

Anna Wawro¹, Katarzyna Kiliś-Pstrusińska¹,
 Anna Medyńska¹, Małgorzata Gromkowska²,
 Elżbieta Górawska³, Danuta Zwolińska¹

Received: 02.02.2011

Accepted: 18.02.2011

Published: 29.04.2011

Stres oksydacyjny u dzieci i młodzieży z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym

Oxidative stress in children and adolescents with primary hypertension

¹ Katedra i Klinika Nefrologii Pediatrycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu. Kierownik: prof. dr hab. n. med. Danuta Zwolińska

² Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Kardiologii Akademii Medycznej we Wrocławiu. Kierownik: prof. dr hab. n. med. Andrzej Boznański

³ Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Nefrologii Pediatrycznej AM we Wrocławiu

Adres do korespondencji: Dr n. med. Anna Wawro, Katedra i Klinika Nefrologii Pediatrycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu, ul. M. Skłodowskiej-Curie 50/52, 50-369 Wrocław, tel.: 71 770 30 32

Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Wstęp: Nadciśnienie tętnicze pierwotne (NTP) coraz częściej rozpoznawane jest u dzieci i młodzieży. Przeprowadzone w ostatnich latach badania wskazują na złożony udział stresu oksydacyjnego i dysfunkcji śródbłonna naczyń w patogenezie NTP. Prace dotyczące zaburzeń metabolizmu tlenowego u dzieci z NTP są nieliczne. Celem pracy była ocena stresu oksydacyjnego u dzieci i młodzieży z NTP na podstawie stężenia dialdehydu malonylowego (MDA) jako markera peroksydacji lipidów i aktywności wybranych enzymów układu antyoksydacyjnego (dysmutazy ponadtlenkowej – SOD, peroksydazy glutationu – GSH-Px) w erytrocytach. **Materiał i metody:** Badaniami objęto 24 osoby ze świeżo rozpoznanym NTP w wieku 5-18 lat. Grupę kontrolną stanowiło 24 dzieci zdrowych, odpowiednio dobranych pod względem płci i wieku. W erytrocytach oznaczono: stężenie MDA oraz aktywność GSH-Px i SOD, ponadto zbadano morfologię krwi. **Wyniki:** Stężenie MDA w erytrocytach było istotnie wyższe w grupie chorych w porównaniu ze zdrowymi ($p < 0,001$). Aktywność GSH-Px w grupie dzieci z NTP była znamienne niższa aniżeli w grupie kontrolnej ($p < 0,001$), aktywność SOD nie różniła się w badanych grupach. Nie wykazano korelacji pomiędzy wartościami MDA i SOD oraz MDA i GSH-Px w grupie chorych. **Wnioski:** Przeprowadzone badania wskazują na wzmożenie peroksydacji lipidów oraz zaburzenia w funkcjonowaniu enzymatycznego układu antyoksydacyjnego w erytrocytach dzieci z NTP.

Słowa kluczowe: stres oksydacyjny, nadciśnienie tętnicze pierwotne, dialdehyd malonylowy, dzieci, młodzież

Summary

Introduction: Primary or essential hypertension is diagnosed more often in children and adolescents. Studies carried out in recent years indicate a complex part of oxidative stress and endothelial dysfunction in the pathogenesis of primary hypertension. Studies on disorders of oxidative metabolism in children with primary hypertension are few. The aim of the study was to assess oxidative stress in children and adolescents with primary hypertension, based on the concentration of malonyldialdehyde (MDA) as a marker of lipid peroxidation and the activity of selected enzymes of the antioxidant system (superoxide dismutase – SOD and glutathione peroxidase – GSH-Px) in erythrocytes. **Material and methods:** The study included 24 children with newly diagnosed primary hypertension at the age of 5-18 years. The control group comprised 24 healthy children respectively matched according to age and gender. The concentration of MDA and the activity of GSH-Px and SOD were tested in erythrocytes and additionally a full blood count was examined. **Results:** MDA concentration in erythrocytes was significantly higher in the group of sick children compared to the healthy group ($p < 0.001$). GSH-Px activity in children with primary hypertension was significantly lower than in the control group ($p < 0.001$), SOD activity did not differ between the groups examined. No correlation was found between the values of MDA and SOD and between MDA and GSH-Px in the group of sick patients. **Conclusions:** Studies reveal intensification of lipid peroxidation and disturbance in functioning of the antioxidant enzyme system in erythrocytes of children with primary hypertension.

Key words: oxidative stress, primary hypertension, malonyldialdehyde, children, adolescents

WSTĘP

Nadciśnienie tętnicze (NT) występuje u 1-3% populacji poniżej 18. roku życia⁽¹⁾. W większości przypadków ma charakter wtórny i występuje w przebiegu schorzeń mięszu nerek, naczyń nerkowych, koarktacji aorty i endokrynopatii⁽²⁻⁴⁾. Nadciśnienie tętnicze pierwotne (NTP) występuje zdecydowanie rzadziej, ale jest rozpoznawane coraz częściej. W latach 80. wśród dzieci leczonych w klinikach hipertensjologicznych 84% miało nadciśnienie wtórne, a 16% – pierwotne⁽⁵⁾. W kolejnej dekadzie odsetek ten wynosił odpowiednio 77 i 23%⁽⁶⁾. Obecnie w specjalistycznych ośrodkach diagnostyki nadciśnienia tętniczego w wieku rozwojowym obie postaci stwierdzane są z częstością około 50%⁽⁷⁾. NTP dominuje wśród nastolatków^(3,4), jednak w ostatnich latach obserwuje się wzrost częstości występowania tej postaci NT u coraz młodszych dzieci.

NTP jest złożonym zespołem chorobowym, w którym wskutek interakcji czynników genetycznych i środowiskowych zakłócona zostaje homeostaza ustroju, co prowadzi do wzrostu ciśnienia tętniczego powyżej wartości uznanych za prawidłowe, a także różnorodnych objawów metabolicznych, hemodynamicznych i neurohumoralnych⁽⁸⁻¹⁰⁾. Czynniki prowadzące do rozwoju NTP nie są do końca jasne. Przeprowadzone w ostatnich latach badania wskazują na udział stresu oksydacyjnego i dysfunkcji śródbłonna naczyń w patogenezie NTP^(8,11). Stres oksydacyjny jest procesem uszkodzenia struktur biologicznych przez aktywne formy tlenu w wyniku ich wzmożonej produkcji i/lub upośledzonego usuwania przez ustrojowe mechanizmy antyoksydacyjne. W łożysku naczyniowym aktywne formy tlenu są wytwarzane przez komórki śródbłonna, mięśni gładkich oraz fibroblasty. Powodują one między innymi peroksydację lipidów, białek, węglowodanów i kwasów nukleinowych. Najbardziej znanym, chociaż nieswoistym markerem peroksydacji lipidów jest dialdehyd malonylowy (MDA). Funkcję obronną przed toksycznym działaniem tlenu pełnią w organizmie dwa systemy antyoksydacyjne: nieenzymatyczny, obejmujący między innymi substancje gotowe do przyjęcia rodników tlenowych, takie jak zredukowany glutation, tokoferole, kwas askorbinowy, karotenoidy, oraz enzymatyczny, który tworzą dysmutaza nadadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT) i peroksydaza glutationu (GSH-Px).

Udział stresu oksydacyjnego w patogenezie NTP jest złożony, a badania u dzieci z tym schorzeniem są nieliczne.

Celem pracy była ocena stresu oksydacyjnego u dzieci i młodzieży z NTP na podstawie stężenia MDA jako markera peroksydacji lipidów i aktywności wybranych enzymów układu antyoksydacyjnego (SOD, GSH-Px) w erytrocytach.

MATERIAŁ I METODY

MATERIAŁ

Badaniem objęto 24 osoby (10 dziewcząt i 14 chłopców) ze świeżo rozpoznanym NTP w wieku 5-18 lat (średnia 13,58). NTP zdiagnozowano zgodnie z aktualnymi zaleceniami⁽²⁾. Rozpoznanie potwierdzono 24-godzinnym ambulatoryjnym monitorowaniem ciśnienia tętniczego. We wszystkich przypadkach stwierdzono I stadium NT. U żadnego z pacjentów nie występowały inne schorzenia przewlekłe, w okresie 4 tygodni poprzedzających badanie nie odnotowano u tych dzieci infekcji, nie były one także leczone farmakologicznie. Grupę kontrolną stanowiło 24 dzieci zdrowych, odpowiednio dobranych pod względem płci i wieku. U każdego z nich wartości ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego wynosiły poniżej 90. percentyla dla wieku, płci i wzrostu. Wywiad rodzinny w kierunku nadciśnienia tętniczego u wszystkich badanych był ujemny.

U każdego dziecka z NTP przeprowadzono badanie okulistyczne i ECHO serca, które wypadły prawidłowo. Wykluczono również powikłania nerkowe nadciśnienia tętniczego. Rodzice wszystkich dzieci wyrazili zgodę na przeprowadzenie badań. Protokół badania został zaakceptowany przez Komisję Bioetyki Akademii Medycznej we Wrocławiu.

METODY

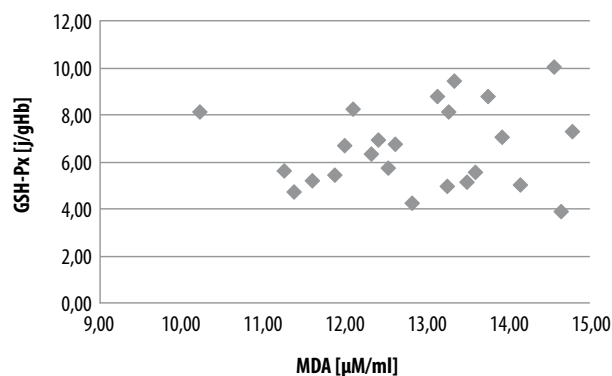
Krew do badań pobierano z żyły łokciowej rano na czczo, przy okazji rutynowo wykonywanych badań laboratoryjnych. Po odwirowaniu warstwę osocza oddzielano z nad osadu, erytrocyty przemywano zimnym roztworem 0,9% NaCl, odwirowywano i zamrażano. Próbkę przechowywano zamrożone w temperaturze -80°C. U każdego dziecka oznaczono: stężenie MDA w erytrocytach, aktywność SOD i GSH-Px w erytrocytach, ponadto zbadano morfologię krwi.

Stężenie MDA w erytrocytach oznaczano, stosując komercyjny test firmy Calbiochem™, i wyrażono w μM/ml. Aktywność GSH-Px oznaczano według metody Paglii

	Dzieci z NTP	Grupa kontrolna	p
MDA (μM/ml)	12,88±1,17	9,18±1,14	<0,001*
SOD (j./gHb)	1043,62±687,35	978,71±253,02	p=0,66
GSH-Px (j./gHb)	6,58±1,71	8,19±1,0	<0,001*

* Różnice istotne statystycznie, p<0,05.

Tabela 1. Wartości średnie i odchylenia standardowe badanych parametrów u dzieci z NTP i dzieci z grupy kontrolnej



Rys. 1. Wartości MDA i GSH-Px u poszczególnych badanych z NTP

i Valentine'a⁽¹²⁾, SOD według metody opisanej przez Misrę i Fridovicha⁽¹³⁾. Aktywność GSH-Px i SOD wyrażono w j./gHb.

ANALIZA STATYSTYCZNA

Wyniki podano jako średnią (\bar{x}) i odchylenia standardowe (SD). Normalność rozkładu zmiennych zweryfikowano testem Shapiro-Wilka. Badania porównawcze między grupami przeprowadzono za pomocą testu t-Studenta. Analizę korelacji przeprowadzono przy użyciu testu Pearsona. Wartość istotną statystycznie uznano przy $p < 0,05$.

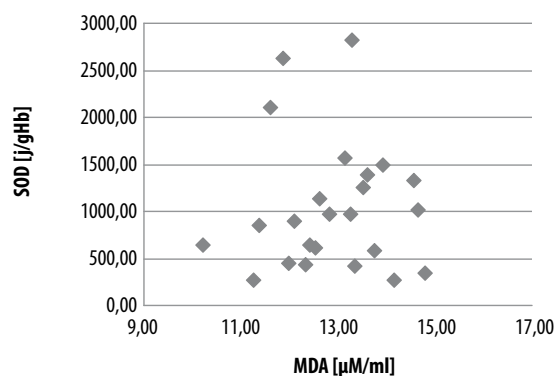
WYNIKI

Wyniki przedstawiono w tabeli 1 i na rys. 1 i 2. Stężenie MDA w erytrocytach było istotnie wyższe w grupie dzieci chorych w porównaniu ze zdrowymi. Aktywność GSH-Px w erytrocytach w grupie dzieci z NTP była znacząco niższa niż w grupie dzieci zdrowych. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic między średnimi wartościami aktywności SOD w erytrocytach w badanych grupach.

Nie wykazano istotnych statystycznie zależności pomiędzy badanymi parametrami: MDA a SOD i GSH-Px, ocenianymi oddzielnie w grupie chorych (współczynniki korelacji: MDA a GSH-Px $r=0,11$, rys. 1; MDA a SOD $r=0,002$, rys. 2) i w grupie zdrowych (odpowiednio $r=0,014$ i $r=-0,4$).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone badania wskazują na zaburzenie równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej u dzieci z NTP. Przemawia za tym wyższe stężenie MDA oraz niższa aktywność GSH-Px w erytrocytach dzieci chorych w porównaniu z dziećmi zdrowymi. Jest to zgodne z obserwacjami innych autorów. Túri i wsp. stwierdzili wyższe stężenie MDA w surowicy dzieci i młodzieży



Rys. 2. Wartości MDA i SOD u poszczególnych badanych z NTP

z NTP, natomiast w erytrocytach wykazali zmniejszenie aktywności antyoksydacyjnej układu glutationu (podwyższony stosunek utlenionych do zredukowanych form glutationu)⁽¹⁴⁾. Podobnie Śladowska i wsp., oceniając zmiany w naczyniach tętniczych u dzieci z NTP w odniesieniu do parametrów stresu oksydacyjnego, odnotowali w grupie pacjentów między innymi wyższe stężenie w surowicy substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS), będące wykładnikiem nasilenia procesów wolnorodnikowych, oraz nieznamienne niższą aktywność GSH-Px i niższe stężenie zredukowanego glutationu (GSH) w erytrocytach⁽¹⁵⁾.

Wyniki badań przeprowadzonych u dorosłych z NTP są zróżnicowane, zależnie od wieku badanych, stadium nadciśnienia tętniczego oraz stosowanej terapii hipotensyjnej^(16,17).

W badaniach własnych nie stwierdziliśmy znaczących różnic pomiędzy aktywnością SOD w erytrocytach dzieci z NTP i zdrowych, jakkolwiek aktywność SOD w grupie chorych była wyższa. Inni badacze, oceniając stężenie SOD w erytrocytach dorosłych z NTP, odnotowali obniżoną aktywność^(18,19), podwyższoną⁽¹⁰⁾ lub nieróżniącą się istotnie od aktywności u osób zdrowych. Zwiększona aktywność SOD interpretowana jest jako kompensacyjna odpowiedź na wzrost anionorodnika ponadtlenkowego. Jakkolwiek w wyniku działania SOD dochodzi do wzrostu nadtlenu wodoru, nie występuje wówczas wzrost nadtlenu azotynu, który jest silniejszym utleniaczem niż nadtlenek wodoru⁽¹⁰⁾. Ponadto nadtlenek wodoru działa nie tylko jako wolny rodnik tlenowy, ale także czynnik wazoaktywny. Wywołuje on hiperpolaryzację mięśni gładkich ścian naczyniowej przez otwieranie wapniowo zależnych kanałów potasowych i rozkurcz naczyń krwionośnych⁽²⁰⁾. Pozostaje niejasne, czy stres oksydacyjny w NTP jest następstwem zwiększonej generacji wolnych rodników tlenowych czy też upośledzonej sprawności mechanizmów antyoksydacyjnych. W badaniach własnych nie wykazaliśmy korelacji pomiędzy stężeniem MDA a aktywnością GSH-Px w erytrocytach, co przemawia przeciwko zużyciu tego enzymu w procesach wolnorodnikowych. Być może

udział w zmniejszonej aktywności GSH-Px ma zaburzenie regeneracji zredukowanego glutationu, który jest substratem dla peroksydazy glutationu.

Niewyjaśniony pozostaje związek pomiędzy zaburzeniami metabolizmu tlenowego a rozwojem NTP. Reaktywne formy tlenu mogą pierwotnie indukować powstanie nadciśnienia (między innymi ograniczenie biodostępności naczyniorozszerzającego tlenu azotu, pobudzenie wytwarzania endoteliny i proliferacji komórek mięśni gładkich ściany naczyniowej), ale ich wytwarzanie i działanie może być także wyrazem wtórnej dysfunkcji śródbłonna w przebiegu NT (stres mechaniczny, indukcja syntezy wolnych rodników tlenowych przez angiotensynę i oksydazę ksantynową).

Podsumowując, przeprowadzone badania wskazują na wzmożenie peroksydacji lipidów oraz zaburzenia w funkcjonowaniu enzymatycznego układu antyoksydacyjnego w erytrocytach dzieci z NTP.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

- Śladowska J., Niemirska A., Litwin M. i wsp.: Nadciśnienie tętnicze u dzieci i młodzieży. Część I. Zasady postępowania diagnostycznego. *Standardy Medyczne* 2005; 1: 1452-1461.
- National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents: The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004; 114 (supl. 4th Report): 555-576.
- Lurbe E., Rodicio J.L.: Hypertension in children and adolescents. *J. Hypertens.* 2004; 22: 1423-1425.
- Luma G.B., Spiotta R.T.: Hypertension in children and adolescents. *Am. Fam. Physician* 2006; 73: 1558-1568.
- Feld L.G., Springate J.E.: Hypertension in children. *Curr. Prob. Pediatr.* 1988; 18: 317-373.
- Arar M.Y., Hogg R.J., Arant B.S. Jr, Seikaly M.G.: Etiology of sustained hypertension in children in the southwestern United States. *Pediatr. Nephrol.* 1994; 8: 186-189.
- Flynn J.T., Alderman M.H.: Characteristics of children with primary hypertension seen at a referral center. *Pediatr. Nephrol.* 2005; 20: 961-966.
- Wyrzykowski B.: Nadciśnienie tętnicze pierwotne. W: Januszewicz A., Januszewicz W., Szczepańska-Sadowska E., Sznajderman M. (red.): *Nadciśnienie tętnicze*. Wyd. Medycyna Praktyczna, Kraków 2004: 365-371.
- Litwin M., Śladowska J., Antoniewicz J. i wsp.: Metabolic abnormalities, insulin resistance, and metabolic syndrome in children with primary hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2007; 20: 875-882.
- Rozwodowska M.M., Rozwodowska M., Świątkiewicz I. i wsp.: Ocena stężenia produktów peroksydacji lipidów i aktywności enzymów antyoksydacyjnych u pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. *Arterial Hypertension* 2005; 9: 178-183.
- Martynowicz H., Skoczyńska A., Silber M., Andrzejak R.: Rola stresu oksydacyjnego w patogenezie nadciśnienia tętniczego. *Arterial Hypertension* 2004; 8: 431-438.
- Paglia D.E., Valentine W.N.: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 1967; 70: 158-169.
- Misra H.P., Fridovich I.: The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 1972; 247: 3170-3175.
- Túri S., Friedman A., Bereczki C. i wsp.: Oxidative stress in juvenile essential hypertension. *J. Hypertens.* 2003; 21: 145-152.
- Śladowska J., Wierzbicka A., Litwin M. i wsp.: Stres oksydacyjny a uszkodzenie ściany naczyń u dzieci z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym. *Przegl. Lek.* 2006; 63 (supl. 3): 107-110.
- Konukoğlu D., Akçay T., Erdem T.: Susceptibility of erythrocyte lipids to oxidation and erythrocyte antioxidant status in myocardial infarction. *Clin. Biochem.* 1998; 31: 667-671.
- Lacy F., O'Connor D.T., Schmid-Schönbein G.W.: Plasma hydrogen peroxide production in hypertensives and normotensive subjects at genetic risk of hypertension. *J. Hypertens.* 1998; 16: 291-303.
- Russo C., Olivieri O., Girelli D. i wsp.: Anti-oxidant status and lipid peroxidation in patients with essential hypertension. *J. Hypertens.* 1998; 16: 1267-1271.
- Sagar S., Kallo I.J., Kaul N. i wsp.: Oxygen free radicals in essential hypertension. *Mol. Cell. Biochem.* 1992; 111: 103-108.
- Matoba T., Shimokawa H., Nakashima M. i wsp.: Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in mice. *J. Clin. Invest.* 2000; 106: 1521-1530.

Szanowni Prenumeratory!

Uprzejmie przypominamy, że zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dn. 6 października 2004 roku w sprawie sposobów dopełnienia obowiązku doskonalenia zawodowego lekarzy i lekarzy dentyistów prenumerata czasopisma „**PEDIATRIA I MEDYCINA RODZINNA**” – indeksowanego w Index Copernicus – umożliwi doliczenie 5 punktów edukacyjnych do ewidencji doskonalenia zawodowego. Podstawą weryfikacji jest dowód opłacenia prenumeraty lub zaświadczenie wydane przez Wydawcę.