

ADAM JANKOWSKI

ALEKSANDRA LEWANDOWICZ-USZYŃSKA

Klinika i Katedra Propedutyki Pediatrii

Akademii Medycznej we Wrocławiu

(Wrocław)

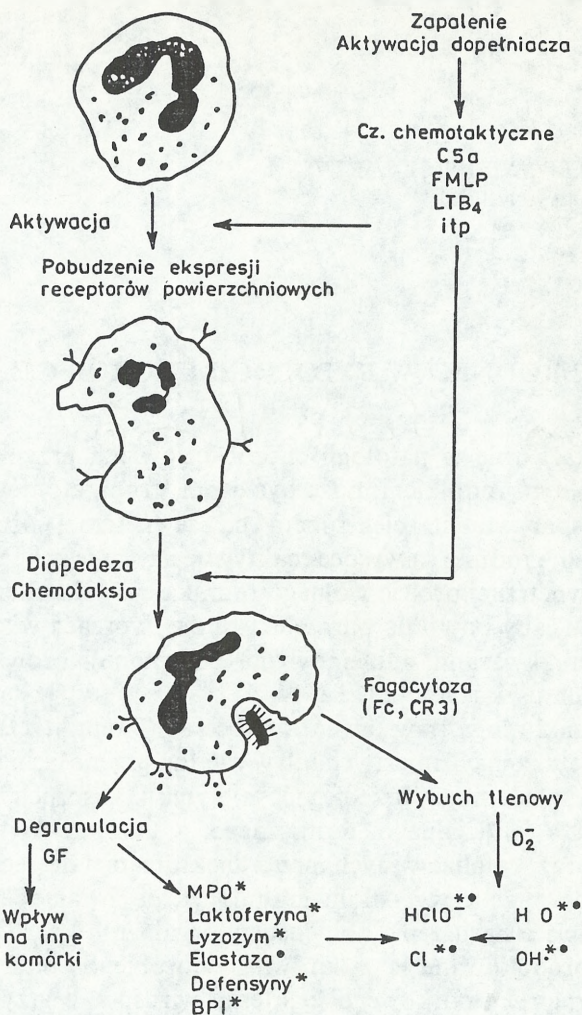
WOLNE RODNIKI W PATOLOGII CHOROÓB CZŁOWIEKA

Coraz większą rolę w patologii chorób człowieka przypisuje się wolnym rodnikom. Wolnym rodnikiem może być atom, grupa atomów lub cząsteczka z jednym niesparowanym elektronem na zewnętrznej orbicie. Dzięki tej właściwości wolne rodniki są wysoce reaktywne fizycznie i chemicznie. Samotny elektron na zewnętrznej orbicie wolnego rodnika dąży do interakcji z innymi elektronami tak, aby powstała para elektronów tworząca wiązanie chemiczne (np. z białkami, kwasami nukleinowymi, enzymami), prowadząc często do nieodwracalnych uszkodzeń [11, 12, 14, 41].

Wolne rodniki mogą powstawać w procesach homolitycznego rozrywania wiązań w cząsteczkach chemicznych lub w wyniku przenoszenia elektronów [11, 13, 25]. Procesy te mogą przebiegać w wyniku absorpcji promieniowania jonizującego, UV, widzialnego, termicznego, a także reakcji redukcyjno-oksydacyjnych, oraz katalizowanych przez niektóre metale i enzymy [12, 14]. Źródłem ich jest przede wszystkim granulocyt, pojawiający się wszędzie tam gdzie miało miejsce naruszenie homeostazy organizmu [3, 37]. Wolne rodniki tlenowe (RT) produkowane są w zdrowiu i chorobie. Są niezbędne w procesie zabijania wewnątrzkomórkowego bakterii, wirusów i grzybów na drodze zależnej od tlenu, a także degradacji wielu antygenów [11, 38].

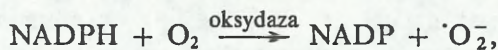
Pod wpływem różnych bodźców, np. adherencji na powierzchni granulocyta obcej cząsteczki lub w następstwie jej fagocytozy, dochodzi do zwiększonej produkcji aktywnych form tlenu [3, 7, 12, 44]. Stan ten nosi nazwę „burzy tlenowej” (respiratory burst). Charakteryzuje się zwiększeniem pobierania tlenu, wzrostem zużycia glukozy w cyklu pentozomonofosforanowym i przy udziale oksydazy NADPH, a także mieloperoksydazy (MPO), powstają wolne rodniki tlenowe: nadtlenki wodoru, rodnik hydroksylowy, rodnik nadtlenkowy, tlen singletowy [12, 13].

Po aktywacji błony komórkowej granulocyta dochodzi do napływu do wnętrza komórki jonów Na^+ i Ca^{++} . Wapń łączy się z białkiem kalmoduliną, aktywując jednocześnie oksydazę NADPH, dla której substratem cząsteczkowym jest NADPH powstały w cyklu pentozofosforanowym [12, 13, 14].

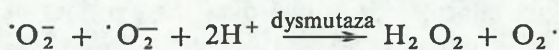


Rys. 1. Różne aspekty aktywacji neutrofili w odpowiedzi na czynnik zapalny [44]

W reakcji z tlenem cząsteczkowym tworzy anion nadtlenkowy:

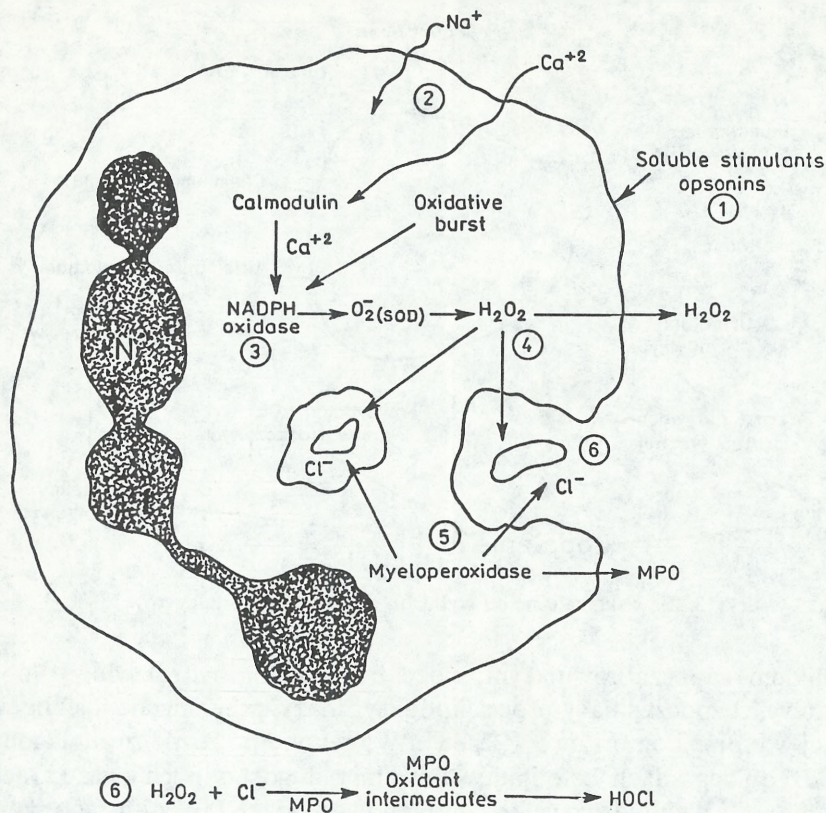


w czasie dalszej redukcji powstaje nadtlenek wodoru:



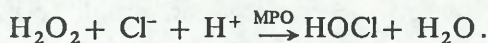
Jeżeli reakcja ta zachodzi spontanicznie, produktem jest nadtlenek wodoru i tlen singletowy:





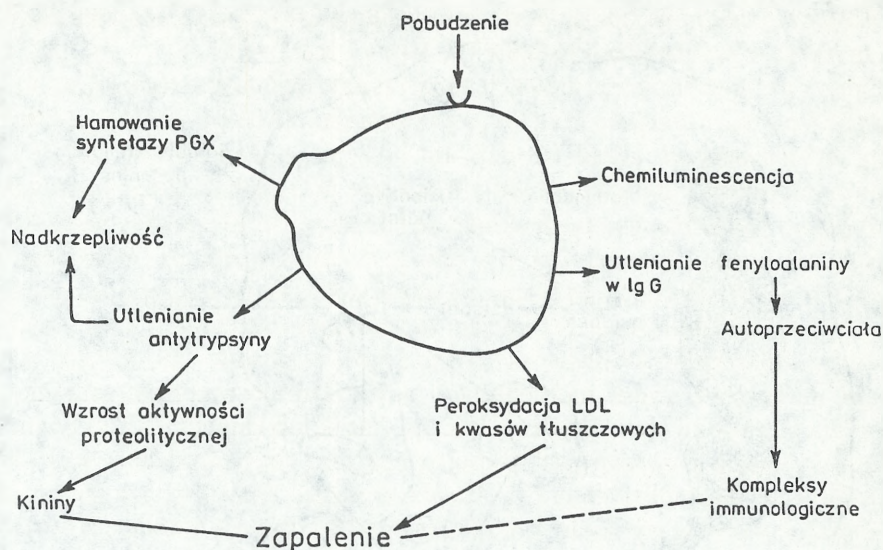
Rys. 2. Mechanizm cytotoksyczności granulocytów wielojądrzastych zależny od Mieloperoksydazy (MPO) [13]. (1) stymulacja błony komórkowej granulocyta, (2) efekt depolaryzacji z równoczesnym napływem do wnętrza komórki jonów Na^+ i Ca^{+2} , (3) produkcja nadtlenuków zależnych od układu oksydazy NADPH, (4) dysmutacja H_2O_2 przez anion nadtlenukowy, (5) degranulacja, uwalnianie MPO, formowanie fagosomu, (6) interakcja H_2O_2 z jonami Cl^- w obecności MPO

Aktywne metabolity tlenu mogą reagować z jonami bromu, jodu, fluoru, chloru. W reakcji katalizowanej przez mieloperoksydazę powstaje kwas podchlorowy:



Kwas podchlorowy, reagując z grupami aminowymi aminokwasów, tworzy chloraminę związek o bardzo dużej toksyczności dla większości drobnoustrojów [13, 44, 46]. Aktywne metabolity tlenu, produkowane przez pobudzone granulocyty, odpowiedzialne są ponadto za szereg reakcji, które mogą modyfikować niektóre procesy immunologiczne [16, 24, 39, 41].

Źródłem nadtlenuków lipidowych są przede wszystkim błony komórkowe, zawierające znaczne ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, szczególnie narażonych na proces zwany „nadtlenuowaniem lipidów” [13, 16, 22].



Rys. 3. Zjawiska zależne od wybuchu tlenkowego granulocytów [38]

Czynnikiem zapoczątkowującym może być rodnik hydroksylowy lub tlen singletowy, rozpoczynający proces lipooksygenazy, przy udziale fosfolipazy A_2 obecnej w błonie komórkowej [22, 38]. W 5 sekund po rozpoczęciu fagocytozy dochodzi do degradacji fosfolipidów i uwalniania pochodnych kwasu arachidowego: mono- i dwuhydroksyeikozatetraenowego (5HETE), z którego powstają leukotrieny (LTA_4 , LTB_4 , LTC_4 , LTE_4) odpowiedzialne za cały ciąg negatywnych zjawisk:

- uwalniają histaminę z komórek tucznych,
- kurczą mięśnie gładkie oskrzeli,
- rozszerzają naczynia krwionośne, wzmagając przepuszczalność ich ścian,
- pobudzają receptory bólowe łącznie z bradykininą,
- hamują aktywność komórek naturalnych zabójców (NK)
- działają inotropowo ujemnie [13, 21, 22, 38, 39].

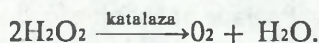
Proces ten w warunkach fizjologicznych zachodzi wolno, ulegając jednakże znacznemu przyspieszeniu w obecności jonów metali: żelaza, miedzi [13, 25]. W wyniku opisywanych reakcji dochodzi do:

- modyfikacji składników błony komórkowej,
- zmiany struktury błon, wpływającej na funkcję i ich antygenowy charakter,
- utlenianie grup tiolowych (SH),
- zmiany w stosunku nienasyconych kwasów tłuszczowych do białka,
- zaburzenie płynności błony komórkowej i związane z tym zaburzenie transportu przez błony [12, 25]

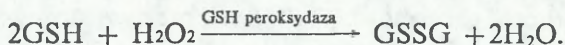
Wynikiem wyżej wymienionych procesów jest nie tylko uszkodzenie błon, ale także produkcja 4-hydroksynonenalu i aldehydu dwumalonowego (MDA),

wykazujących działanie rakotwórcze i mutagenne. MDA jest uznanym nieswoistym markerem peroksydacji lipidów [9, 16].

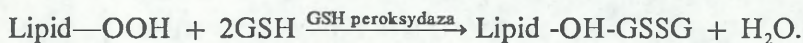
Opisywane mechanizmy, w efekcie których powstają wolne rodniki, stanowią bezpośrednie zagrożenie dla homeostazy organizmu. Dlatego też istnieją mechanizmy zabezpieczające przed ich działaniem. Należą do nich tzw. „zmiatacze wolnych rodników”: dysmutazy nadadtlenkowe (SOD), katalaza, peroksydaza glutationu. Dysmutazy nadadtlenkowe zaliczane są do klasy oksydoreduktaz, których aktywność zależna jest od żelaza, manganu, miedzi. Wyróżnia się FeSOD, MnSOD, CuSOD. Mieszczą się one w cytozolu i w mitochondriach [16, 25]. Mechanizm dysmutacji RT polega na redukcji i utlenianiu jonów metali, wchodzących w skład centrów aktywnych tych enzymów [13, 15, 25]. Dysmutaza inaktywuje anion nadadtlenkowy, powstrzymuje rozprzestrzenianie się utleniania glutationu i peroksydacji lipidów. Zanik lub zmniejszenie aktywności SOD jest jedną z przyczyn podatności organizmu na uszkodzenia wywołane przez aktywne metabolity tlenu [25, 43, 46]. Katalaza i peroksydaza glutationowa zlokalizowane w cytozolu i mitochondriach usuwają nadtlenek wodoru z komórki, zgodnie z reakcją:



Peroksydaza glutationowa katalizuje utlenianie zredukowanego glutationu (GSH) przez nadadtlenek wodoru z utworzeniem utlenionego glutationu i wody:



Działa również na wodorotlenki lipidowe i redukuje je do stabilnych hydroksykwasów:



Inny sposób zabezpieczania organizmu przed wolnymi rodnikami to nieenzymatyczne antyutleniacze. Należą do nich między innymi: glutation, kwas askorbinowy i moczowy, metionina, cysteina, bilirubina, karotenoidy, selen, niektóre związki farmakologiczne: mannitol, dwumetylosulfotlenek, inhibitory czynnika aktywującego płytki (PAF-u) [11, 21]. Kwas askorbinowy neutralizuje nadadtlenki, tlen singletowy, rodniki hydroksylowe oraz znosi działanie układu MPO (H_2O_2) $^-$ [13, 16]. Zabezpiecza także DNA przed destrukcyjnym wpływem utleniaczy, zmniejszając liczbę doświadczalnych aberracji chromosomalnych, oraz limfocyty i neutrofile przed ich rozpadem w miejscach fagocytarnej aktywności [16, 25].

Witamina E (tokoferol) przerywa i zapobiega utlenianiu podwójnych wiązań kwasów tłuszczowych. Z tego też powodu między innymi znalazła zastosowanie w ochronie przed skutkami terapii RTG, cytostatykami, wzmagającymi produkcję wolnych rodników [9, 25]. Podawanie lecznicze witaminy E podnosi aktywność fagocytarną granulocytów, zmniejszając nieco ich właściwości bakteriobójcze [7, 16, 20]. Witamina A i inne karotenoidy mają zdolność „wygasza-

nia tlenu singletowego” i mogą odgrywać rolę czynnika hamującego rozprzestrzanie się peroksydacji w lipidach [12, 16].

Z przytoczonych faktów widać, jak ciągła obecność RT zmusiła organizm człowieka do stworzenia i umiejętnego korzystania z mechanizmów ochronnych przed szkodliwym ich działaniem [19, 20, 27]. Niekiedy jednak mechanizmy te są niewystarczające. Dlatego też, obecnie uważa się, iż u podłoża takich chorób, jak: przewlekłe zapalenie oskrzeli, astma oskrzelowa, cukrzyca, reumatoidalne zapalenie stawów, zaćma, choroba Crohna (i inne) leżą między innymi mechanizmy wyzwalane przez rodniki tlenowe. W chorobach autoimmunizacyjnych, np. w reumatoidalnym zapaleniu stawów, obserwuje się nadprodukcję aktywnych metabolitów tlenu z jednoczesnym upośledzeniem mechanizmów zabezpieczających (spadkiem aktywności SOD, katalazy, peroksydazy) [19, 28, 30, 32]. Powstawanie RT w tej chorobie związane jest między innymi z powstającymi miejscowo kompleksami immunologicznymi i limfokinami oraz z aktywacją układu dopełniacza, które są czynnikami chemotaktycznymi dla granulocytów [2, 19, 29]. Pobudzone w ten sposób neutrofile produkują duże ilości aktywnych metabolitów tlenu i enzymów lizosomalnych, powodujących destrukcję powierzchni stawowych [29, 39]. Posiadając zdolność do utleniania fenyloalaniny w cząsteczce IgG powodują, iż staje się ona autoantygenem, dodatkowo stymulując napływ i metabolizm granulocytów [39, 41]. Fakt powstawania RT może być jednym z głównych mechanizmów stałego podtrzymywania i „napędzania” procesu chorobowego. Stąd też, próby zastosowania preparatów SOD (Orgotein, Ontosein, Peroxinorm) w leczeniu RZS, stwardnienia rozsianego, przewlekłego zapalenia pęcherza moczowego [26].

UKŁAD MOCZOWY

Udowodniono, że w przebiegu zapalenia kłębkowego nerek nadtlenek wodoru, anion nadtlenkowy i wolne atomy tlenu bezpośrednio niszczą struktury kłębków nerkowych [24, 33]. Prawdopodobnie następuje to w wyniku inaktywacji alfa-1-antytrypsyny — inhibitora proteaz leukocytarnych [24, 39]. Również i w przewlekłym zapaleniu pęcherza moczowego przypisuje się negatywną rolę RT. Stwierdzenie w moczu śladowych ilości SOD ułatwia nagromadzenie RT pod wpływem niektórych substancji (leków, metabolitów dymu tytoniowego, smoły), prowadząc do przewlekłego zapalenia błony śluzowej pęcherza moczowego [16, 26].

UKŁAD ODDECHOWY

Tkanka płucna, w której zachodzi wymiana gazowa, jest związana z bezpośrednim oddziaływaniem tlenu. W przypadku wystąpienia upośledzenia mechanizmów zabezpieczających jest ona w szczególnie sposób narażona na działanie rodników tlenowych.

Istnieje teoria tłumacząca w ten sposób patogenezę zaburzeń oddychania u noworodków (IRDS). Zespół ten może być spowodowany niedoborem surfaktantu i dysmutazy nadtlenkowej w tkance płucnej. Stan ten może prowadzić do wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia RT, a w konsekwencji do uszkodzenia pneumocytów II rzędu [7, 36, 41].

W patologii chorób płuc ogromne znaczenie ma dym tytoniowy: bezpośrednio dostarczający wraz z innymi szkodliwymi substancjami wolne rodniki. U palaczy istnieje mechanizm sprzężenia zwrotnego: z jednej strony sam proces palenia dostarcza RT, z drugiej zaś strony aktywują one makrofagi płucne do wzmożonego metabolizmu, co w konsekwencji doprowadza do nadprodukcji endogennych rodników, pogłębiając proces destrukcji tkanki płucnej. Sugeruje się ich udział w powstawaniu rozedmy płuc [16, 39, 41].

Wolne rodniki mogą indukować powstanie pylicy krzemowej [17, 30]. Z obserwacji bowiem wynika, że kurz zawierający duże ilości krzemu wywołuje efekt oksydacyjny w płucach i peroksydację lipidów tkanki płucnej.

Badania wykazały, że granulocyty krwi obwodowej i makrofagi płuc u ludzi cierpiących na astmę oskrzelową wykazują wzmożoną produkcję aktywnych metabolitów nadtlenków lipidów. Jak wykazały badania *M o r e l y* i wsp., wraz z PAF-em, histaminą, serotoniną stymulują burzę oddechową granulocytów i makrofagów, co może być jedną z przyczyn ułatwiających powstawanie procesów alergicznych w płucach [7, 13, 39].

USZKODZENIA TKANEK WYNIKAJĄCE Z NIEDOTLENIENIA

W stanach niedotlenienia w wyniku fosforylacji oksydatywnej adenozyina katabolizowana jest do hipoksantyny [9]. Ponowne przywrócenie prawidłowego stężenia tlenu związanego z powrotem krążenia doprowadza do nadprodukcji RT (zależnych od oksydazy ksantynowej) i rozprzestrzeniania się ich wraz z krążącą krwią. Te zaś powodują wzrost przepuszczalności naczyń. Zjawiska te mogą mieć miejsce w uszkodzeniu niedokrwiennym serca, płuc, mózgu, jelit, kłębuszków nerkowych [1, 5, 8, 24, 41, 43].

Podczas zawału mięśnia sercowego obserwuje się znaczny wzrost RT w mięśniu sercowym pacjenta i systematyczny ich spadek w czasie zdrowienia [5, 26, 39, 41]. Stanowi temu towarzyszy spadek aktywności SOD. Fakt ten zapoczątkował próby leczenia pacjentów z zawałem preparatami SOD otrzymanymi z ludzkich granulocytów [26].

MIAŻDŻYCA

Niektórzy autorzy traktują endogenne rodniki lipidowe jako nieswoiste i pierwotne czynniki w powstaniu miażdżycy. Wolne rodniki mogą uszkadzać ścianę naczyń krwionośnych, ułatwiając tym samym odkładanie się cholesterolu w miejscach tychże uszkodzeń [39]. Przyjmuje się równocześnie, że frakcje

lipoproteidów małej gęstości (LDL) i w nieco mniejszym stopniu lipoproteidy o bardzo małej gęstości (VLDL) są nośnikami nadtlenu lipidowych. Wszelkie zaburzenia (nieprawidłowa dieta, uwarunkowania genetyczne, długotrwały stres, niedobór nienasyconych kwasów tłuszczowych: linolowego, linolenowego, niedoczynność tarczycy, dym tytoniowy) doprowadzające do przewagi którejś z frakcji usposabiają do powstania miażdżycy [30]. Jednym z produktów peroksydacji lipidów jest lipofuscyna. Jej obecność w śródbłonkach tętnic może być uznana jako pośredni dowód reakcji tlenu cząsteczkowego z kwasami tłuszczowymi [41]. Nadtlenuki hamują syntezę prostacykliny zwiększając tym samym działanie tromboksanu A₂, co w konsekwencji doprowadza do zwiększonej agregacji płytek krwi, wzmożenia wydzielania leukotrienów, obniża fibrynolizę i angiogenezę sprzyjając tym samym czynnikom miażdżycorodnym [39].

CHOROBY PRZEWODU POKARMOWEGO

W cukrzycy typu I (insulinozależnej) stwierdzono obniżenie aktywności SOD, peroksydazy glutationu, co prowadzi do akumulacji nadtlenu wodoru uszkadzającego dodatkowo komórki beta trzustki [1, 8, 39].

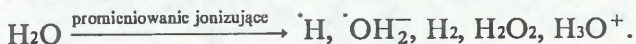
CHOROBA CROHNA

Negatywną rolę RT przypisuje się również i w tej chorobie. Zarówno w granulocytach krwi obwodowej, jak i w enterocytach ludzi cierpiących na tę chorobę, obserwuje się wzmożoną produkcję RT podczas „spoczynkowej” aktywności tych komórek. Stąd też, być może nadwrażliwość śluzówki jelita na dodatkowe uszkodzenia [9, 39, 41]. Lecznice efekty sulfasalazyny związane są z usuwaniem RT, zależą prawdopodobnie od inaktywacji utleniaczy, produkowanych przez enterocyty i makrofagi.

W doświadczalnym zapaleniu trzustki wywołanym ceruleiną stwierdzono we wczesnych godzinach choroby obniżenie SOD w tkance trzustkowej, z jednoczesnym wzrostem aldehydu malonowego — wykładnika peroksydacji lipidów.

USZKODZENIA POPROMIENNE JELIT

Nabłonek jelitowy jest bardzo wrażliwy na uszkodzenia spowodowane działaniem promieni RTG. Uważa się, że cytotoksyczne efekty spowodowane są przede wszystkim wolnymi rodnikami powstającymi z radiolizy wody:



ZACMA

Wykazano doświadczalnie, że RT mogą prowadzić do zaćmy, szczególnie u ludzi starych, w wyniku nasilenia utleniania kwasów tłuszczowych i obniżenia

aktywności enzymów ochronnych soczewki. Doprowadza to do zmiany jej właściwości fizykochemicznych (zmniejszenie jej przejrzystości) [41].

ERYTROCYTY

Błony komórkowe krwinek czerwonych charakteryzują się wysoką zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych, które ulegają ciągłemu nadtlenowaniu, w wyniku stałego narażenia ich na wysokie stężenie tlenu cząsteczkowego. Utlenianie bowiem oksyhemoglobiny do methemoglobiny wiąże z uwalnianiem anionu ponadtlenkowego. Stwierdzono, że hemoliza będąca skutkiem peroksydacji lipidów zachodziła tylko wtedy, gdy aldehyd dwumalonowy przekraczał tzw. stężenie krytyczne [12, 20, 41].

Antyoksydacyjny system erytrocytów (SOD, GSH-PX, katalaza, wit. E) chroni tę komórkę przed działaniem aktywnych metabolitów tlenu i nadtlenków lipidów. U noworodków, a szczególnie u wcześniaków, gdzie stężenie witaminy E jest bardzo niskie, obserwuje się dużą podatność erytrocytów na hemolizę indukowaną nadtlenkiem wodoru [20, 30, 53].

Niektóre z wrodzonych defektów enzymatycznych erytrocytów (np. w zaburzeniach przemiany glutationu) nadwrażliwość na nadtlenki ujawnia się po zażyciu leków o właściwościach oksydacyjnych (aspiryna) [13, 19, 21, 35].

LEUKOCYTY

Większość patologii wolnych rodników związana jest z ich nadprodukcją. Istnieją jednak sytuacje, gdy choroba objawia się podczas ich niedoboru. Ma to na przykład miejsce w przewlekłej chorobie ziarniniakowej związanej z niedoborem oksydazy NADPH i tym samym brakiem czynników bakteriobójczych (nadtlenku wodoru, rodnika ponadtlenkowego). Osoby dotknięte tą chorobą cierpią na nawracające infekcje spowodowane drobnoustrojami katalazododatnimi. W skórze, płucach, wątrobie tworzą się ziarniniaki [13, 14, 18, 36]. Fagocytoza w tej chorobie przebiega prawidłowo lub jest nieznacznie obniżona, brak jest natomiast „wybuchu tlenowego”, a tym samym upośledzenie zabijania wewnątrzkomórkowego patogenów [11, 12, 18, 36, 39].

Inny przykład z patologii granulocytów związanych z niedoborem aktywnych metabolitów tlenu to deficyt mieloperoksydazy leukocytów. Choroba może przebiegać bezobjawowo lub ujawniać się w przebiegu ciężkich zapaleń płuc, posocznicy (łączy się często z przewlekłą kandydią), gdy zawodzą inne mechanizmy produkcji rodników tlenowych [13, 23, 36].

U osób z prawidłową funkcją i aktywnością granulocytów może w nieprzychylnych okolicznościach (długotrwały stres, niektóre leki, skażenie środowiska) dojść do stanu „wyczerpania” leukocytów i produkcji niewystarczającej ilości RT. Stan ten predysponować może do uporczywych nawracających infekcji

[4, 10, 22, 42, 46]. Wiadomo, że na aktywność granulocytów wpływać może ogromna liczba związków chemicznych, które na drodze zaburzeń fagocytozy, adherencji, chemotaksji, zablokowania lub pobudzenia enzymów modyfikują produkcję wolnych rodników [4, 6, 21, 22, 24, 34, 37, 47].

Jak wynika z przedstawionych danych, wolne rodniki biorą aktywny udział w istotnych dla życia procesach homeostazy. Wydaje się, iż istnieje bardzo precyzyjnie kontrolowany „margines bezpieczeństwa”, którego przekroczenie z jakichkolwiek wymienionych przyczyn pociąga za sobą następstwa chorobowe, często niebezpieczne dla życia.

LITERATURA

1. Baranao RI. — *Some characteristic of neutrophils from diabetic patients and their relation to the levels of circulating immune complexes*. Acta-Diabetol-Let. 1988, 25: 11, 13—23.
2. Bender JG. — *Altered function of synovial fluid granulocytes in patients with acute inflammatory arthritis*. Inflammation 1986, 10:4 443—453.
3. Bilzer M., Lauterburg BH. — *Glutathione Metabolism in Activated Human Neutrophils*. European J. of Clin. Invest. 1991, 21: 3, 316—322, 4. Belsheim.
4. Gnarp J. — *Tetracyclines and host defense mechanisms: interference with leucocyte chemotaxis*. Scand. J. Infect. Dis. 1979, 11: 141—145.
5. Blaustein AS., Schine L. Brooks WW. — *Influence of exogenously generated oxidant species on myocardial function*. Am. J. Physiol. 1986, 4:250, 6.
6. Bowen T., Ochs H. — *Severe recurrent bacterial infections associated with defective adherence and chemotaxis in two patients with deficient in a cell-associated glycoprotein*. J. Pediatr. 1987, 101: 932—940, 7.
7. Calhoun WJ., Stevens C. — *Modulation of superoxide production of alveolar macrophages and peripheral blood mononuclear cells by beta-agonists and theophylline*. J. of Labor. Clin. Med. 1991, 117: 6, 514—522.
8. Collier A., Wilson R., Bradley H. — *Free radical activity in type 2 diabetes*. Diabetic Med. 1990, 7:1 27—30.
9. Dąbrowski A., Gabrylewicz A. — *Rodniki tlenowe w chorobach przewodu pokarmowego*. Medycyna 2000. 1990, 6: 4—7.
10. Derentowicz P., Lewandowicz-Uszyńska A. — *Wpływ wibramycyny na wybrane parametry immunologiczne u królików*. (Praca nieopubl.).
11. Derentowicz P., Wójcik J. — *Mechanizmy zabijania zależne od tlenu występujące w komórkach fagocytujących — wybrane aspekty*. (Praca nieopubl.).
12. Dyke Van Knox, Castranova V. — *Measurement of phagocytosis and cell-mediated cytotoxicity by chemiluminescence*. Methods in enzymology 1988, 132: 498—507.
13. Dyk Van Knox, Castranova V. — *Cellular chemiluminescence*. 1987, Vol. 1, 2, 3.
14. Elsbach P., Wiess J. — *A reevaluation of the roles of the O₂-dependent and O₂-independent microbicidal systems of phagocytes*. Reviews of infectious diseases. 1985, 5: 843—853.
15. Gasyna Z. — *Struktura i funkcja katalazy*. Post. Biochem. 1975, 21: 175—191.
16. Graczyk A. — *Biologiczne utleniacze. Biologiczne przeciwutleniacze*. Mag. Med 1991/7, S. 33—38.
17. Hedenborg M. — *Quartz-dust-induced production of reactive oxygen metabolites by human granulocytes*. Lung 1989, 167: 1 23—32.
18. Hoger PH — *Chronic granulomatous disease: uptake and intracellular activity of fosfomycin in granulocytes*. Pediatr. Res. 1985, 19: 1, 38—44.

19. Imadaya A., Terasawa K., Tosa U. — *Erythrocyte antioxidant enzymes are reduced in patients with rheumatoid arthritis*. J. Rheumatol. 1988, 15(1): 1628—31.
20. Kalinicheva, Aladysheya — *Role of Vitamin E, superoxide dismutase and catalase in the development of early anemia in premature infants*. Pediatrics 1985, 11: 63—72.
21. Kapp A. — *Modulation of oxidative metabolism of granulocytes by nonsteroidal anti-inflammatory agents*. Immun. Infest. 1987, 15: 1, 26—30.
22. Koller M. — *Heat shock induces alterations of the lipoxygenase pathway in human polymorphonuclear granulocytes*. Prostaglandins-Leukot.-Essent-Fatty-Acids, 1989, 38: 2, 99—106.
23. Kusenbach G. — *Myeloperoxidase deficiency as a cause of recurrent infections*. Klin. PEDIATR. 1985, 197: 5, 443—445.
24. Kuźniar J., Sajewicz W., Kopeć W. — *Chemiluminescence of Neutrophils in Patients with Glomerulonephritis Treated with Methylprednisolone*. Internat. Urology and Nephrology 1991, 2315: 527—534.
25. Liczmański A.E. — *Toksyczność tlenu. Mechanizmy ochronne*. Post. Biochem. 1988/34: 293—310.
26. Lipeczka K. — *Lecznicze zastosowanie dysmutazy ponadtlenkowej jako czynnika przeciwzapalnego*. Pol. Tyg. Lek. 1989, 14: 339—340.
27. Male D. — *Immunology. An Illustrated Outline*, 1986.
28. Malec-Olecka J. — *Toksyczność tlenu*. Problemy 1988, 503, 21.
29. Meske S. — *Maly FE (Liberation of the oxygen radical from peripheral human phagocytes in patients with chronic polyarthritis)*. Z. Rheumatol. 1985, 44: 1, 41—45.
30. Nowak D., Piasecka G. — *Erythrocytes protect alfa-1-proteinase inhibitor from oxidative inactivation induced by chemical the myeloperoxidase H_2O_2 halide system and stimulated polymorphonuclear leukocytes*. Exp. Pathol. 1991, 42: 1, 47—58.
31. Pasquier C., Laoussadi S., Serfati G. — *Superoxidedismutases ankylosing spondylitis or rheumatoid arthritis*. Clin. Exp. Rheumat. 1985, 3: 123—126.
32. Pronail L., Ichikawa Y., Nakanawa H. — *Enhanced Superoxide Generation and the decreased superoxide scavenging activity of peripheral blood*. Clin. Exp. Rheumat. 1991, 9: 227—233.
33. Richarrie M. J., Arnaud J., Jurkovitz C. — *Trace elements and lipid peroxidation abnormalitis in patients with chronic renal failure*. Nephron 1991, 57: 10—15.
34. Robertson ID., Maughan RJ., Duthie GG. — *Increased blood antioxidant systems of runners in response to traing load*. Clin. Science 1991, 80: 611—618.
35. Shaikin-Kestenbaum R., Caruso C. — *Hereditary high phosphatidcholine hemolytic anemia*. Clin. Invest. Med. 1990, 13: 313—321.
36. Świńska-Gołębiowska H. — *Immunopatologia wieku rozwojowego*. PZWL, Warszawa 1980.
37. Szmidt M., Garliński P. — *Wpływ aspiryny na chemiluminescencję leukocytów stymulowanych FMLP u chorych na astmę z nadwrażliwością na aspirynę*. Pneum. i Alergol. Pol. 1991, 59: 3—4.
38. Tchórzewski H. — *Niektóre współczesne poglądy na immunoregulacyjne funkcje granulocytów*. Immunol. Pol. 1990 XV, 1—2: 147—156.
39. Tchórzewski H. (red) — *Wykłady z patofizjologii*. WAM, Łódź 1990.
40. Tchórzewski H. — *Rola granulocytów w odpowiedzi immunologicznej typu komórkowego*. Immunol. Pol. 1978. 3: 75—89.
41. Waniec J., Wysocki M. — *Rola wolnych rodników w patologii człowieka*. Pol. Tyg. Lek. 1990 XLV 195—196.
42. Wójcik J., Derentowicz P., Garliński D. — *Wpływ hydrokortyzonu, metyloprednizonu i dexametazonu na chemiluminescencję granulocytów obojętnochłonnych krwi obwodowej*. Pneum. Pol. 1987: 154—158, 41.

43. Y a h a v a O., H a s h i m o t o K. — *Serum Manganese-Superoxide Dismutase in Patients with neuromuscular disorders as judged by an Elisa*. Research Communic. [w:] Chemical Pathol. Pharmacol. 1991, 72: 2. 315—326.
44. Z e m a n K. — *Metody izolacji i oceny funkcji granulocytów obojętnochłonnych*. Immunol. Pol. 1990, 15: 157—170.
45. Z h a n g Y o n e i S. — *Induction of Manganese-superoxide dismutase by membrane binding drugs in Escherichia-Coli*. Journ. Bacteriol. 1991, 11: 3488—3491.
46. Z g l i c z y Ń s k i J. M., O l s z e w s k a E., O l s z e w s k i S. — *A possible origin of chemiluminescence in phagocytosing neutrophils. Reaction between chloramines and H2O2*. Int. J. Biochem. 1985, 17: 515—519.
47. Z g l i c z y Ń s k i J. M., K r a s n o w s k a E., S t e l m a s z y Ń s k a T. — *Functional states of neutrophils as by whole blood chemiluminescence*. Acta Bioch. Pol. 1988, 35: 331—342.