

**lek. Leszek Kraj**

**Metabolizm L-argininy u dzieci z astmą oskrzelową**

**Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych  
w zakresie biologii medycznej**

Promotor: prof. dr hab. Anna Barańczyk-Kuźma

Promotor pomocniczy: dr n. med. Alicja Chrzanowska

Katedra i Zakład Biochemii  
I Wydział Lekarski  
Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą I Wydziału Lekarskiego  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2018

## STRESZCZENIE

Spośród chorób wieku dziecięcego o charakterze przewlekłym, astma oskrzelowa znajduje się w ścisłej czołówce pod względem częstości występowania. Jest to choroba przewlekła, która charakteryzuje się nadreaktywnością oraz napadową, odwracalną obturacją oskrzeli. Klinicznie w jej przebiegu dochodzi do tzw. zaostrzeń wywołanych najczęściej ekspozycją na alergen lub infekcją. Stan zapalny w obrębie dróg oddechowych utrzymuje się stale, ze zmiennym nasileniem. Już w latach 80-tych XX wieku w płwocinie pacjentów z astmą odkryto wzmożoną aktywność arginazy - enzymu katalizującego hydrolizę argininy. Od tego czasu wzrasta zainteresowanie rolą argininy w patomechanizmie tej choroby.

Arginina, aminokwas zasadowy, bierze udział w wielu przemianach metabolicznych - jest wbudowywana do białek komórkowych, wykorzystywana w syntezie ornityny, poliamin, tlenu azotu, proliny, kwasu glutaminowego, glutaminy, kreatyny i dimetyloargininy. U zdrowych, dorosłych osób endogenna synteza pokrywa zapotrzebowanie na ten aminokwas, jednak w okresie wzrostu jest ona niewystarczająca. W związku z tym, u dzieci arginina jest klasyfikowana jako aminokwas niezbędny i musi być dostarczana z pokarmem.

Szczególnie istotna rola argininy w astmie oskrzelowej wynika z jej wykorzystania jako jedynego substratu w syntezie poliamin i tlenu azotu (NO). Dotychczasowe badania prowadzone na osobach dorosłych wskazują na wzrost w astmie aktywności enzymów związanych z katabolizmem argininy, takich jak arginaza i syntaza tlenu azotu (NOS). Arginaza uwalnia z argininy ornitynę wykorzystywaną następnie do syntezy poliamin. Z kolei w reakcji katalizowanej przez NOS powstaje cytrulina i tlenek azotu. Oba enzymy są równolegle indukowane przez czynniki zapalne, ale ich aktywność jest regulowana dostępnością wspólnego substratu - argininy. Wiadomo także, że u dorosłych chorych z zaostrzeniami astmy dochodzi do wzrostu aktywności arginazy w surowicy krwi z jednoczesnym obniżeniem stężenia argininy. Niedobór argininy w obrębie dróg oddechowych prowadzi do zmniejszenia syntezy tlenu azotu, czynnika rozszerzającego oskrzela, ale również mediatora stanu zapalnego. Ponadto, arginina jest jednym z aminokwasów immunomodulujących, a więc krytycznym dla prawidłowego funkcjonowania układu immunologicznego. Ma to szczególne znaczenie u dzieci, dla których jak wspomniano wyżej, jest to aminokwas bezwzględnie niezbędny dla prawidłowego rozwoju.

Dane dotyczące metabolizmu argininy u dzieci z astmą są ograniczone. Dotychczas nie prowadzono badań metabolizmu argininy u dzieci chorych na astmę w okresie bezobjawowym, a wyniki uzyskane dla osób dorosłych nie mogą stanowić odniesienia, ze względu na odmienny metabolizm tego aminokwasu w tych dwóch grupach wiekowych.

Celem pracy było zbadanie i porównanie metabolizmu argininy u dzieci chorych na astmę w okresie zaostrzenia choroby oraz w okresie bez nasilonych objawów. Zbadano parametry określające metabolizm tego aminokwasu, takie jak stężenie argininy we krwi oraz jej metabolitów - cytruliny i ornityny. Pomiary stężeń badanych aminokwasów przeprowadzono przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Na podstawie uzyskanych pomiarów wyliczono ogólnoustrojową biodostępność argininy

(GABR, ang. *Global Arginine Bioavailability Ratio*). Jednocześnie oznaczano aktywność arginazy, kluczowego enzymu regulującego dostępność argininy we krwi. W celu oceny stopnia klinicznej kontroli choroby, w okresie bezobjawowym wykonywano pomiary NO w wydychanym powietrzu (FeNO) oraz przeprowadzano Testy Kontroli Astmy (ACT). Dodatkowo zbierano dane dotyczące leczenia ze szczególnym uwzględnieniem stosowania glikokortykosteroidów wziewnych (wGKS).

Do badania zrekrutowano 66 dzieci w wieku 5-17 lat, w tym 32 bez zaostrzenia choroby, 14 z zaostrzeniem choroby oraz 20 dzieci zdrowych z ujemnym wywiadem osobniczym w kierunku astmy oskrzelowej (grupa kontrolna). Biorąc pod uwagę parametry antropometryczne takie jak wskaźnik BMI, wiek czy płeć nie stwierdzono różnic pomiędzy grupą dzieci zdrowych a grupą z rozpoznaną astmą. Pozwoliło to na wiarygodne i bezpośrednie porównywanie ze sobą badanych grup dzieci.

W grupie dzieci z zaostrzeniem choroby w porównaniu do populacji dzieci zdrowych stwierdzono podwyższony poziom arginazy w surowicy krwi (17,96 U/l *ver* 10,4 U/l,  $p=0,04$ ), obniżony poziom argininy (86,09  $\mu\text{M}$  *ver* 144,8  $\mu\text{M}$ ,  $p<0,001$ ) oraz podwyższony poziom ornityny (87,24  $\mu\text{M}$  *ver* 57,18  $\mu\text{M}$ ,  $p=0,008$ ). Stężenie cytruliny nie różniło się pomiędzy grupami (20,62  $\mu\text{M}$  *ver* 24,38  $\mu\text{M}$ ,  $p=0,4$ ). Stwierdzono znaczne obniżenie GABR (0,62 *ver* 1,65,  $p<0,0001$ ).

W okresie bez zaostrzenia choroby aktywność arginazy nie różniła się w porównaniu do grupy kontrolnej (10,52 U/l *ver* 10,4U/l,  $p=0,49$ ). Stwierdzono obniżone stężenie argininy (127,41  $\mu\text{M}$  *ver* 144,8  $\mu\text{M}$ ,  $p=0,02$ ), podwyższony poziom ornityny (121,85  $\mu\text{M}$  *ver* 57,18  $\mu\text{M}$ ,  $p<0,001$ ) i cytruliny (74,77  $\mu\text{M}$  *ver* 24,38  $\mu\text{M}$ ,  $p<0,001$ ). GABR pozostawał obniżony (0,63 *ver* 1,65,  $p<0,0001$ ). Jednocześnie w okresie bezobjawowym nie odnotowano istotnych statystycznie korelacji pomiędzy wartościami stężenia badanych aminokwasów i aktywności arginazy w surowicy krwi a stopniem kontroli choroby ocenianym przy pomocy ACT czy FeNO. W badanej populacji dzieci stosowane w terapii astmy wGKS nie wpływały, w zakresie badanych parametrów, na zaburzenia metabolizmu argininy we krwi.

Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że u dzieci z astmą zaburzenia w metabolizmie argininy utrzymują się także w okresie bez objawów choroby. Oznaczanie aktywności arginazy, której poziom ulega normalizacji w okresie bez zaostrzenia, może być użyteczne w monitorowaniu efektów leczenia lub/i progresji choroby. W świetle prezentowanych wyników, ujawniających deficyt w zakresie biodostępności argininy u dzieci z astmą, suplementacja tego aminokwasu jest ciekawą opcją terapeutyczną. Wymaga to jednak weryfikacji klinicznej w badaniu prospektywnym. Suplementacja cytruliny, jako substratu do endogennej syntezy argininy, wydaje się nie być uzasadniona w tej grupie pacjentów.

Kraj

Abaciński

Anna Styc