

© Коллектив авторов, 2009

Л.И. Колесникова, В.В. Долгих, Ж.В. Прохорова, Л.А. Гребенкина,
Б.Я. Власов, В.П. Ильин

ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ «ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ–АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ» И ОБМЕНА КАЛЬЦИЯ У ДЕТЕЙ ПОДРОСТКОВОГО ВОЗРАСТА ПРИ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Учреждение РАМН Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека
Сибирского Отделения РАМН, г. Иркутск, РФ

В работе представлены результаты изучения процессов перекисного окисления (ПОЛ), антиоксидантной защиты (АОЗ) и содержания общего кальция в сыворотке крови при развитии эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) у подростков обоего пола 14–17 лет, проживающих в условиях крупного промышленного центра Восточной Сибири. Для оценки состояния системы ПОЛ–АОЗ в сыворотке крови были определены уровни концентрации промежуточных продуктов перекисаии липидов, общая антиокислительная активность сыворотки (АОА) и ее компоненты (витамины Е и А), а в гемолизате измерено содержание восстановленной (GSH) и окисленной форм глутатиона. У подростков обоих полов с ЭАГ отмечено снижение содержания сывороточного кальция, активация ПОЛ на разных стадиях этого процесса и значительное (более чем в 3 раза) увеличение концентрации витамина А; повышение содержания GSH показано у девочек с ЭАГ, а у мальчиков с ЭАГ выявлено снижение уровня АОА и токоферола. Таким образом, ЭАГ у подростков характеризуется дисбалансом системы ПОЛ–АОЗ со значительным повышением содержания ретинола, что сопровождается дефицитом кальция.

Ключевые слова: подростки, эссенциальная артериальная гипертензия, дисбаланс системы «перекисаии липидов–антиокислительной защиты», ретинол, кальций.

Authors studied processes of lipid peroxidation (LPO), of anti-oxidant defense (AOD) and total calcium level in serum in male and female adolescents with essential arterial hypertension (EAH) – residents of large industrial center in Eastern Siberia. Levels of lipid oxidation intermediate products, total anti-oxidative activity (AOA) and its components (vitamin A and E level) were determined in serum and concentration of reduced (GSH) and oxidative glutation forms were determined in hemolysate in order to estimate state of LPO–AOD system. Both male and female adolescents with EAH had decreased serum calcium, demonstrated LPO activation in different stages of this process and significantly increased serum concentration of vitamin A (more than in 3 times). Increased GSH occurred in female adolescents with EAH and decreased AOA and decreased serum Tocopherol – in male adolescents with EAH. So, adolescent EAH was characterized by imbalance of LPO–AOD system with increased Retinol and with accompanied calcium deficiency.

Key words: children, adolescents, essential arterial hypertension, imbalance of «lipid peroxidation–anti-oxidative» defense system, Retinol, calcium.

Вопросы этиопатогенеза, профилактики, прогнозирования и разработка эффективных методов лечения эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) занимают центральное место в детской кар-

диологии. Это обусловлено рядом причин, среди которых ведущую роль играет широкая распространенность ЭАГ, а также высокой вероятностью ее трансформации в ишемическую и гипертони-

Контактная информация:

Колесникова Любовь Ильинична – член.-корр. РАМН, проф., директор УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН
Адрес: 664003 г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16
Тел.: (3952) 20-76-36, 20-73-67, E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru
Статья поступила 31.08.09, принята к печати 20.01.10.

ческую болезни, являющиеся основной причиной инвалидизации и смертности взрослого населения [1]. Такая трансформация, по мнению ряда исследователей, обусловлена так называемым трекингом ЭАГ, т.е. сохранением повышенного уровня артериального давления (АД) в последующие периоды онтогенеза. Установлено, что в процессе развития подростка уровень АД остается повышенным у 33–42% детей, а у 17–26% приобретает прогрессирующее течение [2].

Современные взгляды на этиопатогенез ЭАГ весьма разноречивы, тем не менее общепризнано влияние на развитие ЭАГ гендерного фактора и нарушения баланса в системе перекисного окисления липидов (ПОЛ) – антиоксидантной защиты (АОЗ); последнее чаще всего вызывается активными формами кислорода (АФК) [3] и, вероятно, является типовым процессом свободнорадикального окисления (СРО), которое сопровождается или индуцирует возникновение многих патологических состояний.

Кроме того, литературные данные свидетельствуют о наличии связи кальция, как одного из наиболее гибких и универсальных вторых мессенджеров, с СРО и сосудистым тонусом. Установлено, что увеличение внутриклеточной концентрации кальция приводит к стимуляции АФК-образующих ферментов, включая ускорение образования АФК в митохондриях, а повышение уровня АФК со своей стороны может вызывать изменение содержания ионизированного кальция внутри клетки [4]. Показано, что кальциевый ток через каналы цитоплазматической мембраны гладкомышечных клеток эндотелия артерий обеспечивает функционирование актомиозиноподобных белков, что позволяет катиону кальция эффективно контролировать уровень АД [5].

Несмотря на то, что результаты изучения системы ПОЛ–АОЗ и обмена кальция при ЭАГ представлены в ряде работ, тем не менее в исследованиях не отражен системный подход, связывающий функционирование этих метаболических факторов при развитии ЭАГ в пубертатный период. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение особенностей состояния ПОЛ–АОЗ и обмена кальция при развитии ЭАГ у подростков 14–17 лет обоего пола, проживающих в условиях крупного промышленного центра Восточной Сибири.

Материалы и методы исследования

В основную группу исследования были включены 83 здоровых подростка 14–17 лет (47 девочек и 36 мальчиков) без соматической патологии, у которых АД не выходило за границы возрастных норм (контрольная группа), и 72 пациента (36 мальчиков и 36 девочек) такого же возраста с наличием у них лабильного повышения АД выше 95-го перцентиля при оценке по существующим нормативам для данного возраста, пола и роста [6].

Обследование здоровых и пациентов проводилось на базе клиники Научного центра (НЦ) и включало клинико-anamnestическое исследование, электрокардиографию (Fukudo Denshi Cardiomax FX-3010), эхокардиографию (Megac, Italy), суточное мониторирование АД (Oxford, UK), микроскопию мочевого осадка, исследование уровня креатинина и мочевины в сыворотке крови, УЗИ почек и надпочечников, доплерографию почечных артерий, МРТ надпочечников и гипофиза по показаниям. Получение информированного согласия на участие в проводимом исследовании являлось обязательной процедурой при включении подростка в одну из групп.

Интенсивность процессов ПОЛ и АОЗ оценивали по содержанию их отдельных компонентов в сыворотке крови и гемолизате, а также по определению величины общей антиокислительной активности (АОА). В сыворотке крови определяли уровень двойных связей (Дв. св.), диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), АОА, α -токоферола, ретинола, общего кальция; в гемолизате измеряли активность супероксиддисмутазы (СОД), концентрацию восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона. Определение этих показателей проводили с использованием комплекса аналитических процедур, применяемых в биохимической лаборатории НЦ [7]. Математический анализ полученных материалов проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.1 StatSoftInc, USA (правообладатель лицензии – НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН) и критерия для оценки статистически значимых различий, применяемых в медико-биологических исследованиях ($p < 0,05$).

Результаты

Как можно видеть из результатов, представленных в табл. 1, в группе девочек с ЭАГ из 10 исследуемых показателей только 5 статистически значимо отличались от аналогичных параметров контрольной группы. В этой клинической группе в сыворотке крови отмечалось снижение величин Дв. св. и ДК соответственно на 24,4% и 35,2% по сравнению с практически здоровыми девочками-подростками. У обследованных пациенток на фоне снижения первичных продуктов ПОЛ наблюдается повышение содержания МДА на 78,9% и увеличение концентрации ретинола в 1,71 раза по отношению к контрольной группе.

Содержание сывороточного кальция в основной группе девочек-подростков составляло $2,05 \pm 0,10$ ммоль/л, что на 7,2% было ниже, чем у здоровых детей ($2,21 \pm 0,21$ ммоль/л).

Из данных табл. 2 можно видеть, что в группе мальчиков-подростков количество показателей, статистически значимо отличающиеся от соответствующих показателей контрольной группы, превышает аналогичную величину у девочек и равняется 8. Среди показателей ПОЛ у этих больных по сравнению с группой здоровых детей отмеча-

Таблица 1

Показатели системы ПОЛ–АОЗ и содержание общего кальция в сыворотке крови у подростков-девочек с ЭАГ

Показатели	n	Контрольная группа (M±σ)	n	ЭАГ (M±σ)
Дв. св., усл. ед.	19	2,22±1,08	36	1,70±0,56*
ДК, мкмоль/л	47	1,72±0,91	20	1,28±0,55*
МДА, мкмоль/л	47	0,82±0,33	22	1,70±0,93*
Общая АОА, усл. ед.	36	14,9±6,0	19	12,72±5,50
Токоферол, мкмоль/л	36	8,26±3,82	19	7,70±2,79
Ретинол, мкмоль/л	19	0,72±0,43	36	1,95±0,37*
СОД, усл. ед.	31	1,60±0,44	14	1,61±1,35
GSH, мкмоль/л	34	2,48±0,39	14	2,23±0,86
GSSG, мкмоль/л	34	1,84±0,19	14	1,63±0,67
Общий Са, ммоль/л	45	2,21±0,21	31	2,05±0,10*

Здесь и в табл. 2: $p < 0,05$.

Таблица 2

Показатели системы ПОЛ–АОЗ и содержание общего кальция в сыворотке крови у подростков-мальчиков с ЭАГ

Показатели	n	Контрольная группа (M±σ)	n	ЭАГ (M±σ)
Дв. св., усл. ед.	19	2,94±1,03	35	1,47±0,64*
ДК, мкмоль/л	20	2,38±0,90	36	1,17±0,60*
МДА, мкмоль/л	20	0,82±0,55	22	1,41±0,51*
Общая АОА, усл. ед.	19	16,65±4,37	19	13,87±5,08*
Токоферол, мкмоль/л	36	8,26±3,82	19	6,41±3,11
Ретинол, мкмоль/л	19	0,55±0,14	36	2,28±0,56*
СОД, усл. ед.	19	1,69±0,12	30	1,57±0,17*
GSH, мкмоль/л	19	2,19±0,39	30	2,23±0,20
GSSG, мкмоль/л	19	1,94±0,23	30	1,57±0,17*
Общий Са, ммоль/л	36	2,23±0,21	31	2,07±0,10*

ется снижение величин Дв. св. (в 2 раза) и ДК (на 40,5%), а уровень МДА повышен на 72%.

Уровень большинства показателей подсистемы АОЗ в основной группе мальчиков снижен по сравнению с аналогичными величинами у здоровых мальчиков-подростков. Так, отмечается снижение концентрации общей АОА (на 16,7%), GSSG (на 10,8%); активность СОД уменьшается на 7,1%. Как и у больных девочек с ЭАГ, у подростков-мальчиков также выявляется, но в большей степени, превышение контрольных величин ретинола – в 4,1 раза.

Сыворотка крови мальчиков-подростков характеризуется, так же как и у девочек, сниженным содержанием общего кальция, которое составляет 92,8% от уровня этой величины в контрольной группе (2,07±0,11 против 2,23±0,15 ммоль/л).

Обсуждение

Рассмотрение первичного звена ПОЛ у подростков обоего пола с ЭАГ, который включает образование сопряженных Дв. св. (ДК), формально свидетельствует об отсутствии активации процесса

перекисидации липидов, так как эти величины не выше, а ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Однако, если в качестве точки отсчета принять показатель, отражающий интегральную ненасыщенность липидов (Дв. св.) [8], то отмечаемое нами уменьшение величины ДК на самом деле будет отражать более низкое изначальное содержание Дв. св. в образцах липидов, взятых для анализа. Другими словами, ЭАГ у подростков обоего пола характеризуется повышенной степенью окисленности липидов сыворотки крови, которая маскирует потенциальную активацию ПОЛ.

О реальной активации ПОЛ свидетельствуют наши результаты по измерению величин концентрации МДА у девочек и мальчиков с ЭАГ, которые составляют соответственно 178,9% и 172% от уровня этих значений в контрольной группе. Несмотря на то, что мы определили повышение только одного показателя ПОЛ, это является достаточным критерием для заключения об активации этого многоступенчатого свободнорадикального процесса [9], тем более что разнообразные продукты перекисидации липидов, в которые входит

МДА, обладают многосторонним повреждающим эффектом на многие биополимеры и клеточные структуры [10]. Кроме того, в аспекте изучаемой нами проблемы важно отметить, что образование МДА тесно связано с генерацией оксида азота, концентрация которого положительно коррелирует с активностью ангиотензинпревращающего фермента [11], являющегося одним из важнейших факторов регуляции АД.

Активация ПОЛ при ЭАГ у подростков приводит к дисбалансу системы ПОЛ–АОЗ, который наиболее выражен у мальчиков. Так, в основной группе отмечается снижение общей АОА сыворотки крови и активности СОД в гемолизате на фоне повышения концентрации в эритроцитах окисленной формы глутатиона при неизменном уровне GSH. Совокупность этих показателей и каждый из них однозначно свидетельствуют о том, что подсистема АОЗ не справляется с нейтрализацией интермедиатов ПОЛ, хотя степень дисбаланса, судя по отклонениям изучаемых параметров, находится в начальной стадии. Тем не менее, даже небольшое снижение активности СОД является важным сигналом о сдвиге метаболизма в сторону превалирования прооксидантных процессов, поскольку из-за высокого содержания фермента в эритроцитах его активность при воздействиях умеренной силы практически не изменяется [12].

Нарушение равновесия между про- и антиоксидантными процессами у мальчиков с ЭАГ подтверждается и снижением концентрации GSSG при неизменном уровне GSH, что приводит к снижению общего пула глутатиона, свидетельствующего о торможении его биосинтеза и об уменьшении вклада этого трипептида в антирадикальную защиту организма [3].

Отмеченная нами при активации ПОЛ стабилизация концентрации важнейшего низкомолекулярного антиоксиданта токоферола у больных подростками обоего пола при ЭАГ не представляется противоречивой и может рассматриваться как системная адаптивная реакция организма, заключающаяся в повышении энтеральной абсорбции витамина и его депонирования в печени и жировой ткани [13].

При определении концентрации другого низкомолекулярного антиоксиданта ретинола нами было показано, что содержание этого витамина у девочек и мальчиков с ЭАГ увеличено по сравнению с группой контроля соответственно в 2,7 и 4 раза. Несмотря на то, что ретинол считают равноправным участником антирадикальных реакций, активность этого антиоксиданта невысока; более того, для него характерно и прооксидантное действие, поскольку продукты окисления полиенов обычно легко вовлекаются в дальнейшее развитие свободнорадикальных процессов со снижением концентрации витамина [14]. Снижению содержания ретинола при окислительном стрес-

се может способствовать также подавление ферментативной конверсии β -каротина в витамин А вследствие ингибирования активности β -каротин-15,15'-диоксигеназы под влиянием продуктов ПОЛ [15]. Следует заметить, что даже в физиологических условиях коэффициент молярной конверсии β -каротина в витамин А составляет около 6.

Полученные нами результаты, свидетельствующие не о снижении, а о повышении концентрации ретинола у пациентов, позволяют предположить, что этот витамин и его гормональный гомолог ретиноевая кислота участвуют в этиопатогенезе ЭАГ у подростков по механизмам, которые включают, скорее всего, не антиоксидантные, а гормональные эффекты на геномном уровне. На такую возможность указывают результаты исследований, согласно которым ретиноевая кислота, связываясь с рецепторами гладкомышечных клеток сосудов, находящимися постоянно в ядре в режиме «stand by», активирует соответствующие области ДНК с образованием аденомедулина, индуцирующего гипертензивный эффект [16]. Заслуживает внимания и тот факт, что ретиноиды вызывают экспрессию гена ацил КоА-синтетазы [17], которая катализирует синтез арахидоновой кислоты из линолевой, что приводит к повышению в клетках важнейшего субстрата ПОЛ и источника биологически активных эйкозаноидов. Установлено также влияние ретиноидов на эффективность действия кальцитриола [18], контролирующего всасывание кальция в тонком кишечнике.

Исследование содержания кальция в сыворотке крови у подростков обоего пола с ЭАГ показало, что общая концентрация этого биоэлемента снижена по сравнению с контрольной группой на одинаковую величину – 7,2%. Само по себе снижение такого жестко гомеостатируемого показателя, как величина концентрации кальция в сыворотке крови, уже представляет существенный интерес, тем более что в основной группе подростков-мальчиков (для которых стабилизация повышенного АД имеет большую вероятность) отмечена отрицательная корреляционная связь средней силы между содержанием макроэлемента и ретинолом ($r=-0,50$; $p=0,007$). Кстати, для ретинола эта единственная статистически значимая корреляционная связь среди всех изученных компонентов системы ПОЛ–АОЗ.

Обнаруженная нами умеренная гипокальциемия у пациентов основной группы не сопровождается неврологическими и другими клиническими проявлениями; не отмечается также и удлинения интервала QT на ЭКГ по сравнению с этими показателями у здоровых подростков. Несмотря на то, что механизм возникновения гипокальциемии у обследованных подростков представляется неясным, можно предположить, что снижение содержания общего кальция в сыворотке крови происходит за счет торможения абсорбции макроэлемента

в тонком кишечнике, тем более что этот процесс тесно связан с упомянутым выше эффектом ретиноидов на кальцитриол. Кроме того, снижение концентрации кальция в сосудистом русле, в свете современных представлений [19], может привести к недостаточной активации эндотелиальной NO-синтазы и падению концентрации генерируемого ферментом оксида азота (+2), что скажется на балансе гипо- и гипертензивных факторов в пользу последних.

Заключение

Результаты проведенного исследования показали, что у всех обследованных подростков 14–17

лет, страдающих ЭАГ, отмечаются увеличение степени окисленности липидов сыворотки крови и активация ПОЛ. У подростков-мальчиков обнаружено снижение величины общей АОА в сыворотке, пула глутатиона и активности СОД в гемоллизате. На фоне повышения активности ПОЛ у подростков обоего пола и особенно у мальчиков выявлено значительное увеличение концентрации ретинола. ЭАГ у подростков основной группы характеризуется также сниженным содержанием общего кальция в сыворотке крови. Полученные результаты, очевидно, имеют непосредственное отношение к патогенезу АГ у детей и подростков и должны учитываться при их комплексном обследовании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов А.Г., Александров А.А., Кисляк О.А. и др. Диагностика, лечение и профилактика артериальной гипертензии у детей и подростков (методические рекомендации). Педиатрия. Приложение. 2003; 2.
2. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Леонтьева И.В., Бугун О.В. Эссенциальная артериальная гипертензия у детей и подростков: клинико-функциональные варианты. Иркутск: РИЭЛ, 2008.
3. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008.
4. Гордеева А.В., Звягильская Р.А., Лабас Ю.А. Взаимосвязь между активными формами кислорода и кальцием в живых клетках. Биохимия. 2003; 68 (10): 1318–1322.
5. Карпов Ю.А., Буза В.В. Антагонисты кальция и лечение артериальной гипертензии. Рос. мед. журнал. 2005; 13 (19): 1258–1261.
6. Автандилов А.Г. Рекомендации по диагностике, лечению и профилактике артериальной гипертензии у детей и подростков. 3-е изд. М.: Медицина, 2004.
7. Сутурина Л.В., Колесникова Л.И. Основные патогенетические механизмы и методы коррекции репродуктивных нарушений у больных с гипоталамическим синдромом. Новосибирск: Наука, 2001.
8. Васильева Е.М., Баканов М.И., Поддубная А.Е. и др. Перекисное окисление липидов при неврологической патологии у детей. Клин. лаб. диагностика. 2005; 2: 8–12.
9. Тихомолова Е.Г., Новицкий Г.К., Подлевский А.Ф. Перекисное окисление и состав липидов мембран эритроцитов при вирусных гепатитах А и В. Каз. мед. журнал. 1996; 6: 439–440.
10. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001.
11. Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Давыдов Б.В. и др. Взаимосвязь оксида азота с малоновым диальдегидом и ангиотензинпревращающим ферментом в норме и при ранении груди. Физиология человека. 2004; 30 (5): 97–103.
12. Герасимов А.М., Деленян Н.В., Шаов М.Т. Формирование системы противокислородной защиты организма. М.: ЦИТО, 1998.
13. Wen JC. The role of Vitamin E in the Treatment of Male Infertility. Nutrition Bytes. 2006; 11 (1): 1–6.
14. Зайцев В.Г., Островский О.В., Закревский В.И. Связь между химическим составом и мишенью действия как основа классификации антиоксидантов прямого действия. Эксп. и клин. фармакол. 2003; 66 (4): 66–70.
15. Гесслер Н.Н., Гомбоева С.Б., Шумаев и др. Свободнорадикальное окисление липидов подавляет ферментативную конверсию β-каротина в витамин А. Бюлл. эксп. биол. и мед. 2001; 131 (5): 532–535.
16. Никитенко Л.Л., Колесников С.И. Роль аденомедулина в биологии эндотелиальной клетки. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007.
17. Nagral S, Chandraratha RA. Vitamin A and regulation of gene expression. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metabol. Care. 1998; 1: 341–346.
18. Смирнов А.Н. Элементы эндокринной регуляции. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.
19. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Общая гормонология. Определение, значение, свойства и механизмы действия гормонов. Иркутск: ИГМУ, 2005.