

Sławomir A Pancewicz¹, Elżbieta Skrzydlewska², Teresa Hermanowska-Szpakowicz¹, Anna Stankiewicz², Maciej Kondrusik¹

OCENA POTENCJAŁU OKSYDOREDUKCYJNEGO U CHORYCH Z NEUROBORELIOZĄ

¹ Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji AM w Białymstoku

Kierownik: T. Hermanowska-Szpakowicz

² Zakład Chemii Analitycznej AM w Białymstoku

Kierownik: E. Skrzydlewska

Badaniami objęto 25 chorych z rozpoznaniem neuroboreliozy pod postacią zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, wykazując w płynie mózgowo-rdzeniowym zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej wyrażające się wzrostem aktywności dysmutazy nadtlenkowej (SOD) oraz obniżeniem aktywności peroksydazy glutationowej (GSH-Px), reduktazy glutationowej (GSSG-R), a wzrostem stężenia grup -SH i aldehydu malonowego (MDA). W surowicy wykazano wzrost aktywności enzymów SOD, GSH-Px i GSSG-R oraz stężenia grup -SH i MDA.

Słowa kluczowe: neuroborelioza, reaktywne formy tlenu, antyoksydanty

Key words: neuroborreliosis, reactive oxygen species, antioxidants

WSTĘP

Neuroborelioza - zapalna choroba obwodowego i ośrodkowego układu nerwowego - wywołana jest przez krętki *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Najwcześniejszą postacią boreliozy układu nerwowego jest zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, rozwijające się często jeszcze przed ustąpieniem rumienia wędrującego. Rzadko, jedynie u ok. 0,1% zakażonych, neuroborelioza przebiega jako ciężkie zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego objawiające się zaburzeniami świadomości, ogniskowym uszkodzeniem ośrodkowego układu nerwowego o różnej lokalizacji i niedowładami związanymi z zajęciem rdzenia kręgowego (1). Rozpoznanie choroby jest trudne, gdyż większość jej objawów klinicznych nie jest specyficzna i występuje w przebiegu wielu innych chorób. Diagnostyka choroby polega na wykazaniu zmian zapalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym (pmr) i obecności swoistych przeciwciał przeciw *B. burgdorferi* w pmr. Wyhodowanie krętka *B. burgdorferi* z pmr jest trudne i rzadko wykonywane ze względu na niski

odsetek dodatnich wyników; wg Karlsson i wsp. odsetek ten wynosi poniżej 10% (2). Także identyfikowanie DNA krętka w pmr metodą PCR nie jest powszechnie wykonywane. Ujemny wynik badania PCR wg Pachner i Delaney nie wyklucza neuroboreliozy, gdyż jego przyczyną może być nieobecność, niska liczba krętków lub krętkowego DNA w pmr (3).

Celem pracy była ocena zachowania się parametrów układu oksydoredukcyjnego surowicy i płynu mózgowo-rdzeniowego u chorych z neuroboreliozą przebiegającą pod postacią zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto 25 chorych w wieku od 21 do 64 lat ($x = 42,3$) hospitalizowanych w Klinice Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji AM w Białymstoku z rozpoznaniem neuroboreliozy pod postacią zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Rozpoznanie choroby ustalono na podstawie wywiadu epidemiologicznego, obrazu klinicznego, wyników badań laboratoryjnych - zwłaszcza pmr - i wyników badań serologicznych: wykrycia w pmr i w surowicy przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* w klasie IgM i/lub dynamiki mian przeciwciał w klasie IgG testem immunoenzymatycznym ELISA przy użyciu zestawu firmy Biomedica IgM i IgG (Austria).

W pmr i surowicy tych samych chorych oznaczano aktywności: dysmutazy nadtlenkowej (Cu,Zn-SOD EC 1.15.1.1) wg Sykesa (4,5), reduktazy glutationowej (GSSG-R EC.1.6.4.2) wg Mitze i Langdon (6), peroksydazy glutationowej (GSH-Px EC.1.11.1.6.) wg Paglia i Valentine (7) oraz stężenie grup sulhydrylowych (\sim SH) wg Ellmana (8) i aldehydu malonowego (MDA) przy użyciu zestawu Bioxytech LPO-586 kit. Grupę kontrolną stanowiło 10 pacjentów z rozpoznaniem dyskopatii, u których pmr nie wykazywał odchyień od normy. Badania przeprowadzono dwukrotnie: przed leczeniem (badanie 1) i średnio po 4 tygodniach antybiotykoterapii (badanie 2). Wyniki badań poddano analizie statystycznej przy pomocy programu Statistica 5,0 PL.

WYNIKI

W pmr w grupie kontrolnej średnie wartości badanych parametrów układu oksydoredukcyjnego wynosiły: SOD $x = 15,951$ j/mg białka, GSH-Px $x = 688,189$ nj/mg białka, GSSG-R $x = 19,547$ nj/mg białka, -SH $x = 0,961$ μ mol/g i MDA $x = 0,177$ nmol/mg białka. Natomiast w surowicy wynosiły one: SOD $x = 3,021$ j/mg białka, GSH-Px $x = 141,707$ nj/mg białka, GSSG-R $x = 24,87$ nj/mg białka, -SH $x = 198,832$ μ mol/g i MDA $x = 4,757$ nmol/mg białka.

Badanie pmr wykonane przed leczeniem wykazało zmiany o charakterze zapalnym: pleocytoza wahała się od 38 do 80 komórek w 1 mm^3 ($x = 56,33$), stężenie białka od 32,0 do 91,00 mg/dl ($x = 62,67$ mg/dl). W badaniu 2 w pmr stwierdzono: cytozę średnio $x = 12,0$ komórek w 1 mm^3 (od 8 do 17 komórek w 1 mm^3), stężenie białka $x = 24,33$ mg/dl (od 15,0 do 37,0 mg/dl).

W surowicy chorych aktywność SOD w badaniu 1 była 16-krotnie wyższa porównaniu do grupy kontrolnej. Po antybiotykoterapii, mimo prawie 2-krotnego obniżenia, nadal była 9-krotnie wyższa w porównaniu z grupą kontrolną. Aktywność GSSG-R w surowicy 25-krotnie wyższa przed leczeniem, uległa 3,7-krotnemu obniżeniu po leczeniu, jednak nadal prawie 7-krotnie przewyższała aktywność w grupie kontrolnej. W suro-

wicy w badaniu 1 stwierdzono 7,6-krotny wzrost aktywności GSH-Px. Po leczeniu jej aktywność obniżyła się ale była nadal 2,7-krotnie wyższa niż w grupie kontrolnej. Stężenie wolnych grup -SH w surowicy w badaniu 1 było 1,6-krotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną. Po zakończeniu leczenia spadło ono 2-krotnie; uzyskując wartości niższe niż w grupie kontrolnej. Natomiast stężenie MD A przed leczeniem było aż 8,5-krotnie wyższe niż w grupie kontrolnej i mimo, iż po leczeniu uległo 3-krotnemu obniżeniu to nadal było 2,7-krotnie wyższe niż u osób zdrowych. Wszystkie wymienione różnice były statystycznie istotne (tab. I).

Aktywność SOD w pmr przed leczeniem chorych wynosiła 44,42 j/ml i była prawie 3-krotnie wyższa niż w grupie kontrolnej. Po leczeniu obniżyła się znamienne, ale nadal była znacząco 1,2-krotnie wyższa. Aktywność GSSG-R w pmr była przed leczeniem niższa niż w grupie kontrolnej, ale po leczeniu uległa dalszemu 2,6-krotnemu obniżeniu. Także aktywność GSH-Px w pmr w badaniu 1 prawie 10-krotnie niższa w porównaniu z grupą kontrolną, po antybiotykoterapii, podobnie jak aktywność GSSG-R, która mimo prawidłowego już obrazu pmr, uległa znacznemu, dalszemu obniżeniu, uzyskując wartość 35,8 j/ml, tj. 19-krotnie niższą niż w grupie kontrolnej. Stężenie wolnych grup -SH w pmr przed antybiotykoterapią było ponad 100-krotnie wyższe niż w pmr osób z grupy kontrolnej. Po leczeniu, mimo normalizacji parametrów pmr, uległo obniżeniu, jednak nadal przewyższało prawie 35-krotnie ich stężenie w prawidłowym pmr. Również stężenie MDA w pmr przed leczeniem 3-krotnie wyższe, w badaniu 2 uległo obniżeniu do wartości uzyskanych w grupie kontrolnej. Wszystkie wyżej wymienione różnice były statystycznie istotne (tab. I).

Nie wykazano korelacji pomiędzy badanymi parametrami antyoksydacyjnymi i stężeniami produktów peroksydacji zawartymi w pmr i w surowicy poza istotną zależnością aktywności SOD w badaniu 2 (tab. II).

DYSKUSJA

Spośród komórek układu odpornościowego uczestniczących w odpowiedzi zapalnej najważniejszą rolę odgrywają granulocyty obojętnochłonne. Fagocytyujący granulocyty obojętnochłonny zwiększa konsumpcję tlenu i uwalnia do przestrzeni pozakomórkowej reaktywne formy tlenu (RFT). Zjawisko to - nazwane wybuchem tlenowym - jest istotne dla zabijania wielu gatunków bakterii (9). Georgilis i wsp. i Suhonen i wsp. wykazali, że wszystkie szczepy *B. burgdorferi* chociaż miały różną zdolność poddawania się eliminacji przez fagocytozę powodowały indukcję wybuchu tlenowego (10, 11). Ma i wsp. wykazali, iż lipoproteiny OspA i OspB *B. burgdorferi* stymulują produkcję tlenku azotu (NO) przez makrofagi szpiku kostnego, a Modolel i wsp. stwierdzili, iż interakcja *B. burgdorferi* z mysimi makrofagami szpiku kostnego prowadzi do fagocytozy krętków, generacji NO i anionorodnika ponadtlenkowego (12, 13). Cinco i wsp. wykazali, że fagocytoza i aktywność metaboliczna komórek fagocytyujących *B. burgdorferi* wzrastała jako funkcja stężenia krętków, wzmacniała ją opsonizacja krętków, jednak ich intensywność była mniejsza niż dla *S. aureus* (14).

Zwraca się uwagę na udział SOD w aktywności bakteriobójczej fagocytów. Jonhston i wsp. wykazali, że zabijanie *S. aureus* było hamowane gdy opłaszczona lateksem SOD była fagocytowana razem z bakteriami, a Hampton i wsp. stwierdzili, że przymocowanie SOD do powierzchni *S. aureus* zmniejszało wskaźnik zabijania o 30% (15, 16). Rola

Tabe l a I. Porównanie aktywności parametrów antyoksydacyjnych i produktów peroksydacji (MDA) u pacjentów z neuroboreliozą w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym przed i po leczeniu oraz z grupą kontrolną

Tab l e I. Comparison of cerebrospinal fluid and serum antioxidation parameters and peroxidation products (MDA) of patients before and after treatment with parameters of in healthy controls

Badane parametry	Badanie 1			Badanie 2			Badanie 1 a 2	Gr. kontrolna a badanie 1	Gr. kontrolna a badanie 2
	Wartość od - do	x =	SD	Wartość od - do	x =	SD	p =	p =	p =
S u r o w i c a									
SOD j/mg białka	27,35-81,77	47,97	14,77	13,0-50,8	26,99	13,0	0,00001*	0,00001*	0,00001*
GSH-Px j/mg białka	438,26-1706,0	1073,05	269,42	115,15-876,53	391,00	152,04	0,00001*	0,00001*	0,00001*
GSSG-R nj/mg białka	244,88-1288,14	620,27	283,73	103,45-508,59	168,40	87,14	0,00001*	0,00001*	0,00001*
MDA nmol/mg białka	13,0-89,5	40,26	22,43	4,0-20,2	13,02	3,96	0,00001*	0,00001*	0,00001*
-SH μ mol/g tkanki	172,04-469,56	315,57	57,38	27,35-372,84	169,55	80,76	0,00001*	0,00001*	0,1405
P ł y n m ó z g o w o - r d z e n i o w y									
SOD j/mg białka	8,7-85,18	44,42	18,80	6,25-46,22	20,56	11,97	0,00001*	0,0001*	0,6533
GSH-Px j/mg białka	10,3-426,42	70,77	88,60	4,15-143,1	35,8	47,01	0,00001*	0,00001*	0,00001*
GSSG-R nj/mg białka	1,36-27,33	7,97	6,88	1,0-16,39	7,57	4,6	0,7570	0,0001*	0,000001*
MDA nmol/mg białka	0,03-1,49	0,54	0,47	0,03-0,962	0,18	0,23	0,00001*	0,0017	0,2865
-SH μ mol/g tkanki	1,02-293,26	100,02	74,75	0,98-89,70	33,29	14,96	0,00001*	0,00001*	0,00001* t

- - istotność statystyczna ($p < 0,05$)
- wzrost
- obniżenie

Tabela II. Porównanie zależności badanych parametrów antyoksydacyjnych i produktów peroksydacji (MDA) w płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy u chorych z neuroborelioza

Table II. Comparison of antioxidation parameters and peroxidation products (MDA) in cerebrospinal fluid and serum in patients with neuroborreliosis

			Płyn mózgowo-rdzeniowy									
			Badanie 1					Badanie 2				
			SOD	GSH-Px	GSSG-R	MDA	-SH	SOD	GSH-Px	GSSG-R	MDA	-SH
S u r o w i c a	B a d a n i e 1	SOD	p=0,682									
		GSH-Px		p=0,348								
		GSSG-R			p=0,545							
		MDA				p=0,235						
		-SH					p=0,359					
	B a d a n i e 2	SOD					p=0,008*					
		GSH-Px						p=0,208				
		GSSG-R							p=0,833			
		MDA								p=0,296		
		-SH										p=0,714

• - istotność statystyczna (p<0,05)

SOD w hamowaniu zabijania sfagocytowanych bakterii może być wyjaśniona poprzez hamowanie produkcji rodników wodorotlenowych. Wykazano, że *Mycobacterium tuberculosis*, *Nocardia asteroides* oraz *Helicobacter pylori* wydzielają SOD, co być może jest przyczyną zmniejszenia ich zabijania (17,18,19). Nichols i wsp. zidentyfikowali pojedynczy gen SOD w krętkach *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* i *B. afzelii* (20).

W neuroboreliozie układu nerwowego wykazano zapalenie nerwów ze zmianą struktury aksonu i demielinizacją, obecnością okołonaczyniowych nacieków zapalnych składających się z makrofagów i limfocytów B, uszkodzenie komórek Schwanna i obecność *B. burgdorferi* lub jej antygenów wewnątrz makrofagów (21). Garcia-Monco i wsp. wykazali, że podanie żywych *B. burgdorferi* powodowało wzrost przepuszczalności bariery krew - mózg zależny od dawki podanych krętków, natomiast neurologiczne uszkodzenia były spowodowane bezpośrednim działaniem krętków i ich produktów na komórki neuronalne, komórki Schwanna i glejowe i generacją tlenku azotu (NO) (21). Mechanizmy odpowiedzialne za neurotoksyczne działanie NO nie są do końca wyjaśnione. Przypuszcza się, że NO może wywierać swoje działanie przez generację anionów nadadtlenkowych (9).

Bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych charakteryzuje się intensywną reakcją zapalną w przestrzeni podpajęczynówkowej i w oponach mózgowych, uszkodzeniem bariery krew-mózg, obrzękiem mózgu oraz zapaleniem naczyń. Produkcji RTF w komórkach śródbłonna naczyń i odpowiedzi zapalnej okołonaczyniowego mikrogleju towarzyszy stres oksydacyjny prowadzący do wzrostu przepuszczalności bariery krew-mózg, oksydacyjnego uszkodzenia neuronów i peroksydacji lipidów w neuronach (22). Leib i wsp. w paciorkowcowym zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych wykazali generację RTF w komórkach w zapaleniu komór i podpajęczynówki oraz naczyń mózgowych; stwierdzili, że stosowanie antyoksydantów w sposób istotny zmniejsza uszkodzenie tkanki mózgowej (22,23). Jain i wsp. wykazali wzrost stężenia anionorodnika nadadtlenkowego (od 0,67 do 8,8 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{dl}$), nadttlenku wodoru (od 342,1 do 2067 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{dl}$) i aktywności SOD (od 11,3 do 42,8 j/ml) w pmr u chorych z bakteryjnym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych. Wskaźniki generacji anionu nadadtlenkowego, stężenia MDA i aktywności SOD były zdecydowanie wyższe u dzieci wyleczonych lub zmarłych z powodu bakteryjnego zapalenia opon niż u dzieci wyleczonych lub zmarłych z powodu zapalenia gruźliczego. Wg autorów wzrost stężenia MDA odzwierciedla stopień uszkodzenia tkanki mózgowej w przebiegu zapalenia opon (24, 25). Yoshida i wsp. obserwowali wzrost aktywności Cu/Zn SOD i Mn SOD pmr w bakteryjnych zapaleniach opon mózgowo-rdzeniowych i chorobach naczyniowych mózgu następujący nie tylko w wyniku przechodzenia enzymu z uszkodzonej tkanki nerwowej, ale także na skutek indukowania jego produkcji w miejscu uszkodzenia (26).

We własnych badaniach pmr w początkowej fazie neuroboreliozy zaobserwowano - podobnie jak w bakteryjnym zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych - istotny, wielo-rotny wzrost aktywności SOD i stężenia MDA. Po antybiotykoterapii mimo cofnięcia się zmian zapalnych w pmr aktywność SOD obniżała się, jednak nadal była 1,2-krotnie wyższa w porównaniu z grupą kontrolną. Także stężenie MDA trzykrotnie wyższe przed leczeniem, uległo znamiennej obniżeniu do wartości uzyskanych w grupie kontrolnej.

W poprzednich własnych badaniach chorych z *erythema migrans* - wczesnej postaci boreliozy z Lyme - w badaniu wstępnym stwierdzono obniżenie aktywności SOD i GSH-Px w surowicy i jej dalsze obniżanie się, mimo całkowitego cofnięcia się zmian skórnych. Natomiast aktywność GSSG-R przed leczeniem była wyższa niż w grupie kontrolnej i po antybiotykoterapii ulegała dalszemu podwyższeniu. Natomiast przed leczeniem stężenie MDA było znacznie wyższe, a po leczeniu - mimo obniżenia się - nadal było 3-krotnie wyższe w porównaniu do osób zdrowych. Stężenie grup -SH przed leczeniem wynosiło 76,7% wartości uzyskanych w grupie kontrolnej, po antybiotykoterapii uległo podwyższeniu, nie osiągając jednak stężenia w grupie kontrolnej (27).

W obecnych badaniach u chorych z neuroboreliozą, w przeciwieństwie do chorych z rumieniem wędrującym, zwraca uwagę wielokrotny wzrost aktywności wszystkich enzymów antyoksydacyjnych w surowicy, obniżający się po antybiotykoterapii. Jednak mimo ustąpienia zmian chorobowych aktywność tych enzymów nadal znacznie, istotnie przewyższała wartości uzyskane w grupie kontrolnej. Również stężenie MDA i grup -SH, mimo obniżenia po leczeniu, nadal było istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej.

Uzyskane wyniki wskazują, że w neuroboreliozie pod postacią zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych dochodzi do zaburzeń równowagi oksydoredukcyjnej zarówno w pmr jak i w surowicy. Badania wykazały, że w pmr wzrasta aktywność SOD i obniża aktywność GSH-Px, GSSG-R. Konsekwencją tych zmian jest wzrost stężenia wolnych grup -SH i produktów peroksydacji lipidów mierzonych jako MDA. Również w surowicy zaobserwowano zarówno zaburzenia enzymatycznych jak i nieenzymatycznych parametrów obrony antyoksydacyjnej, charakteryzujące się wzrostem aktywności enzymów SOD, GSH-Px i GSSG-R oraz stężenia grup -SH i MDA.

S A Pancewicz, E Skrzydlewska, T Hermanowska-Szpakowicz, A Stankiewicz, M Kondrusik

EVALUATION OF OXIDOREDUCTIVE POTENTIAL OF PATIENTS WITH NEUROBORRELIOSIS

SUMMARY

Aim: The purpose of the study was to evaluate parameters of oxidoreductive system in serum and cerebrospinal fluid (CSF) of patients with neuroborreliosis.

Material and methods: The cases were 25 patients aged 21 to 64 ($x=42,3$) hospitalized with diagnosis of neuroborreliosis. Activity of superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD), glutathione reductase (GSSG-R), glutathione peroxidase (GSH-Px) and concentration of sulphhydryl groups (-SH) and malondialdehyde (MDA) in serum and CSF were tested. The control group consisted of 10 patients with diagnosis of discopathy. An examination was performed twice: before and after treatment.

Results: Results of the study showed lack of stability in an oxidoreductive system during neuroborreliosis both in serum and in CSF. In CSF activity of SOD was increased while activity of GSH-Px and GSSG-R were decreased. Also concentration of -SH and lipid peroxidation products measured as MDA were increased. The increase of SOD, GSH-Px, GSSG-R activity and concentration of -SH and MDA in serum were detected.

Conclusions: Disorders of an oxidoreductive system in CSF and serum during neuroborreliosis were observed. These changes persisted despite treatment and normalization of inflammatory CSF markers.

PIŚMIENNICTWO

1. Zajkowska JM, Hermanowska-Szpakowicz T, Pancewicz SA, i in. Neurologiczne postacie choroby z Lyme. *Pol Merk Lek* 2000;9:584-8.
2. Karlsson M, Hovind-Hougen K, Svenungsson B, i in. Cultivation and characterization of spirochetes from cerebrospinal fluid of patients with Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol* 1990;28:473-9.
3. Pachner AR, Delaney E. The polymerase chain reaction in the diagnosis of Lyme neuroborreliosis. *Ann Neurol* 1993;34(4):544-50.
4. Blum J, Fridovich I. Inactivation of glutathione peroxidase by superoxide radical. *Arch Biochem Biophys* 1985;240:500-8.
5. Sykes JA, McCormac FX, O'Brien TJ. Preliminary study of the superoxide dismutase content of some tumors. *Cancer Res* 1978;38:2759-62.
6. Mitze CE, Langdon RG. Hepatic glutathione reductase. Purification and general kinetic properties. *J Biol Chem* 1962;237:1589-91.
7. Paglia DE, Valentine WN. Glutathione peroxidase selenoprotein activity in various tissue. *Biol Chem* 1967;145:233-5.
8. Ellman GL. SHgroups determination in biological fluids. *Anal Biochem* 1970;46:233-5.
9. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn ChC. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase and bacterial killing. *Blood* 1998;92:3007-17.
10. Georgilis K, Steere AC, Klempner MS. Infectivity of *Borrelia burgdorferi* correlates with resistance to elimination by phagocytic cells. *J Infect Dis* 1991;163:150-5.
11. Suhonen J, Hartiala K, Tuominen-Gustafsson H, i in. *Borrelia burgdorferi* induced oxidative bursts, calcium mobilization and phagocytosis of human neutrophils are complement dependent. *J Infect Dis* 2000;181:195-202.
12. Ma Y, Seiler KP, Tai KF, i in. Outer surface lipoproteins of *Borrelia burgdorferi* stimulate nitric oxide production by the cytokine-inducible pathway. *Infect Immun* 1994;62:3663-71.
13. Modolell M, Schaible UE, Ritting MI, i in. Killing of *Borrelia burgdorferi* by macrophages is dependent on oxygen radicals and nitric oxide and can be enhanced by antibodies to outer surface proteins of the spirochete. *Immunol Lett* 1994;40:139-46.
14. Cinco M, Murgia R, Perticarai S, i in. Simultaneous measurement by flow cytometry of phagocytosis and metabolic burst induced in phagocytic cells in whole blood by *Borrelia burgdorferi*. *FEMS Microbiol Lett* 1994;15:187-93.
15. Johnston RB, Keele BB Jr, Misra HP, i in. The role of superoxide anion generation in phagocytic bactericidal activity. Studies with normal and chronic granulomatous disease leukocytes. *J Clin Invest* 1975;55:1357-60.
16. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. The involvement of superoxide and myeloperoxidase in oxygen-dependent bacterial killing. *Infect Immun* 1996;64:3515-7.
17. Kusumose E, Ichihara K, Noda Y, i in. Superoxide dismutase from *Mycobacterium tuberculosis*. *J Biochem* 1994;80:1343-5.
18. Beaman BL, Scates SM, Moring SE, i in. Purification and properties of a unique superoxide from *Nocardia asteroides*. *J Biol Chem* 1994;258:91-3.
19. Spiegelhalter C, Gerstenecker B, Kersten A, i in. Purification of *Helicobacter pylori* superoxide dismutase and cloning and sequencing of the gene. *Infect Immun* 1993;61:5315-7.
20. Nichols TF, Whitehouse CA, Austin FE. Transcriptional analysis of a superoxide dismutase gene of *Borrelia burgdorferi*. *FEMS Microbiol Lett*.2000;183(1):37-42.
21. Garcia-Monco JC, Benach JL. Mechanisms of injury in Lyme neuroborreliosis. *Semin Neurol* 1997;17:57-62.

22. Leib SL, Kim YS, Chow LL, i in. Reactive oxygen intermediates contribute to necrotic and apoptotic neuronal injury in an infant rat model of bacterial meningitis due to group B streptococci. *J Clin Invest* 1996;98:2632-9.
23. Auer M, Pfister LA, Leppert D, i in. Effects of clinical used antioxidants in experimental pneumococcal meningitis. *J Infect Dis* 2000;182:347-50.
24. Jain M, Aneja S, Mehta G, i in. CSF interleukin-1 beta, tumor necrosis factor-alfa and free radicals production in relation to clinical outcome in acute bacterial meningitis. *Indian Pediatr* 2000;37:608-14.
25. Ray G, Aneja S, Jain M, i in. Evaluation of free radical status in CSF in childhood meningitis. *Ann Trop Paediatr* 2000;20:115-20.
26. Yoshida E, Kokuno K, Auoki S, i in. Cerebrospinal fluid levels of superoxide dismutases in neurologic disease detected by sensitive enzyme immunoassays. *J Neurol Sci* 1994;124:25-31.
27. Pancewicz SA, Skrzydlewska E, Hermanowska-Szpakowicz T, i in. Role of reactive oxygen species (ROS) in patients with erythema migrans, an early manifestation of Lyme borreliosis. *Med Sci Monit* 2001;7:1230-5.

Adres autorów:

Sławomir A. Pancewicz

Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji AM

ul. Żurawia 14 blok E, 15-540 Białystok

tel. (0-prefix-85) 740-95-14