

ANTICUERPO ANTICITRULINA Y MANIFESTACIONES EXTRA ARTICULARES EN ARTRITIS REUMATOIDEA

MARÍA JEZABEL HAYE SALINAS¹, SOLEDAD RETAMOZO¹, LORENA VETORAZZI², NATALIA PEANO², PATRICIA ERICKA DÍAZ CUIZA¹, MARÍA SOL CASTAÑOS MENESCARDI¹, EVANGELINA MARÍA MIRETTI¹, LAURA MARIELA ENCINAS¹, ANA CECILIA ÁLVAREZ¹, VERÓNICA SAURIT¹, ALEJANDRO ALVARELLOS¹, FRANCISCO CAEIRO¹

¹Servicio de Reumatología, ²Laboratorio de Inmunología, Hospital Privado Centro Médico de Córdoba SA, Córdoba

Resumen Los pacientes con artritis reumatoidea (AR) pueden desarrollar manifestaciones extra articulares (MExA), relacionadas a su morbi-mortalidad. Los anticuerpos anti-péptidos citrulinados cíclicos (ACCP) son específicos para la AR y están relacionados con el daño articular; y podrían tener rol patogénico en las MExA. Nuestro objetivo fue determinar la relación entre los anticuerpos ACCP y MExA en pacientes con AR. Se incluyeron 74 pacientes con diagnóstico de AR (ACR 1987) mayores de 18 años, de más de 6 meses de evolución, con MExA, y un control apareado por sexo y edad sin MExA por cada paciente. Las variables demográficas, clínicas y de laboratorio se compararon con test t, chi cuadrado o Mann-Whitney. Se realizó análisis multivariado; $p \leq 0.05$. Los pacientes con MExA presentaron mayor título de anticuerpo ACCP (116 vs. 34, $p < 0.01$) y de factor reumatoideo (FR) (108 vs. 34.5, $p < 0.01$). En el análisis multivariado hubo asociación entre la presencia de MExA y tabaquismo activo ($p = 0.02$, OR: 3.78, IC 95%: 1.17-12.2), FR positivo ($p = 0.04$, OR: 3.23, IC95%: 1.04-11.8) y anticuerpo ACCP positivo ($p = 0.04$, OR: 3.23, IC 95%: 1.04-10). Presentaron mayor título de anticuerpo ACCP que los controles los pacientes con xerostomía (109 vs. 34, $p = 0.04$), xerofthalmia (150 vs. 34, $p < 0.01$), nódulos sub-cutáneos (NSC) (141 vs. 34, $p < 0.01$) y fibrosis pulmonar (158 vs. 34, $p = 0.04$). En conclusión, el anticuerpo ACCP positivo, el FR positivo y el tabaquismo activo fueron factores de riesgo independientes para el desarrollo de MExA.

Palabras clave: artritis reumatoidea, manifestaciones extra articulares, péptido citrulinado

Abstract *Anticitrulin antibody and the extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis.* A large proportion of rheumatoid arthritis (RA) patients develop extra-articular manifestations (EAM), which are associated with morbidity and early mortality. Anti cyclic citrullinated peptide (ACCP) antibody has proven to be highly specific for the diagnosis of RA, associated with severe joint damage and may have some role in the pathogenesis of EAM. The aim of this study was to determine the relationship between ACCP antibody and the presence of EAM in RA patients. Seventy four RA patients (ACR 1987) with EAM, > 18 years, more than 6 months duration were included, and an EAM free control, matched by sex and age, for each patient. Demographic, clinical and laboratory variables were compared using t-test, chi-square or Mann-Whitney test. Multivariate analysis was performed: $p \leq 0.05$. Patients with EAM presented a greater value of ACCP antibody (116 vs. 34, $p < 0.01$) and rheumatoid factor (108 vs. 34.5, $p < 0.01$). Independent association with current smoking habit ($p = 0.02$, OR = 3.78, 95%: 1.17-12.2), RF positive ($p = 0.04$, OR 3.23, CI 95%: 1.04 to 11.8) and ACCP antibody positive ($p = 0.04$, OR 3.23, 95% CI: 1.04-10) was found. The patients with xerostomia (109 vs. 34, $p = 0.04$), xerophthalmia (150 vs. 34, $p < 0.01$), subcutaneous nodules (141 vs. 34, $p < 0.01$) and pulmonary fibrosis (158 vs. 34, $p = 0.04$) had a higher degree of the ACCP antibody, than controls. In conclusion, ACCP antibody positive, RF positive and smoking were independent risk factors for the development of MEXA.

Key words: rheumatoid arthritis, extra articular manifestations, citrullinated peptide

La artritis reumatoidea (AR) es una enfermedad inflamatoria sistémica, en la que alrededor del 40%^{1,2} de los

pacientes desarrollan manifestaciones extra articulares (MExA) sumado a las manifestaciones articulares propias de la enfermedad. Estas MExA podrían ser el resultado de la progresión de la enfermedad, y es conocida su asociación con la morbi-mortalidad temprana de estos pacientes cuando se los compara con la AR en general^{3,4}. Los predictores de las MExA incluyen factores clínicos, serológicos y genéticos. Los pacientes que desarrollan con mayor frecuencia MExA tienen a menudo pruebas

Recibido: 5-VI-2012

Aceptado: 6-IX-2012

Dirección postal: Dra. María Jezabel Haye Salinas, Servicio de Reumatología, Hospital Privado Centro Médico de Córdoba SA, Naciones Unidas 346- B° Parque Vélez Sarsfield, 5016 Córdoba, Argentina
Tel.: (54-351) 4688865 e-mail: hayesalinas@gmail.com

positivas para factor reumatoideo (FR) y anticuerpos antinucleares (ANA); particularmente presentan títulos elevados de FR los pacientes con vasculitis reumatoidea⁵. Los complejos inmunes circulantes han sido relacionados con la patogénesis de la vasculitis y de otras MEXA^{5, 6}.

Los anticuerpos anti-péptidos citrulinados cíclicos (ACCP) han demostrado ser altamente específicos para el diagnóstico de la AR⁷, y al igual que el FR pueden ser detectados en estadios tempranos, aun antes del comienzo de la AR clínica. Los anticuerpos ACCP son el resultado de una respuesta autoinmune específica generada contra péptidos citrulinados en la membrana sinovial de los pacientes con AR. Es posible que la citrulinación de proteínas genere alteraciones cualitativas o cuantitativas que participen en la pérdida de la tolerancia inmunológica y en el desarrollo de enfermedad autoinmune⁸. Esta hipótesis es sustentada por la presencia de anticuerpos ACCP varios años antes de la evidencia clínica de AR. No obstante, el papel patogénico de estos auto-anticuerpos es todavía incierto⁹.

La presencia de anticuerpo ACCP es predictora de enfermedad persistente y grave con importante daño articular, al igual o más que el FR^{10, 11}. Existen reportes que plantean que el anticuerpo ACCP y el FR tendrían un rol en la patogénesis de la MEXA⁵.

El objetivo de este estudio fue observar en nuestro medio la relación entre anticuerpo ACCP y la presencia de MEXA en pacientes con AR.

Materiales y métodos

Se trata de un estudio transversal y analítico, donde se incluyeron sucesivamente, desde marzo 2010 a enero 2011, 74 pacientes con diagnóstico de AR según criterios del *American College of Rheumatology* (ACR) 1987¹², mayores de 18 años, de más de 6 meses de evolución, con historia confirmada de MEXA. Para cada paciente se incluyó un control apareado por sexo y edad sin MEXA.

Las manifestaciones extra articulares consideradas fueron^{1, 4}: pericarditis con o sin derrame, cardiopatía isquémica, valvulopatía, alteración del ritmo cardíaco, nódulos reumatoideos sub-cutáneos (NSC) y en otros órganos, vasculitis cutánea o que afectara otros órganos, pleuritis con o sin derrame, fibrosis pulmonar, bronquiolitis *obliterate*, neuropatía periférica no compresiva, subluxación atlantoaxoidea (AA), queratoconjuntivitis, xerofthalmia, escleritis, epiescleritis, vasculitis retinal, uveítis, xerostomía, hepatitis, anemia (hemoglobina < 12mg/dl en mujeres y < 13mg/dl en hombres), síndrome de Felty (esplenomegalia y neutropenia), glomerulonefritis, amiloidosis y miositis, demostradas por examen clínico y/o estudios complementarios (electrocardiograma, laboratorio, Rx y/o tomografía de tórax, Rx de columna cervical, ecografía cardíaca, biopsia) según correspondiera.

Se obtuvo información de las características clínicas, demográficas y de laboratorio a partir del análisis de las historias clínicas, siendo consideradas las siguientes:

Edad al diagnóstico, tiempo de evolución de AR, grado de actividad de AR medido por el *Disease Activity Score of 28 joints* (DAS 28)¹³, tabaquismo (se separó a los pacientes en tabaquistas activos, ex tabaquistas y no tabaquistas),

medicación inmunosupresora actual, velocidad de eritrosedimentación globular (VSG), proteína C reactiva (PCR), ANA (inmunofluorescencia indirecta en Hep 2. Positivo: títulos $\geq 1/80$) FR (inmunoturbidimetría. Positivo > 14 UI).

Se tomó una muestra de sangre al momento del ingreso al estudio para determinar por ELISA el título de anticuerpo ACCP, Quanta Lite II (*Inova Diagnostics Inc.*, San Diego, CA, USA); los resultados se expresaron en unidades internacionales (UI) y se clasificaron en negativo < 20 UI; positivo débil 20 - 39 UI; positivo moderado 40 - 59 UI, positivos fuerte > 60 UI.

Los datos fueron analizados con *SPSS* versión 19 (IBM 2010, Chicago Il). Las variables categóricas se expresaron en porcentaje y se compararon con test de chi cuadrado, las continuas se expresaron con media y desvío estándar (DE) y se compararon por test t. Los títulos de ACCP y de FR presentaron una distribución no normal, por lo que se expresaron con mediana y rango intercuartil (RIC) siendo comparados por el test de Mann-Whitney. La valoración estadística de la asociación entre los factores de riesgo y la presencia de MEXA se presentó con valor de p, *odd ratio* (OR) e intervalo de confianza del 95% (IC). Se realizó análisis de regresión logística multivariado. Se consideró significativa una $p \leq 0.05$.

Todos los pacientes firmaron consentimiento informado para participar en el estudio. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación Internos del Hospital Privado de Córdoba conforme a los principios éticos de la Declaración de Helsinki.

Resultados

Se incluyeron 74 pacientes con MEXA y 74 controles (sin MEXA) apareados por sexo y edad. La mayoría fueron mujeres (74%), con una edad promedio de 59 años. Se observó menor edad al diagnóstico (47.04 (12.37) vs. 54.3 (14.5) años, $p = 0.001$) y mayor tiempo de evolución de la enfermedad (149.32 (117.16) vs. 70.61 (83.95) meses, $p = 0.00006$) en los pacientes con MEXA frente a los pacientes sin MEXA. La media de tiempo entre el diagnóstico de la AR y la aparición de las MEXA fue de 65.2 meses. La media del DAS28 fue de 4.03 (1.58) para los pacientes con MEXA y de 3.86 (1.47) para el grupo control sin MEXA ($p = 0.5$), encontrándose la mayoría de los pacientes con actividad moderada.

Los pacientes con MEXA tuvieron mayor valor del título de anticuerpo ACCP y de FR que los pacientes sin MEXA (116 vs. 34, $p = 0.001$; 108 vs. 34.5, $p = 0.002$, respectivamente). Los pacientes con MEXA presentaron mayor frecuencia de tratamiento con leflunomida (25.7%), azatioprina (9.5%) y biológicos (31.1%) que el grupo control (2.7%, $p = 0.00007$; 0%, $p = 0.01$ y 10.8%, $p = 0.02$, respectivamente) (Tabla 1).

Las MEXA más frecuentemente observadas fueron el síndrome *sicca* (xerofthalmia y xerostomía) en el 47.2%, NSC en el 20.8%, fibrosis pulmonar 6.7%, subluxación AA 3.6%, vasculitis cutánea 3.1%, anemia 3.1%, epiescleritis 2.5%, nódulos pulmonares en 2.5% y otras manifestaciones (pleuritis, arritmia, neuropatía, amiloidosis, pericarditis, cardiopatía isquémica, bronquiectasias, hepatitis, nefropatía, miositis, uveítis, queratoconjuntivitis) que en conjunto suman el 11% restante.

En el análisis univariado se determinaron como factores de riesgo para el desarrollo de MExA la positividad para el anticuerpo ACCP ($p = 0.0002$, OR: 4.12, IC 95%: 1.87-9.09), positividad para FR ($p = 0.00005$, OR: 5.15, IC 95%: 2.22-11.94), tabaquismo activo ($p = 0.02$, OR: 2.71, IC 95%: 1.18-6.25), edad al diagnóstico menor a 50 años ($p = 0.03$, OR: 2.15, IC 95%: 1.11-4.15) y evolución de la enfermedad de más de 10 años ($p = 0.00001$, OR: 4.75, IC 95%: 2.31-9.77).

Al evaluar la magnitud del título de anticuerpo ACCP, se encontró que títulos positivos moderados y positivos fuertes estaban asociados con la presencia de MExA ($p = 0.0001$, OR: 4.54, IC 95%: 2.69-7.66; $p = 0.001$, OR: 4.02, IC 95%: 1.78-9.07 respectivamente) y no los positivos débiles ($p = 0.31$, OR: 2.11, IC 95%: 0.59-7.46).

No hubo diferencias significativas entre los grupos con y sin MExA en el porcentaje de positividad de ANA, ni con los reactantes de fase aguda (PCR y VSG) (Tabla 2).

En el análisis multivariado de regresión logística se observó, como factor de riesgo independiente, la presencia de tabaquismo activo ($p = 0.02$, OR: 3.78, IC 95%: 1.17-12.2), FR positivo ($p = 0.04$, OR: 3.78, IC 95%: 1.04-11.8) y anticuerpo ACCP positivo ($p = 0.04$, OR: 3.23, IC 95%: 1.04-10) (Tabla 3).

Al comparar el porcentaje de positividad de anticuerpo ACCP y la mediana del título discriminado para cada MExA en comparación con el grupo control, se observó diferencia significativa en el grupo que presentó xerostomía (76.3% vs. 43% - 109 UI vs. 34 UI, $p = 0.01$ y 0.04 respectivamente), xeroftalmia (83.1% vs. 43% - 150 UI vs. 34 UI, $p = 0.01$ y < 0.01 respectivamente), NSC (97% vs. 43% - 141 UI vs. 34 UI, $p < 0.01$) y fibrosis pulmonar (90.9% vs. 43% - 158 UI vs. 34 UI, $p = 0.04$).

Discusión

En este estudio se encontró que la presencia de anticuerpo ACCP positivo, (fundamentalmente con títulos por encima de 40 UI) constituye un factor de riesgo independiente para el desarrollo de MExA. Esto también fue observado en un estudio caso-control realizado en Suecia por Turesson y col⁵ y en un estudio retrospectivo realizado en Grecia¹⁴.

El FR positivo también se asoció de forma independiente con la presencia de MExA en esta población, lo que coincide con lo hallado por otros autores, quienes

TABLA 1.– Características epidemiológicas, clínicas, de laboratorio y tratamiento de los pacientes con artritis reumatoide con y sin manifestaciones extra-articulares

	Con MExA	Sin MExA	p
Femenino, n(%)	55/54 (74.3)	55/74 (74.3)	
Edad años, m ± DS	59.4 ± 12.1	59.5 ± 13.3	
Edad al diagnóstico años, m ± DS	47.0 ± 12.3	54.3 ± 14.5	0.001
Meses de evolución, m ± DS	149.3 ± 117.2	70.6 ± 83.9	0.000006
Meses hasta MExA, m ± DS	65.2 ± 96.8	-	
DAS28, m ± DS	4.03 ± 1.58	3.86 ± 1.47	0.50
Grado de actividad DAS28			
Remisión, n(%)	12/64 (18)	17/69 (24.6)	0.10
Actividad leve, n(%)	11/6 (17.2)	5/69 (7.2)	0.11
Actividad moderada, n(%)	22/64 (34.4)	33/69 (47.8)	0.10
Muy activa, n(%)	19/64 (29.7)	14/69 (20.3)	0.11
Título de anticuerpo ACCP, M (RIC)	116 (43.7-116.7)	34 (2.7-35.7)	0.001
Título de FR, M (RIC)	108 (30-248)	34.5 (2.7-114.5)	0.002
Tratamiento			
Esteroides, n(%)	66/74 (89.2)	61/74 (82.4)	0.23
DMARDs, n(%)	70/74 (94.6)	66/74 (89.2)	0.22
Metotrexato, n(%)	62/74 (83.8)	62/74 (83.8)	1.00
Leflunomida, n(%)	19/74 (25.7)	2/74 (2.7)	0.00007
Hidroxicloroquina, n(%)	19/74 (25.7)	10/74 (13.5)	0.06
Azatioprina, n(%)	7/74 (9.5)	-	0.01
Otros DMARDs, n(%)	10/74 (13.5)	1/74 (1.3)	0.009
Biológicos, n(%)	23/74 (31.1)	8/74 (10.8)	0.02

m: media; M: mediana; DS: desvío estándar; RIC: rango intercuartil; DAS28: índice de actividad de la enfermedad; MExA: manifestaciones extra articulares; ACCP: anti-peptido citrulinado cíclico; FR: factor reumatoideo; DMARDs: drogas modificadoras de la enfermedad

TABLA 2.— Análisis univariado de los factores de riesgo para desarrollar manifestaciones extra-articulares en pacientes con artritis reumatoide

		Con MExA n (%)	Sin MExA n (%)	p	OR (IC 95%)
Anticuerpo ACCP	Positivo	63/74 (85)	43/74 (58.1)	0.0002	4.12(1.87-9.09)
	Positivo débil	6/74(8.10)	8/74 (10.8)	0.31	2.11 (0.59-7.46)
	Positivo moderado	7/74 (9.50)	0/74 (0)	0.0001	4.54 (2.69-7.66)
	Positivo fuerte	50/74 (67.6)	35/74 (47.3)	0.001	4.02 (1.78-9.07)
FR positivo		67/74 (87.8)	42/72 (58.3)	0.00005	5.15(2.22-11.94)
ANA positivo		6/52 (11.5)	4/56 (7.1)	0.51	1.69 (0.45-6.38)
PCR ≥ 0.8 mg/dl		25/54 (48.1)	19/63 (30.2)	0.05	2.15 (1.00-4.58)
VSG >20 mm/h		31/72 (43.1)	31/74 (41.9)	1.00	1.04 (0.54-2.02)
Tabaquista activo		22/65 (33.8)	11/71 (15.5)	0.02	2.71 (1.18-6.25)
Ex tabaquista		4/65 (6.2)	7/71 (9.9)	0.75	0.77 (0.21-2.83)
Edad al diagnóstico					
< 50 años		43/74 (58.1)	29/75 (39.2)	0.03	2.15 (1.11-4.15)
> 10 años de evolución		42/74 (56.8)	16/74 (21.6)	0.00001	4.75 (2.31-9.77)

OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza; MExA: manifestaciones extra-articulares; ACCP: anti-péptido citrulinado cíclico; FR: factor reumatoide; ANA: anticuerpo anti nuclear; PCR: proteína C reactiva; VSG: eritrosedimentación globular

TABLA 3.— Análisis multivariado de los factores de riesgo para desarrollar manifestaciones extra-articulares en pacientes con artritis reumatoide

	ES	p	OR (IC 95%)
Tabaco	0.59	0.02	3.78 (1.17-12.2)
Anticuerpo ACCP positivo	0.57	0.04	3.23 (1.04-10.0)
FR positivo	0.62	0.04	3.78 (1.04-11.8)

ES: error estándar; OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza; ACCP: anti péptido citrulinado cíclico; FR: factor reumatoide

demonstraron que los títulos más elevados se asocian principalmente con la presencia de vasculitis, síndrome de Felty, pericarditis y sicca^{5, 14, 15}.

Cuando se analiza a los pacientes discriminando por tipo de MExA se observa mayor valor en el título de ACCP y en el porcentaje de positividad en los pacientes con xerostomía, xeroftalmia, NSC y fibrosis pulmonar frente al grupo sin MExA, esto puede deberse a que las mencionadas manifestaciones son las más frecuentes en esta población; no obstante, otros autores han encontrado asociación con fibrosis pulmonar¹⁴ y NSC¹⁶, por lo que se podría inferir que existe algún mecanismo fisiopatogénico que favorece el desarrollo de las mismas en los pacientes seropositivos.

En este estudio el tabaquismo activo fue un factor de riesgo independiente para el desarrollo de MExA;

destacamos que el mismo podría ser el elemento que explique la interrelación entre AR, MExA y ACCP, ya que estudios recientes han demostrado que el tabaco es un factor ambiental que facilita la citrulinación de proteínas en individuos genéticamente predispuestos, las cuales serían presentadas a los linfocitos T, que activarían los linfocitos B para la síntesis de anticuerpo ACCP^{17, 18}. El tabaco está implicado en el desarrollo de AR (especialmente seropositiva), en la progresión radiográfica y en la gravedad de la enfermedad, además de estar asociado con la presencia de MExA^{19, 20}.

Seong Kyu Kim y col. demostraron que a menor edad al diagnóstico y a mayor tiempo de evolución de la enfermedad había más posibilidades de desarrollar MExA¹⁹. En esta muestra se encontró una diferencia significativa en el análisis univariado, pero no pudo demostrarse que constituyan factores de riesgo independientes con el análisis de regresión logística.

La presencia de MExA tiene un importante impacto en la gravedad y en el pronóstico de la enfermedad, con un aumento en la mortalidad hasta de cuatro veces en comparación con pacientes sin MExA³, de allí la importancia de buscar elementos predictores para su desarrollo.

Una limitación de este estudio es que fue transversal, lo que no permite la correcta evaluación del impacto que tiene en el desarrollo de MExA el grado de actividad de la enfermedad (que varía en el tiempo), los reactantes de fase aguda y la exposición a determinados fármacos. Otra limitación es el número escaso de la muestra al analizar cada MExA por separado, lo que no permite descartar que la presencia del anticuerpo ACCP esté asociada

con las manifestaciones menos frecuentes en la muestra estudiada, por lo que sería necesario realizar en el futuro estudios con mayor número de pacientes.

En conclusión, el anticuerpo ACCP positivo (fundamentalmente a títulos mayores de 40UI), el FR positivo y el tabaquismo activo son factores de riesgo independientes para el desarrollo de MEXA, encontrándose mayor asociación con xerostomía, xeroftalmia, NSC y fibrosis pulmonar.

Agradecimientos: Este trabajo pudo realizarse gracias a la financiación obtenida a partir de las Becas Estímulo Florencio Fiorini para investigación en medicina de la Fundación Florencio Fiorini y la Asociación Médica Argentina, quienes no participaron en el diseño del estudio, en la recolección de datos ni en su interpretación.

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Bibliografía

1. 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.
2. Cimmino MA, Salvarini C, Macchioni P, et al. Extra-articular manifestations in 587 italian patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2000; 19: 213-7.
3. Gabriel SE, Crowson CS, Kremers HM, et al. Survival in rheumatoid arthritis: a population-based analysis of trends over 40 years. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 54-8.
4. Turesson C, Jacobsson L, Bergström U. Extra-articular rheumatoid arthritis: prevalence and mortality. *Rheumatology* 1999; 38: 668-74.
5. Turesson C, Jacobsson LTH, Sturfelt G, Matteson EL, Mathsson L, Rönnelid J. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptides are associated with severe extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 59-64.
6. Melsom RD, Horsfall AC, Schrieber L, Charles P, Maini RN. Anti-C1q affinity isolated circulating immune complexes correlate with extra-articular rheumatoid disease. *Rheumatol Int* 1986; 6: 227-31.
7. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 155-63.
8. Yamada R, Suzuki A, Chang X, Yamamoto K. Peptidylarginine deiminase type 4: identification of a rheumatoid arthritis-susceptible gene. *Trends Mol Med* 2003; 9: 503-8.
9. Nielen MMJ, van Schaardenburg D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 380-6.
10. Forslind K, Ahlmen M, Eberhardt K, Hafström I, Svensson B, BARFOT Study Group. 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.
11. Bukhari M, Thomson W, Naseem H, et al. The performance of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in predicting the severity of radiologic damage in inflammatory polyarthritis. Results from the Norfolk Arthritis Register. *Arthritis & Rheumatism* 2007; 56: 2929-35.
12. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 1988; 31: 315-24.
13. Prevoo ML, van't Hof MA, Kuper HH, et al. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 44-8.
14. Alexiou I, Germenis A, Koutroumpas A, Kontogianni A, Theodoridou K, Sakkas L. Anti-cyclic citrullinated peptide-2 (CCP2) autoantibodies and extra-articular manifestations in Greek patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2008; 27: 511-13.
15. De Rycke L, Peene I, Hoffman IEA, 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: 1587-93.
16. Goeldner I, Skare TL, de Messias Reason IT, Nishihara RM, Silva M, da Rosa Utiyama SR. Association of anticyclic citrullinated peptide antibodies with extra-articular manifestations, gender and tabagism in rheumatoid arthritis patients from southern Brazil. *Clin Rheumatol* 2011; 30: 975-80.
17. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren AK, 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.
18. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to antigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 38-46.
19. Kim SK, Park SH, Shin IH, Choe JY. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody, smoking, alcohol consumption, and disease duration as risk factors for extraarticular manifestations in Korean patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology* 2008; 34: 995-1001.
20. Papadopoulos NG, Alamanos Y, Voulgari PV, Epagelis EK, Tsifetaki N, Drosos A. Does cigarette smoking influence disease expression, activity and severity in early rheumatoid arthritis patients?. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 861-6.

If the whole materia medica as now used, could be sunk to the bottom of the sea, it would be all the better for mankind - and all the worse for the fishes.

Si la totalidad de la materia médica en uso actualmente pudiera sumergirse hasta el fondo del mar, sería tanto mejor para la humanidad - y tanto peor para los peces.

Oliver Wendell Holmes (1809-1894)

Address, Massachusetts Medical Society, 1860