $\mu\text{M/L}$, IQR 5.82 până la 7.34 $\mu\text{M/L}$, IQR 8.84, $p>0.05$) în grupul III.

În proba de lacrimă, PPOA s-au remarcat printr-o tendință de diminuare cu cca 7% în lotul III comparativ cu lotul I (de la 2.46 $\mu\text{M/L}$, IQR 1.79, până la 2.29 $\mu\text{M/L}$, IQR 0.85, $p>0.05$) (figura 17).

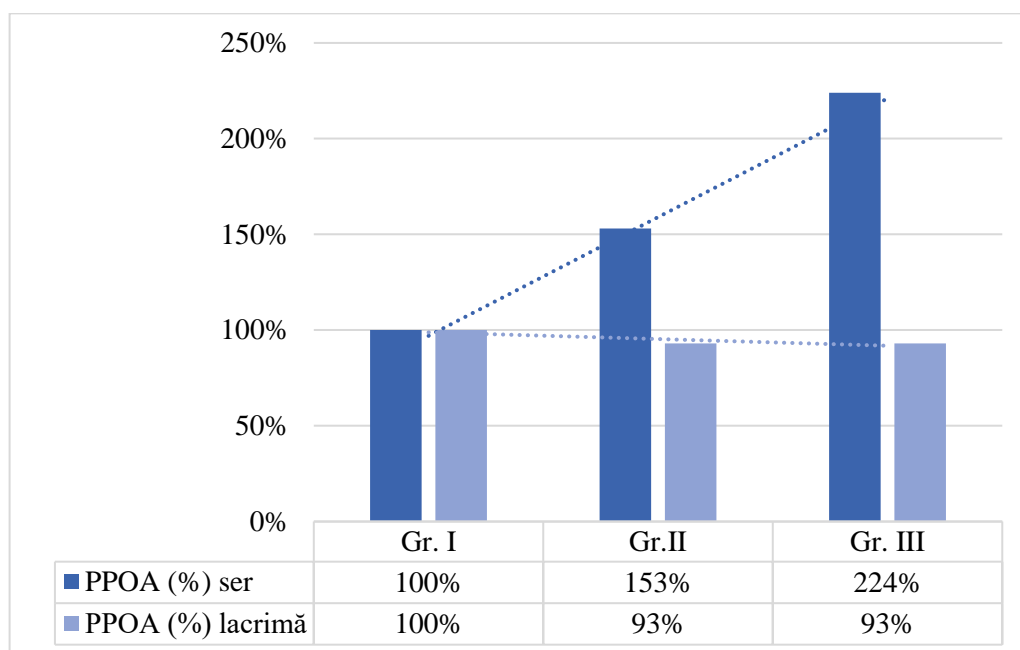


Figura 17. Modificările PPOA în serul și lacrima pacienților în diferite grade ale RH

A fost remarcată o corelație pozitivă slabă între gradul retinopatiei și nivelul de PPOA în ser ($r_s = 0.243$, $p = 0.021$), spre deosebire de PPOA în lacrimă ($r_s = -0.037$, $p = 0.731$). Nu s-a stabilit nici o corelație ($r_s = 0.035$, $p = 0.745$) între valorile PPOA între cele 2 probe de interes.

În literatura de specialitate se identifică posibila explicație a valorilor majorate de PPOA în ser, atestându-se faptul că intensificarea SO, o verigă patogenetică a HTN, induce modificări patologice proteice [238,240]. Proteinele sunt una din țintele principale ale SRO [241], deteriorarea oxidativă a căroră este reflectată de către nivelurile crescute de PPOA [242]. Totodată literatura de specialitate remarcă că PPOA poate fi și un factor de amplificare a SO, prin inducerea producției de SRO intracelular [243-246].

Această constatare sugerează că stresul oxidativ poate fi implicat în patogeneza hipertensiunii arteriale sau că hipertensiunea în sine sau factorii asociați cu hipertensiunea arterială, pot avea un efect suplimentar asupra stresului oxidativ la pacienții cu RH, fapt confirmat și de ultimele studii în domeniu [247]. În studiul nostru, nivelul PPOA în ser a corelat pozitiv, fie și cu putere slabă cu gradul retinopatiei, sugerând o amplificare a SO și a deteriorării oxidative a proteinelor concomitent cu evoluția retinopatiei.

Însă, valorile în diminuare a PPOA în lacrimă concomitent cu evoluția în grad a RH ar

sugera o posibilă protecție la nivel local capabilă să contracareze efectele SO, atestată de creșterea AAT în lacrimă.

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 ($p=0.003$). Astfel amplificarea AAT în GII în comparație cu GI a fost de +77% ($15.14 \mu\text{M/L/g}$ proteină, IQR 9.09, $p=0.006$) și în GIII comparativ cu GII cu +14% ($16.33 \mu\text{M/L/g}$ proteină, IQR 14.43 vs. $15.14 \mu\text{M/L/g}$ proteină, IQR 15.75, $p=0.478$) (figura 18). S-a depistat o diferență semnificativă statistic între grupul I - $8.53 \mu\text{M/L/g}$ proteină, IQR 9.09 și III - $16.33 \mu\text{M/L/g}$ proteină, IQR 14.43 ($p=0.002$).

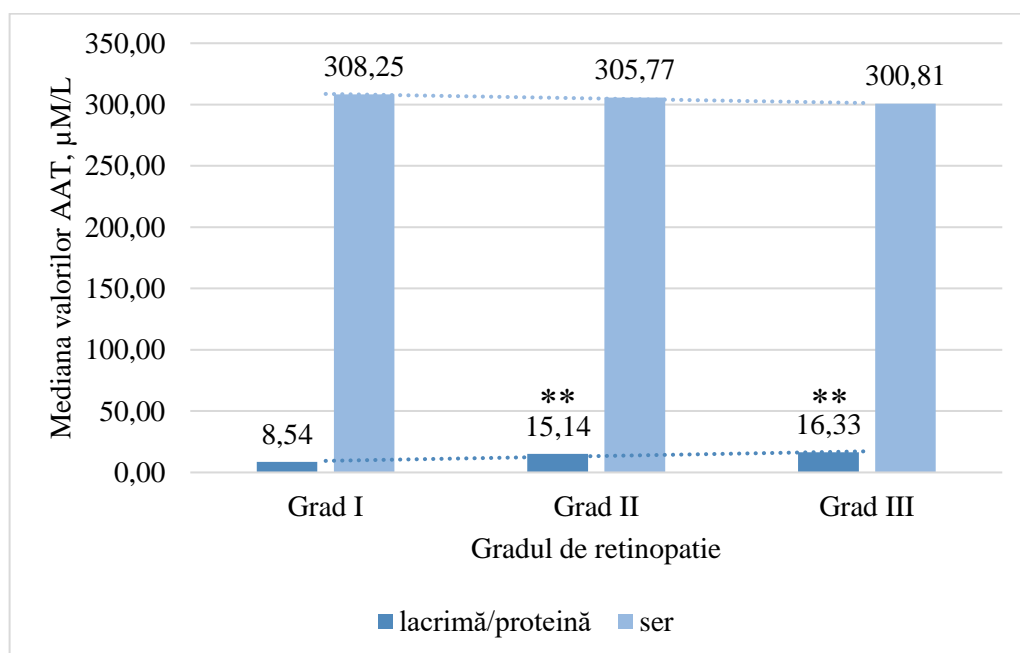


Figura 18. Evoluția valorilor AAT în serul și lacrima pacienților cu RH

Notă: Diferență statistic semnificativă comparativ cu gr. I a RH: ** – $p<0.01$;

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 18).

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 ($r_s = 0.357$, $p=0.001$).

De-a lungul timpului, dovezile dezvoltării SO în HTN au fost furnizate fie de nivelurile

amplificate ale produselor de degradare ale SRO, fie de deficiențele antioxidanților specifici, sau de către diminuarea nivelului AAT la pacienții hipertensivi [248]. Cu toate acestea, corelațiile dintre statutul antioxidant, controlul tensiunii arteriale și riscul de apariție a complicațiilor la persoanele cu HTN nu sunt complet elucidate nici acum [248-250].

În studiul nostru, au fost pentru prima dată determinate modificările AAT în funcție de etapele retinopatiei [251]. De asemenea, rezultatele studiului au oferit perspective noi, fluctuațiile AAT fiind testate și în lacrimă, aceste analize fiind considerate mai informative și țintite, în comparație cu cele serice, care reflectă leziunile generale ale organismului în HTN.

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).

În comparații de grup, nivelul SOD seric în GII a fost la nivelul specific GI (-1%; 1451.40 u/mL (IQR 199.73) față de 1467.37 u/mL (IQR 187.37), $p = 1.0$), și s-a diminuat neconcludent în GIII comparativ cu GII (-7%; 1352.86 u/mL (IQR 218.37) vs. 1451.40 u/mL (IQR 199.73), $p = 0.137$). S-au observat diferențe semnificative statistic între grupurile I și III (1467.37 u/mL (IQR 187.37) față de 1352.86 u/mL (IQR 218.37), $p = 0.032$) (tabelul 1).

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

Kruskal-Wallis	SOD		Catalaza	
	Me (LQ, UQ)		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 \blacksquare (20.57, 27.63) 118%

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

Diferență statistic semnificativă comparativ cu gr. I a RH: * – $p < 0.05$; comparativ cu gr. II a RH: \blacksquare – $p < 0.05$

Nivelurile SOD în lacrimă au prezentat o tendință similară, fiind atenuate în GII în comparație cu GI (-6%; 1057.52 u/mL (IQR 230.09) față de 1123.89 u/mL (IQR 219.03), $p=0.228$), precum și în GIII comparativ cu GII (-10%; 942.48 u/mL (IQR 223.0) vs. 1057.52 u/mL (IQR 230.09), $p=0.848$). Diferențe semnificative statistic au fost atestate între grupurile III și I (942.48 u/mL (IQR 223.0) față de 1123.89 u/mL (IQR 219.03), $p=0.031$).

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), tabelul 2.

Tabelul 2. Corelarea nivelurilor SOD și catalază în ser și lacrimă cu gradul RH

		SOD		Catalaza	
		ser	lacrimă	ser	lacrimă
Retinopatie	Coeficientul de corelație	-0.246	-0.284	0.143	0.261
	Semnificația statistică, test bilateral (p)	0.019	0.007	0.177	0.013

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. Nivelul catalazei în GII (+3%; 33.03 $\mu\text{M/L}$ (IQR 10.81) a crescut față de GI (32.20 $\mu\text{M/L}$ (IQR 11.30)), precum și la pacienții în GIII comparativ cu GII (+3%; 34.23 $\mu\text{M/L}$ (IQR 15.16) vs. 33.03 $\mu\text{M/L}$ (IQR 10.81)). Activitatea catalazei în ser nu a arătat o corelație cu gradul RH ($r_s=0.143$; $p=0.177$).

În lacrimă, valorile catalazei au fost 22.07 $\mu\text{M/L}$ (IQR 10.40) în grupul I, 24.77 $\mu\text{M/L}$ (IQR 6.61) (+12%, $p=0.023$) în grupul II și 26.13 $\mu\text{M/L}$ (IQR 7.06) (+6%, $p=0.839$) în al III-lea grup de pacienți cu RH. De asemenea, s-a stabilit o diferență semnificativă între grupurile I și III, $p=0.035$.

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 ($r_s=0.261$, $p=0.013$) (tabelul 2) [252].

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 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 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.

Prin urmare, nivelurile scăzute de SOD serice și lacrimale și activitatea crescută a catalazei serice și lacrimale în RH și corelația lor cu severitatea retinopatiei confirmă faptul că stresul

oxidativ poate fi atribuit mecanismului progresului RH.

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 deviere ne semnificativă statistic a nivelurilor de glutatation redus (GSH) între grupuri ($p = 0.357$) a fost observată în lacrimă. Valorile identificate pentru GI – 153.36 $\mu\text{M/L}$, IQR 92.97, GII - 153.36 $\mu\text{M/L}$, IQR 62.15 și respectiv GIII – 153.36 $\mu\text{M/L}$, IQR 123.62 [253].

În lacrimă, valorile GPx au fost 289.75 $\text{nM/s}\cdot\text{L}$, IQR 93.38 în grupul I, 308.55 $\text{nM/s}\cdot\text{L}$, IQR 146.16 (+6%, $p=0.182$) în grupul II și 357.27 $\text{nM/s}\cdot\text{L}$, 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 $\text{nM/s}\cdot\text{L}$, IQR 93.38 și III - 357.27 $\text{nM/s}\cdot\text{L}$, IQR 129.92 ($p=0.004$). Mai mult, a fost atestată o deviere veridică a nivelurilor GPx între grupuri în lacrimă ($p=0.015$) pe măsură ce RH a progresat (figura 19).

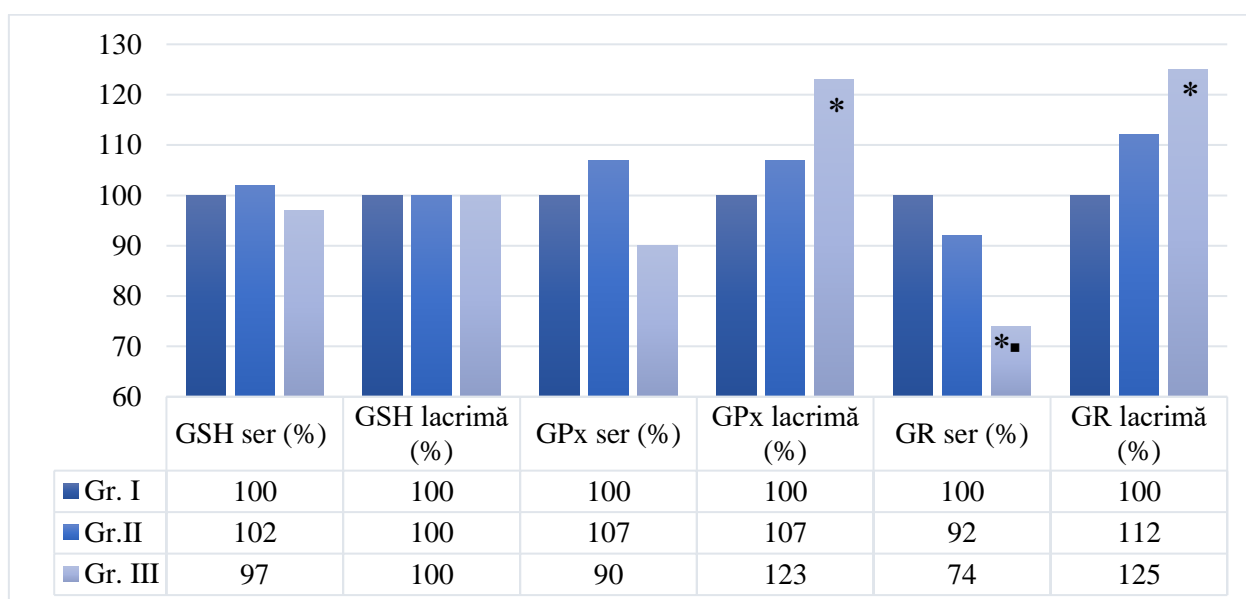


Figura 19. **Modificările valorilor GSH și activităților GR și GPx în ser și lacrimă raportate la stadiul RH**

Diferență statistic semnificativă comparativ cu gr. I a RH: * – $p < 0.05$; comparativ cu gr. II a RH: ■ – $p < 0.05$

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%; 160.77 $\text{nM/s}\cdot\text{L}$, IQR 107.18 vs 142.91 $\text{nM/s}\cdot\text{L}$, IQR 64.32, $p=0.492$) și în GIII comparativ cu GII (+25%; 196.50 $\text{nM/s}\cdot\text{L}$, IQR 117.86 vs

160.77 nM/s·L, IQR 107.18, p=0.009). În plus, s-a observat o modificare concludentă între GIII - 196.50 nM/s·L, IQR 117.86 și GI - 142,91 nM/s·L, IQR 64.32, p=0.045 (figura 19).

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%; 503.43 nM/s·L, IQR 178.63 față de 470.95 nM/s·L, IQR 174.58, p>0.05), a scăzut în GIII comparativ cu GII (-18%; 422.23 nM/s·L, IQR 308.56 vs. 503.43 nM/s·L, IQR 178.63, p>0.05) (figura 19).

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%; 643.09 nM/s·L, IQR 267.95 față de 696.67 nM/s·L, IQR 196.51, p = 0.345) și continuă să se micșoreze în GIII (-18%; 518.04 nM/s·L, IQR 228.73 vs. 643.09 nM/s·L, IQR 267.95, p = 0.027) (figura 19). O modificare semnificativă statistic a fost observată în GIII - 518.04 nM/s·L, IQR 228.73 comparativ cu GI - 696.67 nM/s·L, IQR 196.51 (p=0.003). Corelațiile dintre indicii serici și lacrimali sunt prezentate în tabelul 3.

Tabelul 3. Corelațiile nivelurilor GSH, GPx și GR în ser și lacrimă

		GSH		GPx		GR	
		în ser	în lacrimă	în ser	în lacrimă	în ser	în lacrimă
GSH	în ser	1.000	-0.361/ p=0.000	0.409/ p=0.000	-0.041/ p=0.705	0.202/ p=0.056	-0.129/ p=0.227
	în lacrimă	-0.361/ p=0.000	1.000	-0.197/ p=0.063	0.024/ p=0.821	-0.173/ p=0.102	0.190/p=0.073
GPx	în ser	0.409/ p=0.000	-0.197/ 0.063	1.000	-0.170/ p=0.109	0.187/ p=0.077	-0.116 /p=0.275
	în lacrimă	-0.041/ p=0.705	0.024/ p=0.821	-0.170/ p=0.109	1.000	-0.094/ p=0.381	0.417 /p=0.000
GR	în ser	0.202/ p=0.056	-0.173/ p=0.102	0.187/ p=0.077	-0.094/ p=0.381	1.000	-0.039/ p=0.714
	în lacrimă	-0.129/ p=0.227	0.190/ p=0.073	-0.116/ p=0.275	0.417/ p=0.000	-0.039/ p=0.714	1.000

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 (tabelul 3) 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) (tabelul 4).

Tabelul 4. Corelația nivelurilor GSH, GPx și GR în ser și lacrimă cu gradul RH

		GSH		GPx		GR	
		în ser	în lacrimă	în ser	în lacrimă	în ser	în lacrimă
Retinopatie	Coeficient de corelație	-0.008	0.039	-0.053	0.299	0.297	0.252
	Semnificația statistică, test bilateral (p)	0.941	0.716	0.621	0.004	0.004	0.017

Până în prezent, o mare parte din cercetările privind rolul SO, sistemului antioxidant, inclusiv a sistemului glutationului, în HTN au fost efectuate în ser.

În studiul de față, pentru al doilea grup s-a depistat o creștere similară a valorilor GSH și GPx în ser, urmată în mod neașteptat de o scădere în cel de-al treilea grup, și o diminuare treptată a GR seric.

Relația dintre concentrația GSH și activitatea GR nu a fost așa cum era de așteptat, și anume acești doi markeri nu au fost corelați semnificativ, ceea ce a sugerat cu siguranță tulburări legate de sistemul de apărare al glutationului în HTN. Aceste modificări ar putea fi explicate ca un mecanism defensiv celular care se confruntă cu un SO augmentat. În consecință, am putea sugera că ipoteza implicării SO în generarea RH a fost justificată.

Rezultatele obținute de noi au adus informații noi, deoarece activitățile enzimelor au fost testate în lacrimă, aceste analize fiind mai informative în comparație cu cele serice și reflectă leziunile generale ale organismului în HTN [253].

Modificările lacrimii sunt logice: a) în stadiul 2 de RH, nivelul GSH rămâne constant, atestându-se creșterea activității GPx, care este o consecință a unui SO crescut, creșterea GR fiind suficientă pentru restaurarea GSH; b) în stadiul 3, amplificarea activității GPx este compensată de o majorare a activității GR, fiind prezentă și o corelație între activitatea GPx și GR în lacrimă. Astfel, se poate concluziona că sistemul de protecție antioxidant al GSH își mărește capacitatea funcțională în progresia retinopatiei, confirmat prin: a) amplificarea SO simultan cu creșterea leziunii retinei; b) rolul defensiv major al sistemului GSH în etapele avansate ale procesului patologic.

Aproape nu există corelații între markerii lacrimali și serici, ceea ce indică că parametri serici nu dezvăluie modificările oculare și, prin urmare, nu pot fi utilizați ca markeri esențiali ai evaluării

retinopatiei.

Conținutul de grupări tiolice ale proteinelor s-au remarcat și ele printr-o distribuție ne semnificativă 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%; $3.69 \mu\text{M/g}\cdot\text{prot}$ (IQR 0.91) față de $3.29 \mu\text{M/g}\cdot\text{prot}$ (IQR 0.89), $p>0.05$), urmată de o diminuare a valorilor la pacienții din GIII comparativ cu GII (-8%; $3.42 \mu\text{M/g}\cdot\text{prot}$ (IQR 2.11) față de $3.69 \mu\text{M/g}\cdot\text{prot}$ (IQR 0.91), $p>0.05$).

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.

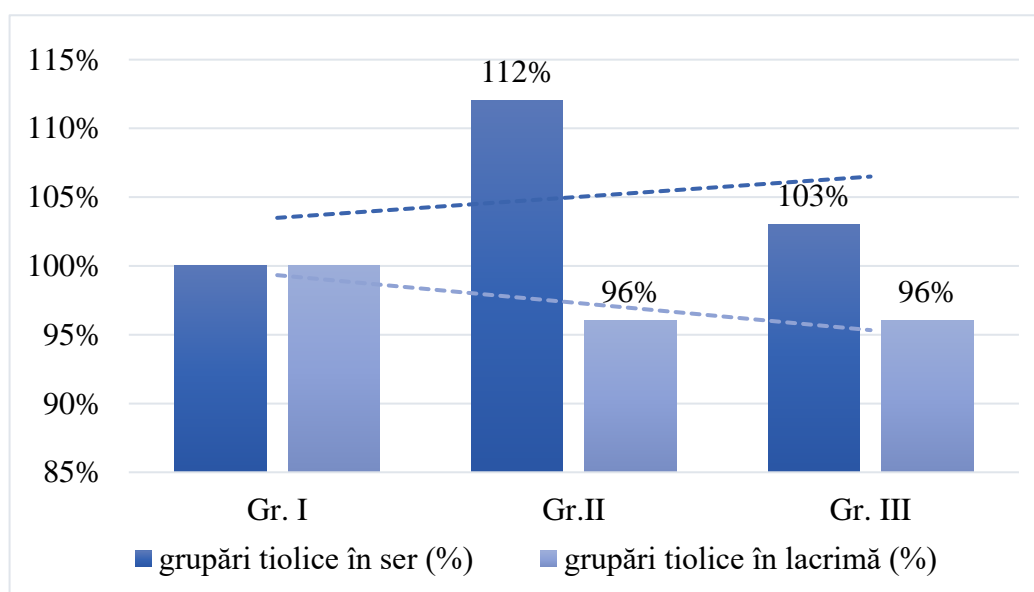


Figura 20. **Modificarea conținutului de grupări tiolice ale proteinelor în ser și lacrimă în diferite stadii ale RH**

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).

Tioli totali, în special grupările tiolice proteice (-SH) din organism, sunt considerate drept principalii antioxidanți plasmatici ai organismului viu. Majoritatea acestor grupări tiolice (-SH) se găsesc în albumină și constituie principalele grupuri reducătoare determinate în fluidele corporale [254].

Literatura de specialitate remarcă faptul că grupările tiolice din proteine pot fi supuse diferitelor modificări oxidative de către speciile reactive de oxigen/azot [255]. Prin urmare, grupurile SH plasmatiche fiind susceptibile la leziuni oxidative, sunt adesea diminuate la pacienții care suferă de boli, cum ar fi boala coronariană și artrita reumatoidă [206].

În cercetarea noastră se remarcă depleția rezervelor de glutatation redus. Se cunoaște că procesul de glutatationizare a diferitor compuși endo- și exogeni, inclusiv a proteinelor poate induce scăderea valorilor glutatationului redus. Prin urmare, utilizarea glutatationului în reacțiile de glutatationizare a proteinelor este percepută prin diminuarea nivelului de grupări tiolice proteice libere atât în ser cât și în lacrimă, ele fiind unul din locurile atașării glutatationului în reacțiile respective.

În același timp, diminuarea grupărilor tiolice libere proteice ar putea fi influențată și de scăderea activității enzimelor menționate anterior, precum și a tioredoxin reductazei, responsabile de reducerea grupărilor disulfidice în compuși organici, inclusiv în proteine.

3.3 Modificările indicilor ischemiei în retinopatia hipertensivă

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 [256].

În comparații de grup, nivelul AIM seric în GII nu s-a deosebit comparativ cu GI (+3%; 239.06 $\mu\text{M/L}$ (IQR 75.58) față de 231.77 $\mu\text{M/L}$ (IQR 104.09), $p=0.378$), dar a crescut la pacienții GIII comparativ cu GII (+17%; 277.67 $\mu\text{M/L}$ (IQR 88.72) față de 239,06 $\mu\text{M/L}$ (IQR 75.58), $p = 0.016$). S-au observat diferențe semnificative statistic între grupurile I și III (231.77 $\mu\text{M/L}$ (IQR 104.09) vs. 277.67 $\mu\text{M/L}$ (IQR 88.72), $p=0.002$) (tabelul 5).

Tabelul 5. Nivelurile AIM în serul și lacrima pacienților cu diferit grad al RH

Kruskal-Wallis	AIM	
	ser ($\mu\text{M/L}$)	lacrimă ($\mu\text{M/L}$)
	$p=0.006^{**}$	$p=0.160$
GI	231.77 IQR 104.09 100%	128.98 IQR 26.04 100%
GII	239.06 *■ IQR 75.58 103%	115.01 IQR 22.18 89%
GIII	277.67 IQR 88.72 120%	121.58 IQR 42.06 94%

Notă: Diferență statistic semnificativă comparativ cu gr. I a RH: * – $p < 0,05$; comparativ cu gr. II a RH: ■ – $p < 0,05$;

În proba de lacrimă, valorile AIM au fost 128.98 $\mu\text{M/L}$ (IQR 26.04) în grupul I, 115.01 $\mu\text{M/L}$ (IQR 22.18) în grupul II și 121.58 $\mu\text{M/L}$ (IQR 42.06) în al III-lea grup de pacienți cu RH. 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 slabă semnificativă, cu gradul RH ($r_s=0.307$, $p=0.003$) (tabelul 6).

Tabelul 6. Corelația dintre nivelurile AIM în ser și lacrimă și gradul RH

		AIM ser	AIM lacrimă
Retinopatia	Coeficientul de corelație	0.307	- 0.126
	Semnificația statistică test bilateral (p)	0.003	0.238

Studii recente au raportat o asociere puternică a AIM cu accidentul vascular cerebral ischemic, hemoragiile intracraniene, ischemia musculară scheletică, ischemia mezenterică, ateroscleroză periferică, hiperlipidemie, obezitate, sindrom metabolic, hepatosteatoză, preeclampsie, torsione ovariană, suferință fetală, β -talasemie, diabet, boli renale și ciroză hepatică [119, 257-261]. Valoarea serică a AIM a crescut semnificativ în aproape toate cazurile menționate mai sus, datorită asocierii SO cu fenomenele de ischemie/reperfuție implicate în dezvoltarea acestor boli.

Rezultatele studiului prezent sunt destul de similare cu cele enunțate de alți cercetători care au raportat amplificarea valorilor AIM în HTN. Dar, din câte se cunoaște, studiul a subliniat pentru prima dată corelarea nivelurilor crescute de AIM seric cu RH. Cercetarea a demonstrat că pacienții hipertensivi cu RH au avut niveluri crescute ale AIM în ser, corelate pozitiv 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. Dat fiind faptul că secreția lacrimală nu este afectată proporțional de modificările biochimice din sângele pacienților hipertensivi, lipsa corelației dintre AIM serică și AIM lacrimală nu diminuează importanța AIM seric ca potențial biomarker, însă interpretarea acestuia necesită includerea într-un context clinic.

3.4 Modificările indicilor SRA în evoluția RH

Sistemul renină-angiotensină constituie o cascadă de reacții enzimatică responsabile de reglarea volumului sangvin, cât și a rezistenței sistemului vascular. Principalul hormon efector al SRA este angiotensina II. Ang este produsă în urma acțiunii reninei asupra angiotensinogenului pentru a forma Ang I, cu conversia sa ulterioară într-o octapeptidă biologic activă de către enzima de conversie a Ang (ECA). Acțiunile Ang II sunt mediate prin receptorul Ang de tip 1 [262].

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%; 189.64

(IQR 87.28) pg/mL față de 133.17 (IQR 113.57) pg/mL, $p=0.264$) cât și în GIII în comparație cu GII (+18%; 213.01 (IQR 131.45) pg/mL vs. 189.64 (IQR 87.28) pg/mL, $p=0.153$) (figura 21). O diferență statistic semnificativă s-a remarcat între GI (133.17 (IQR 113.57) pg/mL) și GIII (213.01 (IQR 131.45) pg/mL) cu $p=0.011$.

În lacrimă se evidențiază o micșorare graduală a valorilor începând cu GI – 81.28 (IQR 41.01) pg/mL, în GII – 60.48 (IQR 26.69) pg/mL și respectiv în GIII – 60.48 (IQR 20.53) pg/mL, 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 21).

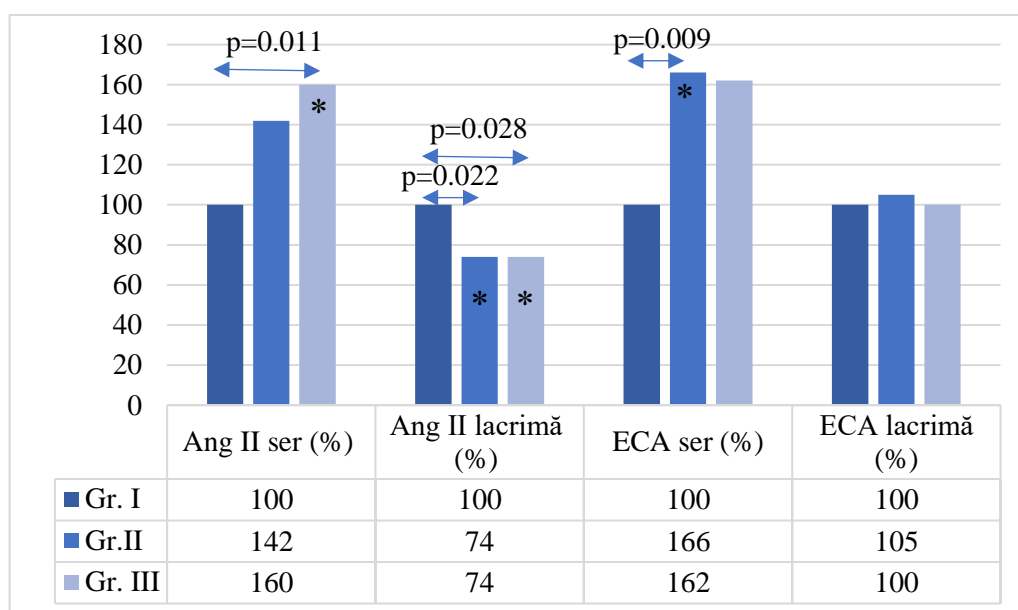


Figura 21 **Modificarea valorilor Ang II și ECA în ser și lacrimă la pacienții cu diferit grad de RH**

Notă: Diferență statistic semnificativă comparativ cu gr. I a RH: * – $p < 0.05$;

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 – $r_s = -0.357$, $p = 0.026$, după cum se vizualizează și în tabelul 7.

Tabelul 7. **Corelația dintre nivelurile Ang II și ECA în ser/lacrimă și gradul RH**

		Ang II		ECA	
		ser	lacrimă	ser	lacrimă
Gradul retinopatiei	Coeficientul de corelație	0.413	- 0.357	0.236	-0.133
	Semnificația statistică test bilateral (p)	0.009	0.026	0.148	0.421

Notă: Ang II – angiotensina II; ECA – enzima de conversie a angiotensinei;

Concomitent s-a evidențiat și o majorare semnificativă statistic a nivelurilor serice de ECA ($p=0.032$) și nesemnificativă în lacrimă ($p=0.536$).

În comparații de grup, nivelul seric al ECA în GII crește în comparație cu GI (+66%; 5.69 (IQR 2.60) pg/mL, față de 3.43 (IQR 2.44) pg/mL, $p=0.009$), menținându-se la același nivel în GIII (5.55 (IQR 1.99) pg/mL vs. 5.69 (IQR 2.60) pg/mL, $p=0.242$) (figura 21).

În lacrimă se evidențiază o fluctuație statistic neveridică a valorilor începând cu o amplificare de +5% în GII – 1.35 (IQR 0.20) pg/mL comparativ cu GI – 1.28 (IQR 0.68) pg/mL, $p>0.05$ și revenire ulterioară la valorile inițiale în GIII – 1.28 (IQR 0.20) pg/mL (figura 21).

Nivelul ECA atât în ser, cât și în lacrimă nu a demonstrat prezența unei corelații semnificativă statistic cu gradul RH (tabelul 7).

Menționăm că ECA în lacrimă face parte din SRA tisular – fiind un sistem de reglare cu o durată lungă, care asigură o acțiune modulatorie asupra structurii și funcțiilor organelor și țesuturilor.

Acest fapt a fost confirmat și în studiul prezent. În RH, valorile ECA în lacrimă și în ser au crescut în raport cu gradul de evoluție a retinopatiei, modificările valorilor din ser fiind și statistic semnificative.

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. Rezultatele obținute ar putea justifica aplicarea medicației ce blochează activitatea SRA în tratamentul RH. Totodată identificarea Ang II, într-o manieră atât de facilă din astfel de lichide biologice precum lacrima și ser, ne-ar permite considerarea acestor indicatori în calitate de un nou criteriu de diagnostic/pronostic.

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 22.

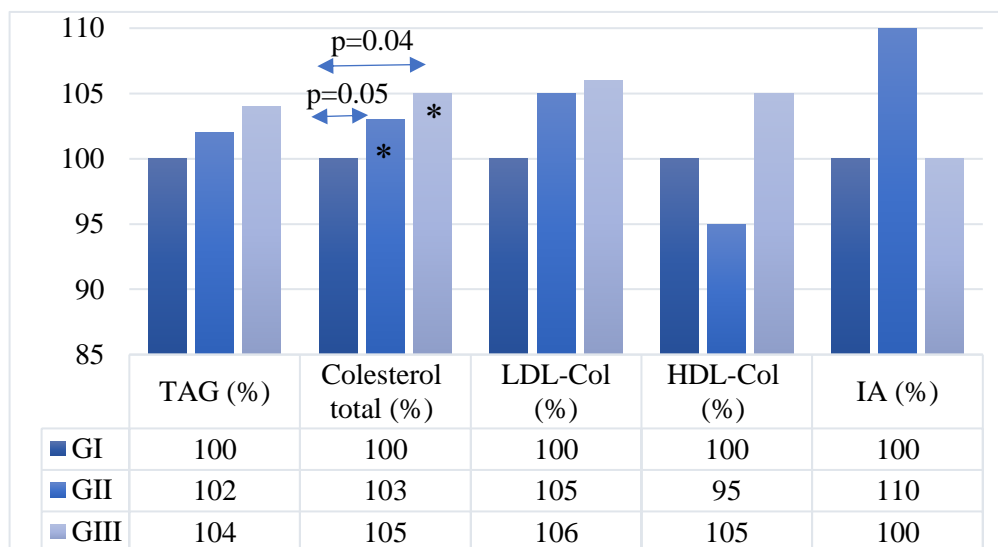


Figura 22. **Modificările nivelurilor serice ale lipidelor și a indicelui aterogen al plasmii la pacienții cu grad diferit de RH**

Nota: TAG – triglicerid; LDL-Col – LDL-colesterol; HDL-Col – HDL - colesterol; IA – indicele aterogenic; *Diferență statistic semnificativă comparativ cu gr. I al RH: * – $p < 0.05$;*

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%; 2.03 (IQR 0.18) mM/L față de 2.07 (IQR 0.15) mM/L) și în GIII în comparație cu GII (+2%; 2.10 (IQR 0.25) mM/L vs. 2.07 (IQR 0.15) mM/L) (figura 23).

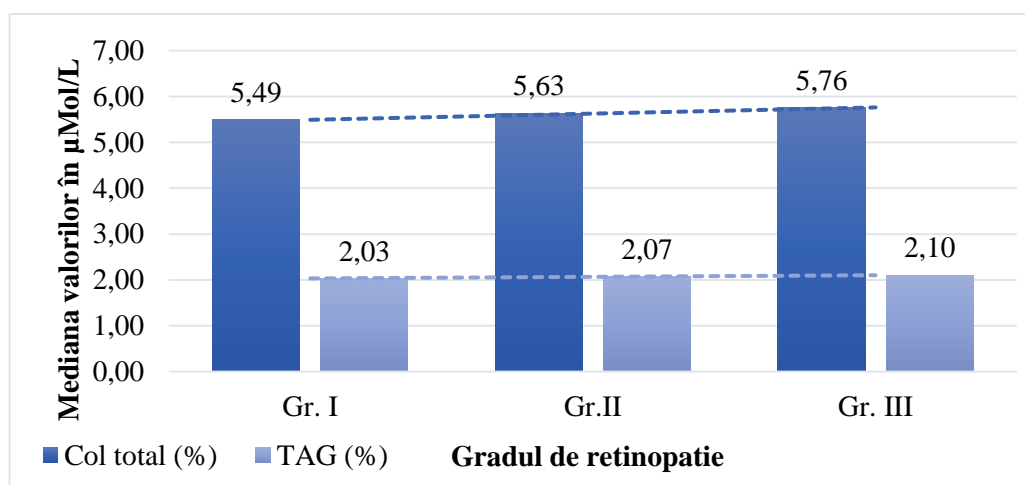


Figura 23. **Valorile TAG serice și nivelul total de colesterol la pacienții cu grad diferit al RH.**

Notă: veridicitatea diferenței dintre grupuri: * - $p < 0.05$.

Nivelurile TAG au demonstrat o corelație slabă pozitivă semnificativă statistic cu gradul RH ($r=0.249$, $p=0.018$), după cum se vede în tabelul 8.

Tabelul 8. Corelația dintre nivelurile indicilor metabolismului lipidic și gradul RH

		TAG	Col tot	LDL - Col	HDL - Col	IA
Gradul retinopatiei	Coeficientul de corelație	0.249	0.292	0.129	0.084	0.108
	Semnificația statistică 2-tailed (p)	0.018	0.005	0.225	0.429	0.312

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

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 23).

Nivelul total de colesterol a demonstrat o corelație pozitivă, semnificativă statistic ($p=0.005$), slabă ($r_s=0.292$) cu gradul RH (tabelul 8).

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 ($r_s=0.084$, $p=0.429$) (tabelul 8). 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 24).

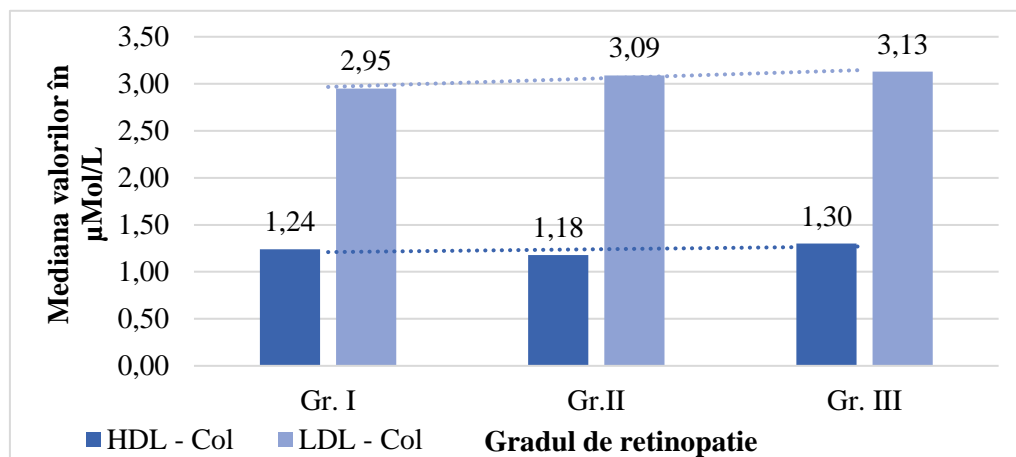


Figura 24. Modificările serice de HDL-Col și LDL-Col la pacienții cu grad diferit al RH

Am analizat în mod sistematic asocierile dintre valorile totale ale markerilor cercetați a statutului lipidic în serul pacienților cu RH (tabelul 9).

După cum se vede în tabelul 9, studiul a relevat corelație medie între nivelul total al colesterolului și TAG, nivelul total al colesterolului și LDL-Col, precum și între nivelul total al colesterolului și HDL-Col. O corelație pozitivă, scăzută și semnificativă a fost atestată între nivelurile TAG și HDL-Col.

Tabelul 9. Corelații între nivelurile TAG, colesterol total, LDL-Col și HDL-Col în serul pacienților cu RH

	TAG	Col total	LDL-Col	HDL-Col
TAG	1.000	0.422***/ p < 0.001	0.070/ p = 0.513	0.240*/ p = 0.023
Col total	0.422***/ p < 0.001	1.000	0.581***/ p < 0.001	0.342***/ p = 0.001
LDL-Col	0.070/ p = 0.513	0.581**/ p < 0.001	1.000	-0.181/ p = 0.087
HDL-Col	0.240*/ p = 0.023	0.342**/ p = 0.001	-0.181/ p = 0.087	1.000

Notă: diferențe între grupuri și valoarea p: * <0.05; ** <0.01; *** <0.001.

Rezultatele studiilor efectuate au demonstrat tulburări ale biomarkerilor statutului lipidic în retinopatia indusă de hipertensiune. TAG și nivelul colesterolului total au prezentat o corelație slabă cu gradul RH, modificări remarcate în timp de alți oameni de știință. Aceste perturbări pot confirma 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.

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 10).

Tabelul 10. Corelații sero-lacrimale ale indicilor biochimici la pacienții cu RH

Indice	Coeficientul 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	$r_s = - 0.323$	$p = 0.045$

Constatarea acestui fenomen ne permite să facem unele supoziții referitor la semnificația lui.

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 [263]. 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 [10]. 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) [6].

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. Totodată, determinarea nivelurilor serice ar putea fi considerată non-specifică și ar limita utilizarea lor în predicția evoluției RH. Acestea ar putea să nu reflecte modificările retiniene datorită dimensiunii relativ compacte a țesutului afectat și cantității mici eliberate ulterior în circulația sangvină generală.

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 11).

Tabelul 11. Corelațiile indicilor biochimici în ser și lacrimă cu gradul RH

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

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, de putere slabă, 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 medie, dar mai importantă comparativ cu celelalte corelații identificate. Prin urmare analiza modificărilor specifice acestui indice a relevat legături importante cu evoluția RH și reflecția metabolică a patologiei în mediile biologice, ce ne permite a concluziona că Ang II ar fi un potențial candidat pentru a fi recomandat în calitate de marker în evaluarea RH.

Merită a fi evidențiate și corelațiile între markerii SRA: Ang II și ECA, în ser și lacrimă. Astfel 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 [264]. Studii adiționale sunt necesare pentru aprecierea exhaustivă a particularităților modificărilor SRA ocular și a rolului lor în RH.

De notat este și faptul că 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 atenuază 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.

Din cele prezentate presupunem că odată cu aprofundarea RH și amplificarea leziunilor retiniene are loc potențarea SO și producția SRO și amplificarea SO aprofundează RH, deci se inițiază un cerc vicios. Este cert că creșterea capacității funcționale a sistemului antioxidant nu este suficientă pentru a compensa modificările survenite, într-un final ducând la progresia RH. Suplimentar, acest fenomen ar putea atesta și implicarea a altor mecanisme în patogenia RH.

De asemenea sunt de menționat corelațiile statistic semnificative de putere medie identificate între markerii SO, SAO și metabolici în ser și lacrimă. 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. În concluzie, apariția SO poate fi fie o repercusiune a scăderii activității sistemului de apărare antioxidant, fie o creștere a concentrației SRO sau ambele cauze în asociere.

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 (tabelul 12).

Tabelul 12. Corelații între nivelurile TAG, colesterol total, LDL-Col și HDL-Col în serul pacienților cu RH

	TAG	Col total	LDL-Col	HDL-Col
TAG	1.000	0.422 $p < 0.001$	0.070 $p = 0.513$	0.240 $p = 0.023$
Col total	0.422 $p < 0.001$	1.000	0.581 $p < 0.001$	0.342 $p = 0.001$
LDL-Col	0.070 $p = 0.513$	0.581 $p < 0.001$	1.000	-0.181 $p = 0.087$
HDL-Col	0.240 $p = 0.023$	0.342 $p = 0.001$	-0.181/ $p = 0.087$	1.000

Considerăm că fenomenele atestate ar putea fi o probă suplimentară a impactului dislipidemieii în propagarea SO în HTN și dezvoltarea complicației ei – a RH.

Cu siguranță că o mai bună înțelegere a mecanismelor patobiochimice implicate în afectarea hipertensivă a ochiului poate ajuta la identificarea markerilor susceptibilității retinei la leziuni și la dezvoltarea tratamentului terapeutic.

Adițional, lipsa unui număr mai mare de corelații ar putea fi explicată și de numărul relativ limitat de pacienți, extinderea studiului putând elucida 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 privind la impactul SO și SRA, rolul defensiv al sistemului antioxidant, precum și evoluția acestora în cadrul celor 3 grade ale RH, cât și conturarea celor mai sensibili indici de laborator ai patologiei cercetate.

4.1 Sinteza rezultatelor studiului 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 în ser fie prin amplificarea fie prin diminuarea acestora (figura 25).

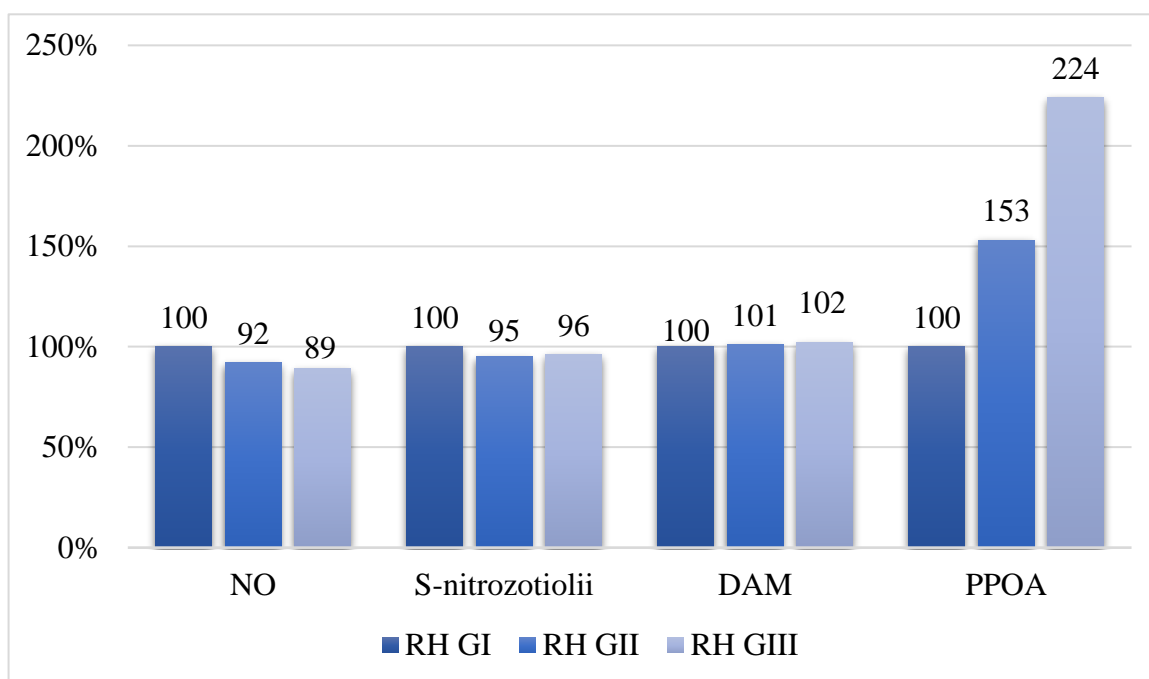


Figura 25. Evoluția indicilor stresului oxidativ în ser în progresia RH (%)

Celula endotelială se comportă ca o structură receptor-efector, capabilă să detecteze diverși stimuli fizici, fie chimici, ce își fac apariția în interiorul vasului și, prin urmare, modifică forma vasului și/sau eliberează produsele necesare pentru a contracara efectul stimulului și a menține homeostazia. Endoteliul are capacitatea să producă o diversitate de molecule, atât cu efect agonist cât și antagonist – vasodilatatoare și vasoconstrictoare, procoagulante și anticoagulante, inflamatorii și antiinflamatorii, fibrinolitice și antifibrinolitice, oxidante și antioxidante și multe altele, echilibrând astfel efectele bilateral [265].

În mare parte toți stimulii ce induc vasodilatație o fac cu ajutorul NO - un gaz volatil, activ biologic, prezent practic în toate țesuturile [265]. Fiziologic, NO endotelial induce vasodilatația, amplificarea fluxului sangvin, diminuarea rezistenței vasculare, inhibarea agregării și aderenței trombocitelor, micșorarea aderenței și transmigrării leucocitelor și reducerea proliferării musculaturii netede. Adițional, NO produs de nNOS acționează drept un neuromodulator sau

neurotransmițător în activități neuronale, cum ar fi adaptarea la lumină/întuneric, în timp ce NO generat de iNOS reglează reacțiile imune.

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.

Se cunoaște că în cadrul etapelor inițiale ale hipoxiei/ischemiei, acestea de obicei sunt însoțite de activarea tuturor formelor de NOS, fenomenul fiind cauzat de influența substanțelor biologice active precum citokine, prostaglandine, serotonină, bradichinină etc. Activarea NOS inductibilă, care sintetizează o cantitate majorată de NO, cu o acțiune citotoxică directă, contribuie la producerea de radicali foarte toxici de peroxinitrit, ce ulterior induc deteriorarea structurilor celulare cu dezvoltarea consecutivă a disfuncțiilor endoteliale, macrofagale și trombocitare, ce se manifestă printr-o activitate redusă a NOS endotelial și prin întreruperea proceselor dependente de NO. Ca urmare se dezvoltă vasospasm, o agregare crescută de trombocitelor și o activitate fibrinolitice redusă. În continuare la acești pacienți se observă o reducere accentuată a substratului de sinteză a NO-L-argininei. Agravarea ischemiei determină o scădere a sintezei de NO datorită epuizării L-argininei și consumului intensificat al acesteia în cursul proceselor de formare a radicalilor liberi [222].

Concentrațiile crescute de SRO reduc cantitatea de NO bioactiv prin inactivare chimică și generarea peroxinitritului toxic. Peroxinitritul - la rândul său - poate „decupla” NO sintaza endotelială devenind o enzimă disfuncțională generatoare de superoxizi care contribuie la stresul oxidativ vascular [223].

Anionul superoxid este un factor determinant major al biosintezei NO și acționează, de asemenea, și ca vasoconstrictor. Se consideră că, NOS poate genera mai degrabă superoxid decât NO ca răspuns la stimulii aterogeni („decuplarea NOS”). În aceste condiții, NOS poate deveni un generator de peroxinitrit, favorizând o creștere dramatică a SO, datorită faptului că peroxinitritul are efecte nocive suplimentare asupra funcției vasculare prin peroxidarea lipidelor [224,266].

Astfel, în anumite condiții se accelerează degradarea NO, cum ar fi amplificarea SO atestată în RH, capacitatea de dilatare microvasculară poate fi sever afectată, provocând disfuncție endotelială cu perfuzie tisulară neadecvată. O multitudine de studii sugerează implicarea NO în afectarea ischemică a retinei [222,267,268]. Fiind cea mai răspândită moleculă de semnalizare identificată în retină, NO poate fi produsă de fiecare tip de celulă retiniană [269].

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 [227,270].

Guthrie et al. (2014) susține că, estimarea concentrației de NO, utilizând analiza nitraților/nitriților ar putea indica faptul că producția de NO este supranormală, în timp ce mediul tisular se confruntă cu un nivel subnormal de NO și deficit funcțional. Acest lucru adaugă cu siguranță complexitate înțelegerii rolului NO în retinopatie și ar trebui luat în considerare în studii ulterioare [271].

Prin urmare, în condițiile unui stres oxidativ amplificat, în care anionul superoxid este sintetizat în cantități mari, NO[•] disponibil s-a redus evident, fapt demonstrat și în literatura științifică la pacienții hipertensivi, această modificare explicând DE în HTN cât și în RH.

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.

S-nitrosotiolii sunt forme bioactive de NO implicate în semnalizarea celulară și reglarea redox a funcției vasculare [272]. De la descoperirea lor la începutul anilor 1990, proteinele S-nitrozilate au fost din ce în ce mai recunoscute ca fiind determinanți importanți ai multor procese biochimice, inclusiv promovarea vasodilatației, inhibarea agregării plachetare și reglarea funcției canalului Ca²⁺[273].

Sinteza S-nitrosotiolilor are loc prin mai multe căi, inclusiv oxidarea tiolilor de către peroxinitrit [274], sau reacția lor cu N₂O₃⁻ un produs al interacțiunii oxigenului și NO [275]. S-nitrosotiolii acționează ca donatori de NO în anumite situs-uri efectoare de reglare a tiolului, inclusiv enzime și proteine de semnalizare prin transnitrozilare [276]. Ele se leagă covalent la grupările SH-proteice și tioli cu greutate moleculară mică *in vivo* și semnalizează prin modificarea reziduurilor de cisteină, prin adăugarea covalentă a unui fragment de NO (formal sub formă de NO⁺), care reglează funcția unui spectru de proteine din celule prin S-nitrozilare [277]. Reacția NO cu grupele tiolice libere ale albuminei serice, cisteinei și, într-o măsură mai mică ale glutatationului are ca rezultat formarea respectivilor S-nitrosotiooli *in vivo* [278]. S-nitrosotiolii sunt reduși la NO și nitriți atunci când sunt degradați [272].

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 ↑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 mecanismele de apărare antioxidante sistemice sunt și ele afectate în RH. Generalizat, 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%. Cunoaștem că, GPx are funcția de a preveni/stopa peroxidarea lipidelor membranare și utilizează pentru acest proces GSH redus, considerat a fi unul dintre cei mai substanțiali eradicatori ai SRO (figura 26).

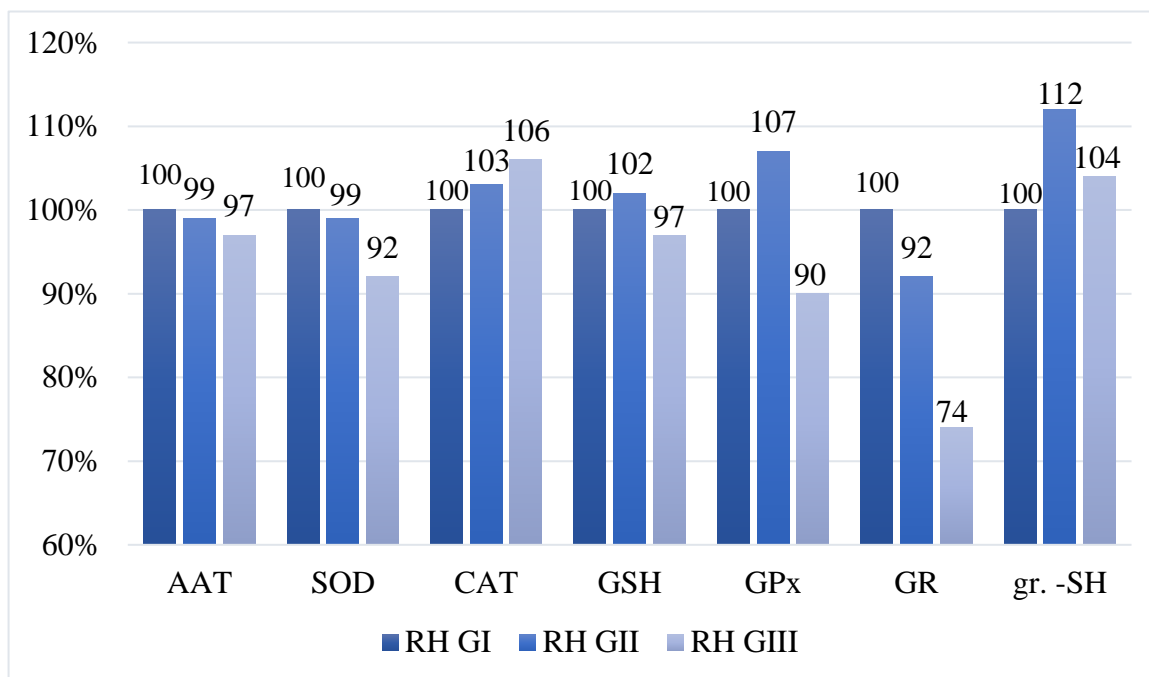


Figura 26 Activitatea SAO în ser în evoluția RH (în %)

Avantajul major al testării AAT constă în faptul că măsoară capacitatea antioxidantă a tuturor antioxidantilor dintr-o probă biologică și nu numai capacitatea antioxidantă a unui singur compus [279].

Unele studii au atestat la pacienții cu HTN un nivel scăzut al AAT în ser [281]. Rezultate similare au fost observate și la șobolanii hipertensivi, la care valorile AAT s-au dovedit a fi mai mici decât la șobolanii sănătoși [281]. La șobolanii hipertensivi sensibili la sare, amplificarea SO este corelată cu nivel diminuat al AAT [282].

Posibil menținerea la nivel normal a AAT este determinată de modificările coordonate a compușilor cheie ai sistemului AO [251]. Astfel, diminuarea activității SOD este contrabalansată de creșterea activității CAT. Prin urmare, evoluția diversității enzimatică: SOD, catalază și peroxidază cu scopul eliminării intermediarilor reactivi, sugerează că o proporție semnificativă de O_2 este redusă pe această cale. În timp ce izoenzimele SOD sunt considerate în mod normal protectoare, se postulează că activitatea crescută a SOD Cu / Zn produce cantități crescute de H_2O_2 ,

care devin toxice în prezența activității catalazei normale. Astfel, creșterea activității SOD Cu/Zn poate fi benefică numai atunci când este echilibrată cu o activitate catalazică crescută, iar inducerea primului nu neapărat afectează inducerea celui alt [283].

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. Chaves și colab. au identificat valori ale GSH și GPx semnificativ mai scăzute la pacienții cu HTN, în comparație cu cei din grupul de control, explicând acest lucru prin răspunsul afectat al expresiei enzimei și inactivarea enzimei din cauza SO [284]. Diminuarea concentrației serice de GSH poate duce, de asemenea, la o activitate a GPx mai mică, explicată prin faptul că GSH este coenzima co-substrat a GPx [285]. Tratatamentul antihipertensiv care are drept scop să diminueze SO, are ca rezultat o creștere a GSH [284].

Silva și colab. au identificat o scădere a activității GR în HTN [286], similar cu diminuarea stabilită de noi (-8%). Luând în considerare toate dovezile experimentale, se presupune că SO și perturbările metabolismului glutatationului, sunt puternic legate de patogeneza HTN [249]. În concluzie, apariția SO poate fi fie o repercusiune a scăderii activității sistemului de apărare antioxidant, fie o creștere a concentrației SRO sau ambele cauze în asociere.

Rybka J. și colab. au analizat sistemul de apărare antioxidant al glutatationului la pacienții vârstnici (82.6 ± 7.52 ani) tratați de HTN și au măsurat concentrația glutatationului în sângele integral și activitățile glutatation peroxidazei, glutatation transferazei și glutatation reductazei în eritrocite, observând o creștere a activității tuturor enzimelor cercetate, care au fost semnificativ mai mari în lotul cu HTN comparativ cu grupul de control. Aceste rezultate au sugerat importanța sistemului glutatation în reglarea tensiunii arteriale [71]. Studiul Rybka J. și colab. nu a implicat evaluarea RH, a markerilor lacrimali și evaluarea corelațiilor sero – lacrimale, iar faptul că în studiul nostru au fost incluși și pacienți mai tineri, ar putea fi cauza diferențelor rezultate.

Asocierea SO cu progresia și dezvoltarea RH a fost evidențiată în mod concret doar în câteva studii recente. E de menționat cercetarea Karaca și colab. în care s-a subliniat în RH un nivel crescut al activității γ -glutamyl transferazei serice, care este o enzimă polifuncțională considerată a avea un rol crucial în homeostazia glutatationului prin păstrarea concentrației satisfăcătoare de glutatation intracelular și capacitatea de protecție a celulelor împotriva oxidanților [20].

Este de notat și majorarea grupărilor -SH cu 12% în gr II a RH. Tiolii joacă roluri fiziologice importante în diverse procese și sunt extrem de reactivi, grupările -SH fiind ușor oxidate sau reduse în prezența unui catalizator [287-289]. Tiolii pot acționa și ca acceptori de electroni, reducând radicalii liberi instabili prin oxidare, deci sunt antioxidanți puternici [290,291]. Grupul tiolic (-SH) al glutatationului reduce numărul de radicali liberi prin legarea la electronii nepartajați ai radicalilor liberi formați ca urmare a SO [292-294].

Grupările tiolice mitochondriale posedă o diversitate de funcții distincte, printre care cea de transport al electronilor, fosforilarea oxidativă și transportul membranar. De asemenea, acestea sunt implicate în tranziția permeabilității membranei interne și în apoptoza celulară [295-297]. Mitocondriile sunt entitățile capabile să genereze SRO și SRN, favorizând astfel condiția unui potențial SO, care ulterior le poate perturba statutul tiolic. Însă, acesta este controlat de o serie de enzime precum sistemul tioredoxin mitochondrial, ce include NADPH, tioredoxină și tioredoxin reductază și tioredoxin peroxidază, care par să joace un rol pivotal în prevenirea SO și în controlul funcțiilor de permeabilitate membranară [297-300].

Astfel, augmentarea nivelului de grupări tiolice la pacienții din studiu poate 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 întregi.

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 (figura 27). Totodată, Ang II diminuează biodisponibilitatea NO prin promovarea SO.

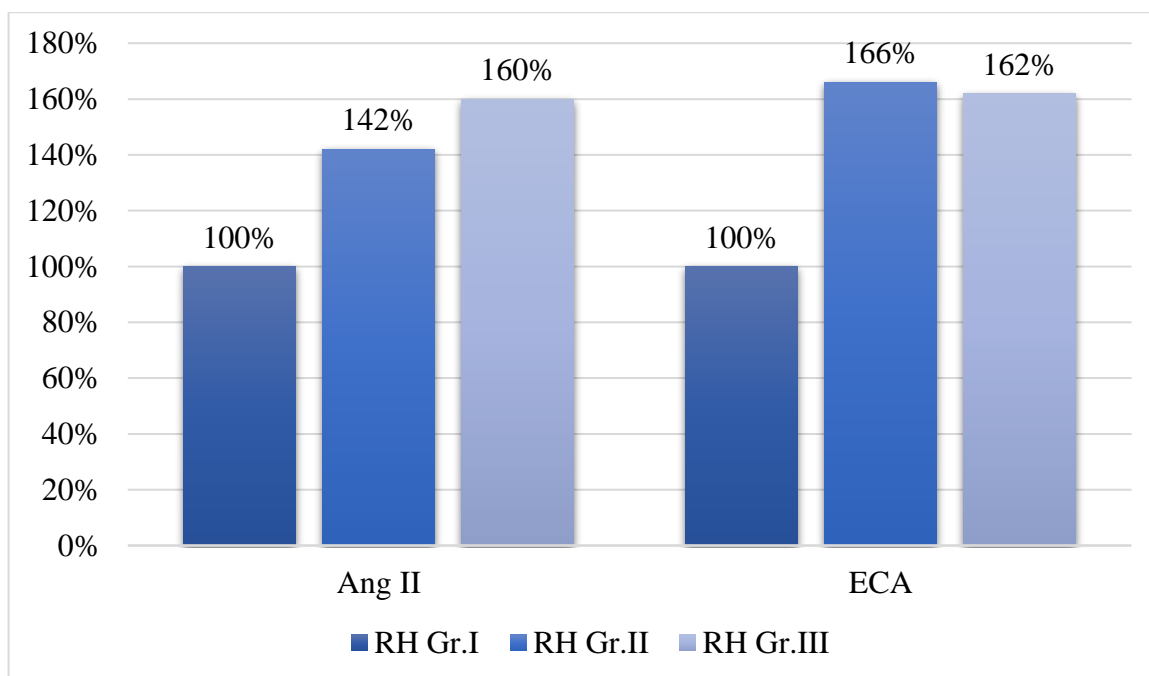


Figura 27. Modificările SRA în ser în gr.II și gr.III a RH

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. Unele cercetări recente de

asemenea subliniază niveluri reduse constant de SOD₃ în retinopatia diabetică, de SOD₂ în insuficiența renală cronică și accident vascular cerebral ischemic acut [79-81]. În același timp, rapoartele de evaluare a activității SOD în HTN sunt contradictorii, oferind o varietate de rezultate atât cu niveluri crescute, cât și cu niveluri scăzute ale SOD [80,82].

Dovezile experimentale au evidențiat faptul că SRO și mai precis anionul superoxid (O_2^-), joacă un rol decisiv în geneza HTN. Astfel rolul SOD în menținerea nivelului de protecție antioxidantă și prevenție dezvoltării HTN sau scăderii vitezei de agravare a stării patologice este unul pivotal.

Pentru a elucida mecanismul prin care O_2^- contribuie la HTN, Lob și colab. au utilizat tehnologia Cre-lox pentru a crea șoareci cu o deleție țintită a SOD₃. Rezultatele studiului au demonstrat că SOD₃ în mușchiul neted vascular, indiferent de nivelurile vasculare crescute de O_2^- , nu a avut niciun efect asupra tensiunii arteriale, nici la momentul inițial, nici ca urmare a stimulării angiotensinei II (Ang II) și, de asemenea, nu a crescut răspunsul inflamator la Ang II. Adicional, epuizarea SOD₃ atât în organele circumventriculare (CVO), cât și în mușchiul neted vascular a arătat un efect similar cu epuizarea acestuia doar la nivel de CVO, rezultatele subliniind faptul că SOD₃ în SNC are probabil un rol mai semnificativ în modularea tensiunii arteriale decât SOD₃ în la nivel vascular [79].

Un alt studiu, care confirmă rezultatele obținute în cercetare [252], efectuat de Gomez-Marcos și colab. a detectat că HTN a fost asociată cu o diminuare a SOD seric [301]. 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. Cercetătorii au ajuns la concluzia că un nivel scăzut de SOD în ser este asociat cu leziuni vasculare sporite. Concluziile sus amintite sunt susținute și de rezultatele lui Kumar și colab. care au evidențiat în studiul lor că activitatea atât a catalazei, cât și a glutatation peroxidazei în eritrocite au fost scăzute la pacienții hipertensivi necontrolați, dar nu au atins niveluri semnificative statistic, cu toate acestea a existat și o scădere semnificativă a activității SOD [302]. O reducere a activității SOD și GPx a fost remarcată la subiecții hipertensivi nou diagnosticați și netratați, comparativ cu subiecții martor, activitatea SOD fiind invers corelată cu nivelul TA din grupul subiecților hipertensivi, dar nu și grupul martor [303].

Contrar rezultatelor anterioare, Labios și colab. a observat o creștere a activităților SOD și catalazei în lizatele leucocitare de la pacienții hipertensivi. Ei presupuneau ideea generală a unui „cerc vicios” între HTN și SRO, care ar putea fi explicată prin faptul că o creștere a SRO nu joacă doar un rol crucial în dezvoltarea HTN, dar poate fi generată chiar de HTN [84]. Deci, HTN pe termen lung ar produce în cele din urmă o disfuncție endotelială ireversibilă, în mare parte datorită producției autosusținută 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 [83, 84, 304]. 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 [252].

Rezultatele cercetării efectuate sunt destul de similare cu cele menționate mai sus. 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 statistic 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%.

Literatura de specialitate ne oferă date care sugerează că diminuarea cantității de glutatation în celulele endoteliale induce o descreștere a sintezei de NO^* , efect explicat cel mai probabil prin reducerea nespecifică a capacității redox a celulelor [305]. Prin urmare, orice condiție asociată cu niveluri scăzute de glutatation circulant, consemnate și în studiul nostru [253], rezultă într-o rată crescută de reacții oxidative, ce ulterior vor contribui la o biodisponibilitate diminuată a NO și în final spre afectarea funcției microvasculare [306-308]. Alte studii demonstrează o corelație negativă între nivelurile serice de NO și presiunea arterială medie, sugerând că o scădere a disponibilității NO este dependentă și de creșterea tensiunii arteriale [230]. Unele studii recente evidențiază faptul că pacienții care suferă de hipertensiune arterială se remarcă prin activitatea amplificată a SRO, ce oxidează NO și afectează tonusul vascular. Lassegue și colab. (2004) au identificat astfel dovezi convingătoare că SRO sunt o parte intrinsecă a patologiei hipertensiunii [309,310].

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 $O_2^{\cdot-}$, deci și a H_2O_2 , cât și procesul de peroxidare. Prin micșorare 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 (figura 28).

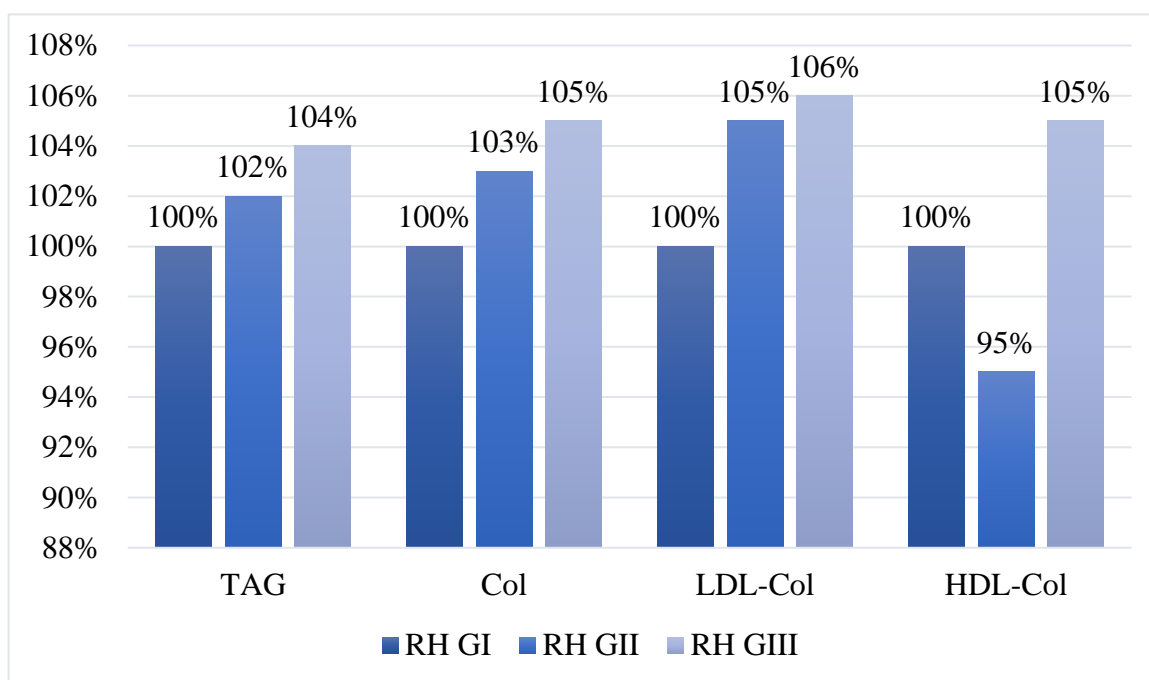


Figura 28. **Modificările în metabolismul lipidic în ser raportate la progresia RH**

Chen și colab. (1996) au demonstrat *in vivo* și *in vitro* faptul că o amplificare a nivelului de LDL-colesterol, fenomen stabilit și în cercetarea noastră [311], agregabilitatea trombocitelor stimulează prin inhibarea NOS și o scădere a nivelurilor ciclice de GMP.

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 [167,312].

Implicarea markerilor metabolismului lipidic în progresia RH poate fi documentată încă din 1975, când Singth și colab. au discutat pentru prima dată rolul nivelurilor serice crescute ale acizilor grași în precipitarea dezvoltării RH [313].

Studii conexe cu finalități similare cu cele obținute de noi au fost efectuate în timp. În 2012, Bastola și colab. au demonstrat o diferență semnificativă în nivelul mediu al colesterolului seric în toate cele patru stadii ale RH ($p < 0.001$) [314]. Gupta și colab. (2013), au demonstrat o corelație pozitivă dintre progresarea RH și creșterea treptată a nivelului de colesterol ($p < 0.002$), în paralel cu evoluția în grad a retinopatiei [315].

Rezultate asemănătoare cu studiul nostru au fost remarcate și în ceea ce privește TAG. În cercetările Bastola și colab. (2012) și Gupta și colab. (2013), s-a identificat o creștere semnificativă statistic a nivelului de trigliceride pentru diferite grade ai RH [314,315]. O cercetare efectuată de Akhter și colab. (2013), a prezentat date care arătau că majorarea valorilor colesterolului și trigliceridelor serice s-au dovedit a fi indicatori de risc semnificativi în dezvoltarea retinopatiei [316]. Studiul Hoorn, realizat de van Leiden și colab. (2002), a subliniat faptul că există corelații dintre nivelurile lipidice și tensiunea arterială însoțită de retinopatie, care sunt mai puternice la persoanele fără diabet decât la cele cu diabet [317].

Unele studii au evidențiat că nivelurile LDL-Col au crescut semnificativ la persoanele cu RH de gradul II sau mai mare. Potrivit cercetării realizate de Badhu și colab. (2003), LDL-Col seric amplificat a fost puternic asociat cu RH ($p < 0.019$) [318]. Rezultatele anterioare sunt susținute și de studiul van Leiden (2002), care a concluzionat că retinopatia la persoanele cu hipertensiune arterială fără diabet și exsudate tari a fost asociată cu niveluri serice crescute de LDL-Col [317]. Cu toate acestea, niciun alt studiu nu a atestat vreo corelație directă între HDL-Col seric sau LDL-Col și RH până acum.

Totuși, datele din unele lucrări de cercetare sunt ușor disonante cu rezultatele obținute. După cum au prezentat Pai și Hegde (2019), nu a existat nicio corelație semnificativă între RH și nivelul lipidelor serice. Studiul lor are limitări, datorită faptului că în cercetare au fost incluse doar persoanele cu gradul I (84%) și gradul II (16%) de RH. Totuși, s-a semnalat o creștere a nivelului total de colesterol, TAG și LDL-Col și o scădere a HDL-Col, în paralel cu progresarea RH. [319]. Și alți savanți au subliniat o corelație pozitivă între LDL-Col, HDL-Col și RH [314,318], cu toate acestea, acest studiu la fel ca și studiul lui Gupta și colab. nu a dezvăluit o legătură între ele [315].

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.

4.2 Sinteza rezultatelor studiului în lacrimă

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 (figura 29).

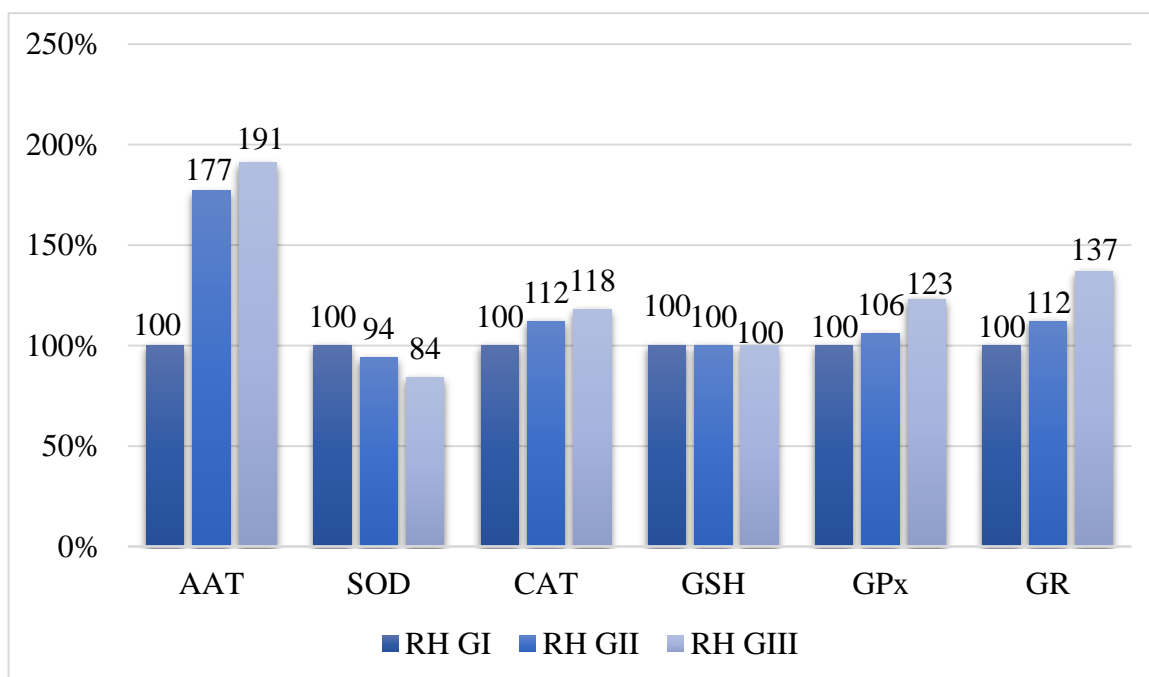


Figura 29. Modificările SAO în lacrima pacienților cu diferite grade ale RH (în %)

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 exacerbat. 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 GPx, 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.

Existența unui SRA ocular local cu toate componentele sale principale este atestată încă din 1996 [320]. SRA a fost mai puțin studiat în retinopatie, deși există dovezi convingătoare că un SRA local există în retină și atât Ang II cât și aldosteronul influențează disfuncția vasculară și inflamația în retinopatie [321]. Literatura de specialitate atestă faptul că receptorii Ang II sunt exprimați în vasele sangvine retiniene și pot acționa drept un reglator al microcirculației oculare. Receptorii Ang II de tip 1 sunt localizați în stratul celulelor ganglionare și stratul nuclear interior al retinei [322].

S-a demonstrat prezența sistemului intrinsec enzimatic renină-angiotensină în pereții arteriolelor și arterelor mici ciliare oftalmice [323]. Prin urmare, este de menționat faptul că amplificarea rezistenței periferice totale în microcirculația oftalmică asociată cu HTN este cauzată în parte de o creștere rapidă hipertrofică sau hiperplastică a celulelor musculare netede vasculare, Ang II putând astfel juca un rol pivotal în bolile oculare asociate cu hipertensiunea [324-327].

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 (figura 30).

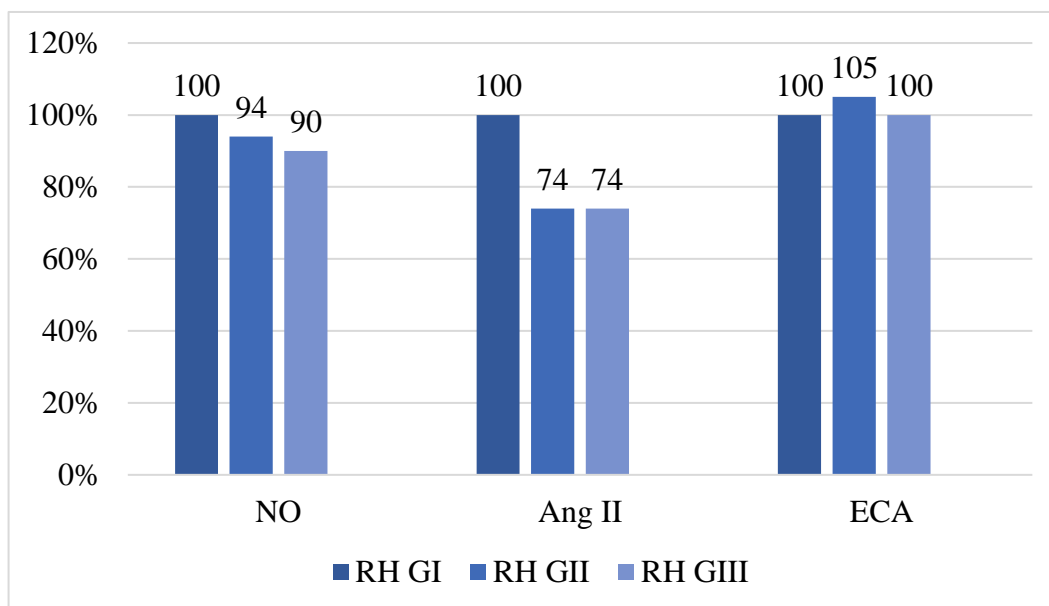


Figura 30. Modificările NO și SRA în lacrima pacienților cu RH (în %)

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. Se cunoaște că pereții vaselor de sânge și ale țesutului cardiac pot produce Ang I și Ang II, iar ECA tisulară are un potențial rol de reglare asupra producției locale de Ang II. Un rol semnificativ al endoteliului în conversia Ang I în Ang II a fost revendicat și susținut recent într-un studiu care arată că eliberarea Ang I și conversia Ang I la Ang II a fost diminuată cu 90% și abrogată în cazul disfuncției endoteliale [328].

Reglarea descendentă a sistemului SRA ar putea fi explicată prin afectarea endotelială sistemică la pacienții cu HTN, funcționalitatea sistemului fiind strict dependentă de endoteliu. ECA este prezentă pe membrane și producția de Ang II din Ang I depinde și de integritatea membranelor endoteliale celulare. Adicional, producția de Ang I depinde și de sinteza vasculară de novo. Cu toate că disfuncția endotelială este probabil cea mai importantă cauză de reglare și dezechilibru a sistemului SRA între Ang II și Ang-(1-7) la pacienții cu HTN, ar trebui să se țină cont de faptul că unele componente ale SRA pot fi produse și de celulele musculare netede al vasului cât și de fibroblaste [137]. Acestea la rândul lor, pe lângă rolul relevant în afectarea ischemică în RH, pot participa, de asemenea, la dereglarea SRA. Adicional, sugerăm că testarea unor markeri adiționali, precum Ang-(1-7) ar putea elucida modificările date.

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.

SO este incriminat a fi participant la dezvoltarea HTN [261,329,330]. Dovezile experimentale confirmă că SRO joacă un rol esențial în patogeniza HTN datorită excesului și a biodisponibilității reduse a oxidului nitric la nivel vascular și rinichi și a remodelării cardiovasculare mediată de SRO. Cum a mai fost menționat anterior, o serie de studii recente arată implicarea stresului oxidativ și în dezvoltarea RH.

În SO generarea de AIM este determinată de expunerea la radicalii liberi, ca consecință a modificărilor în rețeaua microvasculară, inclusiv în cea retiniană. Mecanismele prin care SO apare și contribuie la dezvoltarea complicațiilor hipertensive sunt încă incerte, modificările biochimice rezultate induc modificări structurale și funcționale microvasculare. Aceste deficiențe generează modificări ale fluxului sangvin retinian, deteriorarea barierei sânge-retină și la final ocluzia capilară și ischemia. O reducere continuă a perfuziei capilare va duce la formarea tuturor semnelor binecunoscute ale RH ca exsudate vătoase, anomalii microvasculare intraretiniene, încrucișări venoase și neovascularizare. În condiții ischemice, ca în cele din RH descrise mai sus, capacitatea albuminei de legare a metalelor de tranziție precum nichelul, cuprul și cobaltul este diminuată, rezultând astfel formarea AIM - o variantă diferită a albuminei [106, 172, 173].

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 fi 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 ne semnificative 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 ce atenuază efectele compușilor formați subsecvent (catalaza, glutatión peroxidaza, glutatión reductaza). 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. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27990740/> [accesat la 06.10.2021].
2. Botnaru V, Corlateanu A, Chesov D, Cuzimihih G. *Medicina internă Breviar:Modulul cardiologie*. Chișinău; 2008, pp.150-154. Disponibil la: https://www.researchgate.net/publication/341576262_Victor_BOTNARU_Medicina_interna_Breviar_Modulul_CARDIOLOGIE [accesat la 06.10.2021].
3. 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. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23817082/> [accesat la 06.10.2021].
4. Barar A, Apatachioaie ID, Apatachioaie C, Marceanu L. Opinii critice privind aprecierea retinopatiei hipertensive [Hypertensive retinopathy--assessment]. *Oftalmologia*. 2008;52(1):3-12. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18714483/> [accesat la 06.10.2021].
5. Erden S, Bicakci E. Hypertensive retinopathy: incidence, risk factors, and comorbidities. *Clin Exp Hypertens*. 2012;34(6):397-401. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22468968/> [accesat la 06.10.2021].
6. Wong TY, Mitchell P. The eye in hypertension. *Lancet*. 2007 ; 369(9559) : 425–435. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17276782/> [accesat la 06.10.2021].
7. Schuster AK, Leuschner A, Feretos C, et al. Choroidal thickness is associated with cardiovascular risk factors and cardiac health: the Gutenberg Health Study. *Clin Res Cardiol*. 2020;109(2):172-182. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31168641/> [accesat la 06.10.2021].
8. Leung H, Wang JJ, Rochtchina E, et al. Relationships between age, blood pressure, and retinal vessel diameters in an older population. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(7):2900-2904. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12824229/> [accesat la 06.10.2021].
9. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). *Eur Heart J*. 2018;39(33):3021–104. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30165516/> [accesat la 06.10.2021].
10. Ambresin A, Borruat FX. Hypertension artérielle et œil [Hypertension and the eye]. *Rev Med Suisse*. 2015;11(499):2366-2372. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26852552/> [accesat la 06.10.2021].
11. 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. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29032195/> [accesat la 06.10.2021].
12. Speer H, McKune AJ. Aging under Pressure: The Roles of Reactive Oxygen and Nitrogen Species (RONS) Production and Aging Skeletal Muscle in Endothelial Function and Hypertension-From Biological Processes to Potential Interventions. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(8):1247. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34439495/> [accesat la 06.10.2021].
13. Mozos I, Luca CT. Crosstalk between Oxidative and Nitrosative Stress and Arterial Stiffness. *Curr Vasc Pharmacol*. 2017;15(5):446-456. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28155616/> [accesat la 06.10.2021].

14. Pérez-Torres I, Manzano-Pech L, Rubio-Ruíz ME, Soto ME, Guarner-Lans V. Nitrosative Stress and Its Association with Cardiometabolic Disorders. *Molecules*. 2020;25(11):2555. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32486343/> [accesat la 06.10.2021].
15. Takaishi K, Kinoshita H, Kawashima S, Kawahito S. Human Vascular Smooth Muscle Function and Oxidative Stress Induced by NADPH Oxidase with the Clinical Implications. *Cells*. 2021;10(8):1947. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34440716/> [accesat la 06.10.2021].
16. Campochiaro PA. Molecular pathogenesis of retinal and choroidal vascular diseases. *Prog Retin Eye Res*. 2015; 49:67-81. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26113211/> [accesat la 06.10.2021].
17. Linsenmeier RA. Chapter 73 - Retinal energy metabolism. In: Levin LA, Albert DMBT-OD. (ed.). *W.B. Saunders*. Edinburgh; 2010. Pp.572–8. Disponibil la: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702029837000735> [accesat la 06.10.2021].
18. Wong-Riley MT. Energy metabolism of the visual system. *Eye Brain*. 2010;2:99-116. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23226947/> [accesat la 06.10.2021].
19. Huang DR, Dai CM, Li SY, Li XF. Obacunone protects retinal pigment epithelium cells from ultra-violet radiation-induced oxidative injury. *Aging (Albany NY)*. 2021;13(8):11010-11025. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33535179/> [accesat la 06.10.2021].
20. Karaca M, Coban E, Felek R, Unal M. The association of oxidative stress with hypertensive retinopathy. *Clin Exp Hypertens*. 2013;35(1):16-19. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22571627/> [accesat la 06.10.2021].
21. Shokr H, Dias IHK, Gherghel D. Microvascular function and oxidative stress in adult individuals with early onset of cardiovascular disease. *Sci Rep*. 2020;10(1):4881. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32184402/> [accesat la 06.10.2021].
22. Seshadri S, Mroczkowska S, Qin L, Patel S, Ekart A, Gherghel D. Systemic circulatory influences on retinal microvascular function in middle-age individuals with low to moderate cardiovascular risk. *Acta Ophthalmol*. 2015;93(4):266-74. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25487686/> [accesat la 06.10.2021].
23. Touyz RM. Reactive oxygen species in vascular biology: role in arterial hypertension. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2003;1(1):91-106 Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15030300/> [accesat la 06.10.2021]
24. McDermott AM. Antimicrobial compounds in tears. *Exp Eye Res*. 2013;117:53-61 Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23880529/> [accesat la 06.10.2021].
25. López-López M, Regueiro U, Bravo SB, et al. Tear Proteomics in Keratoconus: A Quantitative SWATH-MS Analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2021;62(10):30. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34431975/> [accesat la 06.10.2021].
26. Ma J, Shen Z, Peng R, Li C, Hu B, Hong J. Tear Lipid Metabolites As Potential Diagnostic Biomarkers for Ocular Chronic Graft-Versus-Host Disease. *Transplant Cell Ther*. 2021;27(3):232.e1-232.e6. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33781517/> [accesat la 06.10.2021].
27. Chatterjee S, Chattopadhyay S, Hope-Ross M, Lip PL, Chattopadhyay S. Hypertension and the eye: changing perspectives. *J Hum Hypertens*. 2002; 16(10):667-75. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12420190/> [accesat la 06.10.2021].
28. **Pavlovski 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*, 2020, Warsaw, Poland, p.48-52. Disponibil la: <https://conferences.rsglobal.pl/index.php/conf/catalog/book/14> [accesat la 06.10.2021].
29. Coban E, Alkan E, Altuntas S, Akar Y. Serum ferritin levels correlate with hypertensive retinopathy. *Med Sci Monit.* 2010;16(2):CR92-CR95. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20110920/> [accesat la 06.10.2021].
 30. Uckaya G, Ozata M, Sonmez A, Kinalp C, Eyiletten T, Bingol N, et al. Is leptin associated with hypertensive retinopathy?. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000;85(2):683-7. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10690876/> [accesat la 06.10.2021].
 31. Yilmaz MI, Sonmez A, Kilic S et al. The association of plasma adiponectin levels with hypertensive retinopathy. *Eur J Endocrinol.* 2005;152(2):233-240. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15745931/> [accesat la 06.10.2021].
 32. Biesenbach G, Zazgornik J. High prevalence of hypertensive retinopathy and coronary heart disease in hypertensive patients with persistent microalbuminuria under short intensive antihypertensive therapy. *Clin. Nephrol.* 1994; 41(4):211-8. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8026113/> [accesat la 06.10.2021].
 33. Coban E, Nizam I, Topal C, Akar Y. The association of low-grade systemic inflammation with hypertensive retinopathy. *Clin Exp Hypertens.* 2010;32(8):528-531. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21091359/> [accesat la 06.10.2021].
 34. Shere A, Eletta O, Goyal H. Circulating blood biomarkers in essential hypertension: a literature review. *J Lab Precis Med.* 2017; 2(12) [Internet]. Disponibil la: <https://jlp.amegroups.com/article/view/3942> [accesat la 06.10.2021].
 35. Cipak Gasparovic A, Zarkovic N, Zarkovic K, Semen K, Kaminsky D, Yelisyeyeva O, et al. Biomarkers of oxidative and nitro-oxidative stress: conventional and novel approaches. *Br J Pharmacol.* 2017; 174(12):1771–1783. Disponibil la: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5446576/> [accesat la 06.10.2021].
 36. Domènech E, Marfany G. The Relevance of Oxidative Stress in the Pathogenesis and Therapy of Retinal Dystrophies. *Antioxidants.* 2020; 9(4):347. Disponibil la: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/4/347/htm> [accesat la 06.10.2021].
 37. Lîsîi L, Pavlovschi E. Biochimie medicală (Ediția a 3-a). Tipografia “Balacron”, Chișinău, 2019, 816 p. ISBN 978-9975-3288-9-0
 38. Владимиров Ю.А., Арчаков А.Н. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. *Наука*, 1972, p.252.
 39. Владимиров Ю.А. Биологические мембраны и патология клетки. *Знание*, 1979, p.48.
 40. Меерсон Ф.З, Малышев И.Ю. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца, *Наука*, 1993, p.4
 41. Wall SB, Oh JY, Diers AR, Landar A. Oxidative modification of proteins: an emerging mechanism of cell signaling. *Front Physiol.* 2012;3:369. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23049513/> [accesat la 06.10.2021].
 42. Zhang DX, Gutterman DD. Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;292(5):H2023-H2031. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17237240/> [accesat la 06.10.2021].
 43. Trachootham D, Lu W, Ogasawara M.A, Rivera-Del Valle N, Huang P. Redox regulation of cell survival. *Antioxid. Redox Signal.* 2008;10:1343–1374. Disponibil la: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2007.1957> [accesat la 06.10.2021].

44. Starkov AA. The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and signaling. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1147:37-52. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19076429/> [accesat la 06.10.2021].
45. Lenaz G. Mitochondria and reactive oxygen species. Which role in physiology and pathology?. *Adv Exp Med Biol.* 2012;942:93-136. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22399420/> [accesat la 06.10.2021].
46. Cai Z, Yan LJ. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. *J Biochem Pharmacol Res.* 2013;1(1):15-26. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23662248/> [accesat la 06.10.2021].
47. Finkel T, Holbrook N.J, Oxidants, oxidative stress and biology of ageing. *Nature* 2000;408:239–247. Disponibil la: <https://www.nature.com/articles/35041687> [accesat la 06.10.2021].
48. Kruk J, Kubasik-Kladna K, Aboul-Enein HY. The Role Oxidative Stress in the Pathogenesis of Eye Diseases: Current Status and a Dual Role of Physical Activity. *Mini Rev Med Chem.* 2015;16(3):241-257. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26586128/> [accesat la 06.10.2021].
49. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ.* 2018;25(3):486-541. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29362479/> [accesat la 06.10.2021].
50. Sies H, Jones DP. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signaling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21(7):363-383. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32231263/> [accesat la 06.10.2021].
51. Dogru M, Kojima T, Simsek C, Tsubota K. Potential Role of Oxidative Stress in Ocular Surface Inflammation and Dry Eye Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018;59(14):DES163-DES168. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30481822/> [accesat la 06.10.2021].
52. Schachat A.P, Wilkinson C.P, Hinton D.R, Sadda S.R, Wiedemann P. Ryan’s Retina. 6th edition. chapter 24. Elsevier; 2018. Disponibil la: <https://ru.scribd.com/document/502055746/Ryan-s-Retina-6th-Ed> [accesat la 06.10.2021].
53. Phaniendra A, Jestadi D.B, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem.* 2015;30(1):11–26. Disponibil la: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4310837/> [accesat la 06.10.2021]
54. Davalli P, Mitic T, Caporali A, Lauriola A, D'Arca D. ROS, Cell Senescence, and Novel Molecular Mechanisms in Aging and Age-Related Diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:3565127. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27247702/> [accesat la 06.10.2021].
55. Adwas AA, Elsayed ASI, Azab AE, Quwaydir FA. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J Appl Biotechnol Bioeng.* 2019;6(1):43–47. Disponibil la: <https://medcraveonline.com/JABB/JABB-06-00173.pdf> [accesat la 06.10.2021]
56. Bartosz G. Reactive oxygen species: Destroyers or messengers? *Biochem Pharmacol.* 2009;77(8): 1303–15. Disponibil la: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295208007983> [accesat la 06.10.2021].
57. Lloyd RV, Hanna PM, Mason RP. The origin of the hydroxyl radical oxygen in the Fenton reaction. *Free Radic Biol Med.* 1997;22(5):885-888. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9119257/> [accesat la 06.10.2021].
58. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:360438. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24999379/> [accesat la 06.10.2021].

59. Masuda T, Shimazawa M, Hara H. Retinal Diseases Associated with Oxidative Stress and the Effects of a Free Radical Scavenger (Edaravone). *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:9208489. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28194256/> [accesat la 06.10.2021].
60. Inagaki T, Akiyama T, Du CK, Zhan DY, Yoshimoto M, Shirai M. Monoamine oxidase-induced hydroxyl radical production and cardiomyocyte injury during myocardial ischemia-reperfusion in rats. *Free Radic Res*. 2016;50(6):645-653. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26953687/> [accesat la 06.10.2021].
61. Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. *J. Mol. Struct*. 2003;666–667;387–392. Disponibil la: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166128003006675> [accesat la 06.10.2021].
62. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*. 2010;4(8):118-126. Disponibil la: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249911/> [accesat la 06.10.2021]
63. Benhar M. Oxidants, Antioxidants and Thiol Redox Switches in the Control of Regulated Cell Death Pathways. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(4):309. Disponibil la: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/4/309> Disponibil la: [accesat la 06.10.2021].
64. Kohen R, Nyska A. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol pathol*. 2002;30(6):620-650. Disponibil la: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1080/01926230290166724> [accesat la 06.10.2021]
65. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol*. 2018;217(6):1915-1928. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29669742/> [accesat la 06.10.2021].
66. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012;33(7):829-837d. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21890489/> [accesat la 06.10.2021].
67. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*. 2007;87(1):315-424. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17237348/> [accesat la 06.10.2021].
68. Abou-Mohamed G, Johnson JA, Jin L, et al. Roles of superoxide, peroxynitrite, and protein kinase C in the development of tolerance to nitroglycerin. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;308(1):289–299 Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14563789/> [accesat la 06.10.2021].
69. Dumanschi C, Ivanov V. Evoluția oxidului nitric la diferite etape după angioplastia coronariană în funcție de stentul utilizat. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2019; 1(61):132-136. ISSN 1857-0011. Disponibil la: https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/75770 [accesat la 06.10.2021]
70. Goldstein IM, Ostwald P, Roth S. Nitric oxide: a review of its role in retinal function and disease. *Vision Res*. 1996;36(18):2979-94. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8917798/> [accesat la 06.10.2021].
71. Rybka J, Kupczyk D, Kędziora-Kornatowska K, et al. Glutathione-related antioxidant defense system in elderly patients treated for hypertension. *Cardiovasc Toxicol*. 2011;11(1):1-9. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21140238/> [accesat la 06.10.2021].
72. Lazo-de-la-Vega-Monroy M, Fernandez-Mejia C. Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions, 2013. Disponibil la: <https://www.intechopen.com/chapters/39159> [accesat la 06.10.2021].

73. El-Bahr SM. Biochemistry of Free Radicals and Oxidative Stress. *Science International*. 2013; 1:111-117. Disponibil la: <http://docsdrive.com/pdfs/scienceinternational/sciintl/2013/111-117.pdf> [accesat la 06.10.2021]
74. Perry JJ, Shin DS, Getzoff ED, Tainer JA. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1804(2):245-262. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19914407/> [accesat la 06.10.2021].
75. Franco MC, Dennys CN, Rossi FH, Estévez AG. Superoxide Dismutase and Oxidative Stress in Amyotrophic Lateral Sclerosis, Current Advances in Amyotrophic Lateral Sclerosis *IntechOpen*. 2013. Disponibil la: <https://www.intechopen.com/books/current-advances-in-amyotrophic-lateral-sclerosis/superoxide-dismutase-and-oxidative-stress-in-amyotrophic-lateral-sclerosis> [accesat la 06.10.2021].
76. Akeo K, Hiramitsu T, Kanda T, Karasawa Y, Okisaka S. Effects of Superoxide Dismutase and Catalase on Growth of Retinal Pigment Epithelial Cells in vitro following Addition of Linoleic Acid or Linoleic Acid Hydroperoxide. *Ophthalmic Res*. 1996;28(1):8-18. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8726672/> [accesat la 06.10.2021].
77. Elchuri S, Naeemuddin M, Sharpe O, Robinson WH, Huang TT. Identification of biomarkers associated with the development of hepatocellular carcinoma in CuZn superoxide dismutase deficient mice. *Proteomics*. 2007;7(12):2121-2129. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17514684/> [accesat la 06.10.2021].
78. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*. 2008;88(4):1243-1276. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18923182/> [accesat la 06.10.2021].
79. Lob HE, Vinh A, Li L, Blinder Y, Offermanns S, Harrison DG. Role of vascular extracellular superoxide dismutase in hypertension. *Hypertension*. 2011;58(2):232-239. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21730294/> [accesat la 06.10.2021].
80. Vaziri ND, Dicus M, Ho ND, Boroujerdi-Rad L, Sindhu RK. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. *Kidney Int*. 2003;63(1):179-185. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12472781/> [accesat la 06.10.2021].
81. Pong K. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: therapeutic implications for superoxide dismutase mimetics. *Expert Opin Biol Ther*. 2003;3(1):127-139. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12718737/> [accesat la 06.10.2021].
82. Dubinina EE, Burmistrov SO, Khodov D.A., Porotov I.G. Oxidative modification of human serum proteins, methods of its identification. *Voprosy meditsinskoy khimii [Issues of medicinal chemistry]*. 1995;41(1):24-26. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7771084/> [accesat la 06.10.2021].
83. Gebicka L, Krych-Madej J. The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress. *J Inorg Biochem*. 2019;197:110699. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31055214/> [accesat la 06.10.2021].
84. Labiós M, Martínez M, Gabriel F, et al. Superoxide dismutase and catalase anti-oxidant activity in leucocyte lysates from hypertensive patients: effects of eprosartan treatment. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2009;10(1):24-30. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19286755/> [accesat la 06.10.2021].
85. Brioukhanov AL, Netrusov AI. Catalase and superoxide dismutase: distribution, properties, and physiological role in cells of strict anaerobes. *Biochemistry (Mosc)*. 2004;69(9):949-962. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15521809/> [accesat la 06.10.2021].

86. Miller JK, Brzezinska-Slebozinska E, Madsen FC. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J Dairy Sci.* 1993;76(9):2812-2823. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8227685/> [accesat la 06.10.2021].
87. Kodydková J, Vávrová L, Kocík M, Žák A. Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases. *Folia Biol (Praha).* 2014;60(4):153-167. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25152049/> [accesat la 06.10.2021].
88. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr.* 2004;134(3):489-492. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14988435/> [accesat la 06.10.2021].
89. Ganea E, Harding JJ. Glutathione-related enzymes and the eye. *Curr Eye Res.* 2006;31(1):1-11. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16421014/> [accesat la 06.10.2021].
90. Rodrigo R, Prat H, Passalacqua W, Araya J, Guichard C, Bächler JP. Relationship between oxidative stress and essential hypertension. *Hypertens Res.* 2007;30(12):1159-1167. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18344620/> [accesat la 06.10.2021].
91. Redón J, Oliva MR, Tormos C, et al. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension.* 2003;41(5):1096-1101. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12707286/> [accesat la 06.10.2021].
92. Carmody RJ, McGowan AJ, Cotter TG. Reactive oxygen species as mediators of photoreceptor apoptosis in vitro. *Exp Cell Res.* 1999;248(2):520-530. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10222143/> [accesat la 06.10.2021].
93. Fujii T, Mori K, Takahashi Y, et al. Immunohistochemical study of glutathione reductase in rat ocular tissues at different developmental stages. *Histochem J.* 2001;33(5):267-272. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11563539/> [accesat la 06.10.2021].
94. Vikis HG, Guan KL. Glutathione-S-transferase (GST)-fusion based assays for studying protein-protein interactions. *Methods Mol Biol.* 2015;1278:353-364. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25859961/> [accesat la 06.10.2021].
95. Ambros A. Studiul complex și integral al proceselor de oxidare peroxidică a lipidelor și al sistemului antioxidant în etapele timpurii ale răspunsului metabolic al rinichilor la acțiunea traumei mecanice. Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale. Chișinău, 1996. CZU:617.58-001.4+616.61+577.125
96. Trevisan M, Browne R, Ram M, et al. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am J Epidemiol.* 2001;154(4):348-356. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11495858/> [accesat la 06.10.2021].
97. Tagadiuc O. Rolul proceselor de oxidare peroxidică a lipidelor și a sistemului antioxidant în etapele timpurii ale răspunsului metabolic al ficatului la acțiunea factorului traumatic mecanic. Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale. Chișinău, 1994. CZU: 612.015+616.36-011.36/-92.
98. Timercan T, Stratulat S, Braniște T, Lîsîi L. Particularitățile metabolismului acizilor grași în miocard. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale.* 2017;2(54):78-83. Disponibil la: <https://bulmed.md/index.php/bulmed/article/view/2727> [accesat la 06.10.2021].
99. Lane N, Oxygen: The Molecule that Made the World, *Oxford University Press*, 2002. Disponibil la: <https://pdfcoffee.com/popular-science-nick-lane-oxygen-the-molecule-that-made-the-world-oxford-university-press-2004pdf-pdf-free.html> [accesat la 06.10.2021].
100. Ho E, Karimi Galougahi K, Liu CC, Bhindi R, Figtree GA. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biol.* 2013;1(1):483-491. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24251116/> [accesat la 06.10.2021].

101. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;482(3):419-425. Disponibil la: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5319403/> [accesat la 06.10.2021].
102. Siddique YH, Ara G, Afzal M. Estimation of lipid peroxidation induced by hydrogen peroxide in cultured human lymphocytes. *Dose Response.* 2012;10(1):1–10. Disponibil la: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3299524/> [accesat la 06.10.2021].
103. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *Br J Pharmacol.* 2004;142(2):231-255. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15155533/> [accesat la 06.10.2021].
104. Timercan T, Timercan V. Malondialdehyde variations in experimental myocardial infarction. In: *Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine/ Collection of abstracts.* 2018, vol.2(2), p. 78-79. ISSN 2570-5911 (Print); ISSN 2570-5903 (On-Line). DOI: 10.29256/v.02.02.2018.escbm69
105. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem.* 2006;52(4):601-623. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16484333/> [accesat la 06.10.2021].
106. Turk A, Nuhoglu I, Mentese A, Karahan SC, Erdol H, Erem C. The relationship between diabetic retinopathy and serum levels of ischemia-modified albumin and malondialdehyde. *Retina.* 2011;31(3):602-608. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21273947/> [accesat la 06.10.2021].
107. Giurcăneanu C, Merticariu A. Evaluarea serologică a stresului oxidativ în etiopatogenia rozaceei. Teza de doctorat 2017; pp.53-54. Disponibil la: [https://umfcd.ro/wp-content/uploads/2017/04/SUSTINERE TEZE/MARINESCU MERTICARIU/rezumate-teza-1.pdf](https://umfcd.ro/wp-content/uploads/2017/04/SUSTINERE_TEZE/MARINESCU_MERTICARIU/rezumate-teza-1.pdf) [accesat la 06.10.2021].
108. Yan LJ. Protein redox modification as a cellular defense mechanism against tissue ischemic injury. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:343154. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24883175/> [accesat la 06.10.2021].
109. Cai Z, Yan LJ. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. *J Biochem Pharmacol Res.* 2013;1(1):15-26. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23662248/> [accesat la 06.10.2021].
110. Kohen R, Nyska A. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol pathol.* 2002; 30(6): 620-650. Disponibil la: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1080/01926230290166724> [accesat la 06.10.2021]
111. Lazăr C. Caracteristica metabolică a ischemiei/reperfuziei cauzate de torsiunea/detorsiunea ovariană (Doctoral dissertation), 2021, 143 p. Disponibil la: <http://repository.usmf.md/bitstream/20.500.12710/15230/1/Teza.pdf> [accesat la 06.10.2021]
112. Lazăr C, Mișina A, Cuțescu I, Tagadiuc O. Mechanisms of reactive oxygen species production in the lesions caused by ischemia/reperfusion. *Archives of the Balkan Medical Union.* 2016;51:(1):1:199-204.
113. Selmeçi L, Seres L, Antal M, Lukács J, Regöly-Mérei A, Acsády G. Advanced oxidation protein products (AOPP) for monitoring oxidative stress in critically ill patients: a simple, fast and inexpensive automated technique. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43(3):294-297. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15843234/> [accesat la 06.10.2021].
114. Selmeçi L. Advanced oxidation protein products (AOPP): novel uremic toxins, or components of the non-enzymatic antioxidant system of the plasma proteome?. *Free Radical Research,*

- 2011;45:10:1115–1123. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15843234/> [accesat la 06.10.2021].
115. Skvarilová M, Bulava A, Stejskal D, Adamovská S, Bartek J. Increased level of advanced oxidation products (AOPP) as a marker of oxidative stress in patients with acute coronary syndrome. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2005;149(1):83-87. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16170393/> [accesat la 06.10.2021].
 116. Alagozlu H, Gorgul A, Bilgihan A, Tuncer C, Unal S. Increased plasma levels of advanced oxidation protein products (AOPP) as a marker for oxidative stress in patients with active ulcerative colitis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2013;37(1):80-85. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22572519/> [accesat la 06.10.2021].
 117. Kaefer M, Piva SJ, De Carvalho JA, et al. Association between ischemia modified albumin, inflammation and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem.* 2010;43(4-5):450-454. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19968982/> [accesat la 06.10.2021].
 118. Piva SJ, Duarte MM, Da Cruz IB, et al. Ischemia-modified albumin as an oxidative stress biomarker in obesity. *Clin Biochem.* 2011;44(4):345-347. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21159315/> [accesat la 06.10.2021].
 119. Lazăr C, Voizian M, Pantea V, Mișina A, Tagadiuc O. Ischemia modified albumin in experimental ovarian torsion with and without controlled reperfusion. *Rev Romana Med Lab.* 2019;27(1):43–50. Disponibil la: <https://sciendo.com/article/10.2478/rrlm-2019-0008> [accesat la 06.10.2021].
 120. Godo S, Shimokawa H. Endothelial Functions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;37(9):e108-e114. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28835487/> [accesat la 06.10.2021].
 121. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007;115(10):1285-1295. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17353456/> [accesat la 06.10.2021].
 122. Badimon L, Martínez-González J, Llorente-Cortés V, Rodríguez C, Padró T. Cell biology and lipoproteins in atherosclerosis. *Curr Mol Med.* 2006;6(5):439-56. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17353456/> [accesat la 06.10.2021].
 123. Ray R, Shah AM. NADPH oxidase and endothelial cell function. *Clin Sci (Lond).* 2005;109(3):217-226. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16104842/> [accesat la 06.10.2021].
 124. Karaca M, Coban E, Ozdem S, Unal M, Salim O, Yucel O. The association between endothelial dysfunction and hypertensive retinopathy in essential hypertension. *Med Sci Monit.* 2014;20:78-82. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24441931/> [accesat la 06.10.2021].
 125. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(2):168-175. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12588755/> [accesat la 06.10.2021].
 126. Cachofeiro V, Goicochea M, de Vinuesa SG, Oubiña P, Lahera V, Luño J. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl.* 2008;(111):S4-S9. Disponibil la: [https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538\(15\)53232-8/pdf](https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538(15)53232-8/pdf) [accesat la 06.10.2021].
 127. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci.* 2013;9(10):1057-1069. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24250251/> [accesat la 06.10.2021].
 128. Protopop S. Lipoproteinele plasmatice – concepții contemporane. Chișinău: Universul, 2012.72p. ISBN 978-9975-47-079-7

129. Vapaatalo H, Mervaala E, Clinically important factors influencing endothelial function, *Med Sci Monit.* 2001; 7(5): RA1075-1085. Disponibil pe: <https://www.medscimonit.com/download/index/idArt/509342> [accesat pe 06.10.2021].
130. Salem S, Jankowski V, Asare Y, et al. Identification of the Vasoconstriction-Inhibiting Factor (VIF), a Potent Endogenous Cofactor of Angiotensin II Acting on the Angiotensin II Type 2 Receptor. *Circulation* 2015;131:1426-34 Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25810338/> [accesat la 06.10.2021].
131. Marin Garcia PJ, Marin-Castaño ME. Angiotensin II-related hypertension and eye diseases. *World J Cardiol* 2014;6(9): 968-984 Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25276298/> [accesat la 06.10.2021].
132. Holappa M, Vapaatalo H, Vaajanen A. Many Faces of Renin-angiotensin System - Focus on Eye. *Open Ophthalmol J.* 2017;11:122-142. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28761566/> [accesat la 06.10.2021].
133. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev.* 2006;86(3):747-803. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16816138/> [accesat la 06.10.2021].
134. Paulis L, Unger T. Novel therapeutic targets for hypertension. *Nat Rev Cardiol.* 2010;7(8):431-441. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20567239/> [accesat la 06.10.2021].
135. Ferrario CM. ACE2: more of Ang-(1-7) or less Ang II?. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2011;20(1):1-6. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21045683/> [accesat la 06.10.2021].
136. Ferreira AJ, Murça TM, Fraga-Silva RA, Castro CH, Raizada MK, Santos RA. New cardiovascular and pulmonary therapeutic strategies based on the Angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin-(1-7)/mas receptor axis. *Int. J. Hypertens.* 2012;2012: 147825. Disponibil la: <https://www.hindawi.com/journals/ijhy/2012/147825/> [accesat la 06.10.2021].
137. Ivanov M, Popovici M, Ciobanu L, Ivanov V, Popovici I, Cobet V, et al. Acute vascular effects of the ang 1-7 in endothelial dysfunction. *Atherosclerosis [Internet].* 2021;331:e95. Disponibil la: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2021.06.278> [accesat la 06.10.2021].
138. Lin SY, Goodfriend TL. Angiotensin receptors. *Am J Physiol.* 1970;218(5):1319-1328. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4314569/> [accesat la 06.10.2021].
139. Sarlos S, Rizkalla B, Moravski CJ, Cao Z, Cooper ME, Wilkinson-Berka JL. Retinal angiogenesis is mediated by an interaction between the angiotensin type 2 receptor, VEGF, and angiopoietin. *Am J Pathol.* 2003;163(3):879-887. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12937129/> [accesat la 06.10.2021].
140. Kurihara T, Ozawa Y, Ishida S, Okano H, Tsubota K. Renin-Angiotensin system hyperactivation can induce inflammation and retinal neural dysfunction. *Int J Inflam.* 2012;2012:581695. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22536545/> [accesat la 06.10.2021].
141. Boucher R, Demassieux S, Garcia R, Genest J. Tonin, angiotensin II system. A review. *Circ Res* 1977;41(4):2:26-9. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20244/>[accesat la 06.10.2021].
142. Arakawa K. Serine protease angiotensin II systems. *J Hypertens Suppl.* 1996;14(5):S3-7. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9120682/> [accesat la 06.10.2021].
143. Maruta H, Arakawa K. Confirmation of direct angiotensin formation by kallikrein. *Biochem J.* 1983;213(1):193-200. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6555043/> [accesat la 06.10.2021].

144. Tonnesen MG, Klempner MS, Austen KF, Wintroub BU. Identification of a human neutrophil angiotensin II-generating protease as cathepsin G. *J Clin Invest.* 1982;69(1):25-30. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6172448/> [accesat la 06.10.2021].
145. Becari C, Oliveira EB, Salgado MC. Alternative pathways for angiotensin II generation in the cardiovascular system. *Braz J Med Biol Res.* 2011;44(9):914-919. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21956534/> [accesat la 06.10.2021].
146. Hooper NM, Turner AJ. An ACE structure. *Nat Struct Biol.* 2003;10(3):155-157. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12605218/> [accesat la 06.10.2021].
147. Riordan JF. Angiotensin-I-converting enzyme and its relatives. *Genome Biol.* 2003;4(8):225. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12914653/> [accesat la 06.10.2021].
148. Takai S, Sakaguchi M, Jin D, Yamada M, Kirimura K, Miyazaki M. Different angiotensin II-forming pathways in human and rat vascular tissues. *Clin Chim Acta.* 2001;305(1-2):191-195. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11249939/> [accesat la 06.10.2021].
149. Jackman HL, Massad MG, Sekosan M, et al. Angiotensin 1-9 and 1-7 release in human heart: role of cathepsin A. *Hypertension.* 2002;39(5):976-981. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12019279/> [accesat la 06.10.2021].
150. Watkins RW, Baum T, Cedeno K, et al. Topical ocular hypotensive effects of the novel angiotensin converting enzyme inhibitor SCH 33861 in conscious rabbits. *J Ocul Pharmacol.* 1987;3(4):295-307. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3503919/> [accesat la 06.10.2021].
151. Ribeiro-Oliveira A Jr, Nogueira AI, Pereira RM, Boas WW, Dos Santos RA, Simões e Silva AC. The renin-angiotensin system and diabetes: an update. *Vasc Health Risk Manag.* 2008;4(4):787-803. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19065996/> [accesat la 06.10.2021].
152. Giese MJ, Speth RC. The ocular renin-angiotensin system: a therapeutic target for the treatment of ocular disease. *Pharmacol Ther.* 2014;142(1):11-32. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24287313/> [accesat la 06.10.2021].
153. Borovic D, Bendelic E, Chiseliță D, Studiul sistemelor biochimice kinină – kalikreină și renină – angiotensină în glaucomul primitiv cu unghi deschis, *Oftalmologia*, 53(2):61-68. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19697842/> [accesat la 06.10.2021].
154. Shere A, Eletta O, Goyal H. Circulating blood biomarkers in essential hypertension: a literature review. *J Lab Precis Med.* 2017;2:99–99. Disponibil la: <https://jlp.amegroups.com/article/view/3942> Disponibil la: [accesat la 06.10.2021].
155. Biswas SK. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox?. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:5698931. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26881031/> [accesat la 06.10.2021].
156. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free Radic Biol Med.* 2010;49(11):1603-1616. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20840865/> [accesat la 06.10.2021].
157. Gill R, Tsung A, Billiar T. Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors. *Free Radic Biol Med.* 2010;48(9):1121-1132. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20083193/> [accesat la 06.10.2021].
158. Tsubota K. Oxidative stress and inflammation: hypothesis for the mechanism of aging. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* 2007;111(3):193-206. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17402562/> [accesat la 06.10.2021].

159. Rodríguez-Iturbe B, Pons H, Quiroz Y, Johnson RJ. The immunological basis of hypertension. *Am J Hypertens.* 2014;27(11):1327-1337. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25150828/> [accesat la 06.10.2021].
160. Savoia C, Schiffrin EL. Inflammation in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2006;15(2):152-158. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16481882/> [accesat la 06.10.2021].
161. Verma S, Wang CH, Li SH, et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation.* 2002;106(8):913-919. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12186793/> [accesat la 06.10.2021].
162. Brasier AR, Recinos A 3rd, Eleđrisi MS. Vascular inflammation and the renin-angiotensin system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(8):1257-1266. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12171785/> [accesat la 06.10.2021].
163. Takiuchi S, Kamide K, Miwa Y, et al. Diagnostic value of carotid intima-media thickness and plaque score for predicting target organ damage in patients with essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2004;18(1):17-23. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14688806/> [accesat la 06.10.2021].
164. Granger DN, Vowinkel T, Petnehazy T. Modulation of the inflammatory response in cardiovascular disease. *Hypertension.* 2004;43(5):924-931. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15007038/> [accesat la 06.10.2021].
165. Wang H, Han X, Wittchen ES, Hartnett ME. TNF- α mediates choroidal neovascularization by upregulating VEGF expression in RPE through ROS-dependent β -catenin activation. *Mol Vis.* 2016;22:116-128. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26900328/> [accesat la 06.10.2021].
166. Maraldi T, Prata C, Caliceti C, et al. VEGF-induced ROS generation from NAD(P)H oxidases protects human leukemic cells from apoptosis. *Int J Oncol.* 2010;36(6):1581-1589. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20428783/> [accesat la 06.10.2021].
167. Fu Z, Chen CT, Cagnone G, et al. Dyslipidemia in retinal metabolic disorders. *EMBO Mol Med.* 2019;11(10):e10473. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31486227/> [accesat la 06.10.2021].
168. Schnebelen C, Viau S, Grégoire S, et al. Nutrition for the eye: different susceptibility of the retina and the lacrimal gland to dietary omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acid incorporation. *Ophthalmic Res.* 2009;41(4):216-224. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19451735/> [accesat la 06.10.2021].
169. Selivanov VA, Votyakova TV, Pivtoraiko VN, et al. Reactive oxygen species production by forward and reverse electron fluxes in the mitochondrial respiratory chain. *PLoS Comput Biol.* 2011;7(3):e1001115. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21483483/> [accesat la 06.10.2021].
170. Eldred WD, Blute TA. Imaging of nitric oxide in the retina. *Vision Res.* 2005;45(28):3469-3486. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16171845/> [accesat la 06.10.2021].
171. Wan JJ, New Biomarkers in the Retina and RPE Under Oxidative Stress, Ocular Diseases, Adedayo Adio, 2012, *IntechOpen*. Disponibil la: <https://www.intechopen.com/books/ocular-diseases/new-biomarkers-in-the-retina-and-rpe-under-oxidative-stress> [accesat la 06.10.2021].
172. DellaCroce JT, Vitale AT. Hypertension and the eye. *Curr Opin Ophthalmol.* 2008;19(6):493-498. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18854694/> [accesat la 06.10.2021].
173. Reddy VS, Sethi S, Agrawal P, Gupta N, Garg R. Ischemia modified albumin (IMA) and albumin adjusted-IMA (AAIMA) as biomarkers for diabetic retinopathy. *Nepal J Ophthalmol.*

- 2015;7(14):117-123. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27363956/> [accesat la 06.10.2021].
174. Kulkarni PS, Hamid H, Barati M, Butulija D. Angiotensin II-induced constrictions are masked by bovine retinal vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40(3):721-728. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10067976/> [accesat la 06.10.2021].
175. Kur J, Newman EA, Chan-Ling T. Cellular and physiological mechanisms underlying blood flow regulation in the retina and choroid in health and disease. *Prog Retin Eye Res.* 2012;31(5):377-406. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22580107/> [accesat la 06.10.2021].
176. Brown SM, Jampol LM. New concepts of regulation of retinal vessel tone. *Arch Ophthalmol.* 1996;114(2):199-204. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8573025/> [accesat la 06.10.2021].
177. Ito S, Arima S, Ren YL, Juncos LA, Carretero OA. Endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide modulates angiotensin II action in the isolated microperfused rabbit afferent but not efferent arteriole. *J Clin Invest.* 1993;91(5):2012-2019. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8486771/> [accesat la 06.10.2021].
178. Miller AG, Tan G, Binger KJ, et al. Candesartan attenuates diabetic retinal vascular pathology by restoring glyoxalase-I function. *Diabetes.* 2010;59(12):3208-3215. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20852029/> [accesat la 06.10.2021].
179. Anderson DR. Glaucoma, capillaries and pericytes. 1. Blood flow regulation. *Ophthalmologica.* 1996;210(5):257-262. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8878207/> [accesat la 06.10.2021].
180. Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, et al. Hypertension. *Nat Rev Dis Primers.* 2018;4:18014. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29565029/> [accesat la 06.10.2021].
181. Aissopou EK, Papathanassiou M, Nasothimiou EG, et al. The Keith-Wagener-Barker and Mitchell-Wong grading systems for hypertensive retinopathy: association with target organ damage in individuals below 55 years. *J Hypertens.* 2015;33(11):2303-2309. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26335430/> [accesat la 06.10.2021].
182. Grosso A, Veglio F, Porta M, Grignolo FM, Wong TY. Hypertensive retinopathy revisited: some answers, more questions. *Br J Ophthalmol.* 2005;89(12):1646-1654. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16299149/> [accesat la 06.10.2021].
183. Nwankwo T, Yoon SS, Burt V, Gu Q. Hypertension among adults in the United States: National Health and Nutrition Examination Survey, 2011-2012. *NCHS Data Brief.* 2013;(133):1-8. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24171916/> [accesat la 06.10.2021].
184. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови человека. *Клин. лаб. д-ка.* 2005; 6: p. 15-18
185. 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
186. Marzinzig M, Nussler AK, Stadler J, et al. Improved methods to measure end products of nitric oxide in biological fluids: nitrite, nitrate, and S-nitrosothiols. *Nitric Oxide.* 1997;1(2):177-189. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9701056/> [accesat la 06.10.2021].
187. Haqqani AS, Do SK, Birnboim HC. The role of a formaldehyde dehydrogenase-glutathione pathway in protein S-nitrosation in mammalian cells. *Nitric Oxide.* 2003;9(3):172-181. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14732341/> [accesat la 06.10.2021].

188. 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)
189. Галактионова Л.П., Молчанов А.В., Ельчанинова С.А., Варшавский Б.Я. Состояние перекисного окисления у больных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Лаб. Дело. 1998; 6: p. 10-14.
190. 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
191. Capeillère-Blandin C, Gausson V, Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products. *Biochim Biophys Acta*. 2004; 1689(2): p. 91-102. Disponibil la: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443904000237?via%3Dihub> [accesat la 06.10.2021]]
192. 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
193. 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
194. Матюшин Б.Н., Логинов А.С., Ткачев В.Д. Определение супероксиддисмутазной активности в материале пункционной биопсии печени при ее хроническом поражении. Лаб. дело. 1991; 10: p. 30-33
195. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови. *Лаб. дело*. 1983; 10: p. 30-33.
196. Tagadiuc O, Gudumac V, Pantea V. Procedeu de dozare a activității superoxid dismutazei. Certificat de inovator nr. 4891 din 15.07.2010.
197. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лаб. Дело*. 1988; 1: p. 16-19.
198. Baciuc E, Nastas I. Procedeu de determinare a activității catalazei. Certificat de inovator nr. 3122 din 09.11.1996.
199. Wendel A. Glutathione peroxidase. In: Jakoby W.B., editor. Enzymatic basis of detoxication. Academic Press NY. 1980; 1: p. 333-353.
200. Tagadiuc O, Andronache L, Știrba O, Sardari V, Pantea V. Determinarea glutation peroxidazei. Certificat de inovator nr. 5161 din 26.10.2012.
201. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслегина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей. *Лаб. Дело*. 1990; 8: p. 19-22.
202. Gudumac V, Tagadiuc O, Andronache L, Știrba O, Sardari V. Determinarea glutation reductazei în eritrocite și ser sangvin. Certificat de inovator nr. 5172 din 06.11.2012
203. Mortensen E. The nitroprusside method for determination of reduced glutathione. *Scand J Clin Lab Invest*. 1964; 16:87-97. Disponibil la: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/00365516409060487> [accesat la 06.10.2021]]
204. Andronache L, Tagadiuc O, Gudumac V, Gulea A. Optimizarea procedului nitroprusidic de evaluare a glutationului redus în materialul biologic. *Analele Științifice ale USMF „N. Testemițanu”*. 2009;1(10):184-189. ISSN 1857-1719. Disponibil la: https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/2128 [accesat la 06.10.2021]]

205. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 1959;82(1):70-77. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13650640/> [accesat la 06.10.2021].
206. Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods Enzymol.* 1994;233:380-385. Disponibil la: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687994330441> [accesat la 06.10.2021].
207. Gudumac V, Tagadiuc O, Andronache L., Pantea V. Determinarea conținutului de grupe tiolice ale proteinelor. Certificat de inovator nr. 5173 din 07.11.2012.
208. 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. Disponibil la: <http://www.db.agepi.md/Inventions/details/a%202009%200116/Des~a%202009%200116> [accesat la 06.10.2021]
209. Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin Chem.* 1973;19(5):476-482. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4703655/> [accesat la 06.10.2021].
210. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem.* 1982;28(10):2077-2080. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6812986/> [accesat la 06.10.2021].
211. Naito HK, Greenstreet RL, David JA, et al. HDL-cholesterol concentration and severity of coronary atherosclerosis determined by cine-angiography. *Artery.* 1980;8(2):101-112. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7458675/> [accesat la 06.10.2021].
212. Meiattini F, Prencipe L, Bardelli F, Giannini G, Tarli P. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone chromogenic system used in the enzymic determination of serum cholesterol. *Clin Chem.* 1978;24(12):2161-2165. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/719864/> [accesat la 06.10.2021].
213. Burstein M, Scholnick HR, Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res.* 1970;11(6):583-595. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4100998/> [accesat la 06.10.2021].
214. Lopes-Virella MF, Stone P, Ellis S, Colwell JA. Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods. *Clin Chem.* 1977;23(5):882-884. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/192488/> [accesat la 06.10.2021].
215. Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clin Chem.* 2002;48(2):236-254. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11805004/> [accesat la 06.10.2021].
216. McDonald JH. Handbook of biological statistics (3rd ed.). Sparky House Publishing, Baltimore, Maryland. 2014. Disponibil la: <http://www.biostathandbook.com/index.html> [accesat la 06.10.2020].
217. Sinha N, Dabla PK. Oxidative stress and antioxidants in hypertension-a current review. *Curr Hypertens Rev.* 2015;11(2):132-142. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26022210/> [accesat la 06.10.2021].
218. Touyz RM, Briones AM. Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension. *Hypertens Res.* 2011;34(1):5-14. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20981034/> [accesat la 06.10.2021].
219. Ceriello A. Possible role of oxidative stress in the pathogenesis of hypertension. *Diabetes Care.* 2008;31 Suppl 2:S181-S184. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18227482/> [accesat la 06.10.2021]

220. Hogg N. The Biochemistry and Physiology of S-Nitrosothiols. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2002;42(1):585–600. Disponibil la: <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.42.092501.104328> [accesat la 06.10.2021].
221. Paniagua OA, Bryant MB, Panza JA. Role of endothelial nitric oxide in shear stress-induced vasodilation of human microvasculature: diminished activity in hypertensive and hypercholesterolemic patients. *Circulation.* 2001;103(13):1752-1758. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11282906/> [accesat la 06.10.2021].
222. Neroev VV, Arkhipova MM. Ishemiia setchatki i oksid azota [Retinal ischemia and nitric oxide]. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* 2003;(5):37-40. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12800488/> [accesat la 06.10.2021].
223. Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers Arch.* 2010;459(6):923-939. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20306272/> [accesat la 06.10.2021].
224. Opatrilova R, Kubatka P, Caprnda M, et al. Nitric oxide in the pathophysiology of retinopathy: evidences from preclinical and clinical researches. *Acta Ophthalmol.* 2018;96(3):222-231. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28391624/> [accesat la 06.10.2021].
225. Toda N, Nakanishi-Toda M. Nitric oxide: ocular blood flow, glaucoma, and diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2007;26(3):205-238. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17337232/> [accesat la 06.10.2021].
226. Cotton SA, Herrick AL, Jayson MI, Freemont AJ. Endothelial expression of nitric oxide synthases and nitrotyrosine in systemic sclerosis skin. *J Pathol.* 1999;189(2):273-278. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10547586/> [accesat la 06.10.2021].
227. Hermann M, Flammer A, Lüscher TF. Nitric oxide in hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2006;8(12 Suppl 4):17-29. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17170603/> [accesat la 06.10.2021].
228. 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. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9216458/> [accesat la 06.10.2021].
229. Ratajczak-Wrona W, Jablonska E, Antonowicz B, Dziemianczyk D, Grabowska SZ. Levels of biological markers of nitric oxide in serum of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Int J Oral Sci.* 2013;5(3):141-145. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23970140/> [accesat la 06.10.2021].
230. Armas-Padilla MC, Armas-Hernández MJ, Sosa-Canache B, et al. Nitric oxide and malondialdehyde in human hypertension. *Am J Ther.* 2007;14(2):172-176. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17414586/> [accesat la 06.10.2021].
231. Ahmad A, Singhal U, Hossain MM, Islam N, Rizvi I. The role of the endogenous antioxidant enzymes and malondialdehyde in essential hypertension. *J Clin Diagn Res.* 2013;7(6):987-990. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23905086/> [accesat la 06.10.2021].
232. Timercan T, Lîșîi L, Braniste T. Malonyl dialdehyde in isoproterenol-induced acute myocardial infarction. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.* 2021 Apr 29;123:47–52. Disponibil la: https://www.researchgate.net/publication/351152595_MALONYL_DIALDEHYDE_IN_ISOPROTERENOL-INDUCED_ACUTE_MYOCARDIAL_INFARCTION [accesat la 06.10.2021].
233. Nwanjo HU, Oze.G, Okafor MC, Nwasu D, Nwankpa P. Oxidative stress and non enzymic antioxidant status in hypertensive patients in Nigeria. *African Journal of Biotechnology.*

- 2007;6:1681-4. Disponibil la: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/57751> [accesat la 06.10.2021].
234. Mahdi AA. Free radicals and other antioxidant. A textbook of Biochemistry by S.P Singh. 3rd edn. CBs publishers and distributors. New Delhi. 2002;545-55
235. Moore K, Roberts LJ 2nd. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res.* 1998;28(6):659-671. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9736317/> [accesat la 06.10.2021].
236. Kersten E, Paun CC, Schellevis RL, et al. Systemic and ocular fluid compounds as potential biomarkers in age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* 2018;63(1):9-39. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28522341/> [accesat la 06.10.2021].
237. Benlloch-Navarro S, Franco I, Sánchez-Vallejo V, Silvestre D, Romero FJ, Miranda M. Lipid peroxidation is increased in tears from the elderly. *Exp Eye Res.* 2013;115:199-205. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23906963/> [accesat la 06.10.2021].
238. Piwowar A. Advanced oxidation protein products. Part I. Mechanism of the formation, characteristics and property. *Pol Merkur Lekarski.* 2010; 28(164): p. 166-169. Disponibil la: https://www.researchgate.net/publication/43048169_Advanced_oxidation_protein_products_Part_I_Mechanism_of_the_formation_characteristics_and_property [accesat la 06.10.2021]
239. Grysczyńska B, Formanowicz D, Budzyń M, et al. Advanced Oxidation Protein Products and Carbonylated Proteins as Biomarkers of Oxidative Stress in Selected Atherosclerosis-Mediated Diseases. *Biomed Res Int.* 2017;2017:4975264. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28884122/> [accesat la 06.10.2021].
240. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 1996;49(5):1304–13. Disponibil la: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0085253815594805> [accesat la 06.10.2021].
241. Wu Q, Zhong ZM, Pan Y, et al. Advanced Oxidation Protein Products as a Novel Marker of Oxidative Stress in Postmenopausal Osteoporosis. *Med Sci Monit.* 2015;21:2428-2432. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26286507/> [accesat la 06.10.2021].
242. Lazăr C. Modificări oxidative ale proteinelor în torsiunea ovariană. In: Culegere de rezumate științifice ale studenților, rezidenților și tinerilor cercetători. 16-18 octombrie 2019, Chișinău. Chișinău, Republica Moldova: CEP "Medicina", 2019, p. 20. ISBN 978-9975-82-148-3
243. Xie F, Sun S, Xu A, et al. Advanced oxidation protein products induce intestine epithelial cell death through a redox-dependent, c-jun N-terminal kinase and poly (ADP-ribose) polymerase-1-mediated pathway. *Cell Death Dis.* 2014;5:e1006. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24434514/> [accesat la 06.10.2021].
244. Valente AJ, Yoshida T, Clark RA, Delafontaine P, Siebenlist U, Chandrasekar B. Advanced oxidation protein products induce cardiomyocyte death via Nox2/Rac1/superoxide-dependent TRAF3IP2/JNK signaling. *Free Radic Biol Med.* 2013;60:125-135. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23453926/> [accesat la 06.10.2021].
245. Zhou LL, Cao W, Xie C, et al. The receptor of advanced glycation end products plays a central role in advanced oxidation protein products-induced podocyte apoptosis. *Kidney Int.* 2012;82(7):759-770. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22622498/> [accesat la 06.10.2021].
246. Zheng S, Zhong ZM, Qin S, et al. Advanced oxidation protein products induce inflammatory response in fibroblast-like synoviocytes through NADPH oxidase-dependent activation of NF-κB. *Cell Physiol Biochem.* 2013;32(4):972-985. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24107363/> [accesat la 06.10.2021].

247. Klisic A, Kavacic N, Vujcic S, Spasojevic-Kalimanovska V, Ninic A, Kotur-Stevuljevic J. Endocan and advanced oxidation protein products in adult population with hypertension. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020;24(12):7131-7137. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32633408/> [accesat la 06.10.2021].
248. Touyz RM, Rios FJ, Alves-Lopes R, Neves KB, Camargo LL, Montezano AC. Oxidative Stress: A Unifying Paradigm in Hypertension. *Can J Cardiol.* 2020;36(5):659–70. Disponibil la: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0828282X20301860> [accesat la 06.10.2021].
249. Goncharova ND, Marenin VY, Bogatyrenko TN. Stress, aging and reliability of antioxidant enzyme defense. *Curr Aging Sci.* 2008;1(1):22-29. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20021369/> [accesat la 06.10.2021].
250. Touyz RM. Oxidative stress and vascular damage in hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2000;2(1):98-105. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10981135/> [accesat la 06.10.2021].
251. **Pavlovschi E**, Pantea V, Borovic D, Tagadiuc O. Serum depletion and tear increase of total antioxidant capacity in hypertensive retinopathy. *Arch Balk Med Union.* 2021;56(3):291-297. Disponibil la: <https://umbalk.org/serum-depletion-and-tear-increase-of-total-antioxidant-capacity-in-hypertensive-retinopathy/> [accesat la 06.10.2021].
252. **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. Disponibil la: <https://romj.org/2021-0305> [accesat la 06.10.2021].
253. **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. Disponibil la: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7995505/> [accesat la 06.10.2021].
254. Prakash M, Shetty MS, Tilak P, Anwar N. Total Thiols: Biomedical importance and their alteration in various disorders. *Online J Heal Allied Sci.* 2009;8:1-9 Disponibil la: <http://cogprints.org/6664/> [accesat la 06.10.2021].
255. Li R, Kast J. Chapter Fifteen - Biotin Switch Assays for Quantitation of Reversible Cysteine Oxidation. In: Shukla AKB-T-M in E, editor. *Proteomics in Biology, Part A* [Internet]. *Academic Press.* 2017:269–84. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007668791630369X> Disponibil la: [accesat la 06.10.2021].
256. **Pavlovschi E**, Pantea V, Borovic D, Tagadiuc O. Study of ischemia modified albumin (IMA) as a biomarker in hypertensive retinopathy. *Med Pharm Rep.* 2021;94(2):185-190. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34013189/> [accesat la 06.10.2021].
257. Adly AAM, ElSherif NHK, Ismail EAR, Ibrahim YA, Niazi G, Elmetwally SH. Ischemia-modified albumin as a marker of vascular dysfunction and subclinical atherosclerosis in β -thalassemia major. *Redox Rep.* 2017;22:430-438. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28288539/> [accesat la 06.10.2021].
258. Piva SJ, Duarte MM, Da Cruz IB, et al. Ischemia-modified albumin as an oxidative stress biomarker in obesity. *Clin Biochem.* 2011;44(4):345-347. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21159315/> [accesat la 06.10.2021].
259. Oran I, Oran B. Ischemia-Modified Albumin as a Marker of Acute Coronary Syndrome: The Case for Revising the Concept of "N-Terminal Modification" to "Fatty Acid Occupation" of Albumin. *Dis Markers.* 2017;5692583. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28356609/> [accesat la 06.10.2021].
260. Timercan T, Timercan V. Assessment of ischemia modified albumin serum level in isoproterenol-induced myocardial infarction. *Biological Markers in Fundamental and Clinical*

- Medicine*. 2017;1:4-6. Disponibil la: <https://biologicalmarker.com/index.php/journal/article/view/4> [accesat la 06.10.2021].
261. Kumar A. Correlation between anthropometric measurement, lipid profile, dietary vitamins, serum antioxidants, lipoprotein (a) and lipid peroxides in known cases of 345 elderly hypertensive South Asian aged 56-64 y-A hospital based study. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014;4(Suppl 1):S189-S197. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25183079/> [accesat la 06.10.2021].
262. Carey RM, Siragy HM. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocr Rev*. 2003;24(3):261-271. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12788798/> [accesat la 06.10.2021].
263. Nettey H, Darko Y, Bamiro O, Addo R. Ocular Barriers. In: *Ocular Drug Delivery: Advances, Challenges and Applications*. 1st ed. Springer International Publishing: Cham, Switzerland. 2016. p. 27–36. Disponibil la: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-319-47691-9.pdf> [accesat la 06.10.2021].
264. Mihailovic-Vucinic V, Popevic L, Popevic S, Stjepanovic M, Aleksic A, Stanojevic-Paovic A. Utility of angiotensin-converting enzyme activity in aqueous humor in the diagnosis of ocular sarcoidosis. *Indian J Ophthalmol [Internet]*. 2017;65(10). Disponibil la: https://journals.lww.com/ijo/Fulltext/2017/65100/Utility_of_angiotensin_converting_enzyme_activity.14.aspx [accesat la 06.10.2021].
265. Esper RJ, Nordaby RA, Vilariño JO, Paragano A, Cacharrón JL, Machado RA. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol*. 2006;5:4. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16504104/> [accesat la 06.10.2021].
266. Ferroni P, Basili S, Paoletti V, Davì G. Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2006;16(3):222-233. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16580590/> [accesat la 06.10.2021].
267. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood*. 1998;91(10):3527-3561. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9572988/> [accesat la 06.10.2021].
268. Shokr H, Dias IHK, Gherghel D. Microvascular function and oxidative stress in adult individuals with early onset of cardiovascular disease. *Sci Rep*. 2020;10(1):4881. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32184402/> [accesat la 06.10.2021].
269. Eldred WD, Blute TA. Imaging of nitric oxide in the retina. *Vision Res*. 2005;45(28):3469-3486. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16171845/> [accesat la 06.10.2021].
270. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation*. 2001;104(2):191-196. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11447085/> [accesat la 06.10.2021].
271. Guthrie MJ, Osswald CR, Kang-Mieler JJ. Inverse relationship between the intraretinal concentration of bioavailable nitric oxide and blood glucose in early experimental diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;56(1):37-44. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25503458/> [accesat la 06.10.2021].
272. Kundu D, Abraham D, Black CM, Denton CP, Bruckdorfer KR. Reduced levels of S-nitrosothiols in plasma of patients with systemic sclerosis and Raynaud's phenomenon. *Vascul Pharmacol*. 2014;63(3):178-181. Disponibil la: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4265732/> [accesat la 06.10.2021].
273. Maron BA, Tang SS, Loscalzo J. S-nitrosothiols and the S-nitrosoproteome of the cardiovascular system. *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(3):270-287. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22770551/> [accesat la 06.10.2021].

274. van der Vliet A, Hoen PA, Wong PS, Bast A, Cross CE. Formation of S-nitrosothiols via direct nucleophilic nitrosation of thiols by peroxynitrite with elimination of hydrogen peroxide. *J Biol Chem.* 1998;273(46):30255-30262. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9804785/> [accesat la 06.10.2021].
275. Gow AJ, Buerk DG, Ischiropoulos H. A novel reaction mechanism for the formation of S-nitrosothiol in vivo. *J Biol Chem.* 1997;272(5):2841-2845. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9006926/> [accesat la 06.10.2021].
276. Liu Z, Rudd MA, Freedman JE, Loscalzo J. S-Transnitrosation reactions are involved in the metabolic fate and biological actions of nitric oxide. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;284(2):526-534. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9454793/> [accesat la 06.10.2021].
277. Stamler JS, Lamas S, Fang FC. Nitrosylation. the prototypic redox-based signaling mechanism. *Cell.* 2001;106(6):675-683. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11572774/> [accesat la 06.10.2021].
278. Zhang Y, Hogg N. S-Nitrosothiols: cellular formation and transport. *Free Radic Biol Med.* 2005;38(7):831-838. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15749378/> [accesat la 06.10.2021].
279. Kusano C, Ferrari C. Total antioxidant capacity: A biomarker in biomedical and nutritional studies. *J Cell Mol Biol.* 2008; 7:5402-7. Disponibil la: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.569.4404&rep=rep1&type=pdf> [accesat la 06.10.2021].
280. Kashyap MK, Yadav V, Sherawat BS, et al. Different antioxidants status, total antioxidant power and free radicals in essential hypertension. *Mol Cell Biochem.* 2005;277(1-2):89-99. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16132719/> [accesat la 06.10.2021].
281. Sun L, Gao YH, Tian DK, et al. Inflammation of different tissues in spontaneously hypertensive rats. *Sheng Li Xue Bao.* 2006;58(4):318-323. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16906331/> [accesat la 06.10.2021].
282. Manning RD Jr, Meng S, Tian N. Renal and vascular oxidative stress and salt-sensitivity of arterial pressure. *Acta Physiol Scand.* 2003;179(3):243-250. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14616240/> [accesat la 06.10.2021].
283. McIntyre M, Bohr DF, Dominiczak AF. Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion. *Hypertension.* 1999;34(4 Pt 1):539-545. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10523323/> [accesat la 06.10.2021].
284. Chaves FJ, Mansego ML, Blesa S, et al. Inadequate cytoplasmic antioxidant enzymes response contributes to the oxidative stress in human hypertension. *Am J Hypertens.* 2007;20(1):62-69. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17198913/> [accesat la 06.10.2021].
285. Serdar Z, Aslan K, Dirican M, Sarandöl E, Yeşilbursa D, Serdar A. Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clin Biochem.* 2006;39(8):794-803. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16600205/> [accesat la 06.10.2021].
286. Da Silva AP, Marinho C, Gonçalves MC, et al. Decreased erythrocyte activity of methemoglobin and glutathione reductases may explain age-related high blood pressure. *Rev Port Cardiol.* 2010;29(3):403-412. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20635565/> [accesat la 06.10.2021].
287. Dhakshinamoorthy A, Alvaro M, Garcia H. Aerobic oxidation of thiols to disulfides using iron metal-organic frameworks as solid redox catalysts. *Chem Commun (Camb).* 2010;46(35):6476-6478. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20714572/> [accesat la 06.10.2021].

288. Giles NM, Watts AB, Giles GI, Fry FH, Littlechild JA, Jacob C. Metal and redox modulation of cysteine protein function. *Chem Biol.* 2003;10(8):677-693. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12954327/> [accesat la 06.10.2021].
289. Kachur AV, Koch CJ, Biaglow JE. Mechanism of copper-catalyzed oxidation of glutathione. *Free Radic Res.* 1998;28(3):259-269. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9688212/> [accesat la 06.10.2021].
290. Barron ESG. Thiol Groups of Biological Importance. *Adv. Enzymol. Relat. Adv Enzymol Relat Subj Biochem.* 1951;11:201-266. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24540592/> [accesat la 06.10.2021].
291. Kükürt A, Gelen V, Başer OF, Deveci HA, Karapehlivan M. Thiols: Role in Oxidative Stress-Related Disorders [Online First], *IntechOpen*, 2021. Disponibil la: <https://www.intechopen.com/online-first/thiols-role-in-oxidative-stress-related-disorders> [accesat la 06.10.2021].
292. Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res.* 1999;31(4):273-300. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10517533/> [accesat la 06.10.2021].
293. Maher P, Lewerenz J, Lozano C, Torres JL. A novel approach to enhancing cellular glutathione levels. *J Neurochem.* 2008;107(3):690-700. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18702664/> [accesat la 06.10.2021].
294. Masella R, Di Benedetto R, Varì R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem* 2005;16:577-586. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16111877/> [accesat la 06.10.2021].
295. Bindoli A, Callegaro MT, Barzon E, Benetti M, Rigobello MP. Influence of the redox state of pyridine nucleotides on mitochondrial sulfhydryl groups and permeability transition. *Arch Biochem Biophys.* 1997;342(1):22-28. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9185610/> [accesat la 06.10.2021].
296. Kowaltowski AJ, Vercesi AE, Castilho RF. Mitochondrial membrane protein thiol reactivity with N-ethylmaleimide or mersalyl is modified by Ca²⁺: correlation with mitochondrial permeability transition. *Biochim Biophys Acta.* 1997;1318(3):395-402. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9048976/> [accesat la 06.10.2021].
297. Bindoli A, Rigobello MP. [28] - Mitochondrial Thioredoxin Reductase and Thiol Status. In: Sies H, Packer LBT-M in E, editors. *Protein Sensors and Reactive Oxygen Species - Part A: Selenoproteins and Thioredoxin* [Internet]. *Academic Press*; 2002. p. 307–16. Disponibil la: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687902470309> [accesat la 06.10.2021].
298. Lee SR, Kim JR, Kwon KS, et al. Molecular cloning and characterization of a mitochondrial selenocysteine-containing thioredoxin reductase from rat liver. *J Biol Chem.* 1999;274(8):4722-4734. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9988709/> [accesat la 06.10.2021].
299. Arnér ES, Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur J Biochem.* 2000;267(20):6102-9. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11012661/> [accesat la 06.10.2021].
300. Pedrajas JR, Kosmidou E, Miranda-Vizuete A, Gustafsson JA, Wright AP, Spyrou G. Identification and functional characterization of a novel mitochondrial thioredoxin system in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem.* 1999;274(10):6366-73. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10037727/> [accesat la 06.10.2021].

301. Gómez-Marcos MA, Blázquez-Medela AM, Gamella-Pozuelo L, Recio-Rodriguez JI, García-Ortiz L, Martínez-Salgado C. Serum Superoxide Dismutase Is Associated with Vascular Structure and Function in Hypertensive and Diabetic Patients. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:9124676. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26635913/> [accesat la 06.10.2021].
302. Kumar KV, Das UN. Are free radicals involved in the pathobiology of human essential hypertension?. *Free Radic Res Commun*. 1993;19(1):59-66. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8225035/> [accesat la 06.10.2021].
303. Pedro-Botet J, Covas MI, Martín S, Rubiés-Prat J. Decreased endogenous antioxidant enzymatic status in essential hypertension. *J Hum Hypertens*. 2000;14(6):343-5. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10878691/> [accesat la 06.10.2021].
304. Jiang Z, Akey JM, Shi J, et al. A polymorphism in the promoter region of catalase is associated with blood pressure levels. *Hum Genet*. 2001;109(1):95-98. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11479740/> [accesat la 06.10.2021].
305. Rosselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum Reprod Update*. 1998; 4(1):3-24. Disponibil la: <https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/155008/> [accesat la 06.10.2021]
306. Patel SR, Bellary S, Qin L, et al. Abnormal retinal vascular function and lipid levels in a sample of healthy UK South Asians. *Br J Ophthalmol*. 2011;95(11):1573-1576. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21362772/> [accesat la 06.10.2021].
307. Frisard MI, Broussard A, Davies SS, et al. Aging, resting metabolic rate, and oxidative damage: results from the Louisiana Healthy Aging Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007;62(7):752-759. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17634323/> [accesat la 06.10.2021].
308. Salmon AB, Richardson A, Pérez VI. Update on the oxidative stress theory of aging: does oxidative stress play a role in aging or healthy aging?. *Free Radic Biol Med*. 2010;48(5):642-655. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20036736/> [accesat la 06.10.2021].
309. Lassègue B, Griendling KK. Reactive oxygen species in hypertension; An update. *Am J Hypertens*. 2004;17(9):852-860. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15363831/> [accesat la 06.10.2021].
310. Agarwal B. K, Saxena T, Naz S. The Impact of Green Tea (*Camellia Sinensis*) on the Amount of Gonadotropin Hormones (LH, FSH) in Immature Female Rats Poisoned with Cadmium Chloride. *Biomed Pharmacol J*. 2015;8(1):463-466. Disponibil la: <https://biomedpharmajournal.org/previous-issues3/volume-8-number-1/> [accesat la 06.10.2021].
311. **Pavlovschi E**, Borovic D, Pantea V, Lîsîi L, Tagadiuc O. Biomarkers of Lipid Status and Metabolism in Retinal Hypertensive Disorder. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2021;9:77-89. Disponibil la: <https://www.scirp.org/journal/paperabs.aspx?paperid=108456> [accesat la 06.10.2021].
312. Baynes JW, Thorpe SR. Glycooxidation and lipoxidation in atherogenesis. *Free Radic Biol Med*. 2000;28(12):1708-1716. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10946212/> [accesat la 06.10.2021].
313. Singh K, Mehra KS, Gode KG. Serum lipids in hypertensive retinopathy. *Indian J Ophthalmol*. 1975;23(3):9-11. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1236319/> [accesat la 06.10.2021].
314. Bastola P, Pun CB, Koirala S, Shrestha UK, Fasting Serum Lipids and Fundus Changes in Hypertensive Patients. *Nepal Journal of Medical Sciences*, 2012;1:103-107. Disponibil la: <https://www.nepjol.info/index.php/NJMS/article/view/6609> [accesat la 06.10.2021].

315. Gupta RP, Gupta S, Gahlot A, Sukharamwala D, Vashi J. Evaluation of Hypertensive Retinopathy in Patients of Essential Hypertension with High Serum Lipids. *Medical Journal of Dr. D.Y. Patil University*, 2013;6:165-169. Disponibil la: <https://www.mjdrdypu.org/article.asp?issn=0975-2870;year=2013;volume=6;issue=2;spage=165;epage=169;aulast=Gupta> [accesat la 06.10.2021].
316. Akhter A, Fatema K, Ahmed SF, Afroz A, Ali L, Hussain A. Prevalence and associated risk indicators of retinopathy in a rural Bangladeshi population with and without diabetes. *Ophthalmic Epidemiol.* 2013;20(4):220-227. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23865602/> [accesat la 06.10.2021].
317. van Leiden HA, Dekker JM, Moll AC, et al. Blood pressure, lipids, and obesity are associated with retinopathy: the hoorn study. *Diabetes Care.* 2002;25(8):1320-1325. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12145228/> [accesat la 06.10.2021].
318. Badhu B, Dulal S, Baral N, Lamsal M, Shrestha JK, Koirala S. Serum level of low-density lipoprotein cholesterol in hypertensive retinopathy. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2003;34(1):199-201. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12971535/> [accesat la 06.10.2021].
319. Pai SA, Hegde N. Study to Relate Hypertensive Retinopathy with Serum Lipid and CRP Levels. *Int Jour of Biomed Res [Internet]*. 2019;10(8):e5227. Disponibil la: <https://ssjournals.com/index.php/ijbr/article/view/5227> [accesat la 06.10.2021].
320. Choudhary R, Kapoor MS, Singh A, Bodakhe SH. Therapeutic targets of renin-angiotensin system in ocular disorders. *J Curr Ophthalmol.* 2016;29(1):7-16. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28367520/> [accesat la 06.10.2021].
321. Wilkinson-Berka JL, Suphapimol V, Jerome JR, Deliyanti D, Allingham MJ. Angiotensin II and aldosterone in retinal vasculopathy and inflammation. *Exp Eye Res [Internet]*. 2019;187:107766. Disponibil la: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014483519304312> [accesat la 06.10.2021].
322. Neroev VV, Chesnokova NB, Okhotsimskaia TD, Riabina MV, Kost OA, Nikol'skaia II, Pavlenko TA. [Activity of angiotensin-converting enzyme in the blood and tear of patients with diabetic retinopathy]. *Vestn Oftalmol.* 2006;122(3):11-4. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16826777/> [accesat la 06.10.2021].
323. Dubey RK, Flammer J, Lüscher TF. Angiotensin II and insulin induce growth of ciliary artery smooth muscle: effects of AT1/AT2 antagonists. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39(11):2067-2075. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9761285/> [accesat la 06.10.2021].
324. He FJ, MacGregor GA. Salt, blood pressure and the renin-angiotensin system. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2003;4(1):11-16. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12692748/> [accesat la 06.10.2021].
325. Ohman KP. The kallikrein-kinin system in primary hypertension. Dynamics of circulating components of the kallikrein-kinin system in relation to the renin-angiotensin-aldosterone system. Linköping University Medical Dissertations, 1997;no.529, Linköping University Medical Dissertations, ISSN 0345-0082. Disponibil la: <http://liu.diva-portal.org/smash/record.jsf?dswid=1677&pid=diva2%3A248116> [accesat la 06.10.2021].
326. Strulijker B. Angiotensin II. Vascular function and blood pressure. *JRAAS*, Abstracts from the 4th International Symposium on Angiotensin II Antagonism, p.54.
327. Swales P, Williams B. Calcium channel blockade in combination with angiotensin-converting enzyme inhibition or angiotensin II (AT(1)-receptor) antagonism in hypertensive diabetics and patients with renal disease and hypertension. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2002;3(2):79-89. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12228847/> [accesat la 06.10.2021].

328. Pignone A, Rosso AD, Brosnihan KB, et al. Reduced circulating levels of angiotensin-(1--7) in systemic sclerosis: a new pathway in the dysregulation of endothelial-dependent vascular tone control. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(10):1305-1310. Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17360781/> [accesat la 06.10.2021].
329. Reddy VS, Pasupuleti P, Perugu B. Implications of ischemia modified albumin levels in hypertension. *Asian Pacific J Trop Dis.* 2015;5:S190–S191. Disponibil la: https://www.researchgate.net/publication/280524156_Implications_of_ischemia_modifid_album_in_levels_in_hypertension [accesat la 06.10.2021].
330. Rodrigo R, Libuy M, Feliú F, Hasson D. Oxidative stress-related biomarkers in essential hypertension and ischemia-reperfusion myocardial damage. *Dis Markers.* 2013;35:773-790 Disponibil la: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24347798/> [accesat la 06.10.2021].

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**”,
realizată în cadrul Catedrei de biochimie și biochimie clinică a dnei
Pavlovschi Ecaterina,
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie ”Nicolae Testemițanu”

• Articole în reviste științifice peste hotare:

✓ 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*. 2021;10:e0305 (**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:

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 culegeri:

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 inovațională 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: «*BIMCO JOURNAL*» *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. **Pavlovschi E.** Serum and tear malondialdehyde level as a potential stress marker in hypertensive retinopathy. In: *BIMCO Bukovinian International Medical Congress*, Chernivtsi, Ukraine, 2021, p.157. ISSN 2616-5392

13. **Pavlovschi 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, 2021, *Medicina (Kaunas) 2021;57(Supplement 1)*, p.17. ISSN 1648-9233

14. **Pavlovschi E, Borovic D.** The use of advanced oxidation protein products to monitor oxidative stress levels in patients with hypertensive retinopathy. In: *EURETINA 2021 Virtual*, 2021. <https://www.euretina.org/events/euretina-2021-virtual/>

✓ **naționale**

15. **Pavlovschi 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. **Pavlovschi E, Pantea V, Borovic D, Tagadiuc O.** Certificat de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și drepturilor conexe “Sistemul antioxidant al glutatationului la pacienții cu retinopatie hipertensivă”, Seria O Nr.6879 din 25.03.2021 IDNO: 1007600000794

• **Participări cu comunicări la foruri științifice:**

✓ **internaționale**

17. **Pavlovschi E.** Nitric oxide: the synthesis and effects at the level of retina. *7th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chișinău, Moldova, 3-5 mai, 2018.

18. **Pavlovschi E.** Emerging Concepts of the ocular molecular-metabolic effects of the hypertension. *XXI International Scientific and Practical Conference International Trends in Science and Technology*, January 31, 2020, Warsaw, Poland

19. **Pavlovschi 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. **Pavlovschi E.** Nitric oxide levels in tear and serum of patients with hypertensive retinopathy, *Lublin International Medical Congress*, 26th – 28th november 2020, Lublin, Poland
21. **Pavlovschi E.** Serum and tear malondialdehyde level as a potential stress marker in hypertensive retinopathy, *BIMCO Bukovinian International Medical Congress*, 6-9 April 2021, Chernivtsi, Ukraine, «BIMCO JOURNAL» Abstract book of the congress BIMCO, 2021, p.157. ISSN 2616-5392
22. **Pavlovschi 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. **Pavlovschi 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.euretina.org/events/euretina-2021-virtual/>

- **Participări cu postere la foruri științifice:**
- ✓ **naționale**

24. **Pavlovschi 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. **Pavlovschi E,** Tagadiuc O. Posibili 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. **Pavlovschi 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. **Pavlovschi 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 plasmatice 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.

Declarația privind asumarea răspunderii

Subsemnata Pavlovschi Ecaterina, 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.

Pavlovschi Ecaterina

Semnătura

Data

Declaration on accountability

I declare the personal responsibility that information presented in this thesis are the result of my own research and scientific achievements. I realize that, otherwise, will suffer the consequences in accordance with law.

Pavlovschi Ecaterina

Signature

Date

Déclaration sur la responsabilité

Je déclare la responsabilité personnelle que les informations présentées dans cette thèse sont le résultat de mes propres recherches et réalisations scientifiques. Je me rends compte que, sinon, en subiront les conséquences conformément à la loi.

Pavlovschi Ecaterina

Signature

Date