

# Određivanje razine oksidativnog stresa kod djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije

---

**Katačić, Valentina**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:536395>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**PRIJEDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO**

**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Valentina Katačić**

**ODREĐIVANJE RAZINE**

**OKSIDATIVNOG STRESA KOD DJECE**

**OBOLJELE OD ESENCIJALNE**

**ARTERIJSKE HIPERTENZIJE**

**Završni rad**

**Osijek, 2023.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**PRIJEDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO**

**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Valentina Katačić**

**ODREĐIVANJE RAZINE**

**OKSIDATIVNOG STRESA KOD DJECE**

**OBOLJELE OD ESENCIJALNE**

**ARTERIJSKE HIPERTENZIJE**

**Završni rad**

**Osijek, 2023.**

Rad je ostvaren na Katedri za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Osijek.

Mentorica rada: Izv.prof.dr.sc. Ivana Jukić, dr.med.

Rad ima 22 stranice, 1 tablicu i 2 slike.

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1. Arterijska hipertenzija .....	1
1.2. Čimbenici rizika za razvoj esencijalne arterijske hipertenzije .....	1
1.3. Oksidativni stres.....	3
1.3.1. Slobodni radikali i reaktivne kisikove vrste.....	3
1.3.2. Antioksidativni sustav.....	4
2. HIPOTEZA.....	6
3. CILJ .....	7
4. ISPITANICI I METODE.....	8
4.1. Ustroj studije .....	8
4.2. Ispitanici .....	8
4.3. Metode.....	8
4.3.1. Antropometrijska i hemodinamska mjerenja .....	8
4.3.2. Određivanje biomarkera oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta.....	9
4.4. Statističke metode .....	10
5. REZULTATI .....	11
6. RASPRAVA.....	13
7. ZAKLJUČCI .....	16
8. SAŽETAK.....	17
9. SUMMARY .....	18
10. LITERATURA .....	19
11. ŽIVOTOPIS.....	22

## Popis kratica

8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$  – 8-iso-prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$

ADH - antidiuretski hormon

AH – arterijska hipertenzija

ANG I – angiotenzin I

ANG II – angiotenzin II

AOPP – napredni produkti oksidacije proteina (engl. *advanced oxidation protein products*)

CAT – katalaza

CuZn-SOD – bakar-cink superoksid dismutaza

EC-SOD – ekstracelularna superoksid dismutaza (engl. *Extracellular superoxide dismutase*)

ELISA – imunoenzimski test (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

eNOS – endotelna sintaza dušikova oksida (engl. *endothelial nitric oxide synthase*)

FRAP – sposobnost plazme da reducira željezo (engl. *Ferric reducing ability of plasma*)

GC-MS – plinska kromatografija – masena spektrometrija (engl. *Gas chromatography-mass spectrometry*)

GPx – glutation-peroksidaza

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – vodikov peroksid

HPLC – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High performance liquid chromatography*)

HT – hipertenzivna skupina – djeca oboljela od esencijalne arterijske hipertenzije

ITM – indeks tjelesne mase

KT – krvni tlak

MDA – malondialdehid

Mn-SOD – mangan superoksid dismutaza

NO – dušikov oksid

NOX – NADPH oksidaza

NT – normotenzivna skupina – normotenzivna djeca

$O_2^-$  – superoksidni anion

RAS – renin-angiotenzin sustav

RNS – reaktivni oblici dušika (engl. *Reactive nitrogen species*)

ROS – reaktivne kisikove vrste (engl. *Reactive oxygen species*)

SOD – superoksid dismutaza

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija

TBA – tiobarbiturna kiselina (engl. *Thiobarbituric acid*)

TBARS – reaktivne substance tiobarbiturne kiseline (engl. *Thiobarbituric acid reactive substances*)

TCA – trikloroocetna kiselina (engl. *Trichloroacetic acid*)

TPTZ – 2,4,6-tripiridil-s-triazin

## 1. UVOD

### 1.1. Arterijska hipertenzija

Arterijska hipertenzija (AH) glavni je čimbenik rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti i predstavlja vodeći uzrok smrtnih ishoda u svijetu. Sistemska arterijska hipertenzija definira se kao stanje trajno povišenog krvnog tlaka (KT) s vrijednostima  $\geq 140/90$  mmHg. AH razvija se kao odgovor na brojne patofiziološke i okolišne čimbenike, a prema etiologiji dijeli se na primarnu i sekundarnu (1). Procjenjuje se da 5 – 10 % bolesnika ima sekundarnu AH koja se razvija kao posljedica drugih sustavnih oboljenja, dok većina bolesnika ima primarnu ili esencijalnu AH nepoznatog podrijetla (1, 2). U pedijatrijskoj populaciji češća je sekundarna AH, no zbog mnogobrojnih čimbenika rizika poput pretilosti i prehrane bogate solju incidencija esencijalne AH u sve je većem porastu. Iako je češća kod odraslih, pojava povišenog krvnog tlaka postaje sve učestalija među djecom i ukoliko se ne uoči u ranijoj životnoj dobi, kao posljedica AH u odrasloj dobi mogu se razviti poremećaji kardiovaskularnog sustava i druga teška stanja poput moždanog udara i bubrežnog zatajenja (3). Stoga rano postavljanje dijagnoze ima ključni značaj u prevenciji nastanka različitih kardiovaskularnih bolesti. Krvni tlak prati se godinama, a povišene vrijednosti KT-a izmjerene u ranoj dobi mogu biti pokazatelji patoloških vrijednosti u odrasloj dobi (4). Studija u kojoj su se pratile vrijednosti KT-a kroz period od 15 godina, od djetinjstva ispitanika do njihove odrasle dobi, pokazala je korelaciju između povišenih vrijednosti KT-a u dječjoj i odrasloj dobi ispitanika, kao i povećanu prevalenciju AH u skupini ispitanika kojima je KT bio povišen već i u djetinjstvu (5).

Postavljanje dijagnoze AH u djece zahtjevnija je nego kod odraslih te je prilikom postavljanja dijagnoze potrebno razmotriti nekoliko varijabli poput visine, dobi i spola djeteta. U djece mlađe od 16 godina esencijalna arterijska hipertenzija definira se kao vrijednosti sistoličkog i/ili dijastoličkog arterijskog tlaka  $\geq 95$ . centile za dob, spol i tjelesnu visinu izmjerena u tri odvojena posjeta, dok se za adolescente u dobi  $\geq 16$  godina primjenjuju vrijednosti kao za odrasle ( $\geq 140/90$  mmHg) (6).

### 1.2. Čimbenici rizika za razvoj esencijalne arterijske hipertenzije

Najčešći čimbenici rizika za razvoj esencijalne arterijske hipertenzije su prehrana bogata solju i prekomjerna tjelesna masa (1). Natrij sudjeluje u važnim fiziološkim procesima, uključujući održavanje ravnoteže između tjelesnih tekućina i regulaciju krvnog tlaka, te na taj način



doprinosi normalnom funkcioniranju ljudskog organizma. Kuhinjska sol, koja se svakodnevno primjenjuje u prehrani, glavni je izvor natrija za čovjeka. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) navodi da preporučena dnevna doza soli iznosi 5 grama, no postoje studije koje pokazuju da je prosječni dnevni unos soli u Hrvatskoj značajno viši od preporučenog. Naime, metodom određivanja natrija u 24-satnom urinu procijenjeno je da dnevni unos soli iznosi 13,3 g za muškarce, a za žene 10,2 g (7). Humana klinička istraživanja, ali i animalne studije, utvrdile su korelaciju između unosa soli i vrijednosti krvnog tlaka (8). Odgovor arterijskog tlaka na promjene u količini unosa soli različite su kod pojedinaca, što se opisuje kao osjetljivost na sol. U osoba osjetljivih na sol dolazi do povećanog vaskularnog otpora i porasta krvnog tlaka (9). Studije su pokazale da je rezistencija na sol učestalija u hipertenzivnih bolesnika, ali i da normotenzivne osobe koje su osjetljive na sol imaju značajno povećan rizik za razvoj AH (8). Animalna istraživanja na Sprague-Dawley štakorima utvrdila su da povezanost razvoja hipertenzije s velikim unosom soli, što može dovesti do bubrežnog oštećenja, promjene u ekspresiji bubrežnih citokinskih gena odgovornih za proupalni odgovor i endotelne disfunkcije (10). Iako se radi o vrlo složenom procesu, jedan od značajnih mehanizama kojim prehrana bogata solju doprinosi razvoju AH je suprimiranjem renin-angiotenzin sustava (RAS). RAS je fiziološki složen sustav odgovoran za regulaciju arterijskog tlaka. U odgovoru na nizak tlak, dolazi do otpuštanja renina u jukstaglomerularnim stanicama bubrega. Renin djeluje na bjelančevinu plazme, angiotenzinogen kojeg pretvara u angiotenzin I (ANG I), a zatim u malim plućnim žilama djelovanjem enzima za pretvorbu angiotenzina dolazi do stvaranja angiotenzina II (ANG II) koji je izrazito jak vazokonstriktor te izravno povišuje krvni tlak. Osim toga, ANG II potiče izlučivanje dvaju hormona, aldosterona i antidiuretskog hormona (ADH), i na taj način smanjuje izlučivanje natrijevih iona i vode mokraćom, pa se povećava volumen krvi, što pridonosi povišenju krvnoga tlaka (11). Istraživanja su pokazala kako izrazito povišena koncentracija ANG II dovodi do povećane proizvodnje superoksidnog aniona ( $O_2^-$ ) koji pridonosi disfunkciji endotela te uzrokuje oksidativni stres (12). Endotel je dinamičan organ koji oblaže krvožilni sustav i ima glavnu ulogu u održavanju vaskularnog tonusa te je njegova pravilna funkcija ključna za zdravlje kardiovaskularnog sustava (12, 13). Svoju funkciju endotel postiže uravnoteženim stvaranjem vazodilatatornih i vazokonstriktornih tvari. Glavni posrednik vazodilatacije je dušikov-oksidi (NO) nastao djelovanjem enzima eNOS (engl. *endothelial nitric oxide synthase*), koji katalizira pretvorbu kisika i L-arginina u L-citrulin i NO (14). NO se otpušta iz krvnih žila u odgovoru na povećan žilni stres i acetilkolin te dovodi do relaksacije vaskularnih glatkih mišićnih stanica. Pored svog vazodilatatornog djelovanja, NO smanjuje razinu superoksidnog aniona i drugih slobodnih radikala koji

pridonose razvoju AH, te na taj način održava normalnu funkciju endotela (12, 13). Najvažniji endotelni čimbenici kontrakcije su endotelin-1 i tromboksan. Stanje postojanja neravnoteže između stvaranja vazodilatacijskih i vazokonstriksijskih endotelnih čimbenika, odnosno endotelne disfunkcije uzrokuje povišenje krvnog tlaka te predstavlja jedan od esencijalnih čimbenika u razvoju arterijske hipertenzije (12).

Povišen krvni tlak postaje sve učestaliji među pretilom djecom. Nezdrav način života koji podrazumijeva loše prehrambene navike i nedovoljnu tjelesnu aktivnost dovodi do pretilosti koja potom različitim mehanizmima kao što su aktivacija RAS-a i inzulinska rezistencija doprinosi razvoju AH (15). Za procjenu pretilosti kod odraslih koristi se indeks tjelesne mase (ITM), dok se kod djece stanje uhranjenosti utvrđuje centilnim krivuljama visine i težine. Vrijednosti između 85. i 95. percentile smatraju se prekomjernom tjelesnom težinom, a vrijednosti jednako ili veće od 95. percentile označavaju pretilost (16). ITM pokazao se kao čimbenik s najvećim utjecajem na arterijski tlak adolescenata. Rezultati studije provedene u Hrvatskoj utvrdili su značajno višu prevalenciju AH u pretiloj djece i adolescenata u odnosu na njihove vršnjake normalne tjelesne mase (20% vs. 6,8%) (6). Osim toga, pretila djeca imaju čak 2,7 puta veći rizik za razvoj AH u odnosu na djecu s prekomjernom tjelesnom težinom (17).

### **1.3. Oksidativni stres**

Brojne studije potvrdile su ulogu oksidativnog stresa u patogenezi arterijske hipertenzije (18, 19). Oksidativni stres predstavlja stanje narušene ravnoteže između stvaranja i uklanjanja reaktivnih kisikovih vrsta (engl. *reactive oxygen species*, ROS) pri čemu dolazi do njihovog nakupljanja u stanicama. Taj pomak u ravnoteži stvaranja i uklanjanja ROS-a smatra se primarnim uzrokom endotelne disfunkcije koja dovodi do vaskularnog oštećenja u metaboličkim i aterosklerotskim bolestima (20). U fiziološkim procesima ROS nastaju u odgovarajućim koncentracijama kao produkti metabolizma kisika te imaju važnu ulogu u staničnoj signalizaciji (21). Međutim, u stanju hipertenzije oksidativni stres potiče posttranslacijsku modifikaciju, odnosno oksidaciju i fosforilaciju proteina te poremećaj stanične signalizacije što dovodi do staničnog i tkivnog oštećenja (22).

#### **1.3.1. Slobodni radikali i reaktivne kisikove vrste**

Stanje povišenog oksidativnog stresa karakterizira prekomjerno stvaranje slobodnih radikala. Oni predstavljaju nestabilne i visoko reaktivne molekularne spojeve koji u vanjskoj orbitali

imaju jedan nespareni elektron te teže stabilizaciji sparivanjem sa mnogim atomima pri čemu su atomi kisika od najvećeg značaja (23). Na taj način susjedne molekule postaju nestabilne i stupaju u reakciju s drugim molekulama u stanici (proteini, lipidi, ugljikohidrati, nukleinske kiseline) te posljedično mogu narušiti strukturu stanice ili izazvati staničnu smrt, budući da početna reakcija uzrokuje niz lančanih reakcija čije se posljedice ne opažaju samo na jednoj makromolekuli, već se šire i na druge molekule. Najveći broj slobodnih radikala nastaju od ROS-a ili reaktivnih oblika dušika (engl. *reactive nitrogen species*, RNS) (24). U ROS se ubrajaju radikali kisika: superoksidni anion, perhidroksilni i hidroksilni radikal, kao i njegovi reaktivni neradikalni derivati: vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ), hipokloritna kiselina i singletni kisik koji za razliku od slobodnih radikala nisu oksidansi, ali iz njih u kemijskim reakcijama u živom organizmu mogu nastati slobodni radikali (24, 25). ROS mogu nastati endogeno kao nusprodukti enzimskih i neenzimskih reakcija ili egzogeno djelovanjem vanjskih izvora poput ionizirajućeg zračenja. Enzimске reakcije u kojima se stvaraju ROS uključene su u respiracijski lanac mitohondrija, sintezu prostaglandina, fagocitozu i enzimski sustav citokrom P450 pri čemu se slobodni radikali prvenstveno stvaraju u mitohondrijima tijekom oksidativne fosforilacije (23). NADPH oksidaza (NOX) glavni je enzimski sustav koji sudjeluje u stvaranju ROS-a. Ekspresija i aktivnost NOX-a povećani su u arterijskoj hipertenziji te se smatraju odgovornim za povećanje oksidativnog stresa u kardiovaskularnim bolestima (22). Porast ROS-a u stanju oksidativnog stresa uzrokuje oštećenje nukleinskih kiselina, proteina i lipida. Oštećenjem nukleinskih kiselina nastaju brojne mutacije, proteini uslijed oksidacije gube svoju funkciju dok lipidi stanične membrane podliježu lipidnoj peroksidaciji čiji su krajnji produkti reaktivni aldehidi (24). Na primjer, malondialdehid (MDA), reaktivna i mutagena molekula koja nastaje kao krajnji produkt lipidne peroksidacije, dobar je biomarker oksidativnog stresa (21).

### 1.3.2. Antioksidativni sustav

U borbi protiv reaktivnih kisikovih vrsta stanice koriste antioksidativni sustav u kojem pripadaju endogeni antioksidansi koji se već nalaze u stanici i egzogeni antioksidansi koji se unose hranom. Imaju nekoliko uloga, a najznačajnije su: onemogućavanje stvaranja novih slobodnih radikala, uništavanje stvorenih radikala i popravljavanje staničnih oštećenja nastalih djelovanjem slobodnih radikala (24). Endogeni antioksidansi mogu se podijeliti na enzimske i neenzimske. Najznačajniji enzimski antioksidansi su superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT) i glutation peroksidaza (GPx). Kako je superoksidni anion slobodni radikal koji se proizvodi u mnogim reakcijama staničnog metabolizma, djelovanje superoksid dismutaze

ključno je za normalnu staničnu funkciju. Ovaj enzim katalizira reakciju pretvorbe superoksidnog aniona u vodikov peroksid. Postoje tri tipa SOD-a: bakar-cink superoksid dismutaza (CuZn-SOD), mangan superoksid dismutaza (Mn-SOD) i ekstracelularna superoksid dismutaza (EC-SOD).  $H_2O_2$  nastao djelovanjem SOD-a reducira se u vodu pomoću enzima katalaze i glutation peroksidaze. CAT je tetramer građen od četiri monomera od kojih svaki sadrži hem skupinu u svom aktivnom mjestu, a funkciju obavlja zahvaljujući  $Fe^{3+}$  ionu. Plazmatska glutation peroksidaza (GSH-Px) je enzim koji pored reduciranja  $H_2O_2$ , reducira i lipidne perokside do odgovarajućih alkohola. Ovaj enzim sadrži jedinstvenu aminokiselinu selenocistein u aktivnom mjestu, a za redukciju koristi niskomolekularne tiole poput glutationa. U razgradnji vodikovog peroksida u humanim stanicama sudjeluju i tioredoksin reduktaze (25).

Neenzimski antioksidansi također sudjeluju u obrani organizma od štetnog djelovanja oksidativnog stresa. To su molekule koje pretvaraju aktivne slobodne radikale u nove neaktivne vrste koji nisu opasne za urednu aktivnost organizma i na neki način se ponašaju kao "čistači" slobodnih radikala. U neenzimski dio antioksidativnog sustava ubrajaju se vitamin A (retinol), vitamin C (askorbinska kiselina), vitamin E (alfa-tokoferol), beta-karoten (provitamin A), bilirubin, mokraćna kiselina, glutation i drugi (24).

**2. HIPOTEZA**

Biljezi oksidativnog stresa bit će povećani kod djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije u odnosu na zdravu normotenzivnu djecu.

### **3. CILJ**

Cilj ovog istraživanja je odrediti razinu oksidativnog stresa kod djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije u odnosu na zdravu normotenzivnu djecu, određivanjem serumske koncentracije malondialdehida (MDA) i vrijednosti antioksidativnog kapaciteta (FRAP).

## 4. ISPITANICI I METODE

### 4.1. Ustroj studije

Ovo istraživanje je ustrojeno kao presječna opservacijska studija (engl. *cross-sectional study*).

### 4.2. Ispitanici

U istraživanju je sudjelovalo 40 ispitanika, odnosno djece, oba spola, u dobi od 8 do 17 godina, koji su bili podijeljeni u dvije skupine: NT skupinu (normotenzivna, N = 20) su činila zdrava djeca urednih vrijednosti krvnog tlaka i HT skupinu (hipertenzivna, N = 20) kojoj su pripadala djeca s esencijalnom arterijskom hipertenzijom.

Postojanje nekih od sljedećih stanja, bili su isključni kriteriji za sudjelovanje: hipertenzija bijele kute, maskirna hipertenzija, sekundarna arterijska hipertenzija, nasljedne metaboličke bolesti i druge nasljedne sistemske bolesti, autoimune bolesti ili sistemske bolesti s imunopatologijom, neurodegenerativne bolesti, terapija koja značajno utječe na vaskularnu ili imunološku funkciju (monoklonska protutijela, imunosupresivi, sustavni kortikosteroidi i drugi). Djeci koja su bila na antihipertenzivnoj terapiji funkcionalna mjerenja su obavljena dva tjedna nakon ukidanja terapije, a nakon mjerenja djeca su nastavila s redovitim uzimanjem terapije. Roditelji, odnosno zakonski skrbnici ispitanika bili su upoznati s postupcima kojima će djeca biti podvrgnuta te su za sudjelovanje u istraživanju dali svoj pismeni informirani pristanak.

Ova je studija dio velikog istraživanja pod nazivom „Povezanost juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije i vaskularne reaktivnosti u sistemske i cerebralnoj cirkulaciji” (KLASA: 602-04/21-08/07, URBROJ: 2158-61-07-21-06) i odobrena je od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Osijek (KLASA: 602-04/23-08/03, URBROJ: 2158-61-46-23-106) i Etičkog povjerenstva KBC Osijek (Broj: R1/6414/2021).

### 4.3. Metode

#### 4.3.1. Antropometrijska i hemodinamska mjerenja

Svim ispitanicima je određen indeks tjelesne mase, omjer struk/bokovi, puls te arterijski tlak. Mjerenja pulsa i arterijskog tlaka učinjena su na početku posjeta nakon 15 minuta mirovanja u sjedećem položaju. U svrhu mjerenja arterijskog tlaka korišten je automatski oscilometar

(OMRON, Osaka, Japan). Za konačnu vrijednost arterijskog tlaka uzela se srednja vrijednost dobivena iz tri ponovljena mjerenja.

#### 4.3.2. Određivanje biomarkera oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta

Za potrebe istraživanja korišteni su pohranjeni uzorci ispitanika prikupljeni tijekom istraživanja „Povezanost juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije i vaskularne reaktivnosti u sistemske i cerebralnoj cirkulaciji” (KLASA: 602-04/21-08/07, URBROJ: 2158-61-07-21-06).

Iz pohranjenih uzoraka seruma određivane su razine oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta pomoću spektrofotometrijskih metoda TBARS (engl. *Thiobarbituric acid reactive substances*) i FRAP (engl. *Ferric reducing ability of plasma*). TBARS metoda omogućava mjerenje lipoperoksidacijskih aldehida i peroksidativnog oštećenja lipida do kojega dolazi zbog povećanog stvaranja slobodnih radikala. Temelji se na reakciji malondialdehida, krajnjeg produkta lipidne oksidacije, sa tiobarbiturnom kiselinom (TBA) u uvjetima niske pH vrijednosti. Postupak je započeo pipetiranjem uzorka seruma volumena 500  $\mu$ l u falcon epruvetu od 15 ml. Tiobarbiturna kiselina može vezati i druge tvari pa se u ispitivani uzorak dodala trikloroetena kiselina (TCA) koja omogućava taloženje proteina i na taj način povećava specifičnost testa. U uzorke je potom dodan 1 ml TCA i centrifugirano 15 minuta na 5000 okretaja na temperaturi od 4 °C. Nakon što su se proteini istaložili, 750  $\mu$ l supernatanta odpipetirano je u novu falconicu od 15 ml u koju je dodano i 750  $\mu$ l TBA. Ovako pripremljen uzorak kuhao se 10 minuta u vodenoj kupelji na 100 °C nakon čega je uslijedilo hlađenje na ledu. Apsorbancija ispitivanog uzorka izmjerila se na uređaju koji se naziva nanofotometar P330 UV/VIS, IMPLEN, a očitavanje se sprovodilo pri valnim duljinama od 572 nm i 532 nm. Uzorci su se najprije očitavali na valnoj duljini od 572 nm, a potom na 532 nm, a točna vrijednost apsorbancije dobila se oduzimanjem dobivenih vrijednosti. Rezultati su uspoređeni s kalibracijskom krivuljom koja se izradila pomoću različitih poznatih koncentracija standarda MDA (Oakes et al. 2003).

Pomoću FRAP metode mjeri se antioksidativni kapacitet plazme, odnosno sposobnost antioksidansa da reducira  $Fe^{3+}$  u  $Fe^{2+}$  ion u uzorku. Ova se metoda temelji na redukciji  $Fe^{3+}$  – 2,4,6-tripiridil-s-triazina, žuto obojenog kompleksa, u  $Fe^{2+}$  – 2,4,6-tripiridil-s-triazin, kompleks plave boje, u uvjetima smanjene razine pH = 3,6. Za potrebe pokusa najprije se pripremio svježi FRAP reagens volumena 30 ml. Ovaj reagens sastoji se od 25 mL Na – acetatnog pufera (pH vrijednosti 3,6), 2,5 mL TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin) te 2,5 mL željezovog (III) klorida



heksahidrata. Zbog fotosenzibilnosti TPTZ-a reagens je bilo potrebno omotati u aluminijsku foliju. U jednokratne kivete odpipetirano je 1,125 ml ovako pripravljenog reagensa i dodano po 37,5  $\mu$ l uzorka u svaku. Nakon 4 minute dobivene vrijednosti apsorbancije očitane su pomoću nanofotometra P330 UV/VIS, IMPLLEN na valnoj duljini od 593 nm, pri čemu je kao standard korišten mMTroloks (26).

### 4.4. Statističke metode

Rezultati su opisani kao aritmetička sredina i standardna devijacija. U slučaju normalne distribucije dobiveni podatci između skupina uspoređivani su t-testom, a pomoću Mann - Whitney U testa analizirane su varijable kojima raspodjela nije unutar normalnih intervala. Statistička značajnost podešena je na  $p < 0,05$ . Za statističku analizu koristila se SigmaPlot (version 11.2, Systat Software, Inc., Chicago, USA).

## 5. REZULTATI

U istraživanju je sudjelovalo ukupno 40 djece koja su podijeljena u dvije skupine: normotenzivnu (NT) i hipertenzivnu (HT). NT skupinu čine normotenzivna djeca s normalnim vrijednostima krvnog tlaka, dok djeca oboljela od esencijalne arterijske hipertenzije čine HT skupinu. U obje skupine je bilo po 20 djece prosječne životne dobi 15 godina. U NT skupini je bilo 11 dječaka i 9 djevojčica, a u HT skupini 10 dječaka i 10 djevojčica. Tablica 1. prikazuje antropometrijske i hemodinamske parametre ispitanika

Sistolički, dijastolički te srednji arterijski tlak, kao i vrijednosti ITM-a značajno su veće u HT skupini u odnosu na NT skupinu, dok između ispitivanih skupina nije postojala statistički značajna razlika u omjeru struk/bokovi kao ni u vrijednostima pulsa.

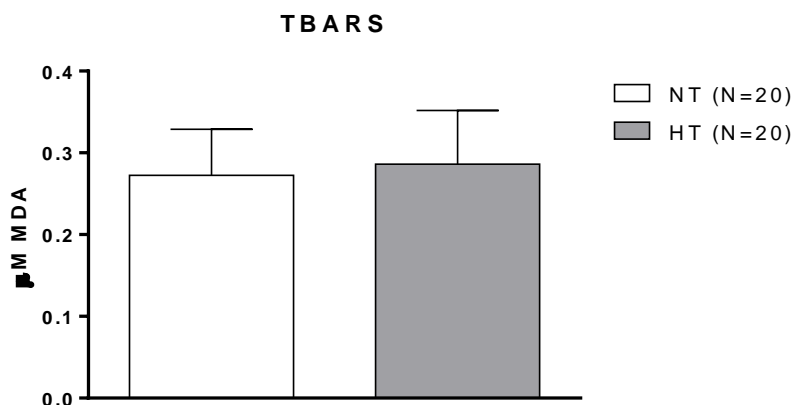
**Tablica 1. Antropometrijski i hemodinamski parametri ispitanika**

Obilježje (mjerna jedinica)	skupina		P vrijednost
	NT	HT	
Broj ispitanika (Ž/M)	20 (11/9)	20 (10/10)	0,999
Dob (godine)	15 (2)	15 (2)	0,135
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	23,1 (5,8)	29,9 (6,9)	0,001
Omjer struk/bokovi	0,82 (0,12)	0,83 (0,07)	0,228
Puls (otkucaja u min)	85 (10)	84 (13)	0,815
Sistolički arterijski tlak (mmHg)	109 (10)	133 (6)	< 0,001
Dijastolički arterijski tlak (mmHg)	73 (6)	80 (9)	0,001
Srednji arterijski tlak (mmHg)	85 (5)	98 (7)	< 0,001

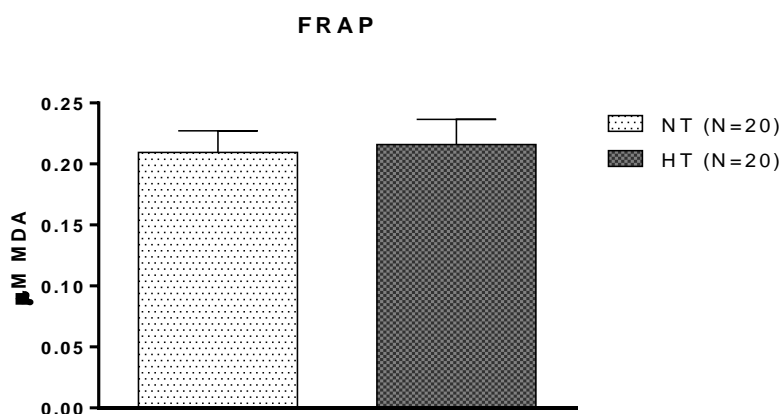
Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina i standardna devijacija (SD).

NT-normotenzivna skupina; HT-hipertenzivna skupina; ITM-indeks tjelesne mase.

Nadalje, među ispitivanim skupinama ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama reaktivne substance tiobarbiturne kiseline određivanih TBARS (engl. *Thiobarbituric acid reactive substances*) metodom ( $p = 0,534$ ) (Slika 1.). Između ispitivanih skupina također ne postoji statistički značajna razlika u antioksidativnom kapacitetu određenom pomoću FRAP (engl. *Ferric reducing ability of plasma*) metode ( $p = 0,348$ ) (Slika 2.).



**Slika 1. Serumska razina oksidativnog stresa (TBARS) kod djece urednih vrijednosti arterijskog tlaka (NT) i djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije (HT).** Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina i standardna devijacija (SD).  $p = 0,534$  NT vs. HT skupina (Mann-Whitney test); Stupići prikazuju aritmetičku sredinu, a okomite crte s graničnikom standardnu devijaciju.



**Slika 2. Serumska razina antioksidativnog kapaciteta (FRAP) kod djece urednih vrijednosti arterijskog tlaka (NT) i djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije (HT).** Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina i standardna devijacija (SD).  $p = 0,348$  NT vs. HT skupina (Mann-Whitney test); Stupići prikazuju aritmetičku sredinu, a okomite crte s graničnikom standardnu devijaciju.

## 6. RASPRAVA

Oksidativni stres je stanje u kojem je narušena ravnoteža između stvaranja reaktivnih kisikovih spojeva i antioksidativnog sustava odgovornog za njihovo uklanjanje. ROS su nestabilni i vrlo reaktivni spojevi nastali kao produkti staničnog metabolizma koji reagiraju sa svim makromolekulama u stanici te mogu narušiti njihovu strukturu i uzrokovati oštećenje ili smrt stanice (24). Oksidativni stres predstavlja jedan od ključnih faktora rizika za razvoj bolesti krvnih žila. Arterijska hipertenzija značajno povećava rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti i povezana je sa povišenom razinom pojedinih biljega oksidativnog stresa (21). Iako se u prošlosti povišen krvni tlak više povezivao sa odraslom populacijom, novija istraživanja ukazuju na sve veći porast esencijalne AH među djecom (3). Esencijalna hipertenzija nepoznatog je podrijetla, a neki od rizičnih čimbenika za njen nastanak su prehrana bogata solju i pretilost koji uzrokuju endotelnu disfunkciju i povećanje oksidativnog stresa (15).

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti razinu oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta pomoću spektrofotometrijskih metoda TBARS (engl. *Thiobarbituric acid reactive substances*) i FRAP (engl. *Ferric reducing ability of plasma*) kod djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom te ju usporediti s vrijednostima kod zdrave normotenzivne djece. Za potrebe ove studije korišteni su pohranjeni uzorci seruma, skupljeni u prethodno provedenoj studiji. U obje skupine je bio podjednak broj ispitanika ( $N = 20$ ), oba spola, prosječne životne dobi od 15 godina. Osim krvnog tlaka, ispitanicima su određivani i antropometrijski parametri koji su pokazali kako djeca oboljela od esencijalne arterijske hipertenzije imaju značajno veći ITM (NT 23,1 (5,8) vs. HT 29,9 (6,9)  $\text{kg}/\text{m}^2$ ;  $p = 0,001$ ), dok se omjer stuk/bokovi nije razlikovao između skupina ( NT 0,82 (0,12) vs. HT 0,83 (0,07);  $p = 0,228$ ). Uzimajući u obzir da pretilost u dječjoj dobi značajno povećava rizik za nastanak arterijske hipertenzije, indeks tjelesne mase predstavlja jednu od glavnih odrednica krvnog tlaka u općoj populaciji (27). Pojedine studije određivale su utjecaj pretilosti na endotelnu funkciju i oksidativni stres. U svom istraživanju, Selvaraju i suradnici su pokazali povećanu razinu biljega oksidativnog stresa u uzorcima urina pretile djece što potvrđuje korelaciju između prekomjerne tjelesne mase i povećanog oksidativnog stresa. U ovoj studiji su biljezi oksidativnog stresa endotelin-1 i 8-hidroksi-2'-deoksigvanozin (8-OHdG) bili povećani u urinu djece prekomjerne tjelesne mase, dok je koncentracija 8-isoprostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$  (8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) bila značajno veća u pretile djece u odnosu na djecu normalne tjelesne mase (28).

U ovoj našoj studiji pomoću TBARS i FRAP metoda određivana je razina oksidativnog stresa, odnosno antioksidativnog kapaciteta, kod djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije

u odnosu na normotenzivnu djecu. TBARS metoda omogućava mjerenje peroksidativnog oštećenja do kojega dolazi zbog povećanog stvaranja slobodnih radikala. Pokazalo se da je povećana razina MDA, produkta lipidne peroksidacije povezana sa povećanim rizikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti te se određivanje koncentracije MDA često koristi upravo za određivanje razine oksidativnog stresa. TBARS metoda temelji se na spektrofotometrijskom mjerenju kompleksa MDA-TBA koji nastaje reakcijom između malondialdehida i tiobarbiturne kiseline. Međutim, i druge tvari koje sadrže karbonilnu skupinu, poput ugljikohidrata, aminokiselina, bilirubina, albumina, i drugih aldehida, također mogu reagirati sa TBA formirajući komplekse slične apsorbancije koji potom mogu utjecati na spektrofotometrijsko očitavanje rezultata. Zbog mogućih interferencija TBARS metoda smatra se nedovoljno specifičnom i slabo osjetljivom. Kako bi se povećala specifičnost testova, za određivanje koncentracije produkata lipidne peroksidacije mogu se koristiti i druge metode kao što su plinska kromatografija, tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High performance liquid chromatography*, HPLC) te plinska kromatografija - masena spektrometrija (engl. *Gas chromatography-mass spectrometry*, GC-MS). Međutim, zbog velike razlike u cijeni u usporedbi sa kolorimetrijskim metodama, ove se metode rijetko koriste u rutinskoj analizi velikog broja uzoraka (29). Iako rezultati naše studije nisu potvrdili početno postavljenu hipotezu, ranije provedeno istraživanje na Katedri za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Osijek u kojem se koristila druga metoda za dokazivanje biljega oksidativnog stresa, pokazalo je njegovu značajno povišenu razinu u hipertenzivne djece u odnosu na normotenzivnu. U navedenoj studiji, 8-iso-prostaglandin F<sub>2</sub>α (8-iso-PGF<sub>2</sub>α), koji nastaje kao produkt lipidne peroksidacije, poslužio je kao marker za procjenu vaskularnog oksidativnog stresa. Izmjerena koncentracija 8-iso-PGF<sub>2</sub>α u serumu određena ELISA metodom (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) bila je povećana kod djece oboljele od esencijalne AH u odnosu na zdravu normotenzivnu djecu što je ukazalo na povećanu razinu oksidativnog stresa (30). Yavuzer i suradnici određivali su utjecaj starenja na razinu lipidne peroksidacije i antioksidativnog kapaciteta u hipertenzivnih ispitanika. Produkti lipidne peroksidacije, lipidni hidroperoksid i 8-iso-PGF<sub>2</sub>α bili su povećani kod mlađih i starijih hipertenzivnih ispitanika u odnosu na normotenzivne, dok je antioksidativni kapacitet bio značajno smanjen. Rezultati tog istraživanja pokazali su da je TBARS metoda bila dovoljno osjetljivija za određivanje oksidativnog stresa u starijih hipertenzivnih ispitanika, dok je određivanje 8-iso-PGF<sub>2</sub>α imalo najveću osjetljivost u svim dobnim skupinama (31). Napredni produkti oksidacije proteina (engl. *advanced oxidation protein products*, AOPP) su noviji biomarkeri oštećenja proteina koji mogu potaknuti oksidativni stres i upalu, te biti povezani s razvojem bolesti krvnih žila

(32). Villalpando Sánchez i suradnici određivali su povezanost AOPP-a i kardiovaskularnih čimbenika rizika kod mladih te su pokazali povećanu koncentraciju AOPP-a u plazmi ispitanika s povećanim vrijednostima ITM-a, omjera struk/bokovi i arterijskog tlaka (33).

Dobro je poznato da arterijska hipertenzija, kao glavni čimbenik rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti, doprinosi razvoju endotelne disfunkcije i oksidativnog stresa. Za razliku od biomarkera oksidativnog stresa 8-iso-PGF $2\alpha$ , koji je povećan u serumu djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije u odnosu na normotenzivnu djecu, rezultati ove naše studije pokazuju da odabrane metode, TBARS i FRAP, nisu dovoljno osjetljive metode za primjenu u svrhu dokazivanja povećane razine vaskularnog oksidativnog stresa kod djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije.

## 7. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata utvrđeno je da početno postavljena hipoteza nije potvrđena te se može zaključiti sljedeće:

- Nema statistički značajne razlike u razini antioksidativnog kapaciteta mjenog FRAP metodom između djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije i zdrave normotenzivne djece.
- Razine biomarkera oksidativnog stresa mjerene TBARS metodom ne razlikuju se između djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije i zdrave normotenzivne djece.
- TBARS i FRAP metode nisu dovoljne osjetljive metode za određivanje biomarkera oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta kod djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije.

## 8. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi razine antioksidativnog kapaciteta i oksidativnog stresa pomoću FRAP (engl. *Ferric reducing ability of plasma*) i TBARS (engl. *Thiobarbituric acid reactive substances*) metoda kod djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije u odnosu na zdravu normotenzivnu djecu.

**Nacrt studije:** Istraživanje je provedeno kao presječna studija.

**Ispitanici i metode:** U istraživanju je sudjelovalo 40 ispitanika, u dobi od 7 do 18 godine, oba spola, koji su bili podijeljeni u dvije skupine, normotenzivnu djecu s urednim vrijednostima krvnog tlaka (NT skupina) i hipertenzivnu djecu koja su oboljela od esencijalne arterijske hipertenzije (HT skupina). Nakon provedenih antropometrijskih i hemodinamskih mjerenja, iz pohranjenih uzoraka krvi ispitanika, pomoću spektrofotometrijskih metoda TBARS i FRAP određene su razine oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta.

**Rezultati:** Izmjerene vrijednosti omjera struk/bokovi i pulsa nisu se značajno razlikovale između NT i HT skupine, dok su vrijednosti ITM-a te sistoličkog, dijastoličkog, i srednjeg arterijskog tlaka bile značajno veće u HT skupini u odnosu NT skupinu. TBARS i FRAP nije se značajno razlikovao između skupina.

**Zaključak:** TBARS i FRAP metode nisu dovoljne osjetljive metode za određivanje biomarkera oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta kod djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije.

**Ključne riječi:** antioksidativni kapacitet, djeca, esencijalna arterijska hipertenzija; FRAP; oksidativni stres; TBARS



## 9. SUMMARY

### MEASURING OF THE OXIDATIVE STRESS LEVEL IN CHILDREN WITH ESSENTIAL ARTERIAL HYPERTENSION

**Objectives:** The aim of this study was to determine antioxidant capacity and oxidative stress levels in children with essential arterial hypertension compared to healthy normotensive children by measuring levels of FRAP (Ferric reducing ability of plasma) and TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances).

**Study Design:** The study was conducted as a cross-sectional study.

**Participants and methods:** The study included 40 subjects aged from 7 to 18 of both sexes that were divided in two groups, normotensive children with normal blood pressure levels (NT) and hypertensive children suffering from essential arterial hypertension (HT). After anthropometric and hemodynamic measurements were taken, the levels of oxidative stress and antioxidant capacity were determined from stored blood samples by using spectrophotometric methods TBARS and FRAP.

**Results:** The measured values of waist/hip ratios and heart rate did not differ significantly between the NT and HT groups, while the values of BMI and systolic, diastolic, and mean arterial pressure were significantly higher in the HT group compared to the NT group. There were no statistically significant differences in TBARS and FRAP levels in hypertensive children compared to normotensive.

**Conclusion:** TBARS and FRAP methods are not sensitive enough methods for the determination of biomarkers of oxidative stress and antioxidant capacity in children with essential arterial hypertension.

**Key words:** antioxidant capacity, children, essential arterial hypertension; FRAP; oxidative stress; TBARS

**10. LITERATURA**

1. Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, Berlowitz DR, Cífková R, Dominiczak AF i sur. Hypertension. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4:18014.
2. Tziomalos K. Secondary Hypertension: Novel Insights. *Curr Hypertens Rev*. 2020;16(1):11-11.
3. Ashraf M, Irshad M, Parry NA. Pediatric hypertension: an updated review. *Clinical hypertension*. 2020; 26(22):1-6.
4. Gupta Malhotra M, Banker A, Shete S, Hashmi SS, Tyson JE, Barratt MS i sur. Essential Hypertension vs. Secondary Hypertension Among Children. *American Journal of Hypertension*. 2015;28(1):73-80.
5. Bao W, Threefoot SA, Srinivasan SR, Berenson GS. Essential hypertension predicted by tracking of elevated blood pressure from childhood to adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Am J Hypertens*. 1995;8(7):657-65.
6. Valent Morić B. Arterijska hipertenzija u djece: novi hrvatski postupnik za dijagnostiku i liječenje. *Liječnički vjesn*. 2022;144(1):207-13.
7. Jelakovic B, Vrdoljak A, Pecin I, Buzjak V, Karanovic S, Ivkovic V i sur. Less salt – more health. *Croatian Action on Salt and Health (CRASH)*. 2016;2(2):61-68.
8. He J, Huang JF, Li C, Chen J, Lu X, Chen JC i sur. Sodium Sensitivity, Sodium Resistance, and Incidence of Hypertension: A Longitudinal Follow-Up Study of Dietary Sodium Intervention. *Hypertension*. 2021;78(1):155-164.
9. Balafa O, Kalaitzidis RG. Salt sensitivity and hypertension. *J Hum Hypertens*. 2021;35:184-192.
10. Drenjančević-Perić I, Jelaković B, Lombard JH, Kunert MP, Kibel A, Gros M. High-Salt Diet and Hypertension: Focus on the Renin-Angiotensin System. *Kidney Blood Press Res*. 2011;34(1):1-11.
11. Guyton AC, Hall JE. *Medicinska fiziologija*. 13. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2017.
12. Boegehold MA, Drenjančević I, Lombard JH. Salt, Angiotensin II, Superoxide, and Endothelial Function. *Comprehensive Physiology*. 2016;6:215-254.
13. Čavka A, Tadžić R, Grizelj I, Unfirer S, Mihaljević Z, Mihalj M, et al. Endotelna funkcija - funkcionalni pokazatelj kardiovaskularnih rizičnih čimbenika. *Med Vjesn*. 2012; 44(1-4):135-46.

14. Patik JC, Lennon SL, Farquhar WB, Edwards DG. Mechanisms of Dietary Sodium-Induced Impairments in Endothelial Function and Potential Countermeasures. *Nutrients*. 2021;13(1):270.
15. Sabri M., Gheissari A., Mansourian M., Mohammadifard N., Sarrafzadegan N. Essential hypertension in children, a growing worldwide problem. *J Res Med Sci*. 2019;24:109.
16. Smith JD, Fu E, Kobayashi MA. Prevention and Management of Childhood Obesity and Its Psychological and Health Comorbidities. *Annu Rev Clin Psychol*. 2020;16:351-378.
17. Lo JC, Chandra M, Sinaiko A, Daniels SR, Prineas JR, Maring B i sur. Severe obesity in children: prevalence, persistence and relation to hypertension. *International Journal of Pediatric Endocrinology*. 2014;3:1-8.
18. Griendling KK, Camargo LL, Rios FJ, Alves-Lopes R, Montezano AC, Touyz RM. Oxidative Stress and Hypertension. *Circ Res*. 2021;127(7):993-1020.
19. Korsager Larsen M, Matchkov VV. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. *Medicina*. 2016;52(1): 19-27.
20. Incalza MA, D'Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F i sur. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular pharmacology*. 2018;100:1-19.
21. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V i sur. Oxidative stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:8416763.
22. Touyz RM, Rios FJ, Alves-Lopes R, Neves KB, Camargo LL, Montezano AC. Oxidative Stress: A Unifying Paradigm in Hypertension. *Can J Cardiol*. 2020;36(5):659-670.
23. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*. 2010;4(8):118-26.
24. Parčetić-Kostelac I, Bešlo D, Šperanda M, Kopačin T, Jozinović A, Jović T, i sur. Oksidacijski stres u uvjetima intenzivnog fizičkog napora u ljudi i životinja. *Stočarstvo*. 2016;70(2):71-92.
25. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*. 2012;5(1):9-19.
26. Benzie IF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of „Antioxidant Power“: The FRAP Assay. *Analytical biochemistry*. 1996;239:70-76.
27. Litwin M, Kułaga Z. Obesity, metabolic syndrome, and primary hypertension. *Pediatr Nephrol*. 2021;36(4):825-837.

28. Selvaraju V, Ayine P, Fadamiro M, Babu JR, Brown M, Geetha T. Urinary Biomarkers of Inflammation and Oxidative Stress Are Elevated in Obese Children and Correlate with a Marker of Endothelial Dysfunction. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:9604740.
29. Gaggini M, Sabatino L, Vassalle C. Conventional and innovative methods to assess oxidative stress biomarkers in the clinical cardiovascular setting. *BioTechniques*. 2020;68(4):223-231.
30. Gorjanac M. Vaskularna reaktivnost u mikrocirkulaciji kože kod djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet; 2022. Dostupno na adresi: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:721325>. Datum pristupa: 3.7.2023.
31. Yavuzer H, Yavuzer S, Cengiz M, Erman H, Doventas A, Balci H i sur. Biomarkers of lipid peroxidation related to hypertension in aging. *Hypertens Res*. 2016;39:342-348.
32. Ou H, Huang Z, Mo Z, Xiao J. The Characteristics and Roles of Advanced Oxidation Protein Products in Atherosclerosis. *Cardiovasc Toxicol*. 2017;17(1):1-12.
33. Villalpando Sánchez DC, Alvarez Aguilar C, Gómez García A. Advanced oxidation protein products and their relationship with cardiovascular risk factors in young apparently healthy people. *Clin Investig Arterioscler*. 2017;29(5):209-215.

## 11. ŽIVOTOPIS

### Opći podaci:

Valentina Katačić, studentica 3.godine prijeddiplomskog sveučilišnog studija medicinsko laboratorijske dijagnostike

Datum i mjesto rođenja: 13. kolovoza 2001., Beograd, Republika Srbija

Adresa stanovanja: Valjevska 8, 25000 Sombor, Republika Srbija

Adresa e-pošte: vkatacic@mefos.hr

### Obrazovanje:

2008. – 2016. Osnovna škola „Ivo Lola Ribar“, Sombor

2016. – 2020. Srednja medicinska škola „Dr Ružica Rip“, Sombor, smjer farmaceutski tehničar

2020. – 2023. Medicinski fakultet Osijek, prijeddiplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijska dijagnostika