

# Rola stresu oksydacyjnego w patogenezie nadciśnienia tętniczego

## The role of oxidative stress in the pathogenesis of arterial hypertension

### Summary

Free radicals, including superoxide anion, play an essential role in the pathogenesis of the diseases of cardiovascular system. NADPH oxidase, xantine oxidase, nitric oxide synthase and cyclooxygenase are main sources of the superoxide. Superoxide anion reduces availability of nitric oxide by converting it to peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>). Imbalance between free radicals and antioxidants leads to the endothelial dysfunction and hypertension. There is no data from prospective clinical trials that antioxidants have a hypotensive activity until now. Despite of this, introducing antioxidant rich diet and drugs with antioxidant activity in the hypertensive therapy seems to be beneficial.

**key words:** arterial hypertension, oxidative stress, superoxide anion, antioxidants

*Arterial Hypertension 2004, vol. 8, no 6, pages 431–438.*

### Podstawowe mechanizmy wytwarzania i działania toksycznych metabolitów tlenowych

Stale rośnie zainteresowanie rolą stresu oksydacyjnego w powstawaniu wielu chorób, a szczególnie chorób układu krążenia. Termin „stres oksydacyjny” oznacza stan, w którym komórki są narażone na działanie tlenu cząsteczkowego w wysokich stężeniach lub chemicznych pochodnych tlenu, tzw. reaktywnych form tlenu (ROS, *reactive oxygen species*).

Etiologia nadciśnienia tętniczego pozostaje nieznana w około 90% przypadków. W poszukiwaniu przyczyn nadciśnienia tętniczego coraz większą uwagę zwraca się na możliwość udziału reaktywnych form tlenu w patogenezie tej choroby.

W procesach fizjologicznego metabolizmu komórkowego w ścianie naczyń krwionośnych tlen ulega serii redukcji, z sekwencyjnym wytwarzaniem anionu ponadtlenkowego (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), nadtlenku wodoru (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) i wody. Jednym z najlepiej scharakteryzowanych źródeł ROS jest oksydaza NAD(P)H (*nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*). Enzym ten katalizuje powstawanie O<sub>2</sub><sup>-</sup> przez jednoelektronową redukcję tlenu z użyciem NADPH lub NADH i jest zdolny do wytwarzania bardzo dużych, cytotoksycznych ilości rodników tlenowych. Głównym źródłem ROS w naczyniach krwionośnych jest oksydaza NAD(P)H związana z białkami komórek śródbłonna, mięśni gładkich i fibroblastów. Oksydazę NADPH mogą aktywować angiotensyna II, trombina, czynnik martwicy nowotworu (TNF- $\alpha$ , *tumor necrosis factor*) lub stres mechaniczny. Innymi ważnymi źródłami ROS są oksydaza kasantynowa, syntaza tlenu azotu oraz cyklooksygenaza.

Reaktywne formy tlenu wykazują różnokierunkowe działanie w naczyniach krwionośnych. Jest to działanie cytotoksyczne, udział w komórkowych torach sygnalizacyjnych i procesach, takich jak wzrost i proliferacja komórek. Ponadto modyfikują syntezę i degradację elementów macierzy zewnątrzkomórkowej, są związane z utlenianiem lipoprotein o małej gęstości (LDL, *low density lipoprotein*) i oddziaływaniem na metabolizm tlenu azotu [1].

Mimo licznych badań doświadczalnych i klinicznych związków między stresem oksydacyjnym a rozwojem nadciśnienia tętniczego pozostaje niewyja-

Adres do korespondencji: prof. dr hab. Ryszard Andrzejak  
Klinika Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego  
ul. Pasteura 4, 50-367 Wrocław  
tel.: (071) 784-25-21, faks: (071) 784-09-54

 Copyright © 2004 Via Medica, ISSN 1428-5851

śniony. Jest prawdopodobne zarówno to, że ROS pierwotnie indukują powstanie naciśnienia, jak również to, że ich wytwarzanie i działanie to wyraz wtórnej dysfunkcji komórek śródbłonna w przebiegu naciśnienia tętniczego. Mechanizmy indukcji naciśnienia tętniczego przez wolne rodniki tlenowe są złożone i obejmują między innymi wpływ na opór obwodowy (ograniczenie biodostępności naczyniorozszerzającego tlenku azotu, naczyniokurczące działanie anionu nadtlenoazotowego, upośledzenie rozkurczu naczyniowego w wyniku peroksydacji lipidów błonowych, podwyższone stężenie naczyniokurczących  $F_2$ -izoprostanów, pobudzenie wytwarzania endoteliny i proliferacji mięśni gładkich ściany krwionośnych) oraz wpływ na wolemię przez zwiększenie resorpcji sodu w cewkach nerkowych. Z kolei wiele zmian naczyniowych obserwowanych u pacjentów z naciśnieniem tętniczym lub zwierząt doświadczalnych świadczy o wtórnej do podwyższonego ciśnienia tętniczego indukcji ROS przez między innymi angiotensynę II, oksydazę ksantynową i/lub stres mechaniczny.

Większość tlenu w organizmie ulega przemianom z wytworzeniem energii w postaci ATP (adenozynotrifosforanu), a niewielka jego część (ok. 5%) ulega redukcji, w wyniku czego powstają ROS. Anion ponadtlenkowy jest pierwszym produktem pośrednim w łańcuchu redukcji tlenu cząsteczkowego. W wyniku kolejnych redukcji powstaje  $H_2O_2$ , rodnik wodorotlenkowy i w ostatniej redukcji — woda. Anion ponadtlenkowy może być przekształcany nie tylko do  $H_2O_2$ , ale także wchodzić w reakcje z NO, w efekcie czego powstaje anion nadtlenoazotowy ( $ONOO^-$ ). Anion ponadtlenkowy ma prawdopodobnie zasadnicze znaczenie w patogenezie naciśnienia tętniczego, ponieważ przekształcając tlenek azotu (NO) do anionu nadtlenoazotowego, ogranicza biodostępność NO [2]. Anion nadtlenoazotowy może utleniać lipidy i nitrozylować białka błonowe, posiada również silne właściwości naczyniokurczące.

Nadtlenek wodoru powstaje w reakcji redukcji  $O_2^-$  zachodzącej z udziałem dysmutazy ponadtlenkowej (SOD, *super oxide dismutase*). Jego rola pozostaje dwuznaczna, ponieważ działa on nie tylko jako wolny rodnik tlenowy, ale także jako czynnik wazoaktywny w naczyniach krwionośnych. W 2000 roku Matoba i wsp. zidentyfikowali śródbłonkowy czynnik hiperpolaryzujący (EDHF, *endothelium-derived hyperpolarizing factor*) jako  $H_2O_2$  [3]. Wywołuje on hiperpolaryzację mięśni gładkich ściany naczyniowej przez otwieranie wapniowoależnych kanałów potasowych i rozkurcz naczyń krwionośnych. Nadtlenek wodoru jest rozkładany przez enzymy antyoksydacyjne — katalazę i peroksydazę glutationu z powstaniem odpowied-

nio wody lub utlenionej formy glutationu (GSSG) z jego formy zredukowanej (GSH).

W ścianie naczyń krwionośnych zachodzi także peroksydacja lipidów. Powstające tu rodniki lipidowe ( $L^\cdot$ ) w połączeniu z tlenem tworzą rodniki nadtlenkowe ( $LOO^\cdot$ ), a te z kolei, reagując z innymi lipidami, generują kolejne rodniki lipidowe oraz wodorotlenki lipidów ( $LOOH$ ). Błony komórkowe zawierające wodoronadtlenki lipidów stają się bardziej narażone na uszkodzenia, przepuszczalne dla jonów, sztywne i mniej sprawne czynnościowo [4].

## Badania doświadczalne na modelach zwierzęcych

Liczne badania doświadczalne prowadzone na modelach zwierzęcych wskazują na związek między zjawiskiem stresu oksydacyjnego a naciśnieniem tętniczym. W aortach szczurów z naciśnieniem uzyskanym przez infuzję angiotensyny II oraz w hodowli komórek mięśni gładkich szczura angiotensyna II stymuluje powstawanie  $O_2^-$  przez aktywację oksydoreduktazy NAD(P)H cytochromu P-450 (inaczej nazywanej oksydazą NAD(P)H [5, 6]. U szczurów z naciśnieniem tętniczym podobnego stopnia uzyskanym przez infuzję noradrenaliny nie stwierdzono tego rodzaju zmian, co sugeruje specyficzność działania angiotensyny II [7]. W aortach szczurów z naciśnieniem indukowanym przez angiotensynę stwierdzono ponadto wzmożoną ekspresję mRNA genu *p22phox* kodującego oksydazę NAD(P)H [8]. Można przypuszczać, że w patogenezie naciśnienia wywołanego przez angiotensynę II istotne znaczenie ma aktywacja NADPH oksydazy.

Ważnym źródłem ROS stymulowanym przez angiotensynę II jest również przydanka naczyniowa, która regulując napięcie ściany naczyniowej, może również uczestniczyć w rozwoju naciśnienia tętniczego [9]. Czynnikiem pobudzającym powstawanie  $O_2^-$  jest nie tylko angiotensyna II, ale również stres mechaniczny. W badaniach *in vitro*, w wyniku działania na komórki śródbłonna mechanicznego stresu (uzyskanego przez pulsacyjne rozciąganie podłoża pokrytego kolagenem typu I), dochodzi do pobudzenia NAD(P)H oksydazy, podwyższenia stężenia  $O_2^-$  oraz aktywności syntazy śródbłonkowej tlenku azotu (NOS III) i następnie tlenku azotu. Wzrost aktywności NOS III przy działaniu długotrwałego stresu mechanicznego stanowi prawdopodobnie mechanizm obronny przed działaniem  $O_2^-$  [10].

Ważnym źródłem ROS jest również oksydaza ksantynowa. Podanie inhibitora oksydazy ksantynowej (oksyipurinolu) szczurom z samoistnym naciś-

nieniem tętniczym powoduje obniżenie się wartości ciśnienia tętniczego [11]. Enzym ten przez uwalnianie  $O_2^{\cdot-}$  może uczestniczyć w regulacji aktywności tlenu azotu [12]. Zmiana biodostępności NO spowodowana stresem oksydacyjnym wydaje się mieć szczególne znaczenie w rozwoju nadciśnienia tętniczego. Dzięki użyciu porfiryńczonego mikrosensora w aortach szczurów z nadciśnieniem tętniczym stwierdzono zmniejszoną dostępność tlenu azotu w wyniku działania  $O_2^{\cdot-}$  [13]. Z kolei Tschudi i wsp. stwierdzili prawidłowe wydzielanie NO i jego zwiększoną degradację przez  $O_2^{\cdot-}$  w naczyniach kręgowych szczurów z nadciśnieniem tętniczym [14].

Biodostępność NO jest ograniczona nie tylko przez reakcję z  $O_2^{\cdot-}$ , ale również przez ograniczenie jego syntezy. Naturalnym kofaktorem śródbłonkowej syntazy NO jest tetrahydrobiopteryna. W naczyniach szczurów z nadciśnieniem tętniczym tetrahydrobiopteryna jest utleniona i nie spełnia roli kofaktora syntazy tlenu azotu. Pozbawiona kofaktora syntaza jest źródłem ROS i wytwarza NO w zmniejszonej ilości. Suplementacja tetrahydrobiopteryny u szczurów z nadciśnieniem tętniczym zapobiega dysfunkcji syntazy NO i obniża wartości ciśnienia tętniczego [15]. Wytwarzanie  $O_2^{\cdot-}$  przez NOS jest hamowane przez inhibitor syntazy tlenu azotu — L-NAME [16]. Syntaza NO jest więc źródłem nie tylko naczyniorozszerzającego NO, ale również naczyniokurczącego  $O_2^{\cdot-}$ , ograniczającego dostępność NO. Zasadnicze znaczenie w patogenezie nadciśnienia tętniczego może mieć równowaga między NO a  $O_2^{\cdot-}$  warunkująca właściwe napięcie ściany naczyniowej, proliferację mięśni gładkich oraz aktywność prozakrzepową i prozapalną ściany naczyń krwionośnych. Reaktywne formy tlenu są odpowiedzialne nie tylko za ograniczenie biodostępności rozszerzającego NO, ale również za wytwarzanie nadtlenu azotynu ( $ONOO^-$ ) działającego naczyniokurcząco i prozakrzepowo. Nadtlenek azotynu może reagować z białkami i lipidami, wytwarzając  $F_2$ -izoprostany, S-nitrozotiole i nitrotyrozynę [17]. Szczególnie ważną funkcję w regulacji ciśnienia tętniczego odgrywają  $F_2$ -izoprostany, wywołując skurcz naczyń krwionośnych, zwiększając resorpcję sodu w cewkach nerkowych, pobudzając wytwarzanie endoteliny i proliferację mięśni gładkich ściany krwionośnych oraz działając prozakrzepowo [18].

Rola amin katecholowych w rozwoju stresu oksydacyjnego w nadciśnieniu tętniczym nie jest jednoznaczna. W wyniku podania szczurom noradrenaliny w dawkach presyjnych obserwowano wzrost stężenia prostaglandyny  $F_{2\alpha}$  (8-epi-PGF $_{2\alpha}$ ) w osoczu, będącej wskaźnikiem stresu oksydacyjnego. Podobny wzrost obserwowano po podaniu angiotensyny II,

przy czym wzrost ten dotyczył zarówno dawek podwyższających ciśnienie tętnicze, jak i dawek niedziałających presyjnie. Wyniki badania sugerują, że rozwój stresu oksydacyjnego po podaniu noradrenaliny zależy od zmian hemodynamicznych, angiotensyna natomiast indukuje stres oksydacyjny niezależnie od podanej dawki [19].

Anion ponadtlenkowy oraz inne reaktywne formy tlenu mogą wpływać na reaktywność ściany naczyń w sposób niezależny od NO. Reaktywne formy tlenu mogą oddziaływać na wychwyt jonów wapnia przez siateczkę sarkoplazmatyczną i podwyższać stężenie wewnątrzkomórkowego wapnia w mięśniówce gładkiej. Reaktywne formy tlenu mogą reagować także z kwasami tłuszczowymi typu omega w błonach komórkowych, powodując wzrost syntezy izoprostanów. Związki te są wykrywane we krwi osób z hipercholesterolemią, cukrzycą, u palaczy tytoniu, czyli w sytuacjach, w których stres oksydacyjny jest nasilony [20]. Utlenione kwasy tłuszczowe oddziałują na receptory prostaglandyny H/tromboksanu, zwiększają skurcz naczyń.

Endotelina (ET-1), odkryta w 1988 roku, jest jednym z najsilniejszych czynników kurczących naczynia [21]. Endotelina również może zwiększać wytwarzanie  $O_2^{\cdot-}$ . Do wzrostu ilości anionu nie dochodzi przy zastosowaniu antagonisty receptora ET(A) oraz apocyniny (inhibitor oksydazy NAD(P)H) [22]. Endotelina działa synergicznie z *ox*-LDL (*oxidized low density lipoprotein*) i *mox*-LDL (*mildly oxidized LDL*) indukując proliferację mięśni gładkich naczyń krwionośnych [23]. Reaktywne formy tlenu, działając jako wtórne przekaźniki, mogą ponadto aktywować receptory endoteliny przez aktywację kinazy białkowej aktywowanej przez mitogen p38 [24]. Reaktywne formy tlenu podwyższają również aktywność promotora prepro-ET-1 i syntezę mRNA ET-1 w komórkach śródbłonka naczyniowego i komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych [25].

## Wyniki badań funkcji śródbłonka u osób z nadciśnieniem tętniczym

Przeprowadzono liczne badania funkcji śródbłonka naczyniowego w przebiegu stresu oksydacyjnego u osób z nadciśnieniem tętniczym. Wobec sprzecznych doniesień na temat stężenia NO w przebiegu stresu oksydacyjnego w badaniach doświadczalnych charakter dysfunkcji śródbłonka naczyniowego (pierwotny, czy wtórny) pozostaje niejasny. Prawdopodobne jest, że na pierwotne zmiany funkcji śródbłonka w nadciśnieniu tętniczym (np. upośledzenie biodostępności NO w wyniku reakcji z  $O_2^{\cdot-}$ ) nakła-

dają się zmiany wtórne, będące wyrazem reakcji obronnej przed podwyższonym ciśnieniem tętniczym (aktywacja NOS i wzrost stężenia NO). Angiotensyna II upośledza zależną od śródbłonka wazodylatację przez wzrost wydzielania  $O_2^{\cdot-}$  w naczyniach przedramienia u ludzi, przy czym zastosowanie witaminy C poprawia rozkurcz naczyniowy, co potwierdza znaczenie wolnych rodników w skurczu naczyniowym [26]. Z kolei stosowanie inhibitora konwertazy angiotensyny (zefenoprilu) u pacjentów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym powoduje obniżenie stężenia izoprostanów w osoczu, co świadczy o ograniczeniu stresu oksydacyjnego [27].

Zaburzenia funkcji śródbłonka u potomstwa pacjentów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym sugerują raczej ich pierwotny charakter [28]. Z kolei podwyższoną aktywność NOS towarzyszącą samoistnemu nadciśnieniu uważa się za mechanizm kompensacyjny w odniesieniu do podwyższonego ciśnienia tętniczego [29]. Jednak fakt upośledzenia bioaktywności NO u osób zdrowych wywołany krótkotrwałym wzrostem ciśnienia tętniczego spowodowany podaniem norepinefryny wskazuje na możliwość wtórnego upośledzenia funkcji śródbłonka w nadciśnieniu tętniczym [30]. Usunięcie przyczyny wtórnego nadciśnienia tętniczego powoduje nie tylko normalizację ciśnienia, ale również likwiduje istniejące uprzednio zaburzenia funkcji śródbłonka [31]. Stwierdzono również, że terapia nadciśnienia  $\beta$ -adrenolitykami i lekami moczopędnymi u osób z długotrwałym nadciśnieniem nie wpływa na funkcję śródbłonka mimo obniżenia ciśnienia tętniczego [32]. Chociaż charakter uszkodzenia śródbłonka u osób z nadciśnieniem nie jest wyjaśniony, stwierdzenie jego dysfunkcji u pacjentów z nadciśnieniem może mieć duże znaczenie prognostyczne. W pracy oceniającej dysfunkcję śródbłonka u osób z nadciśnieniem przez badanie przepływu krwi w przedramieniu i ciśnienia tętniczego podczas infuzji acetylocholino, soli fizjologicznej i nitroprusydku sodu stwierdzono znacząco statystycznie więcej tzw. punktów końcowych (zawały serca, udary mózgu, dławica piersiowa, przemijające napady niedokrwienne, procedury rewaskularyzacji wieńcowej) u osób z obniżoną odpowiedzią na czynniki presyjne w porównaniu z osobami z prawidłową reaktywnością naczyń [33]. W naczyniach pacjentów z rozpoznaniem samoistnym nadciśnieniem tętniczym ważną rolę może odgrywać nowy stan równowagi pomiędzy NO a ET-1, wpływający na reaktywność ściany naczyniowej, proliferację mięśni gładkich i krzepliwość krwi [34].

Zachwianie równowagi między stężeniem czynników utleniających a układem antyoksydacyjnym

prowadzi do wzrostu stężenia anionu ponadtlenkowego ( $ONOO^-$ ), potencjalnego oksydanta i sprawcę uszkodzenia ściany naczyniowej [35]. Zjawisko stresu oksydacyjnego i uszkodzenia śródbłonka naczyniowego stanowią więc najprawdopodobniej mechanizmy ściśle ze sobą związane i prowadzące do rozwoju nadciśnienia tętniczego.

## Mechanizmy obrony antyoksydacyjnej

Za redukcję  $O_2^{\cdot-}$  są odpowiedzialne systemy enzymatyczne oraz nieenzymatyczne drobnocząsteczkowe antyoksydanty. Do enzymów obronnych należy rodzina dysmutaz (SOD), obecnych w m.in. w cytozolu i jądrze komórek, które katalizują reakcję  $O_2^{\cdot-}$  do  $H_2O_2$ . Jak dotąd zidentyfikowano 3 dysmutazy: Cu/Zn SOD (SOD1), Mn SOD (SOD2) i zewnątrzkomórkową SOD (EC-SOD-SOD3). Dysmutaza SOD 1 znajduje się w cytozolu i jądrach komórek, SOD 2 w mitochondriach, a SOD 3, produkowana przez fibroblasty i komórki glejowe, wydzielana jest do przestrzeni pozakomórkowej. W naczyniach szczurów z nadciśnieniem stwierdzono obniżenie aktywności enzymów SOD [36]. Obniżenie zawartości SOD w stwierdzono również w erytrocytach ludzi z nadciśnieniem tętniczym [37]. Opisano polimorfizm genetyczny związany z rozwojem chorób układu sercowo-naczyniowego i układem *redox*. Jest to polimorfizm genu *p22phox* kodującego oksydazę cytochromową. Stwierdzono zwiększoną zapalność na choroby układu sercowo-naczyniowego u osób z jednym z wariantów tego genu (z allelem T) w porównaniu z grupą kontrolną [38]. Stwierdzono również związek między wartościami ciśnienia a polimorfizmem regionu promotorowego katalazy [39]. Nadmierna ekspresja genu katalazy sprzyja hamowaniu proliferacji komórek mięśni gładkich i jednocześnie sprzyja ich apoptozie, prawdopodobnie przez mechanizm związany z COX-2 (izoforną cyklooksygenazy). Na tej podstawie przypuszcza się, że  $H_2O_2$  pełni znaczącą rolę jako czynnik modulujący proliferację i apoptozę komórek mięśni gładkich w naczyniach krwionośnych [40].

## Badania kliniczne i epidemiologiczne z zastosowaniem antyoksydantów

Liczne badania doświadczalne prowadzone na modelach zwierzęcych, jak również badania kliniczne z udziałem pacjentów z nadciśnieniem tętniczym wskazują na ochronne działanie antyoksydantów. Do znanych antyoksydantów, oprócz witamin C i E,

należą beta-karoten, ubiquinon, glutation oraz tauryna, flawonoidy, likopen i fitoestrogeny.

Witamina C oraz tauryna normalizują stężenie ET-1 oraz NO u palaczy tytoniu [41]. Witaminy C oraz E hamują wzrost komórek mięśni gładkich i sprzyjają reendotelizacji w hodowlach komórkowych oraz hamują rozplem komórek mięśni gładkich i zapobiegają destrukcji komórek śródbłonka wywołanej przez *ox*-LDL. Potwierdza to ochronną rolę tych antyoksydantów przed miażdżycą [42]. Witaminy C i E normalizują także aktywność śródbłonkowej syntazy tlenu azotu oraz NADPH oksydazy będących głównymi źródłami  $O_2^{\cdot-}$  w komórkach śródbłonka. Witamina C sprzyja syntezie tlenu azotu przez zapobieganie utlenianiu tetrahydrobiopteryny, kofaktora NOS [43]. Witamina E zmniejsza oksydację cholesterolu frakcji LDL i tym samym działa jako inhibitor procesu aterosogenezy [44]. Podawanie antyoksydantów: cynku w dawce 200 mg, 500 mg witaminy C, 600 j.m. witaminy E i 30 mg  $\beta$ -karotenu przez 8 tygodni obniża wartości ciśnienia tętniczego zarówno u pacjentów z nadciśnieniem, jak i u osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym [45].

Podawanie tauryny w stężeniu 2% w wodzie do picia szczurom z eksperymentalną cukrzycą zapobiega wzrostowi ciśnienia tętniczego i zmniejsza hiperinsulinemię [46]. Tauryna działa również kardioprotekcyjnie, zmniejszając przerost mięśnia sercowego u szczurów karmionych dietą z dużą zawartością chloru sodu [47]. Suplementacja tauryny w dawce 6 g/d. przez 7 dni powoduje obniżenie wartości ciśnienia tętniczego u pacjentów z samoistnym nadciśnieniem. Hipotensyjne działanie tauryny, badane na modelach zwierzęcych oraz u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, wynika prawdopodobnie z jej hamującego wpływu na hiperaktywny układ sympatyczny [48].

Mimo że flawonoidy są znane ze swojego działania antyoksydacyjnego, nie stwierdzono istotnych zmian wartości ciśnienia tętniczego u pacjentów regularnie pijących zieloną lub czarną herbatę (w ilości czterech filiżanek dziennie) [49]. U osób pijących więcej niż 5 filiżanek zielonej herbaty dziennie stwierdzono jednak mniejszą zachorowalność na udar mózgu trakcie 4-letniej obserwacji [50]. Jest prawdopodobne, że działanie zielonej herbaty jest zależne od dawki flawonoidów i jej ochronne działanie obserwuje się u pacjentów pijących powyżej 5 filiżanek dziennie. Fitoestrogeny są również znanymi antyoksydantami. Główny fitoestrogen obecny w ziarnie soi — daidzeina — oraz genisteina i resweratrol zmniejszają uszkodzenie nici DNA u szczurów z samoistnym nadciśnieniem oraz zwiększają wewnątrzkomórkowe stężenie zredukowanego glutationu [51].

Obniżenie wytwarzania  $O_2^{\cdot-}$ , wzrost uwalniania NO z płytek krwi i tym samym efekt antyagregacyjny, można uzyskać dzięki stosowaniu inkubacji hodowli komórkowych płytek krwi z flawonoidami uzyskanymi z soku z czerwonych winogron. Potwierdza to ich funkcję miażdżycochronną, znaną do tej pory z badań nad działaniem czerwonego wina [52].

Mimo że liczne badania doświadczalne wskazują na chroniące przed miażdżycą i hipotensyjne działanie antyoksydantów, wyniki prospektywnych badań klinicznych nie potwierdziły jednoznacznie skuteczności stosowania antyoksydantów w prewencji pierwotnej i wtórnej [badania CHAOS (*Cambridge Heart Antioxidant Study*), HOPE (*The Heart Outcomes Prevention Evaluation*), GISSI-Prevenzione (*Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico*), SPACE (*the Secondary Prevention with Antioxidants of Cardiovascular Disease in End Stage Renal Disease*), HPS (*The Heart Protection Study*)]. W badaniu PPP (*Collaborative Group of the Primary Prevention Project PPP*) nie stwierdzono hipotensyjnego działania witaminy E w dawce 300 mg dziennie u pacjentów leczonych z powodu samoistnego nadciśnienia tętniczego [53]. Również badanie HOPE (*The Heart Outcomes Prevention Evaluation*) nie potwierdziło ochronnego działania witaminy E w dawce 400 j.m. dziennie u pacjentów z miażdżycą lub cukrzycą i co najmniej jednym z czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca [54]. Nie obserwowano różnicy w wartościach ciśnienia tętniczego u pacjentów z wysokim ryzykiem udaru i raka żołądka, u których stosowano suplementację witaminy C w dawce 500 mg dziennie przez 5 lat [55]. Badaniem CHAOS, spełniającym kryteria randomizowanej podwójnie ślepej próby, objęto ponad 2000 pacjentów z udowodnionymi angiograficznie zmianami arteriosklerotycznymi w tętnicach wieńcowych. Stosowanie witaminy E (w dawce 400–800 j.m.) obniżało współczynnik ryzyka śmierci z przyczyn sercowo-naczyniowych i zawału serca niepowikłanego zgonem. Jednak nie stwierdzono istotnych różnic w zaawansowaniu zmian miażdżycowych między grupami przyjmującymi witaminę i placebo oraz nie osiągnięto w badaniu CHAOS statystycznej istotnie zależności między przyjmowaniem witaminy E a zgonem z przyczyn sercowo-naczyniowych, a nawet zaobserwowano odwrotną korelację [56]. Z kolei w innym randomizowanym, powójnie ślepym badaniu obserwowano obniżenie ciśnienia u pacjentów leczonych witaminą C [57]. Także badanie GISSI (z witaminą E stosowaną w dawce 300 mg/d.) sugeruje brak wpływu stosowania witaminy E na ryzyko wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych [58]. W grupie pacjentów hemodializowanych, a więc szcze-

gólnie narażonych na działanie stresu oksydacyjnego, podawanie witaminy E w wysokiej dawce 800 j.m., zmniejszyło ryzyko wystąpienia zawału serca, ale nie wpłynęło na ryzyko zgonu [59]. Również badanie HPS nie potwierdziło korzyści ze stosowania antyoksydantów (witaminy E w dawce 600 mg/d., witaminy C 250 mg/d. oraz betakarotenu 20 mg/d.) u pacjentów z rozpoznaną chorobą niedokrwienną lub cukrzycą [60].

Obserwuje się zatem znaczące rozbieżności w wynikach badań doświadczalnych i epidemiologicznych, potwierdzających korzystne działanie antyoksydantów, oraz badań interwencyjnych, które z kolei nie potwierdziły korzyści płynących z ich stosowania. Rozbieżności te mogą wynikać z braku kryteriów biochemicznych pozwalających na włączenie pacjentów do badania, braku zróżnicowania dawki antyoksydantów oraz interakcji z innymi lekami (np. statynami). Prawdopodobnie pacjenci z niedoborem antyoksydantów odnoszą znacznie większą korzyść z ich suplementacji od pacjentów z ich prawidłowym stężeniem. Właściwe więc byłoby oznaczenie u pacjentów przed rozpoczęciem badania wskaźników stresu oksydacyjnego, na przykład stężenia izoprostanów w moczu, i w zależności od wyniku zróżnicowanie dawki antyoksydantu.

## Leki i aktywność antyoksydacyjna

Aktywność antyoksydacyjną wykazują między innymi następujące leki: inhibitory konwertazy angiotensyny, karwedilol, spironolakton, antagoniści wapnia oraz statyny. Lekarnidypina oraz lacidipina zastosowane u pacjentów z samoistnym nadciśnieniem zapobiegają hiperpolaryzacji i zwiększają biodostępność tlenu azotu, powodując rozkurcz naczyń krwionośnych [61, 62]. Zefenoprilat (inhibitor konwertazy angiotensyny zawierający grupy sulfhydrylowe) zmniejsza wytwarzanie  $O_2^-$  i ilość wolnych rodników tlenowych [63]. Spironolakton zmniejsza aktywność NAD(P)H oksydazy i tym samym ogranicza wytwarzanie  $O_2^-$  [64]. Kwas acetylosalicylowy podawany szczurom w dawce 100 mg/kg/d. zmniejsza aktywność NAD(P)H oksydazy i obniża wytwarzanie  $O_2^-$  [65]. W badaniu ELSA (*European Lacidipine Study on Atherosclerosis*) stwierdzono zmniejszenie rozwoju blaszki miażdżycowej i mniejszą częstość incydentów sercowo-naczyniowych u pacjentów leczonych lacidypiną, co jest konsekwencją także jej działania antyoksydacyjnego [66]. Simwastatyna zmniejsza wytwarzanie ROS u szczurów z nadciśnieniem indukowanym przez angiotensynę II, przez co zapobiega rozwojowi nadciśnienia tętniczego i przerostowi mięśni

gładkich naczyń krwionośnych [67]. Wiele z dotychczas stosowanych leków wykazuje zatem działanie antyoksydacyjne.

## Podsumowanie

Mimo licznych badań doświadczalnych wskazujących na korzyści płynące ze stosowania antyoksydantów u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, nie ma obecnie przekonujących dowodów (prospektywnych badań klinicznych), które potwierdziłyby hipotensyjne oddziaływanie antyoksydantów. Mimo to stosowanie diety z dużą zawartością antyoksydantów i w razie potrzeby wybór leków wykazujących aktywność antyoksydacyjną wydają się właściwe u pacjentów charakteryzujących się wysokim ryzykiem chorób układu krążenia. Dotyczy to nie tylko tych stanów, w których rola wolnych rodników jest znana od dawna (np. cukrzyca czy palenie tytoniu), ale także nadciśnienia tętniczego, którego związek ze stresem oksydacyjnym wydaje się bezsporny.

## Streszczenie

Wolne rodniki tlenowe, w tym głównie anion ponadtlenkowy, odgrywają istotną rolę w patogenezie chorób układu krążenia. Głównymi źródłami anionu ponadtlenkowego w ścianie naczyń krwionośnych są: oksydaza aktywowana przez NADPH, oksydaza ksantynowa, syntaza tlenu azotu i cyklooksygenaza. Anion ponadtlenkowy ogranicza biodostępność tlenu azotu, przekształcając go do anionu nadtlenoazotynowego (ONOO<sup>-</sup>). Zachwianie równowagi między stężeniem czynników utleniających a układem antyoksydacyjnym prowadzi do uszkodzenia śródbłonna i sprzyja rozwojowi nadciśnienia tętniczego. Jak dotąd nie ma danych w postaci prospektywnych badań klinicznych wskazujących na hipotensyjne działanie antyoksydantów. Mimo to zalecenie stosowania diety bogatej w antyoksydanty oraz wybór leków o działaniu antyoksydacyjnym w farmakoterapii nadciśnienia tętniczego wydają się uzasadnione.

**słowa kluczowe:** nadciśnienie tętnicze, stres oksydacyjny, anion ponadtlenkowy, antyoksydanty  
*Nadciśnienie Tętnicze 2004, tom 8, nr 6, strony 431–438.*

## Piśmiennictwo

1. Harrison D.G., Griending K.K. Oxidative stress and hypertension. *Hypertension Primer Third Edition: The essential of high blood pressure* AHTA, Ruth Weinberg 2003; 185–189.

2. Rubanyi G.M., Vanhoutte P.M. Superoxide anions and hypoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am. J. Physiol.* 1986; 250: 822–827.
3. 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.
4. Karasek M., Lewiński A., Reiter R.J. Melatonina: znaczenie kliniczne i zastosowanie terapeutyczne. *Endokrynologia Polska* 2001; 52: 81–100.
5. Griendling K.K., Minieri D., Ollerenshaw D., Alexander R.W. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cell. *Circ. Res.* 1994; 74: 1141–1148.
6. Rajagopalan S., Kurz S., Munzel T. i wsp. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increased vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation, contribution to alternation of vasomotor tone. *J. Clin. Invest.* 1996; 97: 1916–1923.
7. Laursen J.B., Rajagopalan S., Galis Z., Tarpey M., Freeman B.A., Harrison D.G. Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension. *Circulation* 1997; 95: 588–593.
8. Fukui T., Ishizaka N., Rajagopalan S. i wsp. P22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. *Circ. Res.* 1997; 80: 45–51.
9. Di Wang H., Hope S., Du Y., Quinn M.T., Cayatte A., Pagano P.J., Cohen R.A. Paracrine role of adventitial superoxide anion in mediating spontaneous tone of the isolated rat aorta in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 1225–1232.
10. Hishikawa K., Luscher T.F. Pulsatile stretch stimulates superoxide production in human aortic endothelial cells. *Circulation* 1997; 96: 3610–3616.
11. Nakazono K., Watanabe N., Matsuno K., Sasaki J., Sato T., Inoue M. Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991; 88: 10045–10048.
12. Adachi T., Fukushima T., Usami Y., Hirano K. Binding of human xanthine oxidase to sulphated glycosaminoglycans on the endothelial-cell surface. *Biochem. J.* 1993; 289: 523–527.
13. Grunfeld S., Hamilton C.A., Mesaros S. i wsp. Role of superoxide in the depressed nitric oxide production by the endothelium of genetically hypertensive rats. *Hypertension* 1995; 26: 854–857.
14. Tschudi M.R., Mesaros S., Luscher T.F., Malinski T. Direct in situ measurement of nitric oxide in mesenteric resistance arteries. Increased decomposition by superoxide in hypertension. *Hypertension* 1996; 27: 32–35.
15. Landmesser U., Dikalov S., Price S.R., McCann L., Fukui T., Holland S.M. Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. *J. Clin. Invest.* 2003; 111: 1201–1209.
16. Pou S., Pou W.S., Bredt D.S., Snyder S.H., Rosen G.M. Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase. *J. Biol. Chem.* 1992; 267: 24173–24176.
17. Pryor W.A., Squadrito G.L. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am. J. Physiol.* 1995; 268: 699–722.
18. Morrow J.D., Roberts L.J. The isoprostanes: unique bioactive products of lipid peroxidation. *Prog. Lipid Res.* 1997; 36: 1–21.
19. Aizawa T., Ishizaka N., Usui S., Ohashi N., Ohno M., Nagai R. Angiotensin II and catecholamines increase plasma levels of 8-epi-prostaglandin F (2alpha) with different pressor dependencies in rats. *Hypertension* 2002; 39: 149–154.
20. Mika P., Gross I., Koza M. i wsp. The role of iso-prostanates and oxidative stress in the pathology of respiratory system. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2002; 109: 299–303.
21. Benigni A., Remuzzi G. Endothelin antagonists. *Lancet* 1999; 353: 133–138.
22. Li L., Fink G.D., Watts S.W. i wsp. Endothelin-1 increases vascular superoxide via endothelin(A)-NADPH oxidase pathway in low-renin hypertension. *Circulation* 2003; 107: 1053–1058.
23. Watanabe T., Pakala R., Katagiri T., Benedict C.R. Lysophosphatidylcholine is a major contributor to the synergistic effect of mildly oxidized low-density lipoprotein with endothelin-1 on vascular smooth muscle cell proliferation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2002; 39: 4449–4459.
24. Sand C., Peters S.L., Pfaffendorf M., Van Zwieten P.A. The influence of endogenously generated reactive oxygen species on the inotropic and chronotropic effects of adrenoceptor and ET-receptor stimulation. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 2003; 367: 635–639.
25. Kaehler J., Sill B., Koester R. i wsp. Endothelin-1 mRNA and protein in vascular wall cells is increased by reactive oxygen species. *Clin. Sci. (Lond)*, 2002; 103: 176–178.
26. Hirooka Y., Eshima K., Setoguchi S., Kishi T., Egashira K., Takeshita A. Vitamin C improves attenuated angiotensin II-induced endothelium-dependent vasodilation in human forearm vessels. *Hypertens. Res.* 2003; 26: 953–959.
27. Napoli C., Sica V., de Nigris F. i wsp. Sulfhydryl angiotensin-converting enzyme inhibition induces sustained reduction of systemic oxidative stress and improves the nitric oxide pathway in patients with essential hypertension. *Am. Heart J.* 2004; 148: 172.
28. Taddei S., Virdis A., Mattei P., Arzilli F., Salvetti A. Endothelium-dependent forearm vasodilation is reduced in normotensive subjects with familial history of hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1992; 20: 193–195.
29. Nava E., Noll G., Luscher T.F. Increased activity of constitutive nitric oxide synthase in cardiac endothelium in spontaneous hypertension. *Circulation* 1995; 91: 2310–2313.
30. Millgard J., Lind L. Acute hypertension impairs endothelium-dependent vasodilation. *Clin. Sci.* 1998; 94: 601–607.
31. Taddei S., Virdis A., Mattei P., Salvetti A. Vasodilation to acetylcholine in primary and secondary forms of human hypertension. *Hypertension* 1993; 21: 929–933.
32. Panza J.A., Quyyumi A.A., Callahan T.S., Epstein S.E. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1993; 21: 1145–1151.
33. Perticone F., Ceravolo R., Pujia A. i wsp. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation* 2001; 104: 191–196.
34. Warner T.D. Relationships between the endothelin and nitric oxide pathways. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1999; 26: 247–252.
35. Lahera V., Navarro-Cid J., Maeso R., Cachafeiro V. Participation of endothelium-derived vasoconstrictor factors in arterial hypertension. *Revista Espanola de Cardiologia* 1999; 52: 4–11.
36. Vega G.W., Roson M.I., Bellver A., Celentano M.M., de la Riva I.J. Nitric oxide and superoxide anions in vascular reactivity of renovascular hypertensive rats. *Clin. Exp. Hypertens.* 1995; 17: 817–835.
37. Jun T., Ke-yan F., Catalano M. Increased superoxide anion production in humans: a possible mechanism for the pathogenesis of hypertension. *J. Hum. Hypertens.* 1996; 10: 305–309.

38. Guzik T.J., West N.E., Black E. i wsp. Vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase: association with endothelial dysfunction and clinical risk factors. *Circ. Res.* 2000; 86: 85–88.
39. Jiang Z., Akey J.M., Shi J. i wsp. A polymorphism in the promoter region of catalase is associated with blood pressure levels. *Hum. Genet.* 2000; 109: 95–98.
40. Brown M.R., Miller F.J. Jr, Li W.G. i wsp. Overexpression of human catalase inhibits proliferation and promotes apoptosis in vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* 1999; 85: 524–533.
41. Fennessy F.M., Moneley D.S., Wang J.H., Kelly C.J., Bouchier-Hayes D.J. Taurine and vitamin C modify monocyte and endothelial dysfunction in young smokers. *Circulation* 2003; 107: 410–415.
42. Ulrich-Merzenich G., Metzner C., Schiermeyer B. Vetter H. Vitamin C and vitamin E antagonistically modulate human vascular endothelial and smooth muscle cell DNA synthesis and proliferation. *Eur. J. Nutr.* 2002; 41: 27–34.
43. Heller R., Unbehauen A., Schellenberg B., Mayer B., Werner-Felmayer G., Werner E.R. L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 40–47.
44. Brockes C., Buchli C., Locher R., Koch J., Vetter W. Vitamin E prevents extensive lipid peroxidation in patients with hypertension. *Br. J. Biomed Sci.* 2003; 60: 5–8.
45. Galley H.F., Thornton J., Howdle P.D., Walker B.E., Webster N.R. Combination oral antioxidant supplementation reduces blood pressure. *Clin. Sci.* 1997; 92: 361–365.
46. Anuradha C.V., Balakrishnan S.D. Taurine attenuates hypertension and improves insulin sensitivity in the fructose-fed rat, an animal model of insulin resistance. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1999; 77: 749–754.
47. Dawson R. Jr, Liu S., Jung B., Messina S., Eppler B. Effects of high salt diets and taurine on the development of hypertension in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Amino Acids* 2000; 19: 643–665.
48. Militante J.D., Lombardini J.B. Treatment of hypertension with oral taurine: experimental and clinical studies. *Amino Acids* 2002; 23: 381–393.
49. Hodgson J.M., Puddey I.B., Burke V., Beilin L.J., Jordan N. Effects on blood pressure of drinking green and black tea. *J. Hypertens.* 1999; 17: 457–463.
50. Sato Y., Nakatsuka H., Watanabe T. i wsp. Possible contribution of green tea drinking habits to the prevention of stroke. *Tohoku. J. Exp. Med.* 1989; 157: 337–343.
51. Mizutani K., Ikeda K., Kawai Y., Yamori Y. Protective effect of resveratrol on oxidative damage in male and female stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2001; 28: 55–59.
52. Freedman J.E., Parker C. 3rd, Li L. i wsp. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. *Circulation* 2001; 103: 2792–2798.
53. Palumbo G., Avanzini F., Alli C. i wsp. Effects of vitamin E on clinic and ambulatory blood pressure in treated hypertensive patients. Collaborative Group of the Primary Prevention Project (PPP)-Hypertension study. *Am. J. Hypertens.* 2000; 13: 564–567.
54. Hoogwerf B.J., Young J.B. The HOPE study. Ramipril lowered cardiovascular risk, but vitamin E did not. *Clin. J. Med.* 2000; 67: 287–293.
55. Kim M.K., Sasaki S., Sasazuki S., Okubo S., Hayashi M., Tsugane S. Lack of long-term effect of vitamin C supplementation on blood pressure. *Hypertension* 2002; 40: 797–803.
56. Ness A., Smith G.D. Mortality in the CHAOS trial. Cambridge Heart Antioxidant Study. *Lancet* 1999; 353: 1017–1018.
57. Duffy S.J., Gokce N., Holbrook M. i wsp. Treatment of hypertension with ascorbic acid. *Lancet* 1999; 354: 2048–2049.
58. Stone N.J. The Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardio (GISSI)-Prevenzione Trial on fish oil and vitamin E supplementation in myocardial infarction survivors. *Curr. Cardiol. Rep.* 2000; 2: 445–451.
59. Boaz M., Smetana S., Weinstein T. i wsp. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in end-stage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2000; 356: 1213–1218.
60. Heart Protection Study Collaborative Group: MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 2333.
61. Taddei S., Virdis A., Ghiadoni L. i wsp. Calcium antagonist treatment by lercanidipine prevents hyperpolarization in essential hypertension. *Hypertension* 2003; 41: 950–955.
62. Taddei S., Virdis A., Ghiadoni L. i wsp. Effect of calcium antagonist or beta blockade treatment on nitric oxide-dependent vasodilation and oxidative stress in essential hypertensive patients. *J. Hypertens.* 2001; 19: 1379–1386.
63. Cominacini L., Pasini A., Garbin U. i wsp. Zofenopril inhibits the expression of adhesion molecules on endothelial cells by reducing reactive oxygen species. *Am. J. Hypertens.* 2002; 15: 891–895.
64. Virdis A., Neves M.F., Amiri F., Viel E., Touyz R.M., Schiffrin E.L. Spironolactone improves angiotensin-induced vascular changes and oxidative stress. *Hypertension* 2002; 40: 504–510.
65. Wu R., Lamontagne D., de Champlain J. Antioxidative properties of acetylsalicylic acid on vascular tissues from normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 2002; 105: 387–392.
66. Zanchetti A., Bond M.G., Hennig M. i wsp. European Lacidipine Study on Atherosclerosis investigators. Calcium antagonist lacidipine slows down progression of asymptomatic carotid atherosclerosis: principal results of the European Lacidipine Study on Atherosclerosis (ELSA), a randomized, double-blind, long-term trial. *Circulation* 2002; 106: 2422–2427.
67. Delbosq S., Cristol J.P., Descomps B., Mimran A., Jover B. Simvastatin prevents angiotensin II-induced cardiac alteration and oxidative stress. *Hypertension* 2002; 40: 142–147.