



Original

Biomarcadores de estrés oxidativo como indicadores de actividad en la enfermedad articular inflamatoria crónica

Montserrat Feijóo^a, Isaac Túnez^{a,*}, Adela Ruiz^b, Inmaculada Tasset^a,
Elisa Muñoz^b y Eduardo Collantes^b

^a Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba, Córdoba, España

^b Servicio de Reumatología, Hospital Universitario Reina Sofía, Departamento de Medicina, Universidad de Córdoba, Córdoba, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 16 de agosto de 2008

Aceptado el 12 de diciembre de 2008

On-line el 31 de julio de 2009

Palabras clave:

Artritis reumatoide

Daño oxidativo

Enfermedad articular inflamatoria crónica

Espondilitis anquilosante

Especies reactivas del oxígeno

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la participación del estrés oxidativo (EO) en la enfermedad articular inflamatoria crónica (EAIC), así como su posible uso como biomarcador diagnóstico.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 29 pacientes con EAIC: 18 con artritis reumatoide (AR): 13 activos/5 inactivos; y 11 con espondilitis anquilosante (EA): 7 activos/4 inactivos, y como grupo control, 13 sujetos sanos. Los pacientes fueron clasificados según los siguientes criterios de actividad: escala de actividad de la enfermedad (DAS-28) para AR, e índice de actividad de enfermedad (BASDAI) y la escala visual analógica (EVA) de dolor nocturno para EA. Las concentraciones plasmáticas de los biomarcadores de estrés oxidativo fueron cuantificadas mediante técnicas espectrofotométricas y el análisis estadístico realizado, mediante el programa estadístico SPSS.

Resultados: Los pacientes con EAIC activa presentan un intenso EO, caracterizado por elevación de los parámetros indicadores de daño oxidativo y disminución de los sistemas antioxidantes, junto con una mayor cantidad de mieloperoxidasa. En los pacientes con EAIC inactiva sólo encontramos cambios en los niveles de glutatión oxidado (GSSG) y en el cociente glutatión reducido (GSH)/GSSG, y no en los indicadores de daño oxidativo ni en los sistemas antioxidantes.

Conclusiones: Nuestros datos indican que: a) los pacientes con EAIC activa presentan un intenso EO; b) la EAIC inactiva cursa con producción de especies reactivas sin llegar a desencadenar daño oxidativo y manteniendo la homeostasis reducción-oxidación, y c) los biomarcadores de EO podrían ser utilizados como indicadores del estado de actividad-inactividad de la EAIC.

© 2008 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Oxidative stress biomarkers as indicator of chronic inflammatory joint diseases stage

ABSTRACT

Objective: To evaluate the participation of oxidative stress (OS) on chronic inflammatory joint disease (CIJD), as well as its possible use as a diagnostic biomarker.

Patients and methods: The study population comprised 29 patients with CIJD: 18 with rheumatoid arthritis (RA: 13 active/5 inactive); 11 with ankylosing spondylitis (AS: 7 active/4 inactive) and 13 healthy subjects. Activity of the disease was assessed by: RA patients, Disease Activity Score (DAS 28) and AS patients by means of Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI). Oxidative stress biomarkers were determined in plasma using spectrophotometrical techniques. The statistical analysis was carried out using the SPSS statistical package.

Results: Active CIJD showed a high oxidative stress characterized by increases in oxidative damage markers and a reduction in antioxidative systems, together with a higher myeloperoxidase (MPO) concentration. Inactive CIJD only showed changes in oxidized glutathione (GSSG) and reduced glutathione (GSH)/GSSG ratio levels, without changes in oxidative damage parameters or in antioxidative systems.

Conclusions: Our data revealed that: i) CIJD presents with a high oxidative stress; ii) inactive CIJD shows a production of reactive species without triggering oxidative damage and maintaining red-ox homeostasis, and iii) the combination of oxidative stress biomarkers may be used as markers of active-inactive stages of CIJD.

© 2008 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Ankylosing spondylitis

Chronic inflammatory joint disease

Reactive oxygen species

Rheumatoid arthritis

Oxidative damage

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fm2tufii@uco.es (I. Túnez).

Introducción

Se define como estrés oxidativo (EO) al desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes en el organismo a favor de los primeros. La producción de especies reactivas del oxígeno (ERO) (prooxidantes y oxidantes) acontece de forma fisiológica en todo organismo vivo, siendo su principal fuente endógena la cadena de transporte electrónico mitocondrial¹.

El daño oxidativo que caracteriza al EO ha sido asociado a diferentes enfermedades neurodegenerativas, conectivopatías, procesos de isquemia-reperusión e inflamación, entre otros². Estudios recientes realizados por diferentes grupos indican que este fenómeno bioquímico puede encontrarse en la base fisiopatológica de la enfermedad articular inflamatoria crónica (EAIC), condicionando su estado evolutivo^{3,4}.

Sobre la base de estos antecedentes, el presente estudio plantea que el EO está asociado con el estado de actividad de los pacientes con EAIC, de forma tal que cambios en alguno de los biomarcadores de EO podrían asociarse al estado de la enfermedad (activa o inactiva) y, por tanto, podrían ser utilizados como marcador efectivo y precoz de dicho estado en pacientes con este tipo de procesos patológicos. Para valorar nuestra hipótesis de trabajo y alcanzar el objetivo planteado, se han estudiado un total de 42 sujetos (13 sanos y 29 con EAIC; 20 activos y 9 inactivos) cuantificándose los niveles de productos de lipoperoxidación (LPO), proteínas carboniladas (PC), glutatión total (GT), glutatión reducido (GSH), glutatión oxidado (GSSG) y cociente GSH/GSSG, junto con la concentración de la enzima mieloperoxidasa (MPO) (número de clasificación enzimática [EC]: 1.11.1.7), y la actividades enzimáticas de superóxido dismutasa (SOD) (EC: 1.15.1.1), glutatión peroxidasa (GPx) (EC: 1.11.1.12) y catalasa (EC: 1.11.6).

Material y métodos

Pacientes y controles

Estudio transversal que incluyó un total de 29 pacientes con EAIC (20 activos y 9 inactivos) atendidos en el Servicio de Reumatología del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba y previo consentimiento informado. Dieciocho pacientes cumplieron los criterios de la American Rheumatism Association (ARA) para artritis reumatoide (AR) (13 activos y 5 inactivos), y 11 los criterios modificados de Nueva York para espondilitis anquilosante (EA) (7 activos y 4 inactivos). Asimismo, trece sujetos sanos fueron estudiados como grupo control. Los pacientes fueron clasificados como activos o inactivos de acuerdo con: a) un valor $>3,2$ en la escala de actividad de la enfermedad (DAS-28)⁵ sobre la base de la velocidad de sedimentación globular (VSG); b) una puntuación >4 en el índice de actividad de enfermedad (BASDAI)⁶, y c) >4 en la escala visual analógica (EVA) de dolor nocturno (0 - 10) para EA.

Los criterios de exclusión del estudio fueron consumo de alcohol, fumador, uso de vitaminas, infección y/o tratamiento con fármacos con efectos antioxidantes conocidos. A todos los pacientes se les indicó que suspendieran los AINES 48 h antes de la toma de la muestra, mientras que la toma de ácido fólico fue suspendida en pacientes con AR una semana antes.

El estudio de biomarcadores de EO fue realizado en plasma. Las muestras sanguíneas fueron tomadas de la vena mediana cubital o basilica y depositadas en tubos con ácido etilendiaminotetraacético como anticoagulante. Seguidamente, fue centrifugada a 2.000 rpm durante 10 min, el sobrenante (plasma) fue recogido, alicuotado y congelado a -80°C hasta su análisis.

Biomarcadores de estrés oxidativo

Los siguientes parámetros fueron cuantificados como indicadores del estatus oxidativo: cantidad de MPO, niveles de los productos de LPO (malondialdehído y 4-hidroxi-alquenos), concentración de GT y GSH mediante ensayos comerciales suministrados por Oxis International (Portland, OR, EE. UU.: MPO, LPO-586 y GSH-420 y GSH-400, respectivamente).

Las PC fueron cuantificadas mediante el método de Levine et al⁷, basado en la reacción con 2,4 dinitrofenilhidrazona en medio ácido. La actividad del GPx fue evaluada mediante la técnica de Flohé y Gunzler⁸, basada en la oxidación de nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH) a nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato oxidado (NAD⁺), catalizada por una concentración limitante de glutatión reductasa. Por su parte, la actividad catalasa fue obtenida mediante el rango de descomposición de H₂O₂, siguiendo el procedimiento de Aebi⁹; mientras que la actividad de SOD fue valorada por el método de Sun et al¹⁰ consistente en la inhibición de la reducción del azul de nitrotetrazolio en el sistema xantino oxidasa por la SOD. Por otro lado, los niveles de GSSG fueron calculados mediante la siguiente ecuación: $\text{GSSG} = \text{GT} - \text{GSH}$.

Análisis estadístico

El estudio estadístico se realizó con el programa SPSS[®] 11.0 (SPSS Ibérica, Madrid, España) para Windows[®]. Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para la valoración de la normalidad en la distribución. Se realizó el test de ANOVA y la prueba de Bonferroni como contraste *post hoc* para comparar los valores medios de los parámetros de EO entre los distintos grupos de pacientes en función de la actividad de la enfermedad. Todos los contrastes fueron bilaterales y se consideraron significativos valores de $p < 0,05$.

Resultados

Veintinueve pacientes con EAIC (9 inactivos y 20 activos) fueron comparados con 13 sujetos sanos (grupo control). En el momento de la evaluación los pacientes con EA activa mostraron un BASDAI promedio de $4,9 \pm 1,2$, mientras que los inactivos presentaron unos valores de $1,7 \pm 0,7$. Por su parte, la media de DAS-28 para los pacientes con AR activa fue de $3,9 \pm 0,9$; mientras los inactivos presentaron unos valores de $1,5 \pm 0,4$. Comparados con el grupo control, los pacientes con EAIC activa presentaron niveles superiores en VSG y en PCR; mientras los pacientes con EAIC inactiva no presentaron cambios estadísticamente significativos respecto de los sujetos sanos (tabla 1). El resto de las variables demográficas analizadas son recogidas en la tabla 1.

Comparados con los controles, los resultados muestran que los pacientes con EAIC activa presentan un intenso EO caracterizado por altos niveles en LPO, PC, GSSG y actividad MPO, así como decrementos en los niveles de GSH, cociente GSH/GSSG y en la actividad de las enzimas antioxidantes estudiadas (catalasa, SOD y GPx); mientras que no se encontraron cambios en los niveles de GT (tabla 2).

Por su parte, los pacientes con enfermedad inactiva sólo presentaron cambios significativos en los niveles de GSSG y en el cociente GSH/GSSG respecto de los controles (tabla 2). Mientras mostraron valores menores de LPO, PC y actividad MPO respecto de los EAIC activos, así como valores mayores en GSH, cociente GSH/GSSG, GPx, catalasa y SOD (tabla 2).

Tabla 1

Características demográficas de los sujetos sanos (controles) y de los pacientes con enfermedad articular inflamatoria crónica

	Controles	Total de pacientes	Inactivos	Activos
Número	13	29	9	20
Sexo (Varones/mujeres)	3/10	13/16	5/4	8/12*
Edad (años)	37,09 ± 11,70 (22-53)	48,32 ± 12,70 (27-73)	69,50 ± 4,95 (27-73)	52,67 ± 11,85 (33-64)
VSG (mm/h)	10,82 ± 5,78	22,33 ± 15,79	10,50 ± 4,95	29,67 ± 8,96**
PCR (mg/l)	4,01 ± 7,19	14,63 ± 18,71	3,20 ± 0,71	17,07 ± 11,64*
Leucocitos (× 10 ³ /ml)	6,00 ± 4,34	7,48 ± 1,86	6,95 ± 2,05	9,07 ± 2,03*

Los valores representan la media ± SD.

*P<0,05 vs. grupo control. **P<0,001 vs. grupo control. *P<0,05 vs. grupo inactivo. **P<0,001 vs. grupo inactivo.

PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación globular.

Tabla 2

Biomarcadores de estrés oxidativo

	Controles	Pacientes	
		Inactivo	Activo
MPO (ng/ml)	68,8 ± 4,8	82,5 ± 5,1 [†]	113,5 ± 9,2 ^{*,**}
LPO (nmol/dl)	65,1 ± 20,1	31,1 ± 13,7	215,6 ± 87,0 ^{*,**}
PC (nmol/dl)	9,6 ± 1,2	12,5 ± 1,9	20,5 ± 5,0 ^{*,**}
GT (nmol/l)	51,9 ± 10,2	58,8 ± 8,3	57,8 ± 56,2
GSH (nmol/dl)	43,2 ± 8,4	36,1 ± 3,5	21,1 ± 6,3 ^{*,**}
GSSG (nmol/l)	8,9 ± 6,5	22,6 ± 6,5 [†]	36,7 ± 7,6 ^{*,**}
Cociente GSH/GSSG	8,8 ± 12,8	1,71 ± 0,5 [†]	0,6 ± 0,3 ^{*,**}
GPx (U/dl)	12,5 ± 1,8	10,4 ± 1,6	5,8 ± 1,3 ^{*,**}
Catalasa (U/dl) × 100	11,8 ± 1,8	10,8 ± 1,3	5,7 ± 1,2 ^{*,**}
SOD (U/dl)	52,2 ± 5,6	47,2 ± 12,2	27,2 ± 6,5 ^{*,**}

*P<0,001 vs. grupo control. †P<0,01 vs. grupo inactivo. **P<0,001 vs. grupo inactivo.

GPx: glutatión peroxidasa; GSH: glutatión reducido; GSSG: glutatión oxidado; GT: glutatión total; LPO: lipoperoxidación; MPO: mieloperoxidasa; PC: proteínas carboniladas; SOD: superóxido dismutasa.

Tabla 3

Correlación entre los parámetros cuantificados en los pacientes con enfermedad articular inflamatoria crónica

Parámetros	Total (29)	
	r	P
LPO-leucocitos	0,559	0,008
LPO-VSG	0,937	0,019
LPO-EVA		
GSH-VSG	-0,603	0,013
GSH-DAS-28	-0,681	0,043
GSSG-EVA	0,499	0,042
GSSG-DAS28	0,670	0,048
(Cociente GSH/GSSG)-EVA	-0,479	0,050
(Cociente GSH/GSSG)-DAS28	-0,658	0,050
MPO-LPO	0,574	0,002
MPO-PC	0,597	0,001
MPO-GSH	-0,730	0,000
MPO-GSSG	0,687	0,000
MPO-(cociente GSH/GSSG)	-0,748	0,000
MPO-GPx	-0,842	0,000
MPO-CAT	-0,865	0,000
MPO-SOD	-0,718	0,000
MPO-leucocitos	0,464	0,034
MPO-VSG	0,530	0,024

CAT: catalasa; DAS-28: escala de actividad de la enfermedad; EVA: escala visual analógica; GPx: glutatión peroxidasa; GSH: glutatión reducido; GSSG: glutatión oxidado; LPO: lipoperoxidación; MPO: mieloperoxidasa; PC: proteínas carboniladas; SOD: superóxido dismutasa; VSG: velocidad de sedimentación globular.

La tabla 3 muestra el análisis de correlación entre las variables estudiadas en el presente trabajo. Esta tabla sólo recoge las asociaciones estadísticamente significativas encontradas en el

total de las EAIC (AR y EA) y en los subgrupos (inactivos y activos). Presentaron asociación positiva en el total de los pacientes analizados: a) LPO con leucocitos y VSG en el total de pacientes; b) GSSG con DAS-28 y EVA, y c) MPO con LPO, PC, GSSG, leucocitos y VSG; mientras la correlación fue negativa en: a) GSH con DAS-28 y VSG; b) cociente GSH/GSSG con DAS-28 y EVA, y c) MPO con GSH, cociente GSH/GSSG, GPx, catalasa y SOD. Por su parte, al realizar el estudio de correlación estratificado por subgrupos, sólo se obtuvieron asociaciones estadísticamente significativas en el subgrupo de EAIC inactiva caracterizadas por correlaciones positivas entre LPO-EVA y MPO-EVA, mientras fue inversa la correlación entre GSH-VSG.

Discusión

Los resultados de nuestro estudio muestran que la EAIC activa cursa con un intenso EO caracterizado por: a) un aumento en los biomarcadores de daño oxidativo, y b) un descenso en los antioxidantes periféricos. Mientras que los pacientes con EAIC inactiva, aunque con cambios significativos en los valores de MPO, GSSG y cociente GSH/GSSG, no presentan alteraciones en los biomarcadores de oxidación (LPO y PC) ni en los sistemas antioxidantes estudiados (GSH, SOD, catalasa y GPx). Situación esta última, que indica dos posibles fenómenos: a) un incremento incipiente en la producción de ERO, que puede deducirse del aumento en la oxidación de moléculas de GSH y evidenciado por medio de los incrementos de los niveles de GSSG y la reducción del cociente GSH/GSSG, y b) la eficacia de los sistemas antioxidantes en la homeostasis reducción-oxidación, traducida en la falta de cambios en los indicadores directos de daño oxidativo (LPO y PC) a pesar del aumento en moléculas oxidadas.

La EAIC es un proceso autoinmune caracterizado por fenómenos inflamatorios que conducen a la destrucción de la articulación. Probablemente, la más frecuente y estudiada es la AR que afecta aproximadamente al 1% de la población adulta en los países occidentales³. Siendo, actualmente, incompleto el conocimiento de los mecanismos moleculares y celulares que participan en el inicio y el desarrollo de estos procesos patológicos. Diferentes investigadores han involucrado en su origen, inicio y evolución a las ERO.

Las ERO parecen tener una función relevante en las alteraciones acontecidas en estos procesos^{3,11}. Los datos obtenidos en el presente estudio corroboran los datos previos de nuestro grupo y de otros grupos^{3,4,11-14}, evidenciando la existencia de un aumento altamente significativo en los niveles de oxidación de lípidos y proteínas en pacientes con EAIC activa, mientras que los pacientes inactivos tienen niveles similares a los sujetos sanos (controles). Si bien los pacientes con EAIC inactiva muestran cambios significativos en GSSG y el cociente GSH/GSSG cuando se comparan con los controles y los pacientes activos. Resultados que indican o plantean una situación intermedia en la producción

de las ERO y la oxidación de moléculas para los pacientes inactivos entre el estado de salud y la enfermedad activa.

Por otro lado, no existe en la literatura científica consenso respecto de las fluctuaciones en la actividad de las enzimas antioxidantes, reportándose tanto incrementos como decrementos^{3,12}. En este sentido, nuestros datos claramente ponen de manifiesto un descenso en la actividad de las enzimas antioxidantes estudiadas (SOD, catalasa y GPx) en pacientes con enfermedad activa, situación que podría ser explicada por una saturación de los sistemas antioxidantes enzimáticos, así como por una inhibición de las enzimas antioxidantes, como proponen Jira et al, quienes presentan la posibilidad de la inhibición de SOD por el peróxido de hidrógeno¹⁵. Asimismo, nuestros resultados revelan la existencia de un decremento en la relación entre actividades antioxidantes (SOD/GPx + catalasa) tanto en pacientes activos como inactivos. Situación que junto con los incrementos de los biomarcadores de oxidación indicarían, según los constructos de Sánchez-Rodríguez et al¹⁶, la existencia de una deficiencia en el sistema antioxidante extracelular.

Junto al descenso en los sistemas enzimáticos antioxidantes, apreciamos incrementos en la actividad de la enzima MPO, paralelos a aumentos en los niveles de neutrófilos periféricos circulantes, tanto en los pacientes con enfermedad activa como inactiva. La MPO es utilizada por los macrófagos para la producción de ERO en su acción bactericida. Según diferentes autores, sería el nexo de unión entre el incremento de respuesta inflamatoria y el EO existente en la EAIC activa^{12,14}. Estas observaciones son avaladas directamente por los estudios que muestran cómo diferentes citoquinas (TNF- α , IL-6, IL-8 e INF- γ) provocan incrementos en los niveles de las moléculas de adhesión vascular (que atraen leucocitos a las articulaciones) y activan genes proinflamatorios a través de la vía del NF- κ B, en cuyos mecanismos de señalización se involucran ERO¹⁰; así como indirectamente por aquellos estudios en que inhibidores de citoquinas, como el infliximab (anti-TNF- α), inducen una menor respuesta inflamatoria, acompañada por un mejor estatus reducción-oxidación y estado del paciente^{4,10}. Adicionalmente, y sin ser el objetivo de este manuscrito, los presentes datos avalan indirectamente el papel desempeñado por las ERO sobre la activación de señales proinflamatorias, así como de sus efectos sobre la disfunción endotelial y aterogénesis en situaciones de dislipemia en los pacientes con AR^{17,18}.

Finalmente, pensamos que algunos de los datos más relevantes encontrados en el presente estudio son las correlaciones entre la actividad de MPO, biomarcadores de EO, marcadores inespecíficos de inflamación y niveles de leucocitos en el total de los pacientes estudiados. Datos que relacionan la respuesta inflamatoria, la producción de ERO y el daño oxidativo con el estado de la

enfermedad (activa-inactiva), poniendo de manifiesto el papel relevante y preponderante jugado por el EO en la EAIC y su estado evolutivo.

En resumen, nuestros resultados muestran la participación de la MPO y el EO en la EAIC, así como la posibilidad de utilizar diferentes biomarcadores de EO como indicadores del estado de actividad-inactividad de la EAIC.

Bibliografía

1. Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*. 1997;82:291-5.
2. Ignatowicz E, Rybezynska M. Some biochemical and pharmacological aspects of free radical-mediated tissue damage. *Pol J Pharmacol*. 1994;46:103-14.
3. Kalpakcioglu B, Senel K. The interrelation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2008;27:141-5.
4. Túnez I, Feijóo M, Huerta G, Montilla P, Muñoz E, Ruiz A, et al. The effect of infliximab on oxidative stress in chronic inflammatory joint disease. *Curr Med Res Opin*. 2007;23:1259-67.
5. Prevoo MLL, Vant's Hof MA, Kuper HH, Van Leuwen MA, Van de Putte MA, Van Riel PLCM. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. *Arthritis Rheum*. 1995;38:44-8.
6. Garret SL, Jenkinson TR, Whitelock HC, Kennedy LG, Gainsford G, Calin A. A new approach to defining disease status of ankylosing spondylitis. The bath ankylosing spondylitis disease activity index. *Arthritis Rheum*. 1994;21:2286-91.
7. Levine RL, Garland D, Olivier CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 1990;1186:464-78.
8. Flohé L, Gunzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*. 1984;105:114-21.
9. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 1984;105:121-6.
10. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*. 1988;34:479-500.
11. Filippin LI, Vercelino R, Marroni NP, Xavier RM. Redox signalling and the inflammatory response in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*. 2008;152:415-22.
12. Karakoc M, Altindag O, Keles H, Soran N, Selek S. Serum oxidative-antioxidative status in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int*. 2008;27:1131-4.
13. Yazici C, Köse K, Calis M, Kuzugüden S, Kirnap M. Protein oxidation status in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford)*. 2004;43:1235-9.
14. Ozgocmen S, Sogut S, Ardicoglu O, Fadillioglu E, Pekkutucu I, Akyol O. Serum nitric oxide, catalase, superoxide dismutase, and malondialdehyde status in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int*. 2004;24:80-3.
15. Jira W, Spitellet G, Richter A. Increased levels of lipid peroxidation products in low density lipoproteins of patients suffering from rheumatoid arthritis. *Chem Phys Lipids*. 1997;87:81-9.
16. Sánchez-Rodríguez MA, Osorio ES, Vargas LA, Mendoza-Núñez VM. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica*. 2004;29:81-90.
17. González-Gay MA, González-Juanatey C, Martín J. Rheumatoid arthritis: A disease associated with accelerated atherogenesis. *Semin Arthritis Rheum*. 2005;35:8-17.
18. González-Juanatey C, Llorca J, Amigo-Díaz E, Dierssen T, Martín J, González-Gay MA. High prevalence of subclinical atherosclerosis in psoriatic arthritis patients without clinically evident cardiovascular disease or classic atherosclerosis risk factor. *Arthritis Rheum*. 2007;57:1074-80.