

Niveles de antioxidantes como parámetro de actividad inflamatoria en la artritis reumatoidea

Jael Mantilla, Andrés Morales, Martha Alvarado, Martha Guerra, Philippe Chalem · Bogotá

La artritis reumatoidea (AR) es una enfermedad sistémica caracterizada por la inflamación crónica y simétrica de las articulaciones. Los radicales libres son moléculas que podrían intervenir en el proceso inflamatorio articular y sistémico. El sistema antioxidante es un conjunto de sustancias que impiden la formación de radicales libres.

Objetivo: determinar la actividad de dos sustancias antioxidantes, la glutatión peroxidasa (GpX) y la superóxido dismutasa (SOD) en pacientes con AR y en controles sanos.

Material y métodos: se incluyeron 60 individuos de ambos sexos entre 30 y 60 años, divididos en tres grupos de 20 personas, uno constituido por pacientes con AR activa, otro por pacientes con AR en remisión (según los criterios de remisión de Pinals) y el tercero por controles sanos apareados por sexo y edad con el grupo de pacientes con AR activa. En los dos grupos de pacientes con AR se realizó un recuento de articulaciones inflamadas utilizando el índice articular de Thompson (0= ninguna articulación inflamada; 534= puntaje máximo de inflamación). Se midieron la proteína C reactiva (PCR) y la velocidad de sedimentación globular (VSG) en todos los sujetos del estudio. Se realizó la medición en sangre total de SOD (rango normal =164-240 U/ml) y de GpX (rango normal = 4170-10881 U/L) en los tres grupos.

Método estadístico: se calcularon los valores p de la prueba t de diferencias de medias poblacionales entre los tres grupos para la SOD, la GpX, la PCR y la VSG.

Resultados: el puntaje promedio del índice de Thompson en los pacientes con AR activa fue de 177.5 y en el grupo en remisión fue de 5.5. El nivel promedio de GpX en los individuos sanos (\bar{X} =6991.5 U/L) y en los pacientes con AR en remisión (\bar{X} =5703.4 U/L) se encontró dentro de los valores de referencia. En el grupo de AR activa se encontró disminuido de manera significativa (\bar{X} =2847U/L) si se compara con el grupo de AR en remisión ($p=0.008$) y con el de controles sanos ($p=4.7 \cdot 10^5$). Para la SOD se encontraron resultados similares en el grupo de sanos (\bar{X} =212.5 U/ml) y el grupo de pacientes en remisión (205.6 U/ml). La actividad de esta enzima se encontró disminuida en los pacientes con AR activa (\bar{X} =92 U/ml); las diferencias con el grupo de pacientes en remisión y con los controles sanos fueron significativas ($p=0.01$ y 1.8×10^{-11} respectivamente). Los niveles de PCR (mg/dL) y VSG (mm/1h) fueron mayores en el grupo de AR activa (en promedio 0.8 y 46.5 respectivamente) que en el grupo de pacientes con AR en remisión (0.56 y 25.4) y en los controles sanos (0.3 y 14.2).

Conclusión: la actividad de los antioxidantes SOD y GpX se encuentra disminuida en los pacientes con AR activa, si se compara con los pacientes en remisión y con individuos sanos. Los pacientes con AR en remisión muestran una actividad antioxidante similar a la de los sujetos sanos. (*Acta Med Colomb* 2001 ; 26: 143-148)

Palabras clave: artritis reumatoidea, antioxidantes, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, radicales libres.

Introducción

La artritis reumatoidea (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta de preferencia y en forma simétrica las articulaciones periféricas. La enfermedad sigue un curso variable y difícil de predecir, pero no cabe duda que es una de las condiciones clínicas más incapacitantes, tanto por la severa deformidad articular que provoca, como por la sintomatología dolorosa que la acom-

paña. La AR suele iniciarse en adultos jóvenes, pero puede aparecer a cualquier edad con una incidencia máxima en la tercera y cuarta décadas de la vida. La prevalencia en la

Drs. Jael Mantilla, Andrés Morales, Martha Alvarado, Martha Guerra, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas. Departamento de Matemáticas; Dr. Philippe Chalem: Fundación Instituto de Reumatología e Inmunología. Bogotá D.C.

población en general es de aproximadamente 1%, por lo que se le considera el trastorno articular inflamatorio más frecuente; se estima que alrededor de 80% de los pacientes desarrolla la enfermedad entre los 30 y los 50 años de edad, y las mujeres se encuentran más frecuentemente afectadas que los hombres, con una relación de 4:1. Aunque su etiología es desconocida, se han sugerido mecanismos inmunológicos, agentes infecciosos, factores genéticos, endocrinos, metabólicos y psíquicos (1).

Los radicales libres son producidos en reacciones inflamatorias controladas y en algunas ocasiones, como respuesta a la exposición a radiaciones ionizantes, rayos ultravioleta, contaminación ambiental, humo de cigarrillos, isquemia, exceso de ejercicio, entre otros. Son generados durante muchos procesos biológicos en la mitocondria, por reacciones enzimáticas de la xantina oxidasa y la aldehído oxidasa en las cuales se genera superóxido. Todas las células producen pequeñas cantidades de radicales del oxígeno dentro de su citoplasma; esto se asocia a un incremento del metabolismo de la glucosa por la vía de la pentosa fosfato en donde aumenta la producción de NADPH, el cual actúa como un potente reductor celular, útil para la síntesis de ácidos grasos, colesterol y para la protección contra la toxicidad de los metabolitos del oxígeno y la formación de superóxido (2). Las más importantes especies de radicales libres en los sistemas biológicos son los derivados del oxígeno molecular. Este campo concierne predominantemente a los radicales libres derivados del oxígeno: el superóxido y el hidroxilo.

Los radicales libres son moléculas que contienen uno o más electrones desapareados, que pueden inducir daño e incluso apoptosis celular. El anión superóxido se forma cuando la molécula de oxígeno adquiere un electrón y los radicales hidroxilo se originan por la interacción del peróxido de hidrógeno con el anión superóxido; éstos son muy reactivos y potencialmente perjudiciales (3).

El anión superóxido (O_2^-), en presencia de superóxido dismutasa, forma peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual puede interactuar con el glutatión en una reacción catalizada por la glutatión peroxidasa. Esta reacción es considerada como una de las vías de detoxificación ya que convierte el H_2O_2 en H_2O y O_2 .

En los hematíes, la concentración de oxígeno es muy alta y el potencial de daño oxidante es grande. En consecuencia, existe una gran demanda de NADPH de la vía de la pentosa fosfato que es importante para la reducción de la glutatión peroxidasa. La baja actividad de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa los hace propensos a la hemólisis y a que no puedan reducir rápidamente el glutatión oxidado, lo que impide que puedan resistir un aumento en la producción del radical superóxido. El control de los niveles de antioxidantes en los eritrocitos permitiría que se tomen medidas preventivas para evitar el daño a los tejidos y además reflejaría el nivel antioxidante total (3).

Los lípidos insaturados, las proteínas y el DNA son los componentes celulares más sensibles a los efectos del superóxido y los radicales hidroxilo. La base bioquímica del efecto de los radicales sobre el DNA es la peroxidación y la modificación química de sus bases nitrogenadas. El efecto sobre las proteínas atañe a la oxidación de los grupos sulfhidrilo. El efecto sobre los lípidos es el ataque a los ácidos grasos insaturados de los fosfolípidos y de otros componentes lipídicos de las membranas, formando hidroperóxidos lipídicos. Los pacientes con AR exhiben incrementos en la oxidación de las lipoproteínas como la LDL induciendo modificaciones y oxidaciones, que impiden el reconocimiento por su receptor, lo cual induce a un incremento en la síntesis de los ésteres de colesterol intracelular y a su posterior acumulación en las diferentes células del organismo (4). Existe información acerca del papel de los radicales libres en la patogénesis de la artritis reumatoidea (5); estudios en modelos experimentales de artritis sugieren que la producción de inhibidores que eliminan la formación de radicales libres es de un alto poder terapéutico.

El objetivo del presente estudio fue determinar la actividad eritrocitaria de dos sustancias antioxidantes, la glutatión peroxidasa y la superóxido dismutasa en pacientes con AR activa, AR en remisión y en controles sanos.

Material y métodos

Muestra

Se incluyeron en este estudio dos grupos de 20 pacientes con AR y un grupo control constituido por 20 individuos sanos. El primer grupo constaba de pacientes con AR activa; el segundo grupo estaba constituido por pacientes con AR en remisión de acuerdo a los criterios de Pinals (6) (Tabla 1); el grupo control fue apareado por sexo y edad con el primer grupo.

Se determinó el grado de actividad de la artritis reumatoidea mediante el índice articular de Thompson (7), la proteína C reactiva (PCR) y la velocidad de sedimentación globular (VSG). El Índice de Thompson asigna un puntaje determinado a cada articulación en la que se encuentre dolor e inflamación; este puntaje depende del tamaño de la articulación (cada rodilla, por ejemplo, corresponde a 95 puntos y las metacarpofalángicas corresponden a cinco puntos cada una). Por lo tanto, a mayor

Tabla 1. Criterios de remisión de Pinals (6).

1.	Rigidez matinal < 15 minutos
2.	No fatiga
3.	No dolor articular
4.	Sin sensibilidad o dolor a la movilización
5.	Sin edema articular o en vainas tendinosas
6.	VSG < 30 (mujeres) VSG < 20 (hombres)
Cinco de seis, por dos meses.	

puntaje, mayor inflamación y actividad de la enfermedad (Figura 1). La VSG y la PCR se realizaron también en el grupo control.

Proceso de selección

1. Los pacientes fueron incluidos entre los que asistían a la consulta de la Fundación Instituto de Reumatología e Inmunología en Bogotá, durante un período aproximado de tres meses. Los individuos tenían el diagnóstico de artritis reumatoidea de acuerdo con los criterios de la ARA de 1987 (Tabla 2) (5).
2. Los criterios de exclusión que se tuvieron en cuenta fueron: infecciones bacterianas o virales activas, presencia de enfermedades sistémicas diferentes a la AR, traumas recientes y cualquier otro tipo de artritis. Se admitió la inclusión de pacientes hipertensos controlados.

Tabla 2. Criterios de la ARA de 1987 para afirmar la existencia de AR (5).

1.	Artritis de tres o más zonas articulares observada por el médico.
2.	Artritis de una o más articulaciones de la mano.
3.	Nódulos reumatoideos observados por el médico.
4.	Factor reumatoideo sérico
5.	Cambios radiográficos.
6.	Rigidez matinal mayor de 1 hora.
7.	Artritis simétrica.
El diagnóstico se establece con cuatro de los siete criterios.	

3. El grupo control estaba constituido por personas sanas.
4. A todos los pacientes se les realizó una consulta médica con un solo reumatólogo quién verificó los criterios diagnósticos de la AR, estableció la existencia o ausencia de los criterios de remisión y practicó la medición de actividad clínica según el índice articular de Thompson.

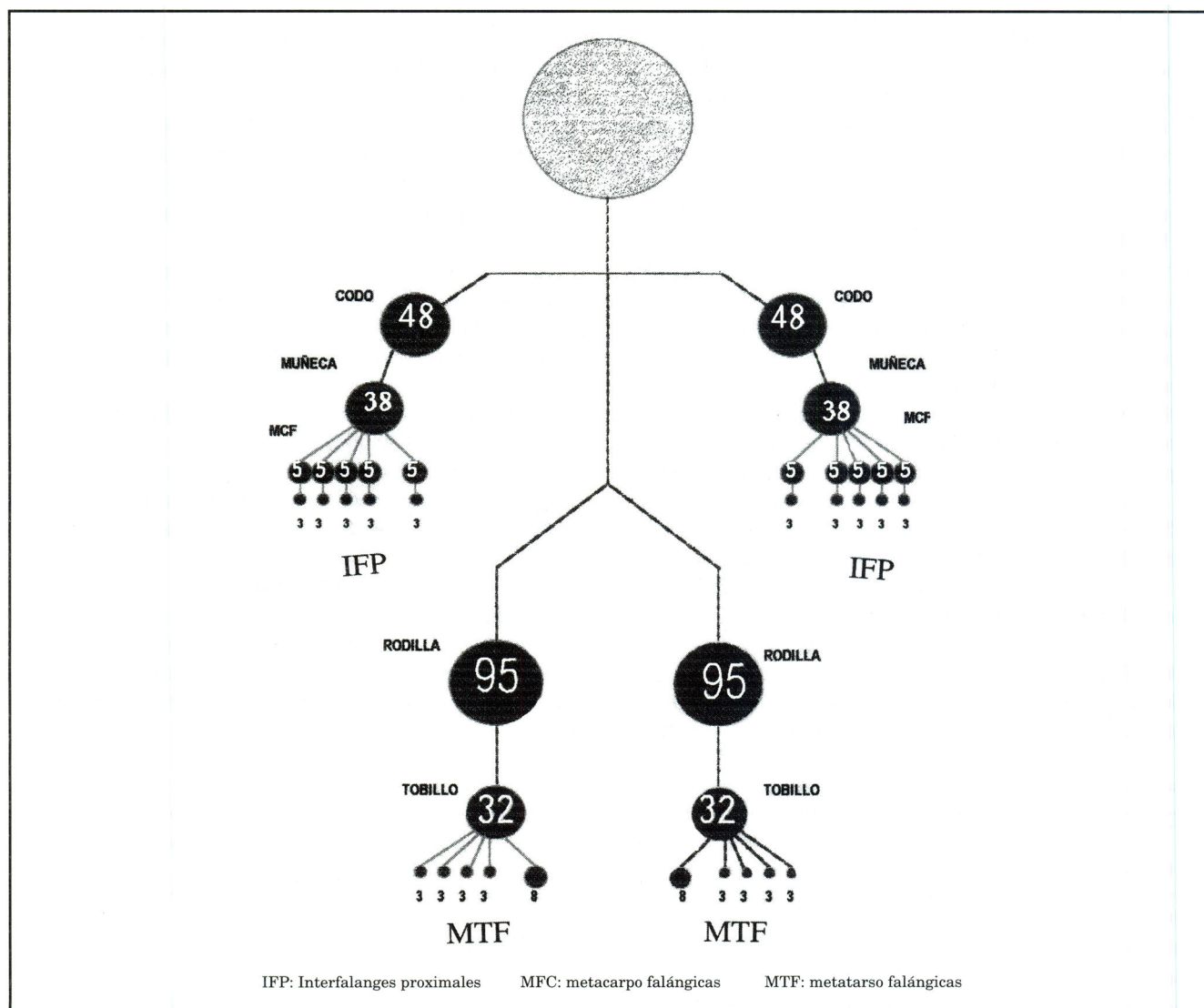


Figura 1. Índice articular de Thompson (7).

Procedimiento

1. Todos los pacientes (grupo control y grupo experimental) fueron citados en las horas de la mañana para la consulta con el médico reumatólogo, la realización de la historia clínica y la toma de muestra. Para llevar a cabo dichos procedimientos, fue necesaria la autorización del paciente en forma escrita y ante un testigo. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la institución.
2. Para la toma de muestra se tuvieron en cuenta las condiciones preanalíticas mundialmente establecidas para este tipo de determinaciones: ayuno de 10 a 12 horas, dieta normal la noche anterior. El consumo de alcohol debe restringirse o eliminarse durante los dos días anteriores.
3. Todas las muestras se obtuvieron mediante venopunción con agujas múltiples en tubos secos y con anticoagulante (EDTA) y heparina *Vacutainer*.

Se midieron los niveles de PCR por la técnica de inmunturbidimetría de *Bayer* división *Healthcare Diagnostics*. La VSG se midió según la técnica de Westergren. La superóxido dismutasa (SOD) se midió por la técnica de *Laboratorios Randox & Co.* (Antrim, United Kingdom, 1997), *Ransod*, y su fundamento se basa en la función de la SOD para acelerar la dismutación de un radical tóxico, el radical superóxido (O_2^-), producido durante un proceso oxidativo, en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular. Los valores de referencia son de 164-240 U/ml. Este método emplea xantina y xantina oxidasa para formar radicales superóxido, los cuales reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-fenil tetrazolio (I.N.T) para formar un colorante formazán rojo. Se mide a una absorbancia de 505 nm. Los niveles de glutatión peroxidasa (GpX) se midieron por la técnica de Paglia y Valentine de *Laboratorios Randox & Co.* (Antrim, United Kingdom, 1997), *Ransel*, y su fundamento se basa en que la GpX cataliza la oxidación del glutatión (GSH) por el hidropéroxido de eumeno. El glutatión oxidado (GSSG) en presencia de glutatión reductasa (GR) y NADPH es inmediatamente convertido en su forma reducida con una oxidación concomitante del NADPH en $NADP^+$. Se mide la disminución de la absorbancia a 340 nm.

Estadística

Se calcularon los valores p de la prueba t de diferencia de medias poblacionales entre los tres grupos para la SOD,

la GpX, la PCR y la VSG. Se realizaron estudios de correlación entre los niveles de SOD y GpX, con el puntaje obtenido en el Índice de Thompson.

Resultados

El nivel promedio de GpX en los individuos sanos ($\bar{X}=6991.5$ U/L) y en los pacientes con AR en remisión ($\bar{X}=5703.4$ U/L) se encontró dentro de los valores de referencia. En el grupo de AR activa se encontró disminuido de manera significativa ($\bar{X}=2847$ U/L) si se compara con el grupo de AR en remisión ($p=0.08$) y con el de controles sanos ($p=4.7 \times 10^{-5}$) (Tabla 3).

En cuanto a la SOD, se encontraron resultados similares para el grupo de sanos ($\bar{X}=212.5$ U/mL) y el grupo de pacientes en remisión ($\bar{X}=205.6$ U/mL). La actividad de esta enzima se encontró disminuida en los pacientes con AR activa ($\bar{X}=92$ U/ml); las diferencias con el grupo de pacientes en remisión y con los controles sanos fueron significativas ($p=0.01$ y 1.8×10^{-11} respectivamente) (Tabla 3). No hubo diferencias significativas al comparar los niveles de SOD y GpX entre el grupo de AR en remisión y el grupo de controles sanos.

Al comparar los niveles de PCR entre los pacientes activos con los pacientes en remisión se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.01$); igual sucedió al comparar estos últimos con los del grupo control ($p=0.03$) (Tabla 3).

La VSG se encontró elevada en el grupo de pacientes con AR activa con respecto al grupo de AR en remisión ($p=0.01$). La diferencia fue igualmente significativa al comparar el grupo en remisión con el grupo de controles sanos ($p=0.002$) (Tabla 3).

El resultado promedio del Índice de Thompson en los pacientes con AR activa fue de 177.5 y en el grupo en remisión fue de 5.5 (Tabla 3). No se encontró correlación entre los puntajes obtenidos en el Índice de Thompson y la disminución de los niveles de antioxidantes.

Discusión

Se obtuvieron niveles bajos de SOD y GpX en pacientes con AR activa, pero no en los pacientes con AR en remisión. Estos resultados sugerirían que los radicales libres desempeñan una función en la actividad de la enfermedad.

Tabla 3. Promedios de los parámetros medidos en pacientes con AR activa, en remisión y en sujetos sanos.

Individuos \ Parámetro	GpX (U/L)	SOD (U/mL)	PCR (mg/dL)	VSG (mm/1 hora/ Westergren)	Índice de Thompson (puntaje)
Activos	2847	92	2,1	46,5	117,5
En remisión	6228	205,6	0,6	25,45	5,5
Sanos	6991,5	212,5	0,3	14,2	
GpX: glutatión peroxidasa SOD: superóxido dismutasa PCR: proteína C reactiva VSG: velocidad de sedimentación globular					

Es bien conocido el papel de los radicales libres en las articulaciones inflamadas. El ácido hialurónico (AH) es uno de los mayores constituyentes del líquido sinovial como también de la matriz extracelular del cartílago, en donde se encuentra formando agregados con los proteoglicanos. Su degradación es uno de los procesos mediados por los radicales libres, los cuales generan despolimerización y agregación de proteoglicanos que no podrán interactuar con el AH para formar los complejos que constituyen la matriz extracelular (8). Estos complejos a su vez son fácilmente destruidos de manera irreversible por los radicales libres del oxígeno y su degradación ha sido demostrada en el líquido sinovial artrítico, lo cual confirma que los radicales libres realizan un papel importante en la destrucción articular *in vivo* (9). El colágeno también es alterado directa e indirectamente por los radicales libres del oxígeno, produciendo su fragmentación, convirtiéndolo en pequeños péptidos. Quizá, uno de los efectos más importantes de los radicales libres es la activación de la colagenasa, la neutralización de la actividad inhibitoria de proteasas, la citotoxicidad y la activación de la transcripción de los factores nucleares, que provocan la liberación de mediadores de inflamación (10).

Se observó una disminución de la actividad antioxidante en los pacientes con AR activa. Los niveles promedio de GpX (\bar{X} = 2847 U/L; DE=2752) y de SOD (\bar{X} = 92 U/mL; DE=45) se encontraron disminuidos, lo cual sugiere que existe un incremento en la producción de radicales libres tal como lo demostraron Lunec y colaboradores, quienes encontraron una marcada elevación de los niveles séricos de productos de oxidación de radicales libres, en pacientes con AR con respecto a controles sanos (10).

El grupo de pacientes en remisión, por el contrario, mostró valores de GpX (\bar{X} = 5703.4 U/L ; DE= 3946.6) y de SOD (\bar{X} = 205.6 U/mL; DE= 191.4) dentro de las cifras de referencia. Si se comparan con el grupo control (GpX; \bar{X} = 6991.5 U/L; DE= 2987; SOD: \bar{X} = 212.5 U/mL, DE= 31.5) se encuentran un poco disminuidos, aunque no hubo diferencias significativas. Por tanto, la medición de estas enzimas podría ser útil como método de evaluación de la actividad en los pacientes con artritis reumatoidea y además serviría para evaluar la eficacia terapéutica de los medicamentos antirreumáticos (10).

Entre las pruebas de laboratorio para el seguimiento de los pacientes con AR, se destacan la PCR y la VSG. Las escalas tales como el Índice de Thompson, constituyen una herramienta clínica que permite cuantificar la actividad de la enfermedad. Sin embargo, no se encontró una correlación entre los niveles de SOD, GpX y los puntajes obtenidos con el Índice de Thompson.

La actividad de los antioxidantes SOD y GpX se encuentra disminuida en los pacientes con AR activa, si se compara con los pacientes en remisión y con individuos sanos. Los pacientes con AR en remisión muestran una actividad antioxidante similar a la de los sujetos sanos. No

es posible concluir con estos datos si una alteración del sistema antioxidante pueda explicar exacerbaciones de la enfermedad, o si por el contrario los períodos de actividad de la misma se manifiestan por una disminución en los niveles de antioxidantes. Heliövaara y colaboradores sugieren en un estudio de casos y controles en 1419 adultos con un seguimiento promedio de 20 años, que la disminución de la concentración de sustancias antioxidantes como el alfa-tocoferol, el beta-caroteno y el selenio constituyen un factor de riesgo para la AR (11).

Otros estudios han mostrado una disminución de la actividad antioxidante en pacientes con AR con respecto a individuos sanos. Imadaya y colaboradores encontraron una disminución de la actividad de la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa en pacientes con AR comparados con sujetos sanos (12). Tarp y colaboradores hallaron una disminución de la actividad de la glutatión peroxidasa dependiente de selenio en los glóbulos rojos y en los polimorfonucleares de pacientes con AR. La actividad de la enzima eritrocitaria mejoró después de la administración de selenio, pero no sucedió lo mismo con la isoenzima leucocitaria (13).

En la literatura revisada, no se encontraron estudios en los que se comparara la actividad antioxidante entre pacientes con AR activa y pacientes con AR en remisión. La disminución de dicha actividad durante los períodos de exacerbación de la enfermedad y la normalidad de la misma durante los períodos de remisión, invita a plantear la posibilidad de utilizar antioxidantes como parte de las estrategias terapéuticas en esta enfermedad, tal como se ha sugerido previamente (14).

Summary

Rheumatoid arthritis (RA) is a disease characterized by symmetrical and chronic inflammation of the joints. Free radicals are molecules that could take part of the inflammatory joint and systemic process. The antioxidant system is a whole of substances that prevent the formation of free radicals.

Objective, to determine the activity of two antioxidant products, the glutathione peroxidase (GpX) and the superoxide dismutase (SOD) in patients with RA and healthy patients.

Material and methods: sixty subjects of both genders, between 30 and 60 years, were divided in three groups of 20. The first group was formed by patients with active RA, the second by patients with RA in remission (according to the criteria for complete clinical remission of Pinals) and the third by healthy subjects, gender and age-matched to active RA patients. In both groups of RA patients the inflamed joints were counted using Thompson's articular index (0 = no inflamed articulation; 534 = maximum score of inflammation). The C-reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) were measured in patients and controls, as well as the levels of SOD (normal

ranges = 164-240 U/mL) and GpX (normal ranges = 4170-10881 U/L).

Statistical method: ρ values using the t test were calculated for SOD, GpX, CRP and ERS.

Results: average score using the Thompson's joint index was 177.5 for active RA patients, and only 5.5 in the remission group. Average levels of GpX in healthy subjects (\bar{X} =6991.5 U/L) and remission patients (\bar{X} =5703.4 U/L) were between normal ranges. A significant decrease of GpX was found in the active group (\bar{X} =2847 U/L) compared to patients with in remission ($p=0.008$) and healthy patients ($p=4.7 \times 10^5$). Something similar occurred with average level of SOD in healthy subjects (\bar{X} =212.5 U/mL) and patients in remission (\bar{X} = 205.6 U/mL). The activity of this enzyme decreased in active RA patients (\bar{X} =92 U/ml), showing significant differences with patients in remission and healthy subjects ($p=0.01$ and 1.8×10^{-11} , respectively). CRP (mg/dl) and ERS (mm/1h) were high in active RA patients (\bar{X} = 0.8 and 46.5 respectively) compared to patients with RA in remission (\bar{X} = 0.56 and 25.4) and healthy individuals (\bar{X} =0.3 and 14.2).

Conclusion: There is a decrease in the antioxidant activity of SOD and GpX in active RA patients compared to patients in remission and healthy subjects. Remission patients and healthy controls showed a similar antioxidant activity.

Key words: rheumatoid arthritis, antioxidants, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, free radicals.

Referencias

1. **Cardiel MH.** Artritis reumatoidea. En: Molina J, Molina JF, eds. Reumatología. Quinta Edición. Medellín: Corporación para las Investigaciones Biológicas; 1998: 185-197.
2. **Horton R.** Metabolismo del glucógeno, gluconeogénesis y vía de las pentosa fosfatos. En: Horton, R, ed. Bioquímica. Primera edición. México: Prentice Hall; 1995: 15.1 - 15.33
3. **Newsholme E, Leech A.** La oxidación de acetyl coenzima A. En: Newsholme E, Leech A, eds. Bioquímica médica. Segunda edición. Madrid: Interamericana; 1986: 78-135.
4. **Chapman L.** Increased carbonyl content of proteins in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1989; **16**: 15-18.
5. **Letz M.** Neuropeptides and free radicals in RA. En: Klippel J, Dieppe PA, eds. Rheumatology. Volumen 1. 2ª edición. London: Mosby; 1997: 5:11.1-11.9.
6. **Pinals RS, Masi AF.** Preliminary criteria for clinical remission in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1981; **24**: 1308.
7. **Thompson P, Silman A, Kirwan J, Currey H.** Articular indices of joint inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987; **30**: 618-623.
8. **Schenck P, Schneider S, Miehke R, Prehm P.** Synthesis and degradation of hyaluronate by synovia from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1995; **22**:400-405.
9. **Weitz Z.** Degradation of hyaluronic acid by neutrophil derived oxygen radicals is stimulus dependent. *J Rheumatol* 1988; **15**: 1250-1253.
10. **Lunec J, Halloran SP, White AG, Dormandy TL.** Free-radical oxidation (peroxidation) products in serum and synovial fluid in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1981; **8** :233-245.
11. **Heliövaara M, Knekt P, Aho K, Aaran R-K, Alfthan G, Aromaa A.** Serum antioxidants and risk of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1994; **53**: 51-53.
12. **Imadaya A, Terasawa K, Tosa H, Okamoto M, Toriizuka K.** Erythrocyte antioxidant enzymes are reduced in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1988; **15**: 1628-1631.
13. **Tarp U, Stengaard-Pedersen K, Hansen JC, Thorling EB.** Glutathione redox cycle enzymes and selenium in severe rheumatoid arthritis: lack of antioxidative response to selenium supplementation in polymorphonuclear leucocytes. *Ann Rheum Dis* 1992; **51**: 1044-1049.
14. **Halliwell B, Wasil M.** Tetracyclines as antioxidants in rheumatoid arthritis: scavenging of hypochlorous acid. *J Rheumatol* 1988; **15**: 530.