

**Received:** 2006.06.13  
**Accepted:** 2006.11.17  
**Published:** 2006.11.27

## Rola stresu oksydacyjnego w etiopatogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów

### The role of oxidative stress in the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis

Ewa Matyska-Piekarska<sup>1</sup>, Adam Łuszczewski<sup>2</sup>, Jan Łącki<sup>1</sup>, Iwona Wawer<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinika Chorób Reumatycznych, Instytut Reumatologii w Warszawie

<sup>2</sup> Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny AM w Warszawie

#### Streszczenie

Liczne badania naukowe potwierdziły występowanie stresu oksydacyjnego u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. Stwierdzane jest podwyższone stężenie markerów świadczących o nasilonych reakcjach oksydacji kwasów tłuszczowych, białek, cukrów i DNA. Natomiast obniżają się stężenia wielu antyoksydantów chroniących przed szkodliwym działaniem reaktywnych form tlenu (RFT). Nadmiar RFT może się istotnie przyczyniać do przyspieszenia destrukcji stawów. Większość leków stosowanych w leczeniu RZS wpływa na stres oksydacyjny, ale nie przeprowadzono dostatecznie wielu badań w tym zakresie.

**Słowa kluczowe:**

reumatoidalne zapalenie stawów • stres oksydacyjny • antyoksydanty

#### Summary

Numerous scientific investigations confirmed the occurrence of oxidative stress in rheumatoid arthritis patients. There is evidence demonstrating elevated levels of oxidative stress markers and oxidative damage caused by reactive oxygen species (ROS) to lipids, proteins, sugars, and DNA, as well as a significant decrease in total antioxidant capacity, which protects the organism against ROS activity. Extensive ROS production can significantly accelerate the process of articular cartilage damage. It is believed that many disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs) affect oxidative stress, although there has been insufficient research to confirm such a relationship.

**Key words:**

rheumatoid arthritis • oxidative stress • antioxidants

**Full-text PDF:**

[http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_60/9902.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/9902.pdf)

**Word count:**

2543

**Tables:**

1

**Figures:**

2

**References:**

41

**Adres autorki:**

lek. med. Ewa Matyska-Piekarska, Klinika Chorób Reumatycznych, Instytut Reumatologii ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa; e-mail: ewamatyska@wp.pl

W ostatnich latach coraz częściej omawiane jest znaczenie zaburzenia równowagi pomiędzy wytwarzaniem reaktywnych form tlenu (RFT), a wydolnością układu antyoksydacyjnego w zaburzeniach homeostazy organizmu. Wiele badań potwierdza istotny udział RFT w etiopatogenezie przewlekłych chorób zapalnych o podłożu autoimmunologicznym. Nadmiar RFT może powodować uszkodzenie różnych struktur biologicznych w wyniku utleniania wchodzących w ich skład związków chemicznych. Wydaje się jednak, że wzmożona synteza wolnych rodników tlenowych nie jest czynnikiem inicjującym, lecz wtórnym w przebiegu choroby [15,27].

Od wielu lat są prowadzone badania nad udziałem RFT w etiopatogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS). Czynniki etiologiczne tego schorzenia nie zostały dotychczas dokładnie poznane. Przypuszcza się, że istotną rolę może odgrywać zakażenie wirusami lub bakteriami, ale dotychczas nie wyhodowano z płynów ustrojowych drobnoustrojów, które byłyby odpowiedzialne za przewlekły proces zapalny. Przeważają teorie, według których o rozwoju choroby decydują zjawiska immunologiczne, ale głównym czynnikiem bezpośrednio odpowiedzialnym za destrukcję tkanek wydają się RFT. Niepewna etiopatogeneza RZS i związany z tym brak leczenia przyczynowego zmusza nas do stosowania leków o działaniu objawowym. Z tego powodu leczenie antyoksydacyjne może mieć fundamentalne znaczenie w wyznaczaniu nowych kierunków farmakoterapii przewlekłych, zapalnych i postępujących chorób, do których należy również RZS.

#### REAKTYWNE FORMY TLENU

Z biologicznego punktu widzenia najbardziej reaktywnymi formami tlenu (RFT) są:

- wolne rodniki tlenowe (WRT): anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^{\cdot-}$ ), rodnik hydroksylowy ( $OH^{\cdot}$ ), rodnik wodoronadtlenkowy ( $HO_2^{\cdot}$ ), rodnik nadtlenkowy ( $ROO^{\cdot}$ ), rodnik alkoksylowy ( $RO^{\cdot}$ ),
- związki niebędące wolnymi rodnikami: nadtlenek wodoru  $H_2O_2$ , kwas podchloryny ( $HOCl$ ), kwas podbromowy ( $HOBr$ ).

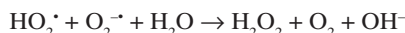
Źródła RFT u chorych na RZS można podzielić na egzogenne i endogenne. RFT powstają w organizmie pod wpływem zewnętrznych czynników środowiskowych, takich jak: promieniowanie jonizujące, ultradźwięki, promieniowanie nadfioletowe, zanieczyszczenia środowiska, dym tytoniowy (źródła egzogenne).

Endogennym źródłem RFT są liczne procesy biochemiczne przebiegające w warunkach fizjologicznych. Jednym z najbardziej wydajnych źródeł RFT jest łańcuch oddechowy oraz wiele reakcji zachodzących z udziałem oksydoreduktaz. Innym ważnym źródłem jest mikrosomalny łańcuch transportu elektronów cytochromu P-450, biorący udział m.in. w metabolizmie ksenobiotyków.

Znaczne ilości jednej z najbardziej reaktywnych form tlenu, anionorodnika ponadtlenkowego, powstają w obecności NADH i NADPH w procesie przemiany kwasu arachidonowego w szlaku cyklooksygenazy i lipooksygenazy do prostaglandyn i leukotrienów [22].

Wytwarzanie RFT jest związane z procesem fagocytozy. Na powierzchni komórek fagocytarnych takich jak neutrofile, eozynofile, czy makrofagi/monocyty znajduje się system NADPH-zależnej oksydazy, generujący anionorodnik ponadtlenkowy [5,7].

Anionorodnik ponadtlenkowy ulega dalszej przemianie do nadtlenku wodoru, który wykazuje m.in. silne działanie cytotolityczne. Reakcje przebiegają według poniższego wzoru:



Neutrofile oraz monocyty wykazują również zdolność do wytwarzania rodnika hydroksylowego oraz kwasu podchlorynowego [33,35].

Liczne badania dowiodły, że bakteriobójcza aktywność neutrofilów, związana z procesem fagocytozy, jest połączona z gwałtownym zużyciem tlenu przez te komórki, co określane jest jako „wybuch oddechowy” (respiratory burst). Pochłonięty tlen jest przekształcany w RFT, takie jak:  $H_2O_2$ ,  $O_2^{\cdot-}$ ,  $HOCl$  oraz  $HO^{\cdot}$ , bezpośrednio uczestniczące w niszczeniu patogenów. W badaniach *in vitro* wykazano, że nie tylko bakterie prowadzą do gwałtownego zużycia tlenu przez granulocyty, ale również immunoglobuliny, kompleksy immunologiczne, fragmenty C5a dopełniacza, substancje kancerogenne, kwas arachidonowy [3,41]. W wyniku działania mediatorów zapalnych następuje zahamowanie apoptozy neutrofilów, co prowadzi do wydłużenia ich życia i wzrostu wytwarzania RFT [23]. Nadmierny napływ granulocytów obojętnochłonnych do ogniska zapalnego i wzmożona synteza RFT oraz mediatorów zapalnych mogą doprowadzić do przejścia kontrolowanej obrony organizmu w niekontrolowany proces uszkodzenia tkanek, m.in. stanowiących elementy strukturalne stawu.

W przebiegu RZS zaktywowane granulocyty obojętnochłonne (oraz inne komórki zapalne, tj. limfocyty, makrofagi) licznie naciekają błonę maziową, co potwierdzają badania płynu stawowego i badania histologiczno-patologiczne błony maziowej. W wyniku stanu zapalnego i m.in. uwolnienia przez neutrofile RFT, błona maziowa proliferuje, a w późniejszym etapie choroby pokrywa chrząstkę stawową tworząc łuszczkę. W ten sposób chrząstka zostaje odcięta od składników odżywczych z płynu stawowego.

Wskutek działania enzymów proteolitycznych i mediatorów zapalnych uwalnianych przez nagromadzone komórki zapalne dochodzi do niszczenia kolagenu i proteoglikanów oraz postępującej destrukcji chrząstki stawowej i innych elementów stawu powodując postępujące uszkodzenie stawu [2].

Innym, niezależnym od procesu fagocytozy źródłem wolnych rodników tlenowych w przebiegu RZS są następujące po sobie zjawiska niedotlenienia i reperfuzji w stawach. Podczas wykonywania ruchu następuje niedotlenienie tkanek w stawie, a podczas spoczynku po wykonaniu ruchu powstają znaczne ilości RFT w poddanych reperfuzji tkankach. Uważa się, że przyczyną nadmiernego wytwarzania

Tabela 1. Uszkodzone struktury i markery stresu oksydacyjnego w RZS

Markery stresu oksydacyjnego w RZS	
Uszkodzone	Markery uszkodzenia
Lipidy	dwualdehyd malonowy (MDA), przeciwciała na utlenioną postać LDL (Ab-oxLDL)
Białka	grupy karbonylowe białek, tioredoksyna (TRX)
DNA	8-OHdG
Płyn stawowy	produkty depolimeryzacji kwasu hialuronowego: niskocząsteczkowe oligosacharady N-acetylglikoamininy
Żelazo	wzrost stężenia w płynie stawowym

RFT jest aktywacją oksydazy ksantynowej w niedotlenionym stawie (w warunkach niedotlenienia dehydrogenaza jest przekształcana w oksydazę ksantynową). Oksydaza ksantynowa katalizuje reakcję utleniania hipoksantyny do kwasu moczowego z wytworzeniem RFT.

### MARKERY STRESU OKSYDACYJNEGO W RZS

Szkodliwe działania RFT pojawiają się w trakcie długotrwałej stymulacji np. w przewlekłym procesie zapalnym. RFT zyskują wówczas przewagę nad układem antyoksydacyjnym. Zjawisko takie nazywamy stresem oksydacyjnym.

Liczne badania naukowe dotyczące stresu oksydacyjnego wykazały podwyższone stężenie markerów stresu oksydacyjnego u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. Do najczęściej oznaczanych markerów w wymienionej grupie chorych należą: dialdehyd malonowy (MDA) [19], grupy karbonylowe białek [8] i 8-OHdG [34]. Oznaczane markery zebrano w tabeli 1.

Produkty peroksydacji lipidów, białek, węglowodanów i DNA są dobrymi wskaźnikami przebiegu stresu oksydacyjnego i skuteczności terapii wielu chorób, w tym również RZS.

### Produkty peroksydacji lipidów

Wolnorodnikowy proces utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych i innych lipidów, w którym powstają nadtleneiki tych związków zaburza funkcje komórek. Objawia się to poprzez pęknięcia błon komórkowych, zmianę funkcji receptorowych i utratę integralności błon komórkowych. W toku lawinowo przebiegającej reakcji utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych powstają bardzo szkodliwe dla organizmu produkty końcowe, m.in. MDA. Związek ten zmienia właściwości antygenowe białek, hamuje aktywność niektórych enzymów, hamuje replikację i transkrypcję DNA oraz powoduje pęknięcia nici DNA.

MDA jest obecnie najpowszechniej ocenianym markerem peroksydacji lipidów. W licznych badaniach stwierdzono znamienne statystycznie wyższe stężenie MDA we krwi, płynie maziowym i moczu u chorych na RZS w porównaniu do grupy kontrolnej [4,18].

Innym dobrym markerem peroksydacji lipidów, w szczególności młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów, może być oznaczanie w surowicy przeciwciał przeciw utle-

nionej postaci LDL (Ab oxLDL). W przeprowadzonych badaniach stwierdzono znamienne statystycznie wzrost wytwarzania Ab oxLDL u chorych na RZS [37].

### Produkty peroksydacji mukopolisacharydów

Kwas hialuronowy jest jednym z najważniejszych mukopolisacharydów, który bierze udział w prawidłowym funkcjonowaniu stawów. Jest podstawowym składnikiem płynu stawowego. Wykazano, że pod wpływem RFT kwas ten ulega depolimeryzacji, co prowadzi do zmniejszenia lepkości płynu stawowego [12,28].

Inną przyczyną obniżonej lepkości płynu stawowego u chorych na RZS może być wytwarzanie przez błonę maziową kwasu hialuronowego już o zmniejszonej masie cząsteczkowej, zanim RFT wpłyną na jego depolimeryzację.

### Żelazo

Markerem procesu zapalnego z udziałem RFT może być również podwyższone stężenie jonów żelaza. Żelazo, zwłaszcza na II stopniu utlenienia jest katalizatorem reakcji Fentona, w przebiegu której powstaje najbardziej toksyczny z RFT – rodnik wodorotlenowy.

### Produkty peroksydacji DNA

W komórkach poddanych stresowi oksydacyjnemu obserwowano uszkodzenia kwasu dezoksyrybonukleinowego. Przypuszcza się, że prooksydacyjny stan komórek zmienia wewnątrzkomórkową homeostazę żelaza i miedzi, a reakcja Fentona odgrywa istotną rolę w procesach uszkodzenia materiału genetycznego. Z badań radiobiologicznych wynika, że rodniki wodorotlenowe mogą powodować kilka typów uszkodzeń DNA [29].

Reakcje RFT (głównie rodnika wodorotlenowego) z DNA i RNA prowadzą do uszkodzeń zasad nukleinowych, reszt cukrowych lub rozerwania wiązań fosfodiesterowych łączących nukleotydy. Następstwem mogą być pęknięcia nici kwasów nukleinowych. DNA uszkodzony przez RFT jest silniej immunogeny i indukuje powstawanie przeciwciała przeciw DNA.

Dobrym markerem uszkodzeń DNA jest 8-hydrokso-2'-deoxyguanozyna (8-OHdG), jeden z produktów powstających podczas procesów uszkodzania DNA pod wpły-

wem RFT. Przeprowadzone badania [34,39] potwierdziły wzrost stężenia tego związku we krwi i moczu u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów.

### Produkty peroksydacji białek

Reakcje RFT z białkami prowadzą do różnego rodzaju uszkodzeń, takich jak fragmentacja, modyfikacja reszt aminokwasowych, agregacja. W wyniku tych procesów możliwa jest utrata biologicznej funkcji białka.

Oksydacja białek charakteryzuje się wprowadzeniem grup karbonylowych do łańcucha bocznego białek [8]. Oznaczenie ilości grup karbonylowych pozwala ocenić oksydacyjne uszkodzenia białek w organizmie. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono wzrost stężenia grup karbonylowych (znamiennosc statystyczna) w surowicy krwi chorych na RZS.

### Tioredoksyna

Tioredoksyna (TRX) jest białkiem o masie cząsteczkowej 12 kDa. Uczestniczy, podobnie jak glutation, w redukcji utlenionych przez RFT grup tiolowych (-SH) białek (w białkach uszkodzanych przez RFT grupy -SH ulegają utlenieniu z wytworzeniem mostków disulfidowych).

Utleniona postać tioredoksyny jest redukowana przez reduktazę tioredoksynową, z udziałem NADPH. W surowicy krwi chorych na RZS stwierdzono wzrost stężenia TRX oraz jego korelację z aktywnością choroby i stężeniem CRP. Ponadto wykazano wzrost stężenia TRX w osoczu, płynie maziowym i komórkach błony maziowej w tej grupie chorych [26]. Wzrost stężenia TRX w płynie maziowym korelował również z liczbą leukocytów infiltrujących błonę maziową oraz zwiększonym wydalaniem 8-OHdG w moczu [39].

### ROLA RFT W RZS I SYSTEMY OBRONNE KOMÓREK

RFT są niezbędne w wielu fizjologicznie przebiegających procesach w organizmie i pełnią wiele korzystnych funkcji, m.in.: są mediatorami i regulatorami metabolizmu, indukują apoptozę, stymulują transport glukozy do komórek, serotoniny do płytek krwi, wpływają na przekazywanie sygnałów do komórek i wewnątrz komórek, regulują ekspresję genów, aktywują białka kierujące podziałami komórkowymi oraz biorą udział w procesach obronnych organizmu.

Wyczerpanie przez organizm rezerw antyoksydacyjnych pod wpływem przewlekłego procesu zapalnego, oraz nadmiar RFT, prowadzi do uszkodzenia struktury białek, utleniania lipidów, uszkodzenia kwasów nukleinowych, depolimeryzacji kwasu hialuronowego. RFT inaktywują ponadto inhibitory proteinaz, co nasila ich działanie proteolityczne na tkanki.

Najważniejsze uszkodzenia wywołane przez RFT w przebiegu RZS, to: degradacja kolagenu, depolimeryzacja kwasu hialuronowego, inaktywacja i zaburzenie syntezy białek proteoglikanu, przyspieszenie apoptozy chondrocytów, aktywacja latentnych metaloproteinaz i cyklooksygenazy, zaburzenie wewnątrzkomórkowej homeostazy  $Ca^{2+}$ , polimeryzacja aktyny, rozerwanie mikrofilamentów, modyfikacja

właściwości antygenowych komórek, reakcja z askorbinianami w chrząstce stawowej, a wszystko to powoduje obniżenie stężenia askorbinianu w płynie stawowym i surowicy oraz wzrost stężenia dehydroaskorbinianu [18,25].

### Systemy obronne komórek przed RFT

Komórki organizmu dysponują naturalnymi systemami obronnymi przed nadmiarem i szkodliwym działaniem RFT (ryc. 1). W skład tego systemu wchodzi antyoksydanty enzymatyczne i nieenzymatyczne (niskocząsteczkowe). Antyoksydantami nazywamy wszystkie substancje, które obecne w małych stężeniach porównywalnych do stężenia, w którym występuje utleniany substrat, mogą znacząco opóźnić lub zapobiec utlenieniu tego substratu [14,15].

### Antyoksydanty i antyoksydacyjne właściwości leków stosowanych w terapii RZS

U chorych na reumatoidalne zapalenie stawów obserwuje się wyczerpywanie zasobów antyoksydacyjnych. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono obniżone stężenie witaminy E w surowicy chorych na RZS. Witamina ta jest jednym z najsilniejszych antyoksydantów w organizmie. Pełni rolę ochronną w fazie lipidowej. Przerzywa łańcuch peroksydacji lipidowej (reakcja peroksydacji lipidu przebiega w sposób lawinowy, co oznacza, że jeden wolny rodnik może uszkodzić wiele cząsteczek lipidu). Oddaje wodór rodnikowi nadtlenkowemu kwasu tłuszczowego ( $LOO^{\bullet}$ ), a sama przekształca się w rodnik tokoferolowy ( $TO^{\bullet}$ ) niezdolny do dalszej reakcji w łańcuchu lipidowym.

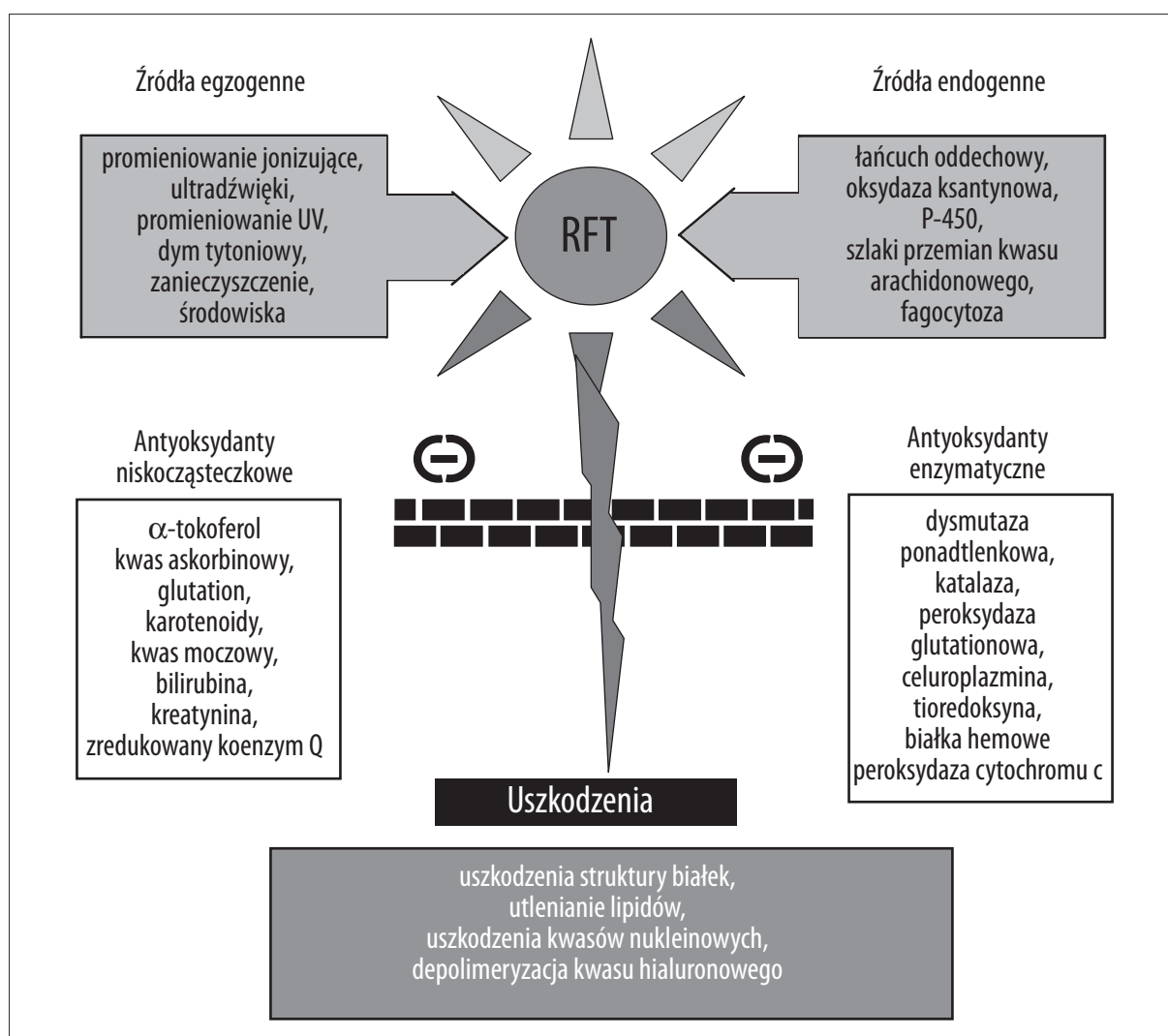
Innym, równie ważnym antyoksydantem, jest witamina C (kwas askorbinowy). Witamina C uczestniczy w eliminacji anionorodnika ponadtlenkowego i rodnika wodorotlenowego oraz podobnie jak glutation odgrywa ważną rolę w regeneracji aktywnej postaci witaminy E ( $\alpha$ -tokoferolu) z rodnika tokoferolowego. U chorych na RZS wykazano obniżone stężenie kwasu askorbinowego oraz podwyższone stężenie jego utlenionej postaci, dehydroaskorbinianu w surowicy krwi oraz płynie maziowym [25].

Kolejnym ważnym antyoksydantem jest glutation. Glutation (GSH) z udziałem peroksydazy glutationowej (GPx) usuwa szkodliwy dla organizmu nadtlenek wodoru oraz – podobnie jak tioredoksyna – redukuje utlenione grupy tiolowe białek. W wyniku tych reakcji powstaje utleniona postać glutationu (GSSG), z której ponownie jest odtwarzany GSH z udziałem reduktazy glutationowej (GSR). Badania przeprowadzone w grupie chorych na RZS wykazały wyczerpanie w surowicy krwi zapasów GSH, GSR oraz GPx o połowę, przy jednoczesnym wzroście poziomu MDA [16].

### Wpływ terapii reumatoidalnego zapalenia stawów na stres oksydacyjny

Wyniki wielu badań wskazują na korzystne kliniczne działanie terapii antyoksydacyjnej. Przywrócenie zaburzonego stanu równowagi między szybkością wytwarzania RFT a aktywnością enzymów rozkładających RFT i stężeniami antyoksydantów niskocząsteczkowych może mieć istotny wpływ na przebieg procesów zapalnych w objętych chorobą stawach.





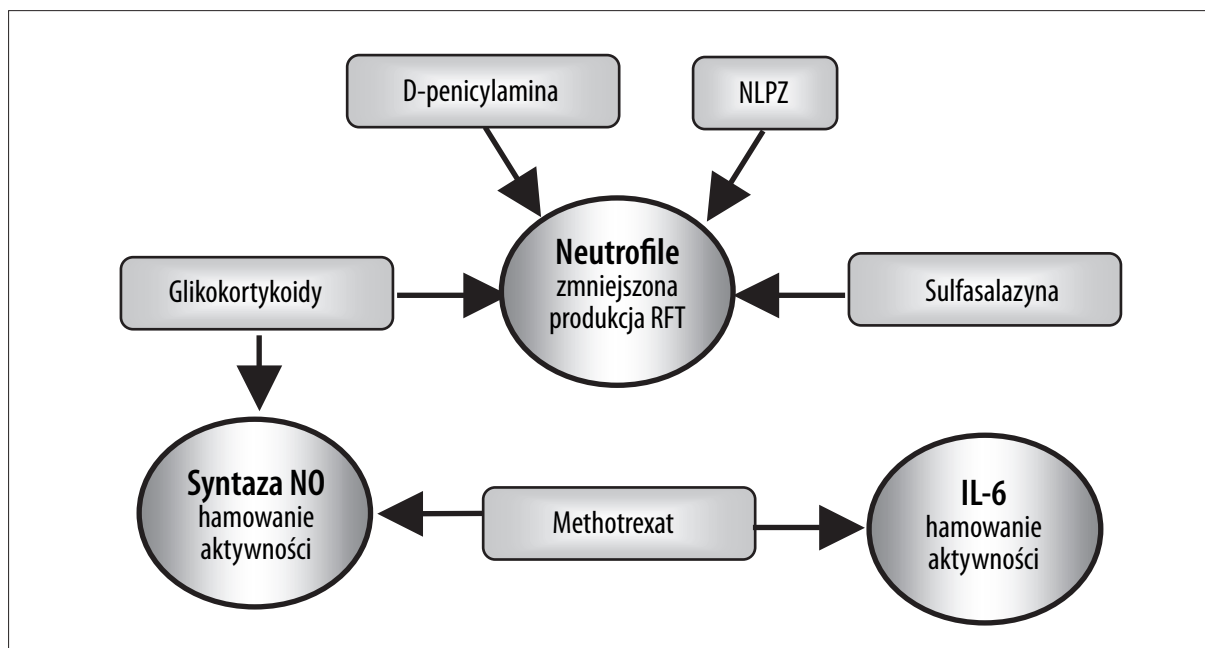
Ryc. 1. Źródła RFT i naturalne systemy antyoksydacyjne organizmu

Większość leków modyfikujących przebieg choroby (LMPCh) stosowanych w terapii RZS wpływa hamująco na aktywność granulocytów obojętnochłonnych i zmniejsza powstawanie RFT (ryc. 2). Glikokortykoidy zmniejszają aktywność fagocytarną neutrofilów oraz funkcje adhezyjne. Methotrexat (MTX), obecnie najpowszechniej stosowany lek w leczeniu RZS, hamuje syntezę interleukiny 6 (IL-6), która pobudza synowioocyty do proliferacji i wytwarzania RFT. MTX dodatkowo hamuje proliferację synowioocytów pobudzonych przez IL-6 [38]. Sulfasalazyna wpływa hamująco na chemotaksję neutrofilów, degranulację i wytwarzanie wolnych rodników tlenowych, przyspiesza apoptozę neutrofilów [1]. Sole złota również uczestniczą w usuwaniu nadmiaru wytworzonych wolnych rodników tlenowych i hamują ich powstawanie. Tłumią aktywność granulocytów obojętnochłonnych. Sole złota obniżają aktywność reduktazy tioredoksyny, a to zmniejsza wytwarzanie RFT przez makrofagi [20]. Ponadto obniżają wydalanie MDA z moczem u leczonych chorych. Jednym z istotnych mechanizmów działania leczniczego innego leku D-penicylaminy jest hamowanie chemotaksji i fagocytozy granulocytów obojętnochłonnych oraz zmniejszenie generacji wolnych rodników tlenowych. D-penicylamina zmniejsza wytwarzanie rodnika hydroksylowego [30].

Badano również wpływ terapii przeciwciałami monoklonalnymi anti-TNF- $\alpha$  na stres oksydacyjny u chorych na RZS. Wiadomo, że TNF- $\alpha$  zwiększa wytwarzanie RFT. Oceniano wpływ terapii monoklonalnym przeciwciałem anti-TNF- $\alpha$  na wytwarzanie RFT przez neutrofile i migrację neutrofilów do ogniska zapalnego. Terapia przeciwciałami anti-TNF- $\alpha$  nie wpływała na wytwarzanie RFT przez neutrofile chorych na RZS. Stwierdzono natomiast znaczny spadek napływu neutrofilów do zapalnie zmienionych stawów pod wpływem terapii anti-TNF- $\alpha$  [10].

W jednym z badań oceniano wpływ laseroterapii na wytwarzanie RFT przez neutrofile oraz aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) u chorych na RZS. Stwierdzono spadek tempa powstawania RFT oraz wzrost aktywności SOD po zastosowanych zabiegach laseroterapii [32].

Poprawa kliniczna zmienionych zapalnie stawów w RZS, po leczeniu krioterapią, jest związana również z wpływem stosowanej na zewnętrzną powierzchnię ciała mieszaniny powietrza i azotu (w temperaturze poniżej  $-100^{\circ}\text{C}$ ), na zjawisko stresu oksydacyjnego występującego w objętych procesem zapalnym stawach. Stwierdzono, że po miejscowo-



Ryc. 2. Mechanizm działania leków modyfikujących przebieg choroby (LMPCh)

wych zabiegach krioterapii znacznie zmniejsza się odsetek granulocytów obojętnochłonnych w zapalnie zmienionych stawach. Ponadto neutrofile izolowane ze zmienionych zapalnie stawów wykazywały znacznie mniejszą aktywność niż przed leczeniem (obniżony metabolizm tlenowy, czyli zmniejszone wytwarzanie RFT). Opisane zjawiska korelowały dodatnio ze zmniejszeniem obrzęku oraz bólu stawu i poprawą jego funkcji [36].

W hodowli limfocytów chorych z przewlekłymi chorobami autoimmunologicznymi, takimi jak reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń rumieniowaty układowy, choroba Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego, stwierdzano uszkodzenia chromosomów. Limfocyty tych chorych zawierają czynnik klastogenny, powodujący pęknięcia chromosomów ludzi zdrowych [6,11].

Nie stwierdzano uszkodzeń chromosomów w komórkach inkubowanych z ekstraktem limfocytów osób chorych i SOD. SOD rozkłada anionorodnik nadadtlenkowy, przez co zmniejsza ryzyko uszkodzenia chromosomów [11].

Inni badacze stwierdzili depolimeryzację kwasu hialuronowego w zapalnie zmienionych stawach oraz wykazali ochronną rolę dysmutazy nadadtlenkowej (SOD) w rozwoju procesu zapalnego [28]. W badaniach *in vitro* zaobserwowano ochronną rolę SOD i katalazy w rozwoju chorób o podłożu zapalnym [24,40]. Doświadczalne podawanie SOD bezpośrednio do zmienionych zapalnie stawów, w przebiegu RZS ma korzystne działanie.

#### Wpływ suplementacji antyoksydantów na stres oksydacyjny u chorych na RZS

Stwierdzono korzystny wpływ suplementacji witaminą A, E i C na stres oksydacyjny u chorych na RZS. Wskutek su-

plementacji nastąpił wyraźny spadek stężenia MDA w surowicy krwi chorych [18]. Na obniżenie stężenia markerów stresu oksydacyjnego w RZS wpływało także podawanie chorym flawonoidu – rutyny [31]. Zaobserwowano zmniejszenie dolegliwości klinicznych u chorych, u których oprócz leków modyfikujących przebieg choroby zastosowano skojarzoną suplementację witaminą E z witaminą C [18]. W innych badaniach, jednoczesna suplementacja witaminą E, witaminą C i cynkiem nie powodowała istotnych zmian, stwierdzanych na podstawie badania markerów stresu oksydacyjnego u chorych [9,13,17].

#### PODSUMOWANIE

Zjawisko stresu oksydacyjnego ma istotne znaczenie w stymulacji procesu zapalnego stawów w reumatoidalnym zapaleniu stawów. Nadmierny napływ granulocytów obojętnochłonnych i generowanie znacznych ilości wolnych rodników tlenowych zaburza równowagę procesów prooksydacyjnych i antyoksydacyjnych w komórkach, prowadząc do niekontrolowanej postępującej destrukcji elementów strukturalnych stawów. Farmakologiczna interwencja, zmniejszenie ilości RFT i eliminacja zjawiska stresu oksydacyjnego w objętych procesem zapalnym tkankach, może mieć istotny wpływ na zahamowanie postępu choroby i lepszą jakość życia pacjentów. Większość leków dotychczas stosowanych w terapii RZS hamuje aktywność granulocytów obojętnochłonnych i generowanie RFT. Nie przeprowadzono jednak wielu badań dotyczących wpływu antyoksydantów na przebieg reakcji zapalnych w stawach. Potwierdzenie ich korzystnego działania mogłoby przynieść nowe możliwości terapii RZS. W kompleksowej opiece medycznej i farmaceutycznej powinien być również szczegółowo analizowany styl życia chorych i czynniki nasilające stres oksydacyjny, a zwłaszcza palenie tytoniu i picie alkoholu.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Akahoshi T., Namai R., Sekiyama N., Tanaka S., Hosaka S., Kondo H.: Rapid induction of neutrophil apoptosis by sulfasalazine: implications of reactive oxygen species in the apoptotic process. *J. Leukoc. Biol.*, 1997; 62: 817–826
- [2] Babior B.M.: Phagocytes and oxidative stress. *Am. J. Med.*, 2000; 109: 33–44
- [3] Badwey J.A., Curnutte J.T., Karnovsky M.L.: cis-Polyunsaturated fatty acids induce high levels of superoxide production by human neutrophils. *J. Biol. Chem.*, 1981; 256: 12640–12643
- [4] Baskol G., Demir H., Baskol M., Kilic E., Ates F., Kocer D., Muhtaroglu S.: Assessment of paraoxonase 1 activity and malondialdehyde levels in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Biochem.*, 2005; 38: 951–955
- [5] Bellavite P.: The superoxide-forming enzymatic system of phagocytes. *Free Radic. Biol. Med.*, 1988; 4: 225–261
- [6] Ciechanowski K.: O wolnych rodnikach w medycynie. *Pol. Tyg. Lek.*, 1987, 42: 939–941
- [7] Czekalski P.R., Ciesielski L.: Znaczenie wolnych rodników w chirurgii. *Post. Nauk Med.*, 1994; 7: 212–218
- [8] Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A., Colombo R.: Protein carbonyl groups as a biomarker of oxidative stress. *Clin. Chim. Acta*, 2003; 329: 23–38
- [9] De Bandt M., Grossin M., Driss F., Pincemail J., Babin-Chevaye C., Pasquier C.: Vitamin E uncouples joint destruction and clinical inflammation in a transgenic mouse model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2002; 46: 522–532
- [10] den Broeder A.A., Wanten G.J., Oyen W.J., Naber T., van Riel P.L., Barrera P.: Neutrophil migration and production of reactive oxygen species during treatment with a fully human anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  monoclonal antibody in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 2003; 30: 232–237
- [11] Gonet B.: Wolne rodniki i antyoksydanty w zdrowiu i chorobie. *Czynniki Rzyzka*, 1996; 1: 5–14
- [12] Grootveld M., Henderson E.B., Farrell A., Blake D.R., Parkes H.G., Haycock P.: Oxidative damage to hyaluronate and glucose in synovial fluid during exercise of the inflamed rheumatoid joint. Detection of abnormal low-molecular-mass metabolites by proton-n.m.r. spectroscopy. *Biochem. J.*, 1991; 273: 459–467
- [13] Hagfors L., Leanderson P., Skoldstam L., Andersson J., Johansson G.: Antioxidant intake, plasma antioxidants and oxidative stress in a randomized, controlled, parallel, Mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis. *Nutr. J.*, 2003; 2: 5
- [14] Halliwell B., Gutteridge J.M.: The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1990; 280: 1–8
- [15] Halliwell B., Gutteridge J.M., Cross C.E.: Free radicals antioxidants and human disease: Where are we now?. *J. Lab. Clin. Med.*, 1992; 119: 598–620
- [16] Hassan M.Q., Hadi R.A., Al-Rawi Z.S., Padron V.A., Stohs S.J.: The glutathione defense system in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J. Appl. Toxicol.*, 2001; 21: 69–73
- [17] Herold A., Bucurenci N., Mazilu E., Szegli G., Sidenco L., Baican I.: Zinc aspartate *in vivo* and *in vitro* modulation of reactive oxygen species production by human neutrophils and monocytes. *Roum. Arch. Microbiol. Immunol.*, 1993; 52: 101–108
- [18] Jaswal S., Mehta H.C., Sood A.K., Kaur J.: Antioxidant status in rheumatoid arthritis and role of antioxidant therapy. *Clin. Chim. Acta*, 2003; 338: 123–129
- [19] Kamanli A., Naziroglu M., Aydıle N., Hacıevliyagil C.: Plasma lipid peroxidation and antioxidant levels in patients with rheumatoid arthritis. *Cell Biochem. Funct.*, 2004; 22: 53–57
- [20] Kerimova A.A., Atalay M., Yusifov E.Y., Kuprin S.P., Kerimov T.M.: Antioxidant enzymes; possible mechanism of gold compound treatment in rheumatoid arthritis. *Patophysiology*, 2000; 7: 209–213
- [21] Książkowska-Pietrzak K., Gajewski M., Pokrzywnicka-Gajek I., Józwicka M., Małyk P., Maśliński S., Lesiak A.: Wpływ krioterapii na stres oksydacyjny w reumatoidalnym zapaleniu stawów. *Reumatologia*, 1999; 37: 353–359
- [22] Kukreja R.C., Kontos H.A., Hess M.L., Ellis E.F.: PGH synthase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NADH or NADPH. *Circ. Res.*, 1986; 59: 612–619
- [23] Lee A., Whyte M.K., Haslett C.: Inhibition of apoptosis and prolongation of neutrophil functional longevity by inflammatory mediators. *J. Leukoc. Biol.*, 1993; 54: 283–288
- [24] Lewis D.A.: Endogenous anti-inflammatory factors. *Biochem. Pharmacol.*, 1984; 33: 1705–1714
- [25] Lunec J., Blake D.R.: The determination of dehydroascorbic acid and ascorbic acid in the serum and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis (RA). *Free Radic. Res. Commun.*, 1985; 1: 31–39
- [26] Maurice M.M., Nakamura H., Gringhuis S., Okamoto T., Yoshida S., Kullmann F., Lechner S., van der Voort E.A., Leow A., Versendaal J., Muller-Ladner U., Yodoi J., Tak P.P., Breedveld F.C., Verweij C.L.: Expression of the thioredoxin-thioredoxin reductase system in the inflamed joints of patients with rheumatoid arthritis. 1999; 42: 2430–2439
- [27] Maxwell S.R.: Prospects for use of antioxidants therapies. *Drugs*, 1995; 49: 345–361
- [28] McCord J.M.: Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science*, 1974; 185: 529–531
- [29] Meneghini R., Martins E.A., Calderaro M.: DNA damage by reactive oxygen species: the role of metal. In: Free radicals: from basic science to medicine: molecular and cell biology updates. Eds.: Poli, G., Albano, E., Dianzani, M. U., 1993; 102–112
- [30] Miyachi Y., Yoshioka A., Imamura S., Niwa Y.: Decreased hydroxyl radical generation from polymorphonuclear leucocytes in the presence of D-penicillamine and thiopronine. *J. Clin. Lab. Immunol.* 1987; 22: 81–84
- [31] Ostrakhovich E.A., Afanas'ev I.B.: Oxidative stress in rheumatoid leukocytes: suppression by rutin and other antioxidants and chelators. *Biochem. Pharmacol.*, 2001; 62: 743–746
- [32] Ostrakhovich E.A., Ilich-Stoianovich O., Afanas'ev I.B.: Active forms of oxygen and nitrogen in blood cells of patients with rheumatoid arthritis: effect of laser therapy. *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk.*, 2001; (5): 23–27
- [33] Pou S., Ramos C.L., Gladwell T., Renks E., Centra M., Young D., Cohen M.S., Rosen G.M.: A kinetic approach to the selection of a sensitive spin trapping system for the detection of hydroxyl radical. *Anal. Biochem.*, 1994; 217: 76–83
- [34] Rall L.C., Roubenoff R., Meydani S.N., Han S.N., Meydani M.: Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) as a marker of oxidative stress in rheumatoid arthritis and aging: effect of progressive resistance training. *J. Nutr. Biochem.*, 2000; 11: 581–584
- [35] Ramos, C.L., Pou, S., Britigan, B.E., Cohen, M.S., Rosen, G.M.: Spin trapping evidence for myeloperoxidase-dependent hydroxyl radical formation by human neutrophil and monocytes. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 8307–8312
- [36] Romanowski W.: Wpływ krioterapii miejscowej na liczbę komórek oraz odsetek granulocytów w płynie stawowym u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. *Reumatologia*, 1993; 31: 61
- [37] Simonini G., Mattedi Cerinic M., Cimaz, R., Anichini M., Cesaretti S., Zoppi M., Generini S., Falcini F.: Evidence for immune activation against oxidized lipoproteins in inactive phases of juvenile chronic arthritis. *J. Rheumatol.*, 2001; 28: 198–203
- [38] Sung J.Y., Hong J.H., Kang H.S., Choi I., Lim S.D., Lee J.K., Seok J.H., Lee J.H., Hur G.M.: Methotrexate suppresses the interleukin-6 induced generation of reactive oxygen species in the synoviocytes of rheumatoid arthritis. *Immunopharmacology*, 2000; 47: 35–44
- [39] Takumi J., Yuko N., Masahiro K., Sugayo K., Sahoko M., Akio M., Ryuichi S., Kosaku M., Shohei K., Shinya T., Hajime N., Junji Y., Shunichi K.: Thioredoxin as a biomarker for oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Mol. Immunol.*, 2002; 38: 765–772
- [40] Ward P.A., Till G.O., Kunkel R., Beauchamp C.: Evidence for the role of hydroxyl radical in complement and neutrophil dependent tissue injury. *J. Clin. Invest.*, 1983; 72: 789–801
- [41] Weissmann G., Smolen J.E., Korchak H.M.: Release of inflammatory mediators from stimulated neutrophils. *N. Engl. J. Med.*, 1980; 303: 27–34