

# CZY OPARZENIA U DZIECI POWODUJĄ ZMIANY W STĘŻENIU MARKERÓW STRESU OKSYDACYJNEGO W DROGACH ODDECHOWYCH? DO BURNS IN CHILDREN CAUSE ANY CHANGES IN CONCENTRATIONS OF OXIDATIVE STRESS MARKERS IN RESPIRATORY TRACT?

Adrianna Grabowska, Ewa Andrzejewska, Anna Walczewska<sup>1</sup>

Klinika Chirurgii i Onkologii Dziecięcej Instytutu Pediatrii UM w Łodzi

<sup>1</sup>Zakład Fizjologii UM w Łodzi

**Streszczenie: Wstęp.** Powikłania płucne występują u około 20% dzieci z oparzeniami skóry bez towarzyszącego urazu inhalacyjnego. We wczesnym okresie choroby są to zmiany o charakterze płuca wstrząsowego i ryzyka powstania ostrej niewydolności oddechowej. Zaburzenia płucne zwiększają śmiertelność we wszystkich grupach wiekowych, szczególnie wśród najmłodszych dzieci. Z badań przeprowadzonych na zwierzętach z chorobą oparzeniową wiadomo, że pomimo braku urazu inhalacyjnego rozwija się reakcja zapalna w płucach ze zmianami charakterystycznymi dla stresu oksydacyjnego. **Cel pracy.** W pracy przeprowadzono badania mające na celu ocenę stężeń wybranych markerów stresu oksydacyjnego w powietrzu wydychanym i surowicy u dzieci z oparzeniami skóry bez towarzyszącego urazu inhalacyjnego. **Materiał i metody.** Badano stężenia produktów peroksydacji lipidów reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARs), stężenia nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ) metodą Ruch'a, azotanów i azotanów ( $NO_x$ ) metodą Griess'a. Ocenie cytologicznej poddano wydzielinę z drzewa oskrzelowego.

**Wyniki.** W wydzielinie z drzewa oskrzelowego dzieci oparzonych stwierdzono obecność komórek zapalnych, których nie stwierdzano u dzieci zdrowych. Zmiany stężeń TBARs w surowicy były równoległe do zmian stężeń białka C-reaktywnego (CRP). Osiągały najwyższe wartości w trzeciej dobie choroby oparzeniowej. W kondensacie powietrza wydechowego dzieci chorych jak i dzieci zdrowych nie wykryto TBARs. Stężenie  $H_2O_2$  miało tendencję wzrostową wraz z rozległością powierzchni oparzonej. Nie stwierdzono statystycznej zależności pomiędzy stężeniem  $NO_x$  w kondensacie powietrza wydychanego a wielkością powierzchni oparzonej. **Wnioski.** We wczesnym okresie po oparzeniu w surowicy dzieci obserwuje się podwyższone wskaźniki stanu zapalnego oraz obecność markerów stresu oksydacyjnego. U dzieci z oparzeniami skóry bez współistniejącego urazu inhalacyjnego występują zmiany zapalne w drogach oddechowych. W okresie stabilizacji stanu klinicznego tych pacjentów nie występują wyraźne cechy stresu oksydacyjnego w kondensacie powietrza wydychanego.

**Słowa kluczowe:** dzieci, choroba oparzeniowa, stres oksydacyjny, drogi oddechowe

**Abstract: Background.** Pulmonary complications occur in about 20% children with burns without any inhalatory injury. In the early stage of burn disease pulmonary changes typical of shock or respiratory insufficiency are present. These complications enhance mortality in all age groups, especially in the youngest children. It is known from animal studies, that during burn disease with no inhalatory injury, there is an inflammatory process in lungs with features typical of oxidative stress. **The Aim of the study.** We present results of examinations aimed at estimating selected oxidative stress markers in exhaled breath condensate (EBC) and plasma of burnt children without accompanying inhalatory injury. **Material and methods.** We estimated concentrations of thiobarbituric acids reactive species (TBARs), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) with Ruch's method, nitrite ( $NO_2^-$ ) and nitrate ( $NO_3^-$ ) with Griess' method. Washings from the trachea and bronchi were examined cytologically as well. **Results.** In all washings samples from the burnt children's bronchi inflammatory cells were present. In healthy children (control group) there was a small amount of normal epithelial cells only. Changes of TBARs plasma concentration were parallel to CRP concentration changes and they were significant. The highest values of these parameters were observed on the 3<sup>rd</sup> day of the disease. Both in EBC of the burnt children and of the healthy ones there was no detectable amount of TBARs.  $H_2O_2$  concentration tended upwards in parallel with the size of the burn wound, although not significantly. There was no correlation between  $NO_2^-$  and  $NO_3^-$  concentrations in EBC and the size of the burn wound. **Conclusions.** In the early stage of burn disease markers of inflammation are elevated and oxidative stress markers are present in children's plasma. Although there is no inhalatory injury, there is an active inflammatory process in the respiratory tract of burnt children. When the patient's condition stabilises, there is no evidence of oxidative stress markers in the expired breath condensate.

**Key words:** burns, oxidative stress, respiratory tract, children

## Wstęp

Oparzenia należą do częstych urazów u dzieci, szczególnie młodszych. Najczęstszym mechanizmem urazu jest oblanie gorącym płynem. Pomimo niewystępowania urazu

inhalacyjnego u 5% do 19% pacjentów w przebiegu choroby oparzeniowej występują powikłania płucne, szczególnie gdy rana oparzeniowa obejmuje ponad 20% całkowitej powierzchni ciała (TBSA) (1-3). Z piśmiennictwa wiadomo, że prawie połowa pacjentów, u których występują ciężkie po-

**Tabela 1.** Charakterystyka grupy badanej i porównawczej.

	Grupa badana średnia +/- SD	Grupa porównawcza średnia +/- SD
Wiek (lata)	3,04 +/- 4,07	3,43 +/- 3,68
Dziewczynki/chłopcy	8/14	4/7
TBSA (%)	22,46 +/- 14,84	0

wikłania płucne, umiera, a jednocześnie u około jednej trzeciej pacjentów umierających w wyniku choroby oparzeniowej dochodzi do zgonu z powodu powikłań płucnych (nie-wydolności oddechowej, ARDS, zapalenia płuc) (1-4). Dane te dotyczą głównie dorosłych pacjentów.

Mechanizm powstawania powikłań płucnych wciąż nie jest do końca wyjaśniony. W płucach osób z chorobą oparzeniową dochodzi do tworzenia się nacieków granulocytarnych. Możliwą przyczyną jest aktywacja układu dopełniacza, układu fibrynogengezy i fibrylizy, których produkty stymulują komórki układu odpornościowego, głównie neutrofile, do nadmiernej produkcji reaktywnych form tlenu (ROS) (2, 5-11). Zaburzenie równowagi oksydacyjnej w komórkach prowadzi do powstania zjawiska stresu oksydacyjnego. Zmiany z nim związane są obserwowane miejscowo w uszkodzonej skórze, a także w odległych narządach, co potwierdzają obserwacje zmian stężeń wybranych wskaźników stresu oksydacyjnego w osoczu osób oparzonych oraz badania histologiczne i biochemiczne na modelach zwierzęcych (5, 7, 9, 12-18).

Stwierdzono istnienie stresu oksydacyjnego w układzie oddechowym ludzi podczas wielu ostrych oraz przewlekłych chorób dotyczących układu oddechowego, jak ARDS, astma a nawet przeziębienie (6, 20, 21-24). Zaobserwowano zmiany w stężeniu wybranych substancji, tj. nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ), azotynów ( $NO_2$ ), azotanów ( $NO_3$ ) (całkowite  $NO_x$ ) i produktów peroksydacji lipidów reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARs) w kondensacie powietrza wydychanego (EBC) u tych chorych. Brak jest podobnych doniesień w literaturze w odniesieniu do osób oparzonych, a szczególnie dzieci.

## Cel pracy

Celem pracy jest poszukiwanie występowania zmian zapalnych w drogach oddechowych u dzieci z chorobą oparzeniową, u których nie współistniał uraz inhalacyjny oraz sprawdzenie, czy w kondensacie powietrza wydychanego przez tych pacjentów występują zmiany w stężeniu wybranych markerów stresu oksydacyjnego, to jest nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ), azotynów i azotanów ( $NO_x$ ) i produktów peroksydacji lipidów reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARs).

## Materiał i metody

### Grupa badana.

Badaniem objęto 22 dzieci w wieku od 2 miesięcy do 16 lat z oparzeniami II° i III° o powierzchni 4-60% TBSA leczonych w Klinice Chirurgii i Onkologii Dziecięcej Instytutu Pediatrii UM w Łodzi. Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej jest przedstawiona w tabeli 1.

U dzieci z oparzeniem powyżej 10% TBSA zastosowano w początkowym okresie choroby oparzeniowej resuscytacyjną płynową zgodnie z regułą Parkland oraz uzupełniano albuminy. Wszystkie dzieci otrzymywały przeciwbólowo leki z grupy niesteroidowych przeciwzapalnych zgodnie z zapotrzebowaniem. Antybiotykoterapię stosowano u dzieci z oparzeniami powyżej 25% TBSA jako regułę od początku leczenia, a u pozostałych dzieci w razie wystąpienia powikłań infekcyjnych. Wszystkie dzieci wymagały chirurgicznego usunięcia tkanek martwiczych oraz przeszczepu skórno-

naskórkowego. Zabieg operacyjny był przeprowadzany około 5. dnia choroby oparzeniowej, w znieczuleniu ogólnym. Znieczulenie ogólne było jedynym momentem, w którym możliwe było zebranie kondensatu powietrza wydychanego u małych dzieci.

### Grupa porównawcza

Grupę porównawczą stanowiło 11 zdrowych dzieci w wieku od 2 miesięcy do 13 lat operowanych z powodu wad wrodzonych. Zabieg operacyjny przeprowadzono w tym samym rodzaju znieczulenia co dzieci u dzieci z grupy badanej.

### Przebieg badania

Próbki krwi do oznaczenia morfologii, stężenia białka C-reaktywnego (CRP), TBARs,  $NO_2/NO_3$  pobierano w wybranych punktach czasowych choroby oparzeniowej, uwzględniając dzień zbierania kondensatu powietrza wydychanego. U dzieci z grupy porównawczej krew pobierano do badań w dniu zabiegu operacyjnego.

U dzieci oparzonych w dniu poprzedzającym zabieg operacyjny wykonywano zdjęcie rentgenowskie płuc. Wszystkie radiogramy były oceniane przez tego samego radiologa.

Kondensat powietrza wydychanego bierano podczas zabiegu operacyjnego w trakcie znieczulenia ogólnego. Dodatkowo wąż karbowany był dołączany do systemu wydechowego respiratora, a następnie umieszczany w pojemniku z zamrożonym roztworem fizjologicznym soli w celu skroplenia powietrza. Następnie kondensat powietrza wydychanego był porcjowany i zamrażany w  $-70^{\circ}C$  do chwili oznaczeń.

Ze względu na metodę zbierania kondensatu powietrza wydychanego, nie występowała konieczność wykluczenia zanieczyszczenia go śliną.

Nie sprawdzano stabilności stężeń ww. związków w kondensacie powietrza wydychanego, ponieważ inni autorzy wykazali, że stężenia  $NO_2/NO_3$ ,  $H_2O_2$  oraz TBARs są stabilne w zamrożonym kondensacie powietrza wydychanego, a także ze względu na małe ilości pozyskanego EBC od każdego pacjenta (22, 24, 25).

Popłuczyny z tchawicy i oskrzeli pobierano przy wybudzaniu pacjenta ze znieczulenia ogólnego. Wszystkie próbki zostały zbadane przez tego samego histopatologa w celu oceny ich składu komórkowego.

### Ocena stężenia TBARs

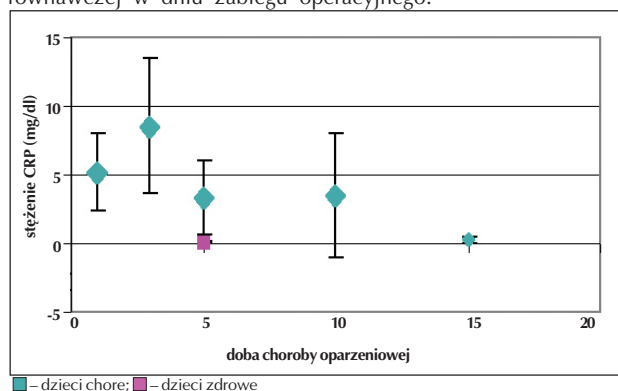
Stężenie TBARs w kondensacie powietrza wydychanego było mierzone w sposób wcześniej opisany przez Antczaka (26). W skrócie: do 100  $\mu$ l EBC dodawano 2 ml roztworu kwasu tiobarbiturowego (TBA) (0,67 g rozpuszczone w 100 ml wody dejonizowanej, a następnie rozcieńczone w stosunku 1:1 z lodowatym kwasem octowym). Następnie próbki były gotowane przez 30 minut i ochładzane w temperaturze pokojowej. Do każdej próbki dodawano 2,5 ml butanolu i intensywnie wytrząsano przez około 1 minutę, a następnie odwirowano (10 min., 1500g,  $25^{\circ}C$ ). Ilość TBARs określano spektrofotometrycznie (ekstynkcja przy 515 nm, emisja przy 546 nm) za pomocą spektrometru „Perkin Elmer Luminescence Spectrometer LS-50B (Norwalk, CT, USA)”. Wyniki wyrażono w  $\mu$ M stosując równanie regresji liniowej. Jako wartość referencyjną przyjęto intensywność emisyjną tetrametoksypropanu. Minimalne wykrywalne stężenie TBARs wynosi 0,05  $\mu$ M surowicy.

Aby ocenić stężenie TBARs w osoczu, 100  $\mu$ l osocza mieszało z 1 ml roztworu 0,05 M  $H_2SO_4$  i 0,5 ml roztworu 1,23 M TCA. Następnie próbki wirowano (10 min., 1500g,  $0^{\circ}C$ ). Do osadu białkowego dodawano 2 ml wody destylowanej o pH sprowadzonym do wartości 2,5 za pomocą kwasu solnego 10  $\mu$ l, 0,01% BHT oraz 0,5ml TBA, inkubowano w łaźni wodnej ( $100^{\circ}C$ , 30 min). Studzono, dodawano 2,5 ml butanolu, wirowano (10 min, 1500g,  $25^{\circ}C$ ). Odczyt i obliczenia jak powyżej.

### Ocena stężenia $H_2O_2$

Stężenie  $H_2O_2$  oceniano według metody opisanej przez Ruch'a (27). W skrócie: 600  $\mu$ l EBC mieszało z 600  $\mu$ l roz-

**Rycina 1.** Średnie stężenie CRP w osoczu z odchyleniem średnim dzieci oparzonych w zależności od dnia choroby oparzeniowej oraz średnie stężenie CRP w osoczu dzieci z grupy porównawczej w dniu zabiegu operacyjnego.



tworu (1 U/ml) peroksydazy chrzanowej (HRP) zawierającego 100  $\mu$ M kwas homowanilinowy (HVA). Próbkki były inkubowane przez 60 minut w 37°C. Następnie do każdej próbki dodawano 150  $\mu$ l 0,1 M buforu glicynowo-NaOH (pH 12) z dodatkiem 25 mM disodowej soli kwasu etylenodiaminotetraoctowego p. a. (EDTA). Ilość  $H_2O_2$  była oceniana jako produkt utlenienia kwasu 4-hydroksy-3-metoksyfenylo-octowego (HVA) i wykrywana spektrofotometrycznie (ekstynkacja przy 312 nm, emisja przy 420 nm). Wyniki wyrażono w  $\mu$ M, stosując równanie regresji liniowej. Jako wartość referencyjną przyjęto intensywność emisyjną wody destylowanej. Minimalne wykrywalne stężenie  $H_2O_2$  wynosi 0,083  $\mu$ M.

#### Ocena stężenia całkowitego $NO_x^-$

Stężenie  $NO_x^-$  w EBC mierzone zgodnie z metodą opisaną przez Griess'a (22). 60  $\mu$ l EBC mieszano z 10  $\mu$ l roztworu 0,5 mM NADPH i 10  $\mu$ l mieszaniny 200  $\mu$ M reduktazy azotynowej z 50  $\mu$ M FAD. Próbkki inkubowano przez 30 minut w 37°C. Następnie po enzymatycznej redukcji azotanów do azotynów dodawano 100  $\mu$ l roztworu Griess'a (1 g/l sulfanilamidu, 0,1 g/l naftylenodiaminy, 25 g/l  $H_3PO_4$ ) i inkubowano 10 minut w temperaturze pokojowej w celu uzyskania zabarwienia próbek. Oceniano absorbancję spektrofotometrycznie przy fali 550 nm. Jako wartość referencyjną przyjęto intensywność emisji wody destylowanej. Aby ocenić stężenie  $NO_x$  w surowicy, po przeprowadzeniu reakcji Griess'a, do surowicy dodawano 10% TCA, wytrząsano, wirowano (15 min, 14000obr/min, temp. pokojowa), do odczytu wykorzystywano płyn z nad osadu.

#### Analiza statystyczna

Dane wyrażono jako średnią  $\pm$  SE. Różnice między grupami analizowano testami Mann'a – Whitney'a U oraz Kruskal'a – Wallis'a. Korelację oszacowano testem Pearson'a.

Obliczenia statystyczne wykonano przy użyciu programu Statistica 5.0.

Badania uzyskały aprobatę Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Łodzi (obecnie Uniwersytetu Medycznego w Łodzi).

## Wyniki

### Stężenie CRP w osoczu

Wysokie stężenia CRP w osoczu ( $N < 0,5$  mg/dl) są charakterystyczne dla stanu zapalnego. W grupie badanej stężenie CRP w osoczu było istotnie wyższe ( $p < 0,01$ ) aniżeli w osoczu dzieci z grupy porównawczej w dniu zabiegu operacyjnego (odpowiednio 3,35  $\pm$  0,75 oraz 0,052  $\pm$  0,02).

Najwyższe stężenia CRP (średnio 8,55  $\pm$  1,75 mg/dl) obserwowano w trzecim dniu choroby. Stężenie CRP w osoczu zmniejszało się średnio z 5,20  $\pm$  1,19 mg/dl w pierwszym dniu choroby oparzeniowej do średnio 0,26  $\pm$  0,63

mg/dl w dniu wypisu dziecka ze szpitala. Zmiany w stężeniu CRP w osoczu u dzieci oparzonych w przebiegu choroby oparzeniowej przedstawiono na rycinie 1.

### Liczba leukocytów we krwi dzieci z grupy badanej i porównawczej

Kolejnym wykładnikiem stanu zapalnego jest liczba białych krwinek we krwi. Stężenie leukocytów we krwi obwodowej stopniowo obniżało się ze średnio 18320  $\pm$  1750/mm<sup>3</sup> w pierwszym dniu choroby oparzeniowej do średnio 8900  $\pm$  640 /mm<sup>3</sup> w dniu wypisu dziecka ze szpitala ( $p < 0,01$ ).

Średnia liczba leukocytów w grupie porównawczej wynosiła 9610  $\pm$  960/mm<sup>3</sup> i różniła się istotnie od wartości stwierdzonej w grupie dzieci chorych w pierwszej dobie po oparzeniu ( $p < 0,01$ ). Zmiany stężenia leukocytów we krwi w przebiegu choroby oparzeniowej u dzieci przedstawia rycina 2.

### Badania radiologiczne płuc

Zdjęcia rentgenowskie klatki piersiowej wykonane u dzieci z chorobą oparzeniową podzielono na 2 okresy: zdjęcia wykonane do 4. dnia choroby oparzeniowej oraz wykonane w późniejszym czasie jej trwania.

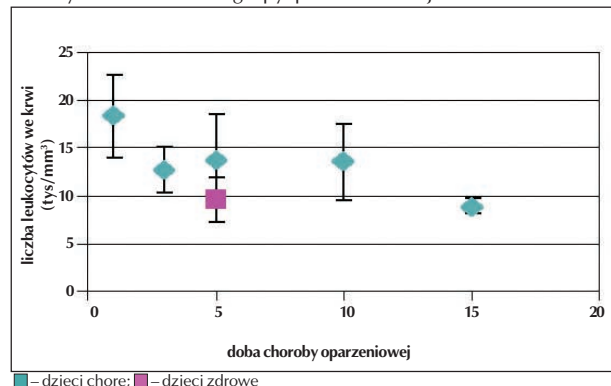
W pierwszym okresie u większości dzieci obserwowano zmiany typowe dla płuca wstrząsowego. Były to rozsiane zmiany przekrwienno-obrzękowe oraz ogniska niedodmy. U dzieci z najłżejszym urazem oparzeniowym zmiany te były słabo wyrażone, natomiast u dzieci z raną oparzeniową obejmującą ponad 25% TBSA wyraźnie zaznaczone, często z cechami przeciążenia płynowego. U dzieci z najcięższym urazem obserwowano tendencję do pojawiania się radiologicznych oznak obrzęku płuc. Tylko u 7 dzieci z oparzeniem powyżej 25% TBSA stwierdzono kliniczne cechy wstrząsu.

Na zdjęciach wykonanych po 4. dobie choroby oparzeniowej spodziewano się radiologicznych cech zapalenia płuc (okołoskrzelowe i ogniskowe zagęszczenia mięszu oraz rozdęcia). U 4/13 dzieci z chorobą oparzeniową z raną oparzeniową poniżej 25% TBSA stwierdzono radiologiczne cechy zapalenia płuc. Tylko 2 z tych pacjentów prezentowało objawy zapalenia płuc pod postacią duszności, zwiększonego wysiłku oddechowego, kaszlu i zmian osłuchowych nad polami płucnymi. Dzieci te doznały urazu oparzeniowego podczas trwającej infekcji górnych dróg oddechowych. U 3 z 9 dzieci ciężko oparzonych (25% TBSA i więcej) stwierdzono radiologiczne cechy zapalenia płuc, co znalazło kliniczne odzwierciedlenie w zmianach osłuchowych.

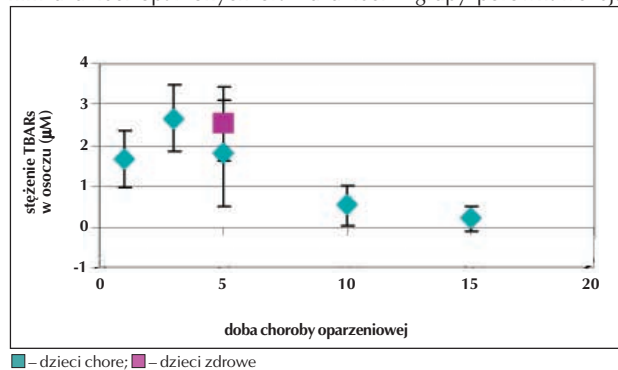
### Popłuczyny z tchawicy i oskrzeli

Popłuczyny z tchawicy i oskrzeli oceniono u 8 z 22 dzieci oparzonych. Wszystkie próbki były bogatokomórkowe. W rozmazach przeważały makrofagi i neutrofile nad komórkami nabłonka dróg oddechowych. Stwierdzano także liczne histocyty przeładowane hemosyderyną. U wszystkich

**Rycina 2.** Średnie stężenie leukocytów (WBC) we krwi z odchyleniem średnim w przebiegu choroby oparzeniowej u dzieci badanych i u dzieci z grupy porównawczej.



**Rycina 3.** Średnie stężenie TBARs w osoczu z odchyleniem średnim u dzieci oparzonych oraz u dzieci z grupy porównawczej.



dzieci, u których oceniono wydzielinę z drzewa oskrzelowego, stwierdzono zmiany typowe dla płuca wstrząsowego w radiogramach płuc, a u 3 z nich – cechy obrzęku płuc. Dwojka z tych dzieci manifestowała kliniczne cechy wstrząsu po urazie pod postacią zaburzeń oddychania i spadku ciśnienia tętniczego krwi. U jednego pacjenta stwierdzono zmiany osłuchowe nad polami płucnymi oraz radiologiczne cechy zapalenia płuc.

W grupie porównawczej wydzielinę z drzewa oskrzelowego pobrano u 9 z 11 dzieci. Rozmazy były ubogokomórkowe i zawierały jedynie prawidłowe komórki nabłonka dróg oddechowych.

#### Stężenie TBARs w osoczu

Stężenie TBARs w osoczu dzieci oparzonych, podobnie jak stężenie CRP, było najwyższe w 3 dniu choroby oparzeniowej (średnio 2,67 +/- 0,34 µM). Podczas leczenia wartości te obniżały się stopniowo aż do wartości poniżej możliwości do wykrycia ( $p < 0,01$ ). Zmiany stężenia TBARs w osoczu dzieci chorych w przebiegu choroby oparzeniowej przedstawione są na rycinie 3.

#### Stężenie TBARs, $H_2O_2$ i $NO_x$ w kondensacie powietrza wydychanego

Zarówno w próbkach kondensatu powietrza wydychanego pobranych od dzieci chorych, jak i od dzieci z grupy porównawczej nie stwierdzono wykrywalnych ilości TBARs.

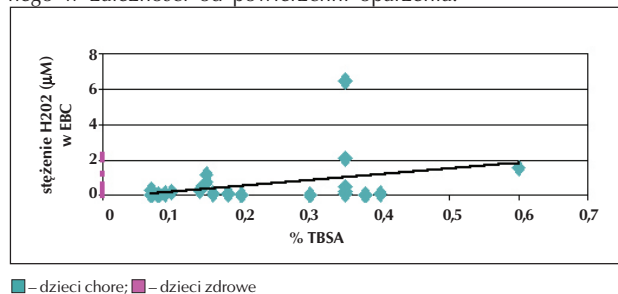
Nie zaobserwowano różnicy w stężeniu  $H_2O_2$  w koncentracji powietrza wydychanego między dziećmi chorymi a zdrowymi. Jednakże występował niewielki dodatni trend ( $r=0,24$ ) wzrostu stężenia  $H_2O_2$  w kondensacie powietrza wydychanego wraz ze wzrostem wielkości powierzchni oparzonej (ryc. 4).

Nie stwierdzono różnicy stężeń  $NO_x$  w kondensacie powietrza wydychanego pobranego od dzieci chorych i zdrowych (ryc. 5).

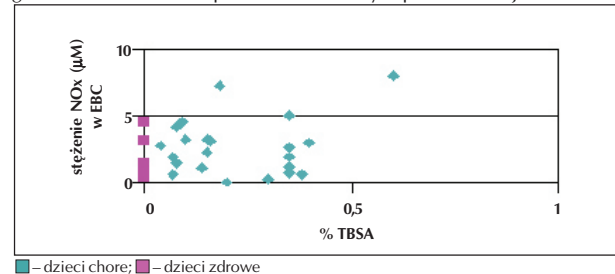
## Dyskusja

Przyjmując nie tylko stężenie CRP i liczbę krwinek białych w surowicy jako wskaźniki procesu zapalnego, wykazano, że u dzieci z chorobą oparzeniową występuje aktyw-

**Rycina 4.** Stężenie  $H_2O_2$  w kondensacie powietrza wydychanego w zależności od powierzchni oparzenia.



**Rycina 5.** Stężenie  $NO_x$  w kondensacie powietrza wydychanego w zależności od powierzchni rany oparzeniowej.



ny uogólniony proces zapalny i osiąga on maksymalne nasilenie w trzeciej dobie choroby.

Zmiany stężenia TBARs w osoczu korelują ze zmianami stężenia CRP. Inni autorzy stwierdzili wzrost stężenia TBARs w osoczu podczas pierwszych 5 dni po urazie (13, 16). W naszym badaniu najwyższe wartości stężeń TBARs w osoczu odnotowano w 3 dobie choroby. Wszystkie dzieci oparzone do 5 doby choroby otrzymywały intensywne leczenie płynowe oraz przeciwzapalne. W 5. dobie choroby oparzeniowej stan dzieci oparzonych był stabilny, co umożliwiło chirurgiczne usunięcie tkanek martwiczych i wykonanie przeszczepu skórno-naskórkowego. Niskie wartości stężeń TBARs w osoczu w tej dobie mogą wynikać z wcześniejszego intensywnego leczenia pacjentów. W piśmiennictwie można znaleźć dane, że tuż po urazie występuje wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych (5, 13). Duża ilość enzymów aktywna w pierwszym okresie choroby może wpływać na szybsze usuwanie produktów peroksydacji lipidów aniżeli u dzieci zdrowych.

Nie tylko badania radiologiczne, ale przede wszystkim badania cytologiczne wydzielin z dróg oddechowych pobranej od dzieci chorych potwierdzają toczące się procesy zapalne w drogach oddechowych pacjentów z chorobą oparzeniową. W przeciwieństwie do ubogokomórkowych rozmazów wydzielin z drzewa oskrzelowego dzieci zdrowych, u dzieci chorych znajdowano liczne komórki naciekowe zapalnego. Stwierdzenie obecności makrofażów i neutrofilów w wydzielinie z dróg oddechowych jest zgodne z obserwacjami zmian w płucach na zwierzęcych modelach choroby oparzeniowej (3, 12, 13). Czyni to jednocześnie prawdopodobną teorię mówiącą o stresie oksydacyjnym jako możliwej przyczynie zaburzeń płucnych w przebiegu choroby oparzeniowej.

Z piśmiennictwa wiadomo, że u zdrowych osób nie stwierdza się TBARs w kondensacie powietrza wydychanego (7). Z badań na zwierzęcym modelu choroby oparzeniowej wynika, że we wczesnym okresie pourazowym występuje peroksydacja lipidów w tkankach płuc (7, 10, 12). Procesy te są wyraźnie hamowane przez niesteroidowe środki przeciwzapalne (7). W naszych badaniach nie stwierdzono obecności TBARs w kondensacie powietrza wydychanego zarówno u dzieci chorych w okresie stabilizacji ich stanu klinicznego, jak i u dzieci z grupy porównawczej. Może to być spowodowane efektywnym usuwaniem produktów peroksydacji lipidów z dróg oddechowych do 5. doby choroby oparzeniowej przez aktywowane mechanizmy obronne u dzieci chorych. Ponadto wszystkie oparzone dzieci otrzymywały Pylalginum lub Paracetamol w celu zniesienia bólu, co mogło mieć wpływ na otrzymane wyniki.

Wzrost stężenia  $H_2O_2$  w kondensacie powietrza wydychanego był obserwowany wraz ze wzrostem całkowitej powierzchni rany oparzeniowej. U dzieci z rozległym oparzeniem stężenie  $H_2O_2$  było wyższe aniżeli u dzieci zdrowych, a u dzieci z lekkimi i umiarkowanymi oparzeniami niższe aniżeli u dzieci z grupy porównawczej. Może to być spowodowane dużą sprawnością mechanizmów antyoksy-

dacyjnych u dzieci i tylko przy masywnym urazie mechanizmy te okazują się niewystarczające. Aczkolwiek wartości stężenia nadtlenu wodoru w kondensacie powietrza wydychanego stwierdzone u dzieci z chorobą oparzeniową były zbliżone do wartości stwierdzanych w przeziębieniu lub astmie i nieco niższe aniżeli u pacjentów z ARDS lub posocznicą (6, 23, 24). Żaden z prezentowanych pacjentów nie miał ostrej niewydolności oddechowej lub posocznicy w okresie zbierania kondensatu powietrza wydychanego. Nie możemy wykluczyć wpływu znieczulenia ogólnego na stężenie  $H_2O_2$  w kondensacie powietrza wydychanego. Prezentowane w piśmiennictwie wartości referencyjne stężenia  $H_2O_2$  w kondensacie powietrza wydychanego u zdrowych dorosłych lub rzadziej dzieci były niższe niż u dzieci z grupy porównawczej w prezentowanym badaniu (7, 20, 25). W żadnej z prac oceniających stężenie  $H_2O_2$  w kondensacie powietrza wydychanego nie zbierano powietrza wydychanego podczas znieczulenia ogólnego, brak więc odpowiednich wartości porównawczych.

Nieliczni autorzy przedstawiają podwyższone stężenia  $NO_x$  w osoczu pacjentów z chorobą oparzeniową w okresie późniejszym niż 5. doba po urazie (9). Na ogół istotne różnice w stężeniach między oparzonymi a zdrowymi obserwowano w pierwszej dobie po urazie oraz w okresie późniejszym w przypadku rozwoju posocznicy (17, 19, 28). W piśmiennictwie brak jest jednoznacznych wyników zależności między stężeniem  $NO_x$  w surowicy

a rozległością rany oparzeniowej: według części autorów taka zależność nie występuje, jednak według innych można mówić o dodatniej korelacji (8, 17, 18, 22, 28, 29). Brak doniesień odnoszących się do stężeń  $NO_x$  w kondensacie powietrza wydychanego. W prezentowanym badaniu stężenia związków azotu ( $NO_x$ ) w kondensacie powietrza wydychanego były nieco niższe w grupie dzieci badanych w porównaniu z tymi pozyskanymi od dzieci z grupy porównawczej, chociaż nie były to różnice statystycznie istotne. Nie można wykluczyć wpływu znieczulenia ogólnego z zastosowaniem podtlenu azotu na zebrany w trakcie jego trwania kondensat powietrza wydychanego. Wydaje się jednak, że największy wpływ na uzyskane wartości miał fakt zbierania kondensatu powietrza wydychanego po stabilizacji stanu klinicznego pacjentów, po intensywnym leczeniu przeciwwzapalnym.

## Wnioski

1. We wczesnym okresie po oparzeniu w surowicy dzieci obserwuje się podwyższone wskaźniki stanu zapalnego oraz obecność markerów stresu oksydacyjnego.

2. U dzieci z oparzeniami skóry bez współistniejącego urazu inhalacyjnego występują zmiany zapalne w drogach oddechowych.

3. W okresie stabilizacji stanu klinicznego tych pacjentów nie występują wyraźne cechy stresu oksydacyjnego w kondensacie powietrza wydychanego.

## PIŚMIENNICTWO:

1. Belba M., Pema L., Dauti L., Mingomataj L., Isaraj S., Belba G. Clinical and statistical data on the occurrence of pulmonary complications in severe burn patients treated in an intensive care unit. *Ann. Burns Fire Disaster* 1998, 1 (2), 86-90.
2. Hollingsed T. C., Saffle J. R., Barton R., G., Craft W. B., Morris S. E. Etiology and consequences of respiratory failure in thermally injured patients. *Am. J. Surg.* 1993, 166, 592-597.
3. Scanell D., Waxman K., Tominaga G. T. Respiratory distress in traumatized and burned children. *J. Ped. Surg.* 1995, 60 (4), 612-614.
4. Reynolds E. M., Ryan D. P., Doody D. P. Mortality and respiratory failure in a pediatric burn population. *J. Ped. Surg.* 1993, 28 (10), 1326-1331.
5. Burton L. K., Velasco S. E., Patt A., Terada L. S., Repie J. E. Xanthine oxidase contributes to lung leak in rats subjected to skin burn. *Inflammation* 1995, 19 (1), 31-38.
6. Baldiwn S. R., Simon R. H., Grum C. M., Ketaj L. H., Boxer L. A., Devall L. J. Oxidant activity in expired breath of patients with adult respiratory distress syndrome. *Lancet* 1986, 4, 1 (8471), 11-14.
7. Jin L. J., Lalonde C., Demling R. H. Lung dysfunction after thermal injury in relation to prostanoïd and oxygen radical release. *J. Appl. Physiol.* 1986, 61 (1), 103-112.
8. Sobczyński P., Wąsowicz M. Kliniczne aspekty reperfuzji płuc. W: *Kliniczne aspekty niedokrwienia i reperfuzji*, red. S. Zapalski, P. Chęciński. Bielsko Biała, Alfa-medica Press 1998.
9. Gamelli R. L., George M., Sharp-Pucci M., Dries D. J., Radisavljevic Z. Burn-induced nitric oxide release in humans. *J. Trauma Injury Crit. Care* 1995, 39 (5), 869-877, (dyskusja 877-878).
10. Till G. O., Beauchamp C., Menapace D., Tourtellotte W. Jr., Kunkel R., Johnson K. J., Ward P. A. Oxygen radical dependent lung damage following thermal injury of rat skin. *J. Trauma* 1983, 23 (4), 269-277.
11. Ward P. A., Till G. O. Pathophysiologic events related to thermal injury of skin. *J. Trauma* 1990, 30 (12 suppl), 75-79.
12. Demling R. H., Lalonde C. Effect of a body burn on endotoxin – induced lipid peroxidation: comparison with physiologic and histologic changes. *Surgery* 1990, 107 (6), 669-676.
13. Kumar R., Seth R. K., Sekhon M. S., Bhargava J. S. Serum lipid peroxide and other enzyme levels of patients suffering from thermal injury. *Burns* 1995, 21 (2), 96-97.
14. Till G. O., Hatherill J. R., Tourtellotte W. W., Lutz M. J., Ward P. A. Lipid peroxidation and acute lung injury after thermal trauma to skin. *Am. J. Pathol.* 1985, 119 (3), 376-384.
15. Till G. O., Hatherill J. R., Tourtellotte W. W., Lutz M. J., Ward P. A. Lipid peroxidation and acute lung injury after thermal trauma to skin. Evidence of a role for hydroxyl radical. *J. Pathol.* 1985, 119, 376-384.
16. Bertin-Maghit M., Goudable J., Dalmas E., Steghens J.-P., Bouchard C., Gueugniaud P.-Y., Petit P., Delafosse B. Time course of oxidative stress after major burns. *Intensive Care Med.* 2000, 26 (6), 800-803.
17. do Rosario, Caneira da Silva M., Mota Filipe H., Pinto R. M. A., Salaverria Timoteo de Cavalho M. F., Monteiro Godinho de Matos M. M., Ferreira A. C., Giau Toscano Rico J. M. Nitric oxide and human thermal injury short term outcome. *Burns* 1998, 24 (3), 207-212.
18. Nakae H., Endo S., Inada K., Yamada Y., Nasu W., Taniguchi S., Ishikura H., Tanaka T., Wakabayashi G., Sato S. Are nitrite/nitrate ( $NO_x$ ) levels elevated by inhalation injury? *Burns* 2000, 26 (6), 515-519.
19. Saitoh D., Takasu A., Fukuzuka K., Norio H., Sakamoto T., Okada Y. Analysis of plasma nitrite/nitrate in human thermal injury. *Tohoku J. Exp. Med.* 2001, 194 (2), 129-136.
20. 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 (6), 1235-1241.
21. Dohlman A. W., Black H. R., Royall J. A. Expired breath hydrogen peroxide is a marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993, 148, 955-960.
22. Ganas K., Loukides S., Papatheodorou G., Panagou P., Kalogeropoulos N. Total nitrite/nitrate in expired breath condensate of patients

- with asthma. *Respir. Med.* 2001, 95, 649-654.
23. Jöbsis R. Q., Schellekens S. L., Fakkkel-Kroesbergen A., Raatgeep R. H., de Jongste J. C. Hydrogen peroxide in breath condensate during a common cold. *Mediators Inflamm.* 2001, 10 (6), 351-354.
  24. Sznajder J. I., Fraiman A., Hall J. B., Sanders W., Schmidt G., Crawford G., Nahum A., Factor Ph., Wood L. D. H. Increased hydrogen peroxide in the expired breath of patients with acute hypoxemic respiratory failure. *Chest* 1989, 96 (3), 606-612.
  25. Jöbsis Q., Raatgeep H. C., Schellekens S. L., Hop W. C. J., Hermans P. W. M., de Jongste J. C. Hydrogen peroxide in exhaled air of healthy children: reference values. *Eur. Respir. J.* 1998, 12, 483-485.
  26. Antczak A., Nowak D., Shanati B., Król M., Piasecka G., Kurmanowska Z., Increased hydrogen peroxide and thiobarbituric acid-reactiv products in expired breath condensate of asthmatic patients. *Eur. Respir. J.* 1997, 10 (6), 1235-41.
  27. Ruch W., Cooper P. H., Baggiolini M. Assay of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production by macrophages and neutrophils with homovanillic acid and horseradish peroxidase. *J. Immunol. Methods.* 1983, 28, 63 (3), 347-357.
  28. Preiser J. C., Vlasselaer D., Vray B., Ahang H., Metz G., Vanderkelen A., Vincent J. L. Nitric oxide production is increased in patients after burn injury. *J. Trauma Injury Infection Crit. Care* 1996, 40 (3), 386-371.
  29. Harper R., Parkhouse N., Green C., Martin R. Nitric oxide production in burns: plasma nitrate levels are not increased in patients with minor thermal injuries. *J. Trauma* 1997, 43 (3), 467-474.

Adres do korespondencji:

Dr Adrianna Grabowska  
Klinika Chirurgii i Onkologii Dziecięcej Instytutu Pediatrii UM  
ul. Sporna 36/50  
91-738 Łódź  
tel./fax:(0-42) 656 25 52

