

I. STRESZCZENIE

Wstęp

Podłoże patofizjologiczne rozwoju astmy nie zostało dotychczas wystarczająco wyjaśnione. Potrzeba nowych nieinwazyjnych metod diagnostycznych, które pozwoliłyby na bezpośrednią ocenę stanu zapalnego toczącego się w oskrzelach. Biomarkery poszczególnych endotypów astmy mogą mieć zastosowanie w procesie diagnostyki, monitorowania przebiegu choroby oraz planowania personalizowanej terapii.

Założenia i cele

Kondensat wydychanego powietrza jest potencjalnym źródłem biomarkerów astmy oskrzelowej. Opisywano wpływ aminokwasu L-argininy i jej metabolitów na procesy zapalne w drogach oddechowych, nasilenie stresu oksydacyjnego, nadreaktywność oskrzeli oraz ich przebudowę. Celem badania była ocena stężeń L-argininy oraz jej metabolitów w surowicy krwi i kondensacie wydychanego powietrza u dzieci chorujących na astmę w porównaniu z grupą kontrolną.

Materiał i metody

W badaniu wzięło udział 65 uczestników w wieku 6-17 lat (37 dzieci chorujących na astmę oraz 28 dzieci stanowiących grupę kontrolną). U wszystkich uczestników przeprowadzono badanie lekarskie, spirometrię natężoną, oceniono atopię, pobrano próbki surowicy. Próbki kondensatu wydychanego powietrza uzyskano przy użyciu zestawów RTube. Oznaczenie stężenia interleukiny-4 wykonano w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną, przy użyciu zestawu wysokiej czułości. Zbadano stężenia L-argininy i jej metabolitów w surowicy krwi i kondensacie wydychanego powietrza z wykorzystaniem rozdziału chromatograficznego przy użyciu chromatografu cieczowego oraz detekcji analitów za pomocą spektrometrii mas.

Wyniki

Średnie stężenia L-argininy oraz jej metabolitów w surowicy krwi i kondensacie wydychanego powietrza były podobne w grupie badanej i grupie kontrolnej. Stosunki stężeń ADMA/L-arginina, SDMA/L-arginina i DMA/L-arginina były istotnie wyższe w kondensacie wydychanego powietrza niż w surowicy krwi, zarówno u astmatyków jak i w grupie kontrolnej. Nie wykazano zależności między wynikami oznaczeń biochemicznych a wybranymi

parametrami laboratoryjnymi (stężenie interleukiny-4 w surowicy krwi) i klinicznymi (czynność płuc, wiek dzieci chorujących na astmę, wskaźnik masy ciała, podłoże atopowe choroby, stosowane leczenie).

Wnioski

1. Pobieranie kondensatu wydychanego powietrza z użyciem zestawu RTube jest metodą, która pozwala na uzyskanie materiału biologicznego z dróg oddechowych u dzieci do zbadania stężeń aminokwasu L-argininy i jej metabolitów.
2. Wyniki analiz laboratoryjnych przeprowadzonych w surowicy krwi i kondensacie wydychanego powietrza wskazują, że metabolizm L-argininy nie różni się u dzieci chorujących na astmę w porównaniu do dzieci z grupy kontrolnej.
3. Stosunki stężeń ADMA/L-arginina, SDMA/L-arginina, DMA/L-arginina w materiale biologicznym pochodzącym z dróg oddechowych był istotnie wyższe niż stosunki stężeń tych analitów w surowicy krwi, zarówno w grupie dzieci chorujących na astmę jak i w grupie kontrolnej, co wskazuje na szczególne znaczenie płuc jako narządu biorącego udział w regulacji metabolizmu L-argininy.
4. W populacji dziecięcej stężenia L-argininy i jej metabolitów w surowicy krwi oraz w kondensacie wydychanego powietrza nie korelują z czynnością płuc wyrażoną jako FEV1 ani ze stężeniem interleukiny-4 w surowicy krwi.
5. Nie wykazano aby metabolizm L-argininy korelował z wiekiem dzieci chorujących na astmę.
6. W przypadku dzieci chorujących na astmę nie wykazano korelacji pomiędzy parametrami rozwoju fizycznego wyrażonymi jako wskaźnik masy ciała a stężeniem L-argininy i jej metabolitów w surowicy krwi i kondensacie wydychanego powietrza.
7. W badanej grupie podłoże atopowe choroby nie miało wpływu na zmiany w metabolizmie L-argininy u dzieci chorujących na astmę.
8. W przypadku dzieci chorujących na astmę nie zaobserwowano związku między terapią wziewnymi GKS a stężeniem L-argininy i jej metabolitów w surowicy krwi i kondensacie wydychanego powietrza.

9. Rozbieżność wyników dotychczas opublikowanych prac nad metabolizmem L-argininy u astmatyków wskazuje na heterogenność choroby i konieczność przeprowadzenia dalszych badań z uwzględnieniem większej liczby uczestników o określonym fenotypie choroby.

II. SUMMARY

Introduction

The pathophysiology of asthma is still not completely explained. There is a need to implement novel, non-invasive diagnostic tools to investigate underlying processes seen in local airway inflammation. New biomarkers of different asthma endotypes could be used to confirm diagnosis, monitor the course of the disease or plan the personalized therapy.

Aims

Exhaled breath condensate is a potential source of biomarkers of bronchial asthma. Published data suggest that L-arginine metabolic pathways may be involved in airway inflammation, oxidative stress, bronchial responsiveness and airway remodelling. The aim of this study was to assess the levels of L-arginine and its metabolites in pediatric patients with asthma in serum and exhaled breath condensate and compare them with non-asthmatic children.

Material and methods

Sixty-five children (37 pediatric patients with bronchial asthma and 28 healthy control subjects) aged 6–17 participated in the study. All participants underwent a clinical evaluation, lung tests, allergy tests, serum collection and exhaled breath condensate collection using a RTube device. Determination of interleukine-4 levels in serum was conducted using an enzyme-linked immunosorbent assay technique of high sensitivity. The levels of L-arginine and its metabolites were determined using liquid chromatography coupled with a mass spectrometer.

Results

The mean concentrations of L-arginine and its metabolites in serum and exhaled breath condensate were similar in the asthmatic and control groups. ADMA/L-arginine, SDMA/L-arginine, and DMA/L-arginine ratios were significantly higher in exhaled breath condensate than in serum in asthmatics and in non-asthmatics. The correlations between biochemical

measurements and parameters such as serum interleukine-4 levels, age of asthmatics, body mass index, atopy status and treatment in asthmatics were not found.

Conclusions

1. The collection of exhaled breath condensate using the RTube device is a suitable method to obtain biological samples from the airway in children and is useful in the evaluation of the concentrations of L-arginine and its metabolites.
2. The results of laboratory tests conducted in serum and exhaled breath condensate indicate that the metabolism of L-arginine does not differ in asthmatic children compared to the control group.
3. ADMA/L-ARG, SDMA/L-ARG and DMA/L-ARG ratios were significantly higher in exhaled breath condensate than in serum in asthmatics and in non-asthmatics, which indicates the important role of the lungs as an organ involved in the regulation of the metabolism of the amino acid L-arginine.
4. In the pediatric population, the concentrations of L-arginine and its metabolites in serum and in exhaled breath condensate do not correlate with the lung function parameters expressed as FEV1 or with the concentration of interleukin-4 in serum.
5. The metabolism of the amino acid L-arginine does not correlate with the age of asthmatic children.
6. In asthmatic children, no correlation was found between the physical development parameters expressed as body mass index and the concentration of L-arginine and its metabolites in the serum and in exhaled breath condensate.
7. In the studied group atopy does not affect the metabolism of L-arginine in asthmatic children.
8. No relationship was observed between therapy with inhaled glucocorticoids and the concentration of L-arginine and its metabolites in the serum and exhaled breath condensate in asthmatic children.
9. The discrepancy in the results of the published studies on the metabolism of the L-arginine in asthmatic patients indicates the heterogeneity of the disease and the need for further research with larger groups of participants with a specific disease phenotype.