



Artritis reumatoide y tabaco

Efecto del tabaco sobre la actividad, discapacidad y
daño radiológico en la artritis reumatoide y
su relación con los marcadores serológicos de la enfermedad

Virginia Ruiz-Esquide Torino

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

The background of the cover is a blue-tinted X-ray of a human hand, showing the bones of the fingers and the wrist. The joints appear slightly inflamed or damaged, consistent with the medical theme of the thesis.

ARTRITIS REUMATOIDE Y TABACO

Efecto del tabaco sobre la actividad, discapacidad y
daño radiológico en la artritis reumatoide y
su relación con los marcadores serológicos
de la enfermedad

Tesis Doctoral
Virginia Ruiz-Esquide Torino

Director Tesis
Raimon Sanmartí Sala

Barcelona 2012



ARTRITIS REUMATOIDE Y TABACO

Efecto del tabaco sobre la actividad, discapacidad y
daño radiológico en la artritis reumatoide y
su relación con los marcadores serológicos de la enfermedad

Universidad de Barcelona
Facultad de Medicina
Departamento de Medicina

**ARTRITIS REUMATOIDE
Y
TABACO**

Efecto del tabaco sobre la actividad, discapacidad y
daño radiológico en la artritis reumatoide y
su relación con los marcadores serológicos de la enfermedad

Virginia Ruiz-Esquide Torino

Raimon Sanmartí Sala

A Ignacio y a mis hijos, Inés e Ignacio.

AGRADECIMIENTOS

Llevar a cabo una tesis doctoral es un largo camino de esfuerzo y dedicación que no hubiera sido posible sin el constante apoyo y ayuda de muchas personas, familia, colegas, compañeros, amigos. La lista es muy larga, pero algunos merecen una muy especial mención.

En primer lugar mis padres que me estimularon siempre a superarme y mis hermanos que siempre han sido un ejemplo de esfuerzo y dedicación al trabajo. A toda mi familia que desde la distancia siempre me han estado apoyando durante todos estos años. Especialmente a mi padrino, mi queridísimo Tío Rufo que de forma incansable ha estado siempre apoyándome en todos mis proyectos.

En “otro” primer lugar quiero expresar mi sincero y profundo agradecimiento y admiración a mi director de tesis, el Dr. Raimon Sanmartí, por su constante apoyo, asesoramiento e incansable aliento en el desarrollo de esta gran meta que ha sido mi tesis doctoral. Puedo estar orgullosa de haber tenido un excelente director de tesis. ¡Muchas gracias por enseñarme tanto y con tanta ilusión!

Especial mención a todos mis compañeros del Servicio de Reumatología del Hospital Clínico, empezando por mi muy estimada jefa, la Dra Nuria Guañabens y “jefe” el Dr José Muñoz, siguiendo por la Dra Pilar Peris que como tutora despertó el interés por la investigación, también el Dr Juan Cañete y Antonio Collado con quienes tuve la posibilidad de hacer trabajos de investigación, también a Dra Ana Monegal por su constante interés y apoyo; y a todos aquellos compañeros con quienes compartí todos

estos años de formación en el servicio de Reumatología del Hospital clínico, que han sido y son muchos y muy queridos.

No quiero dejar de recordar aquí mis jefes y compañeros del Hospital Tornú que acompañaron mis primeros pasos en la práctica de la medicina y siempre recuerdo con mucho cariño.

Con la alegría de llegar a la recta final, deseo dejar aquí mi agradecimiento a todas y cada una de las personas que de una forma u otra han ayudado a que esto fuera realidad.

ÍNDICE

ÍNDICE

	Página
* ABREVIATURAS	11
* RESUMEN	15
* INTRODUCCIÓN	17
1. Artritis Reumatoide	19
1.1. Epidemiología de la AR	19
1.2. Características clínicas de la AR	19
1.3. Diagnóstico de la AR	22
1.4. Evolución y medidas de desenlace	23
1.4.1. Radiología y métodos de medición del daño radiológico.....	27
1.5. Etiología de la AR	29
1.5.1. Factores genéticos	29
1.5.2. Factores medioambientales.....	33
1.5.3. Autoinmunidad y autoanticuerpos en la AR	36
2. Tabaco	41
2.1. Efectos del Tabaco en el sistema inmune	42
2.2. Tabaco y autoinmunidad	44
2.3. Tabaco y proteínas citrulinados	45
3. Tabaco y AR	49
3.1. Tabaco, ACPA/FR y HLA-DRB1	49
3.2. Tabaco y curso clínico de la AR	51
3.3. Tabaco y progresión radiológica en la AR	54

3.4. Tabaco y discapacidad en AR	56
* HIPÓTESIS DEL TRABAJO	59
* OBJETIVOS	63
* INVESTIGACIÓN Y RESULTADOS	67
Primera publicación	69
Resumen	75
Segunda publicación	81
Resumen	87
* DISCUSIÓN	91
* CONCLUSIONES	105
* BIBLIOGRAFÍA	109
* APÉNDICE	139
Otros trabajos relacionados con esta tesis doctoral	
· “Tabaco y otros factores ambientales en la artritis reumatoide.	
Ruiz-Esquide V., Sanmarti R. Reumatología Clínica 2012.”	
· Presentaciones a Congresos.	

ABREVIATURAS

ACPA	anticuerpos anti proteínas/péptidos citrulinados
ACR	Colegio Americano de Reumatología
AR	artritis reumatoide
Anti-CCP	anticuerpos anti-péptidos cíclicos citrulinados
Anti-CFFCP	anticuerpos anti péptidos de fibrina-filagrina cíclicos citrulinados
Anti-TNF	anticuerpos anti factor de necrosis tumoral
BAL	lavado bronquiolo-alveolar
CDAI	Índice clínico de actividad de enfermedad
DAS28	disease activity score (escore de actividad de enfermedad sobre 28 artiuclaciones)
DNA	ácido desoxirribonucleico
ER	epitopo reumatoide
EPOC	enfermedad pulmonar obstructiva crónica
EULAR	Liga Europea de Reumatología
EVA	escala visual analógica
Fc	fracción constante de la inmunoglobulina
FAME	fármaco modificador de la enfermedad
FR	factor reumatoide
GWASs	genome-wide association studies (estudios de asociación de genoma completo)
HAQ	health asesment questionnaire (cuestionario de discapacidad)

mHAQ	modified health asesment quuestionary (cuestionario de discapacidad modificado - abreviado)
HLA	antígeno leucocitario humano
IC	intervalo de confianza
IgG	inmunoglobulina G
IL	interleuquina
NAD	número de articulaciones dolorosas
NAI	número de articulaciones inflamadas
PAD	enzima peptidilarginin deiminasa
PCR	proteína C reactiva
PMN	polimorfonucleares
PTPN22	proteína tirosina-phosphatase, no-receptor tipo 22
REA	recuento de erosiones articulares
Rx	radiografía
RMN	resonancia magnética nuclear
SDAI	simplified disease activity index (índice simplificado de actividad de enfermedad)
STAT4	transductor y activador de señal de transcripción 4
Th1	linfocito T helper 1
Th2	linfocito T helper 2
TLR	receptor toll-like
TNF	factor de necrosis tumoral
TRAF1/5C	factor 1 asociado al receptor del TNF
VGM	valoración global del médico

VGP	valoración global del paciente
VSG	velocidad de sedimentación globular
WGSs	whole genoma scan (rastreo de genoma completo)

RESUMEN

La artritis reumatoide (AR) es la artropatía inflamatoria crónica más frecuente, afecta aproximadamente el 0.5% - 1% de la población general y causa una progresiva destrucción articular, discapacidad y disminución de la expectativa de vida. La etiología de la AR es desconocida y su patogenia solo parcialmente conocida al día de hoy. En los últimos años se han estudiado e identificado múltiples factores de riesgo para su desarrollo. Sabemos que intervienen factores genéticos y ambientales y que la interacción de ambos puede ser determinante en el desarrollo de la enfermedad. Entre los factores ambientales el tabaco ha sido ampliamente estudiado y actualmente se lo reconoce como el factor de riesgo no genético más importante para el desarrollo de AR, siendo este efecto particularmente importante en aquellos sujetos que presentan una susceptibilidad genética (presencia del epitopo reumatoide (ER)). Estudios más recientes ponen de manifiesto que el consumo de tabaco puede influir además en la expresión clínica de la enfermedad, determinar un curso evolutivo más grave y una mayor destrucción articular, aunque no todos los estudios son concordantes en estos últimos aspectos.

El objetivo general de esta tesis fue analizar el efecto del consumo de tabaco en la expresión clínica y curso evolutivo de la artritis reumatoide en una cohorte de pacientes con artritis reumatoide de reciente comienzo. Para esto se llevó a cabo un estudio prospectivo en una cohorte de pacientes con artritis reumatoide de inicio (menos de dos años desde el inicio de los síntomas). En ellos se analizaron las características epidemiológicas, clínicas, serológicas y radiológicas basales y

periódicamente, cada tres meses, hasta los dos años de evolución. Estas variables fueron comparadas entre aquellos pacientes fumadores y los no fumadores.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. ARTRITIS REUMATOIDE

La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune frecuente que produce una artropatía inflamatoria crónica que causa una progresiva destrucción articular, con discapacidad y disminución de la expectativa de vida. Más de un tercio de los pacientes con AR presentan incapacidad laboral y la expectativa de vida se ve reducida en entre 3 a 5 años. (1) Su etiología al día de hoy es solo parcialmente conocida, aunque se puede afirmar que su desarrollo está determinado por la presencia de factores genéticos y ambientales.

1.1. Epidemiología de la Artritis Reumatoide

La artritis reumatoide es una artropatía inflamatoria crónica que afecta a todos los grupos étnicos, siendo su distribución universal. En Europa su incidencia es de entre 20 a 50 casos por cada 100.000 habitantes por año, con una prevalencia de entre el 0.3 y el 1%. Concretamente en España se estima que es del 0.5%, comparable con aquella de otros países mediterráneos. (2)

1.2. Características clínicas de la AR

La artritis reumatoide es una enfermedad muy heterogénea, pudiendo presentar una amplia gama de signos y síntomas (Tabla 1), no siendo ninguno de ellos específico de la enfermedad.

Los síntomas más característicos son la presencia de dolor y tumefacción articular, afectando principalmente las articulaciones periféricas y de forma más típica las pequeñas articulaciones de manos (metacarpofalángicas e interfalángicas proximales) y pies (metatarsfalángicas e interfalángicas proximales), respetando característicamente las articulaciones interfalángicas distales y columna dorsal y lumbar, aunque puede afectar cualquier articulación sinovial del cuerpo. Esta afectación articular suele ser simétrica y poliarticular, aunque de forma menos frecuente puede presentarse de forma oligoarticular y asimétrica. El dolor y tumefacción articular, de forma muy característica, suele acompañarse de rigidez matutina.

Además de las manifestaciones articulares pueden observarse manifestaciones extra articulares. La manifestación extra articular más frecuente son los nódulos reumatoides, presentes en entre un 10% y 25% de los pacientes, generalmente de aparición en zonas periarticulares expuestas a roce y presiones mecánicas, aunque pueden aparecer en diferentes órganos. Los nódulos reumatoides están formados por un vaso con necrosis fibrinoide rodeado por un infiltrado en empalizada de células inflamatorias, histiocitos y fibroblastos. En menor proporción pueden observarse otras manifestaciones extra articulares: oculares, pleuropulmonares, cardíacas, vasculíticas que se detallan en la Tabla 2.

Tabla 1. Manifestaciones articulares de la AR

Artritis
Artralgias
Debilidad muscular
Rigidez matutina
Erosiones y destrucción articular
Deformidad articular
Subluxación articular
Limitación articular

Tabla 2. Manifestaciones extra-articulares de la AR

Cutáneas	Pleuropulmonares
Nódulos reumatoideos	Derrame pleural
Vasculitis	Enfermedad intersticial pulmonar
Oftalmológicas	Bronquiolitis obliterante
Queratoconjuntivitis sicca	Nódulos reumatoides pulmonares
Escleritis	Neurológicas
Epiescleritis	Mononeuritis
Queratitis	Pinzamientos de raíces nerviosas
Coroiditis	Hematológico
Vasculitis de la retina	Anemia
Edema de mácula	Trombocitosis
Cardíacas	Leucocitosis
Pericarditis	Vascular
Miocarditis	Vasculitis
Valvulopatías	Amiloidosis

1.3. Diagnóstico de la AR

El diagnóstico de la enfermedad se basa en unos criterios clínicos, radiológicos e inmunológicos establecidos previamente por el Colegio Americano de Reumatología, ACR en 1987 (3). El objetivo de estos criterios fue el de definir un grupo homogéneo de pacientes para fines de investigación y se basaron en el estudio de pacientes con una AR establecida (pacientes con una duración promedio de la enfermedad de 7 años) por lo que resultaban útiles para la clasificación de la AR establecida pero no para el diagnóstico de la AR temprana. En los últimos años el foco del manejo de la AR se ha centrado en las fases iniciales de la AR al observarse que el alcanzar un buen control de la enfermedad en estadios tempranos de la misma es un factor de buen pronóstico a largo plazo en la evolución de la enfermedad. (4, 5) Por este motivo recientemente estos criterios han sido modificados, (6) con el objetivo de aumentar su especificidad y sensibilidad en el diagnóstico de la artritis reumatoide de reciente comienzo. (Tabla 3).

Tabla 3. Nuevos criterios de clasificación de AR ACR/EULAR 2010.

Criterios a ser aplicados en pacientes que presentan tumefacción de al menos una articulación, la cual no puede ser explicada por otra patología.	
A. Compromiso articular	
1 articulación grande	0
2 a 10 articulaciones grandes	1
1 a 3 articulaciones pequeñas (con o sin compromiso de grandes articulaciones)	2
4 a 10 articulaciones pequeñas (con o sin compromiso de grandes articulaciones)	3
más de 10 articulaciones (al menos una pequeña)	5
B. Serología	
FR negativo y ACPA negativo	0
FR o ACPA positivo (título bajo)*	2
FR o ACPA positivo a título alto**	3
C. Reactantes de fase aguda	
PCR y VSG normales	0
PCR o VSG elevados (por encima del valor normal)	1
D. Duración	
menos de 6 semanas	0
más de 6 semanas	1
Se cumplen criterios de AR al sumar 6 o más puntos	

* Valor por encima de valor superior del rango de normalidad, pero menor a tres veces su valor.
 ** valor mayor a tres veces el valor superior del rango de normalidad.

1.4. Evolución y medidas de desenlace de la AR

La AR es una enfermedad crónica y progresiva con un curso variable, que ya desde su inicio puede producir incapacidad funcional e ir progresando a lo largo de su evolución, produciendo destrucción y deformidad articular, pudiendo llevar a un considerable grado de invalidez. Diferentes datos sociodemográficos, clínicos, serológicos y radiológicos presentes al inicio de la enfermedad, pueden proporcionar información acerca del posible futuro curso de la enfermedad del paciente individualmente. Así podemos decir que son factores predictores de mal pronóstico la presencia al inicio de la enfermedad la afectación de múltiples articulaciones, la elevación de la VSG y PCR, la presencia del epitopo reumatoide (ER), (7) la presencia del FR y de los anticuerpos anti-CCP, (8) la presencia basal de una baja clase funcional (9) (HAQ basal mayor a 1) (10), la presencia de cambios radiológicos tempranos (7) y el retraso en el inicio del tratamiento modificador de la enfermedad. (7)

El objetivo del tratamiento en AR es lograr la mínima actividad clínica o la remisión de la enfermedad, con el objetivo de minimizar así el grado de afectación articular y discapacidad a largo plazo. Se han estudiado ampliamente posibles factores asociados a una mayor probabilidad de alcanzar la remisión de la enfermedad. Así se puede afirmar que el sexo masculino es un factor predictor independiente de remisión. (4, 11, 12) Son factores destacables de menor probabilidad de remisión la edad avanzada, la presencia del ER, FR y anti-CCP, PCR y VSG elevados, (12) una mayor actividad de la enfermedad y mayor discapacidad basales y un mayor tiempo de evolución de la enfermedad. (4, 5, 11) Existe controversia acerca del consumo de

tabaco que algunos estudios señalan como factor predictor de menor probabilidad de remisión. (5, 13, 14) La afectación radiológica también comporta un factor pronóstico de alcanzar la remisión, cuando la misma tiene una puntuación menor a 4 según el índice de Sharp. (15) Presentar una buena respuesta terapéutica en los primeros meses de iniciado el tratamiento también comporta un factor pronóstico de remisión. (9, 11, 16)

En el seguimiento de la AR se evalúan periódicamente la actividad de la enfermedad y el resultado o desenlace de la misma, para ello se utilizan diferentes herramientas. En la evaluación de la actividad de la enfermedad se utilizan parámetros clínicos y serológicos. Los parámetros clínicos incluyen la valoración de presencia de tumefacción, dolor y limitación articular. Se realiza un recuento del número de articulaciones inflamadas (NAI) y dolorosas (NAD) a la exploración. También se evalúa la intensidad del dolor referido por el paciente medido a través de una escala visual analógica (EVA) que va del 0 al 100, la presencia de rigidez matutina, fatiga y la percepción global del paciente (VGP) y del médico (VGM) del estado de su enfermedad, estas últimas puntuadas del 0 al 100, representando el 0 la ausencia total de sintomatología y el 100 la máxima puntuación de percepción global de malestar por la enfermedad. La VGP y VGM si bien son parámetros subjetivos, históricamente han sido utilizados en la valoración de la enfermedad y han demostrado ser buenos predictores de la evolución de la enfermedad; (17) actualmente se incluyen como factores de diversos índices compuestos de valoración de la actividad de la enfermedad como el DAS28, el CDAI y el SDAI. Entre los parámetros analíticos se evalúan los

niveles de PCR, VSG y la presencia de anemia principalmente, controlando además rutinariamente la glucemia, función renal, perfil hepático y lipídico.

Existen índices compuestos que permiten clasificar el estado de actividad de la enfermedad. Uno de los más utilizados (y el utilizado en los estudios realizados por nuestro grupo de trabajo) es el Disease Activity Index de 28 articulaciones (DAS28) que incluye la valoración de las pequeñas articulaciones de las manos (interfalángicas proximales (IFP) de 2º a 5º dedos, metacarpo-falángicas (MCF) de 1º a 5º dedos), carpos, codos, hombros, caderas y rodillas, excluyendo del recuento las articulaciones de los pies (interfalángicas (IF), metatarsfalángicas (MTF) y articulaciones del tarso) y tobillos. Este es un índice compuesto de actividad de la AR que incluye parámetros clínicos de afectación articular, un parámetro bioquímico y uno subjetivo del paciente, son el NAD, el NAI, la VSG y la VGP. Con su cálculo se obtiene un valor que informa sobre la actividad de la enfermedad actual siendo: valores por debajo de 2.6 señalan remisión, entre 2.6 y 3.2 una baja actividad de la enfermedad, mayores a 3.2 y hasta 5.1 una moderada actividad y valores superiores a 5.1 señalan una alta actividad. En el seguimiento de la evolución de la enfermedad y respuesta al tratamiento se valora el cambio en el puntaje del DAS28, considerándose significativo un cambio igual o superior a 1.2 puntos. (18, 19) El DAS28 es el índice más validado y consolidado para el uso en investigación y en la práctica clínica, (20) considerándose actualmente como el “gold standard” de la valoración de la actividad de la enfermedad. Existen varios otros índices para la evaluación de la actividad de la enfermedad en AR como son la respuesta ACR que valora el cambio proporcional de variables analíticas (PCR o VSG) y subjetivas (EVA dolor, VGP, VGM y el grado de discapacidad reportado por el

paciente), el Simplified Disease Activity Index (SDAI) que considera 5 variables (NAD, NAI, PCR, VGP y VGM), Clinical Disease Activity Index (CDAI) que considera 4 variables (NAD, NAI, VGP y VGM) (ni incluye variables bioquímicas), Routine Assessment of Patient Index data (RAPID) que incluye solamente medidas subjetivas de dolor, estado general y discapacidad del paciente y otros más. Todos ellos validados para su uso en investigación y en práctica clínica. (21)

La evaluación del desenlace de la enfermedad se realiza a través de la valoración de la capacidad funcional o discapacidad del paciente, a través de cuestionarios y escalas de discapacidad; el más utilizado es el Health Assessment Questionary (HAQ) y la versión modificada y más resumida del mismo, el HAQ modificado (mHAQ), siendo esta última la utilizada en nuestros estudios. Este cuestionario ha sido validado y ha demostrado ser confiable y sensible al cambio. (22-24) Su principal ventaja frente al HAQ de 20 ítems es su sencillez, lo que permite su uso rutinario en práctica clínica para el seguimiento de pacientes. Es un cuestionario que contiene 8 ítems que valoran 8 actividades básicas diarias que son puntuadas del 0 al 3 según el nivel de dificultad que perciba el paciente que tiene para la realización de cada una de ellas, según se puede observar en la Tabla 4.

Otra medida de desenlace utilizada en la AR es la valoración del daño articular medida a través de la cuantificación de la destrucción articular radiológica. Se realiza a través de la valoración de la presencia de pinzamiento y erosiones articulares en radiografías de manos y pies, existen varios índices utilizados para la cuantificación de este daño articular.

Tabla 4. Modelo de cuestionario de discapacidad: mHAQ

Durante la última semana, ¿ha sido usted capaz de...	Sin dificultad	Con alguna dificultad	Con mucha dificultad	Incapaz de hacerlo
	0	1	2	3
Vestirse solo, incluyendo abrocharse los botones y atarse los cordones de los zapatos?				
Acostarse y levantarse solo de la cama?				
Servirse una bebida?				
Caminar fuera de casa por un terreno llano?				
Lavarse y secarse todo el cuerpo?				
Agacharse y recoger algo que ha caído al suelo?				
Abrir y cerrar los grifos?				
Entrar y salir de un coche?				
Puntuación total (promedio) : sumatoria puntos / 8				
Interpretación de los resultados:				
< 0.3 normal				
< 1.3 discapacidad leve				
1.3 – 1.8 discapacidad moderada				
> 1.8 discapacidad grave				
Un cambio de 0.25 puntos se considera clínicamente significativo.				

1.4.1. Radiología y Métodos de medición del daño radiológico

La inflamación articular persistente de las articulaciones lleva a la destrucción del cartílago articular y el hueso subyacente, lo que radiológicamente se traduce principalmente en el pinzamiento del espacio articular y erosiones articulares. Una medida clave de desenlace en AR es la valoración y cuantificación de esta destrucción articular. El patrón oro clásico de valoración de esta destrucción articular son las radiografías simples (figura 1), que cuentan con la ventaja de ser accesibles, reproducibles y tener un bajo coste económico. Hoy en día se cuenta con técnicas de

imagen más avanzadas y sensibles que detectan lesiones articulares de forma más temprana como por ejemplo la ecografía y la resonancia magnética nuclear (RMN), pero que presentan la desventaja de no estar estandarizada y validada aún su utilización para la cuantificación del daño articular.

Figura 1. Radiografías manos y pies de paciente con AR avanzada con marcada destrucción articular.



Existen varios métodos para cuantificar el daño radiográfico de la AR, difieren entre sí en la forma de puntuar el daño, siendo que los más simples aquellos que asignan una puntuación global por articulación, mientras otros asignan varios puntajes a cada articulación según diferentes tipos de alteraciones presentes en la misma. Los más utilizados son los índices de Sharp y Larsen. En nuestro estudio se utilizó el índice de Larsen que valora el grado de destrucción articular con un puntaje único para cada articulación que va de 0 a 5 según presencia de pinzamiento y/o erosiones articulares. (25, 26) Este método es por tanto un método cuantitativo que mide la severidad de las erosiones articulares y tiene la ventaja de hacerse sobre radiografías estándar de manos y pies, siendo reproducible de forma satisfactoria y sensible al cambio. (26)

1.5. ETIOLOGÍA DE LA ARTRITIS REUMATOIDE

La etiología de la AR es aún desconocida, a pesar que en los últimos años se han estudiado e identificado múltiples factores de riesgo para su desarrollo. Se sabe que intervienen factores genéticos y ambientales y que la interacción de ambos puede ser determinante en el desarrollo de la enfermedad. Entre los factores ambientales el tabaco ha sido ampliamente estudiado y actualmente está reconocido como un importante factor de riesgo de AR. (27-33)

1.5.1. Factores genéticos

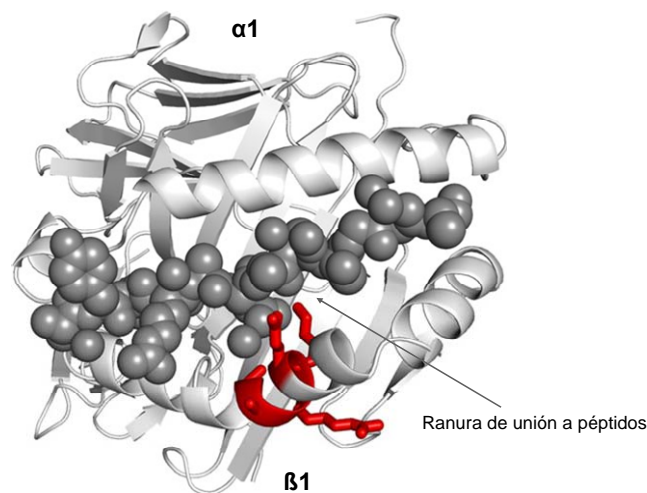
Desde hace más de 30 años que se sabe que existe un factor de susceptibilidad genética en la AR (34). Esto ha sido demostrado por varios estudios donde se observó

la presencia de una concordancia de la enfermedad en familiares de primer grado de entre el 2 y 4 % y en gemelos monozigotas de entre el 12 y 15 %, mientras que en la población general es de entre el 0.5 y 1%. (35-38) Se ha estimado que el componente genético de la AR supone aproximadamente un 60% de los factores desencadenantes de la enfermedad. (37)

La AR es una enfermedad genética compleja, lo que significa que son numerosos los alelos que contribuyen al riesgo de desarrollo de la enfermedad, aportando cada uno de ellos un riesgo modesto o bajo. En 1976 el grupo de Stasty observó la presencia de una alta frecuencia del alelo HLA-DRB1*04 en pacientes con AR. (34) Desde entonces los genes HLA han sido los más estudiados y mejor caracterizados en relación a la predisposición al desarrollo de AR. Así, tras esta descripción inicial de la AR con el HLA-DR4 (HLA-DRB1*04) se demostró que no era uno sino varios de sus alelos (DRB *0401, *0404, *0405 y *0408) los asociados con la AR. Posteriormente se describió también la asociación de la enfermedad con otros alelos HLA-DRB como *0101, *0102 y *1001. Hoy en día se sabe que todos estos alelos codifican para una misma secuencia de 5 aminoácidos de la tercera región hipervariable de la cadena beta de la molécula DRB1, una región que es fundamental en el proceso de reconocimiento antigénico, ya que determina un bolsillo de unión a péptidos (figura 2). Basándose en esta observación se formuló la hipótesis del epitopo compartido (EC) o epitopo reumatoide (ER) que predice que estas moléculas DRB1 se unirían a el o los mismos péptidos provocando una respuesta inmune que conduciría al desarrollo de la AR. (39) La presencia de estos alelos no solo incrementa el riesgo de padecer AR, sino que en numerosos estudios su presencia se ha asociado con

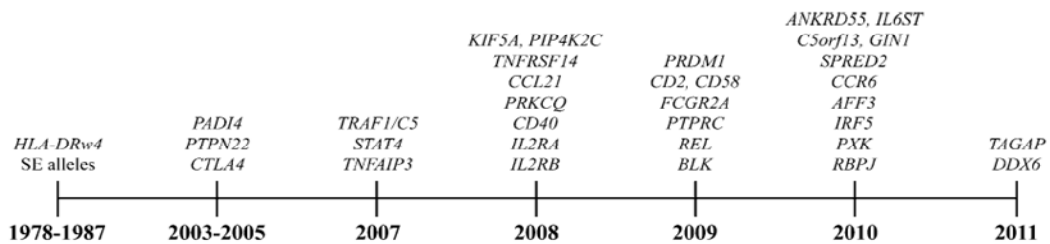
interacciones con factores medioambientales como el tabaco, (32, 40-43) así como también a un peor pronóstico, con un mayor grado de destrucción articular y presencia de manifestaciones extra-articulares. (8, 44, 45) Este peor pronóstico es especialmente evidente cuando el ER se incluye dentro de los alelos DRB1*04, especialmente con el alelo *0401. Pero el HLA-DRB1 explica solamente un tercio del componente genético de la AR, (46, 47) por lo tanto se debe asumir que existen numerosos genes que influyen en la AR fuera de la región HLA.

Figura 2. Molécula HLA-DR4 con la posición de la secuencia del ER. Estructura del HLA-DRB1*0401/DRA1*0101 unida a un péptido humano derivado del colágeno tipo II (esferas en gris oscuro), muestra la ranura de unión al péptido creada por las estructuras helicoidales de las cadenas alfa y beta del HLA-DR con el ER (en rojo) en el lugar del bolsillo de unión 4. Modificada de Bax et al (48)



Existen dos grandes aproximaciones para la identificación de los genes que confieren susceptibilidad a la AR, los estudios de asociación y los estudios de ligamiento y mapeo (rastreo sistemático del genoma, conocidos como whole genome scans, WGSs). Con estos estudios, se han identificado muchos otros polimorfismos genéticos que también contribuyen al desarrollo de la AR aunque en menor medida. Entre ellos destaca como segundo mayor gen de susceptibilidad para el desarrollo de AR el PTPN22 (variante funcional de la proteína intracelular de la tirosina fosfatasa N22), que duplica el riesgo de AR seropositiva (FR y ACPA positivo (49)) en heterocigotas y lo cuadriplica en homocigotas. (50, 51) Otros genes de susceptibilidad de AR en poblaciones de ascendencia europea son el STAT4, (52, 53) un factor de transcripción clave en la regulación de la respuesta inmune que interviene en la señalización de vías que promueven la diferenciación de linfocitos T CD4 a Th1 y Th17, los cuales están involucrados en la patogenia de la AR y el TRAF1/C5. (54, 55) Hasta ahora, los estudios de asociación han estado limitados a pequeñas regiones del genoma que contienen genes candidatos o que han sido identificadas en estudios familiares de ligamiento, pero la reciente disponibilidad de estudios de genoma completo (genome-wide association studies, GWASs) ha añadido numerosos nuevos loci potenciales de susceptibilidad para AR (Figura 3). Estudios replicativos y de mapeo fino serán necesarios para establecer el papel de estos nuevos locus en la susceptibilidad a AR.

Figura 3. Genes de susceptibilidad para Artritis Reumatoide (48)



1.5.2. Factores medioambientales

Como se ha señalado previamente, los factores genéticos justifican aproximadamente el 60% del riesgo de AR, quedando por lo tanto una proporción de otros factores que intervendrían también en el desarrollo de la enfermedad. Múltiples factores ambientales han sido estudiados en su implicación con la AR, aunque la evidencia científica no es concluyente en algunos casos. A continuación se revisan los factores ambientales más destacables.

Hormonal. La mayor prevalencia de AR en mujeres, especialmente durante los años fértiles y la frecuente mejoría de la enfermedad durante el embarazo (56) obligan a considerar el posible papel hormonal en la susceptibilidad a la enfermedad. Se ha observado una reducción del riesgo de AR en mujeres que toman anticonceptivos orales, (57) (aunque otros estudios muestran resultados discordantes), que presentan antecedentes de lactancia prolongada (más de 12 meses en total) o han tenido una menarquia temprana; (58) mientras que una menopausia precoz favorecería el riesgo

de AR. (59) Por otro lado, en hombres con AR, se han observado niveles de hormonas sexuales masculinas, especialmente testosterona, disminuidos; mientras que no se han observado diferencias en los niveles de hormonas sexuales en mujeres con AR y controles sanos. (60)

Factores socioeconómicos. Es sabido que el estatus socioeconómico influye en el curso de la enfermedad, pero éste también podría determinar un aumento en el riesgo de desarrollar la misma. (61) Se ha observado una asociación inversa entre el nivel de educación formal y el nivel socioeconómico definido por la actividad laboral y el riesgo de desarrollar AR. (62, 63)

Factores dietéticos. La dieta mediterránea, rica en pescado, aceite de oliva, verduras cocidas y fruta ha mostrado tener un papel protector frente a la AR lo que podría deberse al alto contenido de ácidos grasos omega 3 de estos alimentos. (64, 65) Algunos estudios han analizado el consumo de carnes rojas en relación al riesgo de desarrollar AR, pero no ha podido establecerse ninguna relación clara entre la AR y este factor nutricional. (66)

Vitamina D. La vitamina D ha sido ampliamente estudiada en su implicación en diferentes enfermedades autoinmunes. Su rol en relación al riesgo de desarrollo de AR es “equivoco”, (67, 68) aunque parece existir una asociación inversa entre el consumo de vitamina D y AR. (69) Se ha observado una marcada prevalencia de déficit de vitamina D en series de pacientes con AR, pero no se ha establecido el rol que ello pudiera tener en el desarrollo de la enfermedad. (70-72)

Alcohol. Según un estudio danés recientemente publicado el consumo de alcohol tendría un efecto protector de la AR, siendo el mismo dosis dependiente, observándose una mayor disminución del riesgo de AR en aquellos pacientes portadores del EC. (73, 74)

Café. Múltiples estudios han analizado el efecto del consumo de café sobre la AR pero los resultados son discordantes. (75-77) Podría existir un aumento del riesgo de AR en relación al consumo de altas dosis de café (más de 10 tazas al día). (73)

Infecciones. Varios agentes infecciosos han sido estudiados e implicados en el desarrollo de la AR basándose en una mayor frecuencia de serologías virales positivas o su presencia en líquido sinovial de pacientes con AR, sin embargo, su papel como agente desencadenante de la enfermedad es aún controvertido. Posiblemente los agentes infecciosos participen en el desarrollo de la enfermedad en un contexto de predisposición genética y no de forma aislada sino interactuando conjuntamente con otros factores de riesgo. Cabe destacar el gran interés que en los últimos años ha despertado la *Porphyromonas gingivalis* como posible estímulo para el desarrollo de la AR. La *P. gingivalis* es el agente causal principal de la periodontitis, enfermedad más frecuente en sujetos con AR (el doble que en sanos). (78) Contiene proteínas citrulinadas endógenas y expresa una enzima con capacidad de citrulinación, (79) y produce una inflamación crónica (caracterizada por la presencia de citoquinas proinflamatorias y TNF) y erosiva, con destrucción del hueso periodontal. (80) Ambas enfermedades (AR y periodontitis) están relacionadas con la presencia del HLA-DRB1 y pueden presentar una severidad clínica y radiológica similar. (81)

Sílice. La exposición a cristales de sílice es un factor de riesgo de AR bien definido. El sílice está presente en la industria minera, de construcción, cerámicas, vidrio, agricultura y asimismo sectores como la electrónica; y se ha señalado que duplica el riesgo de AR en análisis ajustado por exposición al tabaco. (82)

Tabaco. El tabaco es el factor de riesgo ambiental para el desarrollo de la AR más ampliamente estudiado y reconocido. Hace ya más de 20 años que Vassey et al (27) sugirieron por primera vez su implicación en la AR al observar inesperadamente dicho efecto en su estudio sobre el efecto de los anticonceptivos orales en la AR. Desde entonces este efecto del tabaco ha sido reproducido y confirmado en múltiples estudios de casos y controles y cohortes. (28, 83-86) Dichos estudios analizaron el efecto del tabaco sobre la AR como factor de riesgo para su desarrollo y su fuerte interacción con factores genéticos y los ACPA, así como también su efecto en la evolución clínica, radiológica y respuesta a tratamientos modificadores de la enfermedad han determinado un mejor conocimiento de la enfermedad. Más adelante se comenta en detalle el efecto del tabaco en los diferentes aspectos de la AR.

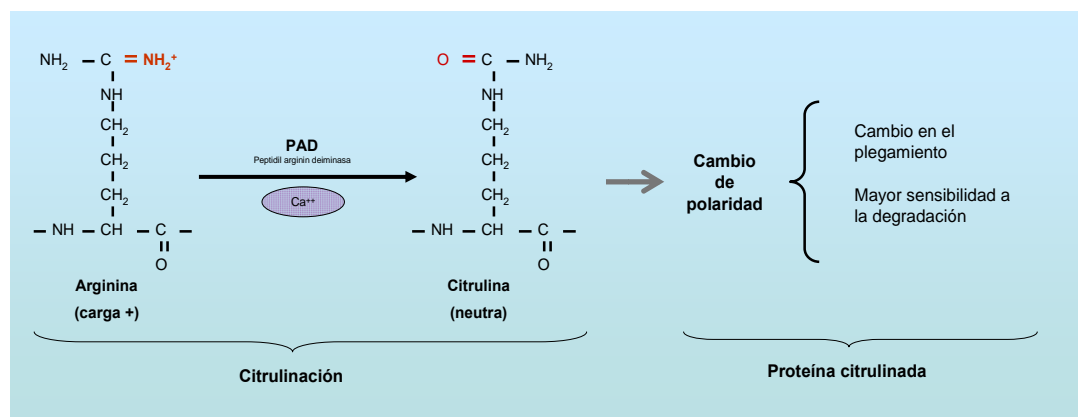
1.5.3. Autoinmunidad y autoanticuerpos en la AR

El descubrimiento de autoanticuerpos en el suero de pacientes con AR ha sugerido históricamente la presencia de una etiología autoinmunitaria en la AR. El autoanticuerpo más conocido de la AR es el Factor Reumatoide (FR), un autoanticuerpo dirigido contra la porción Fc de la IgG, descritos por primera vez en 1940, que sugirieron el concepto de una contribución de la inmunidad humoral en la

patogenia de la AR. El FR es positivo en aproximadamente el 75% de los pacientes con AR y es uno de los criterios diagnósticos de la enfermedad, (3, 6) pero no son específicos de la misma ya que pueden encontrarse también en otras enfermedades autoinmunes, infecciones crónicas, procesos inflamatorios e incluso en población sana. El FR es producido localmente por los agregados linfoides sinoviales y se asocia a una enfermedad más grave con mayor destrucción articular y manifestaciones extra-articulares. (87-89)

Hasta hace poco, la determinación sérica del FR era la única prueba utilizada para el diagnóstico de esta enfermedad. Estudios realizados durante los últimos años han demostrado que en el suero de los pacientes con AR se identifican anticuerpos dirigidos contra secuencias peptídicas que han sufrido un proceso de deiminización que consiste en la conversión de un aminoácido arginina en un residuo de citrulina. (90, 91) a través de la enzima peptidil arginina-deiminasa, que se activa durante los procesos inflamatorios o de apoptosis. (92) (Figura 4)

Figura 4. Esquema del proceso de citrulinación.



El proceso de citrulinación, por tanto, es un proceso fisiológico que ocurre dentro de las células apoptóticas. Estas células son habitualmente reconocidas y eliminadas por los macrófagos y otras células del sistema inmune, pero en contexto de procesos inflamatorios, en los que hay una gran cantidad de muerte celular por necrosis o apoptosis, la remoción o eliminación de estas células sería ineficiente, siendo posible entonces detectar localmente la presencia de proteínas citrulinadas.

Esta modificación post-transcripcional del aminoácido básico arginina a un residuo neutro como la citrulina, permite que la filagrina y otras proteínas presentes en la articulación reumatoide como la vimentina, el colágeno tipo II o la fibrina sea reconocida por el sistema inmune, (93) favoreciendo el desarrollo de una respuesta inmune con producción de anticuerpos, en el contexto de una predisposición genética y probablemente también factores ambientales facilitadores.

Estos autoanticuerpos anti péptidos citrulinados son altamente específicos de la AR, hasta un 90 – 98 %, con una sensibilidad también elevada, de entre el 70 - 80%. (94, 95)

En la práctica clínica estos anticuerpos frente a péptidos citrulinados suelen determinarse por un test de inmunoensayo que utiliza como sustrato antigénico péptidos sintéticos cíclicos citrulinados de los que se desconoce su secuencia de aminoácidos (test comercial CCP2), que presenta una sensibilidad de alrededor del 70%. (95) Evidencias recientes sugieren que la fibrina, ampliamente presente en la sinovial reumatoide, es el sustrato antigénico “in vivo” que es reconocido por dichos anticuerpos. Actualmente este test comercial CCP2 ELISA es reconocido como el

“gold standard” para la determinación de anticuerpos anti-péptidos/proteínas citrulinadas (ACPA). (96, 97)

Recientemente nuestro grupo (98, 99) desarrolló mediante Síntesis de Péptidos en Fase Sólida unos anticuerpos quiméricos frente a péptidos sintéticos citrulinados de fibrina humana (p18-pcfc1cyc) y filagrina, dichos anticuerpos tienen una sensibilidad igual o mayor que los anticuerpos comerciales anti-CCP2 para el diagnóstico de AR, manteniendo una especificidad muy alta (98%) (Figura 5).

Figura 5. Secuencia de péptidos sintéticos citrulinados de fibrina/dilagrina

[Cit 630]αfib(617-631)	H S T K R G H A K S R P V X G	p18
[Cit 627,630]αfib(617-631)	H S T K R G H A K S X P V X G	p19
[Cit 621,630]αfib(617-631)	H S T K X G H A K S R P V X G	p22

Secuencia peptídica de los tres péptidos cíclicos fibrina/filagrina sintetizados en el laboratorio que sirven de sustrato antigénico al test de enzaimunoensayo para la detección de anticuerpos en suero y líquido sinovial. En todos ellos existe una sustitución del aminoácido arginina por citrulina en la posición 630 de la cadena alfa de fibrina humana

Se ha observado que estos anticuerpos frente a péptidos citrulinados están presente en el suero hasta 10 años antes del desarrollo de la enfermedad, (100-102) presentando un aumento en su título durante el tiempo que precede al debut de la enfermedad (103, 104)

Así, se puede decir que estos anticuerpos son los marcadores más específicos de la AR y por tanto con importantes propiedades diagnósticas; y además están presentes desde fases tempranas, lo que es de especial interés e importancia para el diagnóstico de pacientes con artritis de inicio reciente. (96, 105-108) Esto ha llevado a que su utilización en la práctica clínica en los últimos años se haya difundido

ampliamente. Todo esto ha llevado a que los anti-CCP hayan sido incluidos dentro de los criterios serológicos de los nuevos criterios diagnósticos de AR desarrollados por ACR / EULAR en 2010. (6)

Los anti-CCP son además un importante marcador pronóstico de la AR. Numerosos estudios han demostrado que los pacientes portadores de estos anticuerpos tienen mayor grado de destrucción articular. (102, 109-112) Otros estudios han observado una persistencia de mayor actividad de la enfermedad a lo largo del seguimiento en pacientes que presentan anti-CCP (113). Por otro lado cabe señalar que no se ha observado ninguna correlación entre la positividad de los anti-CCP y la presencia de manifestaciones extra-articulares (al contrario de lo observado con el FR). (114)

2. TABACO

El tabaco es una planta originaria de América cuyas hojas eran consumidas por la población nativa desde antes de la llegada de los españoles. Entonces el tabaco se consumía no solamente fumando sino que también se masticaba, se aspiraba por la nariz, se comía, se bebía e incluso se utilizaba en celebraciones rituales como ofrenda a los dioses o por ejemplo se esparcía en campos antes de sembrar. Llegó a los occidentales tras la colonización española. Pero no fue hasta finales del siglo XVIII, con la revolución industrial, que comenzó su producción masiva. Esto llevó a un gran aumento de su consumo. Hubo que esperar hasta finales del siglo XX para que comenzaran a reconocerse sus efectos nocivos, convirtiéndose rápidamente en un problema de salud pública. El tabaco fue asociándose e identificándose progresivamente como causa de muchas enfermedades, considerándose actualmente como la segunda causa más frecuente de morbilidad y mortalidad mundial. Un estudio donde se analizó la mortalidad mundial atribuible al tabaco estimó que en el año 2000 la misma fue de 4.83 millones de personas. (115) En España, según datos de la Encuesta Nacional de Salud de 2006, el 29,5% de los adultos mayores de 16 años son fumadores y un 20.5% son ex-fumadores, y según otro estudio recientemente publicado, en 2006 en España se produjeron 53.155 muertes atribuibles al tabaquismo en individuos ≥ 35 años, lo que supone el 14,7% (25,1% en varones y 3,4% en mujeres) de todas las muertes ocurridas. (116)

El humo del tabaco contiene más de 4500 sustancias, la mayor parte de ellas nocivas para la salud. Entre ellas destaca la presencia el monóxido de carbono, los oxidantes y el alquitrán, principales responsables de sus efectos nocivos.

Actualmente se sabe que el consumo de tabaco aumenta de forma significativa el riesgo de presentar arterioesclerosis, cardiopatías, especialmente enfermedad coronaria, enfermedad vascular periférica, patología pulmonar, destacando la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Además está estrechamente relacionado con un aumento del riesgo de cáncer, no solamente de pulmón sino también de boca, laringe, esófago, estómago, páncreas, mama, cérvix y vejiga entre otros. Se ha asociado también el tabaco con un retraso en la cicatrización de las heridas, el aumento de riesgo de osteoporosis y en mujeres embarazadas con un mayor riesgo de abortos y de niños con bajo peso al nacer. Aunque es un efecto menos conocido, el tabaco también afecta el sistema inmune, alterando mecanismos tanto de la respuesta inmunes innata como adaptativa produciendo un estado de inmunosupresión (117-119) y favoreciendo el desarrollo de enfermedades autoinmunes. En los últimos años se ha relacionado el consumo de tabaco de forma causal con el desarrollo y expresión de múltiples enfermedades autoinmunes incluyendo la artritis reumatoide, la espondilitis anquilosante, (120, 121) la artritis psoriásica, (122, 123) el lupus eritematoso sistémico, (124, 125) la esclerosis múltiple, (126, 127) la enfermedad de Graves (128, 129) y la cirrosis biliar primaria (130) entre otras.

2.1. Efectos del Tabaco en el sistema inmune

Los procesos inflamatorios están caracterizados por la activación y liberación de células inflamatorias a la circulación y el aumento de mediadores de inflamación circulantes como los reactantes de fase aguda y citoquinas proinflamatorias.

Numerosos estudios han demostrado que el consumo de tabaco aumenta el recuento total de leucocitos, (131-133) que se debe principalmente al aumento de neutrófilos polimorfonucleares (PMN). Esto es el resultado de la estimulación de la hematopoyesis medular producida por el tabaco, que estimula la liberación de leucocitos y plaquetas a la circulación periférica. Estos PMNs circulantes presentan alteraciones fenotípicas, con niveles más elevados de L-selectina (molécula de adhesión molecular, altamente expresada normalmente en PMNs inmaduros) y del contenido de mieloperoxidasa (enzima producida en los estadios iniciales de la proliferación de PMNs), así como también disminución de su capacidad de migración y quimiotaxis. (134) Se ha observado además que los fumadores presentan un aumento del número de linfocitos T circulantes, (135) este efecto sería específico sobre subclases de células T, con alteración del índice CD4(+)/CD8(+) (136, 137) e induciendo además una anergia de estas células. (138) La exposición al tabaco asimismo ha demostrado inhibir la función de las células dendríticas circulantes, inhibiendo así la producción de citoquinas clave Th1, favoreciendo el desarrollo de respuestas Th2 (139) lo que explicaría un aumento del riesgo de enfermedades alérgicas en los fumadores.

Se ha observado también que el consumo de tabaco produce un aumento de numerosas citoquinas proinflamatorias como el TNF- α y su receptor soluble, de interleuquinas (IL) (IL1, IL6, IL8) y factor estimulante de colonia granulocito-macrófago (GM-CSF) (140, 141), aunque también se ha asociado el tabaco con la disminución de producción de IL6 a través de los receptores Toll-like (TLR)-2 y 9, disminución de la producción también de IL10 a través de la activación de TLR-2 y

reducción de la producción IL1b, IL2, TNF- α y INF- γ mediada por células mononucleares (142).

Todo lo anterior explica y justifica la alteración de las respuestas inmune innata y adquirida que favorecería los procesos infecciosos y el desarrollo de enfermedades inflamatorias alérgicas y autoinmunes favorecidas por el consumo de tabaco.

2.2. Tabaco y autoinmunidad

Como se señaló previamente, el consumo de tabaco se ha asociado al aumento de riesgo de desarrollo de diversas enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide, el lupus eritematosos sistémico (LES), la enfermedad de Graves y la cirrosis biliar primaria (CBP). La etiopatogenia de las mismas sabemos es multifactorial y se postula están favorecidas por una interacción entre factores ambientales como enfermedades infecciosas, vacunas, fármacos, estrés, dieta, tabaco y factores genéticos predisponentes.

Aún no se conoce el mecanismo por el cual el consumo de tabaco favorece el desarrollo de enfermedades autoinmunes, pero existen algunas hipótesis al respecto. Una de ellas señala que la exposición al tabaco produce hipoxia o necrosis celular por toxicidad con una saturación de la capacidad de eliminación de estos elementos por el sistema inmune, produciéndose entonces la liberación de antígenos intracelulares (habitualmente no expuestos a su reconocimiento por el sistema inmune) que a su vez favorecerían o precipitarían una reacción inmune en individuos susceptibles. Por otro lado el tabaco contiene concentraciones extremadamente elevadas de radicales libres y

además aumenta la generación y activación de radicales libres endógenos, estas toxinas interactuarían con el ácido desóxirribonucleico (DNA) causando mutaciones genéticas y activación de genes que conducirían al desarrollo de enfermedades autoinmunes. (143). Por último cabe mencionar el efecto anti-estrogénico que produce el tabaco, esto plantea la hipótesis de una modulación del equilibrio hormonal por parte del tabaco que podría favorecer procesos inflamatorios.

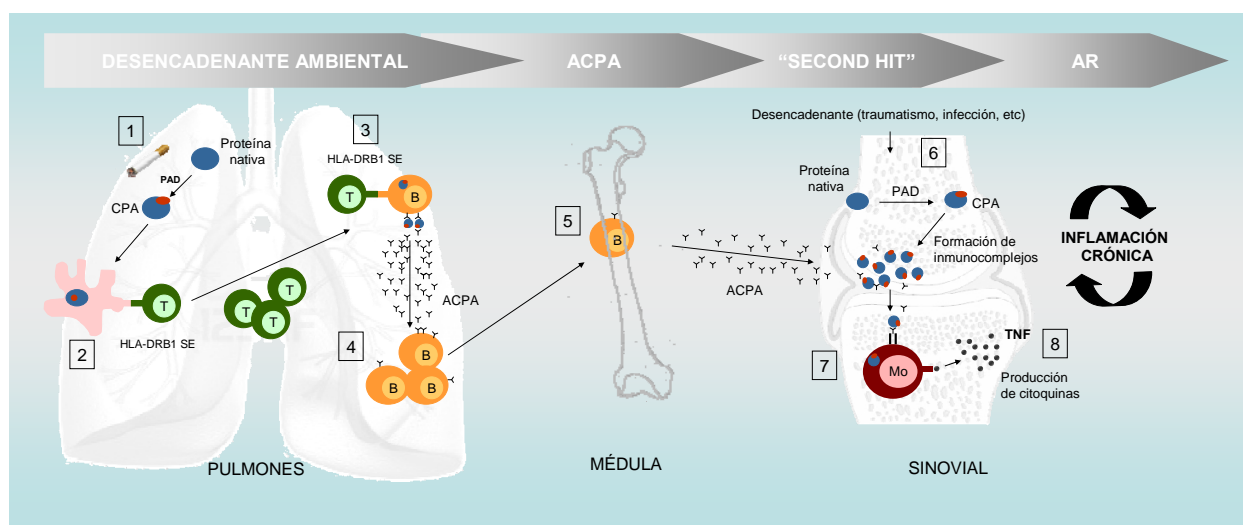
2.3. Tabaco y proteínas citrulinadas

Se postula que la exposición al tabaco y la reacción inflamatoria local y necrosis celular por él producida, favorece una citrulinación de proteínas a nivel pulmonar ofreciendo así un sustrato para la activación de una respuesta inmune. Siguiendo esta hipótesis se ha estudiado la presencia de péptidos y proteínas citrulinadas en las células del lavado bronquioalveolar (BAL) de fumadores y controles sanos no fumadores. Se observó que los fumadores presentaban un mayor porcentaje de macrófagos en el BAL frente a los no fumadores (94% vs 89%) y que el 13.75% de las células del BAL de los fumadores eran citrulina positivas, llegando al 28.5% en el grupo de fumadores con inflamación pulmonar, mientras que ninguno de los controles sanos no fumadores fueron positivos para citrulina (144). Siguiendo la misma línea, en otro estudio del mismo grupo de investigadores se analizó la expresión de la enzima peptidilarginin deiminasa (PAD) (enzima responsable de la citrulinación de proteínas) en las células del BAL de fumadores y controles no fumadores, observándose un aumento significativo de la expresión de PAD en las células bronquioalveolares de individuos fumadores (145).

En presencia de factores genéticos de susceptibilidad la citrulinación de proteínas a nivel pulmonar podría facilitar el desarrollo de una respuesta autoinmune local con producción de anticuerpos anti-citrulina. En un segundo tiempo, en presencia de un proceso inflamatorio articular y por tanto de citrulinación de proteínas y péptidos (146), se formarían inmunocomplejos con los anticuerpos anti-citrulina circulantes, que desencadenan finalmente una respuesta inmune con liberación de mediadores de inflamación (TNF, ILs) (147). (Figura 6)

Se ha estudiado la presencia de ACPAs en fumadores sanos y se comparó con su presencia en un grupo control sano no fumador. Los fumadores presentaron ACPAs en un 2.78% mientras que los no fumadores en un 1.38%, diferencia que no alcanzó la significación estadística ($p=0.13$). (144)

Figura 6. Ilustración de la hipótesis del modelo inmunológico de desarrollo de los ACPA y la AR.



PAD: peptidyl arginina deiminasa, CPA: péptido/proteína citrulinada (antígeno), ACPA: anticuerpo anti péptido/proteína citrulinada.

1. La exposición al tabaco a largo plazo induce la activación local de de enzimas PAD con la consecuente citrulinación de péptidos y proteínas presentes a nivel pulmonar; 2. Activación de células presentadoras de antígenos en respuesta a las señales de peligro/daño derivadas de los componentes tóxicos del tabaco, que lleva a un aumento de la inclusión y presentación de los péptidos citrulinados en el contexto del HLA-DRB1 “epitopo compartido” (shared epitope) a células T, que inician una proliferación y diferenciación, con producción de citoquinas, y formación de células T memoria CPA-específicas; 3. Activación de células B por las células T CD4+; 4. Proliferación y diferenciación de las células B CPA específicas con producción de ACPA, aumento de la expresión de epitopo específico y 5. Formación de células B memoria CPA-específicas; 6. Ocurre un segundo evento inflamatorio a nivel articular/sinovial con la activación local de enzimas PAD y citrulinación de proteínas y péptidos sinoviales; 7. Tras el reclutamiento de múltiples ACPAs específicos articulares se forman inmunocomplejos CPA-ACPA, con la unión a receptores Fc expresados en las células presentadores de antígenos, que lleva a la activación de una respuesta inmune con producción de citoquinas pro-inflamatorias (principalmente TNF) y un aumento en la presentación de antígenos de péptidos citruilnados en el contexto del epitopo compartido HLA-DRB1 que a su vez lleva a la activación de células T patógenas y las células B aumentan la producción de ACPA. 8. Se forma un círculo vicioso estableciéndose una inflamación sinovial crónica y el desarrollo de la AR. Modificado de Klareskog 2011. (148)

3. TABACO Y ARTRITIS REUMATOIDE

Según se mencionó previamente, hace ya más de 20 años que Vassey et al (27) sugirieron por primera vez la implicación del tabaco en el riesgo de desarrollo de AR. Desde entonces múltiples estudios han confirmado sus resultados y han ampliado la información sobre la relación de este factor ambiental y los genes de susceptibilidad genética de la AR así como también los autoanticuerpos específicos de la misma y su efecto en la evolución de la enfermedad.

3.1. Tabaco, ACPA / FR y HLA-DRB1

Se ha señalado que el consumo de tabaco está selectivamente asociado a un aumento de riesgo de AR seropositiva (FR y/o ACPA positivos), sin observarse efecto sobre la AR seronegativa (FR y/o ACPA negativos). Estudios independientes han demostrado que el tabaquismo aumenta el riesgo de desarrollar AR seropositiva pero no seronegativa, tanto en poblaciones caucásicas (norte de Europa) (14, 73, 89, 149-153) como latinoamericanas (42) y asiáticas (154). Sin embargo en un estudio que analizó una población afro-americana con AR no se pudo demostrar esta asociación, (155) asimismo solamente en una de tres extensas cohortes norteamericanas estudiadas se observó esta asociación y exclusivamente en grandes fumadores (156). Como hemos mencionado previamente, se ha observado que los ACPA son detectables en el suero de pacientes varios años antes del debut clínico de la enfermedad. Un estudio ha analizado este hecho en relación al consumo de tabaco y observó que los anti-CCP (específicamente los IgA anti-CCP) eran detectables en el suero de los sujetos

fumadores de forma más temprana que en aquellos no fumadores. (104) En este mismo estudio se observó también una mayor frecuencia de FR IgA de forma temprana (pre-AR) en fumadores frente a no fumadores.

Este aumento de riesgo de AR seropositiva en fumadores está asociado a la presencia del epitopo reumatoide (HLA-DRB1), observándose que existe una importante interacción genético-ambiental, entre los alelos del ER y el tabaco. Esta circunstancia se observó claramente en una cohorte sueca de AR (43) donde se analizó la interacción entre el ER y el tabaquismo. Los autores observaron que mientras en aquellos pacientes con una copia y dos copias del ER el riesgo relativo de desarrollar AR seropositiva era de 2.4 (IC 95%:1.4-4.2) y 4.2 (IC 95%: 2.1-8.3) respectivamente, en relación a aquellos sin ER; en los fumadores este riesgo aumentaba a 5.5 (IC 95%: 3.0-10.0) en presencia de una copia del ER y a 15.7 (IC 95%: 7.2-34.2) en presencia de dos copias del ER. Ni el tabaco ni el ER ni la combinación de ambos factores se asociaron a un mayor riesgo de AR seronegativa. Estudios posteriores obtuvieron similares resultados (41, 157-160).

Análisis más profundos estudiaron el rol de la intensidad y duración del hábito tabáquico sobre la AR y el tras su abandono. En cuanto a la intensidad y duración del consumo de tabaco los estudios señalan que su efecto es dosis dependiente y observan un franco aumento del riesgo de desarrollo de AR cuando el mismo es superior a 20 paquetes/año, (73, 161, 162) aunque algunos lo señalan incluso por encima de 10 paquetes/año. (29). Al analizar por separado cohortes de pacientes ex-fumadores se observó que en ellos el riesgo de AR también está aumentado, estimando que este exceso de riesgo persiste hasta 20 años después de haber dejado de fumar. (29)

Los anticuerpos anti-péptidos citrulinados (ACPA), como se ha mencionado previamente, pueden detectarse en suero años antes del inicio de las manifestaciones clínicas de la AR (100, 101), esto plantea su posible rol en la etiopatogenia de la enfermedad. Su asociación con el tabaco y el efecto dosis dependiente del mismo, señalan al tabaco como un desencadenante ambiental de la enfermedad, el más importante y estrechamente ligado de los conocidos hasta la actualidad. Según un estudio reciente podría atribuirse a aproximadamente un tercio de las AR ACPA positivas al consumo de tabaco. El tabaquismo justificaría el 35% de las AR ACPA positivo (IC95%: 25%-45%), siendo este efecto mayor en hombres que en mujeres (42% y 31% respectivamente) y mucho mayor aún en presencia de dos copias del epitopo reumatoide (55% IC95%: 3% – 67%). (33) Este efecto sería comparable en intensidad al que tiene el tabaquismo en la cardiopatía isquémica.

3.2. Tabaco y curso clínico de la enfermedad

El tabaco no solamente aumenta el riesgo de AR seropositiva sino que también parece tener una influencia sobre el fenotipo o expresión clínica de la enfermedad.

Los pacientes con AR que fuman con mayor frecuencia son hombres y presentan un debut más temprano de su enfermedad, de entre 5 a 7 años de diferencia, hecho de especial importancia tratándose la AR de una enfermedad crónica y discapacitante (14, 89, 153, 163, 164). No se han observado otras diferencias en las características de la AR (como niveles en los reactantes de fase aguda, duración de la enfermedad, grado de actividad de discapacidad) al momento del debut de la

enfermedad al comparar pacientes con AR fumadores y no fumadores, siendo coincidentes en este sentido la mayoría de los estudios realizados, (164, 165) aunque algunos observan una mayor actividad basal de la enfermedad en fumadores (89, 152).

El impacto del tabaco en el curso clínico de la enfermedad no está claro ya que mientras algunos estudios informan que los fumadores presentan una peor evolución con mayor discapacidad y actividad de la enfermedad (13, 14, 89, 153), otros evidencian una evolución similar de la enfermedad en fumadores y no fumadores (152, 163). Por otro lado algunos estudios señalan una mayor frecuencia de manifestaciones extra-articulares en los pacientes con AR fumadores frente a los no fumadores (166), principalmente mayor frecuencia de nódulos reumatoides (89, 150, 155, 163) y afectación pulmonar (51, 167).

En los últimos años varios estudios han analizado de forma específica si el tabaquismo es un factor de peor respuesta al tratamiento antirreumático, con FAMEs o antagonistas del TNF. Un estudio demuestra que los pacientes fumadores utilizan mayor número de FAMEs y a mayor dosis que los no fumadores (153), mientras que otros dos estudios observan que el tabaquismo es un factor de peor respuesta al tratamiento con metotrexato en monoterapia (14, 168). Esta circunstancia se corrobora en los datos recientemente publicados de un registro sueco que evaluó la influencia del tabaco en la respuesta a metotrexato en una cohorte de AR de inicio; los autores observaron que tras tres meses de tratamiento, se logró una buena respuesta EULAR de forma significativamente superior en los no fumadores frente a los fumadores activos (36% frente a 27%), presentando los pacientes fumadores una tendencia a una menor probabilidad de remisión. (169) Este estudio también analizó la respuesta al

tratamiento anti-TNF como primer biológico tras fallo a FAME en fumadores y no fumadores; observó que los fumadores activos tenían menos probabilidad de alcanzar una buena respuesta EULAR a los 3 meses, lográndolo solamente el 29% de los fumadores activos frente al 43% de los no fumadores. Al analizar la probabilidad de remisión en ambos grupos se observó que los fumadores activos tenían una tendencia a una menor probabilidad de alcanzar este objetivo a los 3 meses, siendo esta significativa a los 6 meses OR 0.54 (95% IC: 0.30-0.99). Varios otros estudios han analizado la respuesta al tratamiento anti-TNF en relación al consumo de tabaco observando resultados similares, confirmando una menor respuesta a los tratamientos anti-TNF en los pacientes fumadores. (169-174) Actualmente no se ha analizado el efecto del consumo de tabaco en la respuesta a otros tratamientos biológicos no anti-TNF, solamente hay datos de un estudio recientemente publicado que analiza la respuesta a tratamiento con rituximab en relación a la presencia del FR y del consumo de tabaco y observan que tras 6 meses de tratamiento, como era de esperar, los pacientes FR y ACPA positivos responden en una mayor proporción de forma significativa que los seronegativos y que el consumo de tabaco también afectaba la respuesta al tratamiento. Aquellos pacientes que nunca habían fumado respondían en un 98% frente al 61% y 20% de aquellos que habían fumado previamente o eran fumadores activos respectivamente, diferencia que fue significativa. Asimismo se observó la existencia de una interacción entre FR/ACPA y el tabaquismo en la que los pacientes que nunca habían fumado presentaban una alta respuesta terapéutica mientras que aquellos fumadores con AR seropositiva presentaban una marcada menor respuesta terapéutica. (175)

Se postula que el consumo de tabaco aumentaría la tasa metabólica basal y podría asociarse a una refractariedad al tratamiento anti-reumático por interacciones farmacocinéticas o farmacodinámicas; por ejemplo se ha demostrado que los pacientes fumadores tienen niveles menores de poliglutamatos de metotrexato, la forma activa del fármaco, que se correlaciona con la respuesta clínica (176). En cuanto a la respuesta a los anti-TNF no se han reportado diferencias en la farmacocinética o farmacodinamia del mismo por el consumo de tabaco, aunque si se ha observado la presencia de un aumento de la producción de TNF alfa por las células T circulantes en los pacientes fumadores con AR que podría justificar una menor respuesta al tratamiento. (140)

3.3. Tabaco y progresión radiológica

El efecto del tabaquismo sobre la progresión radiológica de la AR aún no está bien establecido. Los primeros estudios realizados abordando este aspecto (149, 150, 177) fueron una serie de estudios transversales realizados en cohortes de AR de larga evolución (media de 13 años aproximadamente) y observaron la presencia de un significativo mayor daño radiológico en pacientes fumadores frente a no fumadores. Estudios posteriores tanto prospectivos como transversales mostraron resultados discordantes. En el estudio de Mathey et al (178) donde se analizó el efecto del tabaco en una cohorte de 164 pacientes con AR con seguimiento a 5 años, observaron un daño radiológico evaluado por el índice de Larsen, significativamente más elevado en los pacientes fumadores comparado con los no fumadores (83.1 ± 47.2 y 104.7 ± 49.9 respectivamente), así como un mayor nivel de discapacidad medida por el HAQ (1.39

± 0.8 vs 1.77 ± 0.8 respectivamente). Un estudio griego (152) analizó una cohorte de 287 pacientes con AR de inicio con resultados similares, observando mayor progresión radiológica en los fumadores activos y ex-fumadores que en los no fumadores después de al menos dos años de seguimiento. Sin embargo otros estudios prospectivos realizados en grandes cohortes de AR de inicio no corroboran estos resultados y la progresión radiológica de la enfermedad no se vio influenciada por el hábito tabáquico (89, 110, 153, 155, 163, 164). Así por ejemplo en un estudio multicéntrico en 379 pacientes con AR de inicio (110) se analizaron los predictores de progresión radiológica y en el análisis univariante observaron que los mayores determinantes de progresión radiológica fueron el *score* de Larsen basal y los marcadores serológicos anti-CCP y FR y en menor medida la VSG, PCR, la edad, el sexo masculino y también el ser fumador (OR 1.6, IC 95%: 1.0 – 2.5); no obstante en el análisis multivariante, el tabaquismo no fue un factor de riesgo independiente y solo lo fueron el daño radiológico basal, los anti-CCP y la VSG. De forma similar Westhoff et al. (153) en su cohorte de 894 pacientes con AR de inicio si bien observaron una débil asociación entre el tabaquismo y la progresión radiológica, esta no se mantuvo en el análisis multivariante.

Sin embargo, en la mayoría de estos estudios los pacientes no habían sido tratados de forma homogénea, o no se analizaron factores pronósticos marcadores de progresión radiológica como el genotipo HLA-DRB o la presencia de ACPAs, lo que podría justificar la discordancia en los resultados. Por otro lado hay que tener en cuenta que en general se trata de estudios prospectivos de dos a tres años de duración y que

posiblemente sean necesarios estudios a más largo plazo para poder analizar mejor el efecto del tabaco en la destrucción articular de la AR.

3.4. Tabaco y discapacidad

La AR, como se ha mencionado previamente, es una frecuente causa de discapacidad, se ha señalado una pérdida de productividad laboral en más de un tercio de los pacientes con AR. (179) El impacto del consumo de tabaco sobre la discapacidad producida por la AR ha sido analizado por varios estudios, en algunos se señala una tendencia a una mayor discapacidad en aquellos pacientes con AR fumadores en comparación con los no fumadores (177, 178) siendo esta mayor a mayor dosis acumulada de consumo de tabaco, (163) mientras otros no observan diferencias en los índices de HAQ (110, 149, 150, 164) ni en la prevalencia de discapacidad laboral (180) entre fumadores y no fumadores.

Una vez estudiado el efecto del tabaco sobre la evolución, respuesta al tratamiento y destrucción articular surge la inevitable el interrogante del posible efecto del abandono del hábito tabáquico. Esto ha sido abordado solamente por un estudio (181) en el que utilizando la información de un registro norteamericano de pacientes con AR (ya sea de reciente comienzo o establecida) analizan la evolución de los pacientes que al momento de su enrolamiento en el registro eran fumadores activos y posteriormente dejaron de fumar y la comparan con aquellos que siguieron fumando. El seguimiento se realizó durante más de dos años, no se observaron diferencias en los

parámetros de actividad de la enfermedad entre ambos grupos, los autores concluyeron que en el corto plazo el dejar de fumar no pareció influir en la actividad de la enfermedad a lo largo del tiempo. Estos resultados son interesantes, pero nuevamente son necesarios más estudios y de mayor tiempo de seguimiento para poder analizar de forma más completa el efecto del tabaco y del cese de la exposición al mismo en la evolución de la AR.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Hipótesis:

El tabaquismo no es solo un factor de riesgo para el desarrollo de AR sino que también influye en el fenotipo de la enfermedad y sus características inmunológicas. Los pacientes con AR que fuman tienen mayor frecuencia de ACPA y una enfermedad más grave con mayor actividad clínica y mayor grado de destrucción articular.

OBJETIVOS

Objetivos de los trabajos que configuran esta tesis doctoral**Objetivo genérico:**

Analizar la asociación entre consumo de tabaco y grado de destrucción articular en la artritis reumatoide (AR) de reciente comienzo y su asociación con la presencia de anticuerpos frente a péptidos citrulinados y determinadas características inmunológicas y genéticas.

Objetivos concretos:

1. Estudiar la asociación entre consumo de tabaco y grado de destrucción articular a los dos años de seguimiento en una cohorte de AR de inicio reciente.
2. Estudiar la asociación entre el consumo de tabaco y el grado de actividad de la enfermedad a los dos años de seguimiento en una cohorte de AR de inicio reciente.
3. Analizar la asociación entre tabaquismo y distintas variables demográficas, genéticas (genes HLA-DRB, epítipo reumatoide) y clínicas en pacientes con AR de inicio reciente.
4. Estudiar la asociación entre anticuerpos frente a péptidos citrulinados (presencia y título) y el consumo de tabaco en fumadores sanos y pacientes con AR.

INVESTIGACIÓN Y RESULTADOS

Trabajo 1

Efecto del consumo de tabaco sobre la actividad de la artritis reumatoide y su progresión radiológica.

Título: “Efectos del tabaco sobre la actividad de la artritis reumatoide y su progresión radiológica en una cohorte de pacientes con artritis reumatoide de reciente comienzo.”

(Effects of smoking on disease activity and radiographic prgression in early rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 2011;38(12):2536-9).

Effects of Smoking on Disease Activity and Radiographic Progression in Early Rheumatoid Arthritis

VIRGINIA RUIZ-ESQUIDE, JOSÉ A. GÓMEZ-PUERTA, JUAN D. CAÑETE, EDUARD GRAELL, IVONNE VAZQUEZ, M. GUADALUPE ERCILLA, ODETTE VIÑAS, ANTONIO GÓMEZ-CENTENO, ISABEL HARO, and RAIMON SANMARTÍ

ABSTRACT. Objective. To analyze the effects of cigarette smoking on disease activity and radiographic damage in patients with early rheumatoid arthritis (RA).

Methods. Study subjects were 156 patients with early RA (< 2 yrs). Disease activity, therapeutic response, and radiographic progression were compared in smokers and nonsmokers at 24 months.

Results. At baseline, ever-smokers had earlier disease onset and a closer association with the shared epitope (SE), but not more seropositive disease. No significant differences were observed in disease activity and European League Against Rheumatism therapeutic responses between smokers and nonsmokers. Multivariate analysis showed that baseline Larsen score, the HLA-DRB*04 genotype, being female, and current smoking were associated with radiographic progression.

Conclusion. In patients with early RA, smoking was associated with earlier disease onset and the SE. Smoking was an independent factor of radiographic progression. (J Rheumatol First Release Nov 1 2011; doi:10.3899/jrheum.110410)

Key Indexing Terms:

RHEUMATOID ARTHRITIS PROGNOSIS SMOKING RADIOGRAPHIC DAMAGE

Smoking is an accepted risk factor for rheumatoid arthritis (RA)¹, increasing the risk of seropositive RA (rheumatoid factor; RF) or anticitrullinated protein antibodies (ACPA). Recent studies suggest smoking is associated with a poor response to antirheumatic drugs². However, the effect of smoking on disease activity, clinical course, and radiographic damage in early RA is unclear^{3,4}.

We analyzed the effects of smoking on disease activity, therapeutic response, and radiographic progression in patients with early RA after 2 years of therapy with disease-modifying antirheumatic drugs (DMARD).

From the Arthritis Unit, Rheumatology Service, and the Immunology Service, IDIBAPS, Hospital Clinic, Barcelona; Rheumatology Unit, Hospital Parc Taulí, Sabadell; and the Unit of Synthesis and Biomedical Applications of Peptides, IQAC-CSIC, Barcelona, Spain.

Supported by a grant (Premi Fi de Residencia 2009; Dr. Ruiz-Esquide) from the Hospital Clinic of Barcelona.

V. Ruiz-Esquide, MD; J.A. Gómez-Puerta, MD; J.D. Cañete, MD, Arthritis Unit, Rheumatology Service, IDIBAPS, Hospital Clinic of Barcelona; E. Graell, MD; I. Vazquez, MD, Rheumatology Unit, Hospital Parc Taulí; M.G.ERCILLA, MD, PhD; O. Viñas, MD, Immunology Service, IDIBAPS, Hospital Clinic of Barcelona; A. Gómez-Centeno, MD, Rheumatology Unit, Hospital Parc Taulí; I. Haro, PhD, Unit of Synthesis and Biomedical Applications of Peptides, IQAC-CSIC; R. Sanmartí, MD, Rheumatology Service, IDIBAPS, Hospital Clinic of Barcelona.

Address correspondence to Dr. R. Sanmartí, Arthritis Unit, Rheumatology Service, Hospital Clinic, IDIBAPS, Barcelona, Spain.

E-mail: sanmarti@clinic.ub.es

Accepted for publication August 5, 2011.

MATERIALS AND METHODS

Patients. Consecutive outpatients attending the rheumatology units of the Hospital Clinic, Barcelona, and Hospital Parc Taulí, Sabadell, Spain, and who fulfilled American College of Rheumatology RA criteria⁵, and having symptoms < 24 months, were enrolled from 1996 to 2008 and followed for 2 years. Patients previously treated with DMARD or prednisone > 10 mg/day or equivalent were excluded. The study was approved by the Hospital Clinic ethics committee. All patients gave written informed consent.

Study design. In a prospective open-label study, all patients were treated with early introduction of DMARD using sodium aurothiomalate as the first option and methotrexate at an increasing dose of 7.5 to 20 mg weekly in cases of adverse events or poor disease control, and low doses of methylprednisolone (4 mg/day), tapered according to clinical judgment. After 12 months' therapy, aggressive treatment with other DMARD in monotherapy or in combination or biological therapy was introduced according to clinical criteria.

At study entry, these variables were analyzed: demographic characteristics, disease duration, serum RF by nephelometry (normal value < 25 IU/l), ACPA-2 by ELISA (Euro-Diagnostica, Arnhem, The Netherlands; normal < 30 IU/l), anticyclic citrullinated fibrin-filaggrin autoantibodies (CFFCP; in-house test; normal < 0.246 UDO)⁶, and the HLA-DRB*1 genotype, determined by direct DNA sequencing. Disease activity was assessed at baseline and every 3 months, recording pain (visual analog scale), the 28-tender joint and swollen joint counts, patient and physician assessment of disease status, the 28-joint Disease Activity Score, the modified Health Assessment Questionnaire, hemoglobin, erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, and European League Against Rheumatism (EULAR) response criteria.

At inclusion, patients were classified as ever-smokers, past smokers (smoking cessation ≥ 1 year before disease onset) and current smokers at disease onset, and nonsmokers. Pack-year information was collected.

Radiographs of hands and feet, scored by the Larsen-Scott method, were obtained at baseline and 12 and 24 months⁷. An erosion joint count (EJC) was performed⁸, defined as the number of joints with cortical erosion out of the 32 joints evaluated. All radiographs were read chronologically by the same observer (RS), who was blinded to the smoking status.

Statistical analysis. Univariate analysis used chi-square or Fisher's exact tests (categorical) and Student t test or Mann-Whitney U test (continuous), as appropriate. Multivariate linear regression analysis was performed. Significance was evaluated at the $\alpha = 0.1$ level and confounding as a change in smoking OR > 15% compared to the full model. No first-order interactions were significant. Intraobserver agreement for the radiographic Larsen score was assessed using kappa statistics on 25 randomly chosen pairs of hand and foot radiographs (kappa = 0.77, 95% CI 0.61–0.93). Analysis was performed using the SPSS v17.0 statistical package.

RESULTS

Of 198 patients initially enrolled, 17 did not complete followup, 10 were lost to followup, 14 had no radiographs at baseline and 24 months, and smoking status was not established in 1 patient. That left 156 patients (83% women) with early RA who were analyzed, of whom 66 (42.3%) were ever-smokers, 47 (30.1%) current smokers, and 23 heavy smokers (> 20 pack/yr).

Baseline characteristics are shown in Table 1. Current smokers were more frequently men, had an earlier disease onset, and had a significantly higher frequency of the shared epitope (SE) and DRB*04 alleles than nonsmokers. Earlier disease onset was observed in patients with the SE (mean age 51.7 ± 15 vs 58.1 ± 15.2 yrs, respectively; $p = 0.04$). No differences in the percentage of seropositive disease (RF and

ACPA) were found, although RF levels in RF-positive patients were significantly higher in smokers. No differences were observed in other variables.

Clinical disease activity, rates of EULAR clinical response at 12 and 24 months, and the therapy received, including biologicals, were similar in current smokers and nonsmokers (Table 2). Similar results were observed when comparisons were made between ever-smokers and nonsmokers, current heavy smokers and nonsmokers, or only in women (data not shown).

The EJC and Larsen scores were higher in current smokers than in nonsmokers at 12 and 24 months, although the only significant difference was the EJC at 2 years (1.2 ± 1.7 vs 0.7 ± 1.7 ; $p = 0.04$). In the multivariate analysis, smoking (current vs nonsmokers), being female, baseline Larsen score, and HLA-DRB*04 were associated with the Larsen score at 24 months. Similar results were obtained when EJC was used as the measure of radiographic damage (Table 3) or when patients receiving biologicals were excluded (data not shown).

DISCUSSION

We analyzed the effect of smoking in patients with early RA 24 months after the introduction of DMARD and found no differences in the clinical progression and therapeutic

Table 1. Baseline characteristics of the early rheumatoid arthritis cohort (current smokers vs nonsmokers). Results are expressed in mean values \pm SD or percentages, unless otherwise indicated.

Characteristics	All Patients, n = 156	Current Smokers, n = 47	Nonsmokers, n = 90	p
Women, n (%)	130 (83.3)	30 (63.8)	86 (95.6)	< 0.001
Age, yrs	54.4 \pm 14.9	48.3 \pm 13.2	57.3 \pm 15.1	0.001
Disease duration, mo	9.7 \pm 6.6	8.4 \pm 5.1	10.3 \pm 6.8	0.088
VAS pain, mm	49 \pm 23.3	50.6 \pm 22.9	49.8 \pm 24.1	0.864
Patient global assessment, mm	58.4 \pm 15.9	59.1 \pm 18.5	58.2 \pm 14	0.755
Physician global assessment, mm	56 \pm 14	59.3 \pm 14.5	54.4 \pm 12.3	0.056
28 Tender joint count	9.9 \pm 6	9.5 \pm 6.4	10.4 \pm 5.7	0.856
28 Swollen joint count	7.6 \pm 4.3	7.9 \pm 4.5	7.6 \pm 4	0.677
DAS28	5.6 \pm 0.9	5.6 \pm 1	5.7 \pm 0.9	0.398
Modified HAQ	0.9 \pm 0.6	0.97 \pm 0.6	0.9 \pm 0.6	0.731
ESR, mm/h	40.7 \pm 26.4	36 \pm 22.6	40.7 \pm 25	0.285
CRP, mg/dl	2.8 \pm 3	2.6 \pm 2.6	2.8 \pm 3.2	0.682
Larsen score	1.9 \pm 6.9	1.8 \pm 6.3	1.2 \pm 2.7	0.447
Erosion joint count	0.4 \pm 1.3	0.4 \pm 0.9	0.3 \pm 0.8	0.400
Larsen score \geq 1, n (%)	48 (30.8)	14 (29.8)	29 (32.2)	0.771
Erosion joint count \geq 1, n (%)	29 (18.6)	11 (23.4)	14 (15.6)	0.259
RF-positive, n (%)	119 (76.3)	40 (85.1)	67 (74.4)	0.152
RF-positive, IU/l	233.1 \pm 487.2	378.7 \pm 782.6	138.3 \pm 174.9	0.043
ACPA2-positive, %	112/148 (75.7)	36/43 (83.7)	65/88 (73.9)	0.207
ACPA2-positive, IU/l	767.5 \pm 615.8	774.1 \pm 616.7	772.9 \pm 619.5	0.992
CFFCP1-positive, %	73.9	76.5	75	0.872
CFFCP1-positive, ODU	1.5 \pm 1	1.6 \pm 1	1.4 \pm 1	0.388
SE	72.7	92.1	65.3	0.002
SE homozygosity, %	19.5	29	14.7	0.04
HLA-DRB*04, %	44.6	68.4	32.5	0.004

VAS: visual analog scale; DAS28: 28-joint Disease Activity Score; HAQ: Health Assessment Questionnaire; ESR: erythrocyte sedimentation rate; CRP: C-reactive protein; RF: rheumatoid factor; ACPA: anticitrullinated protein antibodies; CFFCP: anticyclic citrullinated fibrin-filaggrin autoantibodies; ODU: optical density units; SE: shared epitope.

Table 2. Progression of clinical disease activity, therapeutic responses, and drug therapy (count smokers vs nonsmokers) at 1 and 2 years of followup. Results are mean values \pm SD or percentages unless otherwise indicated.

Characteristic	12 Months, n = 137			24 Months, n = 137		
	Nonsmokers, n = 90	Current Smokers, n = 47	p	Nonsmokers, n = 90	Current Smokers, n = 47	p
28 Tender joint count	3.4 \pm 5	3 \pm 4	0.631	2.5 \pm 3.6	2.5 \pm 4.1	0.962
28 Swollen joint count	2.2 \pm 3.3	1.9 \pm 3	0.609	1.9 \pm 2.7	1.8 \pm 3.8	0.837
Patient global assessment, mm	41.7 \pm 17.8	37.8 \pm 18	0.233	35.4 \pm 19.3	35.6 \pm 18.7	0.970
Physician global assessment, mm	35.3 \pm 19.5	31.9 \pm 18.1	0.335	30.4 \pm 18.1	30.5 \pm 18.4	0.977
VAS pain, mm	30.8 \pm 24.9	25 \pm 24.3	0.214	26.3 \pm 23.6	27.9 \pm 24.1	0.731
ESR, mm/h	28.8 \pm 21.1	18.5 \pm 12.3	0.003	24.7 \pm 17.6	21.7 \pm 16.6	0.346
CRP, mg/dl	1.3 \pm 1.7	1.1 \pm 1.2	0.443	1.2 \pm 1.8	1.2 \pm 1.8	0.939
Modified HAQ	0.5 \pm 0.5	0.4 \pm 0.5	0.405	0.5 \pm 0.6	0.4 \pm 0.5	0.892
DAS28	3.8 \pm 1.4	3.5 \pm 1.2	0.135	3.5 \pm 1.3	3.2 \pm 1.2	0.362
Remission (DAS28 < 2.6), n (%)	20/87 (23.0)	11/44 (25.0)	0.798	29/87 (33.3)	15/43 (34.9)	0.860
Low disease activity (DAS28 < 3.2), n (%)	32/87 (36.8)	23/44 (52.3)	0.90	41/87 (47.1)	22/43 (51.2)	0.665
Good EULAR response, n (%)	29/82 (35.4)	23/44 (52.3)	0.079	41/87 (48.2)	22/43 (51.2)	0.223
Moderate EULAR response, n (%)	39/82 (47.6)	12/44 (27.3)	—	28/83 (33.7)	18/43 (41.9)	
No EULAR response, n (%)	14/82 (17.1)	9/44 (20.5)	—	15/83 (18.1)	3/43 (7.0)	
Patients receiving IM gold	68.9	66.0	0.122	42.2	25.5	0.06
Patients receiving methotrexate	40.0	44.7	0.598	44.4	51.1	0.461
Patients receiving TNF antagonists	2.2	4.3	0.607	10.0	6.4	0.545

VAS: visual analog scale; DAS28: 28-joint Disease Activity Score; HAQ: Health Assessment Questionnaire; ESR: erythrocyte sedimentation rate; CRP: C-reactive protein; EULAR: European League Against Rheumatism; IM: intramuscular; TNF: tumor necrosis factor.

Table 3. Multivariate regression linear analysis for radiographic progression.

	B	SE	95% CI	p
Larsen-Scott score at 2 years				
Larsen score at baseline	0.881	0.116	0.65, 1.11	0.000
Smoking (past vs nonsmoker)	0.486	2.529	-4.52, 5.49	0.848
Smoking (current vs nonsmoker)	4.274	1.910	0.49, 8.05	0.027
Women	7.142	2.217	2.75, 11.53	0.02
HLA-DRB*04+	5.097	1.624	1.88, 8.31	0.002
EJC score at 2 yrs				
Larsen score at baseline	0.821	0.077	0.67, 0.97	0.000
Smoking (past vs nonsmoker)	-0.065	0.372	-0.8, 0.67	0.861
Smoking (current vs nonsmoker)	0.603	0.282	0.05, 1.16	0.034
Women	0.792	0.327	0.14, 1.44	0.017
HLA-DRB*04+	0.632	0.239	0.16, 1.11	0.009

EJC: erosion joint count; B: regression coefficient.

response between smokers and nonsmokers. However, there were differences in clinical disease presentation and radiographic damage. Disease onset was earlier in smokers, as found by other studies³. Earlier disease onset has also been observed in carriers of the SE and DRB*04, which are closely associated with smoking in this and other studies⁹, making it difficult to ascertain whether it is associated with smoking, the genetic background, or both. However, the percentage of patients with positive autoantibodies did not differ between smokers and nonsmokers, and only serum RF levels were higher in smokers. We cannot explain this finding, especially as the link between smoking and RA seems to be confined to patients with seropositive disease, having a positive interaction with the SE genotype¹⁰. However, some prospective stud-

ies in whites did not find more seropositive disease in smokers¹¹.

Disease evolution at 24 months did not differ significantly between current smokers and nonsmokers. Some studies have observed a better clinical course in smokers while others found smoking was associated with greater disease activity or poor therapeutic response to DMARD, including methotrexate and biologicals^{2,12}.

We found greater radiographic progression in current smokers versus nonsmokers, but it is unclear whether this is attributable to smoking or to confounding factors such as the SE of DRB*04, a known prognostic factor of radiographic damage⁸. However, the multivariate analysis showed current smoking was independently associated with radiographic

damage after 24 months. In prospective studies in early RA^{3,12,13,14,15}, only one¹² found that active smoking was an independent risk factor for radiographic damage, while in another study heavy smoking was associated with slower progression¹¹. Differences in RA populations, methodological issues, or the measurement of smoking may explain these differences.

The limitations of our study include the sample size and the length of followup, which may be insufficient to confirm similar disease courses between smokers and nonsmokers. The effect of the amount of smoking was difficult to ascertain, because of the very small number of current, heavy smokers.

In patients with early RA, smoking was associated with an earlier disease onset and a closer association with the SE and HLA-DRB*04. Disease activity and clinical response after 2 years of DMARD were similar in smokers and nonsmokers. Radiological progression was greater in smokers and was independent of other prognostic factors. However, the effect of smoking on radiographic damage in early RA seems to be mild.

REFERENCES

1. Heliövaara M, Aho K, Aromaa A, Knekt P, Reunanen A. Smoking and risk of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1993;20:1830-5.
2. Saevarsdottir S, Wedren S, Seddighzadeh M, Bengtsson C, Wesley A, Lindblad S, et al. Patients with early rheumatoid arthritis who smoke are less likely to respond to treatment with methotrexate and tumor necrosis factor inhibitors: Observations from the Epidemiological Investigation of Rheumatoid Arthritis and the Swedish Rheumatology Register cohorts. *Arthritis Rheum* 2011;63:26-36.
3. Westhoff G, Rau R, Zink A. Rheumatoid arthritis patients who smoke have a higher need for DMARDs and feel worse, but they do not have more joint damage than non-smokers of the same serological group. *Rheumatology* 2008;47:849-54.
4. Soderlin M, Petersson I, Bergman S, Svensson B. Smoking at onset of rheumatoid arthritis (RA) and its effect on disease activity and functional status: Experiences from BARFOT, a long-term observational study on early RA. *Scand J Rheumatol* 2011;40:249-55.
5. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-24.
6. Sanmarti R, Graell E, Perez ML, Ercilla G, Vinas O, Gomez-Puerta JA, et al. Diagnostic and prognostic value of antibodies against chimeric fibrin/filaggrin citrullinated synthetic peptides in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2009;11:R135.
7. Kirwan JR. Using the Larsen index to assess radiographic progression in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000;27:264-8.
8. Sanmarti R, Gomez A, Ercilla G, Gratacos J, Larrosa M, Suris X, et al. Radiological progression in early rheumatoid arthritis after DMARDs: A one-year follow-up study in a clinical setting. *Rheumatology* 2003;42:1044-9.
9. Padyukov L, Silva C, Stolt P, Alfredsson L, Klareskog L. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50:3085-92.
10. Michou L, Teixeira VH, Pierlot C, Lasbleiz S, Bardin T, Dieude P, et al. Associations between genetic factors, tobacco smoking and autoantibodies in familial and sporadic rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67:466-70.
11. Finckh A, Dehler S, Costenbader KH, Gabay C. Cigarette smoking and radiographic progression in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66:1066-71.
12. Papadopoulos NG, Alamanos Y, Voulgari PV, Epagelis EK, Tsifetaki N, Drosos AA. Does cigarette smoking influence disease expression, activity and severity in early rheumatoid arthritis patients? *Clin Exp Rheumatol* 2005;23:861-6.
13. Forslind K, Ahlmen M, Eberhardt K, Hafstrom I, Svensson B. Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: Role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann Rheum Dis* 2004;63:1090-5.
14. Manfredsdottir VF, Vikingsdottir T, Jonsson T, Geirsson AJ, Kjartansson O, Heimisdottir M, et al. The effects of tobacco smoking and rheumatoid factor seropositivity on disease activity and joint damage in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2006;45:734-40.
15. Mikuls TR, Hughes LB, Westfall AO, Holers VM, Parrish L, van der Heijde D, et al. Cigarette smoking, disease severity and autoantibody expression in African Americans with recent-onset rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67:1529-34.

Resumen de resultados

- Se incluyeron 156 pacientes con AR de inicio. La prevalencia de fumadores (tanto fumadores activos como ex-fumadores) fue del 42.3%, siendo el 30.1% fumadores activos. El 34% de los fumadores eran grandes fumadores (un consumo acumulado de tabaco igual o superior a 20 paquetes/año).
- Los fumadores activos mostraron presentar un debut de su AR significativamente más temprano que los no fumadores (48.3 ± 13 versus 57.3 ± 15 , $p=0.001$).
- Se observó de forma significativa una mayor frecuencia el epitopo reumatoide (ER) y HLA-DRB*04 en los fumadores activos frente a los no fumadores.
- No se observaron diferencias entre ambos grupos en cuanto a la presencia y título de anti-CCP2 y anti-CFFCP.
- La presencia del Factor Reumatoide (FR) fue similar en ambos grupos, sin embargo los títulos de FR fueron significativamente superiores en los fumadores activos frente a los no fumadores.

- La actividad de la enfermedad y discapacidad basales (al momento de su inclusión en el estudio) fue similar en ambos grupos.

- El daño articular basal medido a través de la presencia de lesión radiológica (tanto score de Larsen como recuento del número de erosiones) fue similar en ambos grupos.

- A los 12 y 24 meses de seguimiento no hubo diferencias significativas en la actividad clínica de la enfermedad, los índices de respuesta EULAR, los índices de discapacidad y los tratamientos recibidos entre fumadores activos y no fumadores, ni entre fumadores (fumadores activos + ex-fumadores) y no fumadores, ni tampoco entre grandes fumadores con no fumadores.

- El daño radiológico observado a los 12 y 24 meses de seguimiento, cuantificado tanto a través del score de Larsen como a través del recuento de erosiones, fue mayor en los sujetos fumadores activos en comparación a los no fumadores. Sin embargo esta diferencia fue estadísticamente significativa solamente a los 24 meses de seguimiento en el recuento de erosiones articulares siendo en fumadores activos de 1.2 ± 1.7 frente a los no fumadores que presentaron un recuento de erosiones articulares de 0.7 ± 1.7 ($p=0.04$).

- En el análisis multivariante se observó que el ser fumador (fumador activo versus no fumador), ser mujer, el score basal de Larsen y la presencia del HLA-DRB1*04 se asociaron de forma independiente con un mayor daño radiológico a los 24 meses de seguimiento medido por score de Larsen.

- Al utilizar el recuento de erosiones articulares como medida de daño articular se observaron resultados similares, donde el ser fumador (fumador activo versus no fumador), ser mujer, el score basal de Larsen y la presencia del HLA-DRB1*04 se asociaron de forma independiente con un mayor daño articular radiológico a los 24 meses de seguimiento.

Conclusiones

1. Los pacientes con AR fumadores activos son con mayor frecuencia portadores del Epitopo Reumatoide y presentan un debut más temprano de su enfermedad en relación a los no fumadores.
2. La actividad de la enfermedad y la discapacidad por ella producida tanto al momento basal como tras dos años de seguimiento y tratamiento con FAMEs de forma protocolizada fue similar en los pacientes con AR fumadores activos y no fumadores.
3. El tabaquismo activo es un factor de riesgo independiente de progresión del daño estructural, medido a través del índice de Larsen, en pacientes con AR de inicio reciente después de dos años de tratamiento con FAMEs.

Trabajo 2

Prevalencia de ACPAS en grandes fumadores sin Artritis Reumatoide.

Título: Prevalencia de anticuerpos anti péptidos citrulinados en el suero de grandes fumadores sin artritis reumatoide. ¿Es un efecto diferencial de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica?

(Anticitrullinated peptide antibodies in the serum of heavy smokers without rheumatoid arthritis. A differential effect of chronic obstructive pulmonary disease?

Clin Rheumatol. 2012;31:1047-50

Anti-citrullinated peptide antibodies in the serum of heavy smokers without rheumatoid arthritis. A differential effect of chronic obstructive pulmonary disease?

Virginia Ruiz-Esquide · María José Gómara ·
Víctor I. Peinado · José Alfredo Gómez Puerta ·
Joan Albert Barberá · Juan de Dios Cañete ·
Isabel Haro · Raimon Sanmartí

Received: 1 December 2011 / Accepted: 28 February 2012 / Published online: 31 March 2012
© Clinical Rheumatology 2012

Abstract The objective of this study is to analyse the frequency and levels of anti-citrullinated peptide/protein antibodies (ACPA) in the serum of non-rheumatoid arthritis (RA) heavy smokers with and without chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and compare them with healthy never smokers and patients with RA. Serum samples of 110 heavy smokers without RA, 209 healthy never smokers and 134 patients with RA were tested for ACPA using a commercial anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (CCP2) test and a homemade chimeric fibrin/filaggrin citrullinated synthetic peptide (anti-CFFCP) ELISA test. The frequency of positive results and autoantibody levels were compared between groups. The prevalence of the two types of ACPA was slightly higher in heavy smokers than in never smokers, although the difference was not significant, and significantly lower than in RA patients. The highest prevalence of positive ACPA in heavy smokers was found in subjects with COPD (7.4% of positive anti-CFFCP in patients with COPD in comparison with 2.4% in never smokers: OR 3.26; 95%

CI 0.85–12.6, $p=0.089$). Mean serum levels of ACPA in heavy smokers were not significantly different from those of never smokers. Heavy smokers with COPD had significantly higher levels of anti-CFFCP than those without COPD, although almost all patients had serum levels below the cut-off values. The prevalence of ACPA in heavy smokers without RA is low, but seems to be higher in heavy smokers with COPD. Larger studies are necessary to confirm these findings and determine the relationship between ACPA and lung disease.

Keywords ACPA · Anti-CCP · Autoantibodies · COPD · Prevalence · Rheumatoid arthritis · Smoking · Tobacco

Introduction

Anti-citrullinated peptide/protein antibodies (ACPA) are the most specific serological markers of rheumatoid arthritis (RA) and have interesting diagnostic properties, especially in patients with early arthritis [1]. ACPA are also prognostic markers of more aggressive and destructive joint disease in RA [2]. Smoking is a known risk factor for RA, and recent studies suggest it can influence the clinical expression of RA [3] and even the response to anti-rheumatic therapy [4]. However, an association between smoking and RA has been demonstrated only in patients with positive ACPA [5].

Since serum ACPA may appear several years before the onset of clinical disease [6], it might be argued that previous smoking may influence ACPA production and the posterior development of RA in some subjects [7]. To our knowledge, no studies have analysed the frequency of serum ACPA in heavy smokers without RA.

V. Ruiz-Esquide · J. A. G. Puerta · J. de Dios Cañete ·
R. Sanmartí (✉)
Rheumatology Service, Hospital Clínic,
Barcelona, Spain
e-mail: sanmarti@clinic.ub.es

M. J. Gómara · I. Haro
Unit of Synthesis and Biomedical Applications of Peptides,
IQAC-CSIC,
Barcelona, Spain

V. I. Peinado · J. A. Barberá
Department of Pulmonary Medicine, Hospital Clínic,
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer,
University of Barcelona,
Barcelona, Spain

The aim of this study was to analyse whether heavy smokers with no history of RA had positive ACPA more frequently and at higher levels, measured by two different methods, than healthy never smokers. In addition, differences in the production of ACPA in heavy smokers according to the presence or not of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) were also analysed.

Methods

We selected 110 adult (age >18 years) heavy smokers (>20 packs/year) from the pneumology service data base and from health workers of our hospital, regardless of whether they had COPD (defined as a FEV1/FVC <0.7 predicted) or not. This group was compared with 209 healthy adult blood donors who had never smoked during or before the data collection, and 134 patients with a diagnosis of recent-onset RA (according to 1987 ACR criteria) from the rheumatology service of our hospital. All subjects were tested for serum ACPA using two ELISA tests: a commercial anti-cyclic citrullinated peptide antibody (anti-CCP2) test (Immunoscan, Eurodiagnostica) and a homemade ELISA test that detects antibodies against chimeric citrullinated peptides of human fibrin and filaggrin (anti-CFFCP) and has shown high sensitivity and specificity for the diagnosis of RA [8]. The cut-off values established for a positive result were 29 UI/l for CCP2 and 0.241 for anti-CFFCP; these cut-off values were selected because they yielded a specificity of 98% for RA compared to the general population (healthy blood donors) in a previous study [8]. The frequency of positive results and the levels of autoantibodies were compared between groups. Each participant signed a written informed consent. The study was carried out in compliance with the Helsinki Declaration and was approved by the ethics committee of the Hospital Clinic of Barcelona.

Statistical analysis

The frequency of positivity and mean levels of anti-CCP2 and anti-CFFCP were compared between groups. The

Student's *t* test was used to analyse quantitative variables of paired samples. Fisher's exact test was used to analyse differences between proportions. Spearman's rank correlation coefficient test was used to analyse the correlation between ACPA levels and the amount (packs/year) of tobacco exposure in heavy smokers. A value of $p < 0.05$ was considered as statistically significant.

Results

Study population

Of the 110 heavy smokers, 54 (49%) had COPD, while 56 (51%) were considered to be healthy smokers. No heavy smoker had RA or other inflammatory rheumatic diseases. The amount of tobacco exposure, age and gender of the study groups are shown in Table 1. Mean packs/year were significantly higher in heavy smokers with COPD than in those without. Most heavy smokers with COPD were male, whereas most without COPD were female. The mean age was higher in patients with COPD than in the other groups.

Prevalence and levels of ACPA

The percentage of individuals with positive anti-CFFCP and anti-CCP2 serum antibodies and mean serum levels are shown in Table 2. As expected, the percentage of positive antibodies was much higher in RA patients than in the other groups. A low frequency of the two antibodies was observed in heavy smokers and never smokers, with a slightly higher percentage of positive results in heavy smokers, although the differences were not statistically significant.

Heavy smokers with COPD had a higher percentage of positivity of both autoantibodies in comparison with heavy smokers without COPD and never smokers, although the differences were not significant. The frequency of anti-CFFCP antibodies in heavy smokers with COPD was 7.4% in comparison with 1.7% (OR 4.4; CI 0.48–40.7, $p = 0.20$) in those without COPD and 2.4% in never smokers (OR 3.26; 95% CI 0.85–12.6, $p = 0.089$).

Mean anti-CFFCP and anti-CCP2 serum levels did not differ significantly between heavy smokers and never smokers. However, significantly higher levels of anti-CFFCP

Table 1 Demographic characteristics and tobacco packs/year in the study groups

COPD chronic obstructive pulmonary disease, RA rheumatoid arthritis, NA not available

* $p < 0.001$, B vs C; ** $p < 0.001$, B vs C; *** $p < 0.01$, B vs C

	Heavy smokers			Non-smokers	RA patients
	A (total, $n = 110$)	B (COPD, $n = 54$)	C (non-COPD, $n = 56$)	D ($n = 209$)	E ($n = 134$)
Age (mean)	56.9±10.3	62.7±7.9*	51.5±9.3	41.8±12.7	53.8±15
Sex (% female)	39	7.4**	69.6	48.3	82
Packs/year	44.3±10.3	52.9±28***	36±16.3	0	NA

Table 2 Frequency (in percent) of patients with positive ACPA autoantibodies and mean serum levels of antibodies in the study groups

	Heavy smokers			Non-smokers	RA patients
	A (total, <i>n</i> =110)	B (COPD, <i>n</i> =54)	C (non-COPD, <i>n</i> =56)	D (<i>n</i> =209)	E (<i>n</i> =134)
CFFCP+ (%)	5 (4.5)	4 (7.4)*	1 (1.7)	5 (2.4)*	102 (76.1)**
CFFCP (mean±SD)	0.12±0.06	0.15±0.7***,****	0.09±0.5***	0.10±0.12****	0.98±1.21**
CCP2+ (%)	2 (1.8)	2 (3.7)	0 (0)	4 (1.9)	99 (73.9)**
CCP2 (mean±SD)	15.62±4.25	16.2±5.97	15.05±0.9	16.9±2.78	627.01±633.29**

COPD chronic obstructive pulmonary disease, RA rheumatoid arthritis, CFFCP chimeric fibrin/filaggrin citrullinated synthetic peptide, CCP2 second-generation anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, NA not available

p*=0.089, B vs D; *p*<0.0001, E vs other groups; ****p*<0.001, B vs C; *****p*=0.02, B vs D

were observed in patients with COPD, even though almost all patients had antibody serum levels below the cut-off values. No statistical correlation between serum ACPA levels and the number of packs/year smoked was found in heavy smokers.

Discussion

To our knowledge, this is the first study to analyse the frequency of serum ACPA in heavy smokers without arthritis. Our results show that almost all heavy smokers did not have ACPA in their serum, with a prevalence similar to that of healthy never smokers. Heavy smokers with associated COPD had the highest frequency of ACPA.

The presence of ACPA in the sera of patients with pre-clinical RA is a well-known phenomenon [6], with the association between smoking and RA being restricted to ACPA-positive RA patients [5, 7]. Smoking might increase peptidyl deiminase enzyme expression in the lungs, leading to citrullination of proteins, as shown in the bronchoalveolar cells of healthy individuals [9, 10]. Therefore, some long-term heavy smokers may have a higher risk of developing ACPA and RA. However, our results show that this hypothesis may account for only a small percentage of heavy smokers, since the prevalence of serum ACPA, analysed using two ELISA tests containing different antigenic substrates, is only slightly higher than that observed in healthy never smokers. Our results are very similar to those observed in a Swedish study [10], where the frequency of anti-CCP2 in a control population of ever smokers was slightly, but not significantly, higher than in never smokers (2.78% versus 1.38%), although the amount smoked was not stated.

Heavy smokers with COPD had a higher prevalence of ACPA than those without, with an odds ratio of anti-CFFCP of 3.26 in comparison with non-smokers, a difference that is at the limit of statistical significance. We do not know if this is related to heavier smoking in patients with COPD than in

healthy heavy smokers or whether it may be a direct consequence of the inflammatory process in the lung. Autoimmune phenomena, including the production of several autoantibodies in sera, have been described in patients with COPD [11, 12]. The frequency of autoantibodies, including ACPA, has recently been investigated in a study comparing the frequency of anti-elastin and ACPA (anti-CCP2 and anti-citrullinated vimentin) in patients with COPD, alpha1 antitrypsin deficiency (AATD) and healthy non-smokers [13]. A higher prevalence of anti-CCP2 was observed in patients with COPD (5.2%) in comparison with AATD patients (3.3%) and non-smokers (0%), although the number of non-smokers was very small (*n*=22). As in our study, no correlation with the amount smoked and serum levels of ACPA was found in patients with COPD [13].

Our study has several limitations: the sample of heavy smokers was relatively small and the demographic characteristics of the different groups were not exactly comparable; heavy smokers with COPD were older and more frequently male compared with healthy heavy smokers and never smokers. However, the production of ACPA seems not to be influenced by age and sex in patients with RA [14]. In addition, it is known that immunogenetic characteristics play an essential role in ACPA production, with a strong association between HLADRB04 alleles and the shared epitope and positive ACPA in RA [15]. Unfortunately, genetic typing was not available in our population.

Our preliminary results confirm that most heavy smokers do not produce antibodies against citrullinated peptides/proteins, although their prevalence is slightly higher than in healthy never smokers. Heavy smokers with COPD seem to be more prone to ACPA production, and this should be investigated in larger studies.

Acknowledgments This study was supported by a grant (Premi Fi de Residencia 2009. Dr. Virginia Ruiz-Esquide) from the Hospital Clinic of Barcelona, Barcelona, Spain.

Disclosures None.

References

1. van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, de Jong BA, Breedveld FC, Verweij CL et al (2004) Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Rheum* 50(3):709–715
2. Meyer O, Labarre C, Dougados M, Goupille P, Cantagrel A, Dubois A et al (2003) Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting 5 year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 62(2):120–126
3. Soderlin M, Petersson I, Bergman S, Svensson B (2011) Smoking at onset of rheumatoid arthritis (RA) and its effect on disease activity and functional status: experiences from BARFOT, a long-term observational study on early RA. *Scand J Rheumatol* 40(4):249–255
4. Saevarsdottir S, Wedren S, Seddighzadeh M, Bengtsson C, Wesley A, Lindblad S et al (2011) Patients with early rheumatoid arthritis who smoke are less likely to respond to treatment with methotrexate and tumor necrosis factor inhibitors: observations from the Epidemiological Investigation of Rheumatoid Arthritis and the Swedish Rheumatology Register cohorts. *Arthritis Rheum* 63(1):26–36
5. Pedersen M, Jacobsen S, Klarlund M, Pedersen BV, Wiik A, Wohlfahrt J et al (2006) Environmental risk factors differ between rheumatoid arthritis with and without auto-antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthritis Res Ther* 8(4):R133
6. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MH et al (2004) Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 50(2):380–386
7. van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, le Cessie S, Huizinga TW, de Vries RR, Toes RE (2007) The HLA–DRB1 shared epitope alleles differ in the interaction with smoking and predisposition to antibodies to cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 56(2):425–432
8. Sanmarti R, Graell E, Perez ML, Ercilla G, Vinas O, Gomez-Puerta JA et al (2009) Diagnostic and prognostic value of antibodies against chimeric fibrin/filaggrin citrullinated synthetic peptides in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 11(5):R135
9. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren AK, Nicholas AP, Zendman AJ, Eklund A et al (2008) Smoking increases peptidyl-larginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Ann Rheum Dis* 67(10):1488–1492
10. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg H, Bengtsson C, Grunewald J et al (2006) A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 54(1):38–46
11. Feghali-Bostwick CA, Gadgil AS, Otterbein LE, Pilewski JM, Stoner MW, Csizmadia E et al (2008) Autoantibodies in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 177(2):156–163
12. Leidinger P, Keller A, Heisel S, Ludwig N, Rheinheimer S, Klein V et al (2009) Novel autoantigens immunogenic in COPD patients. *Respir Res* 10:20
13. Wood AM, de Pablo P, Buckley CD, Ahmad A, Stockley RA (2010) Smoke exposure as a determinant of autoantibody titre in alpha-antitrypsin deficiency and COPD. *Eur Respir J* 37(1):32–38
14. Cader MZ, Filer AD, Buckley CD, Raza K (2010) The relationship between the presence of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and clinical phenotype in very early rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet Disord* 11:187
15. Kaltenhauser S, Pierer M, Arnold S, Kamprad M, Baerwald C, Hantzschel H et al (2007) Antibodies against cyclic citrullinated peptide are associated with the DRB1 shared epitope and predict joint erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatol (Oxf)* 46(1):100–104

Resumen de los resultados

- Se incluyeron 110 pacientes grandes fumadores (≥ 20 paquetes/año), 54 (49%) de los cuales presentaban enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y 56 (51%) eran fumadores sanos, 209 no fumadores y 134 pacientes con AR. Se compararon la prevalencia y títulos de ACPAs entre las 3 poblaciones.

- La prevalencia y títulos de ACPAs (anti-CCP2 y anti-CFFCP) fue significativamente mayor en los pacientes con diagnóstico de AR, como era de esperar.

- La prevalencia y títulos de ACPAs en no fumadores y en grandes fumadores fue baja, y similar en ambos grupos. Se observó un ligero aumento de la prevalencia de los anti-CCFP en grandes fumadores frente a los no fumadores, siendo la misma no significativa. La prevalencia de anti-CCP2 fue del 1.9% en no fumadores versus 1.8% en grandes fumadores, y la de anti-CFFCP fue del 2.4% en no fumadores versus 4.5% en grandes fumadores.

- El 49% de los sujetos grandes fumadores presentaban además diagnóstico de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

- Los fumadores EPOC presentaron un consumo acumulado total de tabaco medido en paquetes/año significativamente superior a los fumadores no EPOC (52.9 ± 28 versus 36 ± 16 , $p < 0.01$).
- Los grandes fumadores EPOC presentaron una mayor prevalencia de anti-CCP2 y anti-CFFCP en comparación a los grandes fumadores no EPOC y los no fumadores, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. La frecuencia de anti-CFFCP en los grandes fumadores con EPOC fue de del 7.4% mientras que en los grandes fumadores no EPOC que fue del 1.7% (OR:4.4; IC: 0.48-40.7, $p=0.20$) y en los no fumadores fue del 2.4% (OR: 3.26; IC:0.85-12.6, $p=0.089$).
- La media de los títulos de ambos autoanticuerpos presentados por los grandes fumadores en conjunto y los no fumadores fue similar.
- En los sujetos grandes fumadores con EPOC se observaron títulos de anti-CFFCP significativamente superiores frente a aquellos observados en grandes fumadores no EPOC y en no fumadores.
- No se observó ninguna asociación entre la intensidad del consumo de tabaco medida en paquetes/año y la prevalencia y títulos de ACPAs en grandes fumadores.

Conclusiones

1. En los individuos grandes fumadores sin AR se observa una baja frecuencia de ACPAs, similar a la de la población no fumadora.
2. Los grandes fumadores con EPOC tendrían una mayor predisposición a la producción de ACPAs.

DISCUSIÓN

Discusión Conjunta

La Artritis Reumatoide, es una enfermedad crónica y discapacitante. Su diagnóstico y tratamiento precoz son vitales para la prevención del daño articular. Es de sumo interés el estudio de sus factores de riesgo para el desarrollo de posibles estrategias de prevención. La etiología de la AR es desconocida, aunque se sabe que intervienen factores genéticos y ambientales. En los últimos años, con la ayuda de los nuevos estudios de genoma completo e identificación de numerosos nuevos locus de susceptibilidad para AR, se han realizado importantes avances en la comprensión del componente genético de la enfermedad. También hay un renovado interés en el estudio de diversos factores ambientales como desencadenantes de la AR, así como su interacción con los genes de susceptibilidad para AR. Los factores de riesgo ambientales son de especial interés ya que serían los únicos potencialmente modificables y por tanto objeto de estrategias de prevención. En la actualidad el tabaco es el único factor ambiental universalmente aceptado como factor de riesgo de AR.

El consumo de tabaco aumenta el riesgo de desarrollar AR. Este mayor riesgo estaría restringido a aquellos sujetos con una determinada predisposición genética y en relación al desarrollo de AR con anticuerpos anti-péptidos citrulinados o ACPAs. Estos anticuerpos se sabe pueden ser detectados en el suero de pacientes hasta 10 años antes de la aparición de síntomas clínicos y desarrollo de la enfermedad, lo que ha llevado a pensar que el consumo de tabaco y su relación con los ACPAs tendrían un papel en la patogenia de la enfermedad. Por esto su estudio no solamente es importante

desde el punto de vista epidemiológico y asistencial sino que además puede brindar una base para la profundización en la patogenia de la AR.

Los trabajos presentados en esta tesis doctoral investigan distintos aspectos del tabaco, los ACPAs y la AR. Por un lado se analiza el efecto del consumo de tabaco en una cohorte de AR de reciente comienzo, tanto su relación con la expresión de ACPAs y factores genéticos como con la actividad de la enfermedad y diferentes medidas de desenlace de la misma, especialmente el daño estructural articular evaluado por radiología. Por otro lado se investiga la exposición al tabaco y su efecto sobre la producción de ACPAs en sujetos fumadores sanos sin AR.

En el primer trabajo de esta tesis se analizó el efecto del tabaco sobre distintos parámetros y medidas de desenlace de la AR. En primer lugar se estudiaron las características epidemiológicas, clínicas y radiológicas al momento del diagnóstico de la enfermedad comparando las mismas entre aquellos pacientes fumadores y los no fumadores. En segundo lugar se estudió la evolución de estos pacientes tras dos años de seguimiento, valorando la actividad de la enfermedad y la progresión radiológica.

En el análisis de las características basales, se observó que los pacientes fumadores presentaban un debut de su artritis significativamente más temprano (9 años antes), siendo esta diferencia aún mayor (10 años) al analizar de forma separada a las mujeres. Este debut más temprano de la enfermedad ha sido observado también por otros autores, (152, 153, 163) sugiriendo que el tabaquismo estaría relacionado con una presentación más temprana de la AR. Teniendo en cuenta que la AR es una

enfermedad crónica y progresiva, que determina un aumento de la morbilidad y mortalidad, un debut de la enfermedad hasta 10 años antes puede ser determinante en su evolución a largo plazo.

En el análisis de la presencia del factor de predisposición genética, observamos una clara asociación entre el consumo de tabaco y la presencia del epitopo reumatoide y el HLA-DRB1*04, en concordancia con los resultados observados por estudios previos que describen también esta asociación genética (32, 43).

Sin embargo, y a pesar de que los pacientes fumadores presentaran con mayor frecuencia el ER, no encontramos asociación entre el consumo de tabaco y la presencia de autoanticuerpos. Solamente los títulos del FR fueron superiores en los pacientes fumadores, no existiendo diferencias significativas en los títulos de ACPAs, tanto anti-CCP como anti-CFFCP. Estos resultados son difíciles de explicar ya que como hemos mencionado previamente el aumento de riesgo de AR por el consumo de tabaco se observa básicamente en aquellos pacientes con AR seropositiva (con FR y especialmente con anti-CCP positivos), en asociación con ER. (43, 144, 157, 158, 160) Se han comunicado por otro lado algunas series donde se observó una asociación entre el tabaquismo y AR seronegativa en poblaciones no Caucásicas (155, 182) y en otro estudio prospectivo en Caucásicos no se observó mayor prevalencia de AR seropositiva en los fumadores frente a los no fumadores, aunque hay que señalar que en este estudio la población de pacientes no fumadores incluía tanto a pacientes que nunca habían fumado como a ex fumadores (164). Asimismo hay que destacar que mientras que en algunos estudios se consideraron de forma conjunta en el grupo de fumadores los fumadores activos y los ex fumadores, en otros fueron analizados por

separado, tampoco se recoge en todos la cuantificación del consumo de tabaco tanto en intensidad como en duración de la exposición al mismo, todos ellos factores que podrían justificar algunas divergencias en los resultados observados.

En un estudio posterior realizado por nuestro equipo tras ampliar la cohorte de pacientes, sí pudimos observar la existencia de una relación entre el consumo de tabaco y la presencia de anti-CCP y FR al ajustar la muestra según la intensidad del consumo de tabaco. Se realizó un primer análisis comparando la presencia y título del FR y anti-CCP en fumadores activos vs no fumadores. Solamente el FR, tanto su prevalencia como los títulos, mostraron ser significativamente superiores en fumadores activos frente a no fumadores, la presencia y títulos de anti-CCP fue superior en fumadores activos, pero la diferencia no alcanzó la diferencia estadística. Se realizó un segundo análisis comparando grandes fumadores (fumadores de más de 20 paquetes/año) con los no fumadores para valorar la presencia de un efecto de dosis. La prevalencia de anti-CCP en grandes fumadores fue del 94% frente al 73.9% en los no fumadores, diferencia que fue significativa ($p=0.009$), asimismo los títulos de anti-CCP fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes grandes fumadores frente a aquellos no fumadores. (183)

El análisis global de la literatura en relación al tabaco y los ACPA apunta a que existe una estrecha relación entre ambos y la misma es dosis dependiente. (29, 30, 73) Los ACPA son detectables en suero años antes del debut clínico de la enfermedad por lo que se les atribuye un rol en la etiopatogenia de la enfermedad. Un estudio reciente observó que tanto los ACPA como el FR, pueden ser detectados de forma más temprana en los sujetos fumadores que en aquellos no fumadores.(104) Todo ello

sugiriendo la existencia de un rol del tabaco en la “inmuno-patogenia” de la enfermedad.

En cuanto al efecto del tabaco en las características clínicas al momento del debut de la enfermedad los estudios realizados hasta la fecha muestran resultados discordantes. En nuestro estudio no observamos diferencias entre los fumadores y no fumadores en las características clínicas (variables de actividad de la enfermedad), variables analíticas (reactantes de fase aguda) y medidas de discapacidad basales, esto es, al momento del diagnóstico de la enfermedad. Tampoco observamos diferencias en estas variables ni al año y dos años de evolución. Esto sugiere que el curso clínico de la enfermedad y la respuesta al tratamiento en la AR temprana no estarían influidos por el consumo de tabaco. Estos resultados coinciden con los observados por otros autores (110) pero algunos estudios observan resultados diferentes, señalando al tabaco como un factor en unas ocasiones protector y en otras como un factor de peor pronóstico. Por ejemplo en una cohorte de AR de inicio reciente del registro Norfolk Arthritis Register (163) analizaron el efecto del tabaquismo en la evolución de la AR y encontraron que los fumadores activos presentaban un menor número de articulaciones inflamadas a los 3 años de seguimiento en comparación a ex fumadores y no fumadores. Por el contrario, Papadopoulos et al (152) observaron una mayor actividad de la enfermedad al momento del diagnóstico de la enfermedad y a los dos años de seguimiento en los fumadores activos frente a no fumadores en una cohorte de 278 pacientes con AR de reciente comienzo. De forma similar, en un estudio islandés (89) observaron en una cohorte de AR temprana que los fumadores activos que fumaban más de 20 paquetes/año tenían una menor probabilidad de lograr una buena respuesta EULAR o

respuesta ACR20 que aquellos no fumadores. Esto sugeriría un posible efecto del tabaco sobre la respuesta al tratamiento antirreumático.

Este punto ha sido de especial interés en los últimos años, recientemente se han publicado numerosos estudios que analizan diferencias en la respuesta terapéutica tanto a FAMES convencionales, especialmente el metotrexato, (184) como a tratamientos biológicos (anti-TNF) y su relación con el consumo de tabaco. La respuesta al tratamiento anti-TNF sería menor en aquellos pacientes fumadores según afirman datos publicados por diferentes grupos, (169-173) observándose además un efecto de dosis en el que aquellos pacientes con mayor consumo acumulado de tabaco, que muestran una peor respuesta al tratamiento (171) y una menor tasa de retención del mismo. (173) En nuestra cohorte no se observaron diferencias significativas en los índices de respuesta EULAR o de remisión entre fumadores y no fumadores a lo largo de los dos años de seguimiento, presentando ambos grupos similares proporciones de uso de metotrexato en monoterapia y anti-TNF.

El impacto del consumo de tabaco en la progresión radiológica de la enfermedad (principal indicador de progresión y desenlace en la AR) es un tema de gran controversia. Algunos estudios observan una franca mayor progresión radiológica en pacientes fumadores, pero otros no confirman estos datos. Al analizar los estudios publicados observamos que la mayoría de aquellos en los que se observa la existencia de una mayor progresión radiológica en relación a la exposición al tabaco vemos que se trata de estudios transversales y han sido realizados en pacientes con AR de larga evolución (más de 10 años de media) (149, 150, 177, 178) en los que no siempre se ha valorado el posible impacto de otros factores determinantes de la progresión

radiológica, que podrían actuar como confusores, como son diferencias en el tratamiento recibido, la presencia del ER, los anti-CCP o el daño radiológico presente al momento del diagnóstico de la enfermedad. Destaca un estudio en una cohorte griega de AR de inicio (152), retrospectivo, en el que se observa una significativa mayor actividad de la enfermedad y del daño radiológico presentes de forma basal y en el seguimiento en el grupo de pacientes fumadores frente a los no fumadores, señalando al tabaco como un factor de riesgo de mayor progresión radiológica; pero en el análisis de regresión ajustando por edad, sexo, tiempo de seguimiento, DAS28 basal, Larsen basal y presencia de FR no se observa la existencia de una asociación independiente significativa entre el consumo de tabaco y el índice de Larsen o DAS28 observados en el último seguimiento de los pacientes. Estudios posteriores realizados en cohortes de AR de inicio, que analizan la progresión radiológica en relación al consumo de tabaco de forma prospectiva y valorando la presencia de otros factores determinantes de la misma como el FR, anti-CCP o la presencia de factor de riesgo genético (ER) (110, 155) y las características basales de la enfermedad (actividad, discapacidad, daño radiológico) (89, 153, 163, 164) no observan la presencia de una mayor progresión radiológica en los pacientes fumadores frente a aquellos no fumadores e incluso en un estudio se sugiere que los grandes fumadores (más de 1 paquete/día) presentan menor progresión del daño radiológico. (164) En nuestro estudio observamos que los pacientes fumadores presentaron una progresión del daño radiológico medido tanto por índice de Larsen como por recuento de número de erosiones (EJC) al año y dos años de evolución ligeramente superior que aquellos no fumadores, esta diferencia solo fue significativa en el caso del EJC a los dos años. En el análisis multivariante el consumo activo de tabaco mostró ser un factor

independiente de progresión radiológica, junto con el sexo femenino, la presencia de HLA-DRB*04 y el daño radiológico basal.

Considerando de forma conjunta los resultados de estos estudios podemos afirmar que hay algunas discordancias, esto estaría justificado por diferencias en el diseño de los estudios (transversales y prospectivos), diferencias en las poblaciones analizadas, en la intensidad de consumo de tabaco en cada una de ellas (no siempre analizado) y podríamos atrevernos a concluir que esta falta de homogeneidad en los resultados sugiere que el posible efecto del tabaco sobre la progresión radiológica en todo caso sería de intensidad moderada, como hemos observado en nuestra cohorte. Por otro lado la mayoría de los estudios prospectivos están realizados con un seguimiento de 2 a 3 años, es posible que sean necesarios estudios a más largo plazo para una mejor valoración y análisis del efecto del tabaco en la progresión radiológica.

El segundo trabajo analiza también la relación de los ACPA y el consumo de tabaco, pero esta vez en sujetos sin diagnóstico de AR. Como se ha mencionado previamente los ACPA son detectables en el suero de pacientes años antes del desarrollo clínico de la AR (101) y son además marcadores pronósticos de una AR más grave con mayor destrucción articular; (8, 110, 111, 113, 185, 186) por otro lado numerosos estudios epidemiológicos han demostrado la existencia de una asociación entre el consumo de tabaco y la presencia de ACPA, (73) siendo este efecto dosis dependiente (mayor riesgo a mayor consumo de tabaco(73, 161)). Pero pocas veces se ha analizado la presencia de ACPA en población sana y su relación con el consumo de tabaco.

Se ha observado que el consumo de tabaco aumenta la expresión pulmonar de la PAD que favorece la citrulinación de proteínas, según se ha demostrado en el lavado broncoalveolar (BAL) de individuos fumadores sanos. (144, 145) Esto lleva a plantear si el tabaco tendría algún efecto en la producción de anticuerpos en individuos sanos (sin AR). Al realizar una revisión de la literatura encontramos un estudio Sueco (144) que analiza la presencia de anti-CCP en el suero de sujetos sanos y observan la presencia de estos anticuerpos en 16 de 576 fumadores (2.78%) y en 6 de 435 no fumadores (1.38%) siendo la diferencia estadísticamente no significativa. Más recientemente se ha publicado un estudio de una cohorte turca (187) en la que analizaron la presencia de anti-CCP en una muestra de 941 sujetos, 9 sujetos fueron anti-CCP positivos (1%) (4 de los cuales presentaban diagnóstico de AR). En este estudio no se observó una asociación significativa entre el consumo de tabaco y la presencia de los anti-CCP. Otros estudios que analizan la prevalencia de anti-CCP en sujetos sanos la sitúan entre el 1 y el 2%, en ninguno de ellos se evalúa su relación con el tabaco. (154, 188) En nuestro trabajo obtuvimos resultados similares, observando la presencia de anti-CCP en casi el 2% de los sujetos sanos, concretamente en el 1.9% de los sujetos sanos no fumadores y en 1.8% de los sujetos fumadores. Se analizó asimismo la presencia de un segundo ACPA, los anti-CFFCP, que fueron positivos en el 4.5% de los fumadores y en el 2.4% de los no fumadores, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Al analizar separadamente aquellos sujetos fumadores con diagnóstico de EPOC y comparar la presencia y título de ACPA en ellos frente a sujetos fumadores sin EPOC y frente a sujetos sanos observamos que aquellos con EPOC presentaban una mayor frecuencia tanto de anti-CCP como de anti-CFFCP, siendo la diferencia significativa en el caso de estos últimos. Esta mayor frecuencia de

ACPA en pacientes con EPOC podría deberse un mayor consumo de tabaco por este grupo de pacientes, ya que el efecto del tabaco en la AR ACPA positiva se ha observado que es dosis dependiente, (30) aunque esto también podría ser consecuencia de un efecto directo del proceso inflamatorio pulmonar presente en los pacientes con EPOC, ya que suelen presentar fenómenos autoinmunes y se ha demostrado la presencia de diversos autoanticuerpos en estos pacientes. (189, 190) Concretamente la presencia de ACPA en pacientes con enfermedad pulmonar ha sido estudiada por el grupo de Wood, (191) analizaron la prevalencia y título de anti-CCP, anti-CMV (anticuerpos anti-vimentina mutada citrulinada) y anticuerpos anti-elastina en pacientes con EPOC, con déficit de alfa 1 antitripsina (AATD) y en un grupo control sano. Observaron una mayor frecuencia de ACPA (anti-CCP y anti-CMV) en los pacientes EPOC frente a los controles sanos y pacientes con AATD. Sin embargo, otro estudio recientemente publicado (192) no confirma estos resultados. En él se analizó la presencia de FR, anti-CCP y anti-HSP70 en pacientes Caucásicos fumadores con y sin EPOC. Observaron en los pacientes EPOC una alta prevalencia de FR y anti-HSP70 pero no de anti-CCP. De forma añadida analizaron estos anticuerpos en una muestra de sujetos Norteamericanos Nativos (población que presenta una frecuencia de AR tres veces mayor que la Caucásica) y observaron en los fumadores una significativa mayor frecuencia de FR y anti-HSP70 al igual que en los Caucásicos, pero también de anti-CCP.

Por todo lo anterior parece razonable pensar que en los pacientes EPOC existiría un doble componente, por un lado la alta exposición al tabaco y por otro lado la presencia de un proceso inflamatorio crónico local con fenómenos autoinmunes y

producción de autoanticuerpos. Serían necesarios más estudios, quizás el análisis de poblaciones de riesgo (presencia de factor de predisposición genética) como por ejemplo familiares directos de pacientes con AR, para poder determinar la importancia de estos hechos y su posible impacto en el desarrollo a largo plazo de una enfermedad autoinmune como la AR.

CONCLUSIÓN

Conclusiones Generales

El tabaquismo es el único factor ambiental reconocido como desencadenante de la artritis reumatoide, el análisis de las características inmunogenéticas de los pacientes en relación a la exposición al tabaco puede brindar una base para la profundización en la patogenia de la artritis reumatoide. Los trabajos expuestos en esta tesis intentan aportar algunas claves en este sentido.

Los pacientes con AR fumadores son con mayor frecuencia portadores del epitopo reumatoide, lo que sugiere la existencia de una relación genético-ambiental en el desarrollo de la AR.

En nuestra serie no hemos podido observar relación entre el consumo de tabaco y la presencia de ACPA.

Desde el punto de vista de la expresión clínica de la AR, los pacientes fumadores presentan un debut de su enfermedad más temprano que los no fumadores. La actividad clínica y biológica de la enfermedad y discapacidad que presentan tanto al momento del debut de la AR como tras dos años de seguimiento son similares entre fumadores y no fumadores. El tabaco no parece influir en la expresión clínica de la enfermedad (a corto plazo).

En cuanto a la destrucción articular, el tabaco demostró ser un factor predictor independiente de destrucción articular, junto con el sexo femenino y la presencia del ER. No obstante la magnitud de este efecto sería moderada.

La prevalencia de ACPA en la población sana, tanto si son fumadores o no lo son, es del 1.9%. En grandes fumadores el consumo de tabaco no determina una mayor producción de ACPA. Sin embargo los grandes fumadores con EPOC sí tendrían una mayor predisposición a la producción de ACPA, aunque a títulos bajos. La implicación y relevancia clínica de los mismos debe ser aún estudiada en mayor profundidad.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Gabriel SE, Crowson CS, Kremers HM, Doran MF, Turesson C, O'Fallon WM, et al. Survival in rheumatoid arthritis: a population-based analysis of trends over 40 years. *Arthritis Rheum* 2003;48(1):54-8.
2. Carmona L, Villaverde V, Hernandez-Garcia C, Ballina J, Gabriel R, Laffon A. The prevalence of rheumatoid arthritis in the general population of Spain. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41(1):88-95.
3. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31(3):315-24.
4. Jayakumar K, Norton S, Dixey J, James D, Gough A, Williams P, et al. Sustained clinical remission in rheumatoid arthritis: prevalence and prognostic factors in an inception cohort of patients treated with conventional DMARDs. *Rheumatology (Oxford)* 2012;51(1):169-75.
5. Katchamart W, Johnson S, Lin HJ, Phumethum V, Salliot C, Bombardier C. Predictors for remission in rheumatoid arthritis patients: A systematic review. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010;62(8):1128-43.
6. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010;62(9):2569-81.

7. Sanmarti R, Gomez A, Ercilla G, Gratacos J, Larrosa M, Suris X, et al. Radiological progression in early rheumatoid arthritis after DMARDs: a one-year follow-up study in a clinical setting. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42(9):1044-9.
8. Sanmarti R, Gomez-Centeno A, Ercilla G, Larrosa M, Vinas O, Vazquez I, et al. Prognostic factors of radiographic progression in early rheumatoid arthritis: a two year prospective study after a structured therapeutic strategy using DMARDs and very low doses of glucocorticoids. *Clin Rheumatol* 2007;26(7):1111-8.
9. Verschueren P, Esselens G, Westhovens R. Predictors of remission, normalized physical function, and changes in the working situation during follow-up of patients with early rheumatoid arthritis: an observational study. *Scand J Rheumatol* 2009;38(3):166-72.
10. Graell E, Vazquez I, Larrosa M, Rodriguez-Cros JR, Hernandez MV, Gratacos J, et al. Disability measured by the modified health assessment questionnaire in early rheumatoid arthritis: prognostic factors after two years of follow-up. *Clin Exp Rheumatol* 2009;27(2):284-91.
11. Vazquez I, Graell E, Gratacos J, Canete JD, Vinas O, Ercilla MG, et al. Prognostic markers of clinical remission in early rheumatoid arthritis after two years of DMARDs in a clinical setting. *Clin Exp Rheumatol* 2007;25(2):231-8.
12. Bosello S, Fedele AL, Peluso G, Gremese E, Tulusso B, Ferraccioli G. Very early rheumatoid arthritis is the major predictor of major outcomes: clinical ACR remission and radiographic non-progression. *Ann Rheum Dis* 2011;70(7):1292-5.
13. Rojas-Serrano J, Perez LL, Garcia CG, Moctezuma F, Alvarez-Hernandez E, Vazquez-Mellado J, et al. Current smoking status is associated to a non-ACR 50

response in early rheumatoid arthritis. A cohort study. *Clin Rheumatol* 2011;30(12):1589-93.

14. Soderlin M, Petersson I, Bergman S, Svensson B. Smoking at onset of rheumatoid arthritis (RA) and its effect on disease activity and functional status: experiences from BARFOT, a long-term observational study on early RA. *Scand J Rheumatol* 2011;40 (4):249-55.

15. Gossec L, Dougados M, Goupille P, Cantagrel A, Sibilia J, Meyer O, et al. Prognostic factors for remission in early rheumatoid arthritis: a multiparameter prospective study. *Ann Rheum Dis* 2004;63(6):675-80.

16. Liang GC, Cordero M, Dyer A, Chang RW. Current tumor necrosis factor-alpha inhibitor use is associated with a higher probability of remissions in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005;32(9):1662-5.

17. Rohekar G, Pope J. Test-retest reliability of patient global assessment and physician global assessment in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2009;36(10):2178-82.

18. van Gestel AM, Prevoo ML, van 't Hof MA, van Rijswijk MH, van de Putte LB, van Riel PL. Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization/International League Against Rheumatism Criteria. *Arthritis Rheum* 1996;39(1):34-40.

19. Aletaha D, Smolen J. The Simplified Disease Activity Index (SDAI) and the Clinical Disease Activity Index (CDAI): a review of their usefulness and validity in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2005;23(5 Suppl 39):S100-8.

20. Aletaha D, Landewe R, Karonitsch T, Bathon J, Boers M, Bombardier C, et al. Reporting disease activity in clinical trials of patients with rheumatoid arthritis: EULAR/ACR collaborative recommendations. *Arthritis Rheum* 2008;59(10):1371-7.

21. Anderson JK, Zimmerman L, Caplan L, Michaud K. Measures of rheumatoid arthritis disease activity: Patient (PtGA) and Provider (PrGA) Global Assessment of Disease Activity, Disease Activity Score (DAS) and Disease Activity Score with 28-Joint Counts (DAS28), Simplified Disease Activity Index (SDAI), Clinical Disease Activity Index (CDAI), Patient Activity Score (PAS) and Patient Activity Score-II (PASII), Routine Assessment of Patient Index Data (RAPID), Rheumatoid Arthritis Disease Activity Index (RADAI) and Rheumatoid Arthritis Disease Activity Index-5 (RADAI-5), Chronic Arthritis Systemic Index (CASI), Patient-Based Disease Activity Score With ESR (PDAS1) and Patient-Based Disease Activity Score without ESR (PDAS2), and Mean Overall Index for Rheumatoid Arthritis (MOI-RA). *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011;63 Suppl 11:S14-36.

22. Pincus T, Summey JA, Soraci SA, Jr., Wallston KA, Hummon NP. Assessment of patient satisfaction in activities of daily living using a modified Stanford Health Assessment Questionnaire. *Arthritis Rheum* 1983;26(11):1346-53.

23. Wolfe F, Pincus T. Listening to the patient: a practical guide to self-report questionnaires in clinical care. *Arthritis Rheum* 1999;42(9):1797-808.

24. Tugwell P, Wells G, Strand V, Maetzel A, Bombardier C, Crawford B, et al. Clinical improvement as reflected in measures of function and health-related quality of life following treatment with leflunomide compared with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: sensitivity and relative efficiency to detect a treatment effect in a twelve-month, placebo-controlled trial. Leflunomide Rheumatoid Arthritis Investigators Group. *Arthritis Rheum* 2000;43(3):506-14.

25. Larsen A, Dale K, Eek M. Radiographic evaluation of rheumatoid arthritis and related conditions by standard reference films. *Acta Radiol Diagn (Stockh)* 1977;18(4):481-91.
26. Kirwan JR. Using the Larsen index to assess radiographic progression in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000;27(1):264-8.
27. Vessey MP, Villard-Mackintosh L, Yeates D. Oral contraceptives, cigarette smoking and other factors in relation to arthritis. *Contraception* 1987;35(5):457-64.
28. Heliovaara M, Aho K, Aromaa A, Knekt P, Reunanen A. Smoking and risk of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1993;20(11):1830-5.
29. Costenbader KH, Feskanich D, Mandl LA, Karlson EW. Smoking intensity, duration, and cessation, and the risk of rheumatoid arthritis in women. *Am J Med* 2006;119(6):503 e1-9.
30. Criswell LA, Saag KG, Mikuls TR, Cerhan JR, Merlino LA, Lum RF, et al. Smoking interacts with genetic risk factors in the development of rheumatoid arthritis among older Caucasian women. *Ann Rheum Dis* 2006;65(9):1163-7.
31. Klareskog L, Padyukov L, Alfredsson L. Smoking as a trigger for inflammatory rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* 2007;19(1):49-54.
32. Karlson EW, Chang SC, Cui J, Chibnik LB, Fraser PA, De Vivo I, et al. Gene-environment interaction between HLA-DRB1 shared epitope and heavy cigarette smoking in predicting incident rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69(1):54-60.

33. Kallberg H, Ding B, Padyukov L, Bengtsson C, Ronnelid J, Klareskog L, et al. Smoking is a major preventable risk factor for rheumatoid arthritis: estimations of risks after various exposures to cigarette smoke. *Ann Rheum Dis* 2011;70(3):508-11.
34. Stastny P. Mixed lymphocyte cultures in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1976;57(5):1148-57.
35. Seldin MF, Amos CI, Ward R, Gregersen PK. The genetics revolution and the assault on rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999;42(6):1071-9.
36. Bali D, Gourley S, Kostyu DD, Goel N, Bruce I, Bell A, et al. Genetic analysis of multiplex rheumatoid arthritis families. *Genes Immun* 1999;1(1):28-36.
37. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, Koskenvuo M, Kaprio J, Aho K, et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum* 2000;43(1):30-7.
38. Dieude P, Cornelis F. Genetic basis of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2005;72(6):520-6.
39. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987;30(11):1205-13.
40. Matthey DL, Hutchinson D. Smoking and HLA-DR shared epitope alleles in rheumatoid arthritis: comment on the article by Padyukov et al. *Arthritis Rheum* 2005;52(11):3675-6; author reply 3676-8.
41. Kallberg H, Padyukov L, Plenge RM, Ronnelid J, Gregersen PK, van der Helm-van Mil AH, et al. Gene-gene and gene-environment interactions involving

HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 2007;80(5):867-75.

42. Oliveira RD, Junta CM, Oliveira FR, Silva LM, Donadi EA, Louzada-Junior P. Shared epitope, citrullinated cyclic peptide antibodies and smoking in Brazilian rheumatoid arthritis patients. *Clin Rev Allergy Immunol* 2008;34(1):32-5.

43. Padyukov L, Silva C, Stolt P, Alfredsson L, Klareskog L. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50(10):3085-92.

44. Hall FC, Weeks DE, Camilleri JP, Williams LA, Amos N, Darke C, et al. Influence of the HLA-DRB1 locus on susceptibility and severity in rheumatoid arthritis. *Qjm* 1996;89(11):821-9.

45. Turesson C, Schaid DJ, Weyand CM, Jacobsson LT, Goronzy JJ, Petersson IF, et al. The impact of HLA-DRB1 genes on extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005;7(6):R1386-93.

46. Cornelis F, Faure S, Martinez M, Prud'homme JF, Fritz P, Dib C, et al. New susceptibility locus for rheumatoid arthritis suggested by a genome-wide linkage study. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(18):10746-50.

47. Jawaheer D, Gregersen PK. Rheumatoid arthritis. The genetic components. *Rheum Dis Clin North Am* 2002;28(1):1-15, v.

48. Bax M, van Heemst J, Huizinga TW, Toes RE. Genetics of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Immunogenetics* 2011;63(8):459-66.

49. Lee AT, Li W, Liew A, Bombardier C, Weisman M, Massarotti EM, et al. The PTPN22 R620W polymorphism associates with RF positive rheumatoid arthritis in a dose-dependent manner but not with HLA-SE status. *Genes Immun* 2005;6(2):129-33.
50. Begovich AB, Carlton VE, Honigberg LA, Schrodi SJ, Chokkalingam AP, Alexander HC, et al. A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 2004;75(2):330-7.
51. Lee HK, Kim DS, Yoo B, Seo JB, Rho JY, Colby TV, et al. Histopathologic pattern and clinical features of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Chest* 2005;127(6):2019-27.
52. Remmers EF, Plenge RM, Lee AT, Graham RR, Hom G, Behrens TW, et al. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2007;357(10):977-86.
53. Orozco G, Alizadeh BZ, Delgado-Vega AM, Gonzalez-Gay MA, Balsa A, Pascual-Salcedo D, et al. Association of STAT4 with rheumatoid arthritis: a replication study in three European populations. *Arthritis Rheum* 2008;58(7):1974-80.
54. Plenge RM, Seielstad M, Padyukov L, Lee AT, Remmers EF, Ding B, et al. TRAF1-C5 as a risk locus for rheumatoid arthritis--a genomewide study. *N Engl J Med* 2007;357(12):1199-209.
55. Kurreeman FA, Padyukov L, Marques RB, Schrodi SJ, Seddighzadeh M, Stoeken-Rijsbergen G, et al. A candidate gene approach identifies the TRAF1/C5 region as a risk factor for rheumatoid arthritis. *PLoS Med* 2007;4(9):e278.

56. Nelson JL, Hughes KA, Smith AG, Nisperos BB, Branchaud AM, Hansen JA. Maternal-fetal disparity in HLA class II alloantigens and the pregnancy-induced amelioration of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 1993;329(7):466-71.
57. Brennan P, Bankhead C, Silman A, Symmons D. Oral contraceptives and rheumatoid arthritis: results from a primary care-based incident case-control study. *Semin Arthritis Rheum* 1997;26(6):817-23.
58. Pikwer M, Bergstrom U, Nilsson JA, Jacobsson L, Berglund G, Turesson C. Breast feeding, but not use of oral contraceptives, is associated with a reduced risk of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009;68(4):526-30.
59. Pikwer M, Bergstrom U, Nilsson JA, Jacobsson L, Turesson C. Early menopause is an independent predictor of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2011.
60. Heikkila R, Aho K, Heliovaara M, Knekt P, Reunanen A, Aromaa A, et al. Serum androgen-anabolic hormones and the risk of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1998;57(5):281-5.
61. Bengtsson C, Nordmark B, Klareskog L, Lundberg I, Alfredsson L. Socioeconomic status and the risk of developing rheumatoid arthritis: results from the Swedish EIRA study. *Ann Rheum Dis* 2005;64(11):1588-94.
62. Pedersen M, Jacobsen S, Klarlund M, Frisch M. Socioeconomic status and risk of rheumatoid arthritis: a Danish case-control study. *J Rheumatol* 2006;33(6):1069-74.
63. Bergstrom U, Jacobsson LT, Nilsson JA, Berglund G, Turesson C. Pulmonary dysfunction, smoking, socioeconomic status and the risk of developing rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2011;50(11):2005-13.

64. Rosell M, Wesley AM, Rydin K, Klareskog L, Alfredsson L. Dietary fish and fish oil and the risk of rheumatoid arthritis. *Epidemiology* 2009;20(6):896-901.
65. Pattison DJ, Harrison RA, Symmons DP. The role of diet in susceptibility to rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Rheumatol* 2004;31(7):1310-9.
66. Benito-Garcia E, Feskanich D, Hu FB, Mandl LA, Karlson EW. Protein, iron, and meat consumption and risk for rheumatoid arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Res Ther* 2007;9(1):R16.
67. Nielen MM, van Schaardenburg D, Lems WF, van de Stadt RJ, de Koning MH, Reesink HW, et al. Vitamin D deficiency does not increase the risk of rheumatoid arthritis: comment on the article by Merlino et al. *Arthritis Rheum* 2006;54(11):3719-20.
68. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357(3):266-81.
69. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004;50(1):72-7.
70. Kerr GS, Sabahi I, Richards JS, Caplan L, Cannon GW, Reimold A, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency/deficiency in rheumatoid arthritis and associations with disease severity and activity. *J Rheumatol* 2011;38(1):53-9.
71. Rossini M, Maddali Bongi S, La Montagna G, Minisola G, Malavolta N, Bernini L, et al. Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis: prevalence, determinants and associations with disease activity and disability. *Arthritis Res Ther* 2010;12(6):R216.

72. Craig SM, Yu F, Curtis JR, Alarcon GS, Conn DL, Jonas B, et al. Vitamin D status and its associations with disease activity and severity in African Americans with recent-onset rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2010;37(2):275-81.
73. Pedersen M, Jacobsen S, Klarlund M, Pedersen BV, Wiik A, Wohlfahrt J, et al. Environmental risk factors differ between rheumatoid arthritis with and without auto-antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthritis Res Ther* 2006;8(4):R133.
74. Kallberg H, Jacobsen S, Bengtsson C, Pedersen M, Padyukov L, Garred P, et al. Alcohol consumption is associated with decreased risk of rheumatoid arthritis: results from two Scandinavian case-control studies. *Ann Rheum Dis* 2009;68(2):222-7.
75. Karlson EW, Mandl LA, Aweh GN, Grodstein F. Coffee consumption and risk of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48(11):3055-60.
76. Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Merlino L, Mudano AS, Burma M, et al. Coffee, tea, and caffeine consumption and risk of rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2002;46(1):83-91.
77. Heliovaara M, Aho K, Knekt P, Impivaara O, Reunanen A, Aromaa A. Coffee consumption, rheumatoid factor, and the risk of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2000;59(8):631-5.
78. de Pablo P, Dietrich T, McAlindon TE. Association of periodontal disease and tooth loss with rheumatoid arthritis in the US population. *J Rheumatol* 2008;35(1):70-6.
79. Lundberg K, Wegner N, Yucel-Lindberg T, Venables PJ. Periodontitis in RA- the citrullinated enolase connection. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6(12):727-30.

80. Rosenstein ED, Greenwald RA, Kushner LJ, Weissmann G. Hypothesis: the humoral immune response to oral bacteria provides a stimulus for the development of rheumatoid arthritis. *Inflammation* 2004;28(6):311-8.
81. Marotte H, Farge P, Gaudin P, Alexandre C, Mougin B, Miossec P. The association between periodontal disease and joint destruction in rheumatoid arthritis extends the link between the HLA-DR shared epitope and severity of bone destruction. *Ann Rheum Dis* 2006;65(7):905-9.
82. Stolt P, Yahya A, Bengtsson C, Kallberg H, Ronnelid J, Lundberg I, et al. Silica exposure among male current smokers is associated with a high risk of developing ACPA-positive rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69(6):1072-6.
83. Hazes JM, Dijkmans BA, Vandenbroucke JP, de Vries RR, Cats A. Lifestyle and the risk of rheumatoid arthritis: cigarette smoking and alcohol consumption. *Ann Rheum Dis* 1990;49(12):980-2.
84. Hernandez Avila M, Liang MH, Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner B, et al. Reproductive factors, smoking, and the risk for rheumatoid arthritis. *Epidemiology* 1990;1(4):285-91.
85. Symmons DP, Bankhead CR, Harrison BJ, Brennan P, Barrett EM, Scott DG, et al. Blood transfusion, smoking, and obesity as risk factors for the development of rheumatoid arthritis: results from a primary care-based incident case-control study in Norfolk, England. *Arthritis Rheum* 1997;40(11):1955-61.
86. Karlson EW, Lee IM, Cook NR, Manson JE, Buring JE, Hennekens CH. A retrospective cohort study of cigarette smoking and risk of rheumatoid arthritis in female health professionals. *Arthritis Rheum* 1999;42(5):910-7.

87. Markatseli TE, Voulgari PV, Alamanos Y, Drosos AA. Prognostic factors of radiological damage in rheumatoid arthritis: a 10-year retrospective study. *J Rheumatol* 2011;38(1):44-52.
88. Bukhari M, Lunt M, Harrison BJ, Scott DG, Symmons DP, Silman AJ. Rheumatoid factor is the major predictor of increasing severity of radiographic erosions in rheumatoid arthritis: results from the Norfolk Arthritis Register Study, a large inception cohort. *Arthritis Rheum* 2002;46(4):906-12.
89. Manfredsdottir VF, Vikingsdottir T, Jonsson T, Geirsson AJ, Kjartansson O, Heimisdottir M, et al. The effects of tobacco smoking and rheumatoid factor seropositivity on disease activity and joint damage in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45(6):734-40.
90. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;101(1):273-81.
91. Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson-Bessiere C, Girbal E, Durieux JJ, et al. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1995;95(6):2672-9.
92. Gyorgy B, Toth E, Tarcsa E, Falus A, Buzas EI. Citrullination: a posttranslational modification in health and disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38(10):1662-77.
93. van Venrooij WJ, Pruijn GJ. An important step towards completing the rheumatoid arthritis cycle. *Arthritis Res Ther* 2008;10(5):117.

94. Suzuki K, Sawada T, Murakami A, Matsui T, Tohma S, Nakazono K, et al. High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2003;32(4):197-204.
95. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 2007;146(11):797-808.
96. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000;43(1):155-63.
97. Pruijn GJ, Wiik A, van Venrooij WJ. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2010;12(1):203.
98. Perez ML, Gomara MJ, Kasi D, Alonso A, Vinas O, Ercilla G, et al. Synthesis of overlapping fibrin citrullinated peptides and their use for diagnosing rheumatoid arthritis. *Chem Biol Drug Des* 2006;68(4):194-200.
99. Perez ML, Gomara MJ, Ercilla G, Sanmarti R, Haro I. Antibodies to citrullinated human fibrinogen synthetic peptides in diagnosing rheumatoid arthritis. *J Med Chem* 2007;50(15):3573-84.
100. Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48(10):2741-9.
101. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MH, et al. Specific autoantibodies precede the

symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004;50(2):380-6.

102. Berglin E, Johansson T, Sundin U, Jidell E, Wadell G, Hallmans G, et al. Radiological outcome in rheumatoid arthritis is predicted by presence of antibodies against cyclic citrullinated peptide before and at disease onset, and by IgA-RF at disease onset. *Ann Rheum Dis* 2006;65(4):453-8.

103. van der Woude D, Rantapaa-Dahlqvist S, Ioan-Facsinay A, Onnekink C, Schwarte CM, Verpoort KN, et al. Epitope spreading of the anti-citrullinated protein antibody response occurs before disease onset and is associated with the disease course of early arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69(8):1554-61.

104. Kokkonen H, Mullazehi M, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Ronnelid J, et al. Antibodies of IgG, IgA and IgM isotypes against cyclic citrullinated peptide precede the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2011;13(1):R13.

105. Lopez-Hoyos M, Ruiz de Alegria C, Blanco R, Crespo J, Pena M, Rodriguez-Valverde V, et al. Clinical utility of anti-CCP antibodies in the differential diagnosis of elderly-onset rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Rheumatology (Oxford)* 2004;43(5):655-7.

106. Ceccato F, Roverano S, Barrionuevo A, Rillo O, Paira S. The role of anticyclic citrullinated peptide antibodies in the differential diagnosis of elderly-onset rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Clin Rheumatol* 2006;25(6):854-7.

107. Matsui T, Shimada K, Ozawa N, Hayakawa H, Hagiwara F, Nakayama H, et al. Diagnostic utility of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies for very early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2006;33(12):2390-7.

108. Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003;62(9):870-4.
109. Nell VP, Machold KP, Stamm TA, Eberl G, Heinzl H, Uffmann M, et al. Autoantibody profiling as early diagnostic and prognostic tool for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(12):1731-6.
110. Forslind K, Ahlmen M, Eberhardt K, Hafstrom I, Svensson B. Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann Rheum Dis* 2004;63(9):1090-5.
111. Meyer O, Labarre C, Dougados M, Goupille P, Cantagrel A, Dubois A, et al. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003;62(2):120-6.
112. Sanmarti R, Graell E, Perez ML, Ercilla G, Vinas O, Gomez-Puerta JA, et al. Diagnostic and prognostic value of antibodies against chimeric fibrin/filaggrin citrullinated synthetic peptides in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2009;11(5):R135.
113. Ronnelid J, Wick MC, Lampa J, Lindblad S, Nordmark B, Klareskog L, et al. Longitudinal analysis of citrullinated protein/peptide antibodies (anti-CP) during 5 year follow up in early rheumatoid arthritis: anti-CP status predicts worse disease activity and greater radiological progression. *Ann Rheum Dis* 2005;64(12):1744-9.
114. De Rycke L, Peene I, Hoffman IE, Kruithof E, Union A, Meheus L, et al. Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations. *Ann Rheum Dis* 2004;63(12):1587-93.

115. Ezzati M, Lopez AD. Estimates of global mortality attributable to smoking in 2000. *Lancet* 2003;362(9387):847-52.
116. Banegas JR, Diez-Ganan L, Banuelos-Marco B, Gonzalez-Enriquez J, Villar-Alvarez F, Martin-Moreno JM, et al. [Smoking-attributable deaths in Spain, 2006]. *Med Clin (Barc)* 2011;136(3):97-102.
117. Sopori M. Effects of cigarette smoke on the immune system. *Nat Rev Immunol* 2002;2(5):372-7.
118. Mehta H, Nazzal K, Sadikot RT. Cigarette smoking and innate immunity. *Inflamm Res* 2008;57(11):497-503.
119. Arnsen Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun* 2010;34(3):J258-65.
120. Poddubnyy D, Haibel H, Listing J, Marker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, et al. Baseline radiographic damage, elevated acute phase reactants and cigarette smoking status predict radiographic progression in the spine in early axial spondyloarthritis. *Arthritis Rheum* 2011.
121. Chung HY, Machado P, van der Heijde D, D'Agostino MA, Dougados M. Smokers in early axial spondyloarthritis have earlier disease onset, more disease activity, inflammation and damage, and poorer function and health-related quality of life: results from the DESIR cohort. *Ann Rheum Dis* 2011.
122. Li W, Han J, Qureshi AA. Smoking and risk of incident psoriatic arthritis in US women. *Ann Rheum Dis* 2012;doi:10.1136/annrheumdis-2011-200416.

123. Eder L, Law T, Chandran V, Shanmugarajah S, Shen H, Rosen CF, et al. Association between environmental factors and onset of psoriatic arthritis in patients with psoriasis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011;63(8):1091-7.
124. Formica MK, Palmer JR, Rosenberg L, McAlindon TE. Smoking, alcohol consumption, and risk of systemic lupus erythematosus in the Black Women's Health Study. *J Rheumatol* 2003;30(6):1222-6.
125. Bengtsson AA, Rylander L, Hagmar L, Nived O, Sturfelt G. Risk factors for developing systemic lupus erythematosus: a case-control study in southern Sweden. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41(5):563-71.
126. Hernan MA, Olek MJ, Ascherio A. Cigarette smoking and incidence of multiple sclerosis. *Am J Epidemiol* 2001;154(1):69-74.
127. Riise T, Nortvedt MW, Ascherio A. Smoking is a risk factor for multiple sclerosis. *Neurology* 2003;61(8):1122-4.
128. Vestergaard P, Rejnmark L, Weeke J, Hoeck HC, Nielsen HK, Rungby J, et al. Smoking as a risk factor for Graves' disease, toxic nodular goiter, and autoimmune hypothyroidism. *Thyroid* 2002;12(1):69-75.
129. Holm IA, Manson JE, Michels KB, Alexander EK, Willett WC, Utiger RD. Smoking and other lifestyle factors and the risk of Graves' hyperthyroidism. *Arch Intern Med* 2005;165(14):1606-11.
130. Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, Gold EB, Watnik M, Utts J, et al. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology* 2005;42(5):1194-202.

131. van Eeden SF, Hogg JC. The response of human bone marrow to chronic cigarette smoking. *Eur Respir J* 2000;15(5):915-21.
132. Smith MR, Kinmonth AL, Luben RN, Bingham S, Day NE, Wareham NJ, et al. Smoking status and differential white cell count in men and women in the EPIC-Norfolk population. *Atherosclerosis* 2003;169(2):331-7.
133. Friedman GD, Siegelaub AB, Seltzer CC, Feldman R, Collen MF. Smoking habits and the leukocyte count. *Arch Environ Health* 1973;26(3):137-43.
134. Corberand J, Nguyen F, Do AH, Dutau G, Laharrague P, Fontanilles AM, et al. Effect of tobacco smoking on the functions of polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun* 1979;23(3):577-81.
135. Tanigawa T, Araki S, Nakata A, Kitamura F, Yasumoto M, Sakurai S, et al. Increase in memory (CD4+CD29+ and CD4+CD45RO+) T and naive (CD4+CD45RA+) T-cell subpopulations in smokers. *Arch Environ Health* 1998;53(6):378-83.
136. Robbins CS, Franco F, Mouded M, Cernadas M, Shapiro SD. Cigarette smoke exposure impairs dendritic cell maturation and T cell proliferation in thoracic lymph nodes of mice. *J Immunol* 2008;180(10):6623-8.
137. Tollerud DJ, Clark JW, Brown LM, Neuland CY, Mann DL, Pankiw-Trost LK, et al. The effects of cigarette smoking on T cell subsets. A population-based survey of healthy caucasians. *Am Rev Respir Dis* 1989;139(6):1446-51.
138. Geng Y, Savage SM, Razani-Boroujerdi S, Sopori ML. Effects of nicotine on the immune response. II. Chronic nicotine treatment induces T cell anergy. *J Immunol* 1996;156(7):2384-90.

139. Vassallo R, Tamada K, Lau JS, Kroening PR, Chen L. Cigarette smoke extract suppresses human dendritic cell function leading to preferential induction of Th-2 priming. *J Immunol* 2005;175(4):2684-91.
140. Glossop JR, Dawes PT, Matthey DL. Association between cigarette smoking and release of tumour necrosis factor alpha and its soluble receptors by peripheral blood mononuclear cells in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45(10):1223-9.
141. Bermudez EA, Rifai N, Buring JE, Manson JE, Ridker PM. Relation between markers of systemic vascular inflammation and smoking in women. *Am J Cardiol* 2002;89(9):1117-9.
142. Hagiwara E, Takahashi KI, Okubo T, Ohno S, Ueda A, Aoki A, et al. Cigarette smoking depletes cells spontaneously secreting Th(1) cytokines in the human airway. *Cytokine* 2001;14(2):121-6.
143. Pryor WA, Stone K, Zang LY, Bermudez E. Fractionation of aqueous cigarette tar extracts: fractions that contain the tar radical cause DNA damage. *Chem Res Toxicol* 1998;11(5):441-8.
144. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg H, Bengtsson C, Grunewald J, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006;54(1):38-46.
145. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren AK, Nicholas AP, Zendman AJ, Eklund A, et al. Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Ann Rheum Dis* 2008;67(10):1488-92.

146. Baeten D, Peene I, Union A, Meheus L, Sebbag M, Serre G, et al. Specific presence of intracellular citrullinated proteins in rheumatoid arthritis synovium: relevance to antifilaggrin autoantibodies. *Arthritis Rheum* 2001;44(10):2255-62.
147. Klareskog L, Ronnelid J, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L. Immunity to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol* 2008;26:651-75.
148. Klareskog L, Malmstrom V, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L. Smoking, citrullination and genetic variability in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Semin Immunol* 2011;23(2):92-8.
149. Saag KG, Cerhan JR, Kolluri S, Ohashi K, Hunninghake GW, Schwartz DA. Cigarette smoking and rheumatoid arthritis severity. *Ann Rheum Dis* 1997;56(8):463-9.
150. Wolfe F. The effect of smoking on clinical, laboratory, and radiographic status in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000;27(3):630-7.
151. Stolt P, Bengtsson C, Nordmark B, Lindblad S, Lundberg I, Klareskog L, et al. Quantification of the influence of cigarette smoking on rheumatoid arthritis: results from a population based case-control study, using incident cases. *Ann Rheum Dis* 2003;62(9):835-41.
152. Papadopoulos NG, Alamanos Y, Voulgari PV, Epagelis EK, Tsifetaki N, Drosos AA. Does cigarette smoking influence disease expression, activity and severity in early rheumatoid arthritis patients? *Clin Exp Rheumatol* 2005;23(6):861-6.
153. Westhoff G, Rau R, Zink A. Rheumatoid arthritis patients who smoke have a higher need for DMARDs and feel worse, but they do not have more joint damage than

non-smokers of the same serological group. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47(6):849-54.

154. Yahya A, Bengtsson C, Lai TC, Larsson PT, Mustafa AN, Abdullah NA, et al. Smoking is associated with an increased risk of developing ACPA-positive but not ACPA-negative rheumatoid arthritis in Asian populations: evidence from the Malaysian MyEIRA case-control study. *Mod Rheumatol* 2012;22(4):524-31.

155. Mikuls TR, Hughes LB, Westfall AO, Holers VM, Parrish L, van der Heijde D, et al. Cigarette smoking, disease severity and autoantibody expression in African Americans with recent-onset rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67(11):1529-34.

156. Lee HS, Irigoyen P, Kern M, Lee A, Batliwalla F, Khalili H, et al. Interaction between smoking, the shared epitope, and anti-cyclic citrullinated peptide: a mixed picture in three large North American rheumatoid arthritis cohorts. *Arthritis Rheum* 2007;56(6):1745-53.

157. Linn-Rasker SP, van der Helm-van Mil AH, van Gaalen FA, Kloppenburg M, de Vries RR, le Cessie S, et al. Smoking is a risk factor for anti-CCP antibodies only in rheumatoid arthritis patients who carry HLA-DRB1 shared epitope alleles. *Ann Rheum Dis* 2006;65(3):366-71.

158. Pedersen M, Jacobsen S, Garred P, Madsen HO, Klarlund M, Svejgaard A, et al. Strong combined gene-environment effects in anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis: a nationwide case-control study in Denmark. *Arthritis Rheum* 2007;56(5):1446-53.

159. van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, le Cessie S, Huizinga TW, de Vries RR, Toes RE. The HLA-DRB1 shared epitope alleles differ in the interaction with

smoking and predisposition to antibodies to cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2007;56(2):425-32.

160. Michou L, Teixeira VH, Pierlot C, Lasbleiz S, Bardin T, Dieude P, et al. Associations between genetic factors, tobacco smoking and autoantibodies in familial and sporadic rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67(4):466-70.

161. Criswell LA, Merlino LA, Cerhan JR, Mikuls TR, Mudano AS, Burma M, et al. Cigarette smoking and the risk of rheumatoid arthritis among postmenopausal women: results from the Iowa Women's Health Study. *Am J Med* 2002;112(6):465-71.

162. Olsson AR, Skogh T, Wingren G. Aetiological factors of importance for the development of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2004;33(5):300-6.

163. Harrison BJ, Silman AJ, Wiles NJ, Scott DG, Symmons DP. The association of cigarette smoking with disease outcome in patients with early inflammatory polyarthritis. *Arthritis Rheum* 2001;44(2):323-30.

164. Finckh A, Dehler S, Costenbader KH, Gabay C. Cigarette smoking and radiographic progression in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66(8):1066-71.

165. Salliot C, Dawidowicz K, Lukas C, Guedj M, Paccard C, Benessiano J, et al. PTPN22 R620W genotype-phenotype correlation analysis and gene-environment interaction study in early rheumatoid arthritis: results from the ESPOIR cohort. *Rheumatology (Oxford)* 2011;50(10):1802-8.

166. Turesson C, O'Fallon WM, Crowson CS, Gabriel SE, Matteson EL. Extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis: incidence trends and risk factors over 46 years. *Ann Rheum Dis* 2003;62(8):722-7.

167. Saag KG, Kolluri S, Koehnke RK, Georgou TA, Rachow JW, Hunninghake GW, et al. Rheumatoid arthritis lung disease. Determinants of radiographic and physiologic abnormalities. *Arthritis Rheum* 1996;39(10):1711-9.
168. Wessels JA, van der Kooij SM, le Cessie S, Kievit W, Barerra P, Allaart CF, et al. A clinical pharmacogenetic model to predict the efficacy of methotrexate monotherapy in recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2007;56(6):1765-75.
169. Saevarsdottir S, Wedren S, Seddighzadeh M, Bengtsson C, Wesley A, Lindblad S, et al. Patients with early rheumatoid arthritis who smoke are less likely to respond to treatment with methotrexate and tumor necrosis factor inhibitors: observations from the Epidemiological Investigation of Rheumatoid Arthritis and the Swedish Rheumatology Register cohorts. *Arthritis Rheum* 2011;63(1):26-36.
170. Hyrich KL, Watson KD, Silman AJ, Symmons DP. Predictors of response to anti-TNF-alpha therapy among patients with rheumatoid arthritis: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45(12):1558-65.
171. Matthey DL, Brownfield A, Dawes PT. Relationship between pack-year history of smoking and response to tumor necrosis factor antagonists in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2009;36(6):1180-7.
172. Abhishek A, Butt S, Gadsby K, Zhang W, Deighton CM. Anti-TNF-alpha agents are less effective for the treatment of rheumatoid arthritis in current smokers. *J Clin Rheumatol* 2010;16(1):15-8.

173. Soderlin MK, Petersson IF, Geborek P. The effect of smoking on response and drug survival in rheumatoid arthritis patients treated with their first anti-TNF drug. *Scand J Rheumatol* 2012;41(1):1-9.
174. Canhao H, Rodrigues AM, Mourao AF, Martins F, Santos MJ, Canas-Silva J, et al. Comparative effectiveness and predictors of response to tumour necrosis factor inhibitor therapies in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2012.
175. Khan A, Scott DL, Batley M. Smoking, rheumatoid factor status and responses to rituximab. *Ann Rheum Dis* 2012(doi:10.1136/annrheumdis-2012-201758).
176. Stamp LK, O'Donnell JL, Chapman PT, Zhang M, Frampton C, James J, et al. Determinants of red blood cell methotrexate polyglutamate concentrations in rheumatoid arthritis patients receiving long-term methotrexate treatment. *Arthritis Rheum* 2009;60(8):2248-56.
177. Masdottir B, Jonsson T, Manfredsdottir V, Vikingsson A, Brekkan A, Valdimarsson H. Smoking, rheumatoid factor isotypes and severity of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2000;39(11):1202-5.
178. Matthey DL, Hutchinson D, Dawes PT, Nixon NB, Clarke S, Fisher J, et al. Smoking and disease severity in rheumatoid arthritis: association with polymorphism at the glutathione S-transferase M1 locus. *Arthritis Rheum* 2002;46(3):640-6.
179. Allaire S, Wolfe F, Niu J, Lavalley MP. Contemporary prevalence and incidence of work disability associated with rheumatoid arthritis in the US. *Arthritis Rheum* 2008;59(4):474-80.

180. Odegard S, Finset A, Kvien TK, Mowinckel P, Uhlig T. Work disability in rheumatoid arthritis is predicted by physical and psychological health status: a 7-year study from the Oslo RA register. *Scand J Rheumatol* 2005;34(6):441-7.
181. Fisher MC, Hochberg MC, El-Taha M, Kremer JM, Peng C, Greenberg JD. Smoking, smoking cessation, and disease activity in a large cohort of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2012;39(5):904-9.
182. Bang SY, Lee KH, Cho SK, Lee HS, Lee KW, Bae SC. Smoking increases rheumatoid arthritis susceptibility in individuals carrying the HLA-DRB1 shared epitope, regardless of rheumatoid factor or anti-cyclic citrullinated peptide antibody status. *Arthritis Rheum* 2010;62(2):369-77.
183. Ruiz-Esquide V C-VS, Gómez-Puerta JA, Hernández M, Gómez-Caballero M, Graell E, Cañete JD, Ercilla G, Viñas O, Sanmarti R. Association between tobacco and anti-CCP in an early rheumatoid arthritis cohort. A dose-dependent effect. *Ann Rheum Dis* 2012;71(Suppl3):675.
184. Saevarsdottir S, Wallin H, Seddighzadeh M, Ernestam S, Geborek P, Petersson IF, et al. Predictors of response to methotrexate in early DMARD naive rheumatoid arthritis: results from the initial open-label phase of the SWEFOT trial. *Ann Rheum Dis* 2011;70(3):469-75.
185. van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, Breedveld FC, Toes RE, Huizinga TW. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005;7(5):R949-58.
186. Shiozawa K, Kawasaki Y, Yamane T, Yoshihara R, Tanaka Y, Uto K, et al. Anticitrullinated protein antibody, but not its titer, is a predictor of radiographic

progression and disease activity in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2012;39(4):694-700.

187. Tasliyurt T, Kisacik B, Kaya SU, Yildirim B, Pehlivan Y, Kutluturk F, et al. The frequency of antibodies against cyclic citrullinated peptides and rheumatoid factor in healthy population: a field study of rheumatoid arthritis from northern turkey. *Rheumatol Int* 2012.

188. Goeldner I, Skare TL, de Messias Reason IT, Nisihara RM, Silva MB, Utiyama SR. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in rheumatoid arthritis patients and relatives from Brazil. *Rheumatology (Oxford)* 2010;49(8):1590-3.

189. Feghali-Bostwick CA, Gadgil AS, Otterbein LE, Pilewski JM, Stoner MW, Csizmadia E, et al. Autoantibodies in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177(2):156-63.

190. Leidinger P, Keller A, Heisel S, Ludwig N, Rheinheimer S, Klein V, et al. Novel autoantigens immunogenic in COPD patients. *Respir Res* 2009;10:20.

191. Wood AM, de Pablo P, Buckley CD, Ahmad A, Stockley RA. Smoke exposure as a determinant of autoantibody titre in alpha-antitrypsin deficiency and COPD. *Eur Respir J* 2011;37(1):32-8.

192. Newkirk MM, Mitchell S, Procino M, Li Z, Cosio M, Mazur W, et al. Chronic smoke exposure induces rheumatoid factor and anti-heat shock protein 70 autoantibodies in susceptible mice and humans with lung disease. *Eur J Immunol* 2012;42(4):1051-61.

APÉNDICE

Artículo de revisión:

“Tabaco y otros factores ambientales en la artritis reumatoide”

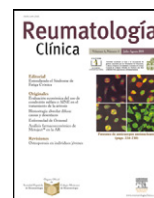
V. Ruiz Esquide, R Sanmarti.

Reumatología Clínica. 2012. En prensa.



Reumatología Clínica

www.reumatologiaclinica.org



Revisión

Tabaco y otros factores ambientales en la artritis reumatoide

Virginia Ruiz-Esquide* y Raimon Sanmartí

Unidad de Artritis, Servicio de Reumatología, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 23 de diciembre de 2011

Aceptado el 29 de febrero de 2012

On-line el xxx

Palabras clave:

Tabaco

Artritis reumatoide

Factores de riesgo ambientales

R E S U M E N

Existen distintos factores ambientales implicados en la patogenia de la artritis reumatoide, aunque es el tabaco el factor más ampliamente estudiado y reconocido. El tabaquismo está asociado a un incremento del riesgo de artritis reumatoide seropositiva (FR y/o ACPA). Además estudios recientes ponen de manifiesto que el consumo de tabaco puede influir en la expresión clínica de la enfermedad, determinar un curso evolutivo más grave y una mayor destrucción articular, aunque no todos los estudios son concordantes. Datos recientes sugieren que la respuesta al tratamiento antirreumático sería peor en los enfermos fumadores. En el presente artículo se revisan los distintos factores ambientales que han sido implicados en la AR, con especial énfasis en el tabaquismo.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Tobacco and other environmental risk factors in rheumatoid arthritis

A B S T R A C T

Many environmental factors have been associated with an increased risk of developing Rheumatoid Arthritis (RA), but so far smoking is the only environmental risk factor that has been extensively studied and widely accepted. Smoking is associated with an increased risk of developing seropositive RA (RF and/or ACPA). Recent studies show that tobacco smoking can influence disease phenotype, with the development of more aggressive disease and greater joint damage; but other studies show contradictory results. Recent data suggests that response to antirheumatic therapy in RA is worse in smokers. In this article we review different environmental factors that have been associated with an increased risk of developing RA, with a special interest in tobacco smoking.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Tobacco

Rheumatoid arthritis

Environmental risk factors

Introducción

La artritis reumatoide (AR) es la artropatía inflamatoria crónica más frecuente, afecta aproximadamente el 0,5%-1% de la población general y causa una progresiva destrucción articular, discapacidad y disminución de la expectativa de vida. La etiología de la AR es desconocida y su patogenia solo parcialmente conocida al día de hoy. En los últimos años se han estudiado e identificado múltiples factores de riesgo para su desarrollo. Sabemos que intervienen factores genéticos y ambientales y que la interacción de ambos puede ser determinante en el desarrollo de la enfermedad. Entre los factores ambientales el tabaco ha sido ampliamente estudiado y actualmente se lo reconoce como un importante factor de riesgo de AR¹.

Artritis reumatoide y factores de riesgo genéticos

Desde hace más de 30 años que se sabe que existe un factor de susceptibilidad genética en la AR² que contribuye en un 50-60% al desarrollo de la enfermedad³. En varios estudios se ha observado la presencia de una concordancia de la enfermedad en familiares de primer grado de entre 2 y 4% y en gemelos monozigotos de entre el 12 y 15%^{3,4}. Así, aquellas personas con un familiar de primer grado con AR pueden tener de 2 a 10 veces más riesgo de desarrollar la enfermedad que la población general⁵. Inicialmente se comprobó una asociación de la AR con el HLAB1*04 y algunos de sus alelos (*0401, *0404, *0405 o *0408) y posteriormente con otros alelos HLAB1 como *0101, *0102 o *010. Hoy en día se sabe que todos estos alelos codifican para una misma secuencia de aminoácidos de la tercera región hipervariable de la cadena beta de la molécula HLA, una región que es fundamental en el proceso de reconocimiento antigénico y conocida como epitopo reumatoide (ER) o epitopo compartido (EC). La presencia de estos alelos no solo incrementa el riesgo de padecer AR, especialmente seropositiva (Factor

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: vruizesquide@yahoo.com (V. Ruiz-Esquide).

reumatoide (FR) y/o anticuerpos frente a proteínas/péptidos citrulinados (ACPA) positivos) sino que en numerosos estudios su presencia se ha asociado con interacciones con factores medioambientales como el tabaco⁶⁻¹⁰, así como también a un peor pronóstico, con un mayor grado de destrucción articular y presencia de manifestaciones extra-articulares¹¹⁻¹³. Este peor pronóstico es especialmente evidente cuando el ER se incluye dentro de los alelos HLA-DRB1*04, especialmente con el alelo *0401. Pero el HLA-DRB1 explica aproximadamente un tercio del componente genético de la AR^{14,15}, por lo que ha sido y es intensa la búsqueda de otros genes no-HLA asociados a la AR. En estudios de asociación de genes candidato se han identificado muchos otros polimorfismos genéticos que también contribuyen al desarrollo de la AR aunque en menor medida que el ER. Entre ellos destaca como segundo mayor gen de susceptibilidad para el desarrollo de AR el PTPN22 (variante funcional de la proteína intracelular de la tirosina fosfatasa N22), que duplica el riesgo de AR seropositiva en heterocigotas y lo cuadruplica en homocigotas^{16,17}. Otros genes de susceptibilidad de AR en poblaciones de ascendencia europea son el STAT4^{18,19}, un factor de transcripción clave en la regulación de la respuesta inmune que interviene en la señalización de vías que promueven la diferenciación de linfocitos T CD4 a Th1 y Th17, los cuales están involucrados en la patogenia de la AR y el TRAF1/C5^{20,21}. La reciente disponibilidad de estudios de genoma completo (GWASs) ha permitido conocer numerosos locus de susceptibilidad para AR, más de 20, cuya contribución a la variación genética, en conjunto sería aproximadamente del 5%²⁰.

Artritis reumatoide y factores de riesgo no genéticos

Como hemos dicho, los factores genéticos justifican aproximadamente el 50% del riesgo de AR, dejando el resto a otros factores. Se han estudiado diversos factores ambientales, aunque la evidencia científica sobre su exacta implicación no es concluyente en muchos casos. A continuación revisaremos de forma sucinta los factores ambientales más destacados.

Hormonal. La mayor prevalencia de AR en mujeres, especialmente durante los años fértiles y la frecuente mejoría de la enfermedad durante el embarazo²² obligan a considerar el posible papel hormonal en la susceptibilidad a la enfermedad. Existe una notable controversia en cuanto a si los contraceptivos orales disminuyen el riesgo de desarrollar AR, mientras algunos estudios encuentran una asociación clara²³⁻²⁵, otros²⁶⁻³⁰, incluido un metanálisis³¹ no demuestran una menor incidencia de AR en las mujeres tratadas con anticonceptivos orales. Uno de estos estudios observa, sin embargo, que una menarquia temprana o una lactancia prolongada (más de 12 meses en total) disminuyen el riesgo de AR²⁹; aunque con respecto a este último punto también existe controversia ya que algunos estudios han observado el efecto contrario²⁴. Un estudio publicado recientemente indicaría que una menopausia precoz favorecería el riesgo de AR³². Por otro lado, en hombres con AR, se han observado niveles de hormonas sexuales masculinas, especialmente testosterona, disminuidos; mientras que no se han observado diferencias en los niveles de hormonas sexuales en mujeres con AR y controles sanos³³.

Factores socioeconómicos. El estatus socioeconómico influye en el curso de la enfermedad, pero también podría determinar un aumento en el riesgo de desarrollo de la misma³⁴. Se ha observado una asociación inversa entre el nivel de educación formal y el nivel socioeconómico definido por la actividad laboral y el riesgo de desarrollar AR^{35,36}.

Factores dietéticos. Se ha sugerido que la dieta mediterránea, rica en pescado, aceite de oliva, verduras cocidas y fruta ha mostrado tener un papel protector frente a la AR lo que podría deberse al alto contenido de ácidos grasos omega 3 de estos alimentos^{37,38}.

El consumo de carnes rojas no tendría ningún efecto sobre el riesgo de desarrollo de AR³⁹.

Vitamina D. La vitamina D ha sido ampliamente estudiada en su implicación en diferentes enfermedades autoinmunes. Su rol en relación al riesgo de desarrollo de AR es «equivoco»^{40,41}, aunque parece existir una asociación inversa entre el consumo de vitamina D y el desarrollo de AR⁴², y entre los niveles séricos de vitamina D y la evolución de la enfermedad, observándose mayor actividad de la enfermedad y mayor discapacidad a menores niveles de vitamina D⁴³⁻⁴⁵.

Alcohol. Según un estudio danés recientemente publicado el consumo de alcohol tendría un efecto protector de la AR, siendo el mismo dosis dependiente²⁷, observándose que la magnitud en la reducción del riesgo sería mayor en los pacientes fumadores y portadores del EC⁴⁶.

Café. Múltiples estudios han analizado el efecto del consumo de café sobre la AR pero los resultados son discordantes⁴⁷⁻⁴⁹, podría existir un aumento del riesgo de AR en relación al consumo de altas dosis de café (más de 10 tazas al día)²⁷.

Infecciones. Varios agentes infecciosos han sido estudiados e implicados en el desarrollo de la AR basándose en una mayor frecuencia de serologías virales positivas o su presencia en líquido sinovial de pacientes con AR, sin embargo, su papel como agente desencadenante de la enfermedad es aún controvertido. Posiblemente estos agentes puedan tener alguna implicación en el desarrollo de la enfermedad en un contexto de predisposición genética y no de forma aislada sino interactuando conjuntamente con otros factores de riesgo. Cabe destacar el gran interés que en los últimos años ha despertado la *Porphyromonas gingivalis* como posible estímulo para el desarrollo de la AR. La *P. gingivalis* es el agente causal principal de la periodontitis, enfermedad que es más frecuente, aproximadamente el doble, en sujetos con AR que en la población sana⁵⁰. Es la única bacteria conocida que expresa la enzima peptidilarginina-deiminasa (PAD), responsable del proceso de citrulinación de proteínas⁵¹, y produce una inflamación crónica (caracterizada por la presencia de citoquinas proinflamatorias y TNF) y erosiva, con destrucción del hueso periodontal⁵². Al igual que la AR, la enfermedad periodontal se ha asociado a los alelos HLA-DRB04⁵³.

Sílice. La exposición a cristales de sílice es un factor de riesgo de AR bien definido. El sílice está presente en la industria minera, de construcción, cerámicas, vidrio, agricultura y asimismo sectores como la electrónica; y se ha señalado que duplica el riesgo de AR en un análisis ajustado por exposición al tabaco⁵⁴.

Tabaco. El tabaco es el factor de riesgo ambiental para el desarrollo de la AR más ampliamente estudiado y reconocido. Hace ya más de 20 años que Vassey et al.³⁰ sugirieron por primera vez su implicación en la AR al observar inesperadamente dicho efecto en su estudio sobre el efecto de los anticonceptivos orales en la AR. Desde entonces este efecto del tabaco ha sido reproducido y confirmado en múltiples estudios de casos y controles y cohortes^{1,55-58}. Dichos estudios analizaron el efecto del tabaco sobre la AR como factor de riesgo para su desarrollo y su fuerte interacción con factores genéticos y los ACPA, así como también su efecto en la evolución clínica, radiológica y respuesta a tratamientos modificadores de la enfermedad han determinado un mejor conocimiento de la enfermedad. A continuación se comenta en detalle el efecto del tabaco en los diferentes aspectos de la AR.

Artritis reumatoide y tabaco

Tabaco e inmunidad

El consumo de tabaco afecta a múltiples órganos, como el sistema respiratorio y cardiovascular, pero también afecta al sistema

Tabla 1
Estudios epidemiológicos sobre riesgo de artritis reumatoide y tabaquismo

Autores/año	Tipo estudio	Pacientes (casos/controles o cohorte)	Población Sexo	Fumadores	RR/OR Fumadores activos	Exfumadores
Vessey et al. ³⁰ , 1987	Cohortes	78/600	Mujeres	1,50 (0,93-2,44)	1,66 (1,00-2,78)	1,15 (0,54 -2,43)
Hernández-Ávila et al. ⁵⁶ , 1990	Cohortes	217/121.700	Mujeres		1,3 (0,9 -2,1)	1,5 (0,9-2,3)
Heliovaara et al. ¹ , 1993	Cohortes	161/28.364	Hombres	2,04 (1,10-3,79)	1,60 (0,70-3,80)	1,40 (0,50-3,80)
			FR+	3,86 (2,71-5,49)	4,31 (2,87-6,50)	2,80 (1,40-5,60)
			FR-	0,81 (0,49-1,34)	0,66 (0,34-1,27)	1,10 (0,50-2,40)
		351/24.445	Mujeres	1,06 (0,84-1,35)	1,10 (0,84-1,44)	0,92 (0,53-1,58)
			FR+	1,04 (0,78-1,40)	1,10 (0,80-1,52)	0,80 (0,40-1,70)
			FR-	1,10 (0,73-1,66)	1,10 (0,70-1,80)	1,10 (0,50-2,60)
Criswell et al. ⁷³ , 2002	Cohortes	154/31.336	Mujeres	1,70 (1,02-2,85)	2,20 (1,4-2,00)	1,30 (0,80-3,30)
			> 20 p/año	1,99 (1,41-2,81)	-	-
			< 20 p/año	1,10 (0,60-1,80)	-	-
Padyukov et al. ¹⁰ , 2004	Casos-controles	858/1.48	Ambos		1,50 (1,20-2,00)	
			Fr+		2,20 (1,70-3,00)	
			FR-		0,80 (0,60-2,20)	
		246/312	Hombres		1,70 (1,00-2,90)	
			FR+		3,30 (1,70-2,90)	
			FR-		0,60 (0,30-1,30)	
		612/736	Mujeres		1,50 (1,10-2,00)	
			FR+		2,20 (1,60-3,00)	
			FR-		0,80 (0,60-1,30)	
Heliovaara et al. ⁴⁹ , 2000	Cohortes	7.697/377.481	FR+	1,85 (1,14-2,709)	1,93 (1,14-3,28)	1,76 (0,92-3,38)
Costenbader et al. ⁷⁴ , 2006	Cohortes	680/103.818	Mujeres	1,46 (1,24-1,71)	1,43 (1,16-1,75)	1,47 (1,24-1,71)
			FR+	1,59 (1,29-1,97)	1,58 (1,21-2,06)	1,60 (1,27-2,02)
			FR-	1,28 (1,00-1,65)	1,23 (0,88-1,70)	1,31 (1,00-1,73)
			> 20 p/año	1,72 (1,41-2,11)	-	-
			< 20 p/año	1,19 (0,95-1,50)	-	-
Stolt et al. ⁷⁵ , 2003	Casos-controles	190/245	Hombre	1,40 (0,80-2,30)	1,30 (0,71-2,40)	1,40 (0,80-2,50)
			FR+	1,90 (1,00-3,50)	1,80 (0,80-4,10)	1,90 (0,90-3,80)
			FR-	0,80 (0,40-1,60)	0,70 (0,30-1,60)	0,90 (0,40-1,90)
		489/602	Mujeres	1,30 (1,00-1,70)	1,40 (1,00-2,00)	1,20 (0,90-1,70)
			FR+	1,70 (1,20-2,30)	1,80 (1,30-2,60)	1,60 (1,10-2,30)
			FR-	0,80 (0,60-1,20)	0,90 (0,50-1,40)	0,80 (0,50-1,30)
Karlson et al. ⁵⁸ , 1999	Cohortes		Mujeres	1,13 (1,08-1,18)	1,18 (1,07-1,31)	1,06 (0,96-1,13)
Pedersen et al. ²⁷ , 2006	Casos-Controles	515/769	Global	1,70 (1,38-2,10)	1,80 (1,37-2,36)	1,57 (1,13-2,19)
			CCP+	1,66 (1,23-2,24)	1,73 (1,17-2,56)	1,57 (0,99-2,48)
			CCP-	1,04 (0,65-1,68)	0,83 (0,49-1,39)	1,35 (0,76-2,39)
		149/291	Hombres	1,75 (1,15-2,65)	1,89 (1,09-3,30)	1,58 (0,84-2,97)
			> 20 p/año	2,00 (1,12-3,58)	-	-
			< 20 p/año	1,63 (0,99-2,70)	-	-
		366/478	Mujeres	1,79 (1,38-2,97)	1,84 (1,33-2,54)	1,69 (1,12-2,55)
			>20 p/año	2,07 (1,35-3,16)	-	-
			< 20 p/año	1,68 (1,27-2,26)	-	-
Voigt et al. ⁷⁶ , 1994 (76)	Casos-controles	349/1.457	Mujeres	1,31 (1,07-1,60)	1,33 (1,00-1,77)	1,28 (0,96-1,71)
			> 20 p/año	1,16 (0,90-1,50)	-	-
			< 20 p/año	1,49 (1,06-2,10)	-	-
Olsson et al. ⁷⁸ , 2004		74/382	Hombres	2,54 (1,55-4,16)	2,90 (1,40-6,40)	2,30 (1,20-4,40)
			FR+	4,60 (2,20-9,60)	5,80 (1,90-17,10)	3,80(1,40 -10,20)
			> 20 p/año	2,50 (1,20-5,10)	-	-
			< 20 p/año	2,20 (1,15-4,22)	-	-
		159/368	Mujeres	1,52 (1,09-2,12)	1,80 (1,10-2,90)	1,30 (0,80-2,90)
			FR+	1,56 (1,03-2,36)	1,8 (1,00-3,50)	1,40 (0,80-2,40)
			> 20 p/año	1,33 (0,86-2,04)	-	-
			< 20 p/año	1,60 (0,90-3,10)	-	-

Modificado de Sugiyama et al.⁷⁹.

inmune produciendo una respuesta inflamatoria. Se ha observado que el tabaco afecta la respuesta inmune tanto celular como humoral y podría tener tanto efectos pro-inflamatorios como inmunosupresores a través de mecanismos diversos⁵⁹. Por un lado se ha descrito que puede incrementar la respuesta inflamatoria, observándose en fumadores un aumento del fibrinógeno sérico, de la actividad de células B autorreactivas y un aumento de los reactantes de fase aguda y citoquinas pro-inflamatorias como el TNF-alfa, IL6, así como también de los de polimorfonucleares circulantes. No obstante también de conocen efectos inmunosupresores como una reducción de inmunoglobulinas circulantes, e inhibición de citoquinas como IL-1B, IL-2 y gamma-interferón o de la liberación de IL-8 por células endoteliales. También tendría efectos sobre las células dendríticas y la capacidad de presentación de antígenos y

una inhibición de la función macrofágica frente a microorganismos intracelulares⁶⁰.

Se ha observado que el consumo de tabaco modula la proliferación y muerte celular de los linfocitos, esto induce nuevos epitopos ya sea de forma directa a través de la oxidación de epitopos ya existentes o indirectamente interfiriendo en la eliminación de células apoptóticas con la consiguiente exposición de antígenos intracelulares secuestrados del sistema inmune y estimulando la población de células presentadores de antígenos presentes en los pulmones, amplificando así la capacidad presentadora de nuevos antígenos⁶¹, lo que facilitaría el desarrollo de fenómenos de autoinmunidad. Por otro lado el humo del tabaco contiene altísimas concentraciones de radicales libres y puede además aumentar la generación y activación de radicales libres endógenos. Estas

toxinas interactúan con el ADN y podrían causar mutación o activación genética que en último término puede desencadenar fenómenos autoinmunes y enfermedades autoinmunes⁶². Así, el consumo de tabaco se ha relacionado de forma causal con el desarrollo y expresión de múltiples enfermedades autoinmunes incluyendo la artritis reumatoide^{30,56}, el lupus eritematoso sistémico^{63,64}, la esclerosis múltiple^{65,66}, la enfermedad de Graves^{67,68} y la cirrosis biliar primaria⁶⁹ entre otras.

Tabaco y riesgo de artritis reumatoide

Como hemos mencionado previamente tras la primera descripción de la asociación del tabaco con la AR en 1987³⁰, a continuación en los años 90 se publicaron dos grandes estudios prospectivos, el primero de ellos⁵⁶, un estudio de cohortes de 121.700 enfermeras en el que se observó que presentaban un ligero mayor riesgo de desarrollar AR en relación a los no fumadores con un RR para las fumadoras activas de 1,3 (IC 95% 0,9-2,1) y RR para las ex-fumadoras de 1,5 (IC 95% 0,9-2,3) y el segundo¹, un estudio en más de 50.000 sujetos que observó un aumento del riesgo de desarrollar AR seropositiva (FR positivo) en fumadores activos (RR 3,8 IC 95% 2,0-6,9) y ex fumadores (RR 2,6 IC 95% 1,3-5,3) en comparación con no fumadores. Muchos otros estudios confirmaron esta asociación entre el tabaco y la AR^{10,57,70-72} y en varios de ellos se observó que el exceso de riesgo persistía al dejar de fumar durante 10 o incluso hasta 20 años^{27,49,73-78} y que posiblemente pesaban más los años de consumo de tabaco que la cantidad diaria de cigarrillos fumados en relación al riesgo de AR⁵⁸, aunque los mismos también presentaban un efecto de dosis, a mayor número de cigarrillos día y paquetes/año fumados mayor riesgo de AR^{27,74}. En la *tabla 1* se resumen los estudios epidemiológicos sobre tabaquismo y riesgo de AR (modificado de Sugiyama et al.⁷⁹).

Aproximadamente un tercio de los pacientes con AR ACPA positivos podrían atribuirse al consumo de tabaco. Según un estudio reciente el tabaquismo sería responsable del 35% de las AR ACPA positivo (IC95%: 25%-45%), siendo este efecto mayor en hombres que en mujeres (42% y 31% respectivamente) y mucho mayor aún en presencia de dos copias del epitopo reumatoide (55% IC95%: 3%-67%)⁸⁰. Este efecto sería comparable en intensidad al que tiene el tabaquismo en la cardiopatía isquémica.

Tabaco, anticuerpos frente a proteínas/péptidos citrulinados/factor reumatoide y HLA-DRB1

Recientemente se ha señalado que el consumo de tabaco está selectivamente asociado a un aumento de riesgo de AR seropositiva (FR y/o ACPA positivos). Estudios independientes han demostrado que el tabaquismo aumenta el riesgo de desarrollar AR seropositiva pero no seronegativa, tanto en poblaciones caucásicas (norte de Europa)^{27,75,81-86} como latinoamericanas⁹. Sin embargo en un estudio que analizó una población afro-americana con AR no se pudo demostrar esta asociación⁸⁷, asimismo solamente en una de tres extensas cohortes norteamericanas se observó esta asociación y exclusivamente en grandes fumadores⁸⁸.

Los primeros estudios que analizaron la relación entre el tabaco y la AR observaron la existencia de una mayor frecuencia de FR positivo y títulos de FR más elevados en los pacientes fumadores frente a aquellos no fumadores^{82,75,89}. Más tarde estudios siguientes confirmaron también una mayor frecuencia de ACPA en pacientes con AR fumadores^{90,91}. Es conocida la existencia de una elevada concordancia entre la presencia de ACPAs y FR, sin embargo algunos autores al analizar ambos anticuerpos en pacientes fumadores con AR y observan relación con los ACPA pero no con el FR⁹². En otro estudio donde se realizó un subanálisis evaluando aquellos pacientes discordantes para ACPA y FR se encontraron similares proporciones de pacientes fumadores en ambos grupos

(ACPA+/FR- vs. ACPA-/FR+)⁹⁰, sugiriendo esto una asociación del tabaco con ambos autoanticuerpos.

El aumento de riesgo de AR seropositiva en fumadores está asociado a la presencia del epitopo reumatoide (HLA-DRB1), observándose que existe una importante interacción genético-ambiental, entre los alelos del ER y el tabaco. Esta circunstancia se observa claramente en una cohorte sueca de AR¹⁰ donde se analiza la interacción entre el ER y el tabaquismo. Los autores observaron que mientras en aquellos pacientes con una copia y dos copias del ER el riesgo relativo de desarrollar AR seropositiva era de 2,4 (IC 95%: 1,4-4,2) y 4,2 (IC 95%: 2,1-8,3) respectivamente, en relación a aquellos sin ER; en los fumadores este riesgo aumentaba a 5,5 (IC 95%: 3,0-10,0) en presencia de una copia del ER y a 15,7 (IC 95%: 7,2-34,2) en presencia de dos copias del ER. Ni el tabaco ni el ER ni la combinación de ambos factores se asociaron a un mayor riesgo de AR seronegativa. Estudios posteriores obtuvieron similares resultados^{8,92-95} (*tabla 2*).

Se postula que la exposición al tabaco y la reacción inflamatoria local y necrosis celular por él producida, favorece una citrulinación de proteínas a nivel pulmonar ofreciendo así un sustrato para la activación de una respuesta inmune. Siguiendo esta hipótesis se ha estudiado la presencia de péptidos y proteínas citrulinadas en el lavado bronquioalveolar (BAL) de fumadores observando que en éstos existe un significativo aumento de las mismas en relación a no fumadores⁹⁰. Siguiendo la misma línea, en otro estudio se ha observado un aumento de la expresión de PAD en las células bronquioalveolares de individuos fumadores⁹⁶. En presencia de factores genéticos de susceptibilidad la citrulinación de proteínas a nivel pulmonar podría facilitar el desarrollo de una respuesta autoinmune local con producción de anticuerpos anti-citrulina. En un segundo tiempo, en presencia de un proceso inflamatorio articular y por tanto de citrulinación de proteínas y péptidos⁹⁷, se forman inmunocomplejos con los anticuerpos anti-citrulina circulantes, que desencadenan finalmente una respuesta inmune con liberación de mediadores de inflamación (TNF, ILs)⁹⁸.

Se sabe que los anticuerpos anti-péptidos citrulinados (ACPA) pueden detectarse en suero años antes del inicio de las manifestaciones clínicas de la AR^{99,100}. De acuerdo a la hipótesis antes mencionada, la prevalencia de ACPA en fumadores podría ser más elevada que en la población general, aunque esta circunstancia ha sido escasamente estudiada. Nuestro grupo observó una frecuencia similar de ACPA en el suero de grandes fumadores sin AR y una población control (1,8% vs. 1,9%), aunque en aquellos con EPOC la frecuencia era algo superior (3,7%)¹⁰¹, resultados que coinciden con los observados por el grupo de Wood et al.¹⁰².

Tabaco y curso clínico de la enfermedad

El tabaco no solamente aumenta el riesgo de AR seropositiva sino que también podría tener influencia sobre el fenotipo o expresión clínica de la enfermedad.

Los pacientes con AR que fuman presentan un debut más temprano de su enfermedad^{83,85,86,103-105}. La mayoría de estudios coinciden que el resto de las características basales como duración y actividad de la enfermedad o discapacidad, son comparables a las de los pacientes no fumadores¹⁰⁴⁻¹⁰⁶, aunque algunos observan una mayor actividad basal de la enfermedad en fumadores^{83,84}. El impacto del tabaco en el curso clínico de la enfermedad no está claro ya que mientras algunos estudios informan que los fumadores presentan una peor evolución con mayor discapacidad y actividad de la enfermedad^{83,85,86,107}, otros evidencian una evolución similar de la enfermedad en fumadores y no fumadores^{84,103,105}. Por otro lado algunos estudios señalan una mayor frecuencia de manifestaciones extra-articulares en los pacientes con AR fumadores frente a los no fumadores¹⁰⁸,

Tabla 2
Estudios sobre el riesgo relativo de desarrollar AR, en relación con el tabaquismo y el genotipo HLA-DRB (epítipo reumatoide)

Autor	Población	Tamaño de la muestra	Resultado
Padyukov et al. ¹⁰ , 2004	Suecia	858/1.048 Casos-control	FR+/ET-/ER-/ RR: 1 FR+/ET+/ER-/ RR: 2,4 (1,3-4,6) FR+/ET-/ER-/ RR: 2,4 (1,4-4,2) FR+/ET+/ER-/ RR: 5,5 (3,0-10,0) FR+/ET-/ER+/ RR: 4,2 (2,1-8,3) FR+/ET+/ER+/ RR: 15,7 (7,2-34,2) FR-/ET-/ER-/ RR: 1 FR-/ET+/ER-/ RR: 0,6 (0,6-1,1) FR-/ET-/ER-/ RR: 0,9 (0,6-1,5) FR-/ET+/ER-/ RR: 0,9 (0,5-1,7) FR-/ET-/ER+/ RR: 0,7 (0,4-1,6) FR-/ET+/ER+/ RR: 1,2 (0,5-3,0) Anti-CCP+/ET-/ER-/ RR: 1 Anti-CCP+/ET+/ER-/ RR: 1,3 (0,7-2,2) Anti-CCP+/ET-/ER-/ RR: 2,7 (1,6-4,7) Anti-CCP+/ET+/ER-/ RR: 5,4 (3,3-8,9) Anti-CCP+/ET-/ER+/ RR: 5,1 (2,7-9,8) Anti-CCP+/ET+/ER+/ RR: 23,6 (12,8-43,8) Anti-CCP-/ET-/ER-/ RR: 1 Anti-CCP-/ET+/ER-/ RR: 0,7 (0,5-1,1) Anti-CCP-/ET-/ER-/ RR: 1,0 (0,6-1,5) Anti-CCP-/ET+/ER-/ RR: 1,0 (0,7-1,5) Anti-CCP-/ET-/ER+/ RR: 0,9 (0,5-1,8) Anti-CCP-/ET+/ER+/ RR: 1,1 (0,6-2,2)
Kallberg et al. ⁸ , 2007 EIRA study	Suecia	1.970/2.405 Casos-control	ET-/ER-/ RR: 1 ET+/ER-/ RR: 1,74 (0,76-3,98) ET-/ER-/ RR: 3,31 (1,58-6,96) ET+/ER-/ RR: 5,07 (2,48-10,4) ET-/ER+/ RR: 17,4 (7,22-41,8) ET+/ER+/ RR: 57,4 (22,0-150) ER-/Anti-CCP-/ET- RR: 1 ER-/Anti-CCP-/ET+ RR: 1 (0,5-2,2) ER-/Anti-CCP+/ET- RR: 7,5 (2,1-28,5) ER-/Anti-CCP+/ET+ RR: 9,4 (2,4-39,8) ER+/Anti-CCP-/ET- RR: 1 ER+/Anti-CCP-/ET+ RR: 0,5 (0,2-1,2) ER+/Anti-CCP+/ET- RR: 3,3 (1,3-8,3) ER+/Anti-CCP+/ET+ RR: 8,0 (3,1-21,1)
Pedersen et al. ⁸⁹ , 2007	Dinamarca	309/445 Casos-control	ET-/ER-/ RR: 1 ET+/ER-/ RR: 1,74 (0,76-3,98) ET-/ER-/ RR: 3,31 (1,58-6,96) ET+/ER-/ RR: 5,07 (2,48-10,4) ET-/ER+/ RR: 17,4 (7,22-41,8) ET+/ER+/ RR: 57,4 (22,0-150) ER-/Anti-CCP-/ET- RR: 1 ER-/Anti-CCP-/ET+ RR: 1 (0,5-2,2) ER-/Anti-CCP+/ET- RR: 7,5 (2,1-28,5) ER-/Anti-CCP+/ET+ RR: 9,4 (2,4-39,8) ER+/Anti-CCP-/ET- RR: 1 ER+/Anti-CCP-/ET+ RR: 0,5 (0,2-1,2) ER+/Anti-CCP+/ET- RR: 3,3 (1,3-8,3) ER+/Anti-CCP+/ET+ RR: 8,0 (3,1-21,1)
Van der Helm- Van Mil et al. ⁹⁰ , 2007	Holanda	142/279 AR vs. artritis indiferenciada	ER-/Anti-CCP-/ET- RR: 1 ER-/Anti-CCP-/ET+ RR: 1 (0,5-2,2) ER-/Anti-CCP+/ET- RR: 7,5 (2,1-28,5) ER-/Anti-CCP+/ET+ RR: 9,4 (2,4-39,8) ER+/Anti-CCP-/ET- RR: 1 ER+/Anti-CCP-/ET+ RR: 0,5 (0,2-1,2) ER+/Anti-CCP+/ET- RR: 3,3 (1,3-8,3) ER+/Anti-CCP+/ET+ RR: 8,0 (3,1-21,1)

RR: riesgo relativo; FR: factor reumatoide; ET: exposición al tabaco; ER: epítipo reumatoide.

principalmente mayor frecuencia de nódulos reumatoides^{82,83,87,103} y afectación pulmonar^{109,110}.

En los últimos años varios estudios han analizado de forma específica si el tabaquismo es un factor de peor respuesta al tratamiento antirreumático, con FAMEs o antagonistas del TNF. Un estudio demuestra que los pacientes fumadores utilizan mayor número de FAMEs y a mayor dosis que los no fumadores⁸⁵, mientras que otros dos estudios confirmarían que el tabaquismo es un factor de peor respuesta al tratamiento con metotrexato en monoterapia^{86,111}. Esta circunstancia se corroboraría con los datos recientemente publicados de un registro sueco que evaluó la influencia del tabaco en la respuesta a metotrexato en una cohorte de AR de inicio; los autores observaron que tras tres meses de tratamiento, se logró una buena respuesta EULAR de forma significativamente superior en los no fumadores que en los fumadores activos (36% frente a 27%), presentando los pacientes fumadores una tendencia a una menor probabilidad de remisión¹¹². Este estudio también analizó la respuesta al tratamiento anti-TNF como primer biológico tras fallo a FAME en fumadores y no fumadores; observó que los fumadores activos tenían menos probabilidad de alcanzar una buena respuesta EULAR a los 3 meses, lográndolo solamente el 29% de los fumadores activos frente al 43% de los no fumadores. Al analizar la probabilidad de remisión en ambos grupos se observó que los

fumadores activos tenían una tendencia a una menor probabilidad de alcanzar este objetivo a los 3 meses, siendo esta significativa a los 6 meses OR 0,54 (95% IC: 0,30-0,99). Varios otros estudios han analizado la respuesta al tratamiento anti-TNF en relación al consumo de tabaco observando resultados similares, confirmando una menor respuesta a los tratamientos anti-TNF en los pacientes fumadores¹¹²⁻¹¹⁵ (tabla 3). Por otro lado, un subanálisis del estudio BeSt identificó varios factores de riesgo de reactivación de la artritis en los pacientes en los que se pudo suspender el infliximab tras alcanzar un buen control de la enfermedad, entre ellos destaca el tener el ER pero también el tabaquismo¹¹⁶.

El consumo de tabaco aumentaría la tasa metabólica basal y podría asociarse a una refractariedad al tratamiento anti-reumático por interacciones farmacocinéticas o farmacodinámicas; por ejemplo se ha demostrado que los pacientes fumadores tienen niveles menores de poliglutamatos de metotrexato, la forma activa del fármaco, que se correlaciona con la respuesta clínica¹¹⁷. En cuanto a la respuesta a los anti-TNF no se han reportado diferencias en la farmacocinética o farmacodinamia del mismo por el consumo de tabaco, aunque si se ha observado la presencia de un aumento de la producción de TNF alfa por las células T circulantes en los pacientes fumadores con AR que podría justificar una menor respuesta al tratamiento¹¹⁸.

Tabla 3
Efecto del tabaco en la respuesta a tratamiento de fondo

Autor/grupo de investigadores	Diseño del estudio	Población	Tamaño de la muestra	Respuesta a tratamiento	Resultados
Söderlin et al. ⁸⁵ , 2011 Data from BARFOT Study	Retrospectivo	Suecia	1.787	FAME	Buena respuesta EULAR tras inicio de tratamiento: A los 3 meses: fumadores activos 25% vs. no fumadores 33% (p = 0,011) A los 6 meses: fumadores activos 26% vs. no fumadores 33% (p = 0,018) A los 12 meses: fumadores activos 30% vs. no fumadores 37% (p = 0,013)
Hyrch et al. ¹¹⁰ , 2006	Retrospectivo	Reino Unido	2.879	Anti-TNF	Pacientes tratados con infliximab: asociación significativa entre ser fumador activo y menor respuesta al tratamiento a los 6 meses OR 0.77 (IC del 95%, 0,60-0,99) Pacientes tratados con etanercept: no diferencias en respuesta EULAR a los 6 meses entre fumadores y no fumadores. 1,06 (IC del 95%, 0,80-1,41)
Mattey et al. ¹¹¹ , 2009	Prospectivo	Reino Unido	154	Anti-TNF	A los 3 meses de tratamiento una reducción del DAS28 en fumadores de 2.07 puntos (29.8%) vs. no fumadores de 2,64 puntos (38,3%) (p = 0,008)
Abhishek et al. ¹¹² , 2010	Retrospectivo Casos-controles	Reino Unido	395	Anti-TNF	A los 3 meses de tratamiento presentaron una respuesta EULAR buena o moderada el 17,2% de los fumadores activos vs. el 36,4% de los no fumadores (p = 0,02)
Saevarsdottir et al. ¹⁰⁹ , 2011 Data from EIRA Cohort	Retrospectivo	Suecia	535	Anti-TNF	Buena respuesta EULAR a los 3 meses el 29% fumadores activos vs. 43% no fumadores (p = 0,03)
			436	Metotrexato	Buena respuesta EULAR a los 3 meses el 27% de los fumadores activos vs. el 36% de los no fumadores (p = 0,05).
Saevarsdottir et al. ¹²¹ , 2011 SWEFOT Trial Investigation Group	Retrospectivo	Suecia	405	Metotrexato	Ser fumador activo fue un predictor de no alcanzar una mayor respuesta EULAR a los 3-4 meses de iniciado el tratamiento. OR 0,35 (IC del 95%, 0,20-0,63)

OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza.

Tabaco y progresión radiológica

El efecto del tabaquismo sobre la progresión radiológica de la AR aún no está bien establecido. Los primeros estudios realizados abordando este aspecto^{81,82,89} fueron una serie de estudios transversales realizados en cohortes de AR de larga evolución (media de 13 años aproximadamente) y observaron una significativa mayor progresión radiológica en pacientes fumadores. Estudios posteriores tanto prospectivos como transversales muestran resultados discordantes. En el estudio de Mattey et al.¹¹⁹ donde se analiza el efecto del tabaco en una cohorte de 164 pacientes con AR con seguimiento a 5 años, observaron un daño radiológico evaluado por el índice de Larsen, significativamente más elevado en los pacientes fumadores comparado con los no fumadores ($83,1 \pm 47,2$ y $104,7 \pm 49,9$ respectivamente), así como mayor nivel de discapacidad medida por el HAQ ($1,39 \pm 0,8$ vs. $1,77 \pm 0,8$ respectivamente). Un estudio griego⁸⁴ en una cohorte de 287 pacientes con AR de inicio, obtuvo resultados similares, con mayor progresión radiológica en los fumadores activos y exfumadores que en los no fumadores después de al menos dos años de seguimiento. Sin embargo otros estudios prospectivos realizados en grandes cohortes de AR de inicio no corroborarían estos resultados y la progresión radiológica de la enfermedad no se vería influenciada por el hábito tabáquico^{83,85,87,103,104,120}. Así por ejemplo en un estudio multicéntrico en 379 pacientes con AR de inicio¹²⁰ se analizaron los predictores de progresión radiológica y en el análisis univariante observaron que los mayores determinantes de progresión radiológica fueron el score de Larsen basal y los marcadores serológicos

anti-CCP y FR y en menor medida la VSG, PCR, la edad, el sexo masculino y también el ser fumador (OR 1,6, IC 95%: 1,0-2,5); no obstante en el análisis multivariante, el tabaquismo no fue un factor de riesgo independiente y solo lo fueron el daño radiológico basal, los anti-CCP y la VSG. De forma similar Westhoff et al.⁸⁵ en su cohorte de 894 pacientes con AR de inicio si bien observaron una débil asociación entre el tabaquismo y la progresión radiológica, esta no se mantuvo en el análisis multivariante.

Sin embargo, en la mayoría de estos estudios los pacientes no habían sido tratados de forma homogénea, o no se analizaron factores pronósticos marcadores de progresión radiológica como el genotipo HLA-DRB o la presencia de ACPAs. Recientemente, nuestro grupo analizó en una cohorte de 156 pacientes con AR de inicio seguidos durante dos años y tratados con FAMES de manera homogénea y protocolizada, si el tabaquismo era un factor predictivo de mayor progresión radiológica¹⁰⁵; se analizaron también múltiples variables pronósticas incluyendo variable clínicas, autoanticuerpos y genotipo HLADRB. El análisis multivariante confirmó que el tabaquismo activo (en comparación con la ausencia de dicho hábito) era un factor independiente de mayor progresión radiológica evaluada con el índice de Larsen con una OR de 4,3. Otros factores de progresión fueron el sexo femenino, la existencia de alelos HLA-DRB04 y el daño radiológico basal.

Conclusiones

Se han estudiado múltiples factores ambientales de predisposición a la AR, aunque no cabe duda que el tabaco se constituye

como el factor más ampliamente estudiado y del que existen mayores evidencias científicas sobre su implicación en esta enfermedad. El tabaquismo podría justificar hasta un tercio de los casos de AR seropositivos, ya que el incremento de riesgo asociado al tabaco, parece confinarse básicamente a las AR con autoanticuerpos positivos (FR y/o ACPAs). El efecto del tabaco sobre la actividad de la enfermedad y su curso clínico es controvertido, así como sobre la progresión de la destrucción articular; no obstante algunos estudios apuntan sobre un fenotipo más grave de AR y una mayor progresión radiológica en los pacientes fumadores. Estudios publicados recientemente, incluidas amplias series de pacientes de registros como el sueco o el británico, confirmarían una peor respuesta al tratamiento con FAMES (metotrexato) y/o biológicos (antagonistas del TNF) en los pacientes fumadores.

A pesar de estas nuevas evidencias sobre la implicación del hábito tabáquico en la predisposición y evolución de la AR, quedan todavía cuestiones por resolver, como los mecanismos patogénicos involucrados, los efectos del abandono del hábito tabáquico una vez establecida la enfermedad, la repercusión que podría tener su abandono en la población general en la incidencia futura de la AR o su papel en otras formas de artritis crónicas¹²¹⁻¹²³. Todo ello no cuestiona en absoluto el hecho de que el reumatólogo clínico deba tener una actitud activa para desaconsejar el hábito tabáquico a todos los pacientes con AR. Los nuevos conocimientos adquiridos sobre tabaco y AR y el hecho de que el tabaquismo es un factor de riesgo conocido de aterosclerosis y otras patologías graves, a las que ya están más expuestos los pacientes con AR, lo justifican plenamente.

Bibliografía

1. Heliövaara M, Aho K, Aromaa A, Knekt P, Reunanen A. Smoking and risk of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1993;20:1830-5.
2. Stastny P. Mixed lymphocyte cultures in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest*. 1976;57:1148-57.
3. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, Koskenvuo M, Kaprio J, Aho K, et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum*. 2000;43:30-7.
4. Seldin MF, Amos CI, Ward R, Gregersen PK. The genetics revolution and the assault on rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1999;42:1071-9.
5. John S, Myerscough A, Marlow A, Hajee A, Silman A, Ollier W, et al. Linkage of cytokine genes to rheumatoid arthritis Evidence of genetic heterogeneity. *Ann Rheum Dis*. 1998;57:361-5.
6. Matthey DL, Hutchinson D. Smoking and HLA-DR shared epitope alleles in rheumatoid arthritis: comment on the article by Padyukov et al. *Arthritis Rheum*. 2005;52:3676-8, 3675-6; author reply.
7. Karlson EW, Chang SC, Cui J, Chibnik LB, Fraser PA, De Vivo I, et al. Gene-environment interaction between HLA-DRB1 shared epitope and heavy cigarette smoking in predicting incident rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69:54-60.
8. Kallberg H, Padyukov L, Plenge RM, Ronnelid J, Gregersen PK, Van der Helm-Van Mil AH, et al. Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet*. 2007;80:867-75.
9. Oliveira RD, Junta CM, Oliveira FR, Silva LM, Donadi EA, Louzada-Junior P. Share epitope, citrullinated cyclic peptide antibodies and smoking in Brazilian rheumatoid arthritis patients. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2008;34:32-5.
10. Padyukov L, Silva C, Stolt P, Alfredsson L, Klareskog L. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004;50:3085-92.
11. Sanmartí R, Gomez-Centeno A, Ercilla G, Larrosa M, Vinas O, Vazquez I, et al. Prognostic factors of radiographic progression in early rheumatoid arthritis: a two year prospective study after a structured therapeutic strategy using DMARDs and very low doses of glucocorticoids. *Clin Rheumatol*. 2007;26:1111-8.
12. Hall FC, Weeks DE, Camilleri JP, Williams LA, Amos N, Darke C, et al. Influence of the HLA-DRB1 locus on susceptibility and severity in rheumatoid arthritis. *Qjm*. 1996;89:821-9.
13. Turesson C, Schaid DJ, Weyand CM, Jacobsson LT, Goronzy JJ, Petersson IF, et al. The impact of HLA-DRB1 genes on extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005;7:R1386-93.
14. Cornelis F, Faure S, Martinez M, Prud'homme JF, Fritz P, Dib C, et al. New susceptibility locus for rheumatoid arthritis suggested by a genome-wide linkage study. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95:10746-50.
15. Jawaheer D, Gregersen PK. Rheumatoid arthritis The genetic components. *Rheum Dis Clin North Am*. 2002;28, 1-15, v.
16. Begovich AB, Carlton VE, Honigberg LA, Schrodi SJ, Chokkalingam AP, Alexander HC, et al. A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet*. 2004;75:330-7.
17. Lee AT, Li W, Liew A, Bombardier C, Weisman M, Massarotti EM, et al. The PTPN22 R620W polymorphism associates with RF positive rheumatoid arthritis in a dose-dependent manner but not with HLA-SE status. *Genes Immun*. 2005;6:129-33.
18. Remmers EF, Plenge RM, Lee AT, Graham RR, Hom G, Behrens TW, et al. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2007;357:977-86.
19. Orozco G, Alizadeh BZ, Delgado-Vega AM, Gonzalez-Gay MA, Balsa A, Pascual-Salcedo D, et al. Association of STAT4 with rheumatoid arthritis: a replication study in three European populations. *Arthritis Rheum*. 2008;58:1974-80.
20. Plenge RM. Recent progress in rheumatoid arthritis genetics: one step towards improved patient care. *Curr Opin Rheumatol*. 2009;21:262-71.
21. Kurreeman FA, Padyukov L, Marques RB, Schrodi SJ, Seddighzadeh M, Stoeken-Rijsbergen G, et al. A candidate gene approach identifies the TRAF1/C5 region as a risk factor for rheumatoid arthritis. *PLoS Med*. 2007;4:e278.
22. Nelson JL, Hughes KA, Smith AG, Nisperos BB, Branchaud AM, Hansen JA. Maternal-fetal disparity in HLA class II alloantigens and the pregnancy-induced amelioration of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 1993;329:466-71.
23. Jorgensen C, Picot MC, Bologna C, Sany J. Oral contraception, parity, breast feeding, and severity of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1996;55:94-8.
24. Berglin E, Kokkonen H, Einarsdottir E, Agren A, Rantapaa Dahlqvist S. Influence of female hormonal factors, in relation to autoantibodies and genetic markers, on the development of rheumatoid arthritis in northern Sweden: a case-control study. *Scand J Rheumatol*. 2010;39:454-60.
25. Doran MF, Crowson CS, O'Fallon WM, Gabriel SE. The effect of oral contraceptives and estrogen replacement therapy on the risk of rheumatoid arthritis: a population based study. *J Rheumatol*. 2004;31:207-13.
26. Brennan P, Bankhead C, Silman A, Symmons D. Oral contraceptives and rheumatoid arthritis: results from a primary care-based incident case-control study. *Semin Arthritis Rheum*. 1997;26:817-23.
27. Pedersen M, Jacobsen S, Klarlund M, Pedersen BV, Wiik A, Wohlfahrt J, et al. Environmental risk factors differ between rheumatoid arthritis with and without auto-antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthritis Res Ther*. 2006;8:R133.
28. Karlson EW, Mandl LA, Hankinson SE, Grodstein F. Do breast-feeding and other reproductive factors influence future risk of rheumatoid arthritis? Results from the Nurses' Health Study. *Arthritis Rheum*. 2004;50:3458-67.
29. Pikwer M, Bergstrom U, Nilsson JA, Jacobsson L, Berglund G, Turesson C. Breast feeding, but not use of oral contraceptives, is associated with a reduced risk of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009;68:526-30.
30. Vessey MP, Villard-Mackintosh L, Yeates D. Oral contraceptives, cigarette smoking and other factors in relation to arthritis. *Contraception*. 1987;35:457-64.
31. Pladevall-Vila M, Delclos GL, Varas C, Guyer H, Bruges-Tarradellas J, Anglada-Arisa A. Controversy of oral contraceptives and risk of rheumatoid arthritis: meta-analysis of conflicting studies and review of conflicting meta-analyses with special emphasis on analysis of heterogeneity. *Am J Epidemiol*. 1996;144:1-14.
32. Pikwer M, Bergstrom U, Nilsson JA, Jacobsson L, Turesson C. Early menopause is an independent predictor of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011.
33. Heikkilä R, Aho K, Heliövaara M, Knekt P, Reunanen A, Aromaa A, et al. Serum androgen-anabolic hormones and the risk of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1998;57:281-5.
34. Bengtsson C, Nordmark B, Klareskog L, Lundberg I, Alfredsson L. Socioeconomic status and the risk of developing rheumatoid arthritis: results from the Swedish EIRA study. *Ann Rheum Dis*. 2005;64:1588-94.
35. Pedersen M, Jacobsen S, Klarlund M, Frisch M. Socioeconomic status and risk of rheumatoid arthritis: a Danish case-control study. *J Rheumatol*. 2006;33:1069-74.
36. Bergstrom U, Jacobsson LT, Nilsson JA, Berglund G, Turesson C. Pulmonary dysfunction, smoking, socioeconomic status and the risk of developing rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50:2005-13.
37. Rosell M, Wesley AM, Rydin K, Klareskog L, Alfredsson L. Dietary fish and fish oil and the risk of rheumatoid arthritis. *Epidemiology*. 2009;20:896-901.
38. Pattison DJ, Harrison RA, Symmons DP. The role of diet in susceptibility to rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Rheumatol*. 2004;31:1310-9.
39. Benito-Garcia E, Feskanič D, Hu FB, Mandl LA, Karlson EW. Protein, iron, and meat consumption and risk for rheumatoid arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Res Ther*. 2007;9:R16.
40. Nielsen MM, Van Schaardenburg D, Lems WF, Van de Stadt RJ, De Koning MH, Reesink HW, et al. Vitamin D deficiency does not increase the risk of rheumatoid arthritis: comment on the article by Merlino et al. *Arthritis Rheum*. 2006;54:3719-20.
41. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357:266-81.
42. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum*. 2004;50:72-7.

43. Patel S, Farragher T, Berry J, Bunn D, Silman A, Symmons D. Association between serum vitamin D metabolite levels and disease activity in patients with early inflammatory polyarthritis. *Arthritis Rheum.* 2007;56:2143-9.
44. Haque UJ, Bartlett SJ. Relationships among vitamin D, disease activity, pain and disability in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2010;28:745-7.
45. Kerr GS, Sabahi I, Richards JS, Caplan L, Cannon GW, Reimold A, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency/deficiency in rheumatoid arthritis and associations with disease severity and activity. *J Rheumatol.* 2011;38:53-9.
46. Kallberg H, Jacobsen S, Bengtsson C, Pedersen M, Padyukov L, Garred P, et al. Alcohol consumption is associated with decreased risk of rheumatoid arthritis: results from two Scandinavian case-control studies. *Ann Rheum Dis.* 2009;68:222-7.
47. Karlson EW, Mandl LA, Aweh GN, Grodstein F. Coffee consumption and risk of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48:3055-60.
48. Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Merlino L, Mudano AS, Burma M, et al. Coffee, tea, and caffeine consumption and risk of rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum.* 2002;46:83-91.
49. Heliövaara M, Aho K, Knekt P, Impivaara O, Reunanen A, Aromaa A. Coffee consumption, rheumatoid factor, and the risk of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2000;59:631-5.
50. de Pablo P, Dietrich T, McAlindon TE. Association of periodontal disease and tooth loss with rheumatoid arthritis in the US population. *J Rheumatol.* 2008;35:70-6.
51. Lundberg K, Wegner N, Yucel-Lindberg T, Venables PJ. Periodontitis in RA-the citrullinated enolase connection. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6:727-30.
52. Rosenstein ED, Greenwald RA, Kushner LJ, Weissmann G. Hypothesis: the humoral immune response to oral bacteria provides a stimulus for the development of rheumatoid arthritis. *Inflammation.* 2004;28:311-8.
53. Marotte H, Farge P, Gaudin P, Alexandre C, Mouglin B, Miossec P. The association between periodontal disease and joint destruction in rheumatoid arthritis extends the link between the HLA-DR shared epitope and severity of bone destruction. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:905-9.
54. Stolt P, Yahya A, Bengtsson C, Kallberg H, Ronnelid J, Lundberg I, et al. Silica exposure among male current smokers is associated with a high risk of developing ACPA-positive rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:1072-6.
55. Hazes JM, Dijkmans BA, Vandenbroucke JP, de Vries RR, Cats A. Lifestyle and the risk of rheumatoid arthritis: cigarette smoking and alcohol consumption. *Ann Rheum Dis.* 1990;49:980-2.
56. Hernandez Avila M, Liang MH, Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner B, et al. Reproductive factors, smoking, and the risk for rheumatoid arthritis. *Epidemiology.* 1990;1:285-91.
57. Symmons DP, Bankhead CR, Harrison BJ, Brennan P, Barrett EM, Scott DG, et al. Blood transfusion, smoking, and obesity as risk factors for the development of rheumatoid arthritis: results from a primary care-based incident case-control study in Norfolk, England. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1955-61.
58. Karlson EW, Lee IM, Cook NR, Manson JE, Buring JE, Hennekens CH. A retrospective cohort study of cigarette smoking and risk of rheumatoid arthritis in female health professionals. *Arthritis Rheum.* 1999;42:910-7.
59. Sopori ML, Kozak W. Immunomodulatory effects of cigarette smoke. *J Neuroimmunol.* 1998;83(1-2):148-56.
60. Arnson Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun.* 2010;34:J258-65.
61. Majo J, Ghezzi H, Cosio MG. Lymphocyte population and apoptosis in the lungs of smokers and their relation to emphysema. *Eur Respir J.* 2001;17:946-53.
62. Pryor WA, Stone K, Zang LY, Bermudez E. Fractionation of aqueous cigarette tar extracts: fractions that contain the tar radical cause DNA damage. *Chem Res Toxicol.* 1998;11:441-8.
63. Formica MK, Palmer JR, Rosenberg L, McAlindon TE. Smoking, alcohol consumption, and risk of systemic lupus erythematosus in the Black Women's Health Study. *J Rheumatol.* 2003;30:1222-6.
64. Bengtsson AA, Rylander L, Hagmar L, Nived O, Sturfelt G. Risk factors for developing systemic lupus erythematosus: a case-control study in southern Sweden. *Rheumatology (Oxford).* 2002;41:563-71.
65. Hernan MA, Olek MJ, Ascherio A. Cigarette smoking and incidence of multiple sclerosis. *Am J Epidemiol.* 2001;154:69-74.
66. Riise T, Nortvedt MW, Ascherio A. Smoking is a risk factor for multiple sclerosis. *Neurology.* 2003;61:1122-4.
67. Holm IA, Manson JE, Michels KB, Alexander EK, Willett WC, Utiger RD. Smoking and other lifestyle factors and the risk of Graves' hyperthyroidism. *Arch Intern Med.* 2005;165:1606-11.
68. Vestergaard P, Rejnmark L, Weeke J, Hoeck HC, Nielsen HK, Rungby J, et al. Smoking as a risk factor for Graves' disease, toxic nodular goiter, and autoimmune hypothyroidism. *Thyroid.* 2002;12:69-75.
69. Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, Gold EB, Watnik M, Utts J, et al. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology.* 2005;42:1194-202.
70. Hutchinson D, Shepstone L, Moots R, Lear JT, Lynch MP. Heavy cigarette smoking is strongly associated with rheumatoid arthritis (RA), particularly in patients without a family history of RA. *Ann Rheum Dis.* 2001;60:223-7.
71. Krishnan E. Smoking, gender and rheumatoid arthritis-epidemiological clues to etiology Results from the behavioral risk factor surveillance system. *Joint Bone Spine.* 2003;70:496-502.
72. Krishnan E, Sokka T, Hannonen P. Smoking-gender interaction and risk for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2003;5:R158-62.
73. Criswell LA, Merlino LA, Cerhan JR, Mikuls TR, Mudano AS, Burma M, et al. Cigarette smoking and the risk of rheumatoid arthritis among postmenopausal women: results from the Iowa Women's Health Study. *Am J Med.* 2002;112:465-71.
74. Costenbader KH, Feskanich D, Mandl LA, Karlson EW. Smoking intensity, duration, and cessation, and the risk of rheumatoid arthritis in women. *Am J Med.* 2006;119:e1-9, 503.
75. Stolt P, Bengtsson C, Nordmark B, Lindblad S, Lundberg I, Klareskog L, et al. Quantification of the influence of cigarette smoking on rheumatoid arthritis: results from a population based case-control study, using incident cases. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:835-41.
76. Voigt LF, Koepsell TD, Nelson JL, Dugowson CE, Daling JR. Smoking, obesity, alcohol consumption, and the risk of rheumatoid arthritis. *Epidemiology.* 1994;5:525-32.
77. Reckner Olsson A, Skogh T, Wingren G. Comorbidity and lifestyle, reproductive factors, and environmental exposures associated with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2001;60:934-9.
78. Olsson AR, Skogh T, Wingren G. Aetiological factors of importance for the development of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2004;33:300-6.
79. Sugiyama D, Nishimura K, Tamaki K, Tsuji G, Nakazawa T, Morinobu A, et al. Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:70-81.
80. Kallberg H, Ding B, Padyukov L, Bengtsson C, Ronnelid J, Klareskog L, et al. Smoking is a major preventable risk factor for rheumatoid arthritis: estimations of risks after various exposures to cigarette smoke. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:508-11.
81. Saag KG, Cerhan JR, Kolluri S, Ohashi K, Hunninghake GW, Schwartz DA. Cigarette smoking and rheumatoid arthritis severity. *Ann Rheum Dis.* 1997;56:463-9.
82. Wolfe F. The effect of smoking on clinical, laboratory, and radiographic status in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2000;27:630-7.
83. Manfredsdotter VF, Vikingsdottir T, Jonsson T, Geirsson AJ, Kjartansson O, Heimisdottir M, et al. The effects of tobacco smoking and rheumatoid factor seropositivity on disease activity and joint damage in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45:734-40.
84. Papadopoulos NG, Alamanos Y, Voulgaris PV, Epagelis EK, Tsifetaki N, Drosos AA. Does cigarette smoking influence disease expression, activity and severity in early rheumatoid arthritis patients? *Clin Exp Rheumatol.* 2005;23:861-6.
85. Westhoff G, Rau R, Zink A. Rheumatoid arthritis patients who smoke have a higher need for DMARDs and feel worse, but they do not have more joint damage than non-smokers of the same serological group. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47:849-54.
86. Soderlin M, Petersson I, Bergman S, Svensson B. Smoking at onset of rheumatoid arthritis (RA) and its effect on disease activity and functional status: experiences from BARFOT, a long-term observational study on early RA. *Scand J Rheumatol.* 2011;40:249-55.
87. Mikuls TR, Hughes LB, Westfall AO, Holers VM, Parrish L, Van der Heijde D, et al. Cigarette smoking, disease severity and autoantibody expression in African Americans with recent-onset rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:1529-34.
88. Lee HS, Irigoyen P, Kern M, Lee A, Batliwalla F, Khalili H, et al. Interaction between smoking, the shared epitope, and anti-cyclic citrullinated peptide: a mixed picture in three large North American rheumatoid arthritis cohorts. *Arthritis Rheum.* 2007;56:1745-53.
89. Masdottir B, Jonsson T, Manfredsdotter V, Vikingsson A, Brekkan A, Valdimarsson H. Smoking, rheumatoid factor isotypes and severity of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2000;39:1202-5.
90. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg H, Bengtsson C, Grunewald J, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum.* 2006;54:38-46.
91. Lee DM, Phillips R, Hagan EM, Chibnik LB, Costenbader KH, Schur PH. Quantifying anti-cyclic citrullinated peptide titres: clinical utility and association with tobacco exposure in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68:201-8.
92. Michou L, Teixeira VH, Pierlot C, Lasbleiz S, Bardin T, Dieude P, et al. Associations between genetic factors, tobacco smoking and autoantibodies in familial and sporadic rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:466-70.
93. Linn-Rasker SP, Van der Helm-Van Mil AH, Van Gaalen FA, Kloppenburg M, De Vries RR, le Cessie S, et al. Smoking is a risk factor for anti-CCP antibodies only in rheumatoid arthritis patients who carry HLA-DRB1 shared epitope alleles. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:366-71.
94. Pedersen M, Jacobsen S, Garred P, Madsen HO, Klarlund M, Svejgaard A, et al. Strong combined gene-environment effects in anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis: a nationwide case-control study in Denmark. *Arthritis Rheum.* 2007;56:1446-53.
95. Van der Helm-Van Mil AH, Verpoort KN, le Cessie S, Huizinga TW, De Vries RR, Toes RE. The HLA-DRB1 shared epitope alleles differ in the interaction with smoking and predisposition to antibodies to cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum.* 2007;56:425-32.
96. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren AK, Nicholas AP, Zendman AJ, Eklund A, et al. Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:1488-92.
97. Baeten D, Peene I, Union A, Meheus L, Sebbag M, Serre G, et al. Specific presence of intracellular citrullinated proteins in rheumatoid arthritis synovium: relevance to anti-flaggrin autoantibodies. *Arthritis Rheum.* 2001;44:2255-62.

98. Klareskog L, Ronnelid J, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L. Immunity to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:651-75.
99. Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48:2741-9.
100. Nielen MM, Van Schaardenburg D, Reesink HW, Van de Stadt RJ, Van der Horst-Bruinsma IE, De Koning MH, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum.* 2004;50:380-6.
101. Ruiz-Esquide V, Gómara MJ, Peinado VI, Gómez-Puerta JA, Barberá JA, Cañete JD, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies in the serum of heavy smokers without rheumatoid arthritis. A differential effect of chronic obstructive pulmonary disease? *Clin Rheumatol.* 2012. <http://dx.doi.org/10.1007/s10067-012-1971-y>.
102. Wood AM, De Pablo P, Buckley CD, Ahmad A, Stockley RA. Smoke exposure as a determinant of autoantibody titre in alpha-1-antitrypsin deficiency and COPD. *Eur Respir J.* 2011;37:32-8.
103. Harrison BJ, Silman AJ, Wiles NJ, Scott DG, Symmons DP. The association of cigarette smoking with disease outcome in patients with early inflammatory polyarthritis. *Arthritis Rheum.* 2001;44:323-30.
104. Finckh A, Dehler S, Costenbader KH, Gabay C. Cigarette smoking and radiographic progression in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:1066-71.
105. Ruiz-Esquide V, Gomez-Puerta JA, Canete JD, Graell E, Vazquez I, Ercilla MG, et al. Effects of Smoking on Disease Activity and Radiographic Progression in Early Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol.* 2011;38:2536-9.
106. Salliot C, Dawidowicz K, Lukas C, Guedj M, Paccard C, Benessiano J, et al. PTPN22 R620W genotype-phenotype correlation analysis and gene-environment interaction study in early rheumatoid arthritis: results from the ESPOIR cohort. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50:1802-8.
107. Rojas-Serrano J, Perez LL, Garcia CG, Moctezuma F, Alvarez-Hernandez E, Vazquez-Mellado J, et al. Current smoking status is associated to a non-ACR 50 response in early rheumatoid arthritis. A cohort study. *Clin Rheumatol.* 2011;30:1589-93.
108. Turesson C, O'Fallon WM, Crowson CS, Gabriel SE, Matteson EL. Extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis: incidence trends and risk factors over 46 years. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:722-7.
109. Saag KG, Kolluri S, Koehnke RK, Georgou TA, Rachow JW, Hunninghake GW, et al. Rheumatoid arthritis lung disease Determinants of radiographic and physiologic abnormalities. *Arthritis Rheum.* 1996;39:1711-9.
110. Lee HK, Kim DS, Yoo B, Seo JB, Rho JY, Colby TV, et al. Histopathologic pattern and clinical features of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Chest.* 2005;127:2019-27.
111. Wessels JA, Van der Kooij SM, le Cessie S, Kievit W, Barerra P, Allaart CF, et al. A clinical pharmacogenetic model to predict the efficacy of methotrexate monotherapy in recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007;56:1765-75.
112. Saevarsdottir S, Wedren S, Seddighzadeh M, Bengtsson C, Wesley A, Lindblad S, et al. Patients with early rheumatoid arthritis who smoke are less likely to respond to treatment with methotrexate and tumor necrosis factor inhibitors: observations from the Epidemiological Investigation of Rheumatoid Arthritis and the Swedish Rheumatology Register cohorts. *Arthritis Rheum.* 2011;63:26-36.
113. Hyrich KL, Watson KD, Silman AJ, Symmons DP. Predictors of response to anti-TNF-alpha therapy among patients with rheumatoid arthritis: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45:1558-65.
114. Matthey DL, Brownfield A, Dawes PT. Relationship between pack-year history of smoking and response to tumor necrosis factor antagonists in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2009;36:1180-7.
115. Abhishek A, Butt S, Gadsby K, Zhang W, Deighton CM. Anti-TNF-alpha agents are less effective for the treatment of rheumatoid arthritis in current smokers. *J Clin Rheumatol.* 2010;16:15-8.
116. Van den Broek M, Klarenbeek NB, Dirven L, Van Schaardenburg D, Hulsmans HM, Kerstens PJ, et al. Discontinuation of infliximab and potential predictors of persistent low disease activity in patients with early rheumatoid arthritis and disease activity score-steered therapy: subanalysis of the BeSt study. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:1389-94.
117. Stamp LK, O'Donnell JL, Chapman PT, Zhang M, Frampton C, James J, et al. Determinants of red blood cell methotrexate polyglutamate concentrations in rheumatoid arthritis patients receiving long-term methotrexate treatment. *Arthritis Rheum.* 2009;60:2248-56.
118. Glossop JR, Dawes PT, Matthey DL. Association between cigarette smoking and release of tumour necrosis factor alpha and its soluble receptors by peripheral blood mononuclear cells in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45:1223-9.
119. Matthey DL, Hutchinson D, Dawes PT, Nixon NB, Clarke S, Fisher J, et al. Smoking and disease severity in rheumatoid arthritis: association with polymorphism at the glutathione S-transferase M1 locus. *Arthritis Rheum.* 2002;46:640-6.
120. Forslind K, Ahlmen M, Eberhardt K, Hafstrom I, Svensson B. Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann Rheum Dis.* 2004;63:1090-5.
121. Chung HY, Machado P, Van der Heijde D, D'Agostino MA, Dougados M. Smokers in early axial spondyloarthritis have earlier disease onset, more disease activity, inflammation and damage, and poorer function and health-related quality of life: results from the DESIR cohort. *Ann Rheum Dis.* 2011.
122. Poddubnyy D, Haibel H, Listing J, Marker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, et al. Baseline radiographic damage, elevated acute phase reactants and cigarette smoking status predict radiographic progression in the spine in early axial spondyloarthritis. *Arthritis Rheum.* 2011.
123. Eder L, Law T, Chandran V, Shanmugarajah S, Shen H, Rosen CF, et al. Association between environmental factors and onset of psoriatic arthritis in patients with psoriasis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2011;63:1091-7.

Presentaciones a congresos relacionadas con la presente tesis doctoral.

V.Ruiz-Esquide, S.Cabrera-Villalba, J.Gómez-Puerta, MV.Hernández, ME.Gómez-Caballero, E.Graell, JD Cañete, G.Ercilla, O.Viñas, R.Sanmarti. Association between tobacco and anti-CCP in an early rheumatoid arthritis cohort. A dose-dependant effect. *Ann Rheum Dis* 2012;71(Suppl3):657

Congreso EULAR 2012. Berín.

V.Ruiz-Esquide, S.Cabrera-Villalba, J.Gómez-Puerta, MV.Hernández, ME.Gómez-Caballero, E.Graell, JD Cañete, G.Ercilla, O.Viñas, R.Sanmarti. Asociación entre tabaco y anti-CCP en una cohorte de artritis reumatoide de inicio. Un efecto dosis dependiente. *Reumatol Clin.* 2012;8:97

Congreso SER 2012. Zaragoza.

SR Cabrera-Villalba, **V Ruiz-Esquide**, JA Gómez-Puerta, ME Gómez, JD Cañete, Graell, MV Hernández, G Ercilla, O Viñas, R Sanmartí. Clinical disease presentation of early rheumatoid arthritis according to smoking status: Early disease onset and high association with the shared epitope. *Ann Rheum Dis* 2011;70(Suppl3):652

Congreso EULAR 2011. Londres.

V. Ruiz-Esquide, J.A. Gómez-Puerta, S. Cabrera, J. D. Cañete, M.V. Hernández, E. Graell, G. Ercilla, O. Viñas, M. J. Gomara, I. Haro, R. Sanmartí. Smoking Impact on Radiographic Progression in An Early Rheumatoid Arthritis Cohort. *Arthritis Rheum* 2011;63(S10):831

Congreso ACR 2011. Chicago.

V. Ruiz-Esquide, J.A. Gómez-Puerta, S. Cabrera, J.D. Cañete, M.-V. Hernández, E. Graell, G. Ercilla, O. Viñas, M.J. Gomara, I. Haro, R. Sanmartí. Effect of smoking on radiographic progresión in patients with early rheumatoid artritis. *Ann Rheum Dis* 2011;70(Suppl3):295

Congreso EULAR 2011. Londres.

V. Ruiz-Esquide, J.A. Gómez-Puerta, S. Cabrera, J.D. Cañete, E. Graell, I. Vazquez, G. Ercilla³, O. Viñas, A. Gómez-Centeno, I. Haro, R. Sanmartí. Lack of influence of smoking on disease activity and clinical response in early rheumatoid arthritis: a two year prospective study in a clinical setting. *Ann Rheum Dis* 2011;70(Suppl3):714
Congreso EULAR 2011. Londres.

V. Ruiz-Esquide, JA Gómez Puerta, S Cabrera, JD Cañete, E Graell, MV Hernández, G Ercilla, O Viñas, MJ Gómara, I Haro, R. Sanmarti. Efecto del tabaquismo en la progression radiológica en pacientes con artritis reumatoide de inicio. *Reumatol Clin* 2011;7:96
Congreso SER 2011. Málaga.

V. Ruiz-Esquide, JA Gómez Puerta, S Cabrera, JD Cañete, E Graell, I Vazquez, MG Ercilla, O Viñas, A Gómez-Centeno, I Haro, R Sanmarti. El hábito tabáquico no influye en la actividad de la enfermedad y la respuesta clínica en la artritis reumatoide de inicio. Estudio prospectivo a 2 años en un marco clínico. *Reumatol Clin* 2011;7:84
Congreso SER 2011. Málaga.

V. Ruiz-Esquide, MJ Gómara, V. Peinado, JA Gómez Puerta, MV Hernández, JA Barberá, J. Ramírez, JD Cañete, I Haro, R. Sanmarti. Anticitrullinated peptide antibodies (ACPAs) in the sera of heavy smokers without arthritis. A differential role of associated pulmonary disease? *Arthritis Rheum* 2010;62(S10):454
Congreso ACR 2010. Atlanta.

V Ruiz-Esquide, MJ Gómara, V. Peinado, JÁ Gómez Puerta, MV Hernández, JÁ Barberá, JD Cañete, I Haro, R. Sanmarti. Presence of anticitrullinated peptide antibodies (ACPAs) in the sera of heavy smokers without arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69(Suppl3):665
Congreso EULAR 2010. Roma.

V. Ruiz-Esquide, M.J. Gómara, V.I. Peinado, J.A. Gómez Puerta, M.V. Hernández, J.A. Barberá, J. Ramírez, J.D. Cañete, I. Haro y R. Sanmartí. Presencia de anticuerpos antipeptidos citrulinados (ACPAs) en el suero de grandes fumadores sin artritis. Reumatol Clin 2010;6:111
Congreso SER 2010. Tarragona.