

Ocena wybranych parametrów równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej u dzieci chorych na astmę oskrzelową i atopowe zapalenie skóry

Selected parameters of the oxidative-antioxidative balance in children with bronchial asthma and atopic dermatitis

Magdalena Lodwich¹, Ewa Romuk², Bożena Echolc¹, Jacek Karpe³,
Edyta Machura⁴, Ewa Birkner², Bogdan Mazur¹

STRESZCZENIE

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, ²Katedra i Zakład Biochemii, ³Katedra Anestezjologii oraz ⁴Katedra Pediatrii Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Celem pracy była ocena aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych we krwi dzieci chorych na astmę oskrzelową i atopowe zapalenie skóry.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono w grupie 58 dzieci, u których rozpoznano astmę oskrzelową i atopowe zapalenie skóry. Dzieci były leczone w Poradni Alergologiczno-Pulmonologicznej Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego Nr 1 im. S. Szyszko w Zabrze. Czas leczenia ambulatoryjnego wahał się od 1 roku do 16 lat. Dla oceny systemu antyoksydacyjnego badano aktywność enzymów o właściwościach antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i jej izoenzymów: (Cu/ZnSOD), (MnSOD), peroksydazy glutationowej (GPx), S-transferazy glutationowej (GST) oraz katalazy (CAT). Dla oceny systemu oksydacyjnego oznaczono stężenie dialdehydu malonowego (MDA), które informuje o stopniu peroksydacji lipidów. Oznaczenia zostały wykonane w osoczu i lizacie.

WYNIKI

Stwierdzono, że dzieci z astmą oskrzelową mają istotnie statystycznie niższą średnią wartość aktywności peroksydazy glutationowej w lizacie w porównaniu ze średnią wartością w grupie kontrolnej. Wykazano również, że dzieci z astmą oskrzelową mają istotnie statystycznie niższą średnią wartość aktywności S-transferazy glutationowej w lizacie w porównaniu ze średnią wartością u dzieci z AZS. Nie wykazano zmian w wartościach stężenia dialdehydu malonowego i aktywności enzymów antyoksydacyjnych oznaczonych w lizacie i osoczu w grupie dzieci z astmą oskrzelową oraz w grupie dzieci z AZS.

ADRES

DO KORESPONDENCJI:

Prof. dr hab. n. med. Bogdan Mazur
Katedra i Zakład
Mikrobiologii i Immunologii
Wydziału Lekarskiego
z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym
w Zabrze
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach
ul. Jordana
41-808 Zabrze
tel./fax 32 370 43 15
e-mail: bmazur@sum.edu.pl

Ann. Acad. Med. Siles. 2012, 66, 1, 16–23
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach
ISSN 0208-5607

WNIOSEK

U dzieci chorych na astmę oskrzelową i atopowe zapalenie skóry zaobserwowano zaburzenia w układzie oksydacyjno-antyoksydacyjnym, manifestujące się zmianami w zakresie niektórych wskaźników układu antyoksydacyjnego.

SŁOWA KLUCZOWE

astma oskrzelowa, atopowe zapalenie skóry, stres oksydacyjny

ABSTRACT

The aim of study was to evaluate the involent of selected parameters of oxidative-antioxidative system in children with bronchial asthma and atopic dermatitis.

MATERIAL AND METHODS

The research was carried out in the group of 58 children who had been diagnosed with bronchial asthma and atopic dermatitis. The children were undergoing treatment in the Alergological and Pulmonological Outpatient Clinic at the S. Szyszko Independent State Clinical Hospital No. 1 in Zabrze of the Silesian Medical University in Katowice. Periods of their outpatient treatment ranged from 1 to 16 years. To evaluate the oxidative/antioxidative balance, the activity of antioxidant enzymes was analysed. The considered enzymes were: superoxide dismutase (SOD) and its isozymes (Cu/ZnSOD), (MnSOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione S-transferase (GST) and catalase (CAT). To evaluate the oxidation system, first the concentration of malondialdehyde (MDA) was determined in the plasma and lysate, revealing the level of lipid peroxidation.

RESULTS

It was established that children with bronchial asthma have a statistically significant lower average activity value of glutathione peroxidase in the lysate as compared to the average value in the control group. Furthermore, children with bronchial asthma turned out to have a statistically significant lower average activity value of glutathione S-transferase in the lysate as compared to the average values in children with AD. Moreover, there were no changes in the values of malondialdehyde concentration or antioxidant enzyme activity in the analysed lysate and plasma in the groups of children with bronchial asthma in respect to their age.

CONCLUSION

Disturbances in the oxidative-antioxidative system were observed in children suffering from bronchial asthma and atopic dermatitis, which manifested themselves by changes in certain indicators of the antioxidative system.

KEY WORDS

bronchial asthma, atopic dermatitis, oxidative stress

WSTĘP

Udział reakcji wolnorodnikowych został wykazany w patogenezie wielu chorób o podłożu zapalnym. W licznych doniesieniach sugeruje się udział stresu oksydacyjnego w prze-

wlekłym procesie zapalnym, jaki ma miejsce w przebiegu atopowego zapalenia skóry (AZS) i astmy oskrzelowej [1,2] oraz zmian w równowadze oksydacyjno-antyoksydacyjnej w przebiegu tych chorób [3,4]. Przez stres oksydacyjny rozumie się przesunięcie równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej ustroju

w kierunku procesów utleniania. Za reakcje utleniania odpowiedzialne są reaktywne formy tlenu (RFT) o wysokiej reaktywności chemicznej. Źródłem RFT w procesie zapalnym w przebiegu AZS i astmy są liczne komórki, głównie eozynofile i neutrofile. Rola RFT w patogenezie AZS i astmy oskrzelowej to szereg wzajemnych zależności między mediatorami zapalenia i cytokinami produkowanymi przez komórki, które uczestniczą w procesie zapalenia alergicznego [5,6]. Uważa się, że reaktywne formy tlenu w astmie pełnią rolę mediatorów zapalenia astmatycznego i wykazują bezpośrednie działanie proastmatyczne. Powodują skurcz mięśni gładkich oskrzeli, zwiększają obrzęk, wzrost wydzielania śluzu, działają uszkadzająco na mikrokrażenie płucne, co czyni je współodpowiedzialnymi za objawy astmy oskrzelowej [7].

Przeciwwagą dla szkodliwego działania RFT jest bariera antyoksydacyjna. Składa się ona z enzymatycznego i nieenzymatycznego systemu obrony antyoksydacyjnej. Enzymatyczny system antyoksydacyjny tworzą takie enzymy, jak: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GPx) i S-transferaza glutationowa (GST). Zaburzeniom stanu równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej towarzyszy niewydolność układu antyoksydacyjnego [8]. Porównanie wyników badań dotyczących równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej, uzyskanych w różnych ośrodkach jest trudne, głównie z uwagi na to, iż ich autorzy posługiwali się różnorodnymi metodami oraz badali różne konfiguracje oznaczanych parametrów. Badano udział reaktywnych form tlenu w procesach zachodzących w astmie zarówno we krwi [9,10], jak i w płynie wyścielającym pęcherzyki płucne, uzyskanym metodą płukania oskrzelowo-pęcherzykowego [11,12].

Badania własne obejmowały ocenę zaburzeń równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej u dzieci w przebiegu AZS i astmy oskrzelowej. System antyoksydacyjny oceniano badając aktywność enzymów o właściwościach antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i jej izoenzymów: (Cu/ZnSOD), (MnSOD), peroksydazy glutationowej (GPx), S-transferazy glutationowej (GST) oraz katalazy (CAT). Dla oceny systemu oksydacyjnego oznaczono stężenie dialdehydu malonowego (MDA), które informuje o stopniu peroksydacji lipidów. Oznaczenia zostały wykonane w osoczu i lizacie krwinek czerwonych.

MATERIAŁ

Badania przeprowadzono w grupie 58 dzieci, u których rozpoznano astmę oskrzelową oraz AZS. Dzieci były leczone w Poradni Alergologiczno-Pulmonologicznej Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego Nr 1 im. S. Szyszko w Zabrze. Czas leczenia ambulatoryjnego wahał się od 1 roku do 16 lat.

Grupę I stanowiło 38 dzieci chorych na astmę w wieku od 5,5 do 17 roku życia (średnia wieku: $9,86 \pm 3,48$ roku). Czas trwania choroby wahał się od 1,0 do 10,6 lat (średni czas trwania choroby: $5,46 \pm 0,54$ roku). Dzieci z grupy badanej miały objawy typowe dla astmy, takie jak: duszność, świszczący oddech, kaszel i uczucie ściskania w klatce piersiowej. Występowanie astmy potwierdzono na podstawie dodatnich przesiewowych testów z jednym lub więcej alergenem i/lub obecności sIgE w surowicy. Zgodnie z przyjętymi kryteriami GINA 2002 [13], w badanej grupie dzieci rozpoznano następujące rodzaje astmy: epizodyczną u 8 dzieci, przewlekłą lekką u 16, umiarkowaną u 12 oraz ciężką u 2. U dzieci z objawami astmy przewlekłej stosowano wziewne glikokortykosteroidy (WGKS) w rekomendowanej przez GINA 2002 dawce, zależnie od stopnia ciężkości choroby. Dawka WGKS w momencie włączenia do badania wahała się w granicach 100–1000 μg . Czas terapii wynosił od 0,2 do 12 lat (średni czas terapii: $4 \pm 0,5$ roku).

Grupa II obejmowała 20 dzieci chorych na AZS w wieku 5–16 lat (średnia wieku: $8,08 \pm 3,11$ roku). Czas trwania choroby wahał się od 1,4 roku do 10 lat (średni czas trwania choroby: $8,11 \pm 0,79$ roku). U wszystkich dzieci w badanej grupie chorobę rozpoznano przed 5 rokiem życia, opierając się na kryteriach diagnostycznych sformułowanych przez Hanifina i Rajkę [14]. Wszystkie badane dzieci spełniały kryteria tzw. wyprysku atopowego, czyli obecności sIgE w surowicy i/lub w punktowych testach skórnych (PTS). Stopień ciężkości choroby został oceniony metodą SCORAD (Severity Scoring of Atopic Dermatitis). W metodzie tej w sposób punktowy oceniano rozległość (według reguły dziewiątek), nasilenie zmian skórnych, takich jak: rumień, obrzęk/grudki, nadżerki, lichenizacja, sączenie/strupy, suchość skór (skala: 0–3) oraz występowanie objawów subiektywnych, tzn. uczucie świądu i zaburzenia snu (skala analogowa: 0–100) [15]. Wszystkie badane dzieci stosowały miejscowo

obojętne emolienty oraz maści glikokortykosteroidowe. U dzieci, u których zastosowane leczenie emolientami było niewystarczające, 7 dni przed pobraniem krwi do badań stosowano wyłącznie maści glikokortykosteroidowe o słabej mocy (1% hydrokortison).

Grupę kontrolną stanowiło 22 dzieci zdrowych w wieku 5–12 lat (średnia wieku: $9,18 \pm 2,88$ roku) z ujemnym wywiadem rodzinnym i osobniczym w kierunku chorób atopowych, prawidłowym stężeniem IgE, ujemnymi punktowymi testami skórnymi oraz nieobecny sIgE w surowicy.

METODY

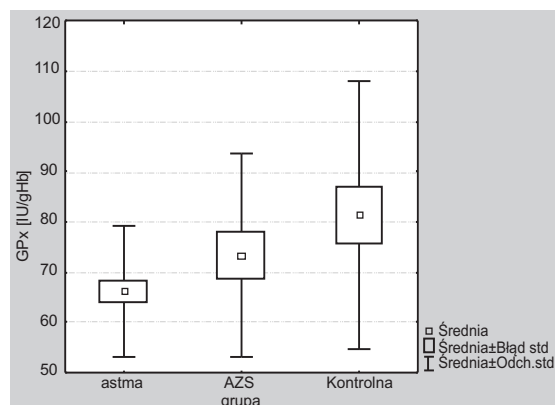
Stężenie dialdehydu malonowego (MDA) oznaczano w osoczu i lizacie krwinek czerwonych, wykorzystując reakcję z kwasem tiobarbiturowym według Ohkawy [16]. Dla oznaczenia aktywności peroksydazy glutationowej (GPx) w lizacie zastosowano metodę według Paglia, wykorzystującą sprzężenie enzymatyczne z reduktazą glutationu z użyciem H_2O_2 jako substratu [17]. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) była badana metodą według Oyanagui [18]. W lizacie oznaczano SOD całkowity, zaś w osoczu SOD całkowity i izoenzymy: CuZnSOD i MnSOD. Aktywność katalazy (CAT) w lizacie swoistą dla tego enzymu oznaczono metodą kinetyczną według Aebi [19]. Dla oznaczenia aktywności transferazy S-glutationowej (GST) w lizacie krwinek czerwonych zastosowano metodę kinetyczną według Habiga z 1 chloro-2,3 dinitrobenzenem jako substratem [20]. Stężenie hemoglobiny we krwi oznaczano metodą Drabkina [21].

Wyniki badań immunologicznych opracowano za pomocą pakietu STATISTICA w wersji 8.0, stosując jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) z testem post-hoc RIR Tukeya. W celu określenia zależności między badanymi zmiennymi ciągłymi zastosowano korelację liniową Pearsona. Wyniki przedstawiono w postaci średniej i odchylenia standardowego. Jako znamienne próg istotności statystycznej przyjęto dla $p < 0,05$.

WYNIKI

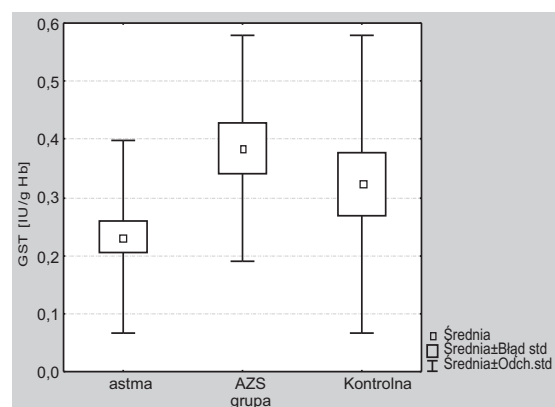
Stwierdzono, że dzieci z astmą oskrzelową mają istotnie statystycznie niższą ($p = 0,01$) średnią wartość aktywności peroksydazy glu-

tationowej w lizacie ($66,23 \pm 13,15$ U/g Hb) w porównaniu ze średnią wartością w grupie kontrolnej ($81,42 \pm 26,80$ U/g Hb) (ryc. 1). Wykazano ponadto, że dzieci z astmą oskrzelową mają istotnie statystycznie niższą ($p = 0,02$) średnią wartość aktywności S-transferazy glutationowej w lizacie ($0,23 \pm 0,16$ U/g Hb) w porównaniu ze średnią wartością u dzieci z AZS ($0,38 \pm 0,19$ U/g Hb) (ryc. 2). Nie wykazano zmian w wartościach stężenia dialdehydu malonowego i aktywności enzymów antyoksydacyjnych oznaczonych w lizacie i osoczu w grupie dzieci z astmą oskrzelową oraz w grupie dzieci z AZS w zależności od płci.



Ryc. 1. Porównanie średnich wartości aktywności peroksydazy glutationowej w lizacie u dzieci z astmą oskrzelową, AZS i w grupie kontrolnej.

Fig. 1. Comparison of average activity value of glutathione peroxidase in lysate in children with bronchial asthma, atopic dermatitis and in control group.



Ryc. 2. Porównanie średnich wartości aktywności S-transferazy glutationowej w lizacie u dzieci z astmą oskrzelową, AZS i grupą kontrolną.

Fig. 2. Comparison of average activity level of glutathione S-transferase in lysate in children with bronchial asthma, atopic dermatitis and in control group.

Tabela I. Stężenia dialdehydu malonowego oraz aktywności enzymów antyoksydacyjnych: SOD, GPx, GST, CAT w lizacie w grupie dzieci z astmą oskrzelową, AZS i w grupie kontrolnej**Table I.** The concentration of malonaldehyde and activity of antioxidant enzymes: SOD, GPx, GST, CAT in lysate, in children with bronchial asthma, atopic dermatitis and in control group

Oznaczany parametr lizat	Grupa I dzieci z astmą oskrzelową N = 38	Grupa II dzieci z AZS N = 20	Grupa III kontrolna N = 22	Anova – p	Post-hoc
	średnia ± SD	średnia ± SD	średnia ± SD		
MDA [μmol/g Hb] Dialdehyd malonowy	337,78 ± 125,81	344,89 ± 104,66	397,12 ± 142,05	> 0,05	–
SOD [NU/mg Hb] Dysmutaza ponadtlenkowa	12,23 ± 4,28	12,58 ± 4,72	11,61 ± 4,43	> 0,05	–
GPx [U/g Hb] Peroxidaza glutationowa	66,23 ± 13,15	73,35 ± 20,37	81,42 ± 26,80	0,01	I vs III
GST [U/g Hb] S-transferaza glutationowa	0,23 ± 0,16	0,38 ± 0,19	0,32 ± 0,25	0,02	I vs II
CAT [U/mg Hb] Katalaza	347,30 ± 65,46	326,81 ± 74,72	352,67 ± 59,07	> 0,05	–

OMÓWIENIE

Dysmutaza ponadtlenkowa jest głównym enzymem bariery antyoksydacyjnej. Reakcję, której jest katalizatorem, zabezpieczają przed powstawaniem najaktywniejszej formy pośród RFT – rodnika hydroksylowego. Przeprowadzone badania własne nie wykazały istotnych statystycznie zmian średnich wartości aktywności dysmutazy ponadtlenkowej oznaczonej w osoczu i lizacie u dzieci chorych na astmę oskrzelową oraz u dzieci z AZS. Sackesen i wsp. [9] przedstawili wyniki dotyczące zmian aktywności enzymów antyoksydacyjnych SOD i GPx u dzieci chorych na astmę. Autorzy zaobserwowali u nich obniżoną aktywność SOD i GPx oraz niższe stężenie zredukowanego glutationu w osoczu. Stężenie MDA było znacząco wyższe u dzieci chorych w porównaniu z grupą kontrolną. Stężenie egzogennych antyoksydantów: kwasu askorbinowego, α-tokoferolu i karotenoidów było niższe u dzieci z astmą.

Uzyskane wyniki sugerują znaczne obniżenie składników enzymatycznej bariery antyoksydacyjnej, spowodowane nasilającym się stresem oksydacyjnym na skutek rozwijającej się reakcji zapalnej w astmie. Podobne wyniki w przeprowadzonych badaniach uzyskali Trznadel-Budźko i wsp. [22] u chorych na AZS. Autorzy zaobserwowali obniżenie aktywności układu antyoksydacyjnego. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w erytrocytach i granu-

locytach oraz aktywność peroksydazy glutationowej i katalazy w erytrocytach były istotnie znacząco obniżone.

Rahman i wsp. [23] w badaniach doświadczalnych na szczurach zaobserwowali również wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w odpowiedzi na zwiększoną obecność RFT. Z kolei De Raeve i wsp. [24] przeprowadzając badania dotyczące ilościowej oceny aktywności enzymu w komórkach nabłonka oddechowego stwierdzili obniżenie aktywności izoenzymu cytozoluowego CuZnSOD dysmutazy ponadtlenkowej u chorych na astmę. Rogala i wsp. [25] wykazali zmiany aktywności frakcji mitochondrialnej dysmutazy ponadtlenkowej u chorych na astmę. Wszyscy chorzy w obu fazach badania i w obu podgrupach (z infekcją i bez) mieli istotnie upośledzoną aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, z tym że obniżenie aktywności dotyczyło głównie izoenzymu MnSOD. Aktywność CuZnSOD u chorych była podobna jak w grupie kontrolnej. W okresie zaostrzenia stwierdzono istotny wzrost stężenia MDA zarówno w osoczu, jak i w krwinkach czerwonych w porównaniu z grupą osób zdrowych. U chorych na astmę w okresie zaostrzenia występuje nasilenie procesów peroksydacyjnych, które są bodźcem do uruchomienia mechanizmów antyoksydacyjnych.

Kolejnym enzymem antyoksydacyjnym, pełniącym ważne funkcje w obronie ustroju przed szkodliwymi skutkami reakcji zapalnej

jest peroksydaza glutationowa (GPx). Jest ona odpowiedzialna za degradację nadtlenu wodoru w wielu komórkach i tkankach. Rola GPx polega na ochronie błon komórkowych przed szkodliwym działaniem nadtlenu wodoru i wodorotlenków oraz na regulacji stężenia H_2O_2 . Badania Powela i wsp. [26] potwierdzają niską aktywność GPx u dorosłych chorych na astmę oskrzelową. Aktywność GPx w liście krwinek czerwonych u chorych z astmą była znacznie słabsza niż w grupie kontrolnej. Bibi i wsp. [27] badali aktywność GPx u dzieci chorych na astmę. Autorzy ci stwierdzili najniższą aktywność enzymu w trakcie ostrego ataku astmy i wzrost aktywności tydzień po ataku, przy czym była ona nadal niższa niż w grupie kontrolnej. Podobne obserwacje poczynili Postępski i wsp. [28]. Autorzy zaobserwowali istotnie niższą – w porównaniu z grupą kontrolną – wartość GPx po upływie sześciomiesięcznego leczenia chorych na przewlekłą ciężką astmę oskrzelową. Odmiennie wyniki u dorosłych chorych na astmę uzyskali Rogala i wsp. [25], którzy zaobserwowali wzrost aktywności GPx w okresie zaostrzenia choroby, tłumacząc to aktywacją układu antyoksydacyjnego w odpowiedzi na wytwarzanie dużych ilości wolnych rodników w warunkach stresu tlenowego. W badaniach własnych u dzieci chorych na astmę oskrzelową wykazano niższą aktywność GPx niż w grupie kontrolnej, co może być spowodowane niewydolnością enzymatycznego układu antyoksydacyjnego. Zmniejszona aktywność GPx u dzieci chorych na astmę oskrzelową wskazuje na obniżoną wydolność enzymatycznego układu antyoksydacyjnego u tych dzieci.

S-transferaza glutationowa pełni ważną funkcję antyoksydacyjną. Katalizuje reakcję połączenia glutationu ze związkami elektrofilowymi i usuwa je na zewnątrz komórki. Enzym ten uczestniczy w reakcji usuwania poza komórkę utlenionej postaci glutationu powstałej w wyniku redukcji nadtlenu wodoru z wykorzystaniem glutationu jako donora protonów [29]. Dut i wsp. [3] w badaniach u dzieci z astmą oskrzelową ocenili stężenie dialdehydu malonowego jako wskaźnika stresu oksydacyjnego i transferazy S-glutationowej jako wskaźnika obrony antyoksydacyjnej w kondensacie powietrza wydychanego. Stwierdzili oni wyższe niż u dzieci zdrowych stężenie MDA oraz niższą aktywność GST. Uzyskane wyniki pozwoliły badaczom na sformułowanie koncepcji, że astma jest związana z bardzo silnym stresem

oksydacyjnym nie tylko w układzie krążenia, ale także w układzie oddechowym. Podobne wyniki uzyskali Ercan i wsp. [30]. Oznaczyli stężenie MDA i aktywność GST w osoczu u dzieci chorych na astmę oskrzelową. Stwierdzili także dodatnią zależność między nasileniem stresu oksydacyjnego a występowaniem objawów astmy, które zaostrzają się wraz ze stopniem ciężkości choroby. Singh i wsp. [31] przeprowadzili badania u chorych z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry, oznaczając aktywność hydroksylazy węglowodorów aromatycznych i S-transferazy. Badaniami objęli pacjentów z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry na dłoniach. Aktywność obu enzymów była u chorych z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry znacznie obniżona w porównaniu z wynikami w grupie kontrolnej. Autorzy sugerują, że hydroksylaza węglowodorów aromatycznych może być ilościowym markerem stanu zapalnego. W przeprowadzonych badaniach własnych u dzieci z astmą stwierdzono zmniejszoną aktywność S-transferazy glutationowej w porównaniu z jej wartością u dzieci z AZS. Może to wskazywać na intensywne zużywanie tego enzymu w procesie przeciwdziałania reakcjom wywołanym przez RFT w rozwoju zapalenia alergicznego w astmie oskrzelowej.

Kolejnym enzymem uczestniczącym w enzymatycznej obronie organizmu przed wolnymi rodnikami jest katalaza (CAT), która katalizuje reakcję dysproporcjonowania nadtlenu wodoru do powstania tlenu cząsteczkowego i wody. Owayed i wsp. [32] stwierdzili znaczne obniżenie aktywności CAT u dzieci chorych na astmę leczonych salbutamolem w porównaniu z grupą kontrolną. Brak równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej może odgrywać ważną rolę w patomechanizmie astmy, a szczególnie w stanach zaostrzenia choroby. Problemem tym zajęli się Nadeem i wsp. [33], prowadząc badania u dorosłych chorych na astmę. Autorzy oznaczali szeroki panel wskaźników prooksydacyjno-antyoksydacyjnych, m.in.: aktywność SOD, CAT, stężenie MDA, opierając się na reakcji z kwasem tiobarbiturowym. Wykazali brak istotnych statycznie zmian aktywności CAT. Podobnie Tekin i wsp. [34] u dorosłych z objawami łagodnej astmy zaobserwowali istotnie niższą aktywność SOD w porównaniu z grupą kontrolną. Nie stwierdzili ponadto różnic w aktywnościach CAT i GPx. W badaniach własnych nie wykazano istotnych

statystycznie różnic w średnich wartościach aktywności katalazy u dzieci chorych na astmę i dzieci z AZS.

Peroksydacja lipidów błon komórkowych pobudza fosfolipazę. Zostaje uruchomiona kaskada kwasu arachidonowego na drodze cyklooksygenazy i lipooksygenazy. Pod wpływem RFT dochodzi do uszkodzenia błonowych układów enzymatycznych, napływu wapnia do komórek, co sprzyja wtórnej aktywacji proteaz i fosfolipaz. Skutkiem ich działania jest uszkodzenie błon komórkowych i receptorów błonowych. W procesie peroksydacji lipidów błon komórkowych powstają nadtlenki lipidowe, które rozkładają się z wytworzeniem aldehydów. Najważniejszą rolę odgrywa MDA [35], którego stężenie, jako wskaźnik aktywności procesu peroksydacji lipidów, odzwierciedla stopień uszkodzenia komórkowego. Wzrost stężenia MDA u dzieci chorych na astmę oskrzelową i AZS może świadczyć o aktywacji komórek uczestniczących w procesie alergicznej reakcji zapalnej, które pobudzają wytwarzanie RFT [25,36].

Produkty peroksydacji lipidów u dzieci z astmą oskrzelową oznaczali Sharma i wsp. [37]. Stwierdzili oni podwyższone stężenie MDA w osoczu, obserwując najwyższe wartości w trakcie ostrego ataku astmy oskrzelowej i w okresie wolnym od objawów choroby. Postępski [28] badając dzieci hospitalizowane z powodu zaostrzeń astmy oskrzelowej stwierdził zwiększone stężenie MDA. Zaobserwował ponadto niską aktywność GPx, co przemawia za zwiększonym zużyciem tego enzymu w mechanizmie obronnej reakcji organizmu. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej nie różniła się istotnie od wartości w grupie kontrolnej. W badaniach własnych nie zaobserwowano istotnych różnic w średnich stężeniach MDA oznaczonego w osoczu i lizacie u dzieci cho-

rych na astmę, AZS i dzieci z grupy kontrolnej. Nie wykazano również zmian w wartościach stężenia MDA i aktywności enzymów antyoksydacyjnych oznaczonych w lizacie i osoczu zarówno w zależności od czasu rozpoznania choroby, jak i w zależności od płci (chłopcy w porównaniu z dziewczynkami).

Uzyskane wyniki badań wskazują, że u dzieci chorych na astmę oskrzelową i AZS występują zaburzenia równowagi w układzie oksydacyjno-antyoksydacyjnym, które manifestują się zmianami w zakresie niektórych parametrów systemu antyoksydacyjnego. Zaburzenia równowagi między prooksydantami a oksydantami odgrywają niewątpliwie istotną rolę w patomechanizmie astmy oskrzelowej i AZS, a także w modulowaniu ich przebiegu.

WNIOSKI

1. U dzieci chorych na astmę oskrzelową i AZS zaobserwowano zaburzenia w układzie oksydacyjno-antyoksydacyjnym, manifestujące się zmianami w zakresie niektórych wskaźników układu antyoksydacyjnego.
2. Zmniejszona aktywność enzymów antyoksydacyjnych: GPx i GST u dzieci chorych na astmę oskrzelową i AZS może być spowodowana niewydolnością enzymatycznego układu antyoksydacyjnego.
3. Aktywność GPx jest u dzieci z astmą mniejsza niż u dzieci zdrowych, co może być uwarunkowane jej wyczerpywaniem przekraczającym możliwości regeneracji.
4. Aktywność GST jest niższa u dzieci z astmą niż u dzieci z AZS, co może wskazywać na jej intensywne zużywanie w procesie przeciwdziałania reakcjom wywołanym przez RFT w rozwoju zapalenia alergicznego w astmie oskrzelowej.

PIŚMIENNICTWO

1. Payne D.N., Qiu Y., Zhu J. et al. An inflammation in children with difficult asthma: relationship with airflow limitation persistent symptoms. *Thorax* 2004; 59: 862–869.
2. Zeman K. Immunologiczne podstawy patogenezy chorób alergicznych. W: *Astma dziecięca-wybrane zagadnienia*. Red. I. Stelmach. Warszawa: PZWL; 2007; 19–27.
3. Dut R., Dizdar E.A., Birben E. et al. Oxidative stress and its determinants in the airways of children with asthma. *Allergy* 2008; 63: 1605–1609.
4. Paplińska M., Grubek-Jaworska H., Chazan R. Rola eotaksyn w patofizjologii astmy. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2007; 75: 180–185.
5. Ciężka E., Surdacka A. Rola śliny w procesie stresu oksydacyjnego – przegląd piśmiennictwa. *Dent. Forum* 2007; 35: 53–57.
6. Haliwel B., Guttenridge J.M.C. Oxygen toxic oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 1992; 219: 1–14.
7. Busse W.W., Lemanske R.F. Asthma. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344: 350–362.
8. Fang Y., Yang S., Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 2002; 18: 872–879.
9. Sackesen C., Ercan H., Dizdar E. et al. A comprehensive evaluation of the enzymatic and nonenzymatic antioxidant sys-

- tems in childhood asthma. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2008; 122(1): 78–85.
10. Sidorkiewicz-Szlagatys A., Korzon M., Małaczyńska T., Renkel J., Popadiuk S., Woźniak M. Równowaga antyoksydacyjno-prooksydacyjna u dzieci z astmą leczonych kortykosteroidami wziewnymi i długo działającymi β -mimetykami. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2005; 73: 178–181.
 11. Fitzpatrick A.M., Teague W.G., Holguin F., Yeh M., Brown L.A. Severe Asthma Research Program Airway glutathione homeostasis is altered in children with severe asthma: evidence for oxidant stress. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2009; 123(1): 146–152.
 12. Liu L., Poon R., Chen L. et al. Acute effects of air pollution on pulmonary function, airway inflammation, and oxidative stress in asthmatic children. *Environ Health. Perspect.* 2009; 117(4): 668–674.
 13. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, NHLBI/WHO Workshop Report. NHI.NHBLI Publication No 02-3569, 2002.
 14. Hanifin J.M., Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm. Venerol.* 1980; 92: 44–47.
 15. European Task Force on Atopic Dermatitis. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. *Dermatology* 1993; 23–31.
 16. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979; 95: 351–358
 17. Paglia D.E., Valentine W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 1997; 70: 158–169.
 18. Oyanagui Y. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.* 1984; 142: 290–296.
 19. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984; 105: 121–126.
 20. Habig W.H., Jacoby W.B. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods Enzymol.* 1981; 77: 398–405.
 21. Trivedi R., Berta E., Rebar L. Clinical Laboratory Test. *Clin. Chem.* 1976; 22: 1223–1226.
 22. Trznadel-Budźko E., Kaszuba A., Czarnecki M., Kozłowska M. Potencjał antyoksydacyjny surowicy oraz krwinek czerwonych i granulocytów obojętnochłonnych w atopowym zapaleniu skóry. *Prz. Derm.* 1995; 82(6): 533–536.
 23. Rahman I., Clerch L.B., Massaro D. Rat lung antioxidant enzyme induction by ozone. *Am. J. Physiol.* 1991; 260(6): 412–418.
 24. De Raeye H.R., Thunnissen F.B., Kaneko F.T. et al. Decreased Cu, Zn-SOD activity in asthmatic airway epithelium: correction by inhaled corticosteroid in vivo. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 1997; 272: 148–154.
 25. Rogala B., Polaniak R., Grzanka A., Kopacz-Ciesielska N., Birkner E. Ocena aktywności enzymów antyoksydacyjnych i nasilenia peroksydacji lipidów u chorych na astmę. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2004; 72: 472–476.
 26. Powell C.V., Nash A.A., Powers H.J., Primhak R.A. Antioxidant status in asthma. *Pediatr. Pulmonol.* 1994; 18: 34–38.
 27. Bibi H., Schlesinger M., Tabachnik E., Schwartz Y., Iscovitz H., Iaina A. Erythrocyte glutathione peroxidase activity in asthmatic children. *Ann. Allergy* 1988; 61: 339–340.
 28. Postępski J., Tuszkiewicz-Misztal E., Emeryk A., Górnicka G. Równowaga oksydacyjno-antyoksydacyjna u dzieci chorych na astmę oskrzelową. *Nowa Pediatr.* 1999; 3(4): 12–15.
 29. Valko M., Leibfriz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. Biochem. Cell. Biol.* 2007; 39: 44–84.
 30. Ercan H., Birben E., Dizdar E.A. et al. Oxidative stress and genetic and epidemiologic determinants of oxidant injury in childhood asthma. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2006; 118(5): 1097–1104.
 31. Singh N., Hamann K., Clausen J. Decreased lymphocyte aryl hydrocarbon hydroxylase and glutathione S-transferase activities in patients with hand dermatitis. *Acta Derm. Venerol.* 1982; 62(1): 61–63.
 32. Owayed A., Dhaunsi G.S., Al-Mukhaizeem F. Nitric oxide-mediated activation of NADPH oxidase by salbutamol during acute asthma in children. *Cell. Biochem. Funct.* 2008; 26(5): 603–608.
 33. Nadeem A., Raj H.G., Chhabra S.K. Increased oxidative stress in acute exacerbations of asthma. *J. Asthma* 2005; 42(1): 45–50.
 34. Tekin D., Sin B.A., Mungan D., Misirligil Z., Yavuzer S. The antioxidative defense in asthma. *J. Asthma* 2000; 37(1): 59–63.
 35. Sharma A., Bansal S., Nagpal R.K. Lipid peroxidation in bronchial asthma. *Indian J. Pediatr.* 2003; 70(9): 715–717.
 36. Seser E., Ozugurlu F., Ozyurt H., Sahin S., Etikan I. Lipid peroxidation and antioxidant status in lichen planus. *Clin. Exp. Dermatol.* 2007; 32(4): 430–434.
 37. Sharma A., Bansal S., Nagpal R.K. Lipid peroxidation in bronchial asthma. *Indian J. Pediatr.* 2003; 70(9): 715–717.