

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
WYDZIAŁ OCHRONY ZDROWIA

Jan TABAK

**WPŁYW OGÓLNOUSTROJOWEJ KRIOTERAPII NA
CAŁKOWITY STAN ANTYOKSYDACYJNY ERYTROCYTÓW
U CHORYCH NA REUMATOIDALNE ZAPALENIE STAWÓW**

PRACA DOKTORSKA

*Praca wykonana
w
5 Wojskowym Szpitalu Klinicznym - SP ZOZ
w Krakowie*

Promotor:

Prof. dr hab. n. med. Zbigniew KOPAŃSKI

- Kraków 2004 -

Spis treści

1. WSTĘP.....	5
1.1. Reumatoidalne zapalenie stawów.....	5
1.1.1. Epidemiologia.....	5
1.1.2. Przyczyny.....	6
.....	
1.1.3. Mechanizm zapalenia stawów.....	7
1.1.3.1. Wybrane zagadnienia molekularne.....	7
1.1.3.2. Zmiany morfologiczne.....	12
1.1.4. Obraz i przebieg kliniczny.....	13
1.1.4.1. Zajęcie stawów.....	13
1.1.4.1.2. Wysięki w stawach.....	16
1.1.4.1.3. Zmiany w strukturze kości.....	17
1.1.4.2. Objawy pozastawowe.....	17
1.1.4.2.1. Powiększenie węzłów chłonnych.....	17
1.1.4.2.2. Guzki reumatoidalne.....	17
1.1.4.2.3. Zmiany naczyniowe.....	18
1.1.4.2.4. Zmiany płucne i sercowe.....	19
1.1.4.2.5. Choroby nerek.....	20
1.1.4.2.6. Powikłania oczne.....	20
1.1.4.2.7. Powikłania neurologiczne.....	21
1.1.5. Rozpoznanie.....	22
1.1.5.1. Anomalie immunologiczne.....	22
1.1.5.2. Wskaźniki ostrej fazy zapalenia.....	23
1.1.5.3. Czynności wątroby.....	24
1.1.5.4. Inne badania laboratoryjne.....	24
1.1.5.5. Radiodiagnostyka.....	24
1.1.6. Leczenie i zapobieganie.....	25
2. CEL.....	28
PRACY.....	
3. MATERIAŁ I METODYKA.....	29

3.1. Charakterystyka badanych chorych.....	29
3.2. Metody badań.....	30
3.2.1. Metoda krioterapii ogólnoustrojowej w komorze niskich temperatur.....	30
3.2.2. Oznaczanie całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów.....	32
4. METODY ANALIZY STATYSTYCZNEJ.....	34
5.	35
WYNIKI.....	
5.1. Zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego w erytrocytach.....	35
5.2. Wpływ wybranych cech klinicznych na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów.....	40
5.2.1. Płeć chorych a zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów.....	40
5.2.2. Wiek chorych a zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów.....	45
5.2.3. Czas trwania reumatoidalnego zapalenia stawów a zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów.....	53
5.2.4. Zaawansowanie reumatoidalnego zapalenia stawów a zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów.....	61
5.3. Znaczenie krioterapii ogólnoustrojowej na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów w ocenie liniowego modelu wielu zmiennych.....	67
6. DYSKUSJA.....	69
6.1. Kształtowanie się całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów przed- i po krioterapii ogólnoustrojowej.....	69
6.2. Ocena znaczenia wybranych cech klinicznych występowania reumatoidalnego zapalenia stawów w kształtowaniu zmian całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów	73
7. WNIOSKI.....	81
8. STRESZCZENIE.....	82
9. PIŚMIENNICTWO.....	88

WYKAZ SKRÓTÓW

c.s.a. – całkowity stan antyoksydacyjny

GB₁ - chorzy, u których *c.s.a.* erytrocytów pozostawał w zakresie wartości referencyjnych

GB₂ - chorzy, u których *c.s.a.* erytrocytów pozostawał poniżej wartości referencyjnych

r.z.s. – reumatoidalne zapalenie stawów

RFT - reaktywne formy tlenowe

Test F - wartość statystyki F

w.r. – wartość referencyjna

„...Zmiany poglądów dotyczących
medycyny jako całości nie omijają reumatologii.
Wiele publikacji ostatnich lat
skupiło się na kwestiach zwiększenia
skuteczności leczenia
reumatoidalnego zapalenia stawów...”
[Binning (2001)]

1. Wstęp

1.1. Reumatoidalne zapalenie stawów (r.z.s.)

Obraz kliniczny *r.z.s.* został po raz pierwszy opisany w 1853 r. przez francuskiego lekarza Jana Marcina Charcota (1825 – 1893). Nieco później w Anglii pojawiła się nazwa „ rheumatoid arthritis ”, z której w Niemczech powstało pojęcie „Rheumatoide Arthritis”. W drugiej połowie XIX w. spośród innych schorzeń stawów wyróżniono „gorączkę reumatyczną” jako ostrą postać reumatyzmu. Przewlekłe postaci gorączki reumatycznej określano wówczas mianem wtórnego, przewlekłego zapalenia stawów. Efektem tego było utworzenia dla *r.z.s.* nazwy „ pierwotne przewlekłe zapalenie stawów ”. Nazwa ta obecnie została już zarzucona [Hansonn (1999)].

1.1.1. Epidemiologia

Współcześnie *r.z.s.* jest najczęstszym schorzeniem tkanki łącznej stanowiącym ważną przyczynę kalectwa, chorobowości i umieralności. Choroba ta występuje na całym świecie choć ze zmienną częstością. Na przykład w krajach Europy Zachodniej dotyczy 1-3% ludności, choć podkreśla się, że w/w liczby mogą podlegać niedoszacowaniu, ze względu na często łagodny przebieg *r.z.s.*, nie zmuszający chorych do szukania pomocy lekarskiej a także ze względu na złe rozpoznanie choroby, zwłaszcza *r.z.s.* o nietypowym przebiegu [Wollheim (2001)].

Ogólnie *r.z.s.* jest trzykrotnie częstsze u kobiet niż u mężczyzn. Przewaga płci żeńskiej jest jeszcze większa w grupie młodych pacjentów, natomiast w starszym wieku zapadalności u obu płci jest zbliżona [Pietschmann (2001)].

Największa zachorowalność przypada na czwartą i piątą dekadę życia [Gabriel (2001), Hansonn (1999), Ignatavicius (2001), van Gestel i wsp. (2001), Wong i wsp. (2001), Zink i wsp. (2001)].

1.1.2. Przyczyny

Pomimo intensywnych badań patomorfologicznych i immunologicznych do tej pory nie wyjaśniono mechanizmów powstawania *r.z.s.* Jedną z wczesnych koncepcji było podejrzenie, że proces chorobowy ma charakter nowotworowy (transformacja nowotworowa komórki synowialnej). W etiologii *r.z.s.* brano również pod uwagę znaczenie różnych drobnoustrojów, głównie z grupy mykobakterium, ponadto wirusa Epstein-Barr, a także retrowirusów. Klonowanie limfocytów pochodzących z błony maziowej wskazuje na ich reaktywność z peptydami *Mycobacterium tuberculosis* [Hoaglund i Steinbach (2001), Hansonn (1999), Ignatavicius (2001)].

Podkreśla się, że rozwojowi *r.z.s.* towarzyszy obecność w płynie maziowym kompleksów immunologicznych składających się z czynnika reumatoidalnego, IgG i dopełniacza. Kompleksy te mogą wywoływać odpowiedź odpornościową dwoma drogami [Ignatavicius (2001)]:

❖ Aktywacji dopełniacza

Czynnik reumatoidalny wiąże się z IgG poza jej miejscem przyłączenia antygen; pozwala to cząsteczce IgG połączyć się z jej homologicznym antygenem lub z większą liczbą przeciwciał, co prowadzi do utworzenia bardzo dużych kompleksów

❖ Fagocytozy kompleksów immunologicznych

Zwrócono także uwagę, że u chorych na *r.z.s.* pojawiają się nieprawidłowości strukturalne IgG. Immunoglobulina ta jest nieprawidłowo glikozylowana, tzn. wykazuje niedobór galaktozy w obrębie CH₂ fragmentu Fc. Niedobór galaktozy jest spowodowany brakiem galaktozydazy β w limfocytach. Zwraca się także uwagę, że u chorych na *r.z.s.* występują komórki błony maziowej wykazujące charakterystyczną nadreaktywność w stosunku do niektórych autoantygenów, m.in. do kolagenu. Błona komórkowa jest nacieczona limfocytami o fenotypie CD₄ i CD₅. Stwierdza się także duże nagromadzenie się makrofagów, szczególnie w pobliżu drobnych naczyń [Hoaglund i Steinbach (2001), Hansonn (1999), Jakóbiak (1997), Cooper i Stroehla (2003)].

Współcześnie *r.z.s.* kojarzy się z pewnymi podtypami HLA-DR4 (HLA-DR4 i HLA-DR14), a podatność na chorobę ma zależeć od wspólnego epitopu na cząsteczce HLA. Ocenia się, że u osób z tym antygenem względne ryzyko zachorowania na *r.z.s.*

jest 6-krotnie wyższe w porównaniu do osób bez tego antygeny [Hansonn (1999), Cooper i Stroehla (2003), Harney (2002)].

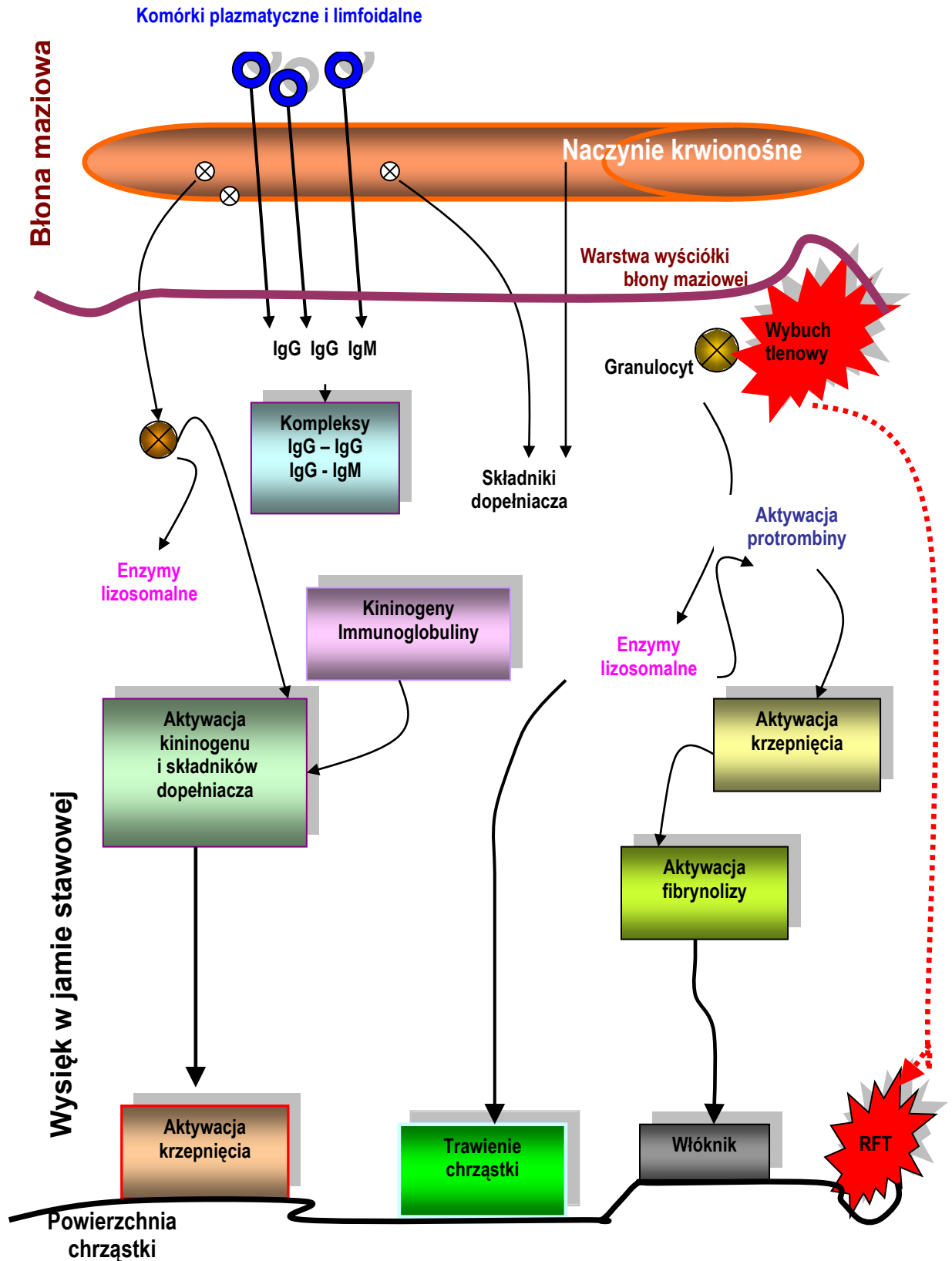
1.1.3. Mechanizm zapalenia stawów

1.1.3.1. Wybrane zagadnienia molekularne

Podstawowymi komórkami biorącymi udział w zapaleniu stawów są komórki tuczne, granulocyty obojętnochłonne, kwasochłonne i zasadochłonne, monocyty, płytki krwi, limfocyty B, limfocyty T i ich subpopulacje. Komórki te wyzwalają wiele mediatorów, z których główne to histamina i chemotaktyczny czynnik dla granulocytów kwasochłonnych (ECF-A), enzymy lizosomalne, monokiny i limfokiny. Ponadto wszystkie biorące udział w zapaleniu komórki wytwarzają pochodne kwasu arachidonowego (prostaglandyny, tromboksany, prostacyklinę, leukotrieny) oraz czynnik aktywujący płytki (PAF) i fibrynolektynę. Do mediatorów pozakomórkowych zalicza się m.in. peptydy i białka: kininy, układ dopełniacza, aktywowany układ krzepnięcia i fibrynolizy [Folcik i wsp. (2001), Fox (2000), Hansonn (1999), Jakóbiński (1997), Murray i wsp. (1994), Verhoef i wsp. (2001)] (ryc.1).

Do najbardziej niszczących struktury tkankowe i komórkowe w przebiegu *r.z.s.* należą enzymy proteolityczne i reaktywne związki tlenu uwalniane przez komórki napływające do miejsc zapalnych [Giacosa i Filiberti (1996), Gonet (1996), Halliwell (1991), Hansonn (1999), Ignatavicius (2001), Insler i Helm (1999), Jakóbiński (1997), Karp (2001), Maśliński i Ryżewski (1995), Waniek i wsp. (1990), Zauner i Conrad (2000)].

W ziarnistościach wewnątrzkomórkowych neutrofile i makrofagi zawierają ponad 20 różnych enzymów o działaniu proteolitycznym m.in. elastazę, proteinazę 3, katepsynę G i E, kolagenazę, żelatynazę a także arginazę, lipazę, fosfatazę, kwaśne hydrolizy i proteinazy cytolityczne. Uwolnione enzymy atakują i niszczą zewnątrzkomórkową macierz zawierającą elastynę, proteoglikany, kolagen i glikoproteiny. I tak dla przykładu elastaza degraduje elastynę, ale także kolagen typu III i IV, immunoglobuliny, białka dopełniacza, proteoglikany, fibronektynę. Z kolei kolagenoza działa na śródmiąższowy kolagen typu I. II i III, a żelatynaza na V, XI i prawdopodobnie IV typ kolagenu [Jakóbiński (1997), Maśliński i Ryżewski (1995), Murray i wsp. (1994), Tchórzowski (1998)]. W licznych badaniach doświadczalnych wykazano, że enzymy proteolityczne i metaloproteinazy niszczą chrząstkę stawową



Ryc. 1. Patomechanizm zapalenia stawów w reumatoidalnym zapaleniu stawów [Halliwell (1991), Hansonn (1999), Jakóbiak (1997), Karp (2001), Tchórzowski (1998), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)]

[Bukhari i wsp. (2001), Hansonn (1999), Ignatavicius (2001), Insler i Helm (1999), Karp (2001), Zauner i Conrad (2000), Jasin (2000)]. Katepsyna D i E degradują błonę podstawną naczyń krwionośnych obszaru zapalenia [Insler i Helm (1999), Murray i wsp. (1994), Zauner i Conrad (2000)].

Oprócz bezpośredniego działania na tkanki, enzymy komórek żernych mogą również wpływać na proces zapalny poprzez działanie na składowe dopełniacza, czynnik Hagemana i fibrynogen. Enzymy te wywołują również „złuszczenie” receptorów z powierzchni komórek, a także pobudzają produkcję cytokin prozapalnych poprzez aktywację jądrowych czynników transkrypcyjnych (NFκB) [Insler i Helm (1999), Jakóbisiak (1997)].

Aktywacja komórek nacieku zapalnego prowadzi również do drastycznego zwiększenia ich zapotrzebowanie na tlen (wybuchu tlenowego) [Giacosa i Filiberti (1996), Gonet (1996), Halliwell (1991), Insler i Helm (1999), Jakóbisiak (1997), Karp (2001), Murray i wsp. (1994), Tchorzowski (1998), Waniek i wsp. (1990)]. Mechanizm ten generuje duże ilości reaktywnych form tlenowych (*RFT*), takich jak: O_2^- , H_2^{\bullet} , H_2O_2 , 1O_2 , HO^- , $HClO$, $R-NH-Cl$ i $R-CO-NHCl$, uwalnianych z komórek nacieku zapalnego (ryc.2).

Głównym enzymem odpowiedzialnym za katalizowanie tego zjawiska jest oksydaza NADPH. Aktywacja kompleksu oksydazy wymaga współdziałania białka G oraz tzw. drugich przekaźników: kwasu arachidonowego i fosfatydowego.

Aktywacja kompleksu NADPH katalizuje redukcję tlenu do O_2^- .

W środowisku komórkowym O_2^- jest prekursorem innych *RFT*:

Powstanie ponadtlenków jako produktów różnych reakcji



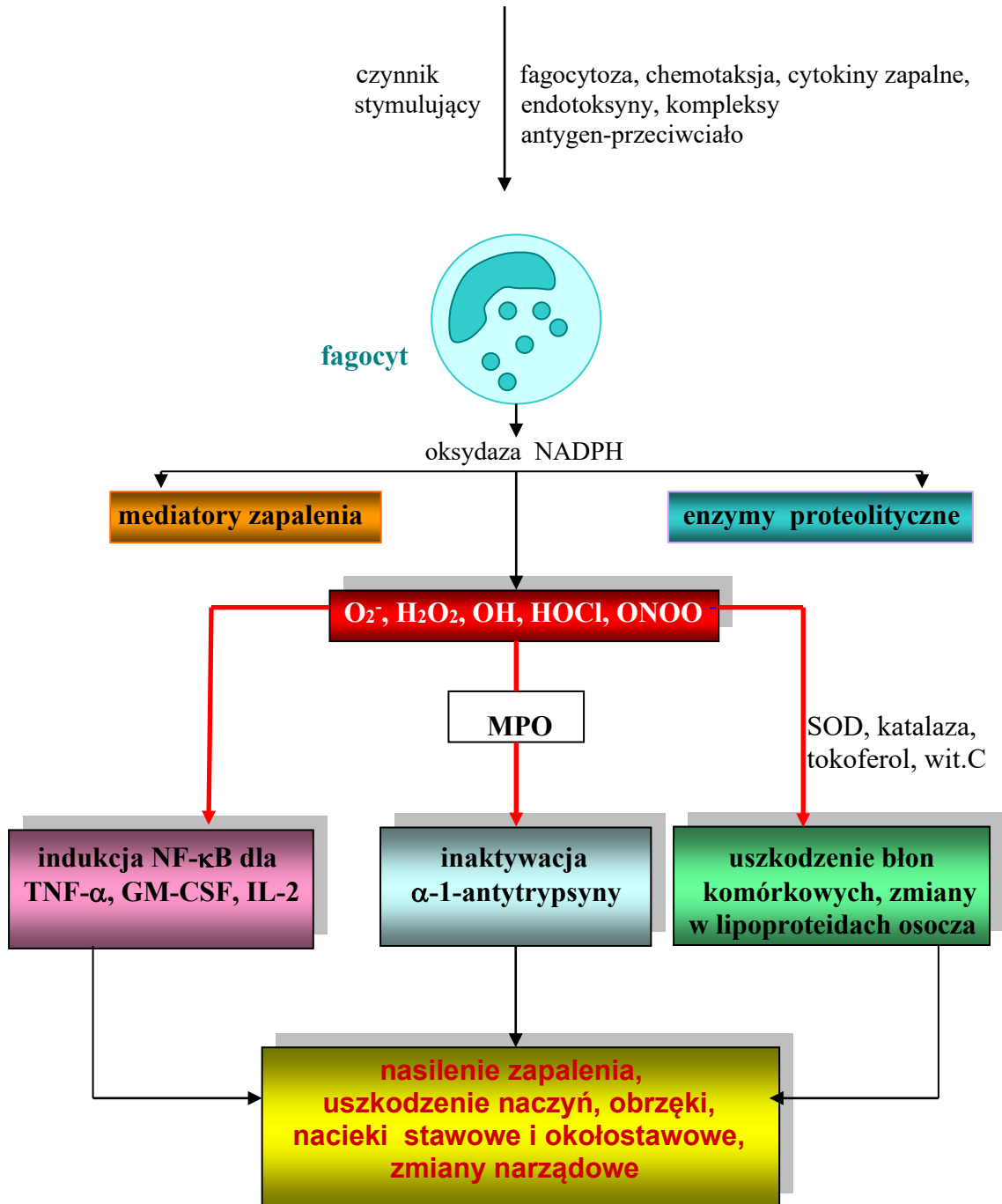
Anionorodnik ponadtlenkowy może ulegać spontanicznej lub katalicznej dysmutacji przy udziale dysmutazy ponadtlenkowej:



Na tym etapie wytwarzania utleniaczy włączają się mechanizmy obronne dążące do ich unieczynnienia. Ponadtlenki, głównie przy udziale dysmutazy nadtlenukowej, ulegają przekształceniu w H_2O_2 i O_2 . Nadtlenek wodoru pod wpływem katalazy rozpada się H_2O i O_2 .

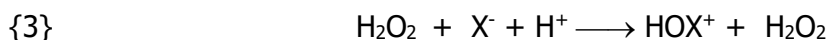
Przy lawinowo powstających *RFT* załamuje się stopniowo ochronne działanie enzymatycznych przeciwutleniaczy.

Aktywne metabolity tlenu wytwarzane przez fagocyty, granulocyty, makrofagi, eozynofile, komórki śródbłonka, komórki tłuszczne

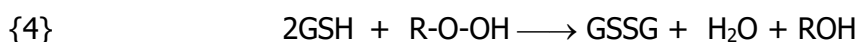


RYC.2. Aktywne metabolity tlenowe w zapaleniu [Gonet (1996), Halliwell (1991), Tchórzowski (1998)]

Pod wpływem mieloperoksydazy z H_2O_2 i halogenków powstawać mogą kwasy podhalogenowe:



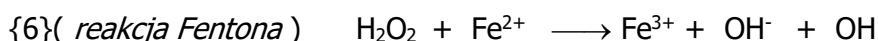
Śródkomórkowe stężenie nadtlenu wodoru jest regulowane aktywnością peroksydazy glutationowej. Enzym ten, zawierający selen, katalizuje reakcje pomiędzy glutationem a nadtlenkiem wodoru, w wyniku czego powstaje utleniona forma glutationu, czyli disulfid glutationu (GSSG):



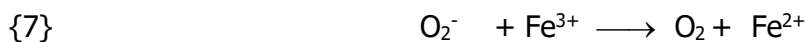
Wręcz niebezpieczna dla komórki mieszanina disulfidów jest redukowana przez reduktazę glutationową, enzym odtwarzający z kolei zredukowaną formę glutationu kosztem utlenienia NADPH:



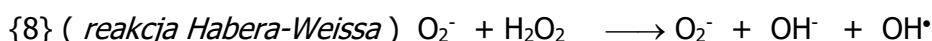
Szczególne znaczenie w generowaniu rodnika wodorotlenowego ma nieenzymatyczna reakcji katalizowana przez jony Fe^{2+} :



Powstające w tej reakcji jony żelazowe mogą podlegać utlenieniu:



stając się motorem dla lawinowego przebiegu reakcji Feltona, bądź też jony żelazowe mogą katalizować reakcję z udziałem O_2 i H_2O_2 :



Powstający w wyniku reakcji {6} {8}, głównie *reakcja Fentona*, rodnik wodorotlenowy, jeden z najgroźniejszych dla organizmu utleniaczy, wykazuje możliwość reakcji praktycznie ze wszystkimi substancjami występującymi w organizmie [Halliwell (1991), Maśliński i Ryżewski (1995), Murray i wsp. (1994), Tchórzowski (1998)]. Z innych *RFT* największe znaczenie mają: tlenek azotu (NO), kwas podchlorawy (HOCl), tlen singletowy $^1\text{O}_2$, nadtlenoazotyn (ONOO^\bullet) i kompleks tlenu z żelazem. Anion nadtlenny, rodnik hydroksylowy, tlen singletowy i H_2O_2 powodują utlenienie tłuszczów do form nadtlennych, rodnik hydroksylowy może odrywać wodór od nienasyconych lipidów, prowadząc do wytworzenia hydronadtlenków, $^1\text{O}_2$

reaguje głównie z nienasyconymi kwasami tłuszczowymi prowadząc, do powstania hydronadtlenków lipidów. Kwas podchlorawy w bardzo krótkim czasie (około 10 sekund) powoduje utlenienie cytochromów, szczególnie typu b, nukleotydów adenylowych, barwników karotenowych, prowadząc do przzerwiania łańcucha oddechowego wskutek utlenienia składników transportu elektronów. Kwas podchlorawy bierze także udział w utlenieniu grup sulfhydrylowych w aminokwasach siarkowych, powstanie zaś chloramin i chloramidów prowadzi do niszczenia wiązań peptydowych i innych wiązań amidowych [Gonet (1996), Jakóbisiak (1997), Tchórzowski (1998)].

Głównym celem ataku *RFT* jest błona komórkowa i jej lipidowe składniki. Proces peroksydacji lipidów rozpoczyna się na powierzchni komórki i prowadzi do jej zniszczenia. Atomy wodoru obecne w łańcuchu lipidowym są przyciągane przez *RFT* poszukujące elektronów, co prowadzi do zdeformowania cząsteczki lipidu. Wchodzi on wówczas w reakcję z sąsiednimi cząsteczkami tlenu, w wyniku czego powstaje rodnik peroksydowy. Jednocześnie cząsteczka lipidu dążąc do stabilizacji, zabiera elektrony kolejnym cząsteczkom lipidów lub białek błony komórkowej. W rezultacie, oprócz wspomnianych już *RFT* powstają także wodorotlenki lipidów i rodniki alkoksylowe. Reakcje te mają charakter łańcuchowy uszkodzający błony komórkowe i wyzwalający uwalnianie jonów zmagazynowanych w organellach komórkowych. Jony te katalizują powstawanie nowych *RFT*, które kontynuują destrukcję struktur lipidowych. Dochodzi ponadto do spadku stężenia kwasów nukleinowych, wzrostu stężenia jonów wapnia i aktywacji innych układów mediatorów m.in. cytokin, metabolitów kwasu arachidonowego i procesów proteolizy [Fox (2000), Gonet (1996), Jakóbisiak (1997), Karp (2001), Maśliński i Ryżewski (1995), Murray i wsp. (1994)].

RFT pobudzają także niektóre geny komórkowe oraz uszkodzają DNA, co prowadzi do aktywacji poli (ADP-rybozo-)polimerazy. Poli ADP-rybozylacja prowadzi do obniżenia wewnątrzkomórkowej puli NAD/NADH i spadku stężenia ATP, a więc zmniejszenia zasobów energetycznych komórki [Gonet (1996), Halliwell (1991), Maśliński i Ryżewski (1995), Tchórzowski (1998)].

1.1.3.2. Zmiany morfologiczne

W początkowej fazie choroby tzn. w okresie przewlekłego kostkowego zapalenia błony maziowej (synovitis chronica villosa) błona maziowa jest przekrwiona, rozpulchniona, pogrubiała. Warstwa wyściółkowa ulega rozplemowi, głównie zwiększa się liczba komórek A (fagocytujących). Dochodzi również do rozrostu kosmków błony

maziowej, które wpuklają się do jamy stawowej. Dość charakterystycznymi dla tej fazy zmian są grudkowate skupienia limfocytów, często z ogniskami rozmnożenia. Twory te noszą nazwę guzków Allisona i Ghormleya. W skład nacieku wchodzi również w zmiennej ilości komórki plazmatyczne, które niekiedy szkliwieją.

Zmianą charakterystyczną dla *r.z.s.* jest martwica włóknkowa. Może ona dotyczyć powierzchniowe warstwy błony maziowej, bądź tworzyć różnej wielkości ogniska głębiej leżące. Niekiedy są one podobne do guzków reumatoidalnych.

Z czasem zaczyna się bujanie błony maziowej w pobliżu brzegu chrząstki stawowej. Błona maziowa, rozrastając się stopniowo, pokrywa powierzchnię chrząstki. Tworzy się łuszczka, a *r.z.s.* wchodzi w okres zwany łuszczkowym (stadium pannosum). We wczesnych okresach łuszczka ma budowę luźnej tkanki łącznej, jest dobrze unaczyniona i nacieczona zapalnie. W stadiach zaawansowanych przybiera ona postać tkanki łącznej włóknistej. Po całkowitym pokryciu chrząstki stawowej łuszczka powoduje jej zanik. W niszczeniu chrząstki stawowej współdziałają enzymy wytwarzane przez łuszczkę. Łuszczka pokrywa przeciwległe powierzchnie chrząstek, z czasem dochodzi do zrostu między łuszczkami. Staw przekształca się w więzozrost i ulega zeszywnieniu [Groniowski i Kruś (1984)].

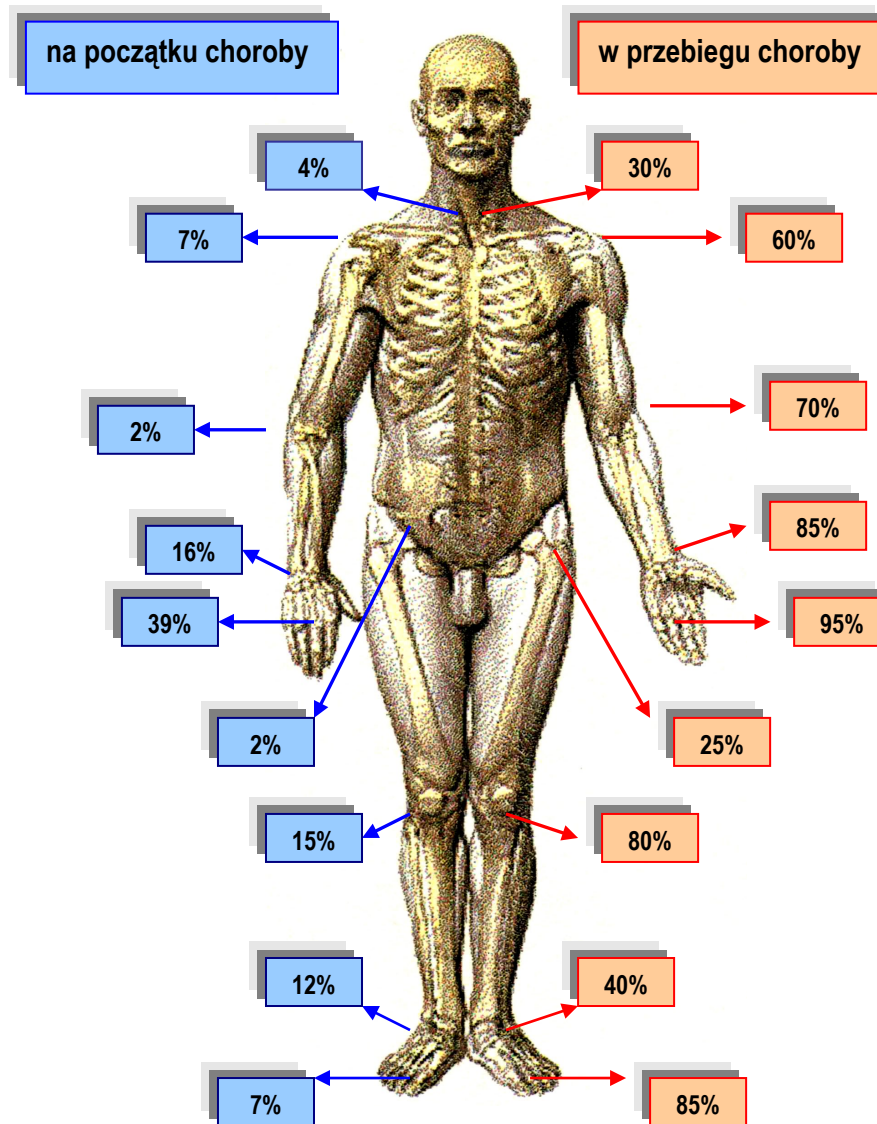
1.1.4. Obraz i przebieg kliniczny

1.1.4.1. Zajęcie stawów

Początek choroby jest zwykle skryty, choć może być też nagły lub ostry. *R.z.s.* zwykle rozpoczyna się jako zapalenie wielostanowe obejmujące małe stawy, czasem jednak jednocześnie obejmuje małe i duże stawy (ryc.3).

Wczesny okres charakteryzuje się zazwyczaj bólami i innymi podstawowymi oznakami zapalenia takimi jak nadmierne ocieplenie, obrzęk, zaburzenie czynności i ewentualne zaczerwienienie skóry okolicy stawu.

Typowym dla *r.z.s.* zjawiskiem jest sztywność poranna, ustępująca pod wpływem rozruszania.



RYC.3. Częstość występowania zmian zapalnych w poszczególnych grupach stawów w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów [Binning (2001)]

Jeśli choroba nie jest leczona i pozostanie aktywna, proces zapalny zwykle obejmuje inne stawy, wywołując nieodwracalne uszkodzenia tkankowe, prowadzące do zniekształceń i niestabilności stawów (ryc.4).

Typową deformacją reumatoidalną jest ulnaryzacja (odchylenie łokciowe) palców, zniekształcenie kciuka w kształcie litery „Z”, zniekształcenie palców uzyskujących obraz „łabędziej szyi” lub „butonierki”. Powszechnie występują



A

B

RYC.4. *Obraz stawów rąk w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów [Akil i Amos (1996)]*

A – zmiany wczesne

B – późniejsze zniekształcenia

wyczuwalne pogrubienie lub guzowatości ścięgien [Daza i wsp.(2001), Ignatavicius (2001), Laiho i wsp. (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].

Kręgosłup

Mimo, że *r.z.s.* zajmuje przede wszystkim stawy obwodowe, często dotyczy także połączeń stawowych kręgosłupa, głównie jego odcinka szyjnego. Zmiany zapalne w stawach kręgosłupa połączone z bujaniem ziarniny reumatycznej naciekającej krążki międzykręgowe i struktury samych kręgów mogą prowadzić do niestabilności kręgosłupa.

Czasem może dochodzić do podwichnięcia w stawie szczytowo-obrotowym lub rzadziej do podwichnięcia na niższych poziomach kręgosłupa z następowym uciskiem na rdzeń kręgowy (ryc.5).



RYC.5. Powikłania neurologiczne w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów. Obraz rezonansu magnetycznego kręgosłupa szyjnego wykazujący ucisk na rdzeń kręgowy na poziomie C_1 i C_2 [Akil i Amos (1996)]

Wczesnym i najczęstszym objawem podwichnięcia w odcinku szyjnym jest ból i promieniujący ku górze do potylicy. Do innych objawów należą parestezje, nagle pogorszenie czynności ręki, zaniki czucia, nieprawidłowy chód, zatrzymanie lub niedotrzymanie moczu [Laiho i wsp. (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].

1.1.4.1.2. Wysięki w stawach

Płyn stawowy staje się kwaśny, zwiększa się w nim stężenie mleczanów, zmniejsza się lepkość (10-100 razy).Płyn przybiera charakter newtonowski, wykazując stały współczynnik 0,1 P, podczas gdy w warunkach prawidłowych wynosi on 1,0 – 10,0 P. Pojawiają się w nim liczne komórki wielojądrzaste, może także zawierać czynnik reumatoidalny.

Płyn może występować w wielu stawach objętych procesem zapalnym i tak dla przykładu wysięk gromadzący się w stawie kolanowym może powodować powstanie torbieni podkolanowej (Bekera). Jej pęknięcie wywołuje rozlany ból i obrzęk łydki [Ignatavicius (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].

1.1.4.1.3. Zmiany w strukturze kości

Pierwsze zmiany w obrazie rentgenowskim, takie jak zmniejszenie gęstości kości, ścieńczenie warstwy korowej, lepsze uwidocznienie beleczek podporowych, świadczące o istnieniu osteoporozy, dotyczą stawu objętego zmianami zapalnymi. Przy dalszym zaawansowaniu *r.z.s.* uwidaczniają się niewielkie torbiele w częściach przystawowych kości, które później przekształcają się w nadżerki brzeżne. Te typowe dla *r.z.s.* ubytki kostne pojawiają się w ciągu trzech lat od początku choroby u około 90% chorych, u których ostatecznie występują [Caspi i wsp. (2001)].

Towarzyszą temu odczyny kostniejące w miejscach przyczepów ścięgien i więzadeł tzw. *enthesitis rheumatoidea*.

Szpara stawowa staje się stopniowo coraz węższa, ulega zarastaniu włóknistemu lub kostnemu [Bukhari i wsp. (2001), Caspi i wsp.(2001), Ignatavicius (2001), Staniszewska-Varga i wsp. (2003)].

1.1.4.2. Objawy pozastawowe

1.1.4.2.1. Powiększenie węzłów chłonnych

Powiększenie obwodowych węzłów chłonnych stwierdza się u około 75% chorych. Szczególnie często występuje powiększenie węzłów chłonnych pachowych [Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990), Turesson i wsp. (2002)].

1.1.4.2.2. Guzki reumatoidalne

Guzki reumatoidalne występują u około 1/5 pacjentów i mogą umiejscawiać się wszędzie, ale najczęściej występują w miejscach narażonych na ucisk, szczególnie na powierzchni prostowników przedramienia i na tylnej powierzchni ścięgna Achillesa (ryc.6) [Ignatavicius (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].



RYC.6. *Typowe umiejscowienie guzków reumatoidalnych*

[Akil i Amos (1996)]

Guzki reumatoidalne mają charakterystyczną budowę mikroskopową. Wokół ognisk martwicy włóknkowej znajdują się palisadowato ułożone komórki wrzecionowate, a na zewnątrz niekiedy widuje się nacieki zapalne. Guzki mogą tworzyć konglomeraty, z czasem podlegające martwicy.

1.1.4.2.3. Zmiany naczyniowe

Odkładanie się kompleksów immunologicznych w ścianach naczyń może wywoływać choroby naczyń krwionośnych, głównie naczyń małego kalibru. Zmiany w tętnicach mogą przypominać obraz guzkowego zapalenia. Zmiany naczyniowe mogą prowadzić do martwicy palców, większych owrzodzeń skóry i odosobnionego zapalenia nerwu (mononeutitis) z powodu uszkodzenia naczyń nerwowych (vasa nervorum) (ryc.7) [Wang i wsp. (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990), Turesson i wsp. (2002)].



RYC.7. *Reumatoidalne zapalenie naczyń kończyny dolnej prawej*
[Akil i Amos (1996)]

1.1.4.2.4. Zmiany płucne i sercowe

Zapalenie płuc w przebiegu *r.z.s.* występuje stosunkowo rzadko. Przebiega ono zazwyczaj ze śródmiąższowym rozlanym włóknieniem płuc, klinicznie manifestującym się dusznością. O wiele częściej zmiany w płucach czy opłucnej są bezobjawowe i mają charakter licznych guzków reumatoidalnych, stwierdzanych jednak dopiero podczas autopsji [Attucci i wsp. (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].

Zapalenie osierdzia występuje u około 30% chorych na *r.z.s.* zwykle surowiczododatnich. Zazwyczaj dochodzi do gromadzenia się niewielkiej ilości płynu surowiczego- włóknistego w worku osierdziowym, czemu towarzyszyć może ból w klatce piersiowej, zazwyczaj bez zaburzeń czynności serca. U około 10% chorych gromadzący się wysięk osierdzia prowadzić jednak może do tamponady serca.

Zmiany zastawkowe spowodowane są najczęściej rozwojem guzków reumatycznych u podstawy zastawek aorty lub dwudzielnej. W badaniu sekcyjnym tego typu zmiany stwierdza się u około 10% chorych na *r.z.s.*

Czasem u chorych na *r.z.s.* występować mogą zaburzenia przewodzenia. Niekiedy do bloku serca prowadzić może ziarniniak rozwijający się w okolicy węzła przedsionkowo-komorowego [Bacon i Townend (2001), Ignatavicius (2001), McEntegart i wsp. (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990), Goodson (2002)].

1.1.4.2.5. Choroby nerek

Schorzenia nerek mogą występować w wyniku amyloidozy, której przejawem jest białkomocz i zwiększona wrażliwość na toksyczny wpływ leków. Najczęściej mają one postać zapalenia śródmiąższowego, co stwierdzone jest w około 30% autopsji. Często u tych chorych występuje również kamica nerkowa [Ignatavicius (2001), Steenland i wsp.(2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990), Turesson i wsp. (2002), Turesson i wsp. (2003)].

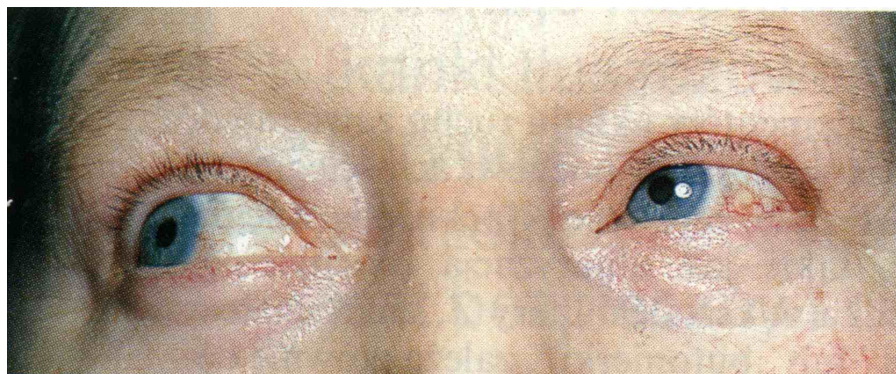
1.1.4.2.6. Powikłania oczne

Zespół Sjögrena.

Blisko 50% chorych z zespołem Sjögrena cierpi jednocześnie na *r.z.s.* lub inne autoimmunizacyjne choroby stawów. W zespole tym uszkodzeniu gruczołów łzowych i błon śluzowych często towarzyszy śródmiąższowe zapalenie płuc i zapalenie nerek. U chorych tych pojawiają się nacieki limfocytów CD4 i autoprzeciwciała o różnej swoistości. U niektórych chorych występuje ilościowa i jakościowa supresja limfocytów T. Zespół suchości śluzówek wywołuje uczucie piasku pod powiekami z nieznacznym zaczerwienieniem spojówek, przy prawidłowej ostrości wzroku. Potwierdzeniem zespołu jest test Schirmera oceniający nawilżenie paska sterylnej bibuły, którego jeden koniec umieszcza się pod powieką. Zespół suchości występuje zwykle w późniejszym okresie seropozytywnego *r.z.s.* u kobiet [Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990), Turesson i wsp. (2003)].

Zapalenie nadtwardówkowe to podrażnienie oczu z guzkami. Ostrość wzroku jest prawidłowa.

Zapalenie twardówki wywołuje silne bóle i czasami pogarsza ostrość wzroku. Pojawia się rozlane lub ogniskowe zaczerwienienie twardówki, a końcową fazą schorzenia jest proces gojenia z zanikiem prowadzącym do szaroniebieskiego zabarwienia tej części gałki ocznej (ryc.8) [Afshari i wsp. (2001), Ignatavicius (2001)].



RYC.8. Zapalenie twardówki towarzyszące reumatoidalnemu zapaleniu stawów [Akil i Amos (1996)]

Zespół Felty'ego

Jest to połączenie seropozytywnego *r.z.s.* (często ze względnie mało nasilonym zapaleniem błony maziowej) z powiększeniem śledziona i neutropenią. Towarzyszą temu częste zakażenia, zapalenie naczyń (owrzodzenia kończyn dolnych, odosobnione zapalenie nerwu), niedokrwistość, zmniejszenie liczby płytek krwi i powiększenie węzłów chłonnych [Afshari i wsp. (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].

1.1.4.2.7. Powikłania neurologiczne

Zespół kanału nadgarstka

Zespół ten pojawia się w wyniku obrzęku tkankowego wywieranego na nerwy przechodzące przez ten kanał. W wąskim kanale szczególnie zagrożony jest nerw pośrodkowy (n. medianus), w wyniku czego występują zazwyczaj nocne bóle dłoni po stronie promieniowej, zaburzenia czucia pierwszych czterech palców i osłabienie lub utrata siły kciuka.

Zajęcie innych nerwów obwodowych na przykład łokciowego, strzałkowego wspólnego itd., zapalenie nerwów obwodowych (mononeuritis multiplex), obwodowa neuropatia związana z chorobą podstawową lub polekowa, ucisk na korzenie nerwowe i ucisk na szyjny odcinek kręgosłupa może wyzwać zaburzenia czucia korzeniowego lub obwodowego i zaniki mięśniowe [Ignatavicius (2001), Wang i wsp. (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990), Turesson i wsp. (2003)].

1.1.5. Rozpoznanie

Przy rozpoznaniu *r.z.s.* uwzględnia się międzynarodowe kryteria utworzone przez *American College of Rheumatology* w 1987 roku. Aby rozpoznać *r.z.s.* powinny być spełnione cztery spośród siedmiu kryteriów, przy czym pierwsze cztery winny trwać co najmniej 6 tygodni (tab.1) [Ignatavicius (2001)].

TAB. 1. Kryteria rozpoznania reumatoidalnego zapalenia stawów wg wytycznych *American College of Rheumatology* [Arnett I wsp. (1988), Van Der Linden (2001)]

l.p.	Objawy	
1.	Poranna sztywność	Trwająca co najmniej godzinę
2.	Obrzęk	Dotyczy co najmniej trzech stawów
3.	Zapalenie stawów	Objawy zapalenia pozastawowych lub środkowych stawów palców rąk lub nadgarstków
4.	Symetryczne zapalenie stawów	Jednakowo zaatakowane stawy po obu stronach ciała
5.	Guzki reumatoidalne	W typowych miejscach
6.	Czynnik reumatoidalny	Wykrywalny
7.	Zmiany radiologiczne	Nadżerki i osteoporoza okołostawowa zajętych stawów

1.1.5.1. Anomalie immunologiczne

Czynniki reumatoidalne są immunoglobulinami, przy czym obecność IgM skierowanego przeciwko IgG jest charakterystyczną cechą immunologiczną *r.z.s.* Wykrywa się go w teście Waalera-Rosego. Immunoglobulina ta nie występuje jednak u wszystkich chorych na *r.z.s.*, ani nie jest dla tego schorzenia swoista: IgM anty-IgG. Obecna jest w surowicy 75-90% chorych, ale we wczesnej fazie choroby tylko w 40-50%. Pozostali chorzy są trwale seronegatywni, mimo typowego przebiegu choroby. U chorych tych mogą występować inne izotypy czynników reumatoidalnych na przykład globulina gamma-G lub gamma-A. Czynnik reumatoidalny wytwarzany jest przez komórki B i komórki plazmatyczne w błonie maziowej. Swoistość czynnika reumatoidalnego jest najczęściej skierowana przeciw fragmentowi Fc IgG.

Immunoglobulina ta jest postrzegana jako obca, być może wskutek związania innego antygeny [Nanamura i wsp. (2001), Singal i Zhang (2001)].

Pacjenci z wysokim poziomem czynnika reumatoidalnego znacznie częściej mają pozastawowe objawy *r.z.s.*, ale poziom czynnika reumatoidalnego nie wskazuje na nasilenie choroby stawów ani nie świadczy o skuteczności leczenia [Ignatavicius (2001), Singal i Zhang (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].

U niektórych pacjentów chorych na *r.z.s.* mogą także występować przeciwciała przeciwjądrowe. Przeciwciała te służą rozpoznaniu tocznia układowego, ale wśród niektórych chorych z toczniem może występować również czynnik reumatoidalny (tab.2).

TAB.2. Częstość występowania przeciwciał przeciwjądrowych i czynnika reumatoidalnego w wybranych chorobach autoimmunizacyjnych [Singal i Zhang (2001)]

Choroba	CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA	
	przeciwciał przeciwjądrowych	czynnika reumatoidalnego
Reumatoidalne zapalenie stawów	20%	75-90%
Zespół Sjögrena	70%	75%
Toczeń rumieniowaty układowy	90%	20%

1.1.5.2. Wskaźniki ostrej fazy zapalenia

U pacjentów z *r.z.s.*, zwłaszcza w okresie aktywności choroby, często stwierdza się przyspieszenie opadania krwinek, obecność białek ostrej fazy, takich na przykład jak białko C-reaktywne. Stanowią one świadectwo nasilenia ostrego procesu zapalnego i choć nie są swoiste, mogą być racjonalnym wskaźnikiem skuteczności leczenia farmakologicznego. Jeśli przyspieszenie opadania krwinek (lub obecność białka C-reaktywnego) utrzymuje się, choroba prawdopodobnie będzie postępować. Normalizacja wskaźników nie wyklucza jednak dalszej progresji *r.z.s.* [Nanamura i wsp. (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].

1.1.5.3. Czynności wątroby

Próby czynnościowe wątroby u pacjentów z *r.z.s.* mogą dać nieprawidłowe wyniki. Surowicze aktywności transaminaz, fosfatazy zasadowej, nukleotyduzy, gammaglutamylotranspeptydazy mogą być umiarkowanie podwyższone zwłaszcza w okresach zaostrzenia choroby [Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].

1.1.5.4. Inne badania laboratoryjne

W aktywnych postaciach *r.z.s.* dochodzi również do zwiększenia stężenia alfa-2 i gamma globuliny, fibrynogenu, haptoglobiny, ceruloplazminy, kwasu sialowego, miedzi oraz lepkości osocza [Nanamura i wsp. (2001)].

Stężenie albumin jest zwykle zmniejszone, podobnie jak stężenie cynku. Rozwija się także niedokrwistość zazwyczaj proporcjonalna do nasilenia procesów zapalnych. Wśród przyczyn powstającej niedokrwistości normobarwliwej lub niedobarwliwej monocytarnej wymienia się: skutki prowadzonego leczenia farmakologicznego (niedobór żelaza spowodowany krwawieniami po niesterydowych lekach przeciwzapalnych, niedobór folianów powodowany przez sulfasalazynę i metotreksat, hemoliza rozwijająca się pod wpływem sulfosalazyny i dapsonu), zespół Felty'ego [Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].

1.1.5.5. Radiodiagnostyka

W każdym przypadku podejrzenia *r.z.s.* należy wykonać zdjęcie rąk w projekcji AP, stóp w projekcji AP i profilowej oraz zdjęcie kręgosłupa szyjnego w projekcji bocznej. W obrębie rąk zajęte są stawy nadgarstkowe, śródrečno-paliczkowe i międzypaliczkowe bliższe. Nawet w zaawansowanych przypadkach stawy międzypaliczkowe dalsze pozostają zazwyczaj wolne.

We wczesnej fazie *r.z.s.* badanie radiologiczne wykazuje okołostawowy symetryczny obrzęk tkanek miękkich osteoporozę, tworzenie się torbieli podokostnowych oraz nadżerki brzeżne. Do późnych zmian zalicza się zwężenie szpary stawowej, duże nadżerki, deformacje radiologicznych niestabilność stawów. Zmiany te są najwcześniej widoczne w drobnych stawach ręki i nadgarstka oraz stopy.

Postęp zmian radiologicznych w poszczególnych częściach kośćca towarzyszących rozwojowi *r.z.s.* jest jednak często zróżnicowany, i tak np. może się zdarzyć, że na zdjęciu radiologicznym rąk widoczna jest osteoporoza i obrzęki tkanek

miękkich (zmiany niecharakterystyczne), natomiast na zdjęciach stóp uwidaczniają się nadżerki.

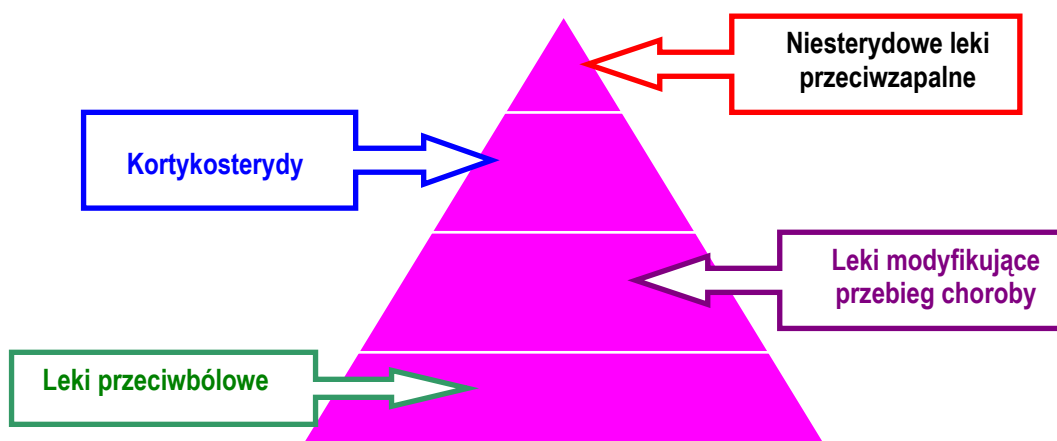
W innych stawach obraz radiologiczny jest podobny jak w stawach rąk i stóp, ale nadżerki kostne uwidaczniają się później ze względu na dużą masę kostną stawu (stawu kolanowego, biodrowego).

Ponieważ proces zapalny w przebiegu *r.z.s.* obejmować może także kręgosłup szyjny, powodując pojawienie się zmian destrukcyjnych w stawach, trzonach kręgów i w aparacie więzadłowym, przy ocenie radiologicznej tej części kręgosłupa szczególną uwagę należy zwrócić na okolice podpotyliczną [Pincus (2001), Riise i wsp. (2001)].

Zdaniem wielu autorów zdjęcia rentgenowskie kośćca w przebiegu *r.z.s.* stanowią dobre udokumentowanie choroby, służą ocenie zaawansowania zmian zapalnych a także pozwalają na ocenę skuteczności prowadzonego leczenia [French i wsp. (2002), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990)].

1.1.6. Leczenie i zapobieganie

W leczeniu *r.z.s.* dla osiągnięcia dobrego efektu zazwyczaj jest konieczne postępowanie kompleksowe [Binning (2001), Douglas i Bowman (2001), Morrison i wsp. (2003), Nuijten i wsp. (2001), Wollheim (2001)] (ryc.9).



Ryc.9. Piramida najważniejszych leków stosowanych w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów [Binning (2001, Chatterton i wsp. (2002), Nuijten i wsp. (2001), Solomon i Avorn (2003)]

W tym schemacie terapeutycznym lekami pierwszego rzutu pozostają niesterydowe leki przeciwzapalne (*NLPZ*) [Griffiths i wsp. (2001), Solomon i Avorn (2003), Wong i wsp. (2001)]. Są pomocne w leczeniu ze względu na swe działania przeciwzapalne i przeciwbólowe. U niektórych chorych *NLPZ* mogą wystarczająco ograniczyć objawy i zapobiec potrzebie stosowania leków modyfikujących przebieg choroby. Możliwości stosowania *NLPZ* rozszerzyły się wraz z wprowadzeniem selektywnych inhibitorów cyklooksygenazy 2 (COX-2). Leky te powodują mniej powikłań ze strony przewodu pokarmowego niż tradycyjne *NLPZ*, które hamują zarówno COX-1, jak i COX-2 [Solomon i Avorn (2003)]. Działanie niepożądane tradycyjnych *NLPZ* można zmniejszyć przez podawanie środków o działaniu ochronnym na żołądek [Hunsche (2001), Solomon i Avorn (2003)].

Kortykosterydy podawane doustnie w małych dawkach (≤ 10 mg na dobę prednizonu lub jego równoważnik) mimo potencjalnych działań niepożądanych, mogą doprowadzić do złagodzenia objawów u wielu chorych. Oprócz stosowania ogólnego kortykosterydy mogą być podawane dostawowo, zwłaszcza u chorych z obrzękiem pojedynczych stawów [Janssena i wsp. (2002), Morrison i wsp. (2003)].

Leki modyfikujące przebieg choroby (*LMPCH*) są uważane za kamień milowy intensywnego leczenia *r.z.s.* Grupa *LMPCH* zawiera wiele środków, wśród nich chyba najczęściej stosowany metotreksat, antagonistą kwasu foliowego (stosowany najczęściej w początkowym okresie średnio zaawansowanych i ciężkich postaci *r.z.s.*). Głównym problemem wynikającym z podawania metotreksatu jest jego toksyczne działanie na wątrobę (zwłóknienie i marskość). Do tej grupy leków należą także sulfosalazyna, hydroksychlorochina. Cyklosporyna, azatiopryna, sole złota i D-penicylamina mająca potwierdzoną skuteczność, ale ich stosowanie jest ograniczone ze względu na działanie niepożądane [Janssena i wsp. (2002), Solomon i Avorn (2003)]. Jednym z najnowszych leków tej grupy jest leflunomid (hamuje syntezę pirymidyny i może zakłócać aktywację limfocytów T), etanercept i infliksymab, które działają poprzez hamowanie TNF-alfa [Issacs i wsp. (2001), Skoumal i Wottawa (2002), Fye (2000)].

W kompleksowej terapii chorób reumatycznych ważne miejsce zajmuje rehabilitacja, na którą składają się kinezyterapia, fizykoterapia i balneoterapia. Celem postępowania rehabilitacyjnego jest leczenie i zapobieganie deformacjom w narządzie ruchu [Mika (1996)]. W leczeniu fizykoterapeutycznym istotne miejsce zajmuje

termoterapia, czyli stosowanie zimna lub ciepła. Przez wiele lat sądzono, że tylko ciepło może być stosowane w *r.z.s.*, oczywiście jedynie w przewlekłym okresie [Książpolska-Pietrzak i Lesiak (1996), Książpolska-Pietrzak (2000)]. Leczenie *r.z.s.* poprzez schładzanie całego organizmu zostało po raz pierwszy wprowadzone i opisane w Japonii pod koniec lat 70. [Yamauchi i wsp. (1979), Yamauchi i wsp. (1981)]. Efekty bodźcowego, stymulującego działania krańcowo niskich temperatur (110-180°C) są zróżnicowane i szerokie [Jonderko (1990), Metzger i wsp. (2000), Tarnowoj i Gassonow (1988), Wawrowska (1992), Wisłowska (1990), Wrzosek i Dybek (1994), Zagrobelny (1996), Zagrobelny i wsp. (1987), Zagrobelny i wsp. (1992), Zagrobelny i wsp. (1993), Zagrobelny i Zimmer (1999)]. Podkreśla się między innymi ich działanie przeciwbólowe związane z wyłączeniem przez zimno receptorów czuciowych, zwolnieniem przewodnictwa bodźców, wzrostem wydzielania beta endorfiny [Howell (1998), Hendrickson (2001), Kanzenbach i Dexter (1999), Schroder i Anderson (1995), Skrzek i wsp. (1999)].

Niektórzy autorzy zwracają także uwagę na możliwość oddziaływania przeciwzapalnego skrajnie niskich temperatur [Wolfe i Pincus (2001), Zagrobelny (2003)]. W wyniku ekspozycji organizmu na niskie temperatury mogą bowiem ulegać modyfikacjom zarówno mechanizmy generowania *RFI* jak i zasoby antyoksydantów [Insler i Helm (1999), Kvien i wsp. (2001)].

2. Cel pracy

1. Oznaczenie całkowitego stanu antyoksydacyjnego w erytrocytach u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów.
2. Określenie wpływu ogólnoustrojowej krioterapii na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego w erytrocytach u badanych chorych przy uwzględnieniu wybranych cech klinicznych.
3. Próba wytypowania chorych, u których leczenie kriogeniczne wywołuje największą odbudowę zasobów antyoksydantów wewnątrzkomórkowych.

4. Analiza statystyczna wyników

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu SAS rel. 6,03.

Przed przystąpieniem do analizy zbadano charakterystyki rozkładu z próby. Badanie skuteczności dopasowania rozkładów przeprowadzono testem χ^2 lub testem Kołmogorowa-Smirnowa. Za istotne dopasowanie przyjęto rozkład, gdzie ryzyko błędu odrzucenia przekraczało 5%.

Z uzyskanych wyników wyliczono następujące statystyki podstawowe:

- średnią
- odchylenie standardowe

Do oceny różnic statystycznych między wynikami badań posiadających rozkład normalny stosowano test t Studenta, a dla rozkładów nienormalnych – test Wilcoxon.

Badanie związku pomiędzy wybranymi cechami klinicznymi występowania reumatoidalnego zapalenia stawów, a zmianami całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów dokonano przy użyciu *testu F*. Programem realizującym był GLM – liniowy model wielu zmiennych. Istotność różnic pomiędzy analizowanymi grupami badano na poziomie istotności $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$.

Wartości dyskryminacyjne (dyskryminatory międzygrupowe) oraz percentylową metodę minimalizacji „straty społecznej” wyznaczano w sposób podany przez Czarneckiego [Sznajd (1983)]:

$$(1) \quad P_{\alpha} = \frac{1}{2}(\bar{x}_2 + \bar{x}_1) - \frac{s^2}{\bar{x}_2 - \bar{x}_1} \ln \frac{WP_2}{P_1}, \text{ gdzie:}$$

P_{α} - poziom decyzyjny

\bar{x}_1 i \bar{x}_2 - średnie w porównywanych grupach

S - odchylenie standardowe

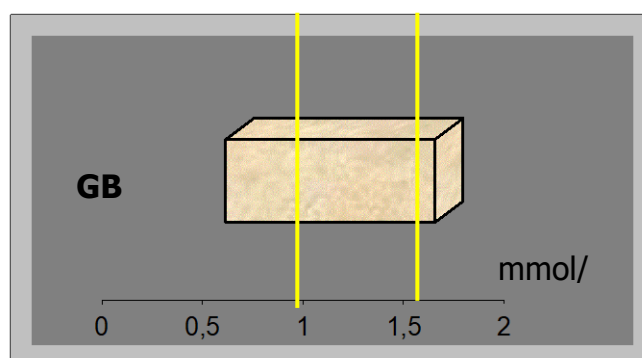
W - waga rozpoznania

P_1 i P_2 - częstości występowania osób w poszczególnych grupach

5. Wyniki

5.1. Zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego w erytrocytach

Całkowity stan antyoksydacyjny (*c.s.a.*) erytrocytów u chorych na *r.z.s.* wahał się od 0,51 do 1,56 mmol/l (średnia: $1,14 \pm 0,32$), zaś wartości referencyjne (*w.r.*) od 1,30 do 1,77 mmol/l (ryc.10).



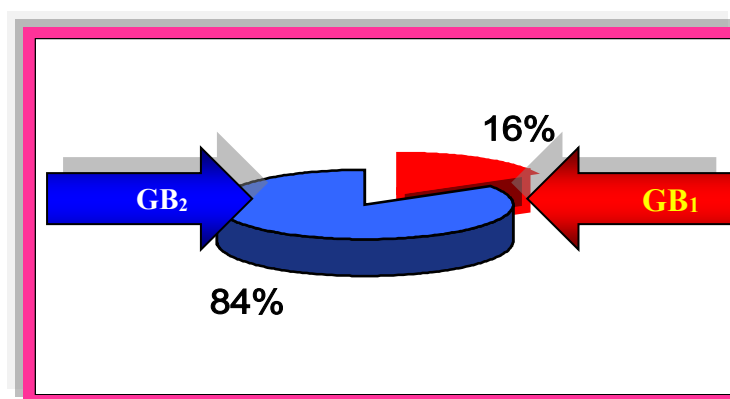
RYC. 10. Zakres wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów

Objaśnienie:

Linią żółtą oznaczono zakres wartości referencyjnych

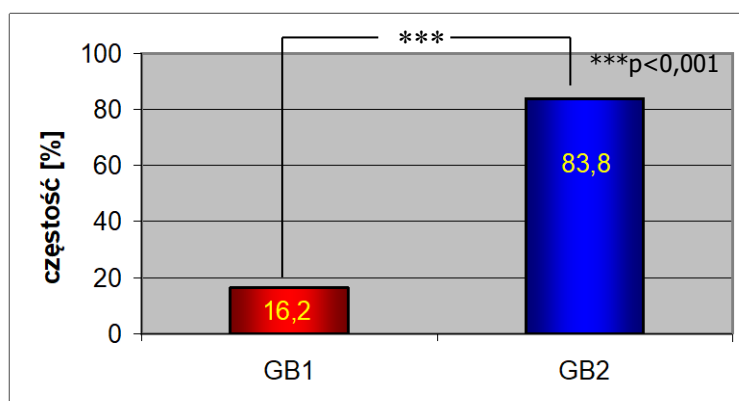
Uzyskane wyniki *c.s.a.* erytrocytów wykazywały znaczną rozpiętość. Skłoniło to do podziału ogółu badanych chorych na dwie podgrupy:

- ◆ GB_1 - chorzy, u których *c.s.a.* erytrocytów pozostawał w zakresie wartości referencyjnych. Grupa ta liczyła 21 osób w wieku 35 - 65 lat (ryc. 11).
- ◆ GB_2 - chorzy, u których *c.s.a.* erytrocytów pozostawał poniżej wartości referencyjnych. Grupa ta liczyła 109 osób w wieku 31 - 68 lat (ryc. 11).



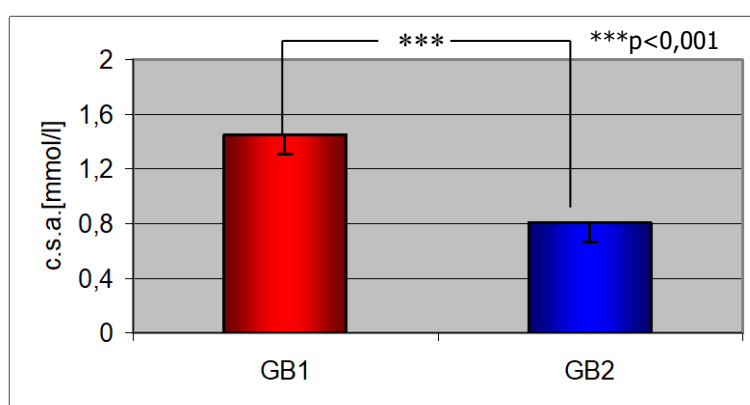
RYC. 11. Procentowy udział obu grup chorych wśród ogółu badanych

Uwagę zwraca fakt, że wśród 130 analizowanych chorych, jeszcze przed rozpoczęciem krioterapii, u 16,2% stwierdzono prawidłowe wartości *c.s.a.* erytrocytów, podczas gdy u pozostały 83,8% obniżone. Z tak przyjętego kryterium wynika, że u chorych na *r.z.s.* obniżony *c.s.a.* erytrocytów występuje znamienne statystycznie częściej ($p < 0,001$) (ryc.12).



RYC. 12. Histogram rozdziału ogółu badanych chorych na grupy

W *GB₁* *c.s.a.* erytrocytów wahał się od 1,32 do 1,56 mmol/l (średnia: $1,42 \pm 0,09$), zaś *GB₂* od 0,51 do 1,26 mmol/l (średnia: $0,84 \pm 0,29$). Średnie wartości *c.s.a.* obu grup różniły się istotnie statystycznie ($p < 0,001$) (ryc. 13).



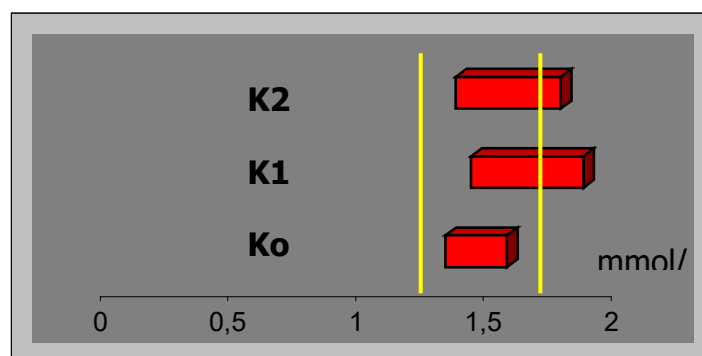
RYC. 13. Histogram zmian całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów przy uwzględnieniu badanej grupy chorych

Zmiany *c.s.a.* erytrocytów u chorych *GB₁* i *GB₂* poddanych leczeniu kriogenicznemu przedstawiono w tab. 3 na ryc. 14, 15, 16.

TAB.3. Zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu badanej grupy chorych

Badana grupa	Całkowity stan antyoksydacyjny (mmol/l) zakres wartości (średnia ± SD)		
	Kontrole chorych		
	Przed rozpoczęciem krioterapii (Ko)	Tuż po zakończeniu krioterapii (K1)	14 dni po zakończeniu krioterapii (K2)
G_{B1}	1,32 – 1,56 (1,42 ± 0,09)	1,42 – 1,86 (1,59 ± 0,11)	1,36 – 1,77 (1,51 ± 0,14)
G_{B2}	0,51 – 1,26 (0,84 ± 0,29) ⁵	1,62 – 4,48 (2,52 ± 0,53) ⁶	1,42 – 3,71 (2,21 ± 0,43) ⁶

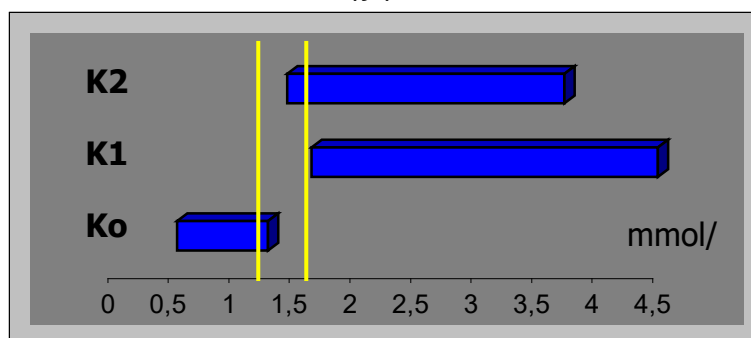
Przy porównywaniu wierszami: #⁵# do #⁶# - p<0,001



RYC.14. Zakres wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych G_{B1} poddanych krioterapii ogólnoustrojowej

Objaśnienie:

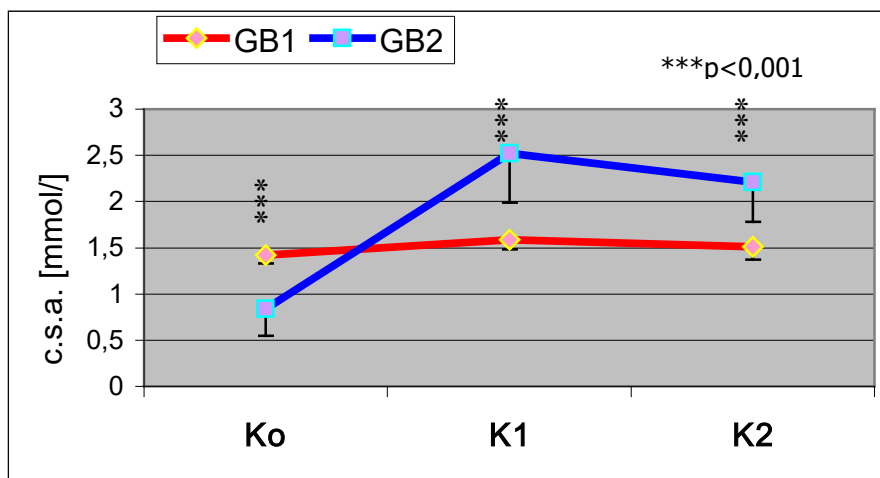
Linią żółtą oznaczono zakres wartości referencyjnych



RYC.15. Zakres wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych G_{B2} poddanych krioterapii ogólnoustrojowej

Objaśnienie:

Linią żółtą oznaczono zakres wartości referencyjnych



Ryc. 16. Wykres zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych GB_1 i GB_2 poddanych krioterapii ogólnoustrojowej

Z tab. 3 i ryc. 14 wynika, że tuż po zakończeniu sesji (10 zabiegów) krioterapii w GB_1 u zdecydowanej większości chorych *c.s.a.* utrzymywał się w zakresie wartości referencyjnych (tylko u 2 chorych nieznacznie przekroczył górny zakres tych wartości). W 14 dni po leczeniu kriogenicznym już tylko u 1 chorego *c.s.a.* przekraczał wartości referencyjnych, natomiast u wszystkich pozostałych stan oksydacyjny erytrocytów pozostawał już w normie.

Inaczej przedstawiały się zmiany *c.s.a.* erytrocytów w GB_2 (tab. 3 i ryc. 15). O ile przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego u wszystkich chorych tej grupy *c.s.a.* pozostawał poniżej dolnej granicy referencyjnej (było to bowiem kryterium wyselekcjonowującej tę grupę), o tyle po zakończeniu sesji krioterapii u zdecydowanej większości chorych *c.s.a.* wzrósł powyżej zakresu wartości referencyjnych (tylko u 9 chorych pozostawał w zakresie normy). W 14 dni po leczeniu kriogenicznym u 15 chorych *c.s.a.* znajdował się w zakresie referencyjnym, natomiast u wszystkich pozostałych stan oksydacyjny erytrocytów utrzymywał wartości podwyższone.

Dane przedstawione na ryc.16 świadczą, że leczenie kriogeniczne nie zmieniało w sposób istotny statystycznie średnich wartości *c.s.a.* w GB_1 . Natomiast w GB_2 tuż po zakończeniu 10 serii krioterapii doszło do znamiennej statystycznie zmiany średniej *c.s.a.*

w erytrocytach. W 14 dni później średni zasób antyoksydantów w erytrocytach utrzymywał się nadal na wysokim poziomie porównywalnym z wartościami stwierdzanymi podczas K1.

Godnym podkreślenia jest fakt, że przez cały okres prowadzonej obserwacji chorych średni *c.s.a.* erytrocytów \mathcal{GB}_2 różnił się od średni wartości stwierdzanych w \mathcal{GB}_1 dla tych samych punktów czasowych, tzn. przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego średni zasób antyoksydantów w erytrocytach \mathcal{GB}_2 był istotnie statystycznie niższy, a po leczeniu kriogenicznym już znamienne statystycznie wyższy (bez względu na czas przeprowadzanej kontroli).

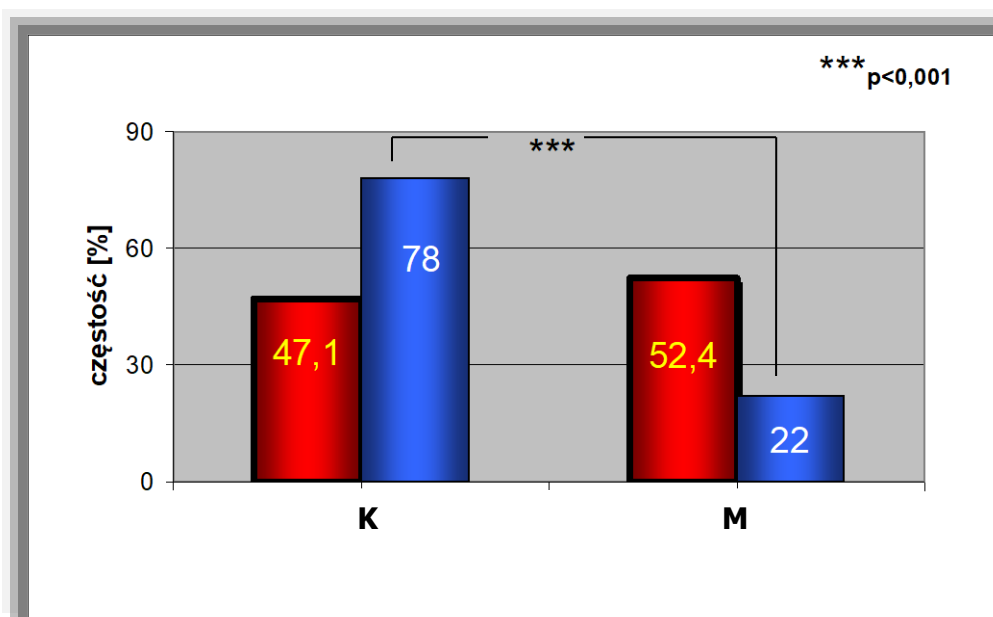
5.2. Wpływ wybranych cech klinicznych na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów

5.2.1. Płeć chorych a zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów

Rozkład płci wśród badanych grup chorych przedstawiono w tab. 4 i na ryc. 17.

TAB.4. Rozkład płci wśród badanych grup chorych

Badana grupa	Płeć		
	Kobiety Liczba (%)	Mężczyźni Liczba (%)	Kobiety/ Mężczyźni
\mathcal{GB}_1	10 (47,6)	11 (52,4)	0,9/1
\mathcal{GB}_2	85 (78,0)	24 (22,0)	3,5/1
\mathcal{GB}	95 (73,1)	35 (26,9)	2,7/1



RYC. 17. Histogram rozkładu płci chorych w badanych grupach

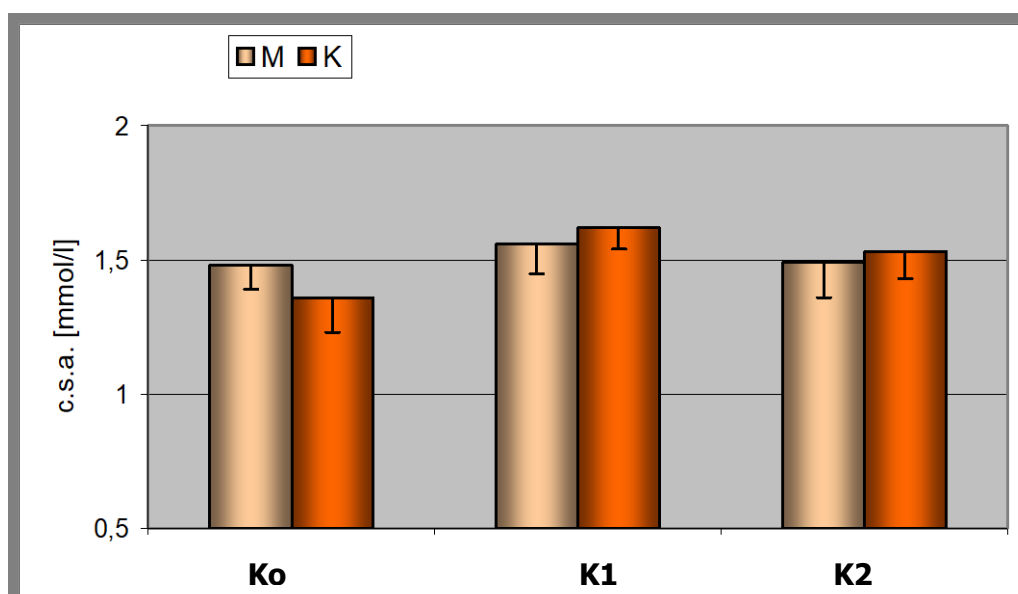
Wyniki przedstawione w tab.4 wskazują, że w $G\mathcal{B}_1$ nieznacznie przeważali mężczyźni - 52,4%, podczas gdy w $G\mathcal{B}_2$ dominowały kobiety – 78,0%. W tej grupie chorych kobiety przeważały statystycznie ($p < 0,001$) (ryc.17).

Zmiany *c.s.a.* erytrocytów w odniesieniu do płci chorych $G\mathcal{B}_1$ i $G\mathcal{B}_2$ poddanych leczeniu kriogenicznemu przedstawiono w tab.5 na ryc.18, 19.

TAB. 18. Zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_1$ i $G\mathcal{B}_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu płci badanych

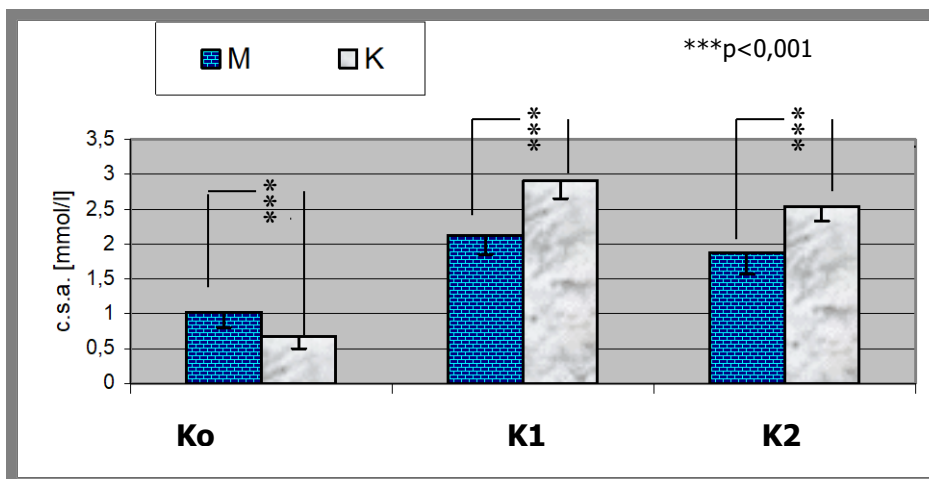
Badana grupa	Płeć	CAŁKOWITY STAN ANTYOKSYDACYJNY (mmol/l) (ŚREDNIA ± SD)		
		Kontrole chorych		
		Przed rozpoczęciem krioterapii (K ₀)	Tuż po zakończeniu krioterapii (K ₁)	14 dni po zakończeniu krioterapii (K ₂)
$G\mathcal{B}_1$	M	1,48 ± 0,05	1,56 ± 0,08	1,49 ± 0,07
	K	1,36 ± 0,06	1,62 ± 0,07	1,53 ± 0,09
$G\mathcal{B}_2$	M	1,02 ± 0,22 ⁵	2,13 ± 0,28 ⁶	1,88 ± 0,31 ⁶
	K	0,67 ± 0,17 ⁵	2,91 ± 0,26 ⁶	2,54 ± 0,21 ⁶

Przy porównywaniu wierszami: #⁵# do #⁶# - $p < 0,001$



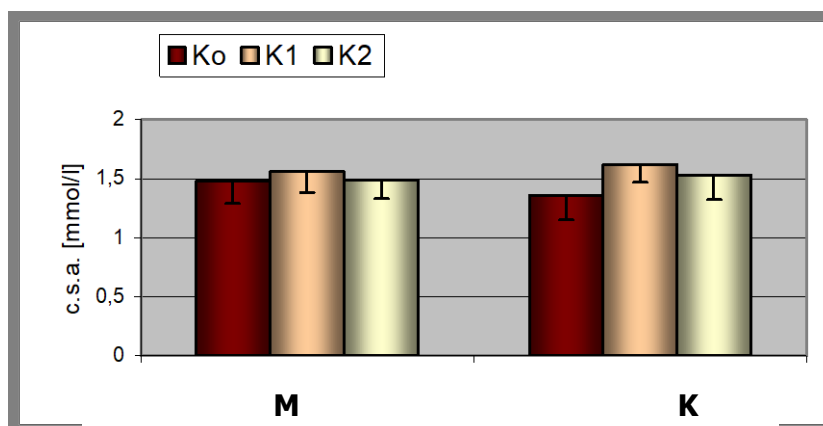
RYC. 18. Wykres zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_1$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu płci

Z tab.5 i ryc.18 wynika, że przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego w $G\mathcal{B}_1$ u kobiet średnie *c.s.a.* erytrocytów było nieznacznie niższe (bez cech istotnych statystycznie) w porównaniu do mężczyzn. Leczenie skrajnie niskimi temperaturami nie zmieniło tej tendencji. Była ona w dalszym ciągu zachowana zarówno tuż po zakończeniu krioterapii jak i w 14 dni później.

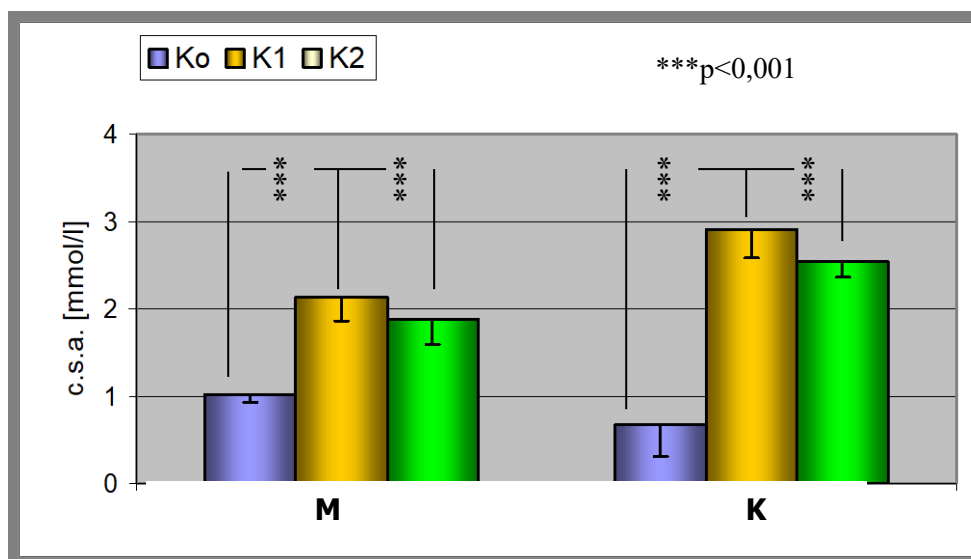


Ryc.19. Wykres zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu płci

W $G\mathcal{B}_2$ zależność pomiędzy zmianami średniego *c.s.a.* erytrocytów a płcią chorych na *r.z.s.* przedstawiała się już zupełnie inaczej. Dane zawarte w tab.5 i ryc.19 wskazują, że przed rozpoczęciem krioterapii w tej grupie chorych średnie *c.s.a.* erytrocytów było znamienne statystycznie niższe u kobiet w porównaniu z mężczyznami. Przeprowadzone leczenie kriogeniczne wyzwoliło jednak już zupełnie inną tendencję, tzn. znamienne statystyczną przewagę średnich zasobów antyoksydantów w erytrocytach u kobiet w porównaniu do mężczyzn. Podobna tendencja jest widoczna podczas kontroli K2 (ryc.19).



Ryc.20. Histogram zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_1$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu płci



Ryc.21. Histogram zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych GB_2 poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu płci

Z tab. 5 i ryc. 20 i 21 wynika, że w obu grupach chorych bez względu na analizowaną płeć tuż po zakończeniu sesji (10 zabiegów) krioterapii doszło do wzrostu średnich wartości *c.s.a.* erytrocytów, a po następnych 14 dniach – obniżenia tych wartości. Dynamika tych zmian jest jednak zasadniczo różna w tych grupach chorych.

Charakterystycznym jest fakt, że w GB_1 niezależnie od płci leczenie kriogeniczne nie zmieniało jednak w sposób istotny statystycznie średniego zasobu antyoksydantów w erytrocytach (ryc. 20).

Inaczej przedstawiały się zmiany *c.s.a.* erytrocytów w GB_2 (ryc. 21). Najsilniejszy wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów pod wpływem krioterapii wystąpił u kobiet (przy porównywaniu wyników Ko do K1 wzrost 4,3- krotny). Również u mężczyzn leczenie kriogeniczne przyniosło wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów, (przy porównywaniu wyników Ko do K1) ale już tylko 2,1- krotny.

Po 14 dniach licząc od zakończenia leczenia kriogenicznego doszło u obu płci do znamiennego statystycznie obniżenia średniego *c.s.a.* erytrocytów (ryc. 21).

Wpływ płci na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych GB_1 i GB_2 leczonych kriogenicznie przedstawiono w tab. 6.

TAB.6. Płeć jako potencjalny czynnik zmian całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów w ocenie liniowego modelu wielu zmiennych

Badana grupa	Badany czynnik: płeć	p	Wartość statystyki F F-value
\mathcal{GB}_1	M	NS	-
	K	NS	-
\mathcal{GB}_2	M	0,5	1,32
	K	0,001	37,21

NS- nieistotne statystycznie

Wyniki przedstawione w tab. 6 wskazują, że w \mathcal{GB}_1 płeć nie odgrywa żadnej roli w zmianach zasobów antyoksydantów erytrocytów.

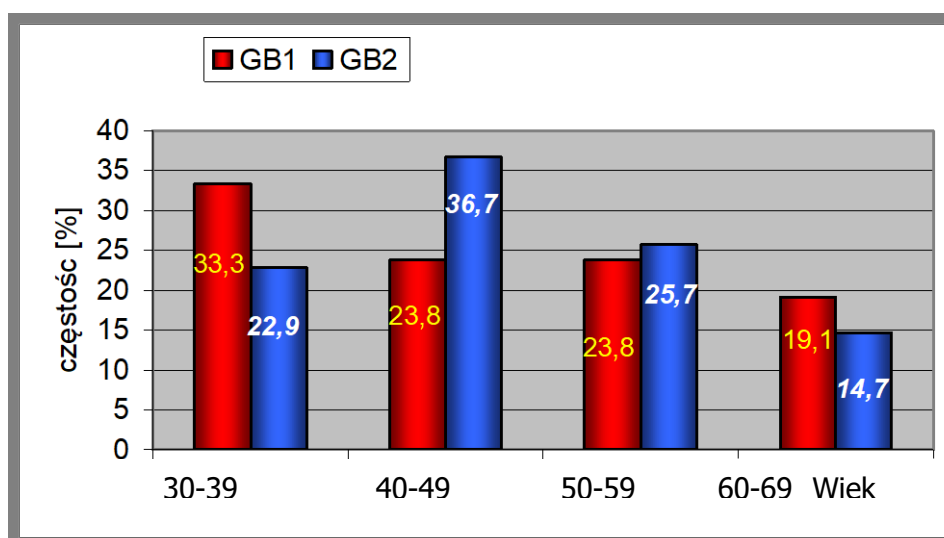
Inaczej jest w \mathcal{GB}_2 . Tu płeć pozostaje czynnikiem wpływającym istotnie statystycznie na *c.s.a.* erytrocytów. Porównanie wartości statystyki F przypisanej płci żeńskiej i męskiej wskazuje, że w \mathcal{GB}_2 na zmiany *c.s.a.* erytrocytów chorych leczonych kriogenicznie płeć żeńska oddziałuje 28,2 silniej niż męska ($F_{\text{value K}} / F_{\text{value M}} = 37,21 / 1,32$). Oznacza to, że w \mathcal{GB}_2 bycie kobietą 28,2 razy silniej predestynuje do zmian *c.s.a.* erytrocytów niż bycie mężczyzną.

5.2.2. Wiek chorych a zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów

Rozkład wieku wśród badanych grup chorych przedstawiono w tab.7 i na ryc. 22.

TAB.7. Rozkład wieku wśród badanych grup chorych

Badana grupa	Wiek [lata]			
	Liczba (%)			
	30-39	40-49	50-59	60-69
\mathcal{GB}_1	7 (33,3)	5 (23,8)	5 (23,8)	4 (19,1)
\mathcal{GB}_2	25 (22,9)	40 (36,7)	28 (25,7)	16 (14,7)
\mathcal{GB}	32 (24,6)	45 (34,6)	33 (25,4)	20 (15,4)



RYC.22. Histogram rozkładu wieku wśród badanych grup chorych

Wyniki przedstawione w tab.7 i na ryc.22 wskazują, że w \mathcal{GB}_1 wraz z postępem wieku obniża się liczba chorych. Taka sama prawidłowość jest obserwowana w \mathcal{GB}_2 , ale dopiero po 40 r.ż.

W \mathcal{GB}_1 największa liczba chorych przypadła na wiek, pomiędzy 30 a 39 r.ż., natomiast w \mathcal{GB}_2 pomiędzy 40 a 49 r.ż.

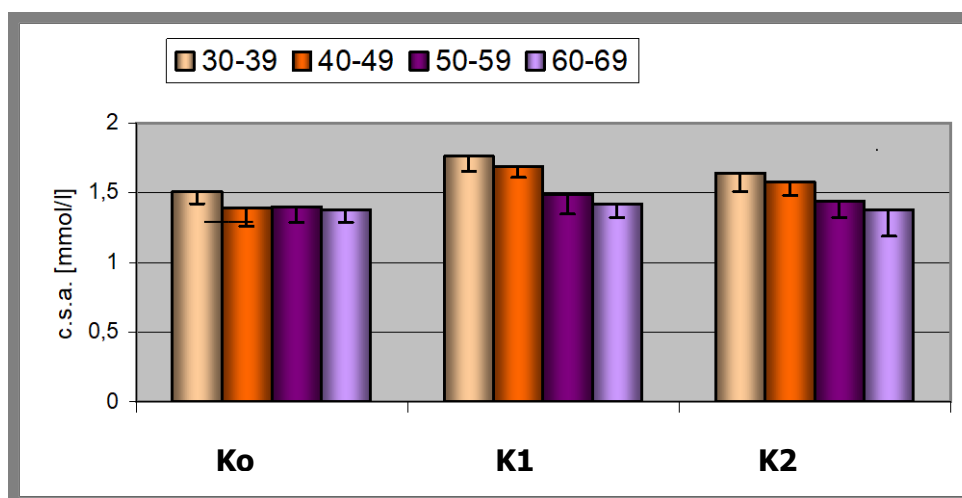
Z analizy ryc. 22 wynika, że rozkład częstości występowania *r.z.s.* w obu grupach chorych jest podobny.

Zmiany *c.s.a.* erytrocytów w odniesieniu do wieku chorych $G\mathcal{B}_1$ i $G\mathcal{B}_2$ poddanych leczeniu kriogeniczemu przedstawiono w tab.8 na ryc. 23, 24.

TAB.8. Zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_1$ i $G\mathcal{B}_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu wieku badanych

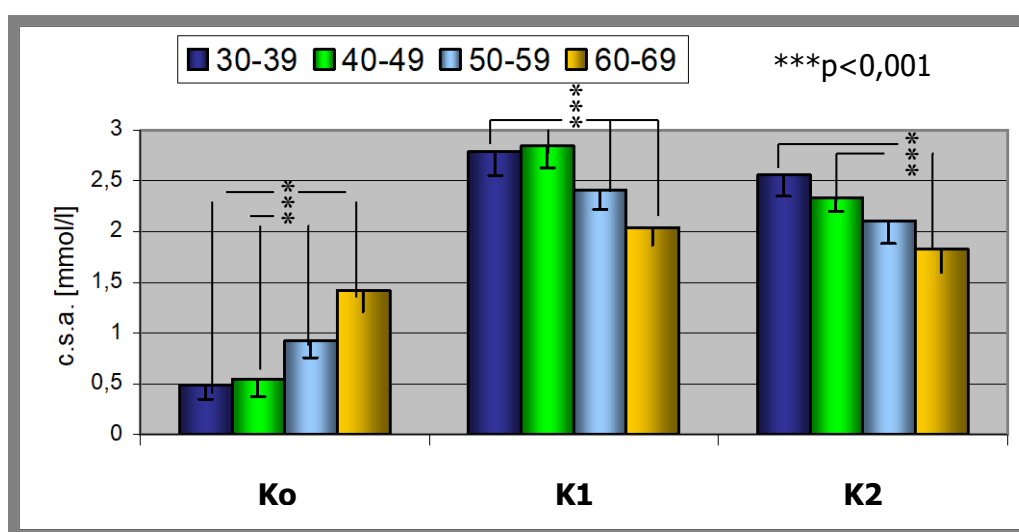
Badana grupa	Wiek [lata]	CAŁKOWITY STAN ANTYOKSYDACYJNY (mmol/l) (średnia \pm SD)		
		Kontrole chorych		
		Przed rozpoczęciem krioterapii (K0)	Tuż po zakończeniu krioterapii (K1)	14 dni po zakończeniu krioterapii (K2)
$G\mathcal{B}_1$	30 - 39	1,51 \pm 0,09	1,76 \pm 0,11	1,64 \pm 0,13
	40 - 49	1,39 \pm 0,13	1,69 \pm 0,08	1,58 \pm 0,10
	50 - 59	1,40 \pm 0,11	1,49 \pm 0,14	1,44 \pm 0,12
	60 - 69	1,38 \pm 0,09	1,42 \pm 0,10	1,38 \pm 0,19
$G\mathcal{B}_2$	30 - 39	0,48 \pm 0,22 ⁵	2,79 \pm 0,28 ^{5,6}	2,56 \pm 0,14 ⁶
	40 - 49	0,54 \pm 0,17 ⁵	2,84 \pm 0,26 ^{5,6}	2,34 \pm 0,21 ⁶
	50 - 59	0,92 \pm 0,15 ⁵	2,41 \pm 0,20 ^{5,6}	2,11 \pm 0,13 ^{5,6}
	60 - 69	1,42 \pm 0,16	2,04 \pm 0,17	1,83 \pm 0,21

Przy porównywaniu wierszami: #⁵# do #⁶# - $p < 0,001$



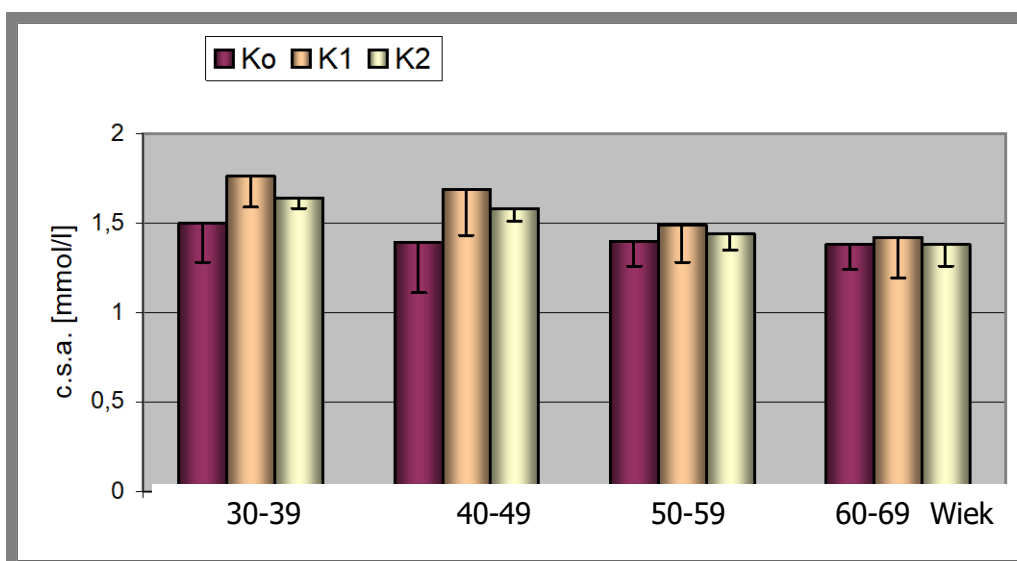
RYC.23. Wykres zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_1$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu wieku badanych

Z tab.8 i ryc. 23 wynika, że przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego w $G\mathcal{B}_1$ średnie *c.s.a.* erytrocytów nie różniło się istotnie statystycznie w poszczególnych analizowanych dekadach wieku. Leczenie skrajnie niskimi temperaturami wyzwoiliło jednak nieznaną, bez cech znamienych statystycznie tendencję do lekkiego obniżania się średnich zasobów antyoksydantów w krwinkach czerwonych w miarę postępu wieku chorych. Zjawisko to zaobserwowano zarówno tuż po zakończeniu krioterapii jak i w 14 dni później.

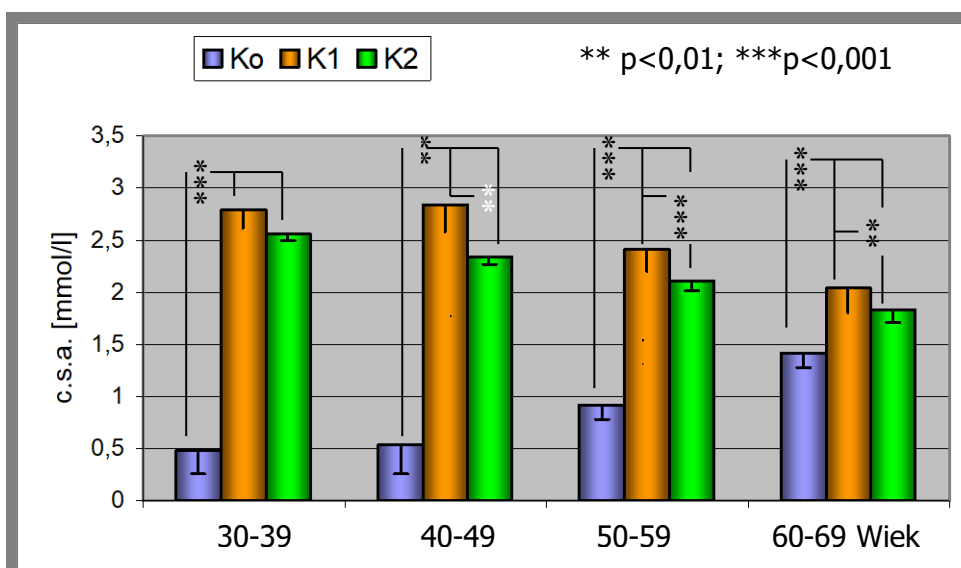


Ryc.24. Wykres zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu wieku badanych

W $G\mathcal{B}_2$ zależność pomiędzy zmianami średniego *c.s.a.* erytrocytów a postępowaniem wieku chorych przedstawiała się już zupełnie inaczej. Dane zawarte w tab.8 i ryc. 24 wskazują, że przed rozpoczęciem krioterapii w tej grupie chorych średnie *c.s.a.* erytrocytów rosło znamienne statystycznie w miarę postępu wieku badanych. Przeprowadzone leczenie kriogeniczne wyzwoiliło jednak już zupełnie inną tendencję, tzn. stopniowego obniżania się średnich zasobów antyoksydantów w erytrocytach w miarę postępu wieku, począwszy od 40 r.ż. Podobna tendencja jest widoczna podczas kontroli K2, z tym że obejmuje ona już wszystkie analizowane przedziały wiekowe, a więc począwszy od 30-39 a skończywszy na 60-69 latach (ryc. 24).



Ryc.25. Histogram zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych GB_1 poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu wieku badanych



Ryc.26. Histogram zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych GB_2 poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu wieku badanych

Z tab.8 i ryc. 25 i 26 wynika, że w obu grupach chorych bez względu na analizowany przedział wiekowy tuż po zakończeniu sesji (10 zabiegów) krioterapii doszło do wzrostu średnich wartości *c.s.a.* erytrocytów, a po następnych 14 dniach – obniżenia tych wartości. Dynamika tych zmian jest jednak zasadniczo różna w tych grupach chorych.

Charakterystycznym jest fakt, że w GB_1 niezależnie od analizowanego przedziału wiekowego, leczenie kriogeniczne nie zmieniało jednak w sposób istotny statystycznie średniego zasobu antyoksydantów w erytrocytach (ryc. 25).

Inaczej przedstawiały się zmiany *c.s.a.* erytrocytów w GB_2 (ryc. 26). Najsilniejszy wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów pod wpływem krioterapii wystąpił u chorych w wieku pomiędzy 30-39 r.ż. (przy porównywaniu wyników Ko do K1 wzrost 5,8- krotny) i u chorych w wieku pomiędzy 40-49 (przy porównywaniu wyników Ko do K1 wzrost 5,3- krotny). Również u chorych powyżej 49 r.ż. leczenie kriogeniczne przyniosło wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów, i tak u chorych w wieku pomiędzy 50-59 r.ż. (przy porównywaniu wyników Ko do K1) wzrost ten był 2,6- krotny, a u chorych w wieku pomiędzy 60-69 (przy porównywaniu wyników Ko do K1) już tylko 1,4- krotny.

Po 14 dniach licząc od zakończenia leczenia kriogenicznego doszło we wszystkich przedziałach wiekowych do znamiennego statystycznie obniżenia średnie *c.s.a.* erytrocytów (ryc. 26).

Dane przedstawione w tab. 8 i na ryc. 26 wskazują, że najsilniejszy, znamieny statystycznie wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów nastąpił pod wpływem krioterapii u chorych w wieku 30 - 49 lat.

Analiza z wykorzystaniem liniowego modelu wielu zmiennych wskazuje, że 49 r.ż. u chorych GB_2 stanowi wartość dyskryminacyjną wieku (tab.9).

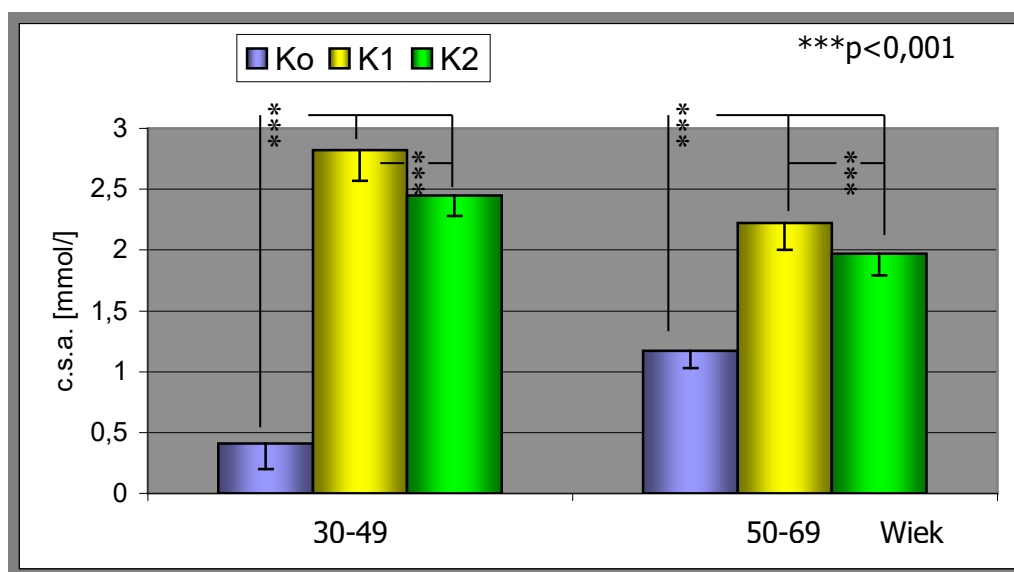
TAB.9. Wartość decyzyjna wieku chorych wpływająca znamienne statystycznie na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów

Badany czynnik	Wartość decyzyjna [lata]	Średni błąd (%)
WIEK	49	9,35

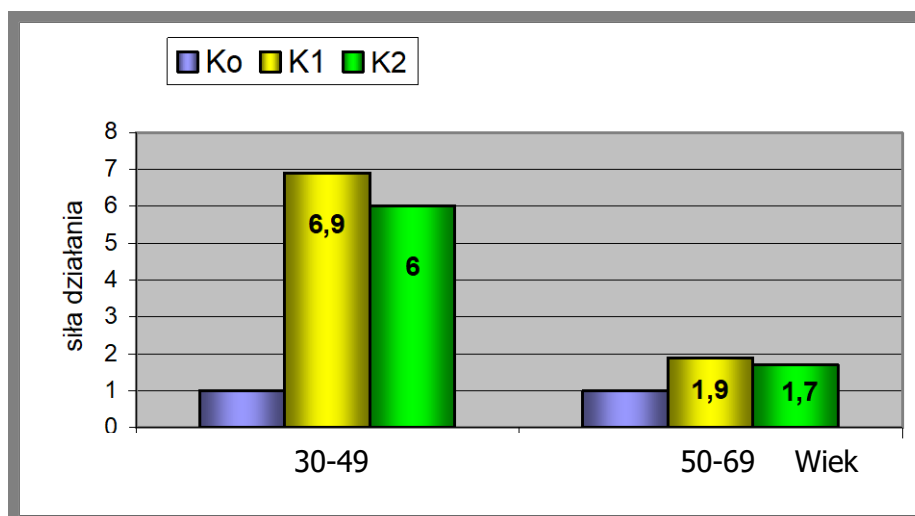
Zmiany *c.s.a.* erytrocytów w GB_2 powstałe po wpływem leczenia kriogenicznego przy uwzględnieniu wartości decyzyjnej wieku przedstawiono w tab. 10 na ryc. 27, 28.

TAB. 10. Zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\beta_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu wartości decyzyjnej wieku

Badana grupa	Wiek [lata]	CAŁKOWITY STAN ANTYOKSYDACYJNY (mmol/l) (średnia \pm SD)		
		Kontrole chorych		
		Przed rozpoczęciem krioterapii (K0)	Tuż po zakończeniu krioterapii (K1)	14 dni po zakończeniu krioterapii (K2)
$G\beta_2$	30 – 49	0,41 \pm 0,21	2,82 \pm 0,25	2,45 \pm 0,17
	50 – 69	1,17 \pm 0,14	2,22 \pm 0,22	1,97 \pm 0,18



RYC. 27. Histogram zmian całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\beta_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu wartości decyzyjnej wieku



Ryc. 28. Porównanie siły oddziaływania leczenia kriogenicznego na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych GB_2 przy uwzględnieniu wartości decyzyjnej wieku

Szczególnie ryc. 28 przekonuje, że u chorych w wieku poniżej 49 lat można się spodziewać wyjątkowo korzystnego oddziaływania krioterapii na pule antyoksydantów erytrocytów. U chorych w wieku pomiędzy 30-49 r.ż. (przy porównywaniu wyników Ko do K1) nastąpił bowiem aż 6,9- krotny wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów, podczas gdy u chorych w wieku powyżej 49 r.ż.(przy porównywaniu wyników Ko do K1) wzrost ten był już tylko 1,9 krotny.

Po 14 dniach licząc od zakończenia leczenia kriogenicznego doszło do obniżenia średniego *c.s.a.* erytrocytów w obu przedziałach wiekowych, zarówno w przedziale 30-49 lat jak i przedziale 50-69 lat. Najmniej jednak leczenie kriogeniczne u chorych w wieku 30-49 lat utrwaliło wzrost średniej wartości *c.s.a.* erytrocytów na poziomie 6-krotnie przekraczającym wyjściowe średnie wartości, podczas gdy u chorych w wieku powyżej 49 lat średni *c.s.a.* erytrocytów przekraczał wyjściowe wartości już tylko 1,7-krotnie (ryc. 28).

Wpływ wieku na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych GB_1 i GB_2 leczonych kriogenicznie przedstawiono w tab. 11.

TAB. 11. Wiek jako potencjalny czynnik zmian całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów w ocenie liniowego modelu wielu zmiennych

Badana grupa	Badany czynnik: wiek	p	Wartość statystyki F F-value
\mathcal{GB}_1	wiek	NS	-
\mathcal{GB}_2	do 49 r.ż.	0,01	84,23
	pow. 49 r.ż.	0,001	21,68

NS- nieistotne statystycznie

Wyniki przedstawione w tab. 11 wskazują, że w \mathcal{GB}_1 wiek nie odgrywa żadnej roli w zmianach zasobów antyoksydantów erytrocytów.

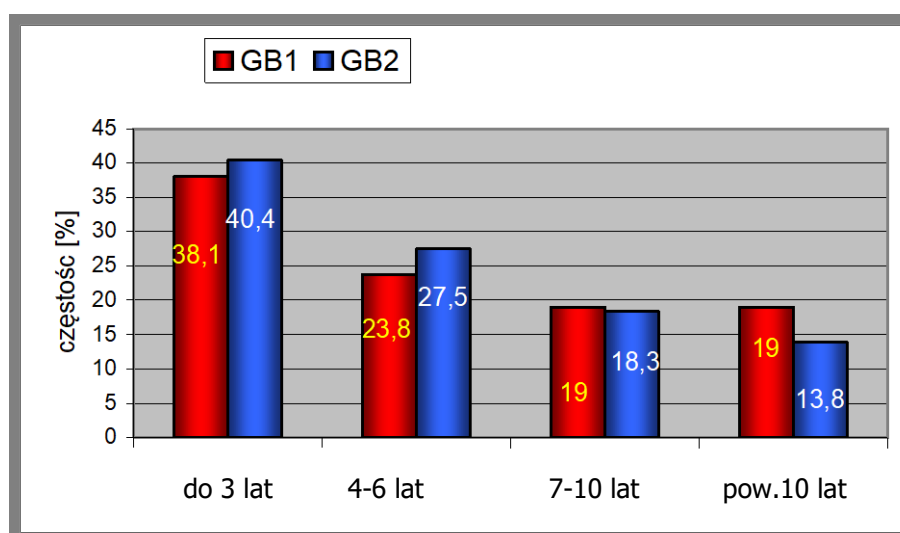
Inaczej jest w \mathcal{GB}_2 . Tu płeć pozostaje czynnikiem wpływającym istotnie statystycznie na *c.s.a.* erytrocytów. Porównanie wartości statystyki F przypisanej wiekowi poniżej i powyżej 49 lat wskazuje, że w \mathcal{GB}_2 u chorych w wieku poniżej 49 lat, leczenie kriogeniczne oddziałuje na zmiany (wzrost) *c.s.a.* erytrocytów 3,9 razy silniej niż w grupie chorych powyżej 49 r.ż. ($F_{\text{value do 49 r.ż.}} / F_{\text{value pow. 49 r.ż.}} = 84,23 / 21,68$). Oznacza to, że chorzy na *r.z.s.* w wieku poniżej 49 lat są 3,9 razy silniej predestynowani do zmian *c.s.a.* erytrocytów niż chorzy powyżej tej granicy wieku.

5.2.3. Czas trwania reumatoidalnego zapalenia stawów a zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów

Rozkład czasu trwania choroby wśród badanych grup chorych przedstawiono w tab.12 i na ryc.29.

TAB. 12. Rozkład czasu trwania reumatoidalnego zapalenia stawów wśród badanych grup chorych

Badana grupa	Czas trwania choroby [lata]			
	Liczba (%)			
	do 3 lat	4-6	7-10	pow.10
GB_1	8 (38,1)	5 (23,8)	4 (19,0)	4 (19,0)
GB_2	44 (40,4)	30 (27,5)	20 (18,3)	15 (13,8)
GB	52 (40,0)	34 (26,1)	24 (18,5)	19 (14,6)



Ryc.29. Histogram rozkładu czasu trwania reumatoidalnego zapalenia stawów wśród badanych grup chorych

Wyniki przedstawione w tab.12 i na ryc.29 wskazują, że w GB_2 wraz z wydłużaniem czasu trwania choroby obniża się liczba chorych. Taka sama prawidłowość jest obserwowana w GB_1 , ale tylko w przedziale do 6 lat. Powyżej tej granicy czasu liczba badanych w tej grupie jest taka sama.

W obu grupach największa liczba chorych miała krótki czas trwania choroby (do 3 lat).

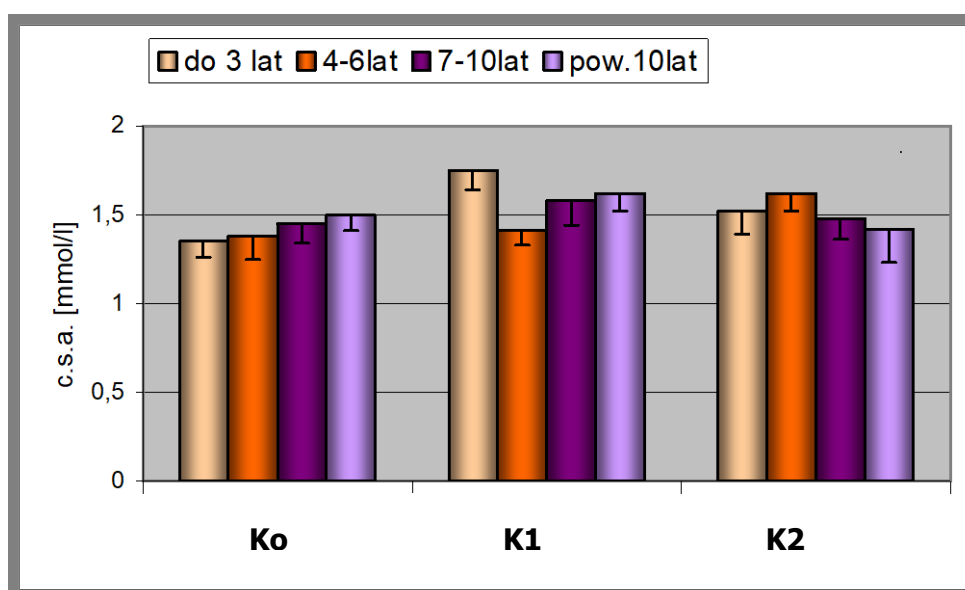
Z analizy ryc.29 wynika, że rozkład częstości występowania *r.z.s.* w obu grupach chorych jest podobny.

Zmiany *c.s.a.* erytrocytów w odniesieniu do wieku chorych GB_1 i GB_2 poddanych leczeniu kriogenicznemu przedstawiono w tab.13 na ryc. 30, 31, 32, 33.

TAB. 13. Zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych GB_1 i GB_2 poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu czasu trwania reumatoidalnego zapalenia stawów

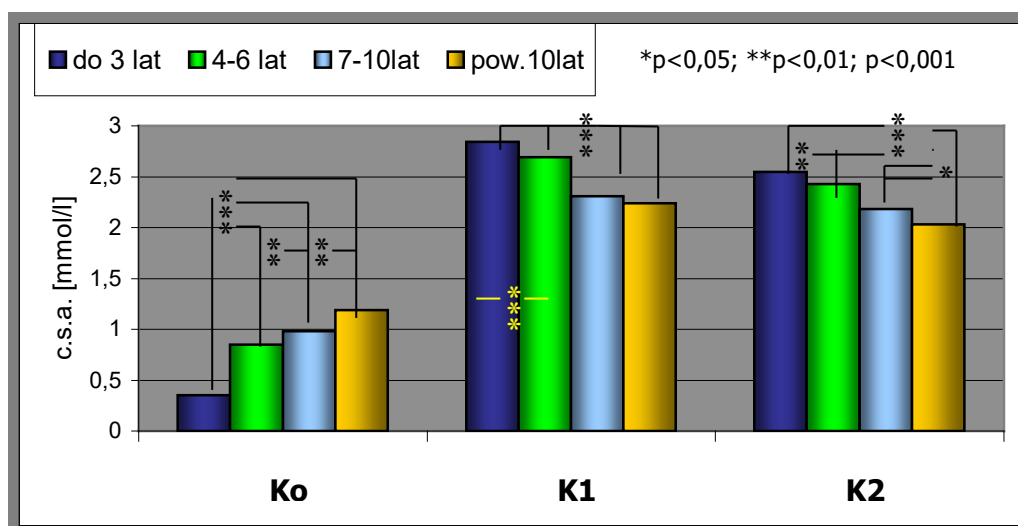
Badana grupa	Czas trwania choroby (lata)	CAŁKOWITY STAN ANTYOKSYDACYJNY (mmol/l) (średnia ± SD)		
		Kontrole chorych		
		Przed rozpoczęciem krioterapii (K0)	Tuż po zakończeniu krioterapii (K1)	14 dni po zakończeniu krioterapii (K2)
GB_1	<i>do 3</i>	1,35 ± 0,14	1,75 ± 0,11	1,52 ± 0,19
	<i>4-6</i>	1,38 ± 0,16	1,41 ± 0,16	1,62 ± 0,14
	<i>7-10</i>	1,45 ± 0,21	1,58 ± 0,14	1,48 ± 0,12
	<i>pow. 10</i>	1,50 ± 0,29	1,62 ± 0,10	1,42 ± 0,13
GB_2	<i>do 3</i>	0,35 ± 0,12 ⁵	2,84 ± 0,18 ^{5,6}	2,55 ± 0,14 ⁶
	<i>4-6</i>	0,84 ± 0,10 ⁵	2,69 ± 0,16 ^{5,6}	2,43 ± 0,21 ⁶
	<i>7-10</i>	0,98 ± 0,19 ⁵	2,31 ± 0,22 ^{1,6}	2,18 ± 0,13 ^{2,6}
	<i>pow.10</i>	1,19 ± 0,23	2,24 ± 0,26 ³	2,03 ± 0,21 ⁴

Przy porównywaniu wierszami: #¹# do #²# - p<0,05; #³# do #⁴# - p<0,01; #⁵# do #⁶# - p<0,001



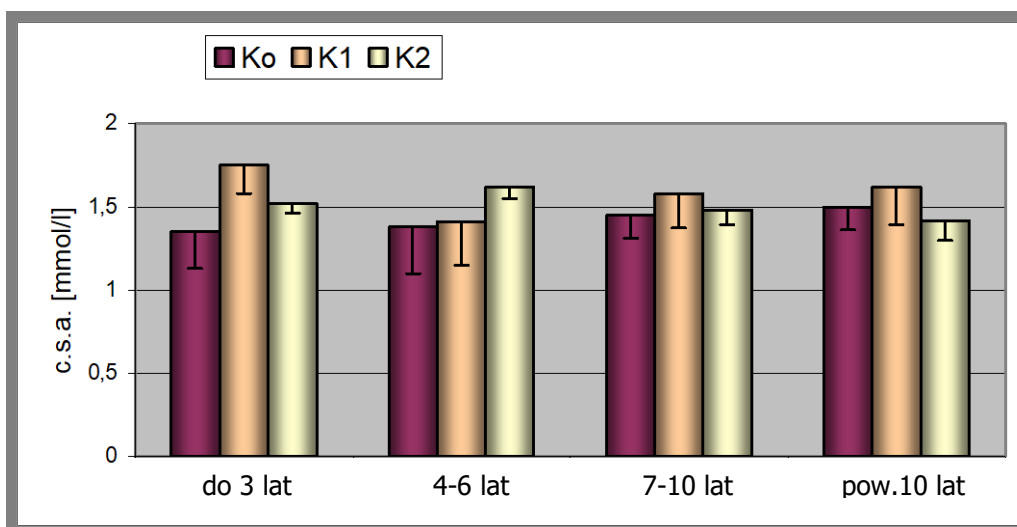
Ryc.30. Wykres zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_1$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu czasu trwania reumatoidalnego zapalenia stawów

Z tab.13 i ryc.30 wynika, że przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego w $G\mathcal{B}_1$ średnie *c.s.a.* erytrocytów nieznacznie wzrastało (bez cech istotnych statystycznie) w miarę wydłużania czasu trwania choroby. Leczenie skrajnie niskimi temperaturami wyzwoliło jednak inną tendencję. Spowodowało ono lekkie obniżenie się średnich zasobów antyoksydantów w krwinkach czerwonych w miarę wydłużania trwania *r.z.s.* Zjawisko to zaobserwowano zarówno tuż po zakończeniu krioterapii jak i w 14 dni później.

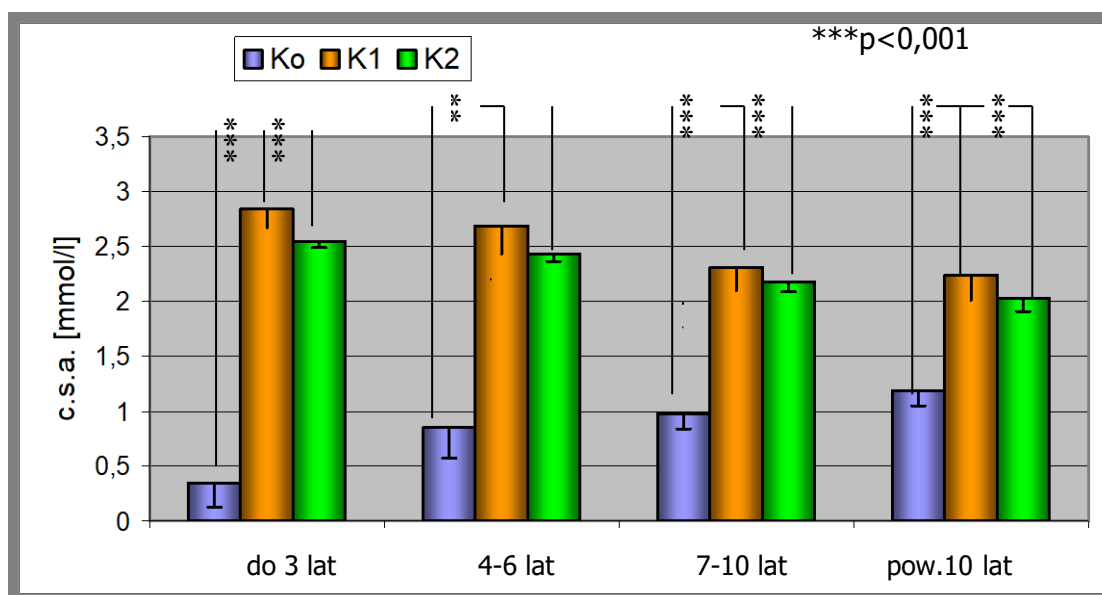


Ryc.31. Wykres zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu czasu trwania reumatoidalnego zapalenia stawów

W $G\beta_2$ zależność pomiędzy zmianami średniego *c.s.a.* erytrocytów a wydłużaniem czasu trwania *r.z.s.* przedstawiała się już zupełnie inaczej. Dane zawarte w tab.13 i ryc.31 wskazują, że przed rozpoczęciem krioterapii w tej grupie chorych średnie *c.s.a.* erytrocytów rosło znamienne statystycznie w miarę postępu trwania choroby. Przeprowadzone leczenie kriogeniczne wyzwoliło jednak już zupełnie inną tendencję, tzn. stopniowego obniżania się średnich zasobów antyoksydantów w erytrocytach w miarę wydłużania czasu trwania choroby. Podobna tendencja jest widoczna podczas kontroli K2 (ryc. 31).



Ryc.32. Histogram zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\beta_1$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu czasu trwania reumatoidalnego zapalenia stawów



Ryc.33. Histogram zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\beta_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu czasu trwania reumatoidalnego zapalenia stawów

Z tab. 13 i ryc. 32 i 33 wynika, że w obu grupach chorych bez względu na analizowany przedział czasowy tuż po zakończeniu sesji (10 zabiegów) krioterapii doszło do wzrostu średnich wartości *c.s.a.* erytrocytów, a po następnych 14 dniach – obniżenia tych wartości. Dynamika tych zmian jest jednak zasadniczo różna w tych grupach chorych.

Charakterystycznym jest fakt, że w GB_1 niezależnie od analizowanego przedziału czasu, leczenie kriogeniczne nie zmieniało jednak w sposób istotny statystycznie średniego stężenia antyoksydantów w erytrocytach (ryc. 32).

Inaczej przedstawiały się zmiany *c.s.a.* erytrocytów w GB_2 (ryc. 33). Najsilniejszy wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów pod wpływem krioterapii wystąpił u chorych, u których choroba trwała do 3 lat (przy porównywaniu wyników Ko do K1 wzrost 8,1- krotny) i u chorych, u których choroba trwała 4-6 lat (przy porównywaniu wyników Ko do K1 wzrost 3,2- krotny). Również u chorych o wywiadzie chorobowym dłuższym niż 6 lat leczenie kriogeniczne przyniosło wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów, i tak u chorych, u których choroba trwała 7-10 lat (przy porównywaniu wyników Ko do K1) wzrost ten był 2,4- krotny, a u chorych, u których choroba trwała 4-6 lat (przy porównywaniu wyników Ko do K1) już tylko 1,9- krotny.

Po 14 dniach licząc od zakończenia leczenia kriogenicznego doszło we wszystkich przedziałach czasowych do znamiennego statystycznie obniżenia średnie *c.s.a.* erytrocytów (ryc. 33).

Dane przedstawione w tab. 13 i na ryc. 33 wskazują, że najsilniejszy, znamieny statystycznie wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów nastąpił pod wpływem krioterapii u chorych, u których choroba trwała do 3 lat lat.

Analiza z wykorzystaniem liniowego modelu wielu zmiennych wskazuje, że 3 rok trwania *r.z.s.* u chorych GB_2 stanowi wartość dyskryminacyjną czasu trwania choroby (tab. 14).

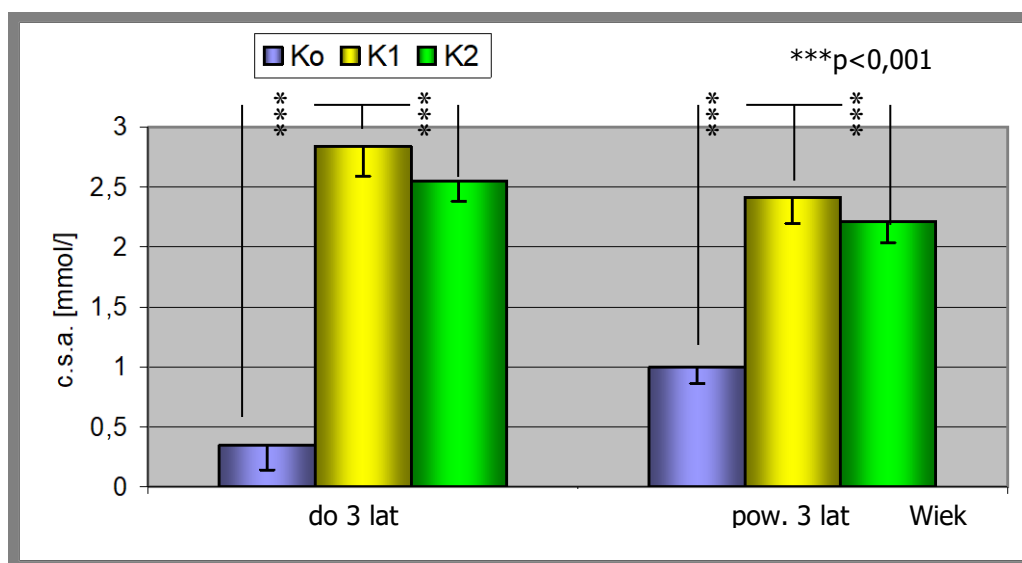
TAB. 14. *Wartość decyzyjna czasu trwania reumatoidalnego zapalenia stawów wpływająca znamienne statystycznie na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów*

Badany czynnik	Wartość decyzyjna [lata]	Średni błąd (%)
Czas trwania choroby	3	10,38

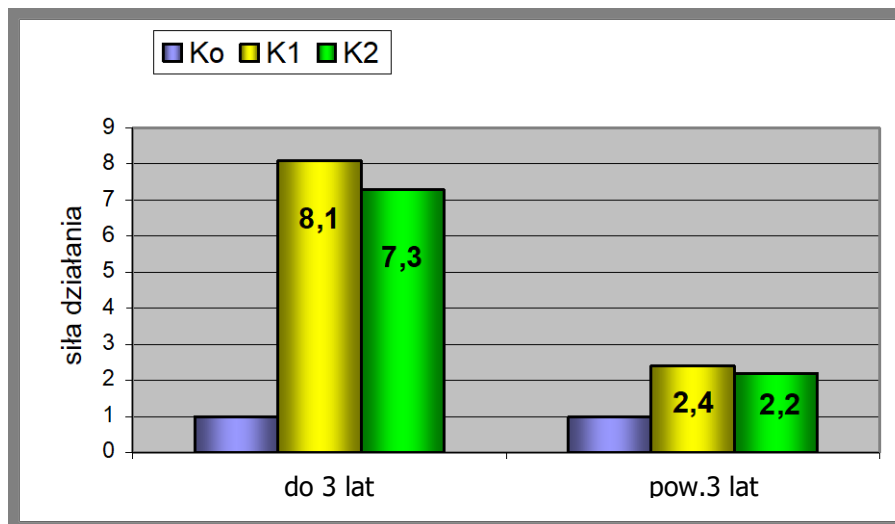
Zmiany *c.s.a.* erytrocytów w $G\beta_2$ powstałe po wpływie leczenia kriogenicznego przy uwzględnieniu wartości decyzyjnej czasu trwania *r.z.s.* przedstawiono w tab.15 na ryc. 34, 35.

TAB. 15. Zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\beta_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu wartości decyzyjnej czasu trwania choroby

Badana grupa	Czas trwania choroby [lat a]	CAŁKOWITY STAN ANTYOKSYDACYJNY (mmol/l) (średnia \pm SD)		
		Kontrole chorych		
		Przed rozpoczęciem krioterapii (K0)	Tuż po zakończeniu krioterapii (K1)	14 dni po zakończeniu krioterapii (K2)
$G\beta_2$	do 3 lat	0,35 \pm 0,12	2,84 \pm 0,18	2,55 \pm 0,14
	pow. 3 lat	1,00 \pm 0,17	2,41 \pm 0,25	2,21 \pm 0,25



Ryc. 34. Histogram zmian całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\beta_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu wartości decyzyjnej czasu trwania choroby



Ryc. 35. Porównanie siły oddziaływania leczenia kriogenicznego na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\beta_2$ przy uwzględnieniu wartości decyzyjnej czasu trwania choroby

Ryc. 35 wskazuje, że u chorych, u których choroba trwała do 3 lat, można się spodziewać szczególnie korzystnego oddziaływania krioterapii na pule antyoksydantów erytrocytów. U chorych z wywiadem chorobowym do 3 lat (przy porównywaniu wyników Ko do K1) nastąpił bowiem aż 8,1- krotny wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów, podczas gdy u chorych, u których choroba trwała pow. 3 lat (przy porównywaniu wyników Ko do K1) wzrost ten był już tylko 2,4- krotny.

Po 14 dniach licząc od zakończenia leczenia kriogenicznego doszło do obniżenia średniego *c.s.a.* erytrocytów w obu przedziałach wiekowych, zarówno w przedziale do 3 lat jak i przedziale pow. 3 lat. Najmniej jednak u chorych o krótkim wywiadzie chorobowym leczenie kriogeniczne utrwaliło wzrost średniej wartości *c.s.a.* erytrocytów na poziomie 7,3- krotnie przekraczającym wyjściowe średnie wartości, podczas gdy u chorych, u których choroba trwała dłużej niż 3 lata średni *c.s.a.* erytrocytów przekraczał wyjściowe wartości już tylko 2,2-krotnie (ryc. 35).

Wpływ czasu trwania *r.z.s.* na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych \mathcal{GB}_1 i \mathcal{GB}_2 leczonych kriogenicznie przedstawiono w tab. 16.

TAB. 16. Czas trwania choroby jako potencjalny czynnik zmian całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów w ocenie liniowego modelu wielu zmiennych

Badana grupa	Badany czynnik: czas trwania choroby	p	Wartość statystyki F F-value
\mathcal{GB}_1	<i>czas trwania choroby</i>	NS	-
\mathcal{GB}_2	<i>do 3 lat</i>	0,01	96,17
	<i>pow. 3 lat</i>	0,001	37,89

NS- nieistotne statystycznie

Wyniki przedstawione w tab.16 wskazują, że w \mathcal{GB}_1 czas trwania *r.z.s.* nie odgrywa żadnej roli w zmianach zasobów antyoksydantów erytrocytów.

Inaczej jest w \mathcal{GB}_2 . Tu czas trwania choroby pozostaje czynnikiem wpływającym istotnie statystycznie na *c.s.a.* erytrocytów. Porównanie wartości statystyki F przypisanej czasowi trwania choroby poniżej i powyżej 3 lat wskazuje, że w \mathcal{GB}_2 u chorych o wywiadzie chorobowym poniżej 3 lat, leczenie kriogenicznie oddziałuje na zmiany (wzrost) *c.s.a.* erytrocytów 2,5 razy silniej niż w grupie chorych powyżej 3 lat ($F_{\text{value do 3 lat}} / F_{\text{value pow. 3 lat}} =$

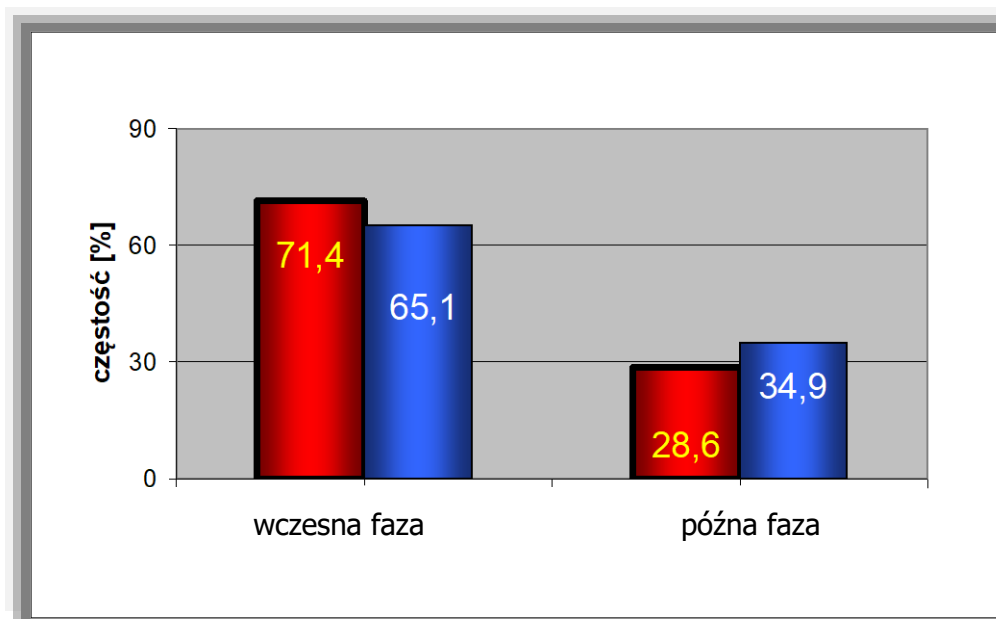
96,17/ 37,89). Oznacza to, że chorzy na *r.z.s.*, u których choroba trwa do 3 lat są 2,5 razy silniej predestynowani do zmian *c.s.a.* erytrocytów niż chorzy powyżej tej granicy czasu.

5.2.4. Zaawansowanie reumatoidalnego zapalenia stawów a zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów

Zaawansowanie *r.z.s.* wśród badanych chorych wg klasyfikacji Steibrockera przedstawiono w tab. 17 i na ryc. 36.

TAB. 17. Zaawansowanie reumatoidalnego zapalenia stawów wśród badanych grup chorych

Badana grupa	Zaawansowanie reumatoidalnego zapalenia stawów	
	Wczesna faza choroby (I i II okres)	Późna faza choroby (III i IV okres)
	Liczba (%)	Liczba (%)
\mathcal{GB}_1	15 (71,4)	6 (28,6)
\mathcal{GB}_2	71 (65,1)	38 (34,9)
\mathcal{GB}	86 (66,2)	44 (33,8)



RYC. 36. Histogram rozkładu zaawansowania reumatoidalnego zapalenia stawów w badanych grupach

Wyniki przedstawione w tab.17 wskazują, że w obu grupach chorych przeważały osoby, u których choroba znajdowała się we wczesnej fazie ($G\mathcal{B}_1$ - 71,4%; $G\mathcal{B}_2$ - 65,1%) (ryc. 36).

Zmiany *c.s.a.* erytrocytów w odniesieniu do zaawansowania choroby $G\mathcal{B}_1$ i $G\mathcal{B}_2$ poddanych leczeniu kriogenicznemu przedstawiono w tab. 18 na ryc. 37, 38, 39, 40.

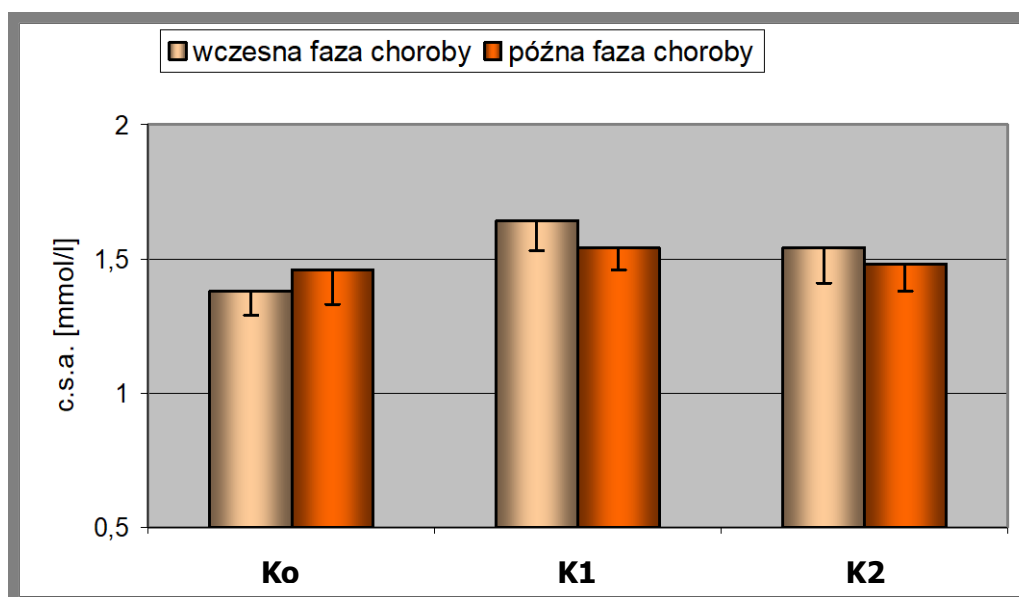
TAB. 18. Zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_1$ i $G\mathcal{B}_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu zaawansowania reumatoidalnego zapalenia stawów

Badana grupa	Zaawansowanie choroby (lata)	CAŁKOWITY STAN ANTYOKSYDACYJNY (mmol/l) (średnia \pm SD)		
		Kontrole chorych		
		Przed rozpoczęciem krioterapii (K_0)	Tuż po zakończeniu krioterapii (K_1)	14 dni po zakończeniu krioterapii (K_2)

Wyniki

$G\mathcal{B}_1$	<i>Wczesna faza choroby (I i II okres)</i>	1,38 ± 0,19	1,64 ± 0,18	1,54 ± 0,16
	<i>Późna faza choroby (III i IV okres)</i>	1,46 ± 0,21	1,54 ± 0,15	1,48 ± 0,21
$G\mathcal{B}_2$	<i>Wczesna faza choroby (I i II okres)</i>	0,39 ± 0,09 ⁵	2,98 ± 0,27 ^{5,6}	2,67 ± 0,29 ⁶
	<i>Późna faza choroby (III i IV okres)</i>	1,29 ± 0,36 ⁵	2,06 ± 0,33 ^{5,6}	1,82 ± 0,18 ⁶

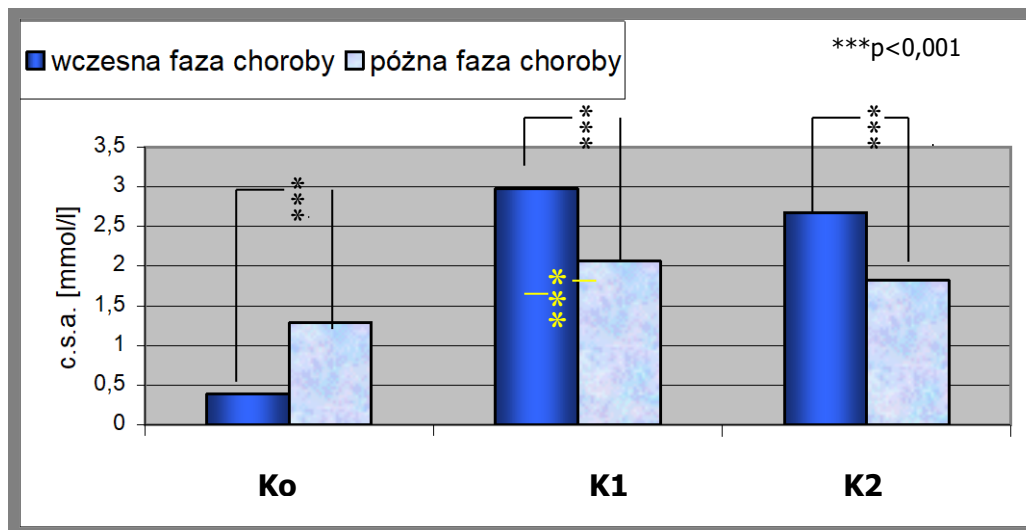
Przy porównywaniu wierszami: #⁵# do #⁶# - $p < 0,001$



RYC.37. Wykres zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\mathcal{B}_1$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu zaawansowania reumatoidalnego zapalenia stawów

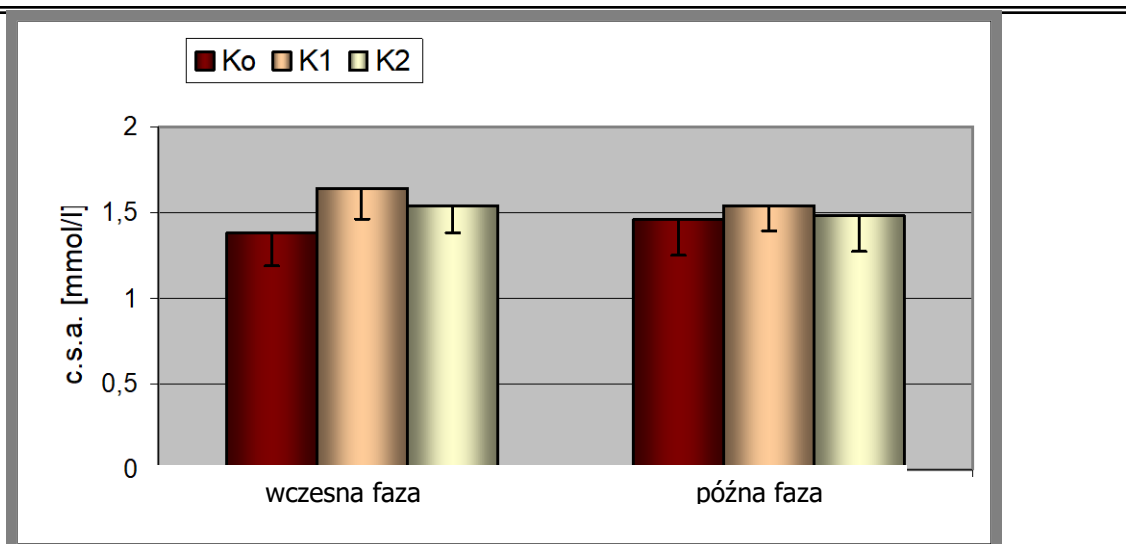
Z tab.18 i ryc.37 wynika, że przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego w $G\mathcal{B}_1$ wczesnej fazie choroby towarzyszyło średnie *c.s.a.* erytrocytów nieznacznie niższe (bez cech

istotnych statystycznie) w porównaniu do późnej fazy choroby. Leczenie skrajnie niskimi temperaturami wywołało jednak inną tendencję. Spowodowało ono lekkie obniżenie się średnich zasobów antyoksydantów w krwinkach czerwonych w miarę zaawansowania *r.z.s.* Zjawisko to zaobserwowano zarówno tuż po zakończeniu krioterapii jak i w 14 dni później.

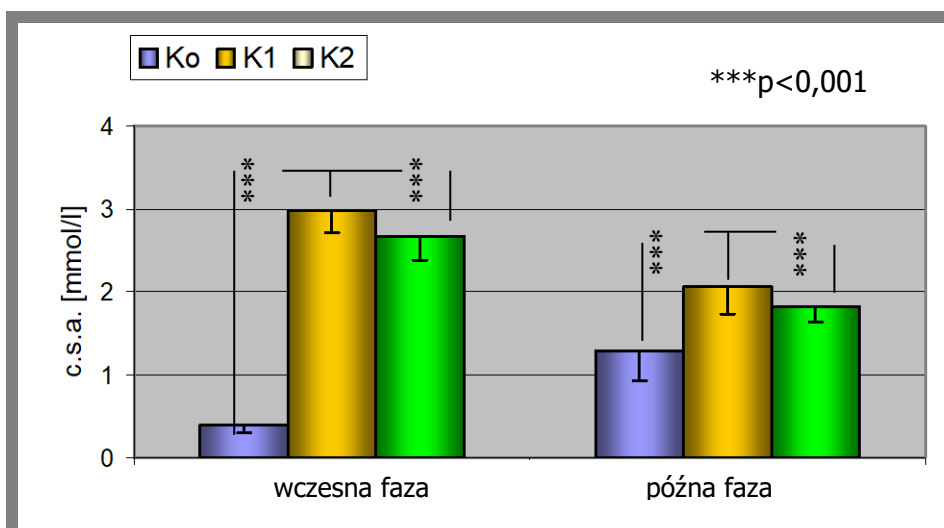


Ryc.38. Wykres zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\beta_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu zaawansowania reumatoidalnego zapalenia stawów

W $G\beta_2$ zależność pomiędzy zmianami średniego *c.s.a.* erytrocytów a wzrostem zaawansowania *r.z.s.* przedstawiała się już zupełnie inaczej. Dane zawarte w tab. 18 i ryc. 38 wskazują, że przed rozpoczęciem krioterapii w tej grupie chorych średnie *c.s.a.* erytrocytów rosło znamienne statystycznie w miarę wzrostu zaawansowania choroby. Przeprowadzone leczenie kriogeniczne wywołało jednak już zupełnie inną tendencję, tzn. znamienne statystycznie spadku średnich zasobów antyoksydantów w erytrocytach przy przejściu fazy wczesnej w fazę późną choroby. Podobna tendencja jest widoczna podczas kontroli K2 (ryc. 38).



Ryc.39. Histogram zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\beta_1$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu zaawansowania reumatoidalnego zapalenia stawów



Ryc.40. Histogram zmian średniej wartości całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych $G\beta_2$ poddanych krioterapii ogólnoustrojowej przy uwzględnieniu zaawansowania reumatoidalnego zapalenia stawów

Z tab. 18 i ryc. 39 i 40 wynika, że w obu grupach chorych, bez względu na analizowany przedział czasowy tuż po zakończeniu sesji (10 zabiegów) krioterapii, doszło do wzrostu średnich wartości *c.s.a.* erytrocytów, a po następnych 14 dniach – obniżenia tych wartości. Dynamika zmian jest jednak zasadniczo różna w tych grupach chorych.

Charakterystycznym jest fakt, że w $G\beta_1$ niezależnie od analizowanego przedziału czasu, leczenie kriogeniczne nie zmieniało jednak w sposób istotny statystycznie średniego zasobu antyoksydantów w erytrocytach (ryc. 39).

Inaczej przedstawiały się zmiany *c.s.a.* erytrocytów w \mathcal{GB}_2 (ryc. 40). Najsilniejszy wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów pod wpływem krioterapii wystąpił u chorych, u których choroba była we wczesnej fazie (przy porównywaniu wyników Ko do K1 wzrost 6,1- krotny). Również u chorych z zaawansowanym *r.z.s.* leczenie kriogeniczne przyniosło wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów, (przy porównywaniu wyników Ko do K1) ale już tylko 1,6- krotny.

Po 14 dniach licząc od zakończenia leczenia kriogenicznego doszło bez względu na zaawansowanie choroby do znamienego statystycznie obniżenia średniego *c.s.a.* erytrocytów (ryc. 40).

Wpływ zaawansowania *r.z.s.* na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych \mathcal{GB}_1 i \mathcal{GB}_2 leczonych kriogenicznie przedstawiono w tab.19.

TAB. 19. Zaawansowanie choroby jako potencjalny czynnik zmian całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów w ocenie liniowego modelu wielu zmiennych

Badana grupa	Badany czynnik: zaawansowanie choroby	p	Wartość statystyki F F-value
\mathcal{GB}_1	wczesna faza choroby vs. późna faza choroby	NS	-
\mathcal{GB}_2	wczesna faza choroby vs. późna faza choroby	0,001	87,13

NS- nieistotne statystycznie

Wyniki przedstawione w tab.19 wskazują, że w \mathcal{GB}_1 zaawansowanie *r.z.s.* nie odgrywa żadnej roli w zmianach zasobów antyoksydantów erytrocytów.

Inaczej jest w \mathcal{GB}_2 . Tu zaawansowanie choroby pozostaje czynnikiem wpływającym istotnie statystycznie na *c.s.a.* erytrocytów. Oznacza to, że chorzy na *r.z.s.*, u których choroba znajduje się w I lub II okresie, są silniej predestynowani do zmian *c.s.a.* erytrocytów niż chorzy o większym zaawansowaniu *r.z.s.*

5.3. Znaczenie krioterapii ogólnoustrojowej na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów w ocenie liniowego modelu wielu zmiennych

Wśród ogółu analizowanych chorych, stwierdzono, że istnieje 16,2% chorych,

u których leczenie kriogeniczne nie wywołuje żadnych istotnych statystycznie zmian *c.s.a.* erytrocytów. U pozostałych 83,8% badanych oddziaływanie skrajnie niskimi temperaturami wyzwalalo zmiany *c.s.a.* erytrocytów. Ale i ta grupa chorych okazała się być zróżnicowana pod względem skuteczności zmian *c.s.a.* erytrocytów zachodzących pod wpływem krioterapii ogólnoustrojowej. Analiza z wykorzystaniem modelu wielu zmiennych wykazała, że najbardziej wrażliwą grupę chorych na oddziaływanie krioterapii, a więc grupę chorych, u których ta forma leczenia wywołuje największe zmiany *c.s.a.* erytrocytów stanowią:

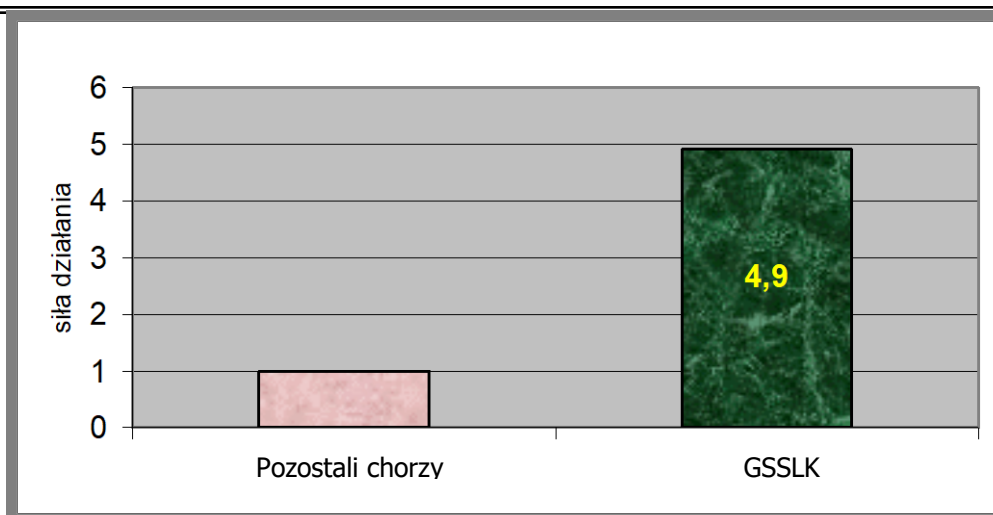
[**kobiety w wieku do 49 r.ż., u których choroba trwa nie dłużej niż 3 lata i znajduje się w I lub II okresie (fazie)**].

Grupę tę nazwano grupą szczególnej skuteczności leczenia krioterapią (*GSSLK*)

Porównanie skuteczności działania krioterapii na *c.s.a.* erytrocytów w tej grupie chorych w porównaniu do pozostałych chorych przedstawiono w tab. 20 i ryc. 41.

TAB.20. *Wpływ krioterapii ogólnoustrojowej na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów w ocenie liniowego modelu wielu zmiennych*

Badana grupa	Badany czynnik	p	Wartość statystyki F (F-value)
Kobiety w wieku do 49 r.ż., u których choroba trwa nie dłużej niż 3 lata i znajduje się w I lub II okresie (fazie)	Krioterapia ogólnoustrojowa	0,001	48,67
Pozostali chorzy na <i>r.z.s.</i> nie spełniający powyższych warunków a przynależący do GB2		0,5	9,84



RYC.41. Porównanie siły oddziaływania leczenia kriogenicznego na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów w ocenie liniowego modelu wielu zmiennych

Porównanie wartości statystyki F przypisanej obu grupom chorych wskazuje, że w *GSSLK* leczenie kriogenicznie oddziałuje na zmiany (wzrost) *c.s.a.* erytrocytów 4,9 razy silniej niż u pozostałych chorych ($F_{\text{value GSSLK}} / F_{\text{value pozostali chorzy}} = 48,67 / 9,84$).

6. Dyskusja

6.1. Kształtowanie się całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów przed- i po krioterapii ogólnoustrojowej

W przebiegu *r.z.s.* płyn wysiękowy gromadzący się w stawach jest bogaty w fagocyty. Uwalniają one $O_2^{\bullet*}$, który z kolei jest źródłem innych *RFI*. Buettner i Chamulitrat (1990) wskazują, że płyn pobrany z chorobowo zmienionego stawu ma zwiększone stężenia produktów peroksydacji lipidów i zmniejszoną zawartość askorbinianów oraz lepkość, gdyż wchodzący w jego skład kwas hialuronowy ma zmniejszoną masę cząsteczkową. Ich zdaniem te nowe cechy fizyko-chemiczne płynu stawowego mogą przemawiać za udziałem *RFI* w patogenezie *r.z.s.* Zauważono bowiem, że można je łatwo wywołać doświadczalnie, oddziałując na pierwotnie prawidłową maź stawową mieszaniną *RFI* [Racek i wsp.(2001)].

Kolejnym z dowodów zachodzącego u chorych na *r.z.s.* „wybuchu tlenowego” są obserwacje wskazujące na zmniejszenie się u tych chorych w mazi śródstawowej stężenia askorbinianów. Większość askorbinianów przekształca się bowiem w dehydroaskorbiniany (podczas gdy u ludzi zdrowych ok. 80% askorbinianów występuje w formie zredukowanej) oraz rodniki askorbylowe.

O roli „wybuchu tlenowego” w rozwoju patologii układu kostno-stawowego u chorych na *r.z.s.* przekonują również badania własne, aczkolwiek duża rozpiętość wyników *c.s.a.* erytrocytów może sugerować różne natężenie reakcji wolnorodnikotwórczych. W badanym przeze mnie materiale chorych *c.s.a.* erytrocytów przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego wahał się w dużym przedziale; od wartości wyraźnie niższych od wartości referencyjnych, do wyników zawierających się w przedziale referencyjnym. Ta rozpiętość danych pozwoliła na wyselekcjonowanie dwóch grup chorych. Jedną stanowili chorzy, u których *c.s.a.* przyjmował zakres referencyjny (\mathcal{GB}_1), drugą chorzy, u których komórkowy *c.s.a.* był niższy od dolnej granicy referencyjnej (\mathcal{GB}_2).

GB_1 obejmowała 16,2% ogółu chorych, podczas gdy zdecydowaną większość, bo aż 84,8% stanowili chorzy, u których „wybuch tlenowy” odgrywał prawdopodobnie istotną rolę w patogenezie zmian chorobowych, o czym przekonują niskie wartości (poniżej referencyjnych) zasobów antyoksydantów wewnątrzkomórkowych.

Na możliwość udziału RFT w patogenezie zmian uszkodzeniowych powstałych w przebiegu *r.z.s.* zwracają również uwagę inni autorzy m.in. Fox (2000), Halliwell (1991), Karp (2001), Zink i wsp. (2001), De Leo i wsp. (2002), Giacosa i Filiberti (1996), Johnson (2000), Kajanachumpol (2000), Nagler i wsp. (2003)]. Cimen i wsp. (2000) są zdania, że w *r.z.s.* dochodzi głównie do wzmożenia aktywności oksydazy ksantynowej, enzymu wytwarzającego anionorodnik nadadtlenkowy. Z kolei Bazzichi i wsp. (2002) wskazują na wysokie stężenia nadtlenu wodoru towarzyszące rozwojowi *r.z.s.*, czego wyrazem była zarejestrowana przez nich wysoka aktywność reduktazy glutationowej, jednego z kluczowych enzymów związanych z metabolizmem glutationu. Zdaniem tych autorów wzrost aktywności reduktazy glutationowej jest proporcjonalny do aktywności takich enzymów proteolitycznych jak: elastaza i kolagenoza. Hansonn (1999) na podstawie badań własnych oceniających stężenie produktów peroksydacji lipidów (stężenie nadtlenu lipidów) wyraża opinię, że udział RFT w rozwoju zmian chorobowych może być zróżnicowany, co w pełni potwierdziły badania własne. Autor ten jest zdania, że u części chorych RFT mogą nie odgrywać istotnej roli w narastaniu patologii śródstawowej i narządowej w przebiegu *r.z.s.* W tych przypadkach, jego zdaniem, uszkodzenia są głównie następstwem działania enzymów proteolitycznych.

Campo i wsp. (2003) podkreślają, że szkodliwe działanie RFT na struktury śródstawowe w dużej mierze wynika ze stopniowego słabnięcia systemu przeciwoksydacyjnego. Autorzy ci odnotowali u chorych na *r.z.s.* niskie stężenia witaminy E w chrząstce zmienionych chorobowo stawów. Podobnego zdania są Mazzetti i wsp. (2001), którzy uważają, że uszkodzenie chondrocytów pod wpływem RFT następuje dopiero w momencie zaburzenia śródkomórkowej równowagi oksydanty/antyoksydanty.

W badaniach własnych leczenie kriogeniczne u zdecydowanej większości chorych wywołało wzrost *c.s.a.* erytrocytów. Dynamika tego zjawiska była szczególnie

charakterystyczna wśród chorych GB_2 . O ile bowiem przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego u wszystkich chorych tej grupy *c.s.a.* pozostawał poniżej dolnej granicy referencyjnej (było to bowiem kryterium wyselekcjonowujące tę grupę), o tyle po zakończeniu sesji krioterapii, aż u 91,8% stan antyoksydacyjny wyraźnie przekroczył zakres górnej granicy normy. Dodatkowo tak korzystnie odbudowujące zasoby antyutleniaczy wewnątrzkomórkowych działanie krioterapii utrzymywało się czasie. Dowodem są odnotowane przeze mnie po 14 dniach od zakończenia leczenia podwyższone wartości *c.s.a.* obecne u 86,2% chorych.

Interpretacja wyników *c.s.a.* erytrocytów pozwala przypuszczać, że ekspozycja na skrajnie niskie temperatury hamuje produkcję RFT , czego wyrazem był obserwowany bezpośrednio po zakończeniu krioterapii (kontrola K1) istotny statystycznie wzrost średnich zasobów antyoksydantów wewnątrzkomórkowych, utrzymujący się w czasie. Charakterystyczne bowiem jest, że średni *c.s.a.* nie uległ istotnym statystycznie zmianom nawet po 14 dniach od zakończenia leczenia (kontrola K2). Tak korzystne działanie krioterapii zaobserwowano jednak tylko w odniesieniu do GB_2 . W przeciwieństwie do tej grupy chorych, w GB_1 zabiegi krioterapeutyczne nie wywołały już znaczących zmian w stężeniu antyoksydantów wewnątrzkomórkowych.

O możliwości oddziaływania krioterapii ogólnoustrojowej na zmiany zapalne układu kostno-stawowego donoszą również inni autorzy. I tak dla przykładu Sieroń i wsp. (2003) podkreślają znamienne statystycznie obniżenie pod wpływem niskich temperatur stężenia białka C-reaktywnego i seromukoidu oraz istotny statystycznie wzrost immunoglobulin (beta-1-globulin) u chorych z zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa. Zdaniem w/w autorów spadek stężenia białek ostrej fazy i wzrost immunoglobulin w surowicy krwi może stanowić pośredni dowód silnego działania przeciwzapalnego krioterapii ogólnoustrojowej. Z kolei Wawrowska (1992) po cyklu dwutygodniowej krioterapii ogólnoustrojowej u chorych na *r.z.s.* stwierdziła istotne statystycznie obniżenie stężenia seromukoidu. Te opinie nie są jednak powszechne. Na przykład Jonderko i wsp. (1988) nie zauważyli, aby miejscowa krioterapia u chorych na *r.z.s.* wywierała istotne działanie przeciwzapalne. W ich badaniach nie występowały znamienne statystycznie różnice w stężeniu seromukoidu i alfa-2-globuliny przed- i po zakończeniu krioterapii. Również Sobiech i Słowińska (1990) nie odnotowali znamienych zmian stężenia białka C-reaktywnego, seromukoidu i stężenia białka całkowitego pod wpływem krioterapii.

Te rozbieżności wyników mogą być spowodowane różnicami w doborze badanych grup chorych, a także wynikać z rodzaju stosowanej krioterapii. Należy również pamiętać, że cytowane powyżej wyniki badań dotyczące stężenia białka całkowitego, frakcji białkowych, a także poszczególnych białek surowicy, mogą być modyfikowane nie tylko przez przewlekłe choroby zapalne, ale także choroby wątroby, choroby infekcyjne, niedobory białkowe, zaburzenia wchłaniania. Stąd też wielu autorów jest zdania, że wszystkie powyżej podane oznaczenia stanowią jedynie pośredni dowód toczącego się procesu zapalnego, nie pozwalają na właściwą ocenę dynamiki stanu zapalnego i udziału w tych procesach *RFT* [Angielski i wsp. (1996), Dembińska-Kieć i Naskalski (1998), Tomaszewski (1993)]. Istnieje jednak wiele metod oceniających w sposób bezpośredni lub pośredni stężenie *RFT*. Należą do nich m.in.: spektrometria elektronowa rezonansu magnetycznego, pułapkowanie spinowe, chemiluminescencja, detekcja anionorodnika ponadtlenkowego, rodnika hydroksylowego oraz badanie peroksydacji lipidów (reakcja z kwasem tiobarbiturowym), pomiar stężenia nadtlenu lipidów, pomiar stężenia sprzężonych dienów, pomiar uwalniania alkanów, badanie produktów utlenienia białek. Ich zastosowanie ograniczają jednak m.in. stosunkowo mała czułość spowodowaną dużą zawartością wody w próbkach biologicznych, bardzo szybki rozpad adduktów, słaba chemiluminescencją układów biologicznych, trudna i żmudna metodyka [Bartosz (2003), Tchórzowski (1998), Yagi (1994)].

Na tle w/w metod przydatność oznaczania *c.s.a.* dotyczy głównie możliwości określenia wpływu różnych czynników na zdolności antyoksydacyjne organizmu. Pomiar *c.s.a.* będącego wynikiem wielu różnych związków, dostarcza użytecznych informacji i lepiej ilustruje równowagę pomiędzy czynnikami utleniającymi i antyoksydantami, aniżeli oznaczanie stężeń poszczególnych antyoksydantów. Tłumaczy się to przede wszystkim interakcjami pomiędzy poszczególnymi składnikami zintegrowanego systemu obrony antyoksydacyjnej. Należy również podkreślić możliwość istnienia związków o właściwościach antyoksydacyjnych, których dotychczas nie opisywano lub których ilościowe oznaczenie nie jest możliwe, co także uzasadnia wyższość *c.s.a.* nad określaniem stężenia wybranych antyoksydantów [Bartosz (2003), Yagi (1994)]. Zdaniem Pawłoskiej-Góral i wsp. (2003) oznaczanie *c.s.a.* może być bardzo pomocne w wyborze właściwej metody leczenia i oceny skuteczności stosowanej terapii, co właśnie jest przedmiotem badań własnych.

Powyższe opinie skłoniły autora do wykorzystania oznaczania *c.s.a.* erytrocytów w badaniach własnych.

Uzyskane przeze mnie wyniki badań przekonują jednoznacznie, że u zdecydowanej większości chorych na *r.z.s.* krioterapia ogólnoustrojowa wyzwała korzystną tendencję odbudowy zasobów wewnątrzkomórkowych antyoksydantów, co można wiązać z prawdopodobnym supresyjnym działaniem ekstremalnie niskich temperatur na produkcję *RFT*. Podobny pogląd na podstawie swoich badań wyrażają Richards i wsp. (2000).

6.2. Ocena znaczenia wybranych cech klinicznych występowania reumatoidalnego zapalenia stawów w kształtowaniu zmian całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów

Współczesnym założeniem koncepcji naturalnej historii każdej choroby jest twierdzenie, że jej przebieg zmienia się w miarę upływu czasu, a zmiany patologiczne pojawiają się i utrwalają stopniowo, aż w końcu stają się nieodwracalne [Jędrychowski (1999)]. W podobny sposób rozwija się *r.z.s.* Na rozwój zmian patologicznych ma wpływ zapewne wiele czynników. W badaniach własnych skoncentrowano się na wybranych cechach klinicznych takich jak płeć, wiek chorych, czas trwania choroby od momentu rozpoznania, okresy zaawansowania choroby wg. kryteriów Steinbrockera, oceniając ich znaczenie w kształtowaniu zasobów antyoksydantów wewnątrzkomórkowych u chorych na *r.z.s.* Przeprowadzone badania pozwoliły na sprecyzowanie roli każdego z tych czynników.

Płeć

Przeprowadzone badania własne wskazują, że w obu badanych grupach chorych (\mathcal{GB}_1 vs. \mathcal{GB}_2) znaczenie płci w kształtowaniu zmian stężenia śródkomórkowych antyoksydantów było zróżnicowane. Wyraźna przewaga kobiet (78%) wśród chorych \mathcal{GB}_2 była w zasadzie oczekiwana, bowiem jest zgodna z ogólną tendencją do rozkłady zachorowań na *r.z.s.* [Gabriel (2001), Hendrickson (2001), Kvien (2002), van Der Linden (2001), van Gestel i wsp. (2001), Sangha (2000), Silman

i Pearson (2002), Symmons i wsp. (2002), Van Der Linden (2001), Zink i wsp. (2001), Wawrzycka-Pągowska i Brühl (1990), Pietschmann (2001)].

Musi jednak zaskakiwać lekka przewaga (52,4%) mężczyzn wśród chorych GB_1 . Takie proporcje płci w tej grupie chorych czynią ją podobną do materiału klinicznego charakteryzowanego przez Alvarez i wsp. (2001).

Dysproporcje w rozkładzie płci pomiędzy GB_1 i GB_2 miały przełożenie na zmiany *c.s.a.* Wyniki badań własnych wskazują, że przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego w GB_1 średnie *c.s.a.* erytrocytów u kobiet i mężczyzn było porównywalne. Leczenie skrajnie niskimi temperaturami nie zmieniło tej równowagi.

Jeśli by przyjąć, że skutkami zachodzących w organizmie reakcji *RFT* mogą być zmiany stężenia zarówno antyutleniaczy jak i produktów peroksydacji lipidów, to wówczas możliwym staje się porównanie wyników moich badań z obserwacjami na przykład Yagi (1987, 1994). Zmiany śródkomórkowych zasobów antyutleniaczy zarejestrowane w GB_1 przed leczenie kriogenicznym są podobne do wyników tego autora. Yaga nie dostrzegł istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniami produktów peroksydacji lipidów, ale u zdrowych kobiet i mężczyzn. Być może to podobieństwo skutków działania *RFT* upodobnia obie te grupy (GB_1 v.s. ludzie zdrowi) pod względem dynamiki procesów wolnorodnikotwórczych i wskazuje na brak znaczenia płci w ich przebiegu u części chorych na *r.z.s.*

Tezę tę potwierdziła przeprowadzona analiza z wykorzystaniem liniowego modelu wielu zmiennych, która wykazała, że w GB_1 płeć nie odgrywa istotnej statystycznie roli w kształtowaniu śródkomórkowych zasobów antyoksydantów.

W GB_2 zależność pomiędzy zmianami średniego *c.s.a.* erytrocytów a płcią chorych na *r.z.s.* przedstawiała się już zupełnie inaczej. W grupie tej przed rozpoczęciem krioterapii średnie *c.s.a.* erytrocytów było znamienne statystycznie niższe u kobiet w porównaniu do mężczyzn. Leczenie kriogeniczne doprowadziło u obu płci do wzrostu śródkomórkowych zasobów antyutleniaczy, jednak zdecydowanie większego u kobiet, czego wyrazem była znamienne statystyczna przewaga średniego *c.s.a.* w erytrocytach u kobiet w porównaniu do mężczyzn. Podobna tendencja jest widoczna podczas kontroli K2.

Analiza statystyczna wskazuje, że w \mathcal{GB}_2 płeć odgrywa już istotną statystycznie rolę w kształtowaniu zmian zasobów antyoksydantów erytrocytów. W tej grupie, kobiety są 28,2 razy silniej predestynowane do zmian *c.s.a.* erytrocytów niż mężczyźni.

Brak podobnego typu analiz w piśmiennictwie nie pozwala mi na odniesie uzyskanych wyników do obserwacji innych autorów.

Wiek

Badania własne wskazują, że w \mathcal{GB}_1 liczba chorych obniża się wraz z postępem wieku. Taka sama prawidłowość jest obserwowana w \mathcal{GB}_2 , ale dopiero po 40 r.ż. W \mathcal{GB}_1 największa liczba chorych przypadała na wiek pomiędzy 30 a 39 r.ż., natomiast w \mathcal{GB}_2 pomiędzy 40 a 49 r.ż. Porównanie wyników badań własnych z obserwacjami innych autorów wskazuje, że jedynie w \mathcal{GB}_2 rozkład wieku jest podobny do danych literaturowych [Gordon i wsp. (2001), Pincus i wsp. (2001)] .

Przeprowadzone badania własne wykazały zróżnicowane znaczenie wieku w kształtowaniu śródkomórkowych zasobów antyoksydantów u chorych na *r.z.s.*

I tak w \mathcal{GB}_1 przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego średnie *c.s.a.* erytrocytów nie różniło się istotnie statystycznie w poszczególnych analizowanych dekadach wieku. Leczenie skrajnie niskimi temperaturami wyzwoliło tylko nieznaczną tendencję do obniżania się średnich zasobów antyoksydantów w krwinkach czerwonych w miarę postępu wieku chorych.

Podobne do moich spostrzeżenia ma również Yaga (1987, 1994). Nie dostrzegł on istotnych statystycznie zależności pomiędzy wzrostem stężenia produktów peroksydacji lipidów a wzrostem wieku, ale u ludzi zdrowych. To podobieństwo dynamiki zmian *c.s.a.* erytrocytów i produktów peroksydacji lipidów w porównywanych grupach chorych (\mathcal{GB}_1 v.s. ludzie zdrowi) może wskazywać na małą dynamikę reakcji wolnorodnikotwórczych u części chorych na *r.z.s.*. Tezę tą wspierają badania Simonini i wsp. (2001), którzy odnotowali niskie stężenia produktów peroksydacji lipidów (MDA i DC) w młodzieńczej postaci *r.z.s.*

Z przeprowadzonych badań własnych wynika, że u części chorych na *r.z.s.* (\mathcal{GB}_1) wiek nie odgrywa istotnej statystycznie roli w kształtowaniu śródkomórkowych zasobów antyutleniaczy.

U przeważającej liczby chorych (GB_2) utrzymywała się jednak zależność pomiędzy zmianami średniego *c.s.a.* erytrocytów a postępem wieku chorych. W tej grupie przed rozpoczęciem krioterapii średnie *c.s.a.* erytrocytów rosło znamienne statystycznie w miarę postępu wieku badanych.

Te obserwacje mają potwierdzenie n.p. w badaniach Hansonna (1999). Z pomiarów stężenia nadtlenków lipidów z wykorzystaniem oranżu kselenolowego dokonanych przez tego autora wynika, że u chorych na *r.z.s.* wraz z wiekiem zmniejsza się peroksydacja lipidów. Jest to pośredni dowód na słabnięcie reakcji wolnorodnikotwórczych postępujące wraz ze starzeniem się chorych. Być może jest to zjawisko powszechniej obserwowane w przewlekłych procesach zapalnych, zwłaszcza trwających latami. Niektórzy autorzy, jak na przykład Hyde (1997) wiążą je ze stopniowym osłabieniem sił obronnych organizmu postępującym wraz z wiekiem. Dowodem na to może być, występujące w starszym wieku osłabienie aktywności eozynofili i makrofagów na chemotaksynę fMet-Leu-Phe wytwarzaną przez bakterie. Słabną również mechanizmy endocytozy, prawdopodobnie na skutek zmniejszenia się aktywności układu cytoplazmatycznego białek kurczliwych. Zdaniem Hyde, osłabienie u niektórych osób w podeszłym wieku fizjologicznych mechanizmów odporności nieswoistej może sprzyjać zmniejszeniu odczynów zapalnych będących reakcją obronną organizmu. Osłabienie reakcji zapalnych daje nie tylko zmniejszenie uwalniania przez fagocyty *RFT*, ale także zmniejszenie wytwarzania czynników hemotaktycznych przywabiających nowe leukocyty, osłabienie nieenzymatycznej aktywacji piątego składnika dopełniacza, osłabienie agregacji płytek. Te ogniwa dodatniego sprzężenia zwrotnego w zapaleniu realizowane są w dużej mierze przy współudziale *RFT*. W podobny sposób do przedstawionego powyżej widzą zależność pomiędzy wielkością nacieków zapalnych w *r.z.s.* a stopniem wytwarzania *RFT* Uesugi i wsp. (2000).

Badania własne wykazały, że leczenie kriogeniczne w GB_2 spowodowało stopniowe obniżanie się średnich zasobów antyoksydantów w erytrocytach w miarę postępu wieku, począwszy od 40 r.ż. Podobna tendencja, z tym że rozciągnięta już na wszystkie przedziały wiekowe, została przez to leczenie utrwalona w czasie, co uwidoczniła kontrola K2.

Przy analizie zmian *c.s.a.* w GB_2 za charakterystyczne można uznać działanie krioterapii szczególnie mocno odbudowujący zasoby antyutleniaczy u chorych w

wieku pomiędzy 30-39 r.ż. (wzrost 5,8- krotny) i u chorych w wieku pomiędzy 40-49 (wzrost 5,3- krotny), natomiast leczenie kriogeniczne stosunkowo słabo wpływa na zmiany *c.s.a.* u chorych będących w wieku pomiędzy 60-69 (wzrost już tylko 1,4- krotny).

Z przeprowadzonej analizy statystycznej wynika, że u chorych w wieku poniżej 49 lat spodziewać się można szczególnie korzystnego działania krioterapii na pulę śródkomórkowych antyoksydantów. Wykazałem bowiem, że u chorych w wieku pomiędzy 30-49 r.ż. nastąpił aż 6,9- krotny wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów, podczas gdy u chorych w wieku powyżej 49 lat wzrost ten był już tylko 1,9 krotny.

Zapewne ta dysproporcja w stężeniu antyutleniaczy wynika z faktu, że 49 r.ż. jest wartością dyskryminacyjną wieku poniżej której, leczenie kriogeniczne oddziałuje na wzrost *c.s.a.* erytrocytów zdecydowanie silnie niż w grupie chorych powyżej tej granicy wieku.

Czas trwania dolegliwości chorobowych

Powszechnym jest twierdzenie, że *r.z.s.* może mieć swój początek w każdym wieku, a czas trwania dolegliwości chorobowych może rozciągać się na lata [Symmons (2002), Van Der Linden (2001), Wong i wsp. (2001)].

Z moich ustaleń wynika jednak, że w \mathcal{GB}_2 wraz z wydłużaniem czasu trwania choroby obniżała się liczba chorych. Taka sama prawidłowość była obserwowana w \mathcal{GB}_1 , ale tylko w przedziale do 6 lat. Powyżej tej granicy długości wywiadu liczba badanych w tej grupie była taka sama. W obu grupach największą liczbę stanowili chorzy o krótkim wywiadzie chorobowym (do 3 lat).

Przytoczone wyniki badań własnych częściowo odbiegają od obserwacji m.in. Janssen i wsp. (2002), Symmonsa (2002) , Van Der Linden (2001). Zdaniem tych autorów współcześnie wzrasta bowiem liczba chorych, u których dolegliwości chorobowe trwają nawet dziesiątkami lat. Rozbieżności istniejące pomiędzy moim materiałem chorych a danymi z piśmiennictwa nie należy jednak przeceniać, bowiem w opinii van Gestela i wsp.(2001), Skoumala i Wottawa (2002) czas trwania dolegliwości zgłaszanych przez chorych na *r.z.s.* jest sprawą charakterystyczną dla danego materiału klinicznego i wynika ze specyfiki badanej grupy chorych. Grove (2002) uzupełnia tą tezę twierdząc, że ustalenie dokładnego czasu trwania dolegliwości w

r.z.s. jest niekiedy trudne zważywszy, że u około 70% pacjentów początek choroby jest powolny lub podstępny z objawami wolno narastającymi.

Czas trwania choroby w obu badanych przez mnie grupach chorych (\mathcal{GB}_1 vs. \mathcal{GB}_2) charakterystycznie różnicował tendencję zmian śródkomórkowych zasobów antyoksydantów.

W \mathcal{GB}_1 średnie *c.s.a.* erytrocytów było porównywalne bez względu na długość wywiadu chorobowego.

W \mathcal{GB}_2 związek pomiędzy zmianami średniego *c.s.a.* erytrocytów a czasem trwania *r.z.s.* przedstawiał się już zupełnie inaczej. Otóż u chorych tej grupy przed rozpoczęciem krioterapii średnie *c.s.a.* erytrocytów rosło znamienne statystycznie w miarę wydłużania czasu trwania choroby, co wskazuje na stopniowe słabnięcie wytwarzania *RFT*.

Na duże nasilenie reakcji wolnorodnikotwórczych zwłaszcza w początkowej fazie *r.z.s.* zwraca uwagę Hanssona (1999). Według tego autora stężenia nadtlenu lipidów są najwyższe u chorych o krótkim wywiadzie chorobowym, aczkolwiek autor ten nie precyzuje dokładnie, o jaki przedział czasowy chodzi. Tych spostrzeżeń nie potwierdza Hadjigogos (2003), którego zdaniem *RFT* odgrywają głównie rolę w przewlekłych procesach zapalnych, co powinno być, jego zdaniem uwzględnione w doborze terapii *r.z.s.*

Leczenie kriogeniczne u badanych przez mnie chorych wyzwoliło tendencję obniżania się średnich zasobów antyutleniaczy w erytrocytach w miarę trwania choroby. Z ustaleń własnych wynika, że najsilniejszy wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów pod wpływem krioterapii wystąpił u chorych, u których choroba trwała do 3 lat (wzrost 8,1- krotny) i u chorych, u których choroba trwała 4-6 lat (wzrost 3,2- krotny). Przy dłużej niż 6 lat trwającym wywiadzie chorobowym leczenie kriogeniczne już zdecydowanie mniej skutecznie odbudowywało zasoby antyoksydantów wewnątrzkomórkowych.

Uzyskane wyniki badań własnych podkreślają, że szczególnie korzystnie krioterapia odbudowuje zasoby antoksydantów u chorych o krótkim wywiadzie chorobowym (do 3 lat).

Zaawansowanie choroby

Wyniki badań własnych wskazują, że w obu grupach chorych przeważały osoby, u których choroba znajdowała się we wczesnej fazie (\mathcal{GB}_1 - 71,4%; \mathcal{GB}_2 - 65,1%). Częstość występowania poszczególnych okresów chorobowych (zaawansowania) *r.z.s.* jest oceniana w piśmiennictwie różnie, przy czym niektórzy autorzy [Symmons (2002), Symmons i wsp. (2003)] podają zbliżone do moich dane.

Z ustaleń własnych wynika, że w \mathcal{GB}_1 zaawansowanie choroby pozostawało bez istotnego statystycznie wpływu na średnie *c.s.a.* erytrocytów. Leczenie kriogeniczne nie zmieniło tej sytuacji.

Natomiast w \mathcal{GB}_2 średnie *c.s.a.* erytrocytów rosło znamienne statystycznie w miarę wzrostu zaawansowania choroby. Wyniki te są zbieżne z obserwacjami Hansonna (1999). Dostrzega on dużą rolę *RFT* w postępującej destrukcji kostno-stawowej zwłaszcza w początkowej fazie *r.z.s.* W badaniach tego autora miarą generowania *RFT* było stężenie nadtlenków lipidów. Hansonn zauważa, że stężenie produktów peroksydacji lipidów jest największe u chorych ze stosunkowo małymi zmianami chorobowymi. Dalsza progresja patologii, na co zwraca uwagę m.in. Darlington i Stone (2001), Flugge i wsp. (1999), Nitzan (2001), może być związana z inaktywowaniem przez *RFT* inhibitorów proteaz, co sprzyja uruchomieniu kaskady proteolitycznej.

Ekspozycja chorych na działanie skrajnie niskich temperatur może jednak wyzwać znamienne statystycznie spadek średnich zasobów śródkomórkowych antyoksydantów przy przejściu fazy wczesnej w fazę późną choroby, co sugeruje korzystne ograniczenie wytwarzania *RFT* pod wpływem krioterapii już w początkowym stadium choroby.

Tezę tę potwierdzają wyniki badań własnych wskazujące, że najsilniejszy wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów pod wpływem krioterapii wystąpił u chorych, u których choroba była we wczesnej fazie (wzrost 6,1- krotny), podczas gdy u chorych z zaawansowanym *r.z.s.* leczenie kriogeniczne wyzwoliło już tylko 1,6-krotny wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów.

Niestety przedstawianego tu zagadnienia nie poruszano do tej pory ani w piśmiennictwie polskim, ani zagranicznym, co jest przeszkodą w odniesieniu części prezentowanych wyników do obserwacji innych autorów.

Z doświadczenia klinicznego wynika, że nie wszyscy chorzy na *r.z.s.* po zakończonej krioterapii ogólnoustrojowej potwierdzają korzystne skutki tej formy leczenia. Część chorych nie zauważa wręcz żadnego złagodzenia objawów chorobowych. Przeprowadzone badania własne mogą tłumaczyć te rozbieżności opinii pacjentów. Wykazałem bowiem, że u części chorych brak skutecznego wygaszania stanów zapalnych układu kostno-stawowego może wynikać z braku istotnego działania terapii kriogenicznej na procesy wolnorodnikotwórcze, czego wyrazem był brak zmian *c.s.a.* erytrocytów u badanych chorych (w moim materiale zjawisko to odnotowałem u ok. 16% chorych).

U zdecydowanej większości chorych można się jednak spodziewać korzystnych efektów po zabiegach krioterapeutycznych. Z moich ustaleń wynika, że u ok. 85% krioterapia ogólnoustrojowa podnosi zasoby śródkomórkowych antyutleniaczy, z czego można wnosić, że w tej grupie chorych pod wpływem leczenia kriogenicznego dochodzi do znaczącego zahamowania wytwarzania *RFI*.

W wyniku przeprowadzonych badań mogłem ponadto stwierdzić, że wśród chorych na *r.z.s.* najkorzystniejszych efektów leczniczych uzyskanych poprzez schładzanie całego organizmu można się spodziewać u kobiet w wieku do 49 r.ż., u których choroba trwa nie dłużej niż 3 lata i znajduje się w I lub II okresie (fazie).

Sądzę, że przedstawione wyniki badań własnych mogą stać się przyczynkiem do sprecyzowania wskazań dla leczenia kriogenicznego chorych na *r.z.s.*

7. Wnioski

1. U zdecydowanej większości chorych (ok. 85%) rozwojowi reumatoidalnego zapalenia stawów towarzyszy obniżenie całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów poniżej wartości referencyjnych.
2. U większości chorych na reumatoidalne zapalenie stawów krioterapia ogólnoustrojowa odbudowuje śródkomórkowe zasoby antyoksydantów.
3. U większości chorych poddanych leczeniu kriogenicznemu wzrost stężenia antyutleniaczy zależy od płci i wieku chorych, a także czas trwania i zawansowania choroby.
4. Wśród chorych na reumatoidalne zapalenie stawów najkorzystniejszych efektów leczniczych uzyskanych poprzez schładzanie całego organizmu można się spodziewać u kobiet w wieku do 49 r.ż., u których choroba trwa nie dłużej niż 3 lata i znajduje się w I lub II okresie (fazie).

8. Streszczenie

Przez wiele lat sądzono, że jedynie ciepło może być stosowane w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów (*r.z.s.*). Schładzanie całego organizmu zostało po raz pierwszy wprowadzone do terapii *r.z.s.* pod koniec lat 70. Efekty bodźcowego, stymulującego działania krańcowo niskich temperatur (110-180°C) są zróżnicowane i szerokie. Podkreśla się między innymi ich działanie przeciwbólowe związane z wyłączeniem przez zimno receptorów czuciowych, zwolnieniem przewodnictwa bodźców, wzrostem wydzielania beta endorfiny.

Niektórzy autorzy zwracają także uwagę na możliwość oddziaływania przeciwzapalnego skrajnie niskich temperatur. W wyniku ekspozycji organizmu na niskie temperatury mogą bowiem ulegać modyfikacjom zarówno mechanizmy generowania reaktywnych form tlenowych jak i zasoby antyoksydantów.

Brak większego zainteresowania w literaturze tematu wpływem krioterapii ogólnoustrojowej na nasilenie reakcji wolnorodnikotwórczych u chorych na *r.z.s.* skłonił mnie do podjęcia badań, których celem było:

1. *Oznaczenie całkowitego stanu antyoksydacyjnego w erytrocytach u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów.*
2. *Określenie wpływu ogólnoustrojowej krioterapii na zmiany całkowitego stanu antyoksydacyjnego w erytrocytach u badanych chorych przy uwzględnieniu wybranych cech klinicznych.*
3. *Próba wytypowania chorych, u których leczenie kriogeniczne wywołuje największą odbudowę zasobów antyoksydantów wewnątrzkomórkowych.*

Prospektywnymi badaniami objęto 130 chorych leczonych w Zakładzie Rehabilitacji 5 Wojskowego Szpitala Klinicznego - SP ZOZ z powodu *r.z.s.*. Wszyscy chorzy leczeni byli kriogenicznie.

Badany materiał chorych przeanalizowano pod kątem wybranych cech klinicznych: płci, wieku chorych, czasu trwania i zaawansowania choroby, przy uwzględnieniu zmian całkowitego stanu antyoksydacyjnego (*c.s.a.*) w erytrocytach rejestrowanych przed - i po zakończeniu leczenia kriogenicznego.

Oznaczenia *c.s.a.* u każdego z badanych wykonywano:

- ✓ 1-2 dni przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego (K_0),
- ✓ tuż po zakończeniu sesji 10 zabiegów (K_1),
- ✓ a następnie po 14 dniach (K_2).

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu SAS dla IBM PC rel. 6,03.

C.s.a. erytrocytów przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego wahał się w dużym przedziale; od wartości wyraźnie niższych od wartości referencyjnych, do wyników zawierających się w przedziale referencyjnym. Ta rozpiętość danych pozwoliła na wyselekcjonowanie dwóch grup chorych. Jedną stanowili chorzy, u których *c.s.a.* przyjmował zakres referencyjny (\mathcal{GB}_1), drugą chorzy, u których komórkowy *c.s.a.* był niższy od dolnej granicy referencyjnej (\mathcal{GB}_2). \mathcal{GB}_1 obejmowała 16,2% ogółu chorych, podczas gdy zdecydowaną większość, bo aż 84,8% stanowili chorzy, u których występowały niskie wartości (poniżej referencyjnych) zasobów antyoksydantów wewnątrzkomórkowych.

Leczenie kriogeniczne u zdecydowanej większości chorych wywołało wzrost *c.s.a.* erytrocytów. Dynamika tego zjawiska była szczególnie charakterystyczna wśród chorych \mathcal{GB}_2 . O ile bowiem przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego u wszystkich chorych tej grupy *c.s.a.* pozostawał poniżej dolnej granicy referencyjnej, o tyle po zakończeniu sesji krioterapii, aż u 91,8% stan antyoksydacyjny wyraźnie przekroczył zakres górnej granicy normy.

Tak korzystne działanie krioterapii zaobserwowano jednak tylko w odniesieniu do \mathcal{GB}_2 . W przeciwieństwie do tej grupy chorych, w \mathcal{GB}_1 zabiegi krioterapeutyczne nie wywołały już znaczących zmian w stężeniu antyoksydantów wewnątrzkomórkowych.

W dalszej części badań skoncentrowano się na wybranych cechach klinicznych takich jak płeć, wiek chorych, czas trwania choroby od momentu rozpoznania, okresy zaawansowania choroby wg. kryteriów Steinbrockera, oceniając ich znaczenie w kształtowaniu zasobów antyoksydantów wewnątrzkomórkowych u chorych na *r.z.s.* Przeprowadzone badania pozwoliły na sprecyzowanie roli każdego z tych czynników.

Płeć

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego w GB_1 średnie *c.s.a.* erytrocytów u kobiet i mężczyzn było porównywalne. Leczenie skrajnie niskimi temperaturami nie zmieniło tej równowagi.

Przeprowadzona analiza z wykorzystaniem liniowego modelu wielu zmiennych wykazała, że w GB_1 płeć nie odgrywa istotnej statystycznie roli w kształtowaniu śródkomórkowych zasobów antyoksydantów.

W GB_2 zależność pomiędzy zmianami średniego *c.s.a.* erytrocytów a płcią chorych na *r.z.s.* przedstawiała się już zupełnie inaczej. W grupie tej przed rozpoczęciem krioterapii średnie *c.s.a.* erytrocytów było znamienne statystycznie niższe u kobiet w porównaniu do mężczyzn. Leczenie kriogeniczne doprowadziło u obu płci do wzrostu śródkomórkowych zasobów antyutleniaczy, jednak zdecydowanie większego u kobiet, czego wyrazem była znamienne statystyczna przewaga średniego *c.s.a.* w erytrocytach u kobiet w porównaniu do mężczyzn. Podobna tendencja była widoczna podczas kontroli K2.

Analiza statystyczna wskazała, że w GB_2 płeć odgrywa już istotną statystycznie rolę w kształtowaniu zmian zasobów antyoksydantów erytrocytów. W tej grupie kobiety są 28,2 razy silniej predestynowane do zmian *c.s.a.* erytrocytów niż mężczyźni.

Wiek

W GB_1 przed rozpoczęciem leczenia kriogenicznego średnie *c.s.a.* erytrocytów nie różniło się istotnie statystycznie w poszczególnych analizowanych dekadach wieku. Leczenie skrajnie niskimi temperaturami wyzwoliło tylko nieznaczną, tendencję do obniżania się średnich zasobów antyoksydantów w krwinkach czerwonych w miarę postępu wieku chorych. Przeprowadzona analiza statystyczna pozwoliła ustalić, że w tej grupie chorych wiek nie odgrywa istotnej statystycznie roli w kształtowaniu śródkomórkowych zasobów antyutleniaczy.

U przeważającej liczby chorych (GB_2) utrzymywała się jednak zależność pomiędzy zmianami średniego *c.s.a.* erytrocytów a postępem wieku chorych. W tej grupie przed rozpoczęciem krioterapii średnie *c.s.a.* erytrocytów rosło znamienne statystycznie w miarę postępu wieku badanych. U chorych tych leczenie kriogeniczne spowodowało stopniowe obniżanie się średnich zasobów antyoksydantów w

erytrocytach w miarę postępu wieku, począwszy od 40 r.ż. Podobna tendencja z tym, że rozciągnięta już na wszystkie przedziały wiekowe została przez to leczenie utrwalona w czasie, co uwidoczniła kontroli K2.

Przy analizie zmian *c.s.a.* w \mathcal{GB}_2 za charakterystyczne można uznać działanie krioterapii szczególnie mocno odbudowujące zasoby antyutleniaczy u chorych w wieku pomiędzy 30-39 r.ż. (wzrost 5,8- krotny) i u chorych w wieku pomiędzy 40-49 (wzrost 5,3- krotny), natomiast leczenie kriogeniczne stosunkowo słabo wpływało na zmiany *c.s.a.* u chorych będących w wieku pomiędzy 60-69 (wzrost już tylko 1,4- krotny).

Z przeprowadzonej analizy statystycznej wynika, że u chorych w wieku poniżej 49 lat spodziewać się można szczególnie korzystnego działania krioterapii na pulę śródkomórkowych antyoksydantów. Wykazano bowiem, że u chorych w wieku pomiędzy 30-49 r.ż. nastąpił aż 6,9- krotny wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów, podczas gdy u chorych w wieku powyżej 49 lat wzrost ten był już tylko 1,9 krotny.

Zapewne ta dysproporcja w stężeniu antyutleniaczy wynika z faktu, że 49 r.ż. jest wartością dyskryminacyjną wieku, poniżej której leczenie kriogeniczne oddziałuje na wzrost *c.s.a.* erytrocytów zdecydowanie silniej niż w grupie chorych powyżej tej granicy wieku.

Czas trwania dolegliwości chorobowych

Czas trwania choroby w obu badanych grupach chorych (\mathcal{BG}_1 vs. \mathcal{GB}_2) charakterystycznie różnicował tendencję zmian śródkomórkowych zasobów antyoksydantów.

W \mathcal{GB}_1 średnie *c.s.a.* erytrocytów było porównywalne bez względu na długość wywiadu chorobowego.

W \mathcal{GB}_2 związek pomiędzy zmianami średniego *c.s.a.* erytrocytów a czasem trwania *r.z.s.* przedstawiał się już zupełnie inaczej. Otóż, u chorych tej grupy przed rozpoczęciem krioterapii średnie *c.s.a.* erytrocytów rosło znamienne statystycznie w miarę wydłużania czasu trwania choroby.

Leczenie kriogeniczne wyzwoliło tendencję obniżania się średnich zasobów antyutleniaczy w erytrocytach w miarę trwania choroby. Najsilniejszy wzrost średniego

c.s.a. erytrocytów pod wpływem krioterapii wystąpił u chorych, u których choroba trwała do 3 lat (wzrost 8,1- krotny) i u chorych, u których choroba trwała 4-6 lat (wzrost 3,2- krotny). Przy dłużej niż 6 lat trwającym wywiadzie chorobowym leczenie kriogeniczne już zdecydowanie mniej skutecznie odbudowywało zasoby antyoksydantów wewnątrzkomórkowych.

Uzyskane wyniki podkreślają, że szczególnie korzystnie krioterapia odbudowuje zasoby antoksydantów u chorych o krótkim wywiadzie chorobowym (do 3 lat).

Zaawansowanie choroby

Uzyskane wyniki wskazują, że w \mathcal{GB}_1 zaawansowanie choroby pozostawało bez istotnego statystycznie wpływu na średnie *c.s.a.* erytrocytów. Leczenie kriogeniczne nie zmieniło tej sytuacji.

Natomiast w \mathcal{GB}_2 średnie *c.s.a.* erytrocytów rosło znamienne statystycznie w miarę wzrostu zaawansowania choroby. Ekspozycja tych chorych na działanie skrajnie niskich temperatur wyzwoliła jednak znamienno statystycznie spadek średnich zasobów śródkomórkowych antyoksydantów przy przejściu fazy wczesnej w fazę późną choroby.

Wyniki badań własnych wskazują, że najsilniejszy wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów pod wpływem krioterapii wystąpił u chorych, u których choroba była we wczesnej fazie (wzrost 6,1- krotny), podczas gdy u chorych z zaawansowanym *r.z.s.* leczenie kriogeniczne wyzwoliło już tylko 1,6-krotny wzrost średniego *c.s.a.* erytrocytów.

Przeprowadzona analiza logiczno – statystyczna uzyskanych wyników pozwoliła na sformułowanie następujących wniosków:

1. U zdecydowanej większości chorych (ok. 85%) rozwojowi *r.z.s.* towarzyszy obniżenie całkowitego stanu antyoksydacyjnego erytrocytów poniżej wartości referencyjnych.
2. U większości chorych na *r.z.s.* krioterapia ogólnoustrojowa odbudowuje śródkomórkowe zasoby antyoksydantów
3. U większości chorych poddanych leczeniu kriogenicznemu wzrost stężenia antyutleniaczy zależy od płci i wieku chorych, a także czasu trwania i zaawansowania choroby.

4. Wśród chorych na *r.z.s.* najkorzystniejszych efektów leczniczych uzyskanych poprzez schładzanie całego organizmu można się spodziewać u kobiet w wieku do 49 r.ż., u których choroba trwa nie dłużej niż 3 lata i znajduje się w I lub II okresie (fazie).