

ESTIMAREA UNOR MARKERI AI DISFUNȚIEI ENDOTELIALE LA COPIII HIPERTENSIVI SUPRAPONDERALI ȘI OBEZI CU ISTORIC FAMILIAL AGRAVAT

Lilia BICHI-THOREAC – cercetător științific,
Nelea MĂTRĂGUNĂ – dr. șt. med., conf. cercetător,
Svetlana COJOCARI – dr. șt. med.

IMSP Institutul de Cardiologie.
IMSP Spitalul Clinic Municipal pentru Copii „V. Ignatenco”
e-mail: lilia110976@rambler.ru

Rezumat

Disfuncția endotelială reprezintă una din verigile patogenice ale hipertensiunii arteriale (HTA) esențiale, iar anamnestical familial agravat constituie un factor de risc puternic corelat cu HTA esențială. Scopul studiului a fost estimarea nivelului seric al homocisteinei (*Hcy*), oxidului nitric (NO), S-nitrosotiolilor ca markeri ai disfuncției endoteliale la copiii hipertensivi cu exces ponderal și cu un istoric familial agravat prin boli cardiovasculare (BCV) până la vârsta de 45 ani la gradul I de rudenie. **Material și metode:** Studiul a inclus 75 copii hipertensivi supraponderali/ obezi (vârsta medie –14,6 ani), care au fost divizați în funcție de anamnestical eredocolateral agravat (AEC) prin BCV până la vârsta de 45 ani la gradul I de rudenie astfel: lotul I – 35 copii (22 băieți; 13 fete) fără AEC, lotul II – 40 copii (28 băieți; 12 fete) cu AEC. Lotul de control l-a constituit 35 de copii normotensivi normoponderali, practic sănătoși, similari după vârstă și gen. NO s-a apreciat prin metoda colorimetrică prin dozarea ionului de nitrit utilizând reactivul Griss. S-nitrosotiolii s-a determinat prin metoda fluorescenței [16]. *Hcy* s-a apreciat prin metoda cromatografiei lichid-diene. Drept valori normale ale *Hcy* s-au considerat limitele de 4-9 $\mu\text{mol/L}$ (NHANES III). **Rezultatele studiului:** Am obținut valori serice, semnificativ statistic, mai mari ale *Hcy* ($15,86 \pm 1,13$ vs $12,3 \pm 1,33$ $\mu\text{mol/L}$; $p < 0,05$) la copiii cu un AEC (+) față de copii fără AEC (-), iar valorile serice ale NO au fost, semnificativ statistic, mai mici atât la copiii cu o AEC (+), cât și la copii fără AEC (-), în raport cu lotul martor ($74,4 \pm 1,50$ și $73,99 \pm 1,47$ vs $91,51 \pm 0,49$ $\mu\text{mol/L}$; $p < 0,001$). **Concluzie:** Anamnestical eredocolateral agravat, hiperhomocisteinemia și disfuncția endotelială joacă un rol important în realizarea HTA la copiii cu exces ponderal, iar *Hcy*, S-nitrosotiolii și NO pot fi utilizați drept markeri ai disfuncției endoteliale la copiii hipertensivi supraponderali și obezi cu istoric familial agravat.

Cuvinte-cheie: hipertensiune arterială, obezitate, copii, disfuncție endotelială.

Summary. Determination of some markers of endothelial dysfunction in children with arterial hypertension overweight/obesity with family history burdened by cardiovascular pathology

Endothelial dysfunction is considered one of the pathogenic links in the realization of AHT, but burdened family history is a strong unchangeable risk factor correlated to AHT at children. The objective of the investigation: Determination of the plasma level of homocystein (*Hcy*), nitric oxide (NO) and S-nitrosothiols at children with arterial hypertension, suffering from overweight and obesity with family history burdened by cardiovascular pathology, at first generation relatives up to the age of 45, as markers of endothelial dysfunction. **Material and Methods:** The research included 75 children (average age – 14,6) divided into 2 groups according to the presence of the family history (FH) burdened by cardiovascular pathology. Group I – 31 hypertensive children, with obesity and overweight, FH-; group II – 40 hypertensive children, with obesity and overweight, FH+. HCY was appreciated through the liquid chromatography with ion exchange. Serum level of NO was determined through the colorimetric method. S-nitrosothiols were detected by the fluorescence method. **Results:** We found higher homocystein values in children with FH (+) (15.86 ± 1.13) compared with the FH group (-) (12.3 ± 1.33 $\mu\text{mol/L}$;) ($p < 0.05$). Serum nitric oxide (NO) was statistically significantly lower in children with FH (+), as well as in children with FH (-) – (74.4 ± 1.50 and 73.99 ± 1.47) in comparison with the control group (91.51 ± 0.49 $\mu\text{mol/L}$) ($p < 0.001$). **Conclusions:** The aggravated family history, hyperhomocysteinemia, and endothelial dysfunction play an important role in the development of hypertension in overweight children, and *Hcy*, S-nitrosothiols, and NO can be used as markers of endothelial dysfunction in children with aggravated family history.

Key words: arterial hypertension, obesity, children, endothelial dysfunction.

Резюме. Определение некоторых маркеров эндотелиальной дисфункции у детей с артериальной гипертензией, избыточной массой тела и отягощенным семейным анамнезом.

Эндотелиальная дисфункция является одним из патогенетических звеньев развития АГ, тогда как отягощенный анамнез в качестве неизменного фактора риска, достоверно коррелирует с АГ. Целью данного исследования было определение уровня сывороточного гомоцистеина, оксида азота (NO) и S-нитрозотиолов в качестве маркеров эндотелиальной дисфункции у детей с АГ и избыточной массой тела/ожирением и отягощенным анамнезом у родственников I поколения в возрасте до 45 лет. **Материал и методы.** В исследова-

ние были включены 75 детей с АГ и избыточной массой тела/ожирением (средний возраст 14,6 лет) разделенные на две группы в зависимости от наличия отягощенного анамнеза, сердечно-сосудистой патологией (ОСА): I группа -35 детей (22 мальчика, 13 девочек) ОСА(-), II группа-40 детей (28 мальчиков, 12 девочек), ОСА(+). Контрольную группу составили 35 детей, с нормальными АД и весом. Оксид азота оценивали колориметрическим методом с помощью дозирования нитрит-иона по реакции Грисса. S-нитрозотиолы были определены флуоресцентным методом [16], тогда как Гомоцистеин (*Hcy*) был установлен хроматографическим методом. Нормальный уровень гомоцистеина составил 4-9 мкмоль/л (NHANES III). **Результаты:** Более высокий уровень гомоцистеина был выявлен у детей с ОСА(+) (15,86±1,13) по сравнению с группой ОСА(-) (12,3±1,33 мкмоль/л) ($p<0,05$). Сывороточный оксид азота (NO) был достоверно ниже у детей с ОСА(+), а также и у детей ОСА(-) (74,4±1,50 и 73,99±1,47) по сравнению с контрольной группой (91,51±0,49 мкмоль/л) ($p<0,001$). **Выводы:** Отягощенный семейный анамнез, гипергомоцистеинемия и эндотелиальная дисфункция играют важную роль в развитии АГ у детей с избыточным весом, а *Hcy*, S-нитрозотиолы и NO могут быть использованы в качестве маркеров эндотелиальной дисфункции у детей с избыточной массой тела и ожирением.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, ожирение, дети, эндотелиальная дисфункция.

Introducere

Anamnesticul familial agravat prin BCV prezintă un important factor de risc nemodificabil pentru HTA esențială. Natura ereditară a HTA esențiale este bine stabilită de numeroase studii de familie, care demonstrează corelația dintre HTA la părinți și copiii acestora. Cercetările de domeniu au dovedit o dublare a prevalenței HTA la persoanele cu antecedente familiale pozitive [1, 2]. Studiile longitudinale au arătat că adolescenții normotensivi, părinții cărora au avut HTA, au înregistrat tulburări metabolice precoce, cum ar fi niveluri mai mari ale insulinei plasmaticе, LDL colesterol, hipertrigliceridemie, precum și valori mai crescute ale TAS și TAD [3]. Printre diferite mecanisme propuse pentru a explica relația dintre HTA și istoricul familial pozitiv prin HTA, se regăsesc reabsorbția renală proximală crescută, transportul majorat de sodiu-litiu, excreția scăzută acalcreinei urinare, nivelul ridicat al acidului uric, concentrațiile plasmaticе ridicate ale insulinei, stresul oxidativ, disfuncția endotelială, precum și factorii de mediu [4]. Totodată, predispoziția familială joacă un rol clinic important și în cazul asocierii HTA cu obezitatea [5]. Studiul realizat în Argentina pe un grup de 87 de adolescenți a demonstrat că adolescenții normotensivi cu părinți hipertensivi au avut TAS și indicele de masă corporală (IMC), semnificativ mai mari decât cei cu părinți normotensivi [4]. Obezitatea, în special distribuția excesivă de grăsime viscerală, activează un șir de mecanisme printre care și disfuncția endotelială [6].

Endoteliul vascular este un organ paracrin, endocrin și autocrin activ, care este indispensabil pentru reglarea tonusului vascular și pentru menținerea homeostaziei vasculare. Pe lângă faptul că acționează ca o membrană semipermeabilă, endoteliul este responsabil pentru reglarea stresului oxidativ prin eliberarea mediatorilor, cum ar fi NO, prostaciclina și endotelina, și controlul activității locale a angiotensinei II. Disfuncția endotelială este caracterizată prin alterarea funcțiilor de

reglare a endoteliului, rezultând o producție dezechilibrată a factorilor relaxanți și contractanți, mediatori procoagulanți și anticoagulanți sau substanțe care inhibă și promovează creșterea. Mecanismele fiziopatologice care duc la disfuncții endoteliale includ factorii de risc pentru bolile cardiovasculare cum ar fi hipercolesterolemia, consumul de tutun, rezistența la insulină, hiperglicemia, HTA, hiperhomocisteinemia sau o combinație a acestor factori. Reducerea producției și/sau biodisponibilitatea NO este considerată mecanismul central responsabil pentru disfuncția endotelială [7, 9]. Stabilitatea NO este dependentă de un număr de factori care predomină în mediul fiziologic, incluzând pH-ul, radicalii liberi derivați din oxigen (superoxid) și disponibilitatea grupării tiol. Tiolii stabilizează NO prin reducerea radicalilor liberi proveniți din oxigen disponibili. În plus, și în mod important, tiolii reacționează cu NO (prin NO^+ sau N_2O_3) pentru a forma tionitriți. Efectele biologice ale NO sunt în mare parte mediate prin S-nitrozilarea peptidelor și a proteinelor pentru producerea S-nitrozotiolilor bioactivi (S-Nitroso-cisteina, S-Nitroso-homocisteina, S-Nitroso-glutathione) [10, 11].

Un alt rol important în apariția disfuncției endoteliale se atribuie homocisteinei, aceasta fiind considerată factor de risc independent în apariția BCV, inclusiv a HTA. *Hcy* este un aminoacid non-proteic, biosintetizat din metionină prin S-adenozil metionină. Hiperhomocisteinemia se caracterizează printr-un nivel anormal ridicat de *Hcy* în sânge, iar prevalența acesteia în populația adultă atinge valori de până la 5-7%, fiind necunoscută la copii.

Conform studiului NHANES, hiperhomocisteinemia la copii este considerată ca valori ale *Hcy* serice de peste 9 $\mu\text{mol/L}$ [12, 13]. *Hcy* poate crește tensiunea arterială provocând leziuni directe ale celulelor endoteliale *in vitro*, reducerea biodisponibilității NO și stres oxidativ. Studiile populaționale au evidențiat că *Hcy* a fost asociată pozitiv atât cu tensiunea arterială sistolică, cât și cea diastolică [14].

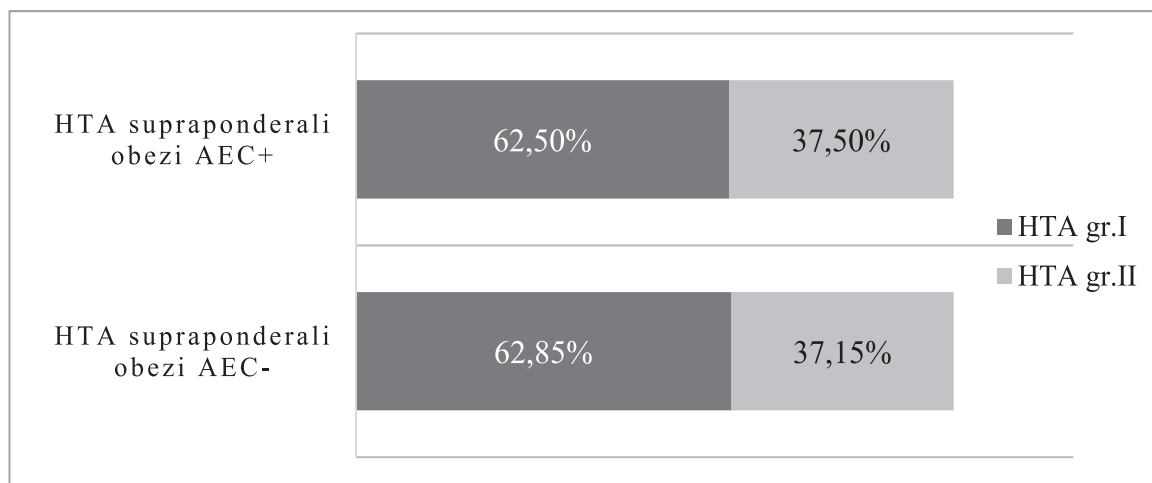


Fig. 1. Gradele HTA la copiii din loturile de cercetare

Notă: HTA – hipertensiune arterială; AEC – istoric familial agravat prin boli cardiovasculare.

Scopul studiului a fost estimarea nivelului seric al homocisteinei, oxidului nitric, S-nitrosotiolilor ca markeri ai disfuncției endoteliale la copiii hipertensivi cu exces ponderal și cu un istoric familial agravat prin boli cardiovasculare până la vârsta de 45 ani la gradul I de rudenie.

Material și metode. În cercetare au fost incluși 75 de copii hipertensivi supraponderali/obezi (vârsta medie 14,6 ani), divizați în două loturi de cercetare în funcție de prezența AEC agravat prin BCV: lotul I – 35 copii (22 băieți; 13 fete) fără AEC(-); lotul II – 40 copii (28 băieți, 12 fete) cu AEC(+). Lotul de control l-a constituit 35 de copii normotensivi normoponderali, practic sănătoși similari după vârstă și gen.

Colectarea anamneșticului familial a fost efectuat în baza chestionarului special elaborat. Diagnosticul și gradul HTA a fost stabilit conform Ghidului Societății Europene de Cardiologie [E. Lubre et al. *European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents* 2016] [15]. Prezența excesului ponderal la copiii incluși în cercetare a fost determinat utilizând IMC (indicele masei corporale). Gradul excesului ponderal a fost apreciat utilizând metoda percentilică conform CDC (*Centers for Diseases Control and Prevention USA*), luând în calcul vârsta și genul copilului. Au fost considerați supraponderali copiii cu un IMC între percentila 85-95, obezitate s-a considerat un IMC între percentila 95-99.

NO s-a apreciat prin metoda colorimetrică prin dozarea ionului de nitrit utilizând reactivul Griss. S-nitrosotiolii s-au determinat prin metoda fluorescenței, principiul metodei fiind bazat pe eliberarea și captarea NO₂ sub influența sulfamatului de amoniu [16]. Homocisteina s-a determinat prin metoda cromatografiei lichidiene de înaltă performanță cu schimb de ioni (AAA 339 M) în cadrul Laboratorului de sanodiagnosticare și sano-

prognosticare al Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM. Drept valori normale ale homocisteinei au fost considerate limitele de 4-9 μmol/L (NHANES III).

Rezultate

În funcție de gradul HTA am constatat că la 25 (62,5%) copii cu AEC(+) s-a diagnosticat HTA gr. I, iar la 15 (37,5%) copii – HTA gr. II. Tendințe similare s-au constatat și la copiii fără AEC(-): 22 copii (62,85%) au avut HTA gr. I, iar 13 (37,15%) copii – HTA gr. II (figura 1).

Un istoric agravat prin BCV la vârsta de până la 45 ani în prima generație de rudenie s-a constatat numai la 11(27,5%) dintre copii, pe când la 29 (72,5%) copii s-a determinat un anamneștic familial agravat, atât în generația I de rudenie, cât și în generația II (figura 2).

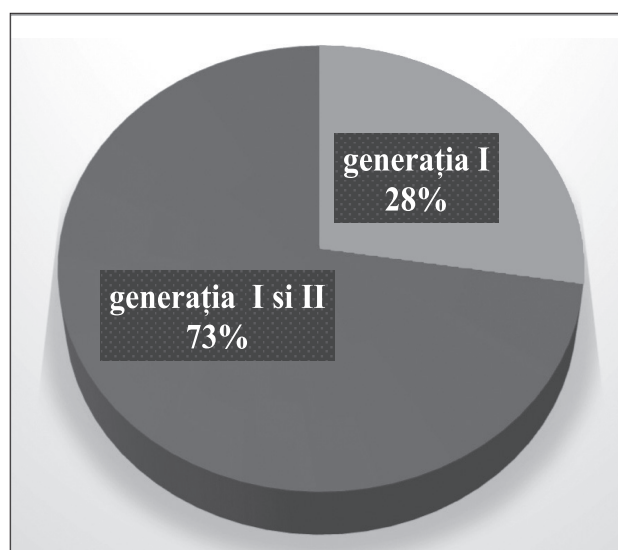


Fig. 2. Caracteristica lotului de cercetare în funcție de anamneșticul familial agravat

Tabelul 1

Istoricul familial agravat prin BCV la copiii incluși în studiu

| Anamnestice familial agravat | | | | | |
|--------------------------------|-----------|----------|---------|---------|-----------|
| | HTA | AVC | IMA | DZ | Obezitate |
| <i>Generația I de rudenie</i> | | | | | |
| Tata | 28 (70%) | 1(2,5%) | 1(2,5%) | 4(10%) | 8 (20%) |
| Mama | 8 (20%) | 1(2,5%) | | 3(7,5%) | 10 (25%) |
| Ambii părinți | 4(10%) | | | | 5 (12,5%) |
| <i>Generația II de rudenie</i> | | | | | |
| Bunei din partea tatălui | | | | | |
| Bunel | 5(12,5%) | 2(5%) | 7,5% | 1(2,5%) | 1(2,5%) |
| Bunica | 10 (25%) | | 1(2,5%) | 6 (15%) | 8 (20%) |
| Ambii bunei | 3 (7,5%) | | | | |
| Bunei din partea mamei | | | | | |
| Bunel | 3(7,5%) | 1(2,5%) | 1(2,5%) | 4(10%) | 1(2,5%) |
| Bunica | 7 (17,5%) | 3 (7,5%) | | 1(2,5%) | 4 (10%) |
| Ambii bunei | | | | | |

Notă: HTA – hipertensiune arterială; AVC – accident vascular cerebral; IMA – infarct miocardic acut; DZ – diabet zaharat.

În urma evaluării istoricului familial agravat prin HTA la vârsta de până la 45 ani în generația I de rudenie am constatat că 70% din tați, 20% din mame și în 10% cazuri ambii părinți au suportat HTA. Cât privește generația II de rudenie, un istoric familial agravat prin HTA s-a constatat preponderant pe linia tatălui (bunică 25%; bunel 12,5%; ambii bunei 7,5%). Un anamnestice agravat prin obezitate a fost determinat în generația I de rudenie la 25% din mame, 20% din tați, 12,5% la ambii părinți). Într-un procent mai mic s-a determinat un anamnestice familial agravat prin DZ, AVC și IMA în generațiile I și II de rudenie (tabelul 1).

La analiza nivelului *Hcy* serice am obținut valori serice, semnificativ statistic, mai mari ale *Hcy* ($15,86 \pm 1,13$ vs $12,3 \pm 1,33$ $\mu\text{ol/L}$; $p < 0,05$) la copiii cu un AEC(+), față de copii fără AEC(-). Totodată, valorile *Hcy* serice s-au constatat, semnificativ statistic, mai înalte atât la copiii cu AEC(+), cât și la copii fără AEC(-), în raport cu lotul martor ($6,75 \pm 0,23$ $\mu\text{ol/L}$) (figura 3).

Valorile serice ale NO au fost, semnificativ statistic, mai mici atât la copiii cu un AEC(+), cât și la copii fără AEC(-), în raport cu lotul martor ($74,4 \pm 1,50$ și $73,99 \pm 1,47$ vs $91,51 \pm 0,49$ $\mu\text{ol/L}$; $p < 0,001$). Deși es-

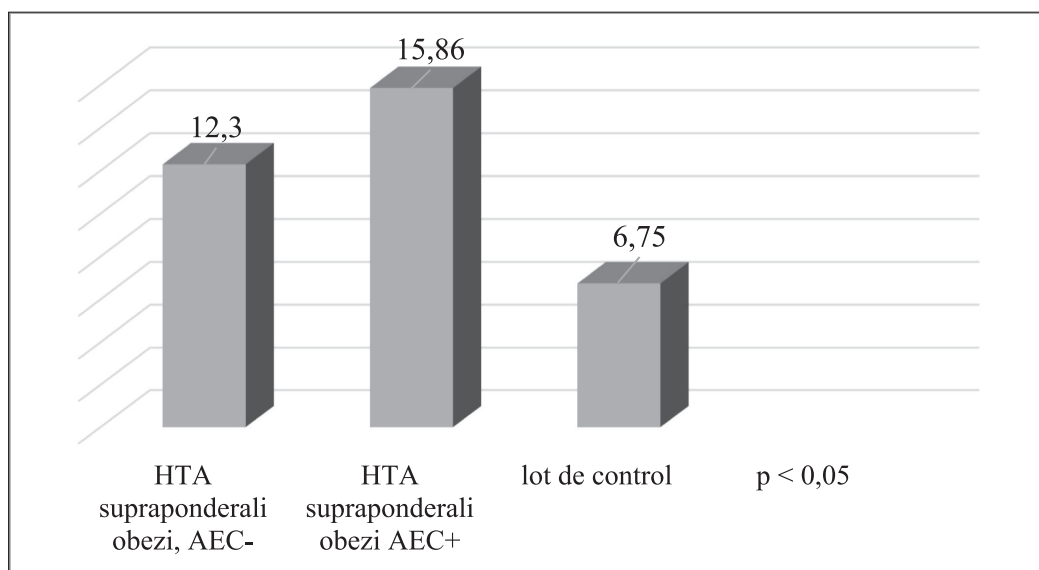


Fig. 3. Caracteristica comparativă în loturile de cercetare în funcție de valorile *Hcy* ($\mu\text{ol/L}$)serice

Notă: $p_{1,2} < 0,05$; $p_{1,3} < 0,001$; $p_{2,3} < 0,001$.

Tabelul 2

Caracteristica comparativă a NO și S-nitrosotiolilor în loturile de cercetare

| | Lotul I (35 copii) HTA, supraponderali, obezi, AEC- | Lotul II(40 copii) HTA, supraponderali, obezi, AEC+ | Lot de control (35 copii) | p |
|--|---|---|------------------------------|--|
| Oxidul nitric NO ($\mu\text{ol/L}$) | 73,99 \pm 1,47 | 74,40 \pm 1,50 | 91,51 \pm 0,49 | p1,2 >0,05 p1,3 <0,001 p2,3 <0,001 |
| S-nitrosotolioli ($\mu\text{M/l}$) | 3,969 \pm 0,150 | 4,022 \pm 0,182 | 2,402 \pm 0,015 | p1,2 >0,05 p1,3 <0,001 p2,3 <0,001 |

timarea comparativă a S-nitrosotiolilor în serul sangvin a copiilor din cercetare nu a avut semnificație statistică între loturi, totuși valori mai înalte s-au apreciat în lotul copiilor cu AEC(+) (4,02 \pm 0,18 $\mu\text{M/l}$), comparativ cu lotul copiilor fără AEC(-) (3,969 \pm 0,150 $\mu\text{M/l}$). Veridicitate statistică (p 1,3<0,001; p 2,3<0,001) s-a obținut la compararea nivelului seric al S-Nitrosotiolilor cu lotul de control (2,402 \pm 0,015 $\mu\text{M/l}$) (tabelul 2).

Discuții

Hipertensiunea arterială la copii rămâne în continuare o maladie gravă de sănătate în realizarea căreia sunt implicate multiple verigi patogenice. Disfuncția endotelială reprezintă una din mecanismele patogenice în realizarea acestei maladii, fiind insuficient studiată în populația pediatrică. Endoteliul vascular reprezintă o structură complexă activitatea căreia este reglată prin numeroși mediatori, cel mai studiat fiind oxidul nitric, rolul principal al căreia este menținerea elasticității arteriale. Totodată, a fost dovedită asocierea unui istoric familial agravat prin boli cardiovasculare cu realizarea HTA. Cercetările ultimilor ani denotă influența homocisteinei în repurtarea disfuncției endoteliale, iar patogenia leziunii vasculare cauzate de hiperhomocisteinemie include afectarea celulelor endoteliale, menținând astfel disfuncția endotelială. Aceste constatări sunt reflectate într-o serie de cercetări printre care o meta-analiză realizată de către Adriana Amorim De Farias Leal et. al., care a avut ca scop evaluarea rolului homocisteinemie în realizarea HTA la copiii cu vârsta 0-19 ani. În cadrul acestei cercetări au fost evidențiate trei studii care au asociat hiperhomocisteinemia și un istoric familial pozitiv pentru BCV și a evidențiat prezența accidentului vascular cerebral și HTA la părinții copiilor cu cele mai mari valori ale Hcy [17, 18]. Un alt studiu realizat în 2017 în Brazilia pe un număr de 483 de pacienți cu vârsta 7-15 ani a determinat o asociere pozitivă dintre valori plasmatiche ridicate ale homocisteinei cu excesul ponderal, și HTA [19]. În cercetarea noastră nivelul homocisteinei serice a fost semnificativ mai mare la copiii hipertensivi cu AEC(+), supraponde-

rali/obezi (15,86 \pm 1,13) vs grupul copiilor fără AEC(-) (12,3 \pm 1,33 $\mu\text{ol/L}$), p<0,05.

Oxidul nitric prezintă un vasodilatator-cheie derivat din endoteliu cu rol deosebit în menținerea consecvenței tonusului vascular. Disfuncția endotelială este caracterizată prin scăderea nivelului NO demonstrată prin-o multitudine de cercetări fundamentale. Efectele biologice ale oxidului nitric (NO) sunt în mare parte mediate prin S-nitrozilarea peptidelor și a proteinelor pentru producerea S-nitrosotiolilor bioactivi. Literatura de specialitate evidențiază mecanismele prin care nivelul seric al nitrosotiolilor se majorează ca mecanism compensator a unui nivel diminuat al NO. Aceste constatări au fost dovedite și în studiile clinice în populația matură, cercetări similare la copii fiind practic nule. Rezultatele obținute de către noi au demonstrat că valorile serice ale NO au fost, semnificativ statistic, mai mici atât la copiii cu un AEC (+), cât și la copii fără AEC(-), în raport cu lotul martor (74,4 \pm 1,50 și 73,99 \pm 1,47 vs 91,51 \pm 0,49 $\mu\text{ol/L}$; p<0,001). Totodată nivelul S-nitrosotiolilor în serul sangvin a fost mai înalt în lotul cu AEC(+) (4,02 \pm 0,18 $\mu\text{M/l}$), comparativ cu lotul fără AEC(-) (3,969 \pm 0,150 $\mu\text{M/l}$) și comparativ cu lotul martor (2,402 \pm 0,015 $\mu\text{M/l}$) (p1,3 <0,001; p2,3 <0,001).

Concluzie

Anamnestical familial agravat, hiperhomocisteinemia și disfuncția endotelială joacă un rol important în realizarea HTA la copiii cu exces ponderal, iar Hcy, S-nitrosotiolii și NO pot fi utilizați drept markeri ai disfuncției endoteliale la copiii hipertensivi supraponderali și obezi cu istoric familial agravat.

Bibliografie

1. Goldstein I., Shapiro D., Weiss R. *How family history and risk factors for hypertension relate to ambulatory blood pressure in healthy adults*. J. Hypertens. 2008, 26(2), p. 276–283.
2. Priyanga Ranasinghe, Dilini N. Cooray, Ranil Jayawardena, Prasad Katulanda. *The influence of family history of Hypertension on disease prevalence and associated*

metabolic risk factors among Sri Lankan adults. BMC Public Health. 2015,15, p. 576.

3. Ingaramo R., Mitrano A., Cataneo S. *Valoración de la estructura y función arterial en adolescentes normotensos de padres hipertensos.* Rev Fed ArgCardiol., 2009, 38, p. 200-206.

4. Roberto A. Ingaramo. *Cardiovascular Disorders and Hypertension in Normotensive Children and Adolescents with a Positive Family History of Cardiovascular Diseases.* Insights in Blood Pressure, 2016, 2, p. 11.

5. Louise Aas Nielsen, Tenna Ruest Haarmark, Nielsen Jens-Christian Holm. *The Impact of Familial Predisposition to Obesity and Cardiovascular Disease on Childhood Obesity.* Obes Facts. 2015, 8, p. 319–328.

6. Christy B. Turer, Tammy M. Brady, Sarah D. de Ferranti. *Obesity, Hypertension, and Dyslipidemia in Childhood Are Key Modifiable Antecedents of Adult Cardiovascular Disease.* Circulation. 2018, 137, p. 1256-1259.

7. Stefany B.A. Cau, Rita C. Tostes. *Vasoconstrictor Substances Produced by the Endothelium.* Endothelium and Cardiovascular Diseases, 2018, p. 115-125.

8. Gino Seravalle, Guido Grassi. *Review Obesity and hypertension.* Pharmacological Research, 2017, 122, p. 1-7.

9. Юлия Сергеевна Мельникова, Тамара Петровна Макарова. *Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических болезней.* Казанский медицинский журнал, 2015, 96(4), с. 659-665.

10. Taiming Liu et al. *Nitrite potentiates the vasodilatory signaling of S-nitrosothiols.* Nitric Oxide, 2018, 75, p. 60–69.

11. Douglas D.Thomas. *Differential mitochondrial*

dinitrosyliron complex formation by nitrite and nitric oxide. Redox Biology. 2018, 15, p. 277-283.

12. NHANES III. Aviva Must, Paul F. Jacques, Gail Rogers et al. *Serum Total Homocysteine Concentrations in Children and Adolescents: Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III).* J. Nutr. 2003, 133(8), p. 2643-2648.

13. Baszczuk A., Kopczyński Z., Thielemann A. *Endothelial dysfunction in patients with primary hypertension and hyperhomocysteinemia.* Postepy Hig Med Dosw. 2014, 68, p. 91–100.

14. Neha Mishra. *Hyperhomocysteinemia: A Risk of CVD.* International Journal of Research in Biological Sciences, 2016, 6(1), p. 13-19.

15. E. Lubre et al. *European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents,* 2016.

16. V. Gudumac, V. Niguleanu, Caragia Svetlana, Olga Tagadiuc. *Investigații Biochimice.* Elaborare metodică. 2008, p. 45.

17. Adriana Amorim de Farias Lealet.al. *Homocysteine and Cardiovascular Risk Factors in Overweight or Obese Children and Adolescents.* Health., 2015, 7, p. 3.

18. Adriana Amorim De Farias Leal, Ástrid Camêlo Palmeira. *Homocysteine: cardiovascular risk factor in children and adolescents?* Rev. Assoc. Med. Bras., 2013, 59, p. 6.

19. Ribasde Farias Costa, Priscila Kinra, Sanjay, D'Almeida, Vânia, Oliveira Assis, Ana Marlúcia. *Serum homocysteine and cysteine levels and changes in the lipid profile of children and adolescents over a 12-month follow-up period.* Clinical Nutrition ESPEN., 2017, 21, p. 13-19.