

(85)

Ocena wybranych parametrów układu antyoksydacyjnego w erytrocytach u wcześniaków badanych przesiewowo w kierunku ROP

The estimation of selected parameters in antioxidant system in red blood cells in ROP screening of premature infants

Monika Oziębto-Kupczyk¹, Alina Bakunowicz-Łazarczyk¹,
Krystyna Dzienis³, Elżbieta Skrzydlewska², Marek Szczepański³, Ewa Waszkiewicz²

¹ Z Kliniki Okulistyki Dziecięcej Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Alina Bakunowicz-Łazarczyk

² Z Zakładu Chemii Analitycznej i Nieorganicznej Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. Elżbieta Skrzydlewska

³ Z Kliniki Neonatologii Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: dr hab. n. med. Marek Szczepański

Summary:

Purpose: To estimate correlation between concentration of antioxidant system parameters in red blood cells in premature infants and prevalence of ROP.

Material and methods: We examined 16 premature infants with the average birth weight of 1071g and gestational age of 29.1 weeks. Superoxide dismutase (SOD), reduced glutathione (GSH), and glutathione peroxidase (GSH-Px), were measured at day 1 (cord blood), 7-th and 14-th day after birth. Premature infants had ROP screening. The control group included 12 infants born at term.

Results: 8 premature infants had ROP. There were higher levels of SOD, GSH and GSH-Px in premature infants with and without ROP, than in control group. Premature infants with ROP had lowest levels of GSH.

Conclusions: The glutathione status of red blood cells as a oxidative stress index in premature infants might be a reliable parameter, facilitating the early recognition of patients in immediate danger of ROP development.

Słowa kluczowe: retinopatia wcześniaków, antyoksydanty, stres oksydacyjny.

Key words: retinopathy of prematurity, antioxidants, oxidative stress.

Wstęp

Retinopatia wcześniaków (ROP) jest naczyniopochodnym schorzeniem siatkówki, występującym u dzieci przedwcześnie urodzonych, doprowadzającym do poważnego uszkodzenia narządu wzroku. Częstość występowania retinopatii wcześniaków wzrasta. Spowodowane jest to zwiększającą się liczbą porodów przedwczesnych. Wcześniaki z bardzo niską masą urodzeniową, czyli te najbardziej predysponowane do rozwoju retinopatii, mają obecnie większą szansę na przeżycie.

W rozwoju retinopatii wcześniaków można wyróżnić dwa etapy. W pierwszym etapie dochodzi do uszkodzenia komórek śródbłonna rozwijających się, niedojrzałych naczyń krwionośnych siatkówki. Główną rolę odgrywają tu wolne rodniki tlenowe oraz fizjologicznie niskie u wcześniaków stężenie składników bariery antyoksydacyjnej (1). Nadmierny dopływ tlenu w warunkach hiperoksji doprowadza do powstania reaktywnych form tlenu (RFT). Typowa dla wcześniaków niska wydolność systemu antyoksydacyjnego ułatwia ten proces. U dzieci urodzonych przedwcześnie spontaniczna produkcja RFT jest zwiększona w porównaniu z noworodkami donoszonymi, natomiast zdolność do ich neutralizacji jest ograniczona (2). U noworodka wszystkie znaczące składniki

systemu antyoksydacyjnego w tkance siatkówki występują w zmniejszonej ilości (alfa-tokoferol, peroksydaza glutationowa, witamina C, katalaza, dysmutaza peroksydazowa i inne).

Cel pracy

Wykazanie wzajemnej korelacji pomiędzy poziomem wybranych parametrów układu antyoksydacyjnego w erytrocytach noworodków urodzonych przedwcześnie a występowaniem i ciężkością ROP u tych dzieci.

Material i metody

Badaniami objęto 16 wcześniaków (6 płci męskiej i 10 płci żeńskiej) urodzonych między 25. a 32. tygodniem ciąży (średnio 29,1 tyg. ciąży), z masą ciała od 700 g do 1390 g (średnio 1071 g). W 1. dobie życia we krwi pępowinowej oraz w 7. i 14. dobach w erytrocytach wcześniaków oceniano stężenie glutationu zredukowanego (GSH) oraz aktywność dysmutazy nad-tlenkowej (SOD) i peroksydazy glutationowej (GSH-Px). Stężenie badanych parametrów oceniano w zależności od stężenia hemoglobiny w erytrocytach. U dzieci tych przeprowadzono także badania przesiewowe w kierunku rozwoju ROP: pierwsze badanie

w 4. tygodniu życia, a badania kolejne w odstępach 1-, 2-tygodniowych w zależności od zmian na dnie oka. Grupę kontrolną stanowiło 12 dzieci urodzonych o czasie, u których oceniano te same parametry układu antyoksydacyjnego w 1. i 3. dobie życia.

Wyniki

U 8 wcześniaków stwierdzono fazę czynną ROP. U 6 stwierdzono zmiany w stadium 3a i wykonano laseroterapię siatkówki, u 2 pozostałych zaś – w stadium 2. (samoistna regresja). Poziom SOD, GSH i GSH-Px zarówno u wcześniaków, u których stwierdzono w późniejszym okresie retinopatię, jak i u tych, u których nie wystąpiła retinopatia, był wyższy niż w grupie kontrolnej, ale różnice te nie wykazywały znamienności statystycznej ($p < 0,05$). Poziom zredukowanego glutationu (GSH) w erytrocytach u wcześniaków z czynną fazą ROP, w porównaniu do wcześniaków bez ROP, był nieco obniżony. Zestawienie otrzymanych wyników przedstawiają tabele I, II i III.

	Wcześnieiki z ROP Premature infants with ROP N=8	Grupa kontrolna Control group N=12	P
SOD I	173,0 ($\pm 2,50$)	151,0 ($\pm 4,67$)	0,1397
SOD II	190,50 ($\pm 3,48$)	130,0 ($\pm 3,14$)	0,5839
SOD III (U/g Hb)	187,50 ($\pm 2,69$)		
GSH I	24,55 ($\pm 3,04$)	21,95 ($\pm 4,29$)	0,0283
GSH II	26,80 ($\pm 4,53$)	23,25 ($\pm 3,27$)	0,5839
GSH III (nmol/g Hb)	24,95 ($\pm 9,12$)		
GSH-Px I	19158,50 ($\pm 7,33$)	19584,0 ($\pm 8,61$)	0,3572
GSH-Px II	26843,0 ($\pm 6,35$)	18733,0 ($\pm 7,95$)	0,0495
GSH-Px III (U/g Hb)	27494,0 ($\pm 5,35$)		

Tab. I. Średnie wartości badanych parametrów w grupie wcześniaków z ROP w porównaniu z grupą kontrolną: I – 1. doba (krew pępowinowa), II – 7. doba, III – 14. doba życia.

Tab. I. Mean values of the examined parameters in preterm infants with ROP and control group at I – 1 day (cord blood), II – 7 days, III – 14 days after birth.

	Wcześnieiki bez ROP Premature infants without ROP N=8	Grupa kontrolna Control group N=12	P
SOD I	173,5 ($\pm 7,48$)	151,0 ($\pm 4,67$)	0,0957
SOD II	158,5 ($\pm 8,14$)	130,0 ($\pm 3,14$)	0,4279
SOD III (U/g Hb)	144,0 ($\pm 7,92$)		
GSH I	38,65 ($\pm 3,62$)	21,95 ($\pm 4,29$)	0,1632
GSH II	28,65 ($\pm 5,47$)	23,25 ($\pm 3,27$)	0,3861
GSH III (nmol/g Hb)	28,30 ($\pm 3,70$)		
GSH-Px I	25119,0 ($\pm 9,68$)	19584,0 ($\pm 8,61$)	0,8296
GSH-Px II	24693,5 ($\pm 9,71$)	18733,0 ($\pm 7,95$)	0,9496
GSH-Px III (U/g Hb)	20148,0 ($\pm 8,68$)		

Tab. II. Średnie wartości badanych parametrów w grupie wcześniaków bez ROP w porównaniu z grupą kontrolną.

Tab. II. Mean values of the examined parameters in preterm infants without ROP and control group.

	Wcześnieiki z ROP Premature infants with ROP N=8	Wcześnieiki bez ROP Premature infants without ROP N=8	P
SOD I	173,0 ($\pm 2,50$)	173,5 ($\pm 7,48$)	0,4289
SOD II	190,50 ($\pm 3,48$)	158,5 ($\pm 8,14$)	0,1387
SOD III (U/g Hb)	187,50 ($\pm 2,69$)	144,0 ($\pm 7,92$)	
GSH I	24,55 ($\pm 3,04$)	38,65 ($\pm 3,62$)	0,0587
GSH II	26,80 ($\pm 4,53$)	28,65 ($\pm 5,47$)	0,0654
GSH III (nmol/g Hb)	24,95 ($\pm 9,12$)	28,30 ($\pm 3,70$)	
GSH-Px I	19158,50 ($\pm 7,33$)	25119,0 ($\pm 9,68$)	0,0341
GSH-Px II	26843,0 ($\pm 6,35$)	24693,5 ($\pm 9,71$)	0,3125
GSH-Px III (U/g Hb)	27494,0 ($\pm 5,35$)	20148,0 ($\pm 8,68$)	

Tab. III. Średnie wartości badanych parametrów – porównanie wcześniaków z ROP i bez ROP.

Tab. III. Mean values of the examined parameters in premature infants with ROP and without ROP.

Omówienie

Siatkówka jest jedną z tkanek najbardziej wrażliwych i bezpośrednio narażonych na niekorzystne działanie tlenu. Nadmiar dopływającego tlenu, niezbędny dla przeżycia wcześniaka, w warunkach hiperoksji doprowadza do powstania reaktywnych form tlenu (RFT). Komórki śródbłonka naczyń włosowatych siatkówki oraz komórki nabłonka barwnikowego są wysoce narażone na uszkodzenie przez reaktywne formy tlenu. Powodują one uszkodzenie komórek śródbłonka tworzących się, niedojrzałych naczyń krwionośnych. Aniony nadtlenkowe i wodorotlenkowe reagują z białkami, lipidami i kwasami tłuszczowymi, przyczyniając się do powstawania m.in. aldehydów i nadtlenków lipidów uszkadzających DNA (3). Sprawność systemów antyoksydacyjnych u wcześniaków jest proporcjonalna do stopnia niedojrzałości wcześniaka. W ustroju istnieją dwie składowe układu antyoksydacyjnego: enzymatyczna – dysmutaza nadtlenkowa (SOD), katalaza (CT), peroksydaza glutationowa (GPX) i reduktaza glutationowa; nieenzymatyczna – glutation, witaminy E, A, C, karotenoidy (4). Obecnie uważa się, że patologie występujące u wcześniaków mogą być spowodowane głównie wewnątrzkomórkowym lub miejscowym niedoborem antyoksydantów. Potencjał oksydacyjny erytrocytów, które strukturalnie i funkcjonalnie są podobne do siatkówki, może być używany jako biologiczny wskaźnik stresu oksydacyjnego tej tkanki (5).

W naszych badaniach zarówno u wcześniaków, u których stwierdzono w późniejszym okresie retinopatię, jak i u tych, u których retinopatia się nie rozwinęła, obserwuje się nasiloną zdolność antyoksydacyjną w erytrocytach (stwierdzono wyższe poziomy SOD, GSH i GSH-Px) w porównaniu do noworodków urodzonych o czasie. Prawdopodobnie może to być wynikiem adaptacji komórek do stresu oksydacyjnego, z jakim wiąże się poród. Poza tym stwierdziliśmy nieco obniżony poziom zredukowanego glutationu (GSH) w erytrocytach u wcześniaków z czynną fazą ROP w porównaniu do wcześniaków bez ROP. Podobne wyniki otrzymali także Papp i wsp. Dodatkowo stwierdzili oni także podwyższony poziom form utlenowanych (GSSH) oraz podwyższony stosunek GSSH/GSH (5,6). W naszych badaniach stwierdziliśmy

także, że aktywność SOD i GSH-Px w erytrocytach u wcześniaków z ROP wzrasta stopniowo w kolejnych badaniach, podczas gdy u wcześniaków bez ROP maleje. Ta wzmożona aktywność enzymów rozkładających wolne rodniki tlenowe może być skutkiem wzmożonej ekspozycji wcześniaków, u których doszło do rozwoju ROP, na wolne rodniki tlenowe (7).

Wnioski

1. Stężenie zredukowanego glutationu w erytrocytach, jako wskaźnika stresu oksydacyjnego u wcześniaków, prawdopodobnie może być parametrem ułatwiającym wczesne wyodrębnienie pacjentów z dużym ryzykiem rozwoju ROP. Dla potwierdzenia tego wniosku konieczne są jednak dalsze badania.
2. Wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, GSH-Px) w kolejnych badaniach u wcześniaków z ROP wskazuje na większy stres oksydacyjny i wzmożoną ekspozycję na wolne rodniki tlenowe.

PIŚMIENNICTWO:

1. Moll A., Gratek M.: *Wybrane czynniki etiopatogenetyczne w powstawaniu i rozwoju retinopatii wcześniaków*. Klin. Oczna, 2004, 3, 360-363.

2. Hardy P., Dumont I., Bhattacharya M., Hou X., Lachapelle P., Varma D., Chemtob S.: *Oxidants, nitric oxide and prostanoids in the developing ocular vasculature. A basis for ischemic retinopathy*. Cardiovascular Research, 2000, 47, 489-509.
3. Brooks S.E., Gu X., Samuel S.: *Reduced severity of oxygen-induced retinopathy in eNOS-deficient mice*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2001, 42 (1), 222-228.
4. DeLa Paz M.A., Zhang J., Fridovich I.: *Antioxidant enzymes of the human retina: effect of age on enzyme activity of macular and periphery*. Curr. Eye Res., 1996, 15, 273-278.
5. Papp A., Nemeth I., Karg E., Papp E.: *Glutathione status in retinopathy of prematurity*. Free Radic. Biol., 1999, 7/8, 738-743.
6. Papp A., Nemeth I., Pelle Z.: *Retrospective biochemical study of the preventive property of antioxidants in retinopathy of prematurity*. Orv. Hetil., 1993, 134, 1021-1026.
7. Luukkainen P., Aejmelaeus R., Alho H., Metsa-Ketela T., Ikonen S.R., Salo M.K.: *Plasma chain-breaking antioxidants in preterm infants with good and poor short-term outcome*. Free Radic. Res., 1999, 30, 189-197.

Praca wpłynęła do Redakcji 24.04.2006 r. (857).

Zakwalifikowano do druku 24.10.2006 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

lek. med. Monika Oziębło-Kupczyk
SPDSK AM w Białymstoku
Klinika Okulistyki Dziecięcej
ul. Waszyngtona 17
15-274 Białystok