

Agnieszka Szlagatys-Sidorkiewicz, Magdalena Góra-Gębka, Maria Korzon

Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Onkologii Dziecięcej Akademii Medycznej w Gdańsku
Kierownik: prof. dr hab. med. Maria Korzon

Reaktywne formy tlenu i bariera antyoksydacyjna w astmie

Reactive oxygen species and antioxidative barrier in asthma

Abstract

Reactive oxygen species (ROS) participate in chronic inflammation, e.g. asthma. Augmented ROS production and deteriorated antioxidative barrier on the other hand leads to oxidative stress and increased oxidative damage as a result. Therefore antioxidants may be used in therapy of asthma.

Key words: asthma, oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidants

Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 158–162

Streszczenie

Reaktywne formy tlenu (RFT) są zaangażowane w przewlekły proces zapalny, między innymi w astmie. Wzrost produkcji RFT z jednej strony, z drugiej zaś zaburzenia wydolności bariery antyoksydacyjnej w przebiegu astmy prowadzą do powstania stresu oksydacyjnego, czego wyrazem jest nasilenie uszkodzeń oksydacyjnych w organizmie. Dlatego też coraz większe nadzieje wiąże się z możliwym wykorzystaniem antyoksydantów w terapii astmy.

Słowa kluczowe: astma, stres oksydacyjny, reaktywne formy tlenu, antyoksydanty

Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 158–162

Wstęp

Coraz więcej danych wskazuje na udział reaktywnych form tlenu (RFT) w patogenezie przewlekłych chorób zapalnych, między innymi w astmie. Reaktywne formy tlenu (m.in. anionorodnik ponadtlenkowy, rodnik hydroksylowy, tlen singletowy, nadtlenek wodoru), charakteryzujące się wysoką reaktywnością chemiczną, biorą udział w reakcjach oksydacji. W warunkach fizjologicznych w organizmie utrzymywana jest równowaga między procesami oksydacyjnymi a antyoksydacyjnymi. Bariera antyoksydacyjna (BA) to system obrony organizmu przed niekorzystnym działaniem RFT [1]. Zaburzenie równowagi, na skutek nasilenia wytwarzania RFT bądź osłabienia bariery antyoksy-

dacyjnej, prowadzi do zwiększenia liczby reakcji indukowanych przez RFT. Zjawisko to nosi nazwę stresu oksydacyjnego. Stres oksydacyjny to zaburzenie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w kierunku reakcji utleniania [2].

Działanie biologiczne reaktywnych form tlenu

Pewne ilości RFT są wytwarzane w komórkach żywych stale (główne źródła to mitochondrialny łańcuch oddechowy, mikrosomalny łańcuch transportu elektronów, reakcje katalizowane przez oksydazy). W stanach zapalnych znacznie zwiększa się wytwarzanie RFT przez komórki zaangażowane w ten proces.

Adres do korespondencji: Agnieszka Szlagatys-Sidorkiewicz, Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Onkologii Dziecięcej AMG, ul. Nowe Ogrody 1–6, 80–803 Gdańsk, e-mail: aga1@amg.gda.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 10.11.2006 r.
Copyright © 2007 Via Medica
ISSN 0867–7077

Reaktywne formy tlenu modulują przebieg zapalenia na drodze wielu mechanizmów, między innymi poprzez stymulację uwalniania histaminy przez mastocyty [3, 4] i modulację komórkowego transportu jonów [5, 6]. Pod wpływem RFT dochodzi do dezaktywacji hydrolazy, której funkcja polega na unieczynnianiu czynnika aktywującego płytki [7]. Wiadomo również, że RFT są zaangażowane w proces uaktywniania enzymów kaskady kwasu arachidonowego: fosfolipazy A2, cyklooksygenazy i lipooksygenazy, co prowadzi do syntezy prostaglandyn, tromboksanów i leukotrienów [8]. Aktywacja czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, kontrolującego ekspresję wielu genów odpowiedzi zapalnej, w tym cytokin (IL-1 β , TNF α), chemokin (eotaksyna), enzymów (cytoplazmatyczna fosfolipaza A2, lipooksygenaza) i cząstek adhezyjnych (VCAM-1, ICAM-1), jest mediowana przez RFT [9]. Reaktywne formy tlenu zwiększają ekspresję genu dla TGF β [10].

Wiele prac doświadczalnych dotyczy efektu działania RFT w układzie oddechowym. Pod wpływem RFT dochodzi do skurczu włókien mięśni gładkich układu oddechowego [11]. Oprócz bezpośredniego działania, RFT wywierają również pośredni wpływ na mięśnie gładkie dróg oddechowych, przez zwiększenie ich reaktywności na takie bodźce, jak acetylocholina, metacholina, histamina, bradykinina oraz substancja P [12]. W obecności RFT dochodzi do zmniejszenia liczby receptorów β -adrenergicznych oraz zaburzenia ich funkcji [13]. Zjawisku temu zapobiega zastosowanie antyoksydantów [14]. U zwierząt doświadczalnych pod wpływem ozonu zawartego w powietrzu wdychanym (jednej z reaktywnych form tlenu) obserwuje się nadreaktywność oskrzeli [15]. Po ekspozycji na ozon w układzie oddechowym wzrasta stężenie substancji P [16]. Z kolei aktywność obojętnych endopeptydaz, odpowiedzialnych za degradację neuropeptydów bronchokonstrykcyjnych, ulega pod wpływem ozonu znacznemu obniżeniu [17]. W obecności RFT dochodzi w warunkach laboratoryjnych do rozległych uszkodzeń i obumierania komórek nabłonka dróg oddechowych [18]. Zakres uszkodzeń nabłonka może być ograniczony przez antyoksydanty [3]. Konsekwencją oksydacyjnych uszkodzeń nabłonka jest wystąpienie nadreaktywności oskrzeli [19]. W wyniku działania RFT zwiększa się ilość i lepkość wydzielanego śluzu, najprawdopodobniej na skutek stymulacji enzymów kwasu arachidonowego [20]. Uszkodzenie śródbłonka przez RFT powoduje wzrost przepuszczalności ścian naczyń dla płynów i komórek zapalnych [21].

Reaktywne formy tlenu odgrywają więc istotną rolę w procesach charakterystycznych dla astmy

(skurcz mięśni gładkich oskrzeli, nadreaktywność oskrzeli, dysfunkcja receptorów β -adrenergicznych, hipersekrecja śluzu, uruchomienie kaskady kwasu arachidonowego, zwiększona przepuszczalność naczyń oraz uszkodzenie nabłonka dróg oddechowych).

Rola reaktywnych form tlenu w astmie

W astmie obserwuje się nasilenie produkcji RFT. U chorych na astmę mastocyty [3], eozynofile [22], neutrofile [23, 24], makrofagi [25] i monocyty [23] produkują zwiększone ilości RFT zarówno spontanicznie, jak i po stymulacji alergenem [23]. Eozynofile charakteryzują się najwyższym potencjałem generowania RFT [22]. Do nasilenia produkcji RFT dochodzi pod wpływem leukotrienu B4 [26] i D4 [27], RANTES [28], eotaksyny [28], IL-5 [26], IL-1, -4, -6 [29], GM-CSF [29], INF γ [30], PAF [31], TNF α [32], cząstek adhezyjnych (VCAM-1) [33] oraz głównego białka zasadowego (MBP) [34].

Dowodem na zwiększoną obecność RFT w drogach oddechowych jest analiza zawartości powietrza wydychanego — prosta i nieinwazyjna metoda diagnostyczna. U chorych na astmę stężenie RFT w powietrzu wydychanym jest wyższe niż u ludzi zdrowych [35, 36]. Co więcej, stężenie RFT w powietrzu wydychanym koreluje ze stopniem ciężkości choroby [35, 37]. W trakcie leczenia kortykosteroidami wziewnymi obserwuje się spadek stężenia RFT w drogach oddechowych [35, 37]. Podwyższone stężenie RFT w powietrzu wydychanym obserwuje się także w innych chorobach zapalnych układu oddechowego, dlatego też może być wskaźnikiem nasilenia procesu zapalnego toczącego się w drogach oddechowych, ale nie jest zjawiskiem charakterystycznym wyłącznie dla astmy. Zawartość tlenu węgla w powietrzu wydychanym może być również miernikiem nasilenia stresu oksydacyjnego [38, 39]. Stężenie tlenu węgla w powietrzu wydychanym jest podwyższone w zastrzeżeniach astmy, natomiast obniża się pod wpływem terapii kortykosteroidami [38, 39].

Stres oksydacyjny w astmie

W wyniku reakcji utleniania przez RFT dochodzi do uszkodzenia lipidów, białek i kwasów nukleinowych. Stężenie produktów tych reakcji jest miernikiem nasilenia stresu oksydacyjnego. U chorych na astmę stężenie produktów utleniania lipidów jest podwyższone w porównaniu z wartościami obserwowanymi u osób zdrowych. Wysokie stężenie produktów utleniania lipidów stwierdza się w surowicy [40–42] i wydychanym powietrzu

[35, 43]. Czułym i wiarygodnym miernikiem stresu oksydacyjnego jest zawartość stabilnego produktu utleniania kwasu arachidonowego — F2-isoprostanu (F2-IsoPs) — która koreluje z ciężkością choroby [42, 44]. Podwyższone stężenie tego związku stwierdza się po stymulacji alergicznej w moczu oraz w płynie oskrzelikowo-pęcherzykowym u chorych na astmę [44]. Utlenianiu przez RFT ulegają również białka. W surowicy chorych na astmę obecne są oksydacyjnie zmodyfikowane białka w wyższym stężeniu niż u ludzi zdrowych [2, 24]. Cennym źródłem informacji na temat nasilenia stresu oksydacyjnego w obszarze zmian zapalnych jest analiza płynu uzyskanego poprzez płukanie drzewa oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL, *bronchoalveolar lavage*). Stężenie produktów reakcji utleniania w płynie BAL jest wyższe u chorych na astmę niż u osób zdrowych [44, 45].

Bariera antyoksydacyjna w astmie

Stres oksydacyjny jest wynikiem zaburzenia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej. Z jednej strony, w astmie obserwuje się nasilenie produkcji RFT, z drugiej zaś obecne są znaczne zaburzenia w funkcjonowaniu bariery antyoksydacyjnej. W skład bariery antyoksydacyjnej wchodzi enzymy i elementy nieenzymatyczne. U chorych na astmę opisuje się zarówno wzrost [24, 41, 46], jak i spadek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (jednego z głównych enzymów antyoksydacyjnych) we krwi [42, 47]. Wyniki te są trudne do porównania z uwagi na zróżnicowanie chorych pod względem wieku, stopnia ciężkości choroby oraz stabilności obrazu klinicznego. Podobnie rozbieżne wyniki badań dotyczą aktywności peroksydazy glutationowej, innego istotnego enzymatycznego składnika obrony antyoksydacyjnej. Opisuje się niższą [24, 41, 47], wyższą [48] lub niezmienną [42] aktywność enzymu we krwi.

Zgodne natomiast są wyniki badań analizujących sprawność obrony antyoksydacyjnej w obszarze toczących się procesów zapalnych. U chorych na astmę stwierdzono obniżenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej [49] i katalazy [5] zarówno w płynie BAL, jak i w komórkach nabłonka dróg oddechowych. W płynie BAL u chorych na astmę stwierdzono również niższe stężenia innych antyoksydantów (kwasu askorbinowego i α -tokoferolu) [50]. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych w ślinie u osób z astmą także jest obniżona [51].

W surowicy u chorych na astmę stwierdza się obniżenie stężenia witamin o właściwościach antyoksydacyjnych [41, 47, 52, 53].

Znajomość faktu obniżenia wydolności bariery antyoksydacyjnej ustroju w stosunku do zwiększonej produkcji RFT w przebiegu astmy może mieć implikacje terapeutyczne. Sugeruje się, że za częstsze występowanie astmy w ostatnich latach może po części odpowiadać ograniczenie spożycia świeżych warzyw i owoców bogatych w antyoksydanty [54]. Znany jest również fakt, że niska zawartość witamin o aktywnościach przeciwutleniających w diecie wpływa na pogorszenie parametrów spirometrycznych u osób zdrowych [55], a niskie stężenie antyoksydantów w surowicy częściej obserwuje się u chorych o cięższym klinicznie przebiegu astmy [52]. Doustna podaż antyoksydantów zmniejsza nadreaktywność oskrzeli u chorych na astmę [56, 57] oraz zmniejsza zapotrzebowanie na wziewne kortykosteroidy [58]. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że antyoksydanty wpływają na ograniczenie akumulacji granulocytów kwasochłonnych w drogach oddechowych u zwierząt uczulonych na alergeny wziewne [59]. Wydaje się zatem, że wzbogacenie diety w antyoksydanty powinno być jednym ze składników postępowania terapeutycznego.

Podejmuje się również próby stosowania enzymów antyoksydacyjnych w terapii astmy. Wyniki badań nad liposomalną formą dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy są zachęcające. Wykazano, że podanie enzymów w tej formie zmniejsza nadreaktywność oskrzeli u zwierząt doświadczalnych [60]. Trwają również prace nad syntezą mimetyków dysmutazy ponadtlenkowej, a pierwsze doniesienia potwierdzają ich potencjalnie korzystne działanie terapeutyczne w astmie [61]. Ciekawe możliwości w dziedzinie terapii antyoksydacyjnej niesie ze sobą rozwój inżynierii genetycznej. Zwiększenie przez organizm produkcji antyoksydantów, na skutek terapii genowej, wydaje się przynosić korzyści w terapii. Konieczne są jednak dalsze intensywne badania w tej dziedzinie.

Piśmiennictwo

1. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.* 1993; 2 (5): 213–219.
2. Szlagatys-Sidorkiewicz A., Korzon M., Renke J., Popadiuk S., Woźniak M. Równowaga antyoksydacyjno-prooksydacyjna u dzieci leczonych kortykosteroidami wziewnymi i długodziałającymi beta-mimetykami. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2005; 73: 178–181.
3. Barnes P.J. Reactive oxygen species and airway inflammation. *Free Rad. Biol. Med.* 1990; 9: 235–243.
4. Kim J.Y., Lee K.H., Lee B.K., Ro J.Y. Peroxynitrite modulates release of inflammatory mediators from guinea pig lung mast cells activated by antigen-antibody reaction. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2005; 137: 104–114.
5. Ghosh S., Janocha A.J., Aronica M.A. i wsp. Nitrotyrosine proteome survey in asthma identifies oxidative mechanism of catalase inactivation. *J. Immunol.* 2006; 176: 5587–5597.
6. Jeulin C., Guadagnini R., Marano F. Oxidant stress stimulates Ca²⁺-activated chloride channels in the apical activated mem-

- brane of cultured nonciliated human nasal epithelial cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2005; 289: L636–L646.
7. Triggiani M., De Marino V., Sofia M. i wsp. Characterization of platelet-activating factor acetylhydrolase in human bronchoalveolar lavage. *Am. J. Crit. Respir. Care Med.* 1997; 156: 94–100.
 8. Schneider J.C., Card G.L., Pfau J.C., Holian A. Air pollution particulate SRM 1648 causes oxidative stress in RAW 264.7 macrophages leading to production of prostaglandin E2, a potential Th2 mediator. *Inhal. Toxicol.* 2005; 17: 871–877.
 9. Lu Y., Wahl L.M. Oxidative stress augments the production of matrix metalloproteinase-1, cyclooxygenase-2, and prostaglandin E2 through enhancement of NF-kappa B activity in lipopolysaccharide-activated human primary monocytes. *J. Immunol.* 2005; 175: 5423–5429.
 10. Park S.K., Kim S.K., Seomun Y. Hydrogen peroxide is a novel inducer of connective tissue growth factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 284: 966–971.
 11. Matyas S., Pucovsky V., Bauer V. Effects of various reactive oxygen species on the guinea pig trachea and its epithelium. *Jpn. J. Pharmacol.* 2002; 88: 270–278.
 12. Boer J., Meurs H., Flendriq L., Koopal M., Zaagsma J. Role of nitric oxide and superoxide in allergen-induced airway hyper-reactivity after the late asthmatic reaction in guinea-pigs. *Br. J. Pharmacol.* 2001; 133: 1235–1242.
 13. Nijkamp F.P., Henricks P.A.J. Beta-adrenoreceptors in lung inflammation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990; 141: S145–S150.
 14. Ikuta O., Sugiyama S., Rakagi K., Satake T., Ozawa T. Implication of oxygen radicals on airway hyperresponsiveness after ovalbumin challenge in guinea pigs. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1992; 145: 561–565.
 15. Tepper J.S., Costa D.L., Fitzgerald S., Doerfler D.L., Bromberg P.A. Role of tachykinins in ozone-induced acute lung injury in guinea-pigs. *J. Appl. Physiol.* 1993; 75: 1404–1411.
 16. Krishna M.T., Springall D., Meng Q.H. i wsp. Effects of ozone on epithelium and sensory nerves in the bronchial mucosa of healthy humans. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156: 943–950.
 17. Henricks P.A.J., Nijkamp F.P. Reactive oxygen species as mediators in asthma. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2001; 14: 409–421.
 18. Mulier B., Rahman I., Watchom T., Donaldson K., MacNee W., Jeffrey P.K. Hydrogen peroxide-induced epithelial injury: the protective role of intracellular non protein thiols (NPSH). *Eur. Respir. J.* 1998; 11: 384–391.
 19. Hulsmann A.R., Raagteep H.R., den Hollander J.C. i wsp. Oxidative epithelial damage produces hyperresponsiveness of human peripheral airways. *Am. J. Crit. Care Med.* 1994; 149: 519–525.
 20. Adler K.B., Holden-Stauffer W.J., Repine J.E. Oxygen metabolites stimulate release of high-molecular-weight glycoconjugates by cell and organ cultures of rodent respiratory epithelium via an arachidonic acid dependent mechanism. *J. Clin. Invest.* 1990; 85: 75–85.
 21. McQuaid K.E., Smyth E.M., Keenan A.K. Evidence for modulation of hydrogen peroxide-induced endothelial barrier dysfunction by nitric oxide in vitro. *Eur. J. Pharmacol.* 1996; 307: 233–241.
 22. MacPherson J.C., Comhair S.A., Erzurum S.C. Eosinophils are a major source of nitric-derived oxidants in severe asthma: characterization of pathways available to eosinophils for generating reactive nitrogen species. *J. Immunol.* 2001; 166: 5763–5772.
 23. Marcal L.E., Rehder J., Newburger P.E., Candino-Neto A. Superoxide release and cellular glutathione peroxidase activity in leukocytes from children with persistent asthma. *Br. J. Med. Biol. Res.* 2004; 37: 1607–1613.
 24. Nadeem A., Chhabra S.K., Masood A., Raj H.G. Increased oxidative stress and altered levels of antioxidants in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003; 111: 72–78.
 25. Sibille Y., Reynolds H.Y. Macrophages and polymorphonuclear neutrophils in lung defense and injury. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990; 141: 471–501.
 26. Bankers-Fulbright J.L., Gleich G.J., Kephart G.M., Kita H., O'Grady S.M. Regulation of human eosinophil NADPH oxidase activity: a central role for PKCdelta. *J. Cell. Physiol.* 2001; 189: 306–316.
 27. Weiss E.B., Bellino J.R. Leukotriene-associated toxic oxygen metabolites induce airway hyperreactivity. *Chest* 1986; 89: 709–716.
 28. Sannohe S., Adachi T., Hamada K. Upregulated response to chemokines in oxidative metabolism of eosinophils in asthma and allergic rhinitis. *Eur. Respir. J.* 2003; 21: 925–931.
 29. Joseph B.Z., Routes J.M., Borish L. Activities of superoxide dismutase and NADPH oxidase in neutrophils obtained from asthmatic and normal donors. *Inflammation* 1993; 17: 361–370.
 30. Demoly P., Damon M., Michel F.B., Godard P. IFN- γ activates superoxide anion production in blood monocytes from allergic asthmatic patients. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 1995; 75: 162–166.
 31. Klabunde R.E., Anderson D.E. Role of nitric oxide and reactive oxygen species in platelet-activating factor-induced microvascular leakage. *J. Vasc. Res.* 2002; 39: 238–245.
 32. Hattori H., Imai H., Furuhashi K., Sato O., Nagakawa Y. Induction of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in human polymorphonuclear neutrophils and HL60 cells stimulated with TNF-alpha. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005; 337: 464–473.
 33. Nagata M., Sedgwick J.B., Vrtis R., Busse W.W. Endothelial cells upregulate superoxide generation via VCAM-1 expression. *Clin. Exp. Allergy* 1999; 29: 550–561.
 34. Rankin J.A., Harris P., Ackerman S.J. The effects of eosinophil-granule major basic protein on lung-macrophage superoxide anion generation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1992; 89: 746–752.
 35. Antczak A., Nowak D., Shariati B., Król M., Piasecka G., Kurmanowska Z. Increased hydrogen peroxide and thiobarbituric acid-reactive products in expired breath condensate of asthmatic patients. *Eur. Respir. J.* 1997; 10: 1235–1241.
 36. Loukides S., Bouros D., Papatheodorou G., Panagou G., Siafakas N.M. The relationship among hydrogen peroxide in expired breath condensate, airway inflammation, and asthma severity. *Chest* 2002; 121: 338–346.
 37. Jobsis Q., Raagteep H.C., Hermans P.W., de Jongste J.C. Hydrogen peroxide in exhaled air is increased in stable asthmatic patients. *Eur. Respir. J.* 1997; 10: 519–521.
 38. Yamaya M., Sekizawa K., Ishizuka S., Monama M., Sasaki H. Exhaled carbon monoxide levels during treatment of acute asthma. *Eur. Respir. J.* 1999; 13: 757–760.
 39. Zanonato S., Scollo M., Zaramella G., Landi L., Zacchello F., Baraldi E. Exhaled carbon monoxide levels after a course of oral prednisone in children with asthma exacerbation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002; 109: 440–445.
 40. Postępski J., Tuszkiewicz-Misztal E., Emeryk A., Gomiccka G., Wawrzyszuk M. Ocena wybranych parametrów równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej u dzieci chorych na przewlekłą ciężką astmę oskrzelową. *Peumonol. Alergol. Pol.* 2001; 69: 553–563.
 41. Vural H., Aksoy N., Ceylan E., Gencer M., Ozguner F. Leukocyte oxidant and antioxidant status in asthmatic patients. *Arch. Med. Res.* 2005; 36: 502–506.
 42. Wood L.G., Garg M.L., Blake R.J., Garcia-Caraballo S., Gibson P.G. Lipid peroxidation as determined by plasma isoprostanes is related to disease severity in mild asthma. *Lipids* 2000; 35: 967–974.
 43. Shahid S.K., Khartionov S.A., Wilson N.M., Bush A., Barnes P.J. Exhaled 8-isoprostane in childhood asthma. *Respir. Res.* 2005; 6: 79.
 44. Dworski R. Oxidant stress in asthma. *Thorax* 2000; 55 (supl. 2): S51–S53.
 45. Schock B.C., Young I.S., Brown V., Fitch P.S., Shields M.D., Ennis M. Antioxidants and oxidative stress in BAL fluid of atopic asthmatic children. *Pediatr. Res.* 2003; 53: 375–381.
 46. Sies H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am. J. Med.* 1991; 91 (supl. 3C): 3C-31S–3C-38S.
 47. Shanmugasundaram K.R., Kumar S.S., Rajajee S. Excessive free radical generation in the blood of children suffering from asthma. *Clin. Chim. Acta* 2001; 305: 107–114.
 48. Tho L.L., Candlish J.K. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in erythrocytes as indices of oxygen loading in disease: a survey of one hundred cases. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 1987; 38: 74–80.
 49. De Raeve H., Thunnissen F.B., Kaneko F.T. i wsp. Decreased Cu, Zn-SOD activity in asthmatic airway epithelium correction by inhaled corticosteroid in vivo. *Am. J. Physiol.* 1997; 272 (1 cz. 1): L148–L154.
 50. Kelly F.J., Mudway I., Blomberg A., Frew A., Sanstrom T. Altered lung antioxidant status in patients with mild asthma. *Lancet* 1999; 354: 482–483.
 51. Bentur L., Mansour Y., Brik R., Eizenberg Y., Nagler R.M. Salivary oxidative stress in children during acute asthmatic attack and during remission. *Respir. Med.* 2005 Nov 28 (Medline).
 52. Misso N.L., Brooks-Wildhaber J., Ray S., Vally H., Thompson P.J. Plasma concentrations of dietary and nondietary antioxidants are low in severe asthma. *Eur. Respir. J.* 2005; 26: 257–264.

53. Wood L.G., Fitzgerald D.A., Gibson P.G., Cooper D.M., Garg M.L. Airway and circulating levels of carotenoids in asthma and healthy controls. *J. Am. Coll. Nutr.* 2005; 24: 448–455.
54. Bodner C., Godden D., Brown K., Little J., Ross S., Seaton A. Antioxidant intake and adult-onset wheeze: a case-control study. *Eur. J. Respir.* 1999; 13: 22–30.
55. Britton J.R., Pavord J.D., Richards K.A. Dietary antioxidant vitamin intake and lung function in the general population. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 151: 1383–1387.
56. Romieu I., Sienra-Monge J.J., Ramirez-Aguilar M. Antioxidant supplementation and lung functions among children with asthma exposed to high levels of air pollutants. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 166: 703–709.
57. Talati M., Meyrick B., Peebles R.S. i wsp. Oxidant stress modulates murine allergic airway response. *Free Radic. Biol. Med.* 2006; 40: 1210–1219.
58. Gvozdjakova A., Kucharska J., Bartkovjakova M., Gazdikova K., Gazdik F.E. Coenzyme Q10 supplementation reduces corticosteroids dosage in patients with bronchial asthma. *Biofactors* 2005; 25: 235–240.
59. Kruzel M.L., Bacsi A., Choudhury B., Sur S., Boldogh J. Lactoferrin decreases pollen antigen-induced allergic airway inflammation in a murine model of asthma. *Immunology* 2006 (Medline).
60. Assa'ad A.H., Ballard E.T., Sebastian K.D., Loven D.P., Boivin G.P., Lierl M.B. Effect of superoxide dismutase on a rabbit model of chronic allergic asthma. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 1998; 80: 215–224.
61. Masini E., Bani D., Vannacci A. Reduction of antigen-induced respiratory abnormalities and airway inflammation in sensitized guinea pigs by a superoxide dismutase mimetic. *Free Radic. Biol. Med.* 2005; 39: 520–531.