

# Hidrógeno molecular: nueva terapia antioxidante y antiinflamatoria para la artritis reumatoide y enfermedades relacionadas

Toru Ishibashi\*

Hospital Haradoi, Departamento de Reumatología y Cirugía Ortopédica, 6-40-8 Aoba, Higashi-ku, Fukuoka 813-8588, Japón

**Resumen:** La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica en la que la destrucción progresiva de las articulaciones provoca morbilidad. También se asocia con un mayor riesgo de aterosclerosis, que puede provocar enfermedades cardiovasculares y mortalidad. El objetivo terapéutico es controlar la inflamación sistémica para obtener no sólo la remisión de los síntomas, sino también mejorar el estado general de salud. Aunque las terapias inmunosupresoras biológicas recientes dirigidas a las citoquinas proinflamatorias han generado un cambio de paradigma con respecto al pronóstico de la AR, estas terapias poseen efectos secundarios inherentes. Además, el diagnóstico precoz de la enfermedad sigue siendo confuso por la incertidumbre. Si bien los mecanismos responsables de la aparición de la AR siguen sin estar claros, las especies reactivas de oxígeno (ROS) juegan un papel importante en la patogenia de la AR. Las ROS juegan un papel central tanto aguas arriba como aguas abajo de las vías NF-B y TNF, que se encuentran en el centro de la respuesta inflamatoria. Entre las ROS, el radical hidroxilo es el más dañino y el hidrógeno molecular (H<sub>2</sub>) es un carroñero selectivo para esta especie. Recientemente, se ha demostrado que el H<sub>2</sub> es útil cuando se administra junto con la terapia convencional en AR, ya que actúa para reducir el estrés oxidativo en los pacientes. Especialmente en la etapa inicial, H<sub>2</sub> mostró un potencial terapéutico significativo, que también pareció ayudar en las decisiones de diagnóstico y tratamiento de la AR. Aquí se plantean y discuten las posibles expectativas con respecto a los beneficios potenciales del H<sub>2</sub> en la reducción del estrés oxidativo, resultante de factores inflamatorios. Incluyen la prevención de la AR y la aterosclerosis relacionada, así como la validez terapéutica para la AR.

**Palabras clave:** reumatoide, aterosclerosis, prevención, estrés oxidativo, 5 ppm, hidrógeno molecular, 8-hidroxiguanina, radical hidroxilo.

## INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta aproximadamente al 1% de la población. Se caracteriza por un trastorno articular irreversible acompañado de destrucción de hueso y cartílago, lo que provoca una morbilidad grave. Además, la inflamación crónica asociada con la AR puede aumentar el riesgo de aterosclerosis, que es una causa importante de mortalidad con insuficiencia cardiovascular [1, 2]. La aterosclerosis asociada con la AR progresó rápidamente, incluso en ausencia de los factores de riesgo convencionales, como hipertensión, diabetes mellitus u obesidad. En consecuencia, el objetivo de la terapia de la AR incluye no solo mejorar la actividad de la enfermedad, que comúnmente se estima por el trastorno articular y los marcadores inflamatorios, sino también controlar la inflamación sistémica y normal de las células endoteliales. El progreso reciente de las terapias contra las citoquinas está mejorando el riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) [3].

Aunque se desconoce la etiología, la AR está claramente asociada con trastornos autoinmunitarios y su patogenia ha sido bien investigada [2]. Las células T autorreactivas que se infiltran en el tejido sinovial promueven la respuesta inmunitaria, lo que da como resultado una sobreproducción de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tisular alfa (TNF), la interleucina 1 (IL-1) y la interleucina 6 (IL-6). En consecuencia, la terapia temprana se basó en la modificación biológica agresiva de la enfermedad mediante el control de las células T sinoviales y/o la reducción de los niveles de citoquinas. Desafortunadamente, este enfoque ha tenido un éxito terapéutico limitado, lo que plantea el problema de que faltaban factores reguladores importantes en el modelo mecánico existente de la AR. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) podrían ser uno de los factores reguladores no identificados. El líquido sinovial y la sangre periférica de los pacientes con AR tienen altos niveles de ROS y moléculas generadas por ROS, incluidos superóxido, peróxido, radicales hidroxilo y especies reactivas de nitrógeno como el peroxinitrito [4-6]. Oxidan varios componentes celulares y extracelulares, incluidos nucleótidos, ADN,

proteínas, polisacáridos y lípidos, por medio de sus radicales libres no apareados. De estos, se considera importante la 8-hidroxiguanina (8-OHdG), que se produce por la oxidación de las bases de guanina en el ADN y también en las reservas de nucleótidos [7-9]. 8-OHdG es un biomarcador estándar para el estrés oxidativo. Numerosos estudios han informado que la 8-OHdG se acumula en enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como el cáncer, la diabetes mellitus, la enfermedad de Alzheimer, la hipertensión, las enfermedades cardiovasculares, el síndrome metabólico y las enfermedades autoinmunes [10-16]. Se han informado niveles elevados de 8-OHdG en la AR [17, 18] y la aterosclerosis [19].

En la última década, se ha demostrado que el hidrógeno molecular (H<sub>2</sub>) elimina selectivamente radicales hidroxilo altamente reactivos en células cultivadas y organismos vivos [20, 21]. El H<sub>2</sub> ataca los radicales hidroxilo, pero no el superóxido, el peróxido ni el óxido nítrico, que son moléculas importantes para los organismos [22]. Recientemente, se demostró que el consumo de agua con una alta concentración de hidrógeno molecular (4-5 ppm en el agua) mejora significativamente la actividad de la enfermedad y reduce el estrés oxidativo en la AR [23]. H<sub>2</sub> parecía complementar o proporcionar un sustituto de la terapia convencional al reducir el estrés oxidativo y mejorar el daño asociado con la AR, especialmente en las primeras etapas de la enfermedad y en el caso de los anticuerpos contra la AR negativa al péptido cíclico citrulinado (ACPA).

En este artículo de revisión, se analizan las posibles aplicaciones de las nuevas terapias con H<sub>2</sub>, tanto para el diagnóstico como para el tratamiento de la AR. También se mencionan las posibles expectativas para la prevención de la AR y la aterosclerosis relacionada con el consumo diario de agua con alto contenido de H<sub>2</sub>.

## GENERACIÓN DE ROS EN LA INFLAMACIÓN CRÓNICA

Las ROS se producen como un subproducto inevitable de la transferencia de electrones en la fosforilación oxidativa durante el metabolismo aeróbico [24]. Por otro lado, durante las etapas inflamatorias de la AR, la infiltración o proliferación de células inmunoactivadas en el sinovio generan activamente ROS a través del sistema NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) oxidasa (Nox) [25-27]. Entre las ROS generadas activamente, el anión superóxido es el producto principal y se libera en la matriz extracelular y se secuestra en los lisosomas. do

\*Dirección de correspondencia a este autor en el Hospital Haradoi, Departamento de Reumatología y Cirugía Ortopédica, 6-40-8 Aoba, Higashi-ku, Fukuoka 813-8588, Japón; Teléfono: +81-92-691-3881; Fax: +81-92-691-1059; Correo electrónico: toruishi@haradoi-hospital.com

Luego, el peróxido se convierte en peróxido de hidrógeno, ya sea de manera espontánea o catalítica, mediante la superóxido dismutasa (SOD) [28]. El peróxido de hidrógeno se puede convertir en agua mediante catalasa (CAT) [29]. En presencia de hierro ( $Fe^{2+}$ ) u otros iones de metales de transición, el peróxido de hidrógeno se convierte en radicales hidroxilo a través de las reacciones de Fenton [30]. Los iones ferrosos también tienen la capacidad de convertir el superóxido y el peróxido de hidrógeno en radicales hidroxilo mediante la reacción de Haber-Weiss [31]. El sistema de reducción de ROS también lo lleva otro mecanismo que involucra a GPx y GST; este mecanismo requiere glutatión reducido (GSH) como cofactor. La glutatión peroxidasa (GPx) reduce el peróxido de hidrógeno a agua [29] y la glutatión S-transferasa (GST) cataliza varias desintoxicaciones mediante la conjugación de GSH, incluidas las ROS [32]. En conjunto, estos procesos de generación de ROS, que parten de la producción de superóxido por parte del sistema Nox, juegan un papel importante en los mecanismos de defensa. A su vez, estos mecanismos de defensa están dotados de SOD, CAT, GPx y GST, para compensar la toxicidad resultante de las ROS. Las ROS producidas por una inflamación severa o crónica pueden exceder la capacidad de las enzimas antioxidantes correspondientes, lo que parece causar un desequilibrio en el estado redox [33]. Especialmente bajo tales condiciones, el radical hidroxilo es sobrante ilimitado porque no se sabe que exista un sistema de desintoxicación específico en las células vivas. Es probable que sea responsable de la mayor parte de la citotoxicidad asociada con las ROS debido a su reactividad rápida e indiscriminada [34].

#### PAPEL DE ROS EN LA REGULACIÓN REDOX DE NF- $\kappa$ B CASCADAS INFLAMATORIAS DEPENDIENTES EN LA AR

El estrés oxidativo regula varios procesos celulares, incluidas las vías de señalización responsables de las respuestas inflamatorias. El estado de activación de los intermediarios de señalización está regulado por modificaciones de sus grupos tiol (R-SH) mediadas por ROS/GSH [33]. El exceso de producción de ROS interrumpe este equilibrio redox y amplifica las respuestas inflamatorias a través de NF- $\kappa$ B. Este factor de transcripción principal induce la transcripción de varias citocinas proinflamatorias. Todas las ROS descritas anteriormente provocan un desequilibrio del estado redox dentro del tejido inflamado, lo que resulta en la activación de NF- $\kappa$ B y factores de transcripción relacionados. NF- $\kappa$ B es un regulador central de la respuesta inflamatoria celular, ya que controla muchos de los genes implicados en la inflamación [35, 36]. Induce la transcripción de varias citocinas proinflamatorias, incluidas TNF, IL-1 e IL 6, que desempeñan un papel clave en la progresión de la AR y, por lo tanto, son objetivos terapéuticos de fármacos. Entre estos, el TNF juega un papel fundamental en la inflamación persistente de la membrana sinovial de la AR, a través de su estimulación del estrés oxidativo [36, 37]. El TNF, producido aguas abajo del complejo transcripcional NF- $\kappa$ B, reactiva el NF- $\kappa$ B al liberarlo del IB, que en estado estacionario fosforila e inactiva el NF- $\kappa$ B al formar un complejo con este factor de transcripción [38, 39]. De esta manera, el "Bucle 1" actúa como un mecanismo de retroalimentación positiva dentro del sistema NF- $\kappa$ B y TNF y promueve la respuesta inflamatoria (ver el "Bucle 1" en la Fig. 1).

En el tejido sinovial, los altos niveles de citocinas proinflamatorias activan y reclutan neutrófilos, fibroblastos sinoviales y macrófagos, que contribuyen a una mayor producción excesiva de ROS por parte del sistema Nox. Este ROS vuelve a entrar en la vía, aguas arriba de NF- $\kappa$ B, creando otro circuito de retroalimentación positiva dentro de la vía de inflamación sinovial (consulte el "Círculo 2" en la Fig. 1). Estos bucles estimulan la producción de ROS y citocinas proinflamatorias, las cuales contribuyen a la acumulación de estrés oxidativo.

Además del estrés oxidativo, el NF- $\kappa$ B también estimula la actividad proteolítica. Las enzimas proteolíticas desempeñan un papel central en la destrucción de cartílago y hueso asociada con la AR. Las citoquinas que incluyen TNF o IL-1 activan los fibroblastos sinoviales y los macrófagos para producir enzimas que destruyen el cartílago, como las metaloproteinasas (MMP), incluidas MMP-1 y MMP-3. Se cree que son secretados por los fibroblastos sinoviales y los macrófagos, especialmente en el pannus de las articulaciones reumatoideas avanzadas y

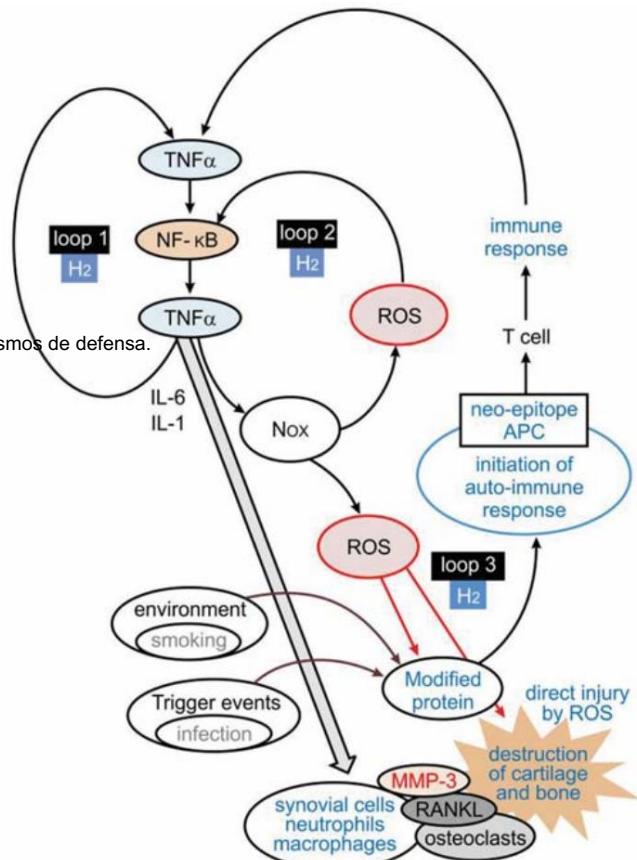


Figura 1). Representación esquemática de los tres bucles implicados en la amplificación de la inflamación en pacientes con AR y aterosclerosis relacionada. El bucle 1 indica el bucle de retroalimentación positiva NF- $\kappa$ B-TNF. El bucle 2 indica el bucle de detección redox por ROS-NF- $\kappa$ B-TNF. Ambos bucles se pueden bloquear usando H2 que elimina los radicales hidroxilo directamente o a través de NF- $\kappa$ B caminos. Las ROS, que son generadas por el sistema Nox y amplificadas a través de estos bucles, luego estimulan los fibroblastos sinoviales, los neutrófilos y los macrófagos, que promueven la erosión del cartílago y el hueso a través de la expresión de MMP-3 o RANKL. Además, las proteínas modificadas por ROS pueden generar un bucle 3 que puede promover la respuesta autoinmune retroalimentando los bucles 1 y 2.

puede degradar el ácido hialurónico, el proteoglicano y el colágeno que construyen el cartílago [40]. Además, los condrocitos estimulados por IL-1 secretan MMP-3 y promueven la absorción de los huesos subcondrales [41, 42]. La MMP-3 se considera una proteasa importante en la destrucción de las articulaciones con AR, ya que la concentración de MMP-3 en el suero de los pacientes con AR se correlaciona con la actividad de la enfermedad [43]. Además, la activación de TNF conduce a la expresión elevada de moléculas, como RANKL (receptor activador de NF- $\kappa$ B ligand), relacionadas con la destrucción ósea [44]. La expresión de RANKL en los fibroblastos sinoviales da como resultado la diferenciación de las células progenitoras de osteoclastos que expresan RANK en su superficie. Las células progenitoras, incluidos los monocitos, que se infiltran en el tejido sinovial, maduran y se convierten en osteoclastos, las células primarias responsables de la absorción del hueso, que son responsables de la erosión ósea asociada con la AR [2, 45]. Nuevamente, las ROS ubicadas aguas arriba de estas citocinas son indirectamente responsables de la destrucción del cartílago y el hueso en las articulaciones de los pacientes con AR (Fig. 1). También se ha discutido que el líquido sinovial en la AR es hipóxico y la reperfusión sinovial parece estimular la cascada redox, incluida la NF-

Recientes terapias antiinflamatorias exitosas dirigidas al TNF parecen atribuirse a la interrupción del bucle inflamatorio 1. Estos hallazgos sugieren que un enfoque terapéutico dirigido al bucle de amplificación ROS TNF reduciría significativamente el daño mediado por la inflamación en las articulaciones de los pacientes con AR. Como es evidente en la (Fig. 1), una terapia de este tipo que rompa el ciclo de retroalimentación de ROS puede ser efectiva y necesaria para prevenir el daño asociado con la AR.

#### DAÑO DIRECTO DEL TEJIDO ARTICULAR POR ROS

La actividad proteolítica no es la única fuente de destrucción de cartílago y hueso asociada con la AR. Las ROS también tienen efectos directos, ya que oxidan y degradan los componentes principales del cartílago y el hueso, incluidos el colágeno y el ácido hialurónico (HA) [6]. Numerosos estudios han detectado productos de reactividad de ROS en suero y en fluidos articulares de pacientes con AR [5]. La presencia de ácido hialurónico en estado reducido y abundante infiltración de leucocitos son características comunes del líquido articular en AR. La degradación de HA es, al menos en parte, el resultado de la fragmentación por radicales hidroxilo [6, 46, 47]. Se cree que la disminución de la viscosidad del líquido articular en pacientes con AR se atribuye a tal degradación de HA. Los radicales hidroxilo también modifican el colágeno, lo que da como resultado la formación de enlaces cruzados o la fragmentación de la proteína [48, 49]. Tal colágeno degradado parece ser más susceptible a la escisión subsiguiente por la proteinasa en el líquido articular.

Estos procesos de degradación y la posterior remodelación tisular del tejido sinovial podrían invitar a actividades fagocíticas y proteinasas, que dan como resultado la inducción de 'Loop1 y Loop 2' inflamatorios activados por ROS-citoquinas, como se muestra en la (Fig. 1). La retroalimentación positiva resultante de la acumulación de productos oxidados podría exacerbar aún más la erosión del cartílago y del hueso, y conducir a la destrucción de las articulaciones. Por lo tanto, la protección de los componentes de la articulación de la degradación directa por ROS representa otro objetivo potencial de la terapia de la AR.

#### ASOCIACIÓN GENÉTICA CON RA Y PAPEL DE ROS EN LA ETIOLOGÍA

Las modificaciones genéticas en la región del antígeno leucocitario humano (HLA) representan casi la mitad de los factores de riesgo de la AR relacionados genéticamente. Por ejemplo, los pacientes que portan el epítopo compartido (SE), la región que codifica las secuencias de aminoácidos QKRAA, QRRAA o RRRAA, en la tercera región hipervariable del antígeno leucocitario humano-DRB1 (HLA-DRB1) tienen una alta susceptibilidad a desarrollar AR [50, 51]. Se informó que el riesgo de AR era del 15 % para los gemelos monocigóticos portadores del SE [52], en comparación con el 1 % en la población general. Este motivo predice no solo la susceptibilidad a la AR, sino también la gravedad del pronóstico [51]. Recientemente se ha postulado que la combinación de SE con otros factores como polimorfismos genéticos y/o ambientales interactúan para aumentar la susceptibilidad a la AR. En primer lugar, se ha informado que las interacciones positivas significativas entre HLA-DRB1-SE y el tabaquismo y el autoanticuerpo denominado ACPA conllevan el mayor riesgo de aparición de AR [53, 54]. En segundo lugar, las mutaciones funcionales en la enzima antioxidante GST están involucradas en el aumento de la susceptibilidad genética de los pacientes con AR a medida que aumentan el estrés oxidativo. El genotipo GST Mu-1 (GSTM1-null), que produce una inhibición completa de la actividad enzimática, ejerce interacciones aditivas significativas con HLA-DRB1-SE sobre el riesgo de ser ACPA positivo en pacientes con AR [55]; este estudio proporciona evidencia de que el estrés oxidativo aumenta la susceptibilidad para el desarrollo de AR.

El estrés oxidativo puede participar en la etiología de la AR a través de la interacción directa con el ADN. Por ejemplo, la 8-OHdG se produce mediante la oxidación de las bases de guanina del ADN y también está presente en las reservas de nucleótidos [7-9]. Es altamente mutagénico porque se empareja tanto con la adenina como con la citosina. Esta propiedad provoca mutaciones de transversión durante la replicación del ADN. En consecuencia, existe la posibilidad de que las ROS puedan inducir mutaciones somáticas que den como resultado una alteración de la función proteica y/o la inmunogenicidad y funcionen como neoepitopos.

[56-58]. Estos podrían continuar activando el sistema inmunológico [58, 59]. Se han informado niveles elevados de 8-OHdG en la AR [17, 18]. Sin embargo, las mutaciones somáticas del ADN genómico no parecen ser responsables del autoantígeno en la AR. Si lo fueran, uno esperaría epitopos homogéneos y estables en el bolsillo de la APC en el tejido sinovial; sin embargo, estos nunca se han detectado incluso después de una extensa investigación.

Otra posibilidad es que ROS prepare la respuesta inmune a través de efectos sobre el ADN mitocondrial (ADNm). Una célula somática tiene múltiples copias de mitocondrias, las cuales tienen un genoma individual susceptible a mutaciones causadas por ROS [60-62]. Se ha informado que las mutaciones somáticas del mtDNA están asociadas con la AR [63]. Existe una posibilidad ligeramente mayor de que las mutaciones del mtDNA sean responsables de estimular la respuesta inmunitaria porque sería más difícil de demostrar. Se han identificado posibles mutaciones en el mtDNA y cinco péptidos mutados que podrían representar un SE en pacientes con AR [64].

Con respecto al papel potencial de ROS en la etiología de la AR, las consideraciones más comunes involucran procesos aguas abajo del ADN. Por ejemplo, el ácido nucleico mutagénico, 8-hidroxi guanosina, también provoca una supresión fenotípica parcial durante la transcripción [65]. Es probable que las proteínas de error se identifiquen como moléculas extrañas y funcionen como neoepitopos [5, 58]. Las proteínas de error con modificaciones postraduccionales alternativas también se incluyen en esta hipótesis. Los anticuerpos para las proteínas modificadas postraduccionamente que contienen citrulina son altamente detectados, especialmente entre pacientes con AR con mal pronóstico. Aunque la relación entre ROS y la pérdida de tolerancia a la proteína citrulinada sigue sin estar clara, las alteraciones estructurales de los motivos peptídicos causadas por la modificación oxidativa pueden desempeñar un papel. Debido a que esos antígenos se oxidan después de la transcripción o después de la traducción, parecen ser bastante heterogéneos. Si existe la posibilidad de que tales antígenos heterogéneos puedan activar la respuesta inmunitaria de manera consistente, parece que deben tener una estructura compartida o caracteres electroquímicos mutuos, especialmente en condiciones oxidativas. Esta hipótesis establecería un tercer bucle, en el que participarían las ROS, en la vía de la inflamación (véase el bucle 3 de la figura 1), que implicaría el cebado de la respuesta autoinmune para establecer clones de células T de memoria frente a tales neoepitopos presentados en las células presentadoras de antígenos (APC). En el estado, la regulación a la baja de ROS parece disminuir los neoepitopos de la AR.

#### ATEROSCLEROSIS ASOCIADA A AR

La aterosclerosis es una comorbilidad común de la AR y una de las principales causas de enfermedades cardiovasculares (ECV) y una mayor mortalidad entre los pacientes con AR [66, 67]. Mientras que la patogenia de la aterosclerosis suele implicar los factores de riesgo clásicos, como la hipertensión, la obesidad o el tabaquismo, la aterosclerosis asociada con la AR a menudo se produce independientemente de estos factores. En cambio, las cascadas inflamatorias comunes tanto a la AR como a la aterosclerosis, incluidas las citoquinas proinflamatorias y las ERO, parecen ser las responsables de la asociación entre estos trastornos (ver esquema en la Fig. 2). Estas vías inflamatorias afectan la estructura endotelial de los vasos sanguíneos, así como los tejidos sinoviales en la AR. Se cree que el superóxido, producido por las células endoteliales y las células del músculo liso a través de las vías Nox, incluidas Nox1, Nox2, Nox4 y Nox5, está involucrado en la disfunción endotelial y el progreso de la aterosclerosis relacionado con ROS [68-71]. En el caso de la aterosclerosis, la LDL oxidada, situada aguas abajo de la intersección de estas vías, induce la formación de placa responsable del aumento del riesgo de ECV [72, 73]. El desarrollo de aterosclerosis en pacientes con AR se inicia por alteraciones fenotípicas endoteliales en respuesta a grandes cantidades de estímulos nocivos. El aumento de la expresión de moléculas de adhesión como las moléculas de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), la molécula de adhesión de células vasculares-1 (VCAM-1) y la E-selectina, la potenciación de las citoquinas proinflamatorias (TNF-, IL-1, interferón-) y el aumento del estrés oxidativo inician esta condición.

[33]. Se informó que la regulación positiva de la expresión de TNF, por sí sola, puede causar disfunción vascular [74]. En voluntarios sanos, la administración intraarterial de TNF, a una dosis de 80 o 240 ng/min durante 30 min, provocó una inflamación vascular aguda asociada con una estructura endotelial alterada. Recientemente, se ha informado que las terapias anti-TNF podrían mejorar la progresión de la aterosclerosis en pacientes con AR [3, 75]. Estos resultados indican que la patogenia de la aterosclerosis en la AR está causada por la vía inflamatoria TNF/ROS compartida en el cruce entre los bucles 1 y 2, como se muestra en la (fig. 2). En consecuencia, las ROS deberían representar una diana terapéutica adecuada para el tratamiento tanto de la AR como de la aterosclerosis asociada.

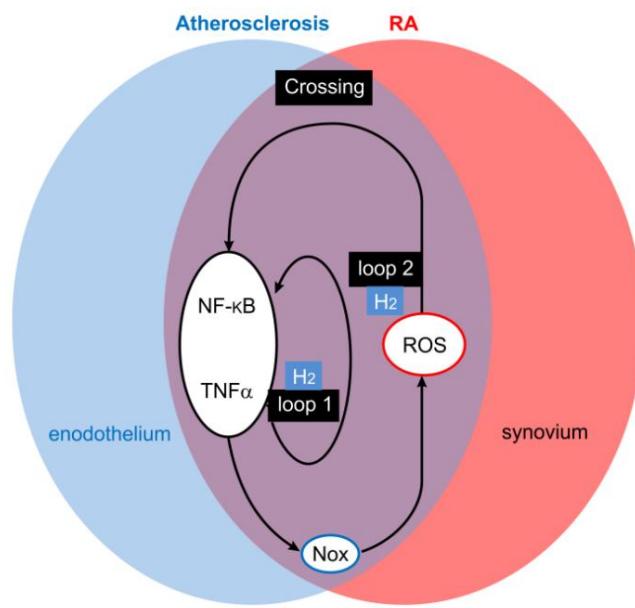


Figura 2). Una representación esquemática de las cascadas inflamatorias comunes tanto a la AR como a la aterosclerosis. Esta cascada inflamatoria común incluye tanto el bucle 1 como el bucle 2, lo que amplifica las reacciones de retroalimentación positiva. Se cree que la aterosclerosis se complica por la inflamación resultante de la AR.

#### POTENCIAL TERAPÉUTICO DEL HIDRÓGENO MOLECULAR (H<sub>2</sub>) PARA EL TRATAMIENTO DE LA AR La presente revisión

destacó las múltiples funciones de las ROS en el desarrollo de la AR y la aterosclerosis, como agentes dañinos tóxicos, en la amplificación de la respuesta inflamatoria dependiente de NF-B y como agentes mutagénicos. En consecuencia, los nuevos enfoques terapéuticos deberían tener como objetivo la reducción de ROS en la circulación y en las articulaciones de los pacientes con AR. En los últimos 30 años, varios estudios clínicos evaluaron el potencial de las terapias antioxidantes para la AR utilizando formas predominantemente sintéticas de SOD o el eliminador de ROS edaravone [76-79].

Sin embargo, estos resultados no establecen claramente si estos depuradores reducen efectivamente la actividad de la enfermedad en pacientes con AR. Además, ninguno de ellos apuntó al radical hidroxilo, que parece ser responsable de la mayor parte del daño causado por ROS. A diferencia del superóxido, que puede ser eliminado por SOD, el radical hidroxilo no puede ser eliminado por una enzima. En consecuencia, las estrategias antioxidantes previstas hasta el momento no se dirigían al miembro más destructivo de la familia ROS. Teniendo en cuenta la participación central de ROS en las vías inflamatorias de la AR y que el radical hidroxilo es la especie más tóxica, uno esperaría terapias dirigidas a este radical para un tratamiento eficaz.

Un antioxidante que ha mostrado resultados prometedores es el hidrógeno molecular (H<sub>2</sub>). El hidrógeno molecular reacciona con el radical hidroxilo y lo desintoxica sin formar otros radicales [21, 80]. En la última década, el H<sub>2</sub> se ha explorado en el tratamiento de la oxidación.

estrés. Numerosos estudios en animales han demostrado el potencial terapéutico del H<sub>2</sub> para enfermedades asociadas a ROS [22], y ya se ha utilizado en algunos tratamientos clínicos, como diabetes mellitus tipo II, síndrome metabólico, hemodiálisis, enfermedades musculares e infarto agudo de tronco encefálico [81-85]. El potencial terapéutico del H<sub>2</sub> se mostró por primera vez utilizando el modelo para la inflamación hepática crónica asociada a la esquistosomiasis. En el estudio, los hígados de ratones infectados con esquistosomiasis se protegieron de la inflamación crónica mediante el tratamiento con 0,7 MPa de hidrógeno durante dos semanas [21]. Además, también se ha demostrado que el H<sub>2</sub> elimina selectivamente el radical hidroxilo en células cultivadas y organismos vivos [20]. Además de su potencial terapéutico para la eliminación de radicales hidroxilo, el H<sub>2</sub> es también utilizado por buceadores de aguas profundas para prevenir la enfermedad por descompresión, donde se ha establecido su seguridad [86, 87]. Durante estas aplicaciones prácticas y experimentales de H<sub>2</sub>, no se han informado efectos adversos.

Recientemente, informamos que el H<sub>2</sub> es la molécula eficaz no solo para un uso compensatorio junto con medicamentos antirreumáticos insuficientes, sino también para el uso diagnóstico o monoterapéutico en etapas tempranas en pacientes con AR [23]. En el estudio, a los pacientes se les administró agua que contenía 4-5 ppm de H<sub>2</sub> (agua alta en H<sub>2</sub>). Al beber 500 ml de agua con alto contenido de H<sub>2</sub> diariamente durante cuatro semanas, el estrés oxidativo se redujo de manera efectiva y la actividad de la enfermedad en la AR mejoró significativamente. H<sub>2</sub> parecía haber complementado la terapia convencional de AR al reducir el estrés oxidativo. Al menos en la etapa temprana de la progresión de la enfermedad y entre los pacientes con ACPA negativo, H<sub>2</sub> parece tener un potencial para ayudar con el diagnóstico y tratamiento de la AR no agresiva o transitoria. Además, considerando los mecanismos de cruce que se muestran en la (Fig. 2), esperamos que el desarrollo de la aterosclerosis en pacientes con AR pueda ralentizarse o incluso prevenirse mediante la captación diaria de H<sub>2</sub> (que se muestra en la Fig. 2).

Todavía quedan muchas preguntas con respecto a la efectividad de H<sub>2</sub> para el tratamiento de la AR. Entre las preocupaciones expresadas por los expertos en el campo están el corto tiempo de residencia y la cantidad extremadamente baja de H<sub>2</sub> administrada por el agua potable con 1,6 ppm de H<sub>2</sub> como máximo que el gas H<sub>2</sub> al 2 % inhalado. Esta discrepancia de más de 100 veces la diferencia entre ellos, incluso si parecen tener efectos biológicos similares en los organismos, se ha discutido previamente [80]. Los autores propusieron la posibilidad del H<sub>2</sub> como modulador de señales gaseosas para explicar los mecanismos desconocidos de los efectos del H<sub>2</sub>. Otra preocupación está relacionada con las alteraciones de la expresión génica que se han medido en respuesta a H<sub>2</sub>, mediante el análisis de micromatrices de ADN [88]. En este estudio, H<sub>2</sub> provocó la regulación positiva de 548 y la regulación negativa de 695 genes en hígado de rata. Entre estos, la regulación positiva de genes relacionados con redox fue especialmente prominente. Los resultados plantearon la posibilidad de que, aunque de magnitud mínima, numerosos efectos sobre la expresión génica causados por H<sub>2</sub> puedan cambiar las reacciones moleculares indirectas en un organismo. Además, aún se desconocen mecanismos adicionales relacionados con los productos del radical hidroxilo. Discuto algunos de ellos en la siguiente sección.

#### EXPECTATIVAS EN RELACIÓN CON EL USO DE H<sub>2</sub> PARA LA PREVENCIÓN DE AR Y ATROSCLEROSIS

En nuestro estudio, el H<sub>2</sub> parece tener una influencia incluso durante el período de lavado cuando los pacientes no bebieron agua con alto contenido de H<sub>2</sub> durante 4 semanas [23]. La persistencia de este efecto no puede explicarse por la continua eliminación del radical hidroxilo. Se cree que H<sub>2</sub> llegar al citosol, al núcleo e incluso a las mitocondrias de varios tejidos por difusión gaseosa [22]. El H<sub>2</sub> administrado a través de agua con alto contenido de H<sub>2</sub> y agua saturada de H<sub>2</sub> (que contiene 1,6 ppm de H<sub>2</sub>) alcanzó rápidamente la concentración máxima en el pulmón en 10 min y se exhaló en 60 min [23]. Esto indica que el exceso de H<sub>2</sub> pasado a través del cuerpo dentro de un período pequeño, a excepción del H<sub>2</sub>, que parece haber reaccionado con el radical hidroxilo. La eliminación de los radicales hidroxilo y la interferencia con las vías de respuesta inflamatoria descritas anteriormente probablemente se debieron a la exposición al H<sub>2</sub>; sin embargo, se requieren otras explicaciones para explicar la continuación

de los beneficios observados una vez finalizada la administración de H2 . Los efectos de los radicales hidroxilo son rápidos y perjudiciales, pero las moléculas diana oxidadas por los radicales hidroxilo pueden llevar la señal "reactiva" hasta que se degrada. La estimulación constitutiva por tales moléculas oxidadas puede ser elegible para la inflamación crónica de la AR. Una de esas moléculas es 8-OHDG, pero otras moléculas que se han desconocido o se han descuidado deben investigarse en el futuro.

Mediante el uso terapéutico de H2 para la AR, se pueden resolver algunas cuestiones relativas a la etiología de la AR. Si el antígeno modificado es producido por el radical hidroxilo y las moléculas inmunogénicas con el epítopo compartido son responsables de la aparición de la AR, el H2 podría eliminar el estado inmunogénico durante las primeras etapas de la AR, dando como resultado solo una inflamación transitoria. En tales casos, no se requeriría el consumo constitutivo de H2 , al menos hasta que ocurran los siguientes eventos desencadenantes, como infecciones o estrés ambiental.

Alternativamente, si se requeriría el consumo constitutivo de H2 para mejorar la AR incluso en la etapa inicial, el H2 parece ser efectivo excepto por el 'Loop 3' en (Fig. 1). Ambos esquemas son posibles. Como se cree ampliamente que la AR se divide en subclases en función de sus mecanismos de aparición o pronóstico, la eficacia de H2 en el tratamiento de la AR puede diferir entre las subclases de AR.

En conjunto, es concebible que la terapia H2 tenga una ventana de oportunidad individual. La ventana de oportunidad terapéutica es fundamental para determinar el pronóstico de la AR, como suele observarse con los fármacos inmunosupresores convencionales. Si se pierde esta ventana, la inflamación puede avanzar y causar la destrucción de las articulaciones y los huesos. La ventana para la terapia con H2 dependerá de las etapas en las que H2 trabaje para reducir la inflamación, como se muestra en la (Fig. 1). En los casos en que la terapia con H2 pierde las oportunidades, puede tener solo un efecto limitado sobre la inflamación de la AR.

El éxito reciente y el cambio de paradigma dentro de las terapias con medicamentos parecen ignorar los esfuerzos por comprender el origen de la AR. Cuando el H2 observa la relación precisa entre RA y ROS , debemos recordar el objetivo final de exterminar el autoantígeno responsable de la RA.

Se requieren más estudios para confirmar la eficacia terapéutica de H2 en la AR. Se están realizando investigaciones aleatorias, doble ciego y controladas con placebo de los efectos del agua con alto contenido de H2 y la infusión de solución salina resuelta con H2 (datos no mostrados). Esperamos que la terapia con H2 en una etapa muy temprana pueda prevenir la aparición de AR, si es capaz de interferir con Loop 3 en el inicio de la respuesta autoinmune al reducir el neoepítopo relacionado con ROS. Alternativamente, la eventual activación de citocinas proinflamatorias, que pueden desencadenar la respuesta autoinmune, puede prevenirse con H2 diario. consumo.

## CONCLUSIÓN

El H2 es un gas inerte presente en el cuerpo humano y no está clasificado como medicamento, pero se ha demostrado que tiene un potencial terapéutico y de diagnóstico para la AR, como se analiza aquí. El aparato para crear agua enriquecida con H2 (más de 5 ppm de H2) ya está disponible comercialmente. El efecto preventivo de H2 puede ser demostrado por aquellas poblaciones que beben agua con alto contenido de H2 diariamente. Además, se necesitan con urgencia investigaciones adicionales sobre los beneficios de H2 para los pacientes con AR, ya que la terapia con H2 tiene un enorme potencial, pero actualmente está infratratilizada y sus beneficios no se exploran a fondo.

## CONFLICTO DE INTERESES

El autor confirma que el contenido de este artículo no tiene conflictos de intereses.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Bunpei Sato, Mami Nagao, Yuichi Hara, Yuji Naritomi, Hiroshi Hara y Tetsuhiko Nagao por su apoyo durante la

preparación del manuscrito. También estoy agradecido con Kota Sasaki y Kazuhisa Fukuoka por sus excelentes consejos.

## ABREVIATURAS

8-OHDG = 8-hidroxidesoxiguanina

ACPA = Anticuerpos contra el péptido citrulinado cíclico

DAS28 = Puntuación de actividad de la enfermedad en 28 articulaciones

APC = Células presentadoras de antígeno

ECV = enfermedad cardiovascular

Nox = Nicotinamida adenina dinucleótido fosfatooxi fecha

GATO = Catalasa

GSH = glutatión reducido

GPx = glutatión peroxidasa

GST = glutatión S-transferasa

HLA = antígeno leucocitario humano

ROS = especies reactivas de oxígeno

RA = artritis reumatoide

CÉSPED = superóxido dismutasa

TNF = factor de necrosis tumoral

NF-B = Factor nuclear kappa B

ADNmt = ADN mitocondrial

RANGO = Activador del receptor de NF-B

ICAM-1 = Moléculas de adhesión intercelular-1

VCAM-1 = molécula de adhesión de células vasculares-1

## REFERENCIAS

- [1] Smith HS, Smith AR, Seidner P. Artritis reumatoide dolorosa. Médico del dolor. 2011; 14: E427-58.
- [2] McInnes IB, Schett G. La patogenia de la artritis reumatoide. N Engl J Med 2011; 365: 2205-19.
- [3] Gonzalez-Juanatey C, Vazquez-Rodriguez TR, Miranda-Filloy JA, et al. La terapia anti-TNF-alfa-adalimumab se asocia con una mejora persistente de la función endotelial sin progresión del grosor de la pared íntima-media carotídea en pacientes con artritis reumatoide refractaria a la terapia convencional. Mediadores Inflamm 2012 doi: 10.1155/2012/674265 Filippin LI, Vercelino R,
- [4] Marroni NP, Xavier RM. Señalización redox y la respuesta inflamatoria en la artritis reumatoide. Clin Exp Immunol 2012; 152: 415-22.
- [5] Winyard PG, Ryan B, Eggleton P, et al. Medición y significado de marcadores de especies reactivas de oxígeno, nitrógeno y azufre en sujetos humanos sanos y pacientes con enfermedad articular inflamatoria. Biochem Soc Trans 2011; 39: 1226-32.
- [6] Hadjigogos K. El papel de los radicales libres en la patogenia de la artritis reumatoide. Panminerva Med 2003; 45: 7-13.
- [7] Kasai H, Crain PF, Kuchino Y, Nishimura S, Ootsuyama A, Tanooka H. Formación de la fracción 8-hidroxiguanina en el ADN celular por agentes que producen radicales de oxígeno y evidencia de su reparación. Carcinogénesis 1986; 7: 1849-51.
- [8] Maki H, Sekiguchi M. La proteína MutT hidroliza específicamente un sustrato mutagénico potente para la síntesis de ADN. Naturaleza 1992; 355: 273-5.
- [9] Ishibashi T, Hayakawa H, Sekiguchi M. Un nuevo mecanismo para prevenir mutaciones causadas por la oxidación de nucleótidos de guanina. representante de EMBO 2003; 4: 479-83.
- [10] Negishi H, Ikeda K, Kuga S, et al. La relación del daño oxidativo del ADN con la hipertensión y otros factores de riesgo cardiovascular en Tanzania. J Hipertens 2001; 19: 529-33.
- [11] Nishikawa T, Sasahara T, Kiritoshi S, et al. Evaluación de la 8-hidroxidesoxiguanosina urinaria como un nuevo biomarcador de complicaciones macrovasculares en la diabetes tipo 2. Cuidado de la Diabetes 2003; 26: 1507-12.
- [12] Shen J, Gammon MD, Terry MB, et al. Longitud de los telómeros, daño oxidativo, antioxidantes y riesgo de cáncer de mama. Int J Cáncer 2009; 124: 1637-43.

- [13] Bashir S, Harris G, Denman MA, Blake DR, Winyard PG. Daño oxidativo del ADN y sensibilidad celular al estrés oxidativo en enfermedades autoinmunes humanas. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 659-66.
- [14] Miyamoto M, Kotani K, Ishibashi S, Taniguchi N. La relación entre la 8-hidroxideoxiguanosina urinaria y los factores de riesgo metabólicos en sujetos asintomáticos. *Práctica de Principios Médicos* 2001; 20: 187-90.
- [15] Masugata H, Senda S, Murao K, et al. Asociación entre la 8-Hidroxideoxiguanosina urinaria, un indicador de estrés oxidativo, y el índice vascular cardio-tobillo en pacientes hipertensos. *J Atheroscler Thromb* 2012; 19: 747-55.
- [16] Mao P, Manczak M, Calkins MJ, et al. La catalasa dirigida a las mitocondrias reduce el procesamiento anormal de APP, la producción de beta amiloide y BACE1 en un modelo de ratón con enfermedad de Alzheimer: implicaciones para la neuroprotección y la extensión de la vida útil. *Hum Mol Gen* 2012; 21: 2973-90.
- [17] Kageyama Y, Takahashi M, Ichikawa T, Torikai E, Nagano A. Reducción del estrés oxidativo y del índice vascular cardio-tobillo en los niveles de marcadores hipertensivos por el anticuerpo anti-TNF-alfa, infliximab, en pacientes con artritis reumatoide. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26: 73-80.
- [18] Rall LC, Roubenoff R, Meydani SN, Han SN, Meydani M. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHDG) urinaria como marcador de estrés oxidativo en la artritis reumatoide y el envejecimiento: efecto del entrenamiento de fuerza progresivo. *J Nutr Biochem* 2000; 11: 581-4.
- [19] Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT. 8-OHDG urinario: marcador de estrés oxidativo en el ADN y factor de riesgo de cáncer, aterosclerosis y diabetes. *Clin Chim Acta* 2004; 339: 1-9.
- [20] Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. El hidrógeno actúa como un antioxidante terapéutico al reducir selectivamente los radicales de oxígeno citotóxicos. *Naturaleza Med* 2007; 13: 688-94.
- [21] Gharib B, Hanna S, Abdallah OM, Lepidi H, Gardette B, De Reggi M. Propiedades antiinflamatorias del hidrógeno molecular: investigación sobre la inflamación hepática inducida por parásitos. *CR Acad Sci III* 2001; 324: 719-24.
- [22] Ohta S. Progreso reciente hacia la medicina del hidrógeno: potencial del hidrógeno molecular para aplicaciones preventivas y terapéuticas. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 2241-52.
- [23] Ishibashi T, Sato B, Rikitake M, et al. El consumo de agua que contiene una alta concentración de hidrógeno molecular reduce el estrés oxidativo y la actividad de la enfermedad en pacientes con artritis reumatoide: un estudio piloto de etiqueta abierta. *Med Gas Res* 2012; 2: 27.
- [24] Takahashi M. Estrés oxidativo y regulación redox en *in vitro* desarrollo de embriones de mamíferos. *J Reprod Dev* 2012; 58: 1-9.
- [25] Chenevier-Gobeaux C, Lemarchal H, Bonnefont-Rousselot D, Poiraudeau S, Ekindjian OG, Borderie D. Producción de superóxido y expresión de NADPH oxidasa en células sinoviales reumatoideas humanas: regulación por interleucina-1 beta y factor de necrosis tumoral alfa. *Inflamm Res* 2006; 55: 483-90.
- [26] Recursos humanos de Griffiths. ¿La generación de determinantes neoantígenicos por parte de los radicales libres es fundamental para el desarrollo de la enfermedad reumatoide autoinmune? *Autoimmun Rev* 2008; 7: 544-9.
- [27] Kundu S, Ghosh P, Datta S, Ghosh A, Chattopadhyay S, Chatterjee M. El estrés oxidativo como biomarcador potencial para determinar la actividad de la enfermedad en pacientes con artritis reumatoide. *Radic Res Res* 2012; 46: 1482-9.
- [28] Turrens JF. Formación mitocondrial de especies reactivas de oxígeno. *J Physiol* 2003; 552: 335-44.
- [29] Droege W. Los radicales libres en el control fisiológico de la función celular. *Physiol Rev* 2002; 82: 47-95.
- [30] Sheu SS, Nauduri D, Anders MW. Orientación de los antioxidantes a las mitocondrias: una nueva dirección terapéutica. *Biochim Biophys Acta* 2006; 762: 256-65.
- [31] Puppo A, Halliwell B. Formación de radicales hidroxilo en sistemas biológicos. ¿La mioglobina estimula la formación de radicales hidroxilo a partir del peróxido de hidrógeno? *Free Radic Res Commun* 1988; 4: 415-22.
- [32] Yang Y, Parsons KK, Chi L, Malakauskas SM, Le TH. La glutatión S-transferasa-micro1 regula la proliferación, la migración y el estrés oxidativo de las células del músculo liso vascular. *Hipertensión* 2009; 54: 1360-8.
- [33] Kondo T, Hirose M, Kageyama K. Funciones del estrés oxidativo y la regulación redox en la aterosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2009; 16: 532-8.
- [34] Candeias LP, Patel KB, Stratford MR, Wardman P. Los radicales hidroxilo libres se forman en la reacción entre los derivados de neutrófilos especies anión superóxido y ácido hipocloroso. *FEBS Lett* 1993; 333: 151-3.
- [35] Gulati P, Klohn PC, Krug H, Göttlicher M, Markova B, Böhmer FD, Herrlich P. Regulación redox en la transducción de señales de mamíferos. *Vida IUBMB* 2001; 52: 25-8.
- [36] Hitchon CA, El-Gabalawy HS. Oxidación en la artritis reumatoide. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: 265-78.
- [37] Williams RO, Feldmann M, Maini RN. El factor de necrosis antitumoral mejora la enfermedad articular en la artritis inducida por colágeno murino. *Proc Nat Acad Sci USA* 1992; 89: 9784-8.
- [38] Lawrence T, Bebbien M, Liu GY, Nizet V, Karin M. IKK alfa limita la activación de macrófagos NF- $\kappa$ B y contribuye a la resolución de la inflamación. *Naturaleza* 2005; 434: 1138-43.
- [39] Lee EG, Boone DL, Chai S, et al. Incapacidad para regular las respuestas de muerte celular y NF- $\kappa$ B inducidas por TNF en ratones con deficiencia de A20. *Science* 2000; 289: 2350-4.
- [40] Klareskog L, Catrina AI, Paget S. Artritis reumatoide. *Lanceta* 2009; 373: 659-72.
- [41] Schett G, Stach C, Zwerina J, Voll R, Manger B. Cómo los fármacos antirreumáticos protegen las articulaciones del daño en la artritis reumatoide. *Arthritis Rheum* 2006; 58: 2936-48.
- [42] Schett G. Revisión: Células inmunes y mediadores de la artritis inflamatoria. *Autoinmunidad* 2008; 41: 224-9.
- [43] Urata Y, Uesato R, Tanaka D, Nakamura Y, Motomura S. El tratamiento para apuntar a la normalización de la metaloproteína de matriz 3 junto con una puntuación de actividad de la enfermedad por debajo de 2,6 produce mejores efectos que cada uno solo en pacientes con artritis reumatoide: Estudio T-4. *Ann Rheum Dis* 2012; 71: 534-40.
- [44] Lee SH, Kim TS, Choi Y, Lorenzo J. Osteoinmunología: citoquinas y el sistema esquelético. *Informes BMB* 2008; 41: 495-510.
- [45] Hitchon CA, El-Gabalawy HS. La membrana sinovial en la artritis reumatoide. *Abierto Rheumatol J* 2011; 5: 107-14.
- [46] Grootveld M, Henderson EB, Farrell A, Blake DR, Parkes HG, Haycock P. Daño oxidativo al hialuronato y la glucosa en el líquido sinovial durante el ejercicio de la articulación reumatoide inflamada. Detección de metabolitos anormales de bajo peso molecular mediante espectroscopía de RMN de protones. *Biochem J* 1991; 273: 459-67.
- [47] Uchiyama H, Dobashi Y, Ohkouchi K, Nagasawa K. Cambio químico involucrado en la despolimerización oxidativa reductora del ácido hialurónico. *J Biol Chem* 1990; 265: 7753-9.
- [48] Hawkins CL, Davies MJ. Daño oxidativo al colágeno y sustratos relacionados por sistemas de peróxido de hidrógeno/iones metálicos: ¿ataque aleatorio o daño específico del sitio? *Biochim Biophys Acta* 1997; 1360: 84-96.
- [49] Deberg M, Labasse A, Christgau S, et al. Nuevos marcadores bioquímicos séricos (Coll 2-1 y Coll 2-1 NO2) para estudiar la degradación de la red de colágeno tipo II relacionada con la oxidación en pacientes con osteoartritis y artritis reumatoide. *osteoartritis cartílago* 2005; 13: 258-65.
- [50] Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. La hipótesis del epítopo compartido. Un enfoque para comprender la genética molecular de la susceptibilidad a la artritis reumatoide. *Arthritis Rheum* 1987; 30: 1205-13.
- [51] Holoshitz J. El epítopo compartido HLA-DRB1 de la artritis reumatoide. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22: 293-8.
- [52] Silman AJ, MacGregor AJ, Thomson W, et al. Tasas de concordancia de gemelos para la artritis reumatoide: resultados de un estudio nacional. *Brit J Rheumatol* 1993; 32: 903-7.
- [53] Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, et al. Un nuevo modelo para una etiología de la artritis reumatoide: fumar puede desencadenar reacciones inmunes restringidas por HLA-DR (epítopo compartido) a autoantígenos modificados por citrulinación. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 38-46.
- [54] Willemze A, van der Woude D, Ghidley W, et al. La interacción entre los alelos del epítopo compartido HLA y el tabaquismo y su contribución a la autoinmunidad contra varios antígenos citrulinados. *Arthritis Rheum* 2011; 63: 1823-32.
- [55] Mikuls TR, Gould KA, Bynote KK, et al. Anticuerpo anti-proteína citrulinada (ACPA) en la artritis reumatoide: influencia de una interacción entre el epítopo compartido HLA-DRB1 y un polimorfismo de delección en la glutatión S-transferasa en un estudio transversal. *Arthritis Res Ther* 2010; 12: R213.
- [56] Phillips DC, Dias HK, Kitas GD, Griffiths HR. Generación aberrante de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno en la artritis reumatoide (AR): causas y consecuencias para la función inmune, la supervivencia celular y la intervención terapéutica. *Antioxid Redox Signal* 2010; 12: 743-85.

- [57] Tak PP, Zvaifler NJ, Green DR, Firestein GS. Artritis reumatoide y p53: cómo el estrés oxidativo podría alterar el curso de las enfermedades inflamatorias. *Immunol Hoy* 2000; 21: 78-82.
- [58] Bang H, Egerer K, Gauliard A, et al. La mutación y la citrulinación modifican la vimentina a un nuevo autoantígeno para la artritis reumatoide. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2503-11.
- [59] Remans PH, van Oosterhout M, Smeets TJ, et al. Producción intracelular de radicales libres en linfocitos T sinoviales de pacientes con artritis reumatoide. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2003-9.
- [60] Liu P, Demple B. Reparación de ADN en mitocondrias de mamíferos: ¿mucho más de lo que pensábamos? *Environ Mol mutágeno* 2010; 51: 417-26.
- [61] Falkenberg M, Larsson NG, Gustafsson CM. Replicación y transcripción de ADN en mitocondrias de mamíferos. *Anual Rev Biochem* 2007; 76: 679-99.
- [62] Schriner SE, Linford NJ, Martin GM, et al. Extensión de la vida útil murina por sobreexpresión de catalasa dirigida a las mitocondrias. *Ciencia* 2005; 308: 1909-11.
- [63] Da Sylva TR, Connor A, Mburu Y, Keystone E, Wu GE. Mutaciones somáticas en las mitocondrias de los sinovioцитos de la artritis reumatoide. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: R844-51.
- [64] Ospelt C, Gay S. Mutaciones somáticas en las mitocondrias: ¿la gallina o el huevo? *Arthritis Res Ther* 2005; 7: 179-80.
- [65] Ishibashi T, Hayakawa H, Ito R, Miyazawa M, Yamagata Y, Sekiguchi M. Enzimas de mamíferos para prevenir errores transcripcionales causados por daño oxidativo. *Ácidos Nucleicos Res* 2005; 33: 3779-84.
- [66] Cavagna L, Boffini N, Cagnotto G, Inverardi F, Grosso V, Caporali R. Aterosclerosis y artritis reumatoide: más que una simple asociación. *Mediadores Inflamm* 2012; doi: 10.1155/2012/147354 Ozbalkan Z, Efe C, Cesur M, et al. Una actualización sobre las relaciones entre la artritis reumatoide y la aterosclerosis. *Atherosclerosis* 2010; 212: 377-82.
- [68] Takac I, Schroder K, Brandes RP. La familia Nox de NADPH oxidasas: ¿amiga o enemiga del sistema vascular? *Curr Hypertens Rep* 2012; 14: 70-8.
- [69] Montezano AC, Touyz RM. Especies reactivas de oxígeno y función endotelial: papel del desacoplamiento de la óxido nítrico sintasa y las nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidases de la familia Nox. *Ba sic Clin Pharmacol Toxicol* 2012; 110: 87-94.
- [70] Al Ghouléh I, Khoo NK, Knaus UG, et al. Oxidasas y peroxidasas en enfermedades cardiovasculares y pulmonares: nuevos conceptos en la señalización de especies reactivas de oxígeno. *Radicales libres Biol Med* 2011; 51: 1271-88.
- [71] Bedard K, Krause KH. La familia NOX de NADPH oxidasas generadoras de ROS: fisiología y fisiopatología. *Physiol Rev* 2007; 87: 245-313.
- [72] Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidación de LDL por mieloperoxidasa y especies reactivas de nitrógeno: vías de reacción y protección antioxidante. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1716-23.
- [73] Yoshida H, Kisugi R. Mecanismos de oxidación de LDL. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 1875-82.
- [74] Chia S, Qadan M, Newton R, Ludlam CA, Fox KA, Newby DE. El factor de necrosis tumoral alfa intraarterial altera el endotelio
- [75] vasodilatación dependiente y estimula la liberación local del activador del plasminógeno tisular en humanos. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 695-701.
- [76] Szekanecz Z, Kerekes G, Soltesz P. Efectos vasculares de los agentes biológicos en la AR y las espondiloartropatías. *Nat Rev Rheumatol* 2009; 5: 677-84.
- [77] Goebel KM, Storck U, Neurath. Orgote intrasinovial en la terapia de la artritis reumatoide. *Lancet* 1981; 1: 1015-17.
- [78] Arii K, Kumon Y, Ikeda Y, Suehiro T, Hashimoto K. Edaravone inhibe la actividad de la enfermedad en la artritis reumatoide. *J Clin Pharm Ther* 2006; 31: 197-9.
- [79] Salvemini D, Cuzzocrea S. Potencial terapéutico de los miméticos de superóxido dismutasa como agentes terapéuticos en medicina de cuidados críticos. *Crit Care Med* 2003; 31: S29-38.
- [80] Afonso V, Champy R, Mitrović D, Collin P, Lomri A. Especies reactivas de oxígeno y superóxido dismutasas: papel en las enfermedades de las articulaciones. *Columna ósea articular* 2007; 74: 324-9.
- [81] Ohno K, Ito M, Ichihara M. Hidrógeno molecular como gas médico terapéutico emergente para enfermedades neurodegenerativas y otras. *Oxid Med Cell Longev* 2012; doi: 10.1155/2012/353152 [81] Nakao A, Toyoda Y, Sharma P, Evans M, Guthrie N. Eficacia del agua rica en hidrógeno sobre el estado antioxidante de sujetos con síndrome metabólico potencial: un estudio piloto de etiqueta abierta. *J Clin Biochem Nutr* 2010; 46: 140-9.
- [82] Nakayama M, Kabayama S, Nakano H, et al S. Efectos biológicos del agua electrolizada en hemodiálisis. *Nephron Clin Pract* 2009; 112: c9-15.
- [83] Kajiyama S, Hasegawa G, Asano M, et al. La suplementación con agua rica en hidrógeno mejora el metabolismo de los lípidos y la glucosa en pacientes con diabetes tipo 2 o intolerancia a la glucosa. *NutrRes* 2008; 28: 137-43.
- [84] Ito M, Ibi T, Sahashi K, Ichihara M, Ohno K. Ensayo abierto y ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, cruzado de agua enriquecida con hidrógeno para miopatías mitocondriales e inflamatorias. *Med Gas Res* 2011; 1: 24.
- [85] Ono H, Nishijima Y, Adachi N, et al. Índices de resonancia magnética cerebral mejorados en los sitios de infarto agudo del tronco encefálico tratados con captadores de radicales hidroxilo, edaravone e hidrógeno, en comparación con edaravone sola. Un estudio no controlado. *Med Gas Res* 2011; 1: 12.
- [86] Abraini JH, Gardette-Chauffour MC, Martinez E, Rostain JC, Le maire C. Reacciones psicofisiológicas en humanos durante una inmersión en mar abierto a 500 m con una mezcla de hidrógeno, helio y oxígeno. *J Appl Physiol* 1994; 76: 1113-8.
- [87] Fontanari P, Badier M, Guillot C, et al. Cambios en el rendimiento máximo de los músculos inspiratorios y esqueléticos durante y después de la inmersión humana récord de 7,1 MPa Hydra 10. *EurJ Appl Physiol* 2000; 81: 325-8.
- [88] Nakai Y, Sato B, Ushijima S, Okada S, Abe K, Arai S. Los genes relacionados con la oxidoreducción hepática están regulados positivamente por la administración de agua potable saturada de hidrógeno. *Biosci Biotechnol Biochem* 2011; 75: 774-6.