

METODE DE EVALUARE A MARKERILOR DE STRES OXIDATIV SI APARARE ANTIOXIDANTA IN SINDROAMELE CORONARIENE

METHODS FOR EVALUATING MARKERS OF OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN CORONARY SYNDROMES

Alexandru Covaciu^{1,2}, Elena Bobescu^{1,3*}, Valentina Benza^{1,3}

¹Universitatea Transilvania din Braşov, Facultatea de Medicină, Braşov, Romania

²UMFST George Emil Palade, Tg Mureş

³Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă Braşov

Autor corespondent: **Elena Bobescu**, email elena.bobescu@gmail.com

Abstract

Introduction. Atherosclerosis represents the substrate of coronary artery disease, manifesting from early stages of lipid streaks to atherosclerotic plaques complicated by the appearance of acute coronary syndromes. Oxidative stress is a central pathogenic component in atherosclerosis and in the onset of acute coronary syndromes.

Objective/Aims: Assessment of the possibilities of determining the oxidative stress and antioxidant defense biomarkers in coronary syndromes.

Materials and Methods: Selection of studies from the specialized literature in PubMed, Elsevier, Scopus, and Web of Science databases regarding markers of oxidative stress and antioxidant defense and their applications in coronary syndromes by analyzing scientific papers in which combinations of the following keywords were identified: biomarkers, oxidative stress, antioxidant activity, and coronary syndromes.

Results: All these studies have demonstrated that reactive oxygen species contribute to lipid peroxidation, functional changes in proteins, DNA, and RNA, and direct endothelial inflammatory signaling. Cardiovascular risk factors are involved in significant increases in ROS production and cause the activation of pro-oxidative enzymes, advanced glycation of proteins intensifies oxidative stress and contributes to accelerated endothelial damage, favoring the rapid evolution of coronary atherosclerosis.

Conclusion: There is strong evidence that biomarkers of oxidative stress and antioxidant defense are correlated with endothelial dysfunction and coronary syndromes. Furthermore, patients with elevated values of these markers are at increased risk of recurrent acute coronary syndrome and a severe prognosis

Rezumat

Introducere: Ateroscleroza reprezintă substratul bolii coronariene, manifestându-se de la stadii incipiente ale striurilor lipidice până la plăci aterosclerotice complicate de apariția sindroamelor coronariene acute. Stresul oxidativ este o componentă patogenă centrală în ateroscleroză și în debutul sindroamelor coronariene acute.

Obiectivul principal al studiului: Evaluarea posibilităților de determinare a markerilor de stres oxidativ și apărare antioxidantă în sindroamele coronariene.

Material și metodă: Selecția studiilor din literatura de specialitate în baze de date PubMed, Elsevier, Scopus, Web of Science referitor la determinarea markerilor de stres oxidativ și apărare antioxidantă și aplicațiile acestora în sindroamele coronariene prin analiza lucrărilor științifice în care au fost identificate combinații între următoarele cuvinte cheie - biomarkeri; stres oxidativ; activitate antioxidantă; sindroame coronariene.

Rezultate: Toate aceste studii au demonstrat ca speciile reactive de oxigen – contribuie la peroxidarea lipidelor, la modificările funcționale ale proteinelor, ADN-ului și ARN-ului, precum și la semnalul inflamator direct la nivelul endotelial. Factorii de risc cardiovascular sunt implicați în creșteri semnificative ale producției de ROS și determină activarea enzimelor prooxidative, glicarea avansată a proteinelor, intensifică stresul oxidativ și contribuie la disfuncția endotelială accelerată, favorizând evoluția rapidă a aterosclerozei coronariene

Concluzii: Există dovezi puternice că biomarkerii stresului oxidativ și ai apărării antioxidante sunt corelați cu disfuncția endotelială și sindroamele coronariene. În plus, pacienții cu valori crescute ale acestor markeri prezintă un risc crescut de sindrom coronarian acut recurent și un prognostic sever.

Key-words: biomarkers; oxidative stress; antioxidant activity; coronary syndromes

Cuvinte cheie: biomarkeri; stres oxidativ; activitate antioxidantă; sindroame coronariene.

Introducere

Ateroscleroza reprezintă substratul fiziopatologic al bolii coronariene, manifestându-se din stadii precoce de striatii lipidice cu celule spumoase și acumulare moderată de lipide extracelulare, la stadii intermediare cu aspect de plăci gelatiniforme, până la leziuni evolute: plăci de aterom stabile în sindroamele coronariene cornice (SCC) și plăci complicate cu apariția sindroamelor coronariene acute (SCA) (Figura 1).

SINDROMUL CORONARIAN CRONIC	SINDROMUL CORONARIAN ACUT
1. Susținerea de boală coronariană ischemică și simptomatică: angină stabilă, și/sau angină, debutată II, sau infarct de MI.	1. SCA cu supraîncălzire de segment ST - > 1 ST persista > 20 minute (ST SCA)
2. Angina și susținerea de boală vasospastică sau microvasculară.	2. Pacienți cu durere toracică - > ST persista > 20 minute, sau - subelevation ST transitorie sau persistentă, sau - încrețirea undei T, unde T plată sau - profund asimetrică, sau - aspect normal
3. Subiectii asimptomatici sau stabilizați la peste 1 an de la diagnosticul sau de la momentul intervenției	
4. Subiectii asimptomatici detectați la screening	

Figura 1: Sindroame coronariene acute și cornice - criterii de diagnostic inițial

Sindroamele coronariene acute includ un spectru larg de condiții clinice care debutează cu ruptura plăcii de aterom, cu activare plachetară și formare de tromb, disfuncție endotelială, vasospasm și remodelare vasculară. Formarea trombului duce la instalarea ischemiei miocardice graduale până la necroză (Smith et al., 2004; Hellings et al., 2010).

Ateroscleroza nu este doar un proces pasiv de acumulare a lipidelor, ci rezultatul unui proces inflamator cronic activ în peretele arterial. Inflamația joacă un rol fundamental în destabilizarea plăcilor ateromatoase și în declanșarea sindroamelor coronariene acute (SCA). Studiile recente subliniază importanța unei inflamații atât locale, cât și sistemice, în acest context patologic intens (Liang, 2011).

Stresul oxidativ, definit ca dezechilibrul dintre producția excesivă de specii reactive de oxigen (ROS) și capacitatea antioxidantă a organismului, este o componentă patogenică centrală în ateroscleroză și în declanșarea sindroamelor coronariene acute (SCA). Speciile reactive ale oxigenului (ROS) – inclusiv superoxidul și peroxidul de hidrogen – contribuie la peroxidarea lipidică, modificări funcționale ale proteinelor și ADN, precum și la semnalul inflamator direct la nivelul endotelial (Rocha et al., 2010).

Disfuncția endotelială rezultată are multiple implicații adverse: scăderea sintezei de oxid nitric (NO), un vasodilatator central și mediator antiinflamator, amplificarea aderenței leucocitelor,

creșterea expresiei moleculelor de adeziune (ICAM-1, VCAM-1) și un risc crescut de agregare plachetară. Un factor esențial în generarea ROS este oxidarea LDL (ox-LDL), care inhibă direct eNOS (sintetaza endotelială a oxidului nitric) și este implicat în accentuarea disfuncției endoteliale, ambele cu rol important în instabilitatea plăcii (Rocha et al., 2010).

Implicarea factorilor de risc cardiovasculari în creșteri semnificative ale producției de ROS este de asemenea demonstrată. Hipertensiunea arterială, hiperglicemia și fumatul determină activarea enzimelor pro-oxidative precum NADPH oxidaza. În diabet, glicarea avansată a proteinelor (AGEs) intensifică stresul oxidativ și contribuie la deteriorarea endotelială accelerată, favorizând evoluția rapidă a aterosclerozei coronariene (Rocha et al., 2010).

Există dovezi solide că biomarkerii de stres oxidativ – precum malondialdehida (MDA), raportul glutatation oxidat/glutatation redus și ox-LDL – sunt corelați cu disfuncția endotelială evaluată ecocardiografic prin determinarea dilatației mediate de flux (FMD – Flow-Mediated Dilation) și cu severitatea SCA. Mai mult, pacienții cu valori ridicate ale acestor markeri prezintă un risc crescut de reapariție a unui sindrom coronarian acut și prognostic mai sever pe termen mediu și lung (Cai and Harrison, 2000).

Obiectivul principal al studiului

Evaluarea posibilităților de determinare a markerilor de stres oxidativ și apărare antioxidantă, a sensibilității și specificității acestora în sindroamele coronariene.

Material și metodă

Selecția studiilor din literatura de specialitate în baze de date PubMed, Elsevier, Scopus, Web of Science referitor la metode de determinare a markerilor de stres oxidativ și apărare antioxidantă și aplicațiile acestora în sindroamele coronariene prin analiza lucrărilor științifice în care au fost identificate combinații între următoarele cuvinte cheie - biomarkeri; stres oxidativ; activitate antioxidantă; sindroame coronariene.

Rezultate și discuții

I. Stresul oxidativ în sindroamele coronariene

Stresul oxidativ apare când balanța dintre speciile reactive de oxigen (ROS) și antioxidanți este

dezechilibrată – fie prin producere în mod excesiv de ROS, fie prin capacitate scăzută antioxidantă.

La începutul secolului al XX-lea, ipoteza „speranței de viață” a fost dedusă din observațiile conform cărora animalele cu metabolism crescut aveau o durată de viață mai scăzută, ajungând la concluzia că rata metabolică a unei specii determină în cele din urmă speranța de viață. În 1956, Denham Harman a propus „teoria radicalilor liberi” conform căreia radicalii endogeni de oxigen sunt generați, de-a lungul timpului, în celule rezultând multiple leziuni care afectează ADN-ul și toate celelalte componentele celulare. Însă, datorită duratei de viață scurtă, dar și a dificultății tehnice în detectarea acestora, doar în anii 1980 s-a constatat rolul important al speciilor reactive de oxigen (ROS) și nitrogen (RNS) în sistemele biologice (Yahagi et al., 2016).

Speciile reactive de oxigen sunt produși ai metabolismului aerob generați în timpul reducerii oxigenului. O diviziune a aceste entități poate fi făcută în două grupuri: radicali liberi și alte specii reactive ale oxigenului (SRO). Radicalii liberi reprezintă un grup de molecule chimice înalt reactive, cu unul sau mai mulți electroni nepereche (anionul superoxid $O_2^{\cdot-}$ și radicalul hidroxil $OH^{\cdot}$). Aceștia sunt capabili de a genera reacții în lanț, implicând mai multe etape, fiecare dintre acestea formând un radical liber care declanșează următoarea etapă. Alte ROS precum peroxidul de hidrogen (H_2O_2) și peroxinitrit ($ONOO^-$) nu sunt considerate radicali liberi, deoarece le lipsește electronul liber nepereche și, prin urmare, au mai degrabă efecte oxidante decât reactive (Liang, 2011). Speciile reactive de oxigen se produc în cantități mici și în condiții normale în timpul metabolismului, prin scurgeri de protoni în timpul fosforilării oxidative în mitocondrie prin diferite enzime: nicotinamid adenin dinucleotid fosfat ($NADPH$) $^-$ $NADH/NADPH$ oxidaza, xantin oxidaza, citocromul P450, căile lipooxygenazei și cicloxygenazei, prin autooxidarea diferitelor substanțe, în special a catecolaminelor. Acestea includ radicali liberi instabili ca: peroxidul de hidrogen, superoxidul, radicalul de peroxil, radicalul hidroxil, acidul hipocloric. Sunt specii reactive cu interacțiune rapidă cu moleculele din jur cărora le alterează structura și funcția. Concentrațiile crescute de ROS sunt depozitate în fagocite (Rocha et al., 2010) (Figura 2).

SPECIILE REACTIVE DE OXIGEN	SPECIILE REACTIVE DE AZOT
- produși ai metabolismului aerob generați în timpul reducerii oxigenului.	- radicali liberi asociați cu atomul de azot:
Peroxid de hidrogen	Oxid nitric
Superoxidul	Dioxid azot
Radicalul de peroxil	Acid peroxinitric
Radicalul hidroxil	
Acidul hipocloric	

Figura 2. Speciile reactive de oxigen și azot.

Speciile reactive de azot sunt radicali liberi asociați cu atomul de nitrogen: NO (oxid nitric), NO_2 (dioxid de azot), acid peroxinitric ($ONOO^-$). Oxidul nitric (NO) este o moleculă generată în țesuturile biologice prin intermediul sintetazei endoteliale a oxidului nitric (eNOS) care metabolizează arginina și citrulina. eNOS utilizează L arginina ca substrat, iar oxigenul molecular și nicotinamid adenin dinucleotid fosfat ($NADPH$), drept co-substrat. NO are rol în reglarea tonusului cardio-vascular, modularea contractilității miocardice, controlul proliferării celulare, inhibarea activității plachetare, agregării, adeziunii.

NO acționează cu $O_2^{\cdot-}$ formând acid peroxinitric care interacționează cu diverse componente celulare și este implicat în semnalizarea mecanismelor NO dependente de modificare a proteinelor. În soluție apoasă aerobă se formează predominant NO_2^- , în prezența oxihemoglobinei și oximioglobinei, NO se oxidează complet la NO_3^- .

Formarea speciilor reactive de oxigen reprezintă o consecință naturală a metabolismului aerob, fiind esențială în semnalizarea și homeostazia celulară. Cu toate acestea, în timpul perioadelor de stres ambiental precum radiații UV, expunere la temperaturi crescute sau radiații ionizante, nivelurile acestora pot crește semnificativ. Generarea speciilor reactive de oxigen poate să apară ca produs al reacțiilor biochimice la nivelul mitocondriilor, peroxizomilor, citocromului P450, dar și la nivelul altor componente celulare, iar reactivitatea crescută a acestora necesită un control riguros pentru un răspuns imun eficient, dar și pentru limitarea leziunilor tisulare.

ROS joacă un rol important și în procesele fiziologice ale organismului, participă în procesul de diferențiere, proliferare, creștere, apoptoză, reglare citoscheletală, migrare și contracție. Însă, când acestea sunt produse în exces, pot contribui la apariția numeroaselor afecțiuni cardiovasculare, autoimune, inflamatorii, fibrotice și neoplazice. De asemenea sunt

implicate în afectarea senzorială, obezitate, apariția rezistenței la insulină, tulburări neurologice, dar și boli infecțioase (Esmon, 2003; Björkegren and Lusis, 2022).

La nivel cardiac procesele de semnalizare redox sunt implicate în numeroase procese precum cele fiziologice (cuplarea excitație-contrație, diferențierea celulară), patologice (remodelarea cardiacă, fibroză) dar și în homeostazie și în căile de răspuns la stres (adaptarea la hipoxie sau ischemie) (Liang, 2011). Cele mai importante enzime, de la acest nivel, care produc ROS sunt oxidazele NADPH dependente, xantin oxidaza, sistemul de transport de electroni mitocondrial și, în anumite circumstanțe, nitric-oxid-sintetaza NO-sintetaza. Afecțiuni precum hipertensiunea arterială, ateroscleroza, hipercolesterolemia, diabetul și rezistența la insulină cresc fie activitatea, fie expresia acestor enzime, ceea ce determină o producție crescută de ROS, care la rândul său, contribuie la aceste tulburări (Rocha et al., 2010; Ridker and Luscher, 2014).

Consecințele pe termen lung ale acțiunii ROS asupra sistemului cardiovascular depind de echilibrul dintre semnalele care promovează proliferarea, inhibarea creșterii sau moartea celulară. Speciile reactive de oxigen pot modifica acest echilibru, ducând fie la angiogeneză excesivă, fie la pierderea celulelor endoteliale. Rolul dublu al ROS în ajustarea echilibrului dintre apoptoză și creșterea excesivă a celulelor este observat în timpul procesului de ischemie-reperfuzie. ROS declanșează apoptoza, în timp ce radicalii liberi eliberați în timpul preconditionării ischemice previn apoptoza (Rocha et al., 2010).

Oxidul nitric NO joacă un rol important în fiziopatologia sistemului cardiovascular, având în vedere că anomalii în producerea sau biodisponibilitatea acestuia se regăsesc în diverse afecțiuni cardiovasculare cum ar fi: hipertensiune arterială, ateroscleroză, boala cardiacă ischemică, insuficiența cardiacă, afecțiuni asociate angiogenezei, etc.

II. Activitatea antioxidantă totală

Activitatea antioxidantă totală este implicată în mod particular în reducerea stresului oxidativ inclusiv la nivelul sistemului cardiovascular, cei mai eficienți fiind reprezentați de selenoproteine și acizii grași polinesaturați (PUFA).

Selenoproteinele:

- Glutation peroxidazele - reprezintă principalele componente ale sistemului antioxidant care au rolul de a menține homeostazia oxidativă, folosind glutationul ca și factor pentru reducerea H_2O_2 ;
- Thioredoxin reductaza TXNRD - principala sursa de reducere disulfid;
- Methionin sulfoxid reductaza MSRB1 - acționează sinergic cu TXNRD
- Selenoproteinele S, K, M, N, F și T mențin homeostazia stresului oxidativ în reticulul endoplasmic al miocitului (Cai and Harrison, 2000; Björkegren and Lusis, 2022).

Acizii grași polinesaturați își exercită efectele prin competiție cu acidul arahidonic, pentru enzimele implicate în biosinteza mediatorilor proinflamatorii și reduc nivelul de 8 isoprostan din macrofage.

Acțiunea stresului oxidativ începe la nivelul celulei endoteliale. Activarea și disfuncția endoteliului reprezintă procese importante în ATS, boala cardiovasculară și cerebrovasculară (boala coronariană, boala arterelor carotide, arterelor periferice, accidental vascular cerebral) și sindromul metabolic (Koupenova et al., 2016).

Endoteliul vascular poate fi considerat un organ complex care reglează homeostazia vasculară prin eliberarea mai multor factori cu acțiune la nivelul peretelui vascular și al lumenului. Aceștia asigură menținerea tonusului vascular, fluidității sanguine, limitarea inflamației vasculare și proliferarea celulelor musculare netede.

În cazul acțiunii unor factori de risc, apare disfuncția endotelială favorizată de inflamație, tromboză și vasoconstricție, la nivelul endoteliului respectiv care vor declanșa apariția și dezvoltarea plăcii aterosclerotice cu toate implicațiile clinice pe care le are aceasta în toate teritoriile arteriale ale organismului uman. Factorii de risc asociați sunt reprezentați de dislipidemie, diabetul zaharat, HTA, hiperhomocisteinemia, agresiunea nutrițională, sedentarismul, factori sociali, psihologici, vârsta, etc.

Funcția endotelială se menține normală cât timp există un echilibru între factorii vasodilatatori și vasoconstrictori cu un status antiinflamator, antitrombotic și antiproliferativ. Această funcție este însă extrem de instabilă, prezentând schimbări semnificative chiar în timpul aceleiași zile, determinate de o multitudine de factori printre care statusul hormonal,

activitatea fizică sau calitatea somnului.

Sub acțiunea factorilor de risc se vor activa diverse procese în endoteliu: scăderea capacității vasodilatatoare, reactivitate vasculară anormală, vasospasm, hiperreactivitatea moleculelor chemotactice și de adeziune, stimularea activării și agregării plachetare cu formarea de trombi, creșterea permeabilității endoteliului, adeziune leucocitară, migrarea monocitelor în peretele vascular, împiedicarea regenerării, proliferarea și migrarea celulelor musculare netede, ducând în timp la disfuncția și ulterior distrugerea peretelui arterial (Rocha et al., 2010; Jackson, 2011).

III. Biomarkerii de stres oxidativ clasici

Un biomarker se definește ca fiind o structură, proces, compus chimic care poate fi măsurat într-un mod fiabil și care oferă anumite informații privind starea de sănătate sau despre o afecțiune, progresia și severitatea acesteia. Trebuie să fie reproductibil pe scară largă, sigur, specific pentru a avea valoare diagnostică și să reflecte prezența sau stadiul bolii.

Informațiile vor permite monitorizarea eficacității terapiei în afecțiunile deja diagnosticate sau vor ajuta în alegerea tratamentului adecvat în cele nou diagnosticate.

Pentru folosirea de rutină în clinici trebuie să prezinte stabilitate în timpul determinării și depozitării, să fie ușor de prelevat din țesuturi, de preferat din sânge, să aibă un raport corect cost/eficiență.

După ce ipoteza oxidativă a aterogenezei a fost demonstrată, s-au dezvoltat numeroși biomarkeri clasici și noi de stres oxidativ - cei care se asociază cu peroxidarea lipidelor (isoprostanul și malondialdehida), cei rezultați din modificarea oxidativă a proteinelor (nitrotyrozina și s-glutationilatul), mieloperoxidaza, ox LDL și lipoproteinele oxidate, dar și biomarkeri care evaluează apărarea antioxidantă (Fuchs et al., 2010) (Figura 3).



Figura 3. Bioarkeri de stres oxidativ și apărare antioxidantă.

III.1. Peroxidarea lipidelor

Sunt disponibili numeroși markeri plasmatici ai peroxidării lipidelor: malondialdehida, hidroperoxizi lipidici, oxysteroli, izoprostanul F2α.

III.1.a. Malondialdehida

Produs format din peroxidarea acizilor grași nesaturați, din fosfolipidele membranare. Își exercită rolul în aterogeneză prin împiedicarea interacțiunii LDLox și macrofag. Se înregistrează niveluri crescute atât la pacienții cu SCA cât și la cei cu SCC, fără să se coreleze însă cu severitatea leziunii vasculare sau cu numărul coronarelor afectate.

Rol prognostic demonstrat în SCA a dovedit creșterea expresiei HSP M27 ARN în studiul condus de Khaper, care a arătat că la o săptămână de la producerea unui infarct miocardic, nivelul mARN a scăzut cu 40 procente, iar după șase săptămâni cu 73% comparativ cu subiecții sănătoși.

III.1.b. Isoprostanul

F2 isoprostanul (F2isoP) este un compus F2α prostaglandin-like obținut prin peroxidarea acidului arahidonic și apoi hidrolizat secvențial în forma liberă de acid, de către acetilhidrolaza factorului activator plachetar. Este un compus chimic stabil, detectabil în toate țesuturile umane, fluidele biologice (plasmă, urină, lichid cerebrospinal, fluidul din lavajul bronhoalveolar).

Nivel crescut de isoprostan se asociază cu următorul status lipoproteic: scăderea HDL și creșterea LDL. La pacienții cu SCC s-a dovedit a fi un marker nou de evaluare a controlului factorilor de risc. În cazul sindroamelor coronariene acute, în 2018 Xuan și în 2021 Castro Diehl demonstrează că F2isoP urinar se asociază cu toate cauzele de mortalitate în evenimentele ischemice fatale (Davignon, 2004; Fuchs et al., 2010).

III.2. Oxidarea proteinelor

III.2.a. Nitrotyrozina și S glutacionul

Oxidarea proteică poate avea ca triggeri atât speciile reactive de oxigen cât și speciile reactive de nitrogen.

a). 3-Nitrotyrozina reprezintă compusul final inflamator stabil al mieloperoxidazei prin nitrozilarea tirozinei libere și a celei legate de proteine.

b). S glutacionul creează o punte bisulfid între glutacionul celular tripeptid și reziduurile cisteinei reactive care va duce la numeroase modificări oxidative.

Niveluri plasmatiche crescute de 3 nitrotyrozina se întâlnesc la ambele forme de boală coronariană (Oesterle, Laufs and Liao, 2017).

III.3. Mieloperoxidaza (MPO)

MPO este o enzimă inflamatorie produsă în mod special de neutrofile și monocite, fiind stocată în cea mai mare parte în granulele azurofile ale neutrofilelor, de unde este eliberată în fagocit. Majoritatea cantității rămâne la acest nivel, iar 30% poate fi eliberată ca o enzimă activă în spațiul extracelular prin degranulare. MPO este prezentă și în monocite, iar diferențierea acestora în macrofage se crede a fi asociată cu pierderea de MPO. NADPH oxidaza 2 din plasmă sau membrana fagocitară catalizează oxidarea NADPH la NADP⁺ cu reducerea concomitentă a oxigenului molecular O₂ la anionul de hidrogen H₂O₂ cu rol esențial în ciclul catalitic al mieloperoxidazei.

MPO are o structură tridimensională cu o suprafață mare cationică cu conținut crescut de reziduuri de lizină și arginină, ceea ce îi permite interacțiunea cu numeroase suprafețe încărcate negativ - bacterii, celule endoteliale, celulele matricei extracelulare, lipoproteine cu densitate mică, apolipoproteina 1, ceruloplasmina.

MPO este o proteină compusă din unități monomerice unită printr-o singură legătură bisulfid la nivelul CYS 153. Fiecare monomer e format dintr-un lanț greu glicozilat (58.5 kDa, 467 aminoacizi) și un lanț ușor (14.5kDa și 106 aminoacizi). Glicozilarea lanțului greu este importantă în activitatea enzimatică.

Activitatea enzimatică MPO este intens prezentă la nivelul plăcilor aterosclerotice, cu o concentrație mai mare în jurul capisonului. La nivelul leziunilor avansate s-a demonstrat prezența unui număr mai mare de macrofage care exprimau MPO decât în stadiile precoce (Jain and Ridker, 2005; Davi and Patrono, 2007; Ridker et al., 2008; Bonaca et al., 2015).

Au fost dezvoltate tehnici de laborator pentru determinarea anticorpilor tip IgG anti-mieloperoxidaza (Ac tip IgG anti MPO). Datorită rezultatelor promițătoare în studii de cercetare fundamentală și exploratorie chiar și de mici dimensiuni, această determinare a fost inclusă în panelul de biomarkeri de stres oxidativ în cercetările clinice. Anticorpi anti-mieloperoxidază tip IgG (IgG anti MPO) pot fi determinați prin metoda turbidimetrică, kituri ELISA INOVA; valoare normală < 20 U (Bobescu et al., 2020; D'Oria et al., 2020; Balan, Halațiu and Scridon, 2024; Madaudo et al., 2024).

III.3.a. Rolul MPO în atenuarea proprietăților antiaterogenice ale colesterolului HDL

Studii epidemiologice și clinice au arătat că o

valoare scăzută a HDL colesterolului reprezintă factor de risc independent pentru boala coronariană. Mecanismul prin care HDL colesterolul își exercită rolul cardioprotector este transferul colesterolului din peretele arterial printr-un proces care implică interacțiunea apolipoproteinei A1 cu transportatorii ATP- ABCA1 și ABCG1. Pe lângă acest rol, HDL colesterolul are și efecte antioxidative, anti-inflamatorii, vasodilatatorii, antitrombotice care pot încetini sau preveni dezvoltarea aterosclerozei.

Mieloperoxidaza (MPO) se leagă de helixul 8 al apolipoproteinei A1 asociată HDL colesterolului. În prezența H₂O₂, Cl⁻ sau NO₂⁻, MPO poate reduce capacitatea HDL colesterolului de a facilita efluxul acestuia din celule.

Există mai multe teorii care susțin modificările HDL colesterol MPO mediate:

- proteinele modificate coexistă cu apolipoproteina A1 în plăcile ATS,
- apolipoproteina A1 din leziunile ATS este bogată în nitrotirozina și 3 clorotirozina.
- există o corelație inversă între conținutul de 3 clorotirozină și ApoA1 și abilitatea acestuia de a accepta celule spumoase,
- conținutul de 3 clorotirozină al ApoA1 e mai mare la pacienții cu afectare coronariană decât în lotul control.

HDL colesterolul oxidat este în competitive cu HDL nativ pentru receptorul scavenger B₁ ceea ce interferează cu mobilizarea colesterolului din țesutul periferic spre ficat.

De asemenea, studiile realizate „in vitro” au demonstrat că HDL colesterolul în contact cu o cantitate crescută de MPO, nu numai că a creat lipoproteine disfuncționale ci și particule proinflamatorii care induc expresia moleculelor de adeziune în celulele endoteliale (Ridker et al., 2018; Libby, 2021).

III.3.a. Rolul MPO în disfuncția endotelială

Mieloperoxidaza limitează biodisponibilitatea NO ducând la disfuncție endotelială prin: consum prin specii reactive și întreruperea sintezei endogene, mecanismele presupunând:

- HOCl acționează cu arginina (substratul eNOS) formând arginina hipoclorică, scăzând astfel biodisponibilitatea argininei sau poate inhiba în mod direct eNOS.
- Lipoproteine modificate „in vitro” de către sistemul MPO / H₂O₂ / NO₂⁻ pot determina disocierea și scăderea concentrației eNOS în celula endotelială (Bonaca et al., 2015; Leopold and Loscalzo, 2018).

III.3.c. Rolul MPO în apoptoza celulelor endoteliale și tromboza

MPO determină eroziune superficială a plăcii ATS crescând riscul de aderare, agregare plachetară și formarea trombului plachetar (Bonaca et al., 2015).

III.3.d. Rolul MPO în activarea matricei metaloproteinazelor (MMPS)

Este demonstrat că stabilitatea plăcilor ATS este determinată de grosimea capșonului fibros. MPO determină activarea MMPS care va duce la degradarea matricei acestuia.

În literatura de specialitate există numeroase studii care au investigat asocierea MPO cu boala arterială coronariană, iar majoritatea au prezentat rezultate pozitive. S-a demonstrat faptul că mieloperoxidaza se asociază atât cu existența bolii cât și cu severitatea acesteia.

Au fost publicate și o serie de rezultate ale unor rapoarte care au studiat nivelul MPO în diverse situații clinice ale sindroamelor coronariene și s-au raportat valori mai mari la pacienții cu IM decât la cei cu angină instabilă, și mai mari la aceștia decât la pacienții cu angină stabilă. Există, de asemenea, și o asociere semnificativă dintre concentrația MPO și severitatea leziunilor la angiografie (Bonaca et al., 2015; Libby, 2021).

III.4. Oxidarea lipoproteinelor

III.4.a. LDL colesterolul oxidat (LDL ox)

Particulele LDL sunt compuse dintr-un miez hidrofob alcătuit din acizi grași polinesaturați, colesterol esterificat și apolipoproteina B. Oxidarea LDL se poate face non-enzimatic sau catalizată de: NAPH oxidaza, lipooxygenaza (LOX), xantin oxidaza (XO), mieloperoxidaza (MPO), ROS mitocondrial, eNOS.

Endoteliul vascular reprezintă o barieră între circulația sanguină și componentele peretelui vascular și este extrem de influențat de diverși stimuli aterogenici datorită acestei expuneri la fluxul sanguin. Există ca răspuns la acești stimuli, molecule vasoactive care să asigure tonusul vascular prin căi autocrine, endocrine și paracrine: NO, prostaciclina 2, factor de hiperpolarizare dependent de endoteliu EDHF, hidrogen sulfid H₂S, endotelina 1.

Oxidarea LDL începe la nivelul apolipoproteinei B, iar odată procesul încheiat va duce la legarea LDL ox de receptorul scavenger LOX1, activarea celulei endoteliale cu inducerea

expresiei moleculelor de adeziune. Acestea activează adeziunea monocitelor și migrarea lor în spațiul subendotelial. Monocitele înglobează LDL ox, se transformă în macrofage care vor da naștere celulelor spumoase. Acestea din urmă vor produce o multitudine de factori de creștere, promovând procesul aterogenetic.

În comparație cu colesterolul LDL nativ, LDL colesterolul oxidat este mult mai rapid preluat de macrofage, rezultând celule spumoase, ce vor forma un miez lipidic mai mare cu creșterea presiunii capșonului fibros și reducerea grosimii acestuia, sporind riscul de ruptură a plăcii la acest nivel.

Acidul hipocloros acționează cu substraturile electronice ale apolipoproteinei B (reziduurile Lisina- Lys și Tirozina - Tyr) formând 3 cloro-tirozina, care se găsește în cantitate mare în placa ATS. Mai mult, aceasta din urmă poate genera o serie de produși secundari care pot fi implicați în reacții din care să rezulte colesterol LDL oxidat (radicali de tirozina, p-hidroxifenilacetilaldehida, gliceraldehida nesaturată, 2 hidroxiopropanal, acroleina) (Davi and Patrono, 2007; Nylander et al., 2013; Nidorf et al., 2020).

În urma leziunii endoteliale provocate de LDL ox rezultă: producție excesivă ROS, inflamație, stresul reticulului endoplasmic, activare plachetară. În boala cardiacă ischemică se înregistrează niveluri crescute LDL ox în IMA.

Determinarea anticorpilor anti LDL colesterol oxidat (AC anti LDL oxidat) este cea mai fiabilă metodă de determinare a impactului stresului oxidativ asupra LDL colesterol se poate realiza prin tehnica ELISA kit producător INOVA – valori normale <150U/l (Bobescu et al., 2021; Covaciu et al., 2025).

Numeroase studii prospective de cohortă au demonstrat corelație pozitivă între nivelul crescut de LDL ox și severitatea bolii cardiace ischemice. De asemenea nivelul plasmatic crescut al LDL ox a avut o corelație semnificativă, independentă cu BCI precoce, sugerând că acest biomarker poate fi predictor pentru boala cardiacă ischemică la tineri (Nylander et al., 2013; Nidorf et al., 2020; Libby, 2021).

IV. Noi biomarkeri de stres oxidativ

IV.1. Proteinele carbonilate (PC)

Proteinele varbonilate (PC) pot rezulta fie prin peroxidarea lipidelor, fie prin acțiunea ROS care alterează structura și funcția proteinelor, prin

introducerea grupărilor carbonil, cetonă, aldehydă și lactam. Mróz K et al, a publicat în 2024 primul studiu care a demonstrat ca nivelul crescut plasmatic de proteine carbonilate predispune la evenimente cardiovasculare pe termen lung, în parte datorită efectelor antifibrinolitice, subliniind astfel rolul proteinelor carbonilate în ateroscleroză și apariția evenimentelor acute cardiovasculare și cerebrovasculare majore. Valorile crescute PC s-au asociat de asemenea cu un grad scăzut de permeabilitate, timp de liză crescut al cheagului și creșteri ale inhibitorului activatorului de plasminogen de tip 1 (PAI1) și inhibitorului activatorului fibrinolitic al trombinei (Mróz et al., 2024).

IV.2. Acizii micro-ribonucleici (mi-ARN)

Un complex de molecule mici ARN non-codate a fost identificat ca posibil biomarker în sindroamele coronariene având în vedere că poate fi obținut din probe sanguine periferice, stabil la temperatura camerei, dar și după înghețare.

Acizii microribonucleici reglează expresia diferitelor gene luând astfel parte la multiple căi de semnal și comunicare intercelulară. Având în vedere că miARN controlează funcția celulelor sistemului cardiovascular, poate oferi informații suplimentare în ceea ce privește inflamația, leziunile aterosclerotice, fibroza, hipertrofia ventriculară.

Au fost identificate numeroase miARN derivate din celulele cardiace: miR-1, miR R-195, miR133, miR 126, miR 16, miR 590, miR 199, miR 143, miR 208a/b, miR 499, miR 27b, miR 497, miR 126, miR 30d, miR 208b, miR 150a/b, miR16-1/2.

Primele molecule care au demonstrat relevanța prognostică în ceea ce privește mortalitatea au fost miRNA 133a și miR 208 a. Acestea s-au asociat cu o creștere semnificativă a mortalității de orice cauză la 6 luni de la un infarct acut de miocard. De asemenea, în SCA, miR1, miR133a, miR499 sunt semnificativ crescute. Devaux a raportat că miR208b și miR499 au arătat acuratețe în diagnosticul IMA față de control, ceea ce le conferă potențial de biomarker precoce (Crea and Libby, 2017; Ridker et al., 2019).

IV.3. Oxidarea acizilor dezoxiribonucleic (ADN) și ribonucleic (ARN)

IV.3.a. Oxidarea ADN

Dintre cele patru baze ADN - adenina, citozina, timina, guanina ultima - guanina posedă

cel mai scăzut potențial redox, ceea ce o face susceptibilă la atacul ROS la carbonul din poziția 8, rezultând 8-hidroxi-2'-deoxiguanozina (8-OHdG). Baza afectată este extrasă de către ADN glicozilaza1-8 oxo-guanozina ADN (OGG1) cedând legătura apurinic/apirimidinic care este clivată în mod secvențial la legături 3 fosfodiester prin activitatea endonucleazei 1 apurin/ apirimidinic (APE1). Reziduul rezultat din acțiunea de reparare OGG1 este procesat de către endonucleaza AP1 rezultând 3 radicali hidroxil (OH) (Ridker et al., 1999; Mega et al., 2010).

IV.3.b. Oxidarea ARN

ADN-ul și ARN-ul sunt similare structural, iar modelele de oxidare în structurile lor nucleotidice, în special în reziduurile de guanină, sunt consecvente. Un factor esențial în susceptibilitatea ARN-ului este prezența radicalilor OH în vecinătatea acestui reziduu de guanina. Datorită reactivității ridicate și capacității de difuziune limitată, acești radicali pot modifica cu ușurință ARN-ul ceea ce duce la leziuni semnificative ale acestuia. Cele mai importante daune cauzate de radicalii hidroxil rezultând 8-oxo-guanozina (8-oxo-Guo) -cea mai comună componentă (Ridker et al., 1999).

IV.3.c. Determinarea 8-hidroxi-2'-deoxiguanozina (8-OHdG) și 8-oxo-guanozina (8-oxo-Guo) în sindroamele coronariene

A fost demonstrată în numeroase studii clinice asocierea nivelului crescut de 8 O8-OHdG cu bolile cardiovasculare și cerebrovasculare (sindrom coronarian, stroke, boală arterială venoasă periferică și ateroscleroza carotidiană) și cu mortalitatea la pacienții diabet, infarct miocardic acut, accident vascular cerebral și cu boală vasculară periferică (Ridker et al., 1999; Mega et al., 2010).

V. Biomarkeri de evaluare a activității antioxidante totale

V.1. Metoda TRAP (total peroxy radical trapping antioxidant parameter) evaluează peroxidarea lipidelor în fluidele biologice prin expunerea la azo-inițiatori direct prin chemiluminescență;

V.2. Metoda Phicoerytrin - principiul metodei: reacția cu anumiți radicali liberi determină pierderea fluorescenței; metoda folosește de obicei emisia la 565 nm, excitația la 540 nm; phicoerytrin este o proteină

fotosintetizată în algele roșii conținând 34 grupuri prostetice tetrapiro.

V.3. Metoda-ABTS (2, 2'-azinobis 3-etilbenzotiazoline-6-sulfonat): ABTS este oxidat la un radical cation $ABTS^{\bullet+}$ cu metmioglobina și H_2O_2 cu absorbantă la 600, 734 și 820 nm. Principiul metodei constă în incubarea $ABTS^{\bullet+}$ (2, 2'-azinobis (3-etilbenzotiazoline-6-sulfonat)) cu o peroxidază - metmioglobina și H_2O_2 pentru a produce radicalul cation $ABTS^{\bullet+}$. Acesta are o culoare verde-albastru stabilă care este măsurată la 600 nm. Antioxidanții din proba adăugată determină supresia acestui produs colorat cu un grad proporțional cu concentrația lor. Este o metodă rapidă, automatizată și cel mai des folosită în evaluarea clinică a stresului oxidativ.

V.4. Metoda FRAP (abilitatea de reducere a fierului) - determină abilitatea antioxidantilor plasmatici -vitamina E, urat, ascorbat, dar nu albumina- de a reduce $Fe(III)$ la Fe^{2+} la pH scăzut; rapid automatizată; măsoară reducerea abilității de a epura radicalii liberi.

V.5. Metoda DPPH. Aceasta metodă folosește 1,1 difenil -2-picrilhidrazil (DPPH) care este un radical liber stabil cu un semnal specific al rezonanței de spin. Reacția cu antioxidanți este urmată de pierderea semnalului de rezonanță de spin sau pierderea absorbantei la 540 nm.

Aceste metode evaluează epurarea radicalilor liberi de către antioxidanți a căror epuizare permite reacția radicalilor liberi cu o moleculă țintă, produșii de reacție fiind detectați prin culoare, fluorescență, chemiluminescență, pierdere sau câștigare de semnal de rezonanță spin de electroni. (Ridker et al., 2008).

VI. Rolul medicinei integrative în reducerea stresului oxidativ și creșterea activității antioxidante

Strategiile terapeutice actuale care implică abordarea integrativă farmacologică și nonfarmacologică de combatere a stresului oxidativ au în centrul lor elaborarea unor metode de determinare mai accesibile ale markerilor de stres oxidative cu optimizarea controlului factorilor de risc cardiovascular și intervenții farmacologice cu efect antioxidant.

De exemplu statinele, trimetazidina care este un agent farmacologic cu acțiune la nivel metabolic și suplimentarea cu acizii grași omega 3 polinesaturați, au efectele pleiotrope, inclusiv

reducerea concentrațiilor speciilor reactive de oxigen (ROS) și îmbunătățirea funcției endoteliale. Alte ținte emergente sunt inhibitorii nicotinamid adenindinucleotid fosfat oxidazei (NADPH oxidazei) și agenții care restabilesc nivelul de oxid nitric – fie direct, fie prin stimularea sintetazei endoteliale a oxidului nitric (eNOS).

Intervențiile non-farmacologice – dieta bogată în antioxidanți naturali, exercițiile fizice regulate și reducerea stresului oxidativ ambiental – completează arsenalul terapeutic, contribuind sinergic la restabilirea homeostaziei endoteliale.

Concluzii

Există dovezi solide că biomarkerii de stres oxidativ și activitate antioxidantă totală se corelează cu markerii inflamatori, disfuncția endotelială și cu severitatea sindroamelor coronariene. De asemenea, pacienții cu valori ridicate ale acestor markeri prezintă un risc crescut de reapariție a unui sindrom coronarian acut și prognostic mai sever pe termen mediu și lung.

Rolul medicinei integrative în reducerea stresului oxidativ și creșterea activității antioxidante este axat pe metode de control a factorilor de risc, introducerea în tratament a agenților farmacologici cu înalt potențial antioxidant și a intervențiilor nonfarmacologice nutriționale, de combatere a creșterii stresului oxidativ endogen și ambiental.

Bibliografie

- [1] Bălan AI, Halațiu VB & Scridon A. (2024) Oxidative Stress, Inflammation, and Mitochondrial Dysfunction: A Link between Obesity and Atrial Fibrillation, *Antioxidants*, 13(1), 117. disponibil la: <https://doi.org/10.3390/antiox13010117>.
- [2] Björkegren JLM & Lusis AJ. (2022) Atherosclerosis: Recent developments. *Cell*, 185(10): 1630–1645. disponibil la: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.04.004>.
- [3] Bobescu E., Covaciu A., Rus H., et al. (2020). Low Response to Clopidogrel in Coronary Artery Disease, *American Journal of Therapeutics*, 27(2), e133–e141. disponibil la: <https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000001099>.
- [4] Bobescu E., Marceanu LG., Dima L., et al (2021). Trimetazidine Therapy in Coronary Artery Disease: The Impact on Oxidative Stress, Inflammation, Endothelial Dysfunction, and Long-Term Prognosis, *American Journal of Therapeutics*, 28(5), e540–e547. disponibil la: <https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000001430>.
- [5] Bonaca MP., Bhatt DL., Cohen M. et al. (2015) Long-Term Use of Ticagrelor in Patients with

- Prior Myocardial Infarction, *New England Journal of Medicine*, 372(19), 1791–1800. disponibil la: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1500857>.
- [6] Cai H & Harrison DG. (2000). Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Role of Oxidant Stress, *Circulation Research*, 87(10), 840–844. disponibil la: <https://doi.org/10.1161/01.RES.87.10.840>.
- [7] Covaciu A., Benedek T., Bobescu E., et al. (2025) Polyunsaturated Fatty Acids Improved Long Term Prognosis by Reducing Oxidative Stress, Inflammation, and Endothelial Dysfunction in Acute Coronary Syndromes, *Marine drugs*, 23(4). disponibil la: <https://doi.org/10.3390/md23040154>.
- [8] Crea F. & Libby P. (2017). Acute Coronary Syndromes: The Way Forward From Mechanisms to Precision Treatment, *Circulation*, 136(12), 1155–1166. disponibil la: <https://doi.org/10.1161/circulationaha.117.029870>.
- [9] Davi G. & Patrono C. (2007). Platelet Activation and Atherothrombosis, *New England Journal of Medicine*, 357(24), 2482–2494. disponibil la: <https://doi.org/10.1056/NEJMra071014>.
- [10] Davignon J. (2004). Beneficial Cardiovascular Pleiotropic Effects of Statins, *Circulation*, 109(23 suppl_1). disponibil la: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000131517.20177.5a>.
- [11] D'Oria R., Schipani R., Leonardini A., et al. (2020) The Role of Oxidative Stress in Cardiac Disease: From Physiological Response to Injury Factor, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–29. disponibil la: <https://doi.org/10.1155/2020/5732956>.
- [12] Esmon CT. (2003) The Protein C Pathway *Chest*, 124(3), 26S–32S. disponibil la: https://doi.org/10.1378/chest.124.3_suppl.26S.
- [13] Fuchs TA., Brill A., Duerschmied D. et al. (2010) Extracellular DNA traps promote thrombosis, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(36), 15880–15885. disponibil la: <https://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>.
- [14] Hellings WE, Peeters W., Moll FL. et al. (2010) Composition of Carotid Atherosclerotic Plaque Is Associated With Cardiovascular Outcome, *Circulation*, 121(17), 1941–1950. disponibil la: <https://doi.org/10.1161/circulationaha.109.887497>.
- [15] Jackson SP. (2011) Arterial thrombosis—insidious, unpredictable and deadly, *Nature Medicine*, 17(11), 1423–1436. disponibil la: <https://doi.org/10.1038/nm.2515>.
- [16] Jain MK. & Ridker PM. (2005) Anti-Inflammatory Effects of Statins: Clinical Evidence and Basic Mechanisms, *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(12), 977–987. disponibil la: <https://doi.org/10.1038/nrd1901>.
- [17] Koupenova M., Kehrel BE., Corkrey HA., et al. (2016) Thrombosis and platelets: an update, *European Heart Journal*, p. ehw550. disponibil la: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw550>.
- [18] Leopold JA. & Loscalzo J. (2018) Emerging Role of Precision Medicine in Cardiovascular Disease, *Circulation Research*, 122(9), 1302–1315. disponibil la: <https://doi.org/10.1161/Circresaha.117.310782>.
- [19] Liang M. (2011) The Vulnerable Plaque: the Real Villain in Acute Coronary Syndromes, *The Open Cardiovascular Medicine Journal*, 5(1), 123–129. disponibil la: <https://doi.org/10.2174/1874192401105010123>.
- [20] Libby P. (2021) The changing landscape of atherosclerosis, *Nature*, 592(7855), 524–533. disponibil la: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03392-8>.
- [21] Madaudo C., Coppola G., Parlati ALM., et al. (2024) Discovering Inflammation in Atherosclerosis: Insights from Pathogenic Pathways to Clinical Practice, *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), p. 6016. disponibil la: <https://doi.org/10.3390/ijms25116016>.
- [22] Mega JL., Simon T., Collet JP. et al. (2010) Reduced-Function CYP2C19 Genotype & Risk of Adverse Clinical Outcomes Among Patients Treated With Clopidogrel Predominantly for PCI, *JAMA*, 304(16), p. 1821. disponibil la: <https://doi.org/10.1001/jama.2010.1543>.
- [23] Mróz K., Paszek E., Baran M. et al. (2024) Elevated carbonylated proteins are associated with major cardiovascular events in patients with chronic coronary syndrome: A cohort study., *Kardiologia polska*, 82(7–8), 708–715. disponibil la: <https://doi.org/10.33963/v.phj.100609>.
- [24] Nidorf SM., Fiolet ATL., Mosterd A. et al. (2020) Colchicine in Patients with Chronic Coronary Disease, *New Engl& Journal of Medicine*, 383(19), 1838–1847. disponibil la: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2021372>.
- [25] Nylander S., Femia EA., Scavone M. et al. (2013) Ticagrelor inhibits human platelet aggregation via adenosine in addition to P2Y12 antagonism, *Journal of Thrombosis & Haemostasis*, 11(10), 1867–1876. disponibil la: <https://doi.org/10.1111/jth.12360>.
- [26] Oesterle A., Laufs U. & Liao JK. (2017) Pleiotropic Effects of Statins on the Cardiovascular System, *Circulation Research*, 120(1), 229–243. disponibil la: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308537>.
- [27] Ridker PM., Rifai N., Pfeffer MA. et al. (1999) Long-Term Effects of Pravastatin on Plasma Concentration of C-reactive Protein, *Circulation*, 100(3), 230–235. disponibil la: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.100.3.230>.
- [28] Ridker PM., Danielson E., Fonseca FAH. et al. (2008) Rosuvastatin to Prevent Vascular Events in Men & Women with Elevated C-Reactive Protein, *New Engl& Journal of Medicine*, 359(21), 2195–2207. disponibil la: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0807646>.
- [29] Ridker PM., MacFadyen JG., Everett BM. et al. (2018) Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary analysis from the CANTOS randomised controlled trial, *The Lancet*, 391(10118), 319–328. disponibil la: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32814-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32814-3).
- [30] Ridker PM., Everett BM., Pradhan A. et al. (2019) Low-Dose Methotrexate for the Prevention of Atherosclerotic Events, *New Engl& Journal of Medicine*, 380(8), 752–762. disponibil la:

- <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1809798>.
- [31] Ridker PM. & Lüscher TF. (2014) Anti-inflammatory therapies for cardiovascular disease. *European Heart Journal*, 35(27), 1782–91. disponibil la: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu203>.
- [32] Rocha M., Apostolova N., Hernandez-Mijares A. et al. (2010) Oxidative Stress & Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Disease: Mitochondria-Targeted Therapeutics, *Current Medicinal Chemistry*, 17(32), 3827–3841. disponibil la: <https://doi.org/10.2174/092986710793205444>.
- [33] Smith SC., Anderson JL., Cannon RO., et al. (2004) CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation & Cardiovascular Disease, *Circulation*, 110(25). disponibil la: <https://doi.org/10.116101.CIR.0000148981.71644.C7>.
- [34] Yahagi K., Kolodgie FD., Otsuka F. et al. (2016) Pathophysiology of native coronary, vein graft, &

in-stent atherosclerosis, *Nature Reviews Cardiology*, 13(2), 79–98. disponibil la: <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2015.164>.

Contribuția autorilor: Conceptualizare: AC, EB; Designul cercetării: AC, VB; Validarea metodologiei: EB, VB; Culegerea datelor: AC, VB; Analiza și/sau interpretarea datelor: AC, EB; Scriere – pregătirea textului inițial: AC; Revizuire și editare: EB, VB.

Surse de finanțare: Cercetarea prezentată în acest articol nu a fost susținută prin finanțare.

Conflicte de interese: Autorii nu au conflicte de interese relevante pentru acest articol.