

## STRESUL OXIDATIV LA PACIENȚII CU CARDIOPATIE ISCHEMICĂ ȘI CORELAȚIA SA CU FACTORII DE RISC CARDIOVASCULAR

MARIUS-ALIN ILIESCU<sup>1</sup>, REMUS ORĂSAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca

<sup>2</sup>Catedra de Fiziologie a UMF Iuliu-Hațieganu Cluj-Napoca

Studiu desfășurat la Catedra de Fiziologie a UMF „Iuliu-Hațieganu” Cluj-Napoca

### Rezumat

**Obiective.** Am determinat parametrii de stres oxidativ la pacienții cu cardiopatie ischemică și corelația acestora cu prezența principalilor factori de risc cardiovascular.

**Material și metodă.** Am luat în studiu un lot de 21 pacienți cu cardiopatie ischemică confirmată și un lot martor de 12 subiecți sănătoși. La toți subiecții s-a cuantificat stresul oxidativ prin determinarea malondialdehidei și proteinelor carbonilate și capacitatea de apărare antioxidantă prin determinarea capacității de donor de hidrogen, a grupărilor SH și a glutationului. S-a comparat nivelul parametrilor de stres oxidativ între cele 2 grupuri de subiecți și s-a evaluat asocierea acestor parametri cu numărul factorilor de risc cardiovascular și cu vârsta în lotul pacienților cu cardiopatie ischemică.

**Rezultate.** Pacienții cu cardiopatie ischemică au avut niveluri mai crescute ale malondialdehidei plasmatică și niveluri mai joase ale grupărilor SH și donorilor de protoni. Singurul parametru care s-a corelat cu numărul factorilor de risc cardiovascular au fost grupările SH. S-a constatat de asemenea o corelație inversă între nivelul grupărilor SH și vârsta bolnavilor.

**Concluzii.** Pacienții cu cardiopatie ischemică au niveluri crescute ale stresului oxidativ și capacitate de apărare antioxidantă redusă. Markerul de stres oxidativ cel mai bine corelat cu numărul de factori de risc sunt grupările SH, ca expresie a capacității antioxidante reduse. Același marker scade pe măsura avansării în vârstă, oferind o explicație pentru asocierea vârstă – cardiopatie ischemică.

**Cuvinte cheie:** stres oxidativ, cardiopatie ischemică, factori de risc cardiovascular.

## OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE AND ITS RELATION WITH CARDIOVASCULAR RISK FACTORS

### Abstract

**Objectives.** We evaluated the markers of oxidative stress in patients with ischemic heart disease and their relation with the main cardiovascular risk factors.

**Materials and methods.** We studied a group of 21 patients with established ischemic heart disease and a control group of 12 healthy subjects. In every subject we quantified the oxidative stress by measuring the malondialdehyde and carbonyl proteins, and the antioxidant defense by measuring the hydrogen donors, sulphydryl groups and glutathione. We compared the levels of oxidative stress markers between the two groups and we assessed the association of these markers with the number of cardiovascular risk factors and with age in the group of ischemic heart disease patients.

**Results.** The patients with ischemic heart disease had higher levels of plasma

malondialdehyde and lower levels of sulfhydryl groups and hydrogen donors. The only marker that correlated with the number of cardiovascular risk factors were the sulfhydryl groups. We ascertained also an inverse relation between the sulfhydryl groups and patients' age.

**Conclusions.** Patients with ischemic heart disease have higher levels of oxidative stress and reduced antioxidant defense. The oxidative stress marker best correlated with the number of cardiovascular risk factors are the sulfhydryl groups, as a proof of reduced antioxidant defense. The same marker declines with age, offering a plausible explanation for the relation between advanced age and ischemic heart disease.

**Keywords:** oxidative stress, ischemic heart disease, cardiovascular risk factors.

## INTRODUCERE

S-a demonstrat că pacienții cu cardiopatie ischemică au un nivel crescut al stresului oxidativ, iar nivelul markerilor de stres oxidativ se corelează cu incidența evenimentelor cardiovasculare majore [1,2]. Speciile reactive de oxigen joacă un rol important în inițierea și evoluția procesului aterosclerotic, fiind implicate în oxidarea fosfolipidelor, disfuncția endotelială, promovarea inflamației și a agregării plachetare [3,4]. Toți factorii majori de risc cardiovascular (fumatul, hipertensiunea arterială, diabetul zaharat și hipercolesterolemia) se asociază cu creșterea stresului oxidativ, care reprezintă o verigă patogenetică intermediară comună în exercitarea efectelor dărmătoare ale acestor factori la nivelul aparatului cardiovascular [5-12]. Importanța acestor constatări rezidă în posibilitatea utilizării markerilor de stres oxidativ pentru evaluarea riscului individual de evenimente cardiovasculare, ca și a dezvoltării unor terapii antioxidante eficiente pentru prevenția primară și secundară a acestor evenimente.

Acest studiu și-a propus determinarea parametrilor de stres oxidativ la un lot de pacienți cu cardiopatie ischemică și corelarea acestor parametri cu prezența factorilor de risc cardiovascular.

## MATERIAL ȘI METODĂ

Determinările s-au efectuat pe un lot de 21 de pacienți cu cardiopatie ischemică cu vârsta medie de  $59,43 \pm 8,45$  ani, dintre care 15 (71,43%) bărbați și 6 (28,57%) femei. Cardiopatia ischemică a fost confirmată prin minim unul dintre următoarele criterii: test de efort pozitiv sau stenoză coronariană  $>50\%$  la evaluarea angiografică sau infarct miocardic documentat în antecedente. La toți bolnavii s-a verificat prezența hipertensiunii arteriale, a diabetului zaharat, a hipercolesterolemiei și consumul de țigări. Lotul martor a cuprins un grup de 12 subiecți sănătoși comparabili ca vârstă și sex. La toți subiecții luați în studiu s-a cuantificat nivelul stresului oxidativ pe baza

estimării modificărilor oxidative ale lipidelor și proteinelor plasmatice și s-a evaluat capacitatea antioxidantă prin determinarea capacității de donor de hidrogen, a grupărilor SH și a glutatationului. Măsurătorile s-au făcut la laboratorul Catedrei de Fiziologie a UMF Cluj-Napoca.

Cuantificarea peroxidării lipidice s-a făcut prin dozarea malondialdehidei prin fluorescență, în urma reacției cu acidul tiobarbituric. Modificările oxidative ale proteinelor plasmatice s-au măsurat prin determinarea grupărilor carbonil prin spectrofotometrie după reacția cu 2,4-dinitrofenil hidrazină. Capacitatea de donor de hidrogen s-a estimat pe baza reducerii radicalului stabil 1,1-difenilpicrilhidrazil, exprimându-se în inhibiție procentuală față de probele de control. Dozarea grupărilor SH s-a făcut pe baza reacției de culoare cu acidul 2,2-ditiobisnitrobenzoic, iar a glutatationului prin fluorescență, în urma reacției cu o-phthalaldehida.

## REZULTATE

Lotul de pacienți cu cardiopatie ischemică a prezentat un nivel mai crescut al malondialdehidei plasmatice și valori mai scăzute ale grupărilor SH și donozilor de protoni, față de lotul de control (figura 1). Nu au existat variații semnificative ale proteinelor carbonilate și glutatationului între cele două loturi.

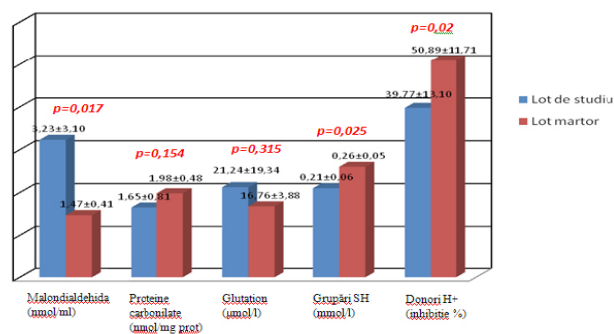


Fig. 1. Valorile parametrilor de stres oxidativ la lotul de pacienți cu cardiopatie ischemică vs. lotul martor.

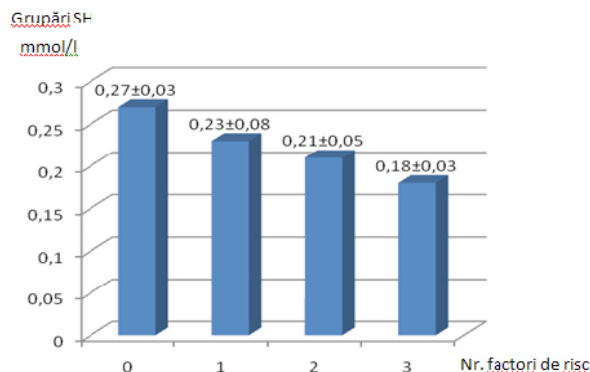
Articol intrat la redacție în data de: 17.04.2011

Primit sub formă revizuită în data de: 16.06.2011

Acceptat în data de: 20.06.2011

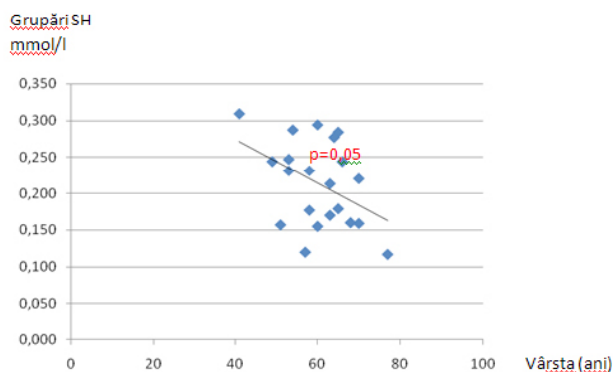
Adresa pentru corespondență: alin\_m\_iliescu@yahoo.com

19 dintre cei 21 de pacienți cu cardiopatie ischemică (90,48%) au avut cel puțin un factor major de risc cardiovascular (fumat, hipertensiune arterială, diabet zaharat sau hipercolesterolemie). Astfel, au fost 6 pacienți (28,57%) cu un singur factor de risc, 7 pacienți (33,33%) cu 2 factori de risc și 6 pacienți (28,57%) cu 3 factori de risc. Singurul parametru de stres oxidativ care s-a corelat semnificativ cu numărul factorilor de risc cardiovascular au fost grupările SH (figura 2).



**Fig. 2.** Grupări SH în funcție de numărul factorilor de risc cardiovascular ( $p=0,017$  pentru 0 vs. 3 factori de risc).

Nu au existat variații semnificative ale markerilor în funcție de sex în lotul de studiu, dar s-a constatat o scădere la limita semnificației statistice a grupărilor SH pe măsura avansării în vârstă (figura 3).



**Fig. 3.** Variația grupărilor SH în funcție de vârstă.

## DISCUȚII

S-a demonstrat că stresul oxidativ este implicat în patogeneza cardiopatiei ischemice, în toate etapele sale, de la apariția striurilor lipidice vasculare până la destabilizarea plăcii de aterom [3,4]. În mod normal, organismul dispune de mecanisme antioxidante care reușesc neutralizarea speciilor reactive de oxigen. La pacienții cu cardiopatie ischemică, creșterea stresului oxidativ se datorează generării excesive de specii reactive de oxigen și scăderii

apărării antioxidante.

Pentru estimarea activității speciilor reactive de oxigen s-au determinat producția de peroxidare lipidică și proteică. În concordanță cu observațiile precedente [13-15], s-a constatat un nivel înalt al stresului oxidativ la pacienții cu cardiopatie ischemică, exprimat prin niveluri crescute ale malondialdehidei. Spre deosebire de alte studii [14,15], nu s-au observat variații semnificative ale nivelului proteinelor carbonilate față de lotul de control. Această discrepanță s-ar putea explica prin dimensiunea relativ redusă a celor două grupuri luate în studiu.

Pentru aprecierea capacității de apărare antioxidantă s-au determinat capacitatea de donare de hidrogen, nivelul grupărilor SH și al glutatationului. Pacienții cu cardiopatie ischemică au avut un nivel redus al apărării antioxidante, obiectivat prin valori scăzute ale grupărilor SH și donorilor de protoni. Din nou în contrast cu studiile precedente [16], nivelul glutatationului nu a fost diferit între cele două loturi.

Asocierea tuturor factorilor de risc cardiovascular cu creșterea stresului oxidativ și reducerea capacității antioxidante dispune de dovezi solide [5-12]. Această asociere poate fi bidirecțională, în sensul că stresul oxidativ este nu doar o consecință, ci poate genera sau amplifica respectivul factor de risc, într-un cerc vicios (ca în cazul diabetului zaharat sau al hipertensiunii arteriale).

Deoarece majoritatea pacienților cu cardiopatie ischemică au doi sau mai mulți factori de risc (61,9% dintre pacienți în studiul nostru), am căutat identificarea markerilor de stres oxidativ care se corelează cel mai bine cu numărul factorilor de risc. Singurul parametru care a îndeplinit această condiție au fost grupările SH, sugerând reducerea apărării antioxidante ca mecanism principal prin care acești factori de risc contribuie la patogeneza procesului aterosclerotic.

Vârsta avansată este ea însăși un factor de risc pentru cardiopatia ischemică. Am constatat o reducere a capacității de apărare antioxidantă, exprimată prin niveluri scăzute ale grupărilor SH, pe măsura avansării în vârstă, oferind o posibilă explicație acestui fenomen.

O limitare a studiului actual o reprezintă lotul relativ redus de pacienți, care a făcut imposibilă demonstrarea unei diferențe semnificative pentru anumiți parametri de stres oxidativ sau apărare antioxidantă între cele două loturi, în contrast cu studiile din literatură citate. Din același motiv, nu s-a putut face analiza multivariată pentru estimarea contribuției individuale a fiecărui factor de risc la generarea stresului oxidativ.

## CONCLUZII

Pacienții cu cardiopatie ischemică au niveluri crescute ale stresului oxidativ și capacitate de apărare antioxidantă redusă. Factorii de risc cardiovascular sunt implicați în patogeneza procesului aterosclerotic prin generarea de specii reactive de oxigen și scăderea apărării antioxidante. Markerul de stres oxidativ cel mai bine

corelat cu numărul de factori de risc sunt grupările SH, ca expresie a capacității antioxidante reduse. Același marker scade pe măsura avansării în vârstă, oferind o explicație pentru asocierea vârstă – cardiopatie ischemică.

### Bibliografie

1. Kotur-Stevuljjevic J, Memon L, Stefanovic A, Spasic S, Spasojevic-Kalimanovska V, Bogavac-Stanojevic N, et al. Correlation of oxidative stress parameters and inflammatory markers in coronary artery disease patients. *Clinical biochemistry* 2007;40(3-4):181-187.
2. Walter MF, Jacob RF, Jeffers B, Ghadanfar MM, Preston GM, Buch J, Mason RP. Serum levels of thiobarbituric acid reactive substances predict cardiovascular events in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1996-2002.
3. Libby P. The vascular biology of atherosclerosis. In: Braunwald E. *Heart disease*. 7<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders; 2004.
4. Griending KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. *Circulation [serial online]* 2003;108:1912.
5. Agarwal R. Smoking, oxidative stress and inflammation: Impact on resting energy expenditure in diabetic nephropathy. *BMC Nephrol* 2005;6:13.
6. Marangon K, Herbeth B, Lecomte E, Paul-Dauphin A, Grolier P, Chancerelle Y, et al. Diet, antioxidant status, and smoking habits in French men. *Am J Clin Nutr* 1998;67(2):231-239.
7. Rodrigo R, Prat H, Passalacqua W, Araya J, Guichard C, Bachler JP. Relationship between oxidative stress and essential hypertension. *Hypertens Res* 2007;30:1159-1167.
8. Kedziora-Kornatowska K, Czuczejko J, Pawluk H, Kornatowski T, Motyl J, Szadujkis-Szadurski L, et al. The markers of oxidative stress and activity of the antioxidant system in the blood of elderly patients with essential arterial hypertension. *Cell Mol Biol Lett* 2004;9:635-641.
9. West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med* 2000;17(3):171-180.
10. Huerta MG, Nadler JL. Oxidative stress, inflammation, and diabetic complications. In: LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM, editors. *Diabetes mellitus: a fundamental and clinical text*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004.
11. Natoli S, Violi F. Oxidative stress and hypercholesterolemia: increase of radical hydroxyl in patients with hypercholesterolemia. *Cardiologia* 1999;44(2):187-190.
12. Balkan J, Dogru-Abbasoglu S, Aykac-Toker G, Uysal M. The effect of a high cholesterol diet on lipids and oxidative stress in plasma, liver and aorta of rabbits and rats. *Nutr Res* 2004;24(3):229-234.
13. Khan MA, Baseer A. Increased malondialdehyde levels in coronary heart disease. *J Pak Med Assoc*. 2000;50(8):261-264.
14. Mutlu-Türkoğlu U, Akalin Z, İlhan E, Yılmaz E, Bilge A, Nişancı Y, et al. Increased plasma malondialdehyde and protein carbonyl levels and lymphocyte DNA damage in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Clin Biochem*. 2005;38(12):1059-1065.
15. Jawalekar SL, Kulkarni UJ, Surve VT, Deshmukh YA. Status of lipid profile, MDA and protein carbonyl in patients with cardiovascular diseases. *Arch. Appl. Sci. Res*. 2010;2(6):8-14.
16. Cavalca V, Veglia F, Squellerio I, Marenzi G, Minardi F, De Metrio M, et al. Glutathione, vitamin E and oxidative stress in coronary artery disease: relevance of age and gender. *Eur J Clin Invest* 2009;39(4):267-272.