



*NIVELES DE AUTOANTICUERPOS ANTI-PEPTIDOS CARBAMILADOS Y
CITRULINADOS Y SU RELACIÓN CON ÍNDICES DE ACTIVIDAD CLÍNICA
REUMÁTICA EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE TEMPRANA Y
FAMILIARES EN PRIMER GRADO DE CONSANGUINIDAD DE PACIENTES
CON ARTRITIS REUMATOIDE, ORIUNDOS DE COLOMBIA*

ESTUDIANTE

MANUEL ALEJANDRO RAMOS CASALLAS

ASESOR EXTERNO

MARÍA CONSUELO ROMERO SÁNCHEZ, MSc, PhD.

LEIDY LORENA CHILA MORENO, Bcl, est. MSc.

ASESOR INTERNO

JULIÁN ESTEBAN MUÑOZ HENAO, PhD.

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

TRABAJO DE GRADO

BOGOTÁ D.C., MAYO DE 2018

DEDICATORIA

Dedicado a mi padre, madre y hermanos. Esto es para y por ustedes...

A mis amigas Anggie, Natalia, María Fernanda y Estefany. Su amistad me ha impulsado para llegar hasta aquí...

A mi pareja, María Helena, por tu apoyo y amor incondicional...

El entrenamiento no es nada. La voluntad lo es todo. La voluntad de actuar.

-Christopher Nolan, Batman Begins, 2005.

AGRADECIMIENTOS

A aquellos que me abrieron las puertas y me permitieron trabajar en tan maravilloso proyecto. A quienes me acompañaron en este proceso y destinaron parte de su valioso tiempo para asesorarme. Por su infinita paciencia y apoyo, gracias:

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Alma máter

Dr. Julián Esteban Muñoz Henao

Docente. Asesor interno.

Dra. María Consuelo Romero Sánchez.

Directora del proyecto. Servicio de Reumatología e Inmunología Hospital Militar Central – Instituto UIBO-Unidad de Investigación Básica Oral. Universidad El Bosque.

Dra. Leydi Lorena Chila Moreno.

Asesora externa. Instituto UIBO-Unidad de Investigación Básica Oral. Universidad El Bosque.

Servicio de Reumatología e Inmunología.

Hospital Militar Central.

Instituto UIBO-Unidad de Investigación Básica Oral.

Universidad El Bosque.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN EJECUTIVO	11
INTRODUCCIÓN	13
1. OBJETIVOS	15
1.1. OBJETIVO PRINCIPAL (GENERAL).....	15
1.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS (ESPECÍFICOS)	15
2. ANTECEDENTES	17
3. MARCO TEÓRICO.....	24
3.1. DEFINICIÓN DE ARTRITIS REUMATOIDE	24
3.2. MANIFESTACIONES CLÍNICAS	27
3.3. FACTORES DE RIESGO	28
3.4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD EN COLOMBIA.	34
3.5. DIAGNÓSTICO.....	35
4. METODOLOGÍA.....	44
4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	44
4.2. POBLACIÓN.....	44
4.3. MUESTRA	44
4.4. SELECCIÓN DE LA MUESTRA	44
4.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	45
4.6. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	45
4.7. HIPÓTESIS.....	47
4.8. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	48
4.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	51

5. RESULTADOS.....	52
6. DISCUSIÓN	86
7. CONCLUSIONES.....	91
8. REFERENCIAS.....	92
9. ANEXOS	116
9.1. FORMATO DE CRITERIOS DE EXCLUSION.....	116
9.2. FORMATO DE RECOLECCION DE DATOS PACIENTES CON AR Y FAMILIARES:	117

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de parámetros sociodemográficos en el total de individuos participantes en el estudio.	53
Tabla 2. Comparación de las variables demográficas entre el grupo de artritis reumatoide temprana y su respectivo grupo control.	54
Tabla 3. Comparación entre variables demográficas entre el grupo de familiares en primer grado y su respectivo grupo control.....	55
Tabla 4. Distribución de parámetros reumatológicos en el total de individuos participantes en el estudio.	57
Tabla 5. Comparación entre variables reumatológicas entre el grupo de artritis reumatoide temprana y su respectivo grupo control.	58
Tabla 6. Comparación entre variables reumatológicas entre el grupo de familiares en primer grado y su respectivo grupo control.....	59
Tabla 7. Distribución de frecuencias con respecto a los marcadores clínicos y microbiológicos de diagnóstico periodontal en pacientes con artritis reumatoide	

temprana, familiares en primer grado de consanguinidad y sus respectivos grupos control.	61
Tabla 8. Comparación entre variables periodontales entre el grupo de artritis reumatoide temprana y el respectivo grupo control.	62
Tabla 9. Comparación entre variables periodontales entre el grupo de familiares en primer grado y respectivo grupo control.	63
Tabla 10. Reactividad frente al péptido <i>FibNorm</i>	64
Tabla 11. Reactividad frente al péptido <i>FibHomo</i>	65
Tabla 12. Comparación de títulos de anticuerpos frente a <i>FibNorm</i> y <i>FibHomo</i> en el grupo de artritis reumatoide temprana y su respectivo grupo control.	66
Tabla 13. Comparación de títulos de anticuerpos frente a <i>FibNorm</i> y <i>FibHomo</i> entre el grupo de familiares en primer grado y su correspondiente grupo control.	69
Tabla 14. Distribución de frecuencias sociodemográficas entre los grupos de estudio positivos para anticuerpos anti-péptido carbamilado.	71
Tabla 15. Distribución de frecuencias frente a las variables reumatológicas entre los grupos de estudio positivos para anticuerpos anti-péptido carbamilado.	72
Tabla 16. Distribución de frecuencias frente a las variables periodontales entre los grupos de estudio positivos para anticuerpos anti-péptido carbamilado.	76
Tabla 17. Asociación entre anticuerpos anti- <i>FibNorm</i> y variables reumatológicas en el grupo de pacientes con artritis reumatoide temprana.	77
Tabla 18. Asociación entre títulos de anticuerpos anti- <i>FiHomo</i> positivos 1/50 y variables reumatológicas en el grupo de pacientes con artritis reumatoide temprana.	78
Tabla 19. Asociación entre anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> en títulos 1/100 y variables reumatológicas en el grupo de pacientes con artritis reumatoide temprana.	79
Tabla 20. Asociación entre anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> en títulos 1/100 y variables periodontales en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide.	80

Tabla 21. Asociación entre anticuerpos anti- <i>FibNorm</i> y variables reumatológicas en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide.	81
Tabla 22. Asociación entre anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> en títulos 1/50 y variables reumatológicas en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide.	82
Tabla 23. Asociación entre anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> en títulos 1:100 y variables reumatológicas en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide.	83
Tabla 24. Asociación entre anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> en títulos 1/100 y variables periodontales en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide.	85

INDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Las MPTs asociadas al desarrollo de AR. El neutrófilo, como actor principal en la inflamación, posee elementos los cuales pueden estimular dichas modificaciones en las proteínas y generar la pérdida de tolerancia.....	26
Ilustración 2. Mecanismo de citrulinación mediado por las enzimas PAD.	36
Ilustración 3. Mecanismo de carbamilación mediado por la presencia de cianato.	38
Ilustración 4. Causas y consecuencias de la carbamilación.	40
Ilustración 5. Porcentaje de pacientes con artritis reumatoide temprana frente a su respectivo grupo Control en titulación de anticuerpos anti- <i>FibNorm</i>	66
Ilustración 6. Porcentaje de pacientes con artritis reumatoide temprana frente a su respectivo grupo Control en titulación de anticuerpos anti- <i>FibHomo</i>	68

Ilustración 7. Porcentaje de individuos familiares en primer grado de consanguinidad frente a su respectivo grupo control en titulación de anticuerpos anti-FibNorm	69
Ilustración 8. Porcentaje de individuos familiares en primer grado de consanguinidad frente a su respectivo grupo control en titulación de anticuerpos anti-FibHomo	70
Ilustración 9. Distribución de frecuencias frente a biomarcadores reumatológicos en el grupo de pacientes con diagnóstico de artritis reumatoide temprana.	74
Ilustración 10. Distribución de frecuencias frente a biomarcadores reumatológicos en el grupo de individuos familiares en primer grado de consanguinidad.....	74
Ilustración 11. Comportamiento de variables de actividad articular en individuos familiares en primer grado de consanguinidad con respecto a los títulos de anticuerpos anti-FibHomo.....	84



NIVELES DE ANTICUERPOS ANTI-PROTEÍNAS CARBAMILADAS Y CITRULINADAS Y SU RELACIÓN CON ÍNDICES DE ACTIVIDAD CLÍNICA REUMÁTICA EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE TEMPRANA Y FAMILIARES EN PRIMER GRADO DE CONSANGUINIDAD DE PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE

RESUMEN EJECUTIVO

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune sistémica caracterizada por un estado de inflamación crónica y deterioro progresivo de las articulaciones. Su diagnóstico se basa en una serie de criterios clínicos y pruebas de laboratorio. Este último ítem abarca la detección del Factor Reumatoide (FR) y/o los autoanticuerpos anti-proteínas citrulinadas (anti-CCP), asociados a la actividad de la enfermedad y al pronóstico de la misma.

Sin embargo, existen grupos de pacientes con elevado daño articular y niveles indetectables de FR y/o autoautoanticuerpos anti-CCP, dificultando el diagnóstico y las opciones terapéuticas. De forma reciente se descubrieron los autoanticuerpos anti-proteínas carbamiladas (anti-CarP) asociados a esta enfermedad, los cuales permitirían tipificar la AR en estos grupos de pacientes e individuos con condiciones de riesgo, además de poder predecir el desenlace

articular. De esta manera se facilitaría el diagnóstico, así como en el tratamiento y el pronóstico.

En este estudio se midieron los niveles de autoautoanticuerpos anti-CCP. Así mismo, se midieron los niveles de autoanticuerpos frente al péptido carbamylado de fibrinógeno (empleando el péptido nativo como control), en pacientes con artritis reumatoide temprana y familiares en primer grado de consanguinidad, para establecer su asociación frente al daño reumatológico y periodontal. Los resultados resaltan la asociación entre el número de articulaciones dolorosas e inflamadas y el daño periodontal con la presencia de los anticuerpos anti-péptido de fibrinógeno carbamylado en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad. No hubo asociación entre estos autoanticuerpos y los autoautoanticuerpos anti-CCP en los pacientes con artritis reumatoide temprana. Como hallazgo adicional, se observó que los dos grupos de estudio presentan autoanticuerpos contra el péptido nativo de fibrinógeno.

En conclusión, la presencia de autoanticuerpos contra péptidos/proteínas carbamyladas están presentes en la población colombiana con artritis reumatoide temprana y familiares en primer grado de consanguinidad; asociados a manifestaciones de daño articular y periodontal. Además, la presencia de autoanticuerpos frente al péptido de fibrinógeno nativo puede ser un indicio de desarrollo de la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: Anticuerpos, artritis, autoinmunidad, carbamylación, diagnóstico.

INTRODUCCIÓN

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica sistémica y de carácter autoinmune, que involucra la inflamación de las cavidades sinoviales de las articulaciones con posterior destrucción articular. Al ser una patología autoinmune implica una condición multifactorial, en los que se involucran factores ambientales y genéticos. Su prevalencia ha sido estimada en la población adulta a nivel mundial, situándola en un 1% (1).

Al igual que otras enfermedades de esta índole, La AR se caracteriza por una alteración en la respuesta inmune con presencia de inflamación crónica y producción de autoanticuerpos. Sin embargo, el origen de la AR permanece aún desconocido, lo que genera el paradigma etiológico de la enfermedad. En la actualidad su estudio se ha centrado actualmente en aclarar todos los mecanismos involucrados en la etiopatogenia de la enfermedad dirigida específicamente a procesos desencadenantes de autoinmunidad como cambios químicos de proteínas después de que han sido sintetizadas, lo que se conoce modificaciones post-traduccionales (MPTs) de proteínas. Si bien las MPTs ocurren de manera fisiológica en el organismo, se ha estipulado que existen eventos en las que éstas podrían exacerbarse (como la inflamación crónica o contacto continuo con el cigarrillo), formando neoantígenos que conducirían a la ruptura de la tolerancia inmunológica y generando autoanticuerpos claves para el proceso de la autoinmunidad de la enfermedad (2,3).

A lo largo del tiempo se han sugerido una variedad de autoantígenos como inductores de la respuesta autoinmune en la AR, generando autoanticuerpos que han sido empleados como biomarcadores en el apoyo diagnóstico de la

enfermedad. La determinación del FR, un anticuerpo dirigido contra la fracción constante (Fc) de las inmunoglobulinas de clase IgG (4,5), y recientemente la determinación de los autoautoanticuerpos anti-CCP han marcado una alta utilidad en el apoyo diagnóstico como biomarcadores asociados a la enfermedad en grupos de pacientes con AR y grupos de individuos considerados de alto riesgo, como los familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR (Pre-AR), ya que están presentes hasta en el 70% de los pacientes y preceden el desarrollo de la enfermedad muchas años antes (6,7). No obstante, los autoautoanticuerpos anti-CCP han cobrado mayor importancia frente al FR debido a que su presencia de forma temprana en el progreso de la enfermedad y en pacientes con AR está relacionada con una alta actividad clínica, mayor daño osteoarticular y una baja probabilidad de remisión sin el uso de medicamentos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (en inglés, DMARDs), adoptando un papel predictivo en el curso de la AR (8–11). No obstante, existe un pequeño grupo de pacientes con altos índices de daño articular sin presentar autoautoanticuerpos anti-CCP (12).

De forma reciente, se encontraron un nuevo tipo de autoanticuerpos, dirigidos a proteínas carbamiladas denominados autoanticuerpos anti-proteínas carbamiladas (anti-CarP), asociados a un alto daño articular, de alto valor predictivo en el desarrollo y severidad de la enfermedad y presentes casi en un 30% de los pacientes anti-CCP negativos (13). Este hallazgo podría establecer un nuevo biomarcador permita realizar una tipificación precisa de la enfermedad en pacientes con AR que presentan títulos anti-CCP negativos e individuos Pre-AR; así mismo determinar la evolución, las opciones terapéuticas apropiadas y el pronóstico en pacientes con diagnóstico de AR temprana.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los niveles de anticuerpos anti-péptido carbamilado y citrulinado en pacientes con Artritis Reumatoide temprana e individuos familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con Artritis Reumatoide y su relación con índices de actividad reumática y periodontal, en el Hospital Militar Central de la ciudad de Bogotá.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 5.1.1 Establecer los niveles de autoanticuerpos y anti péptido citrulinado en pacientes con Artritis Reumatoide temprana y familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con Artritis Reumatoide.
- 5.1.2 Establecer los niveles de anticuerpos anti-péptido carbamilado en pacientes con Artritis Reumatoide temprana y familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con Artritis Reumatoide.
- 5.1.3 Comparar los niveles de anticuerpos anti-péptido citrulinado y anti péptido carbamilado entre pacientes con Artritis Reumatoide temprana y familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con Artritis Reumatoide.
- 5.1.4 Evaluar la asociación entre anticuerpos anti-péptido carbamilado con la actividad reumática en pacientes con Artritis Reumatoide temprana y y

familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con Artritis Reumatoide.

5.1.5 Evaluar la asociación entre anticuerpos anti-péptido carbamilado con variables periodontales en pacientes con Artritis Reumatoide temprana y y familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con Artritis Reumatoide.

2. ANTECEDENTES

El reciente hallazgo de los autoautoanticuerpos anti-CarP en AR generó un gran estímulo en la investigación sobre los biomarcadores asociados a enfermedades reumatológicas, debido a su posible capacidad predictiva y de valoración de daño articular por sobre los otros biomarcadores como los autoautoanticuerpos anti-CCP y el FR.

La primera aproximación a la producción de autoautoanticuerpos anti-CarP fue establecida por Steinbrecher, Fisher, Witztum y Curtiss (1984) al establecer la inmunogenicidad de las lipoproteínas de baja densidad alteradas por medio de MPTs. En este estudio observaron una producción de anticuerpos dirigida a los residuos derivados de Lisina por homocitrulina (generados por carbamilación, acetilación o metilación) en estas lipoproteínas u otras proteínas que presentaran dicha modificación en este aminoácido (14).

En 2010, Mydel y colaboradores establecieron la activación de Linfocitos T mediada por proteínas carbamiladas como mecanismo asociado en la patogénesis de la artritis de carácter autoinmune. Por medio de inmunizaciones en ratones con péptidos carbamilados y la transferencia de Linfocitos T y B de ratones inmunizados a ratones sanos, observaron cómo estos dos grupos desarrollaban artritis, determinando así la importancia de estas proteínas sometidas a MPTs y su inducción en la respuesta inmune celular y humoral como mecanismo clave en el desarrollo de afecciones autoinmunes (15).

En 2011, Shi et al. realizaron un estudio para determinar la presencia de anticuerpos dirigidos frente a proteínas carbamiladas en pacientes con AR, su diferencia frente a los autoanticuerpos anti-CCP y su asociación frente a las condiciones clínicas de los mismos. Para ello, inicialmente se analizaron muestras de pacientes con AR para autoanticuerpos anti-CarP y se observó una positividad del 45% para IgG y 43% para IgA. En el mismo cohorte, se observó una positividad del 16% para autoanticuerpos anti-CarP de tipo IgG y 30% para anti-CarP de tipo IgA en pacientes con autoanticuerpos anti-CCP negativo. Se compararon los niveles de autoanticuerpos anti-CarP frente al daño articular de la enfermedad y establecieron que la presencia de anti-CarP está asociada a un daño articular severo en pacientes con autoanticuerpos anti-CCP positivo y negativo, sugiriendo el papel predictivo de estos autoanticuerpos en el curso de la enfermedad (13).

En 2013, Shi et al. realizaron un estudio para establecer la presencia de estos autoanticuerpos en pacientes con síntomas articulares (artralgia) y su asociación con el desarrollo de la AR. Para ello, examinaron pacientes con historial de artralgias. Los autoanticuerpos anti-CarP se presentaron en un 39% de los pacientes, de los cuales el 51% desarrollaron AR. Además se evidencio que de aquellos pacientes que fueron negativos para anti-CCP, el 15% presentaron autoanticuerpos anti-CarP y el 40% desarrollaron AR mostrando una alta relación entre la presencia de los autoanticuerpos anti-CarP y el desarrollo a futuro de AR, además de ser una familia de autoanticuerpos independientemente de los autoanticuerpos anti-CCP y/o FR (16).

Yee y colaboradores (2014), estudiaron la presencia de autoanticuerpos anti-CarP en pacientes con AR y su relación frente a la actividad reumática y el daño articular. Para ello, determinaron la presencia y especificidad de autoanticuerpos

anti-CCP y la presencia de autoanticuerpos anti-CarP en 120 pacientes con diagnóstico de AR. La actividad reumática fue establecida empleando el *Disease Activity Score* – 28 en 80 pacientes y el daño articular fue establecido por medio del *Joint Erosion Score* en 40 pacientes. Se encontró que el daño articular en estos pacientes estaba relacionado con la presencia de autoanticuerpos anti-CarP mientras que dicha relación no se observó con respecto a la presencia/ausencia de autoanticuerpos anti-CCP. En cuanto a la actividad reumática, únicamente se presentó una asociación significativa entre ésta y la presencia tanto de autoanticuerpos anti-CCP específicos y autoanticuerpos anti-CarP, en los pacientes analizados. A partir de estos resultados, proponen que estos nuevos autoanticuerpos pueden ser un prometedor biomarcador de AR, debido la capacidad pronostica de daño articular y de actividad reumática observada durante el estudio (17).

En 2014, Shi y colaboradores realizaron un nuevo estudio para determinar la presencia y precedencia de los autoanticuerpos anti-CarP por sobre el inicio de los signos y síntomas de la enfermedad y otros biomarcadores como los anti-CCP y el FR. Se encontró una prevalencia del 38%, con un lapso de 14 años entre la primera muestra analizada y el inicio de los síntomas de la enfermedad de cada paciente. Durante este mismo lapso de tiempo, se logró determinar que la aparición de anti-CarP presenta un tiempo similar con respecto a los anti-CCP y el FR presenta una aparición más tardía frente a estos dos anteriores (18).

En 2014, Brink et al. estudiaron la presencia de autoanticuerpos anti-CarP en la fase previa y posterior al desarrollo de la AR, su relación frente a los autoanticuerpos anti-CCP específicos y frente al daño articular. Para ello se analizaron muestras de donaciones de sangre de 252 pacientes en fase pre-sintomática, quienes 192 presentaron AR, con un tiempo máximo de 13 años al

momento de la donación. Se encontró que los niveles de autoanticuerpos anti-CarP en las muestras de los pacientes en fase pre-sintomática fueron mayores con respecto a los controles y similarmente los pacientes con AR con respecto a los pacientes en fase pre-sintomática. Se compararon los porcentajes de positividad de las muestras con respecto a los autoanticuerpos anti-CarP y a autoanticuerpos anti-CCP, estableciendo un aumento del porcentaje de positividad para autoanticuerpos anti-CarP conforme avanzaba el tiempo hacia el inicio de los signos y síntomas de la enfermedad, independientemente de los autoanticuerpos anti-CCP. Finalmente se observó una asociación entre los autoanticuerpos anti-CarP y el daño articular, independiente de la positividad o negatividad de los autoanticuerpos anti-CCP (19).

En 2014, Jiang et al. realizaron la determinación y comparación la presencia de autoanticuerpos anti-CarP frente a los autoanticuerpos anti-CCP y su relación frente a factores de riesgo ambientales (tabaquismo) y genéticos (presencia de los alelos *HLA DRβ1* y *PTPN22*) en pacientes con AR. Para ello se estudiaron dos cohortes de pacientes con AR, en los cuales se detectó autoanticuerpos anti-CarP tanto en los pacientes con autoanticuerpos anti-CCP positivos, como en un segmento de pacientes que presentaban negatividad para anti-CCP. Sin embargo, los resultados no arrojaron una relación significativa entre la presencia de autoanticuerpos anti-CarP y los factores de riesgo estudiados, sugiriendo que pueden existir mecanismos específicos que involucren a los factores de riesgo y la producción específica de autoanticuerpos anti-CarP o anti-CCP(20).

En 2015, Gan y colaboradores realizaron un estudio para determinar la presencia de autoanticuerpos anti-CarP y su relación con el desarrollo de AR. Para ello emplearon las muestras de suero de 76 pacientes en etapa previa al diagnóstico de AR almacenadas en el Centro Médico Militar Walter Reed y 41 controles.

Midieron autoanticuerpos anti-CarP dirigidos contra suero fetal bovino y fibrinógeno carbamylado, anti-CCP2 y los isotipos de FR (IgM, IgG e IgA). Los resultados demostraron la presencia y un porcentaje de sensibilidad/especificidad del 26%/16% y 95%/95% de autoanticuerpos anti-CarP dirigidos contra suero fetal bovino y fibrinógeno carbamylado, demostrando la presencia de estos anticuerpos en etapas previas al establecimiento de AR, incluso en pacientes con anti-CCP2 negativo y FR positivo. La comparación realizada en cuanto a la precisión diagnóstica que podría otorgar la adición de este nuevo autoanticuerpo al panel de anticuerpos de AR (anti-CCP y FR), se observó que no hay una diferencia significativa. A pesar de esto, se alude la presencia de autoanticuerpos anti-CarP con el desarrollo a futuro de la AR, incluso en pacientes con presencia/ausencia de anti-CCP y/o FR (21).

En 2015, Shi et al. estudiaron la especificidad de los autoanticuerpos anti-CarP para el diagnóstico de AR. Para ello, detectaron la presencia de autoanticuerpos anti-CarP además de autoanticuerpos anti-CCP2 y FR IgM en una cohorte de 2086 pacientes con diagnóstico de artritis, 969 de éstos con diagnóstico de AR. Se encontró una sensibilidad y especificidad de los autoanticuerpos anti-CarP, anti-CCP y FR IgM de 44%/89%, 54%/96% y 59%/91% respectivamente en dichos pacientes con AR, demostrando la presencia de estos nuevos autoanticuerpos en desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, encontraron que estos anticuerpos estaban presentes en pacientes que presentaban otros tipos de artritis, estableciendo que estos anticuerpos son predominantes en la AR pero pueden encontrarse en otras patologías asociadas a daño articular (22).

En 2015, Alessandri y colaboradores estudiaron la presencia de autoanticuerpos anti-CarP en individuos familiares sanos en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR y su asociación con los otros biomarcadores. Para ello

analizaron las muestras de 141 familiares de 63 pacientes con AR y 56 sujetos sanos como controles. El 46% de los pacientes con AR presentaron autoanticuerpos anti-CarP, así como el 9.2% de los individuos familiares en primer grado de consanguinidad y el 1.7% de los sujetos control. Sin embargo, en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad no se observaron asociaciones entre estos anticuerpos y los autoanticuerpos anti-CCP y RF(23).

En 2016, Koppejan et al. compararon la presencia de autoanticuerpos anti-CarP frente a los autoanticuerpos anti-CCP establecieron los niveles de autoanticuerpos anti-CCP y su asociación junto con el FR en el desarrollo de la enfermedad en pacientes con AR, sus respectivos familiares en primer grado de consanguinidad y controles sanos, todos oriundos de Norteamérica. Para ello analizaron las muestras de 95 pacientes con AR, 109 familiares en primer grado de consanguinidad y 85 controles sanos. Los resultados demostraron una mayor prevalencia de autoanticuerpos anti-CarP en pacientes con AR (44.3%) frente a sus familiares en primer grado de consanguinidad (18.3%). De manera similar, los familiares en primer grado de consanguinidad presentaron una mayor prevalencia de autoanticuerpos anti-CarP (18.3%) con respecto a los controles sanos (4.7%). En cuanto a los niveles de autoanticuerpos anti-CCP, éstos fueron significativamente mayores en los pacientes con AR que en sus respectivos familiares en primer grado de consanguinidad y los controles sanos. Finalmente, lograron establecer una fuerte asociación entre el desarrollo de AR en pacientes que presentaron los 3 tipos de autoanticuerpos: FR, anti-CCP y anti-CarP (24).

En 2016, Reed y colaboradores analizaron la especificidad de los autoanticuerpos anti-CarP y anti-CCP frente a la α -enolasa, en el marco de la AR. Por medio de Western Blot se midió la reactividad cruzada frente a las proteínas α -enolasa citrulinada y homocitrulinada empleando autoanticuerpos anti-CCP purificados y

en un cohorte de 2836 pacientes con AR y 373 controles, y su relación con los factores de riesgo ambientales y genéticos (tabaquismo y la presencia de los alelos *HLA DRβ1* y *PTPN22*). Se encontró que los autoanticuerpos anti-CCP purificados presentaron reactividad cruzada frente a las proteínas α-enolasa citrulinada y homocitrulinada, mientras que en el cohorte de pacientes hubo reacción tanto en las proteínas α-enolasa citrulinada y homocitrulinada. Sin embargo, un grupo de pacientes presentó únicamente reactividad en la proteína homocitrulinada. En los resultados obtenidos no se observó una relación significativa entre los factores de riesgo y los autoanticuerpos anti-CarP en los pacientes, y sugieren que la reactividad cruzada observada podría ser generada debido a que los autoanticuerpos anti-CarP son posiblemente un subgrupo de los autoanticuerpos anti-CCP (25).

En 2016, Montes et al. estudiaron la reproducibilidad de la medición de autoanticuerpos anti-CarP en el diagnóstico de AR. Para ello, realizaron la determinación de autoanticuerpos anti-CarP en 520 pacientes con diagnóstico de AR y 278 controles, todos ellos de ascendencia española. De igual manera se tuvieron en cuenta los factores de riesgo ambientales y genéticos (tabaquismo y la presencia de los alelos *HLA DRβ1* y *PTPN22*) asociados al desarrollo de AR. Los resultados fueron concordantes con los obtenidos en otros estudios realizados en Europa, incluyendo la ausencia de una relación significativa entre los factores de riesgo ambiental y genético y la presencia de autoanticuerpos anti-CarP. Además, se observó una asociación entre los autoanticuerpos anti-CarP y una mayor prevalencia de daño óseo (10.5%). Finalmente, sugieren que estos resultados permiten establecer la reproducibilidad de la determinación de autoanticuerpos anti-CarP como un prometedor biomarcador de AR (26).

3. MARCO TEÓRICO

3.1. DEFINICIÓN DE ARTRITIS REUMATOIDE

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad que involucra la pérdida de la tolerancia inmune, la inflamación crónica de la cavidad sinovial que conlleva a la hiperplasia local, la destrucción del cartílago y hueso de las articulaciones generando deformidades en las mismas, y la producción de autoanticuerpos como FR y anti-CCP; con una prevalencia aproximada del 1% en los adultos a nivel mundial, afectando en mayor medida a las mujeres. Su padecimiento se asocia con una discapacidad progresiva, complicaciones sistémicas (que incluyen trastornos cardiovasculares, pulmonares, esqueléticos y psicológicos), muerte prematura, y altos costes de índole socioeconómicos. Su causa es desconocida, y su pronóstico, reservado. Las membranas sinoviales de las articulaciones de manos y pies son las primeras estructuras en afectarse y el daño progresivo conduce a la pérdida funcional, deformación articular y dolor crónico (1,27,28).

Los avances en la comprensión de su patogénesis han permitido asociar factores de riesgo como la susceptibilidad genética y las condiciones ambientales, así mismo como la respuesta inmune innata y adaptativa del hospedero.(27,28). Este último destaca por ser relevante al momento de presentarse la desregulación del sistema inmunológico al detectar moléculas propias del hospedero como extrañas (autoantígenos) y así mismo generando autoanticuerpos. En el caso de las enfermedades autoinmunes órgano-específicas involucran uno o más autoantígenos, como es el caso de la AR (29). Se ha postulado que las modificaciones post-traduccionales de las proteínas del hospedero están involucradas en la generación de estos autoantígenos, que pueden desencadenar

la pérdida de la tolerancia inmunológica. Así mismo, estos autoanticuerpos están relacionados con el desarrollo de la enfermedad y pueden emplearse como biomarcadores diagnósticos de la misma (13,29–33).

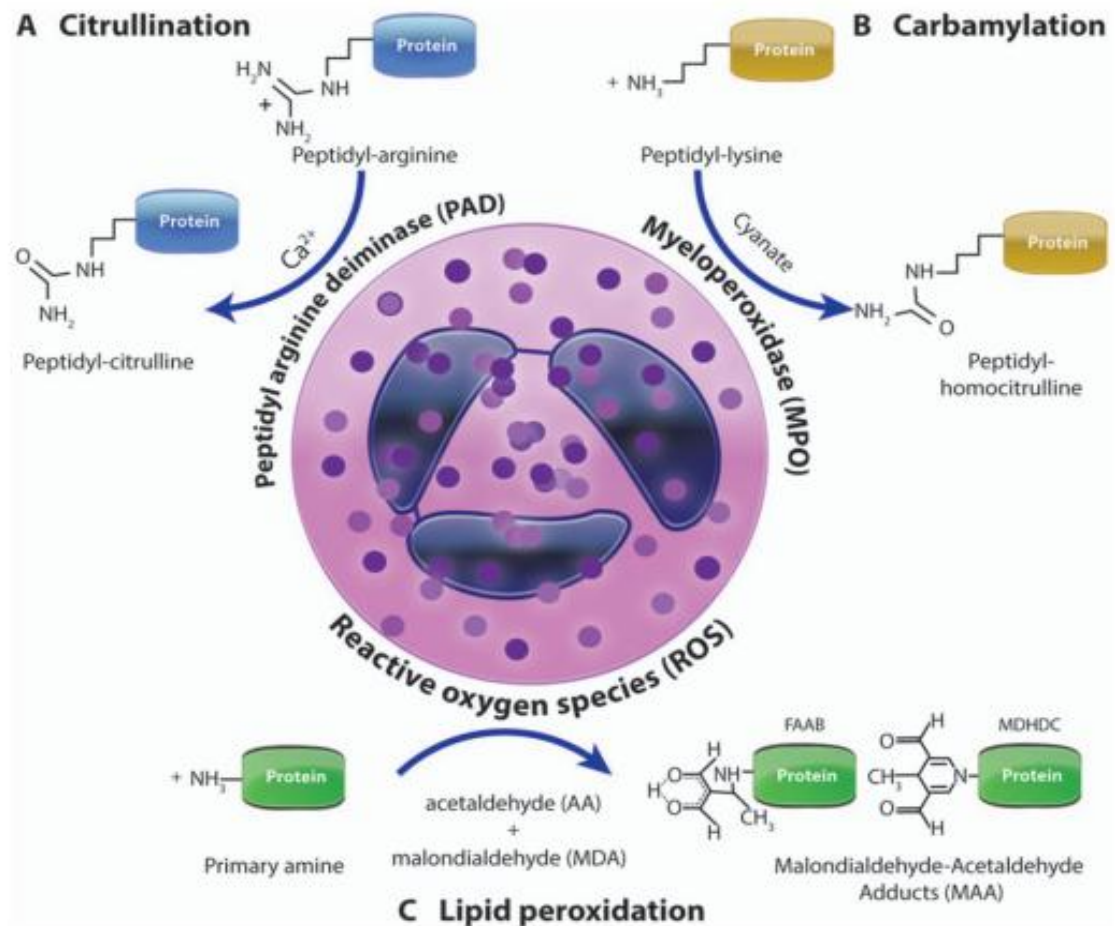
Las modificaciones post-traduccionales (MPTs) son reacciones químicas que pueden ser mediadas o no por enzimas, para modificar los aminoácidos presentes en una proteína, lo que incidirá en su estructura, funcionamiento y/o vida media. Hay varias formas de alterar dichos aminoácidos, como la glicosilación, ubiquitinación, citrulinación, metilación y acetilación, que son de carácter fisiológico y ocurren constantemente en el organismo para mantener la homeostasis. Sin embargo, otras MPTs pueden ocurrir durante el contacto con elementos foráneos (en el caso de las infecciones) o el daño ambiental ocasionado por la exposición a sustancias químicas o a los rayos UV. Estas incluyen la carbamilación, acetilación, etilación o metilación, las cuales alteran en gran medida la inmunogenicidad de las proteínas al formar antígenos crípticos, y producir anticuerpos frente a estas secuencias de aminoácidos modificados (14,29,34).

La inflamación crónica, característica de la AR (y otras patologías autoinmunes), juega un papel primordial en el desarrollo de eventos, como las MPTs a las proteínas, proporcionando una fuente de neoantígenos que pueden ser reconocidos como no propios del organismo. En situaciones de estrés (como la inflamación *per se*), todos los tipos de respuestas fisiológicas se pueden alterar y favorecer la sobreexpresión de MPTs (29,35).

A la fecha, se han identificado tres MPTs capaces de inducir la formación de autoanticuerpos descritos en la AR: la citrulinación, con la formación de autoanticuerpos anti-CCP, que son los autoanticuerpos más conocidos y base del

diagnóstico de la enfermedad; la oxidación, induciendo el desarrollo de autoanticuerpos al colágeno tipo II modificado y recientemente la carbamilación, con la producción de autoanticuerpos anti-CarP (36).

Ilustración 1. Las MPTs asociadas al desarrollo de AR. El neutrófilo, como actor principal en la inflamación, posee elementos los cuales pueden estimular dichas modificaciones en las proteínas y generar la pérdida de tolerancia.



Tomado de Darrah E, Andrade F. Editorial: Citrullination, and carbamylation, and malondialdehyde-acetaldehyde! oh my! entering the forest of autoantigen modifications in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67(3):604–8.

Se ha establecido el carácter multifactorial de AR la cual involucra factores de riesgo, sin embargo se desconoce cuál de ellos actúa como desencadenante o *trigger* de la enfermedad. El grupo de estudio para factores de riesgo en AR fue establecido por EULAR para facilitar la investigación tanto en el estadio preclínico como en la fase temprana de la enfermedad. En 2012, se realizó un informe donde se establecen los términos a emplear y las recomendaciones descritas para definir los subgrupos de individuos durante las diferentes etapas de la enfermedad (37).

Los miembros del comité recomendaron que en estudios prospectivos, los individuos sin AR deben estar circunscritos en las siguientes categorías: factores genéticos, factores ambientales, autoinmunidad sistémica relacionada con AR, síntomas clínicos sin AR, y artritis no clasificada; estos pueden ser usados de manera combinada (37). El prefijo “Pre AR” puede ser usado en cualquiera de esas combinaciones de las cinco categorías pero únicamente para describir retrospectivamente una fase en un individuo que ha progresado una vez que se desarrolle AR (37). De otro lado, Se consideran pacientes con AR temprana aquellos individuos quienes cumplan con criterios de clasificación de la ACR/EULAR de 2010, con evolución de menos de 2 años (38).

3.2. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

3.2.1. Manifestaciones articulares.

Esta enfermedad puede afectar prácticamente cualquier articulación sinovial en el cuerpo. Comúnmente, las primeras articulaciones en afectarse son las de las manos y pies, seguido de las muñecas, rodillas, codos, tobillos y hombros. Su aparición es lenta y los síntomas pueden incluir dolor y rigidez leve. Conforme se desarrolla la enfermedad se observa atrofia articular, con consecuente hiperplasia

y deformación articular, debido a la destrucción del tejido óseo y cartilaginoso (39).

3.2.2. Manifestaciones extra articulares.

Entre las manifestaciones extra articulares, se encuentran(39):

- Nódulos cutáneos, vasculitis cutánea.
- Pericarditis, arterioesclerosis prematura.
- Efusiones pleurales, bronquiolitis obliterante.
- Queratoconjuntivitis sicca, escleritis
- Mielopatía cervical, neuropatía periférica.
- Anemia, trombocitopenia, linfadenopatía.
- Amiloidosis, vasculitis renal.
- Osteoporosis.

3.3. FACTORES DE RIESGO

3.3.1. Genéticos.

En 1987, se observaron los alelos de los Antígenos Leucocitarios Humanos (en inglés, HLA) *HLA-DRβ1*, los cuales presentan una secuencia motivo en las posiciones 72 a 74 RAA (Arginina, Alanina, Alanina) y actúan como una unidad funcional que se denomina epítipo compartido (en inglés, SE) (40). Se ha asociado la presencia de este epítipo compartido con una predisposición significativa de desarrollar AR con autoanticuerpos anti-CCP positivos (41). La interacción genético-ambiental entre el tabaquismo y el epítipo compartido ha demostrado tener un efecto dosis-dependiente en algunos estudios, con un riesgo 40 veces mayor de desarrollar la enfermedad en pacientes con autoanticuerpos anti-CCP positivos y además fumadores activos, quienes poseían el gen del SE de

manera homocigota. No obstante, esta sigue siendo una teoría y los resultados de los estudios hasta ahora realizados no son del todo concluyentes (42–44).

Adicional a ello, los estudios de asociación del genoma completo (en inglés, GWAS), han permitido identificar más de 100 polimorfismos de un único nucleótido (en inglés, SNPs) presentes en loci que aportan un factor de riesgo genético para padecer AR y sin asociación al HLA (45). Entre los principales se encuentran:

- El polimorfismo del gen *PADI4*, identificado en mayor medida en población japonesa debido a la características genéticas propias de la población e influencia de factores ambientales como el tabaquismo (46,47). *PADI4* pertenece a la familia de genes que codifican las enzimas peptidil-arginin deiminasa (PAD) encargadas de la citrulinación de proteínas y posible origen de la pérdida de tolerancia inmunológica (48). Se ha encontrado que los pacientes con AR que presentan SNPs en este gen poseen transcritos más estables en comparación a los que no lo poseen (49), lo que podría potenciar la expresión de la enzima *PADI4* y así mismo la generación de MPTs que conducirían a la AR (47).
- El SNP en el gen *PTPN22*, que genera el alelo *PTPN22*620W*, el cual se ha observado principalmente en personas de ascendencia europea (50). Hoy día es considerado como factor predisponente para desarrollar numerosas enfermedades autoinmunes además de AR como diabetes mellitus tipo I, tiroiditis de Hashimoto y Lupus Eritematoso Sistémico (LES) (51). Este gen codifica una tirosin-fosfatasa presente en los linfocitos T y B (52). Esta enzima está involucrada en una cascada de segundos mensajeros que pueden atenuar la señalización de los TCR, aunque se desconocen los mecanismos por los cuales este polimorfismo induce a la autoinmunidad (53). Se ha propuesto que esta tirosin-fosfatasa permitiría el escape de linfocitos T autorreactivos antes de ser eliminados en el timo o

que la cascada de señales inducida por esta enzima por esta podría interferir con la acción de los linfocitos Treg y estimulando la pérdida de tolerancia inmunológica (47).

- Los SNPs en el gen *TNFAIP3*, asociados al desarrollo de AR (54). Este gen codifica una enzima que participa en la ubiquitinación, muy importante en el *feedback negativo* de la señalización por NF- κ B (55). Las dos variantes identificadas de esta enzima están asociadas a una disfunción enzimática y una reducción en la expresión de la misma, conllevando a la pérdida de homeostasis y generando la enfermedad (55–57).
- Los SNPs del gen *STAT4*, reportados en población europea y asociados a otras enfermedades autoinmunes como LES y Síndrome de Sjögren (SS) (58). El gen *STAT4* pertenece a la familia *STAT* que codifica factores de transcripción que inducen cascadas de señalización asociada a diversas citocinas proinflamatorias (59). Esta familia está involucrada en la diferenciación de los perfiles linfocitarios proinflamatorios Th1, Th2 y Th17, donde las variantes de *STAT4* están asociadas a la diferenciación continua de linfocitos Th1, involucrados en las alteraciones inmunológicas de tipo autoinmune (45), generando un factor predisponente para desarrollar autoinmunidades.
- El SNP del gen *CCR6*, observado en población japonesa (60), el cual aumenta la actividad transcripcional de este gen y mejora la actividad de la proteína (45), que se sugiere tiene una actividad conjunta con los linfocitos Th17 en la patogénesis de la artritis reumatoide y la producción de IL-17a en dicha enfermedad (45,61).

3.3.2. Enfermedad periodontal (EP) y *Porphyromonas gingivalis*.

La periodontitis, como principal enfermedad periodontal, está relacionada con enfermedades de carácter sistémico como el cáncer pancreático, diabetes mellitus, arterioesclerosis, infarto agudo de miocardio, eventos cerebrovasculares, osteoporosis, enfermedad de Alzheimer, problemas gestacionales, entre otras (62).

Teniendo esto en cuenta, la relación entre la AR y la periodontitis empezó a discutirse hace aproximadamente 50 años (63), ya que comparten características como el daño óseo, la inflamación crónica, la presencia del alelo *HLA-DRβ1* en los pacientes afectados y, aunque no hay una relación específica entre estas dos enfermedades, se ha reportado una mayor prevalencia de periodontitis en pacientes con AR (64). Esto sumado a los estudios epidemiológicos realizados que destacan la asociación entre la enfermedad periodontal y la AR, los cuales demuestran la alta probabilidad de los pacientes con enfermedad periodontal en desarrollar AR y viceversa, independientemente de las condiciones de higiene oral de los pacientes que padecen dicha enfermedad autoinmune (65–71).

P. gingivalis ha sido ampliamente reconocido como patógeno periodontal cuya presencia es baja o nula en pacientes sanos, mientras que en pacientes con formas severas de la enfermedad su presencia es mucho mayor. En estudios con modelos animales, *P. gingivalis* actúa como patógeno clave en la formación de una microbiota patógena, componente que dentro del microbioma oral normal es el más pequeño (72). *P. gingivalis* posee una amplia variedad de factores de virulencia en los que se encuentran las fimbrias, la capsula de exopolisacáridos, el lipopolisacárido atípico y enzimas degradantes como las cistein-proteasas (73). Estas enzimas son conocidas como *gingipaínas* y poseen una actividad proteolítica similar a la tripsina, están asociadas con el daño tisular y la alteración inmunológica presentes en la enfermedad periodontal (74–76).

Recientemente se identificó a *P. gingivalis* como el único agente infeccioso en el hombre capaz de sintetizar la enzima análoga a la PAD humana, conocida como PPAD, con la capacidad de citrulinar proteínas (77,78). Sin embargo, la enzima PAD humana y PPAD se diferencian en ciertos aspectos, como por ejemplo, esta última requiere de un pH alcalino y no es dependiente de los niveles de Calcio para activarse. La enzima PPAD tiene la capacidad de catalizar la citrulinación de los residuos de arginina C-terminal y deaminar la arginina libre, contrario a la enzima PAD humana (79,80).

También se logró establecer que este periodontopatógeno es capaz de realizar el proceso de citrulinación ya sea, por medio de las enzimas PPAD, o por medio de las enzimas PAD del hospedero. Las enzimas *gingipainas* de *P. gingivalis* generan el sustrato de las enzimas PPAD al cortar los residuos de arginina de las proteínas, lo que sugiere un sistema integral metabólico de este microorganismo (79). A pesar de desconocer la función fisiológica de las enzimas PPAD, se ha observado su capacidad de inactivar hemaglutininas, siendo un posible método para obtener nutrientes provenientes de los vasos sanguíneos de manera continua (81).

Se ha propuesto que esta bacteria puede estimular la activación de las enzimas PAD humanas por medio del aumento de las concentraciones intracelulares de Calcio (81,82). Adicional a ello, se ha propuesto que puede estimular la citrulinación local gracias a la inducción de la infiltración de neutrófilos activados y trampas extracelulares de neutrófilos (en inglés, NETs), producto de la infección al tejido periodontal (83). Las NETs son fibras extracelulares en forma de red que atrapan tanto bacterias como hongos (84,85) cuya formación requiere la citrulinación de histonas para la descondensar y desempaquetar la cromatina y así poder estructurar las fibras, mediada por la enzima PAD derivada de los neutrófilos (PAD-4) (86). Es así que la exposición constante de la enzima PAD-4

en dicho tejido como componente de la respuesta leucocitaria a la invasión bacteriana puede inducir el aumento de la citrulinación de proteínas más allá de las histonas de los neutrófilos (83).

Estas posibles vías de generación de autoantígenos, junto con la capacidad de citrulinación de proteínas propias de la bacteria, se consideran como fuentes potenciales en la producción de autoantígenos que podrían desencadenar la enfermedad. Estas evidencias en conjunto sugieren una influencia de la enfermedad periodontal y la AR entre sí mediada por la citrulinación, accionada por *P. gingivalis* (81–83).

3.3.3. Ambientales.

El tabaquismo es un conocido factor de riesgo ambiental en el desarrollo de AR, y hay estudios que demuestran una interacción genético – ambiental (87). En un estudio se detectaron proteínas citrulinadas en lavado de células broncoalveolares en un 13.75% de pacientes no fumadores, en comparación con un 28.5% de los pacientes fumadores, incluyendo un aumento de la expresión broncoalveolar de la enzima PAD-2 (88,89), aumentando las posibilidades de generar autoantígenos citrulinados. El estudio de casos control dentro del marco de la investigación epidemiológica de la enfermedad, demostró una asociación entre los alelos del epítipo compartido y el tabaquismo(90). Otros estudios confirman la asociación entre este hábito y el desarrollo de AR con la producción de autoanticuerpos anti-CCP (88,89,91–93).

Así, la exposición del organismo al cigarrillo a largo plazo induce una respuesta inflamatoria crónica pulmonar, la cual a su vez induce la sobreexpresión de la enzima PAD en los macrófagos presentes en dicha cavidad, induciendo un aumento de la actividad PAD y la producción de péptidos citrulinados. El

tabaquismo causa no solo un aumento en la actividad de la enzima PAD-2 sino que también en la colonización periodontal por parte de *P. gingivalis*, quien posee las enzimas PPAD (83).

3.4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD EN COLOMBIA.

En Colombia, son pocos los estudios realizados que permitan establecer prevalencia de la AR en el país. Entre ellos, hay un estudio realizado en el pacífico colombiano con habitantes afrodescendientes, donde se estimó una prevalencia del 0.01% (94). Un estudio realizado con la información obtenida en el Registro de Información de Prestación de Servicios de Salud (RIPS), se estableció la prevalencia de la enfermedad en 0.9%, con una mayor presentación en mujeres (95). Otro estudio realizado con los datos de pacientes con AR, obtenida en la base de datos de pacientes de las Empresas Promotoras de Salud (EPS) suscritas al Sistema General de Seguridad Social en Salud (SGSSS), presentó una prevalencia de la enfermedad en un 0.15% (96).

Los principales factores que influyen al momento de realizar estudios que permitan establecer el carácter epidemiológico de esta enfermedad en Colombia son en el acceso y la prestación de los servicios de salud por parte del Gobierno Nacional por medio del SGSSS y las entidades prestadoras del servicio o EPS, así como las condiciones socioeconómicas y culturales de los pacientes (97).

3.5. DIAGNÓSTICO

No existe un hallazgo físico o en el laboratorio que sea patognomónico de la enfermedad y permita estipular la presencia de AR de manera certera. Es por ello que debe realizarse un estudio conjunto tanto de la presentación clínica como de biomarcadores para poder clasificar correctamente la enfermedad entre otras artropatías(39).

3.5.1. Biomarcadores.

Los biomarcadores asociados a la enfermedad y que hacen parte de los criterios de clasificación de la AR son:

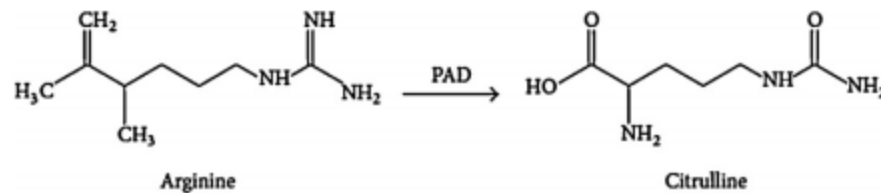
3.5.1.1. Anticuerpos anti-proteínas citrulinadas (anti-CCP).

Los autoanticuerpos anti-CCP representan una familia de autoanticuerpos, siendo el isotipo IgG, el anticuerpo asociado con AR. A la fecha, son el marcador serológico más específicos y de alto valor predictivo de la enfermedad, además se encuentran asociados a resultados clínicos más severos y de peor pronóstico (7,98,99). Es por ello fueron incorporados por la ACR/EULAR en 2010 al panel de criterios para la clasificación de AR (38,100–102).

El antígeno o antígenos que desencadenan la reacción inmune reconocida por los autoanticuerpos anti-CCP provienen de la MPT conocida como citrulinación (100). La citrulinación es un evento fisiológico normal del organismo que consiste en la modificación enzimática del aminoácido arginina en citrulina, resultando en un cambio en el peso molecular y el punto isoelectrico (pI) del aminoácido. El pI de la arginina y la citrulina es 11.41 y 5.91 respectivamente. Este cambio altera características propias de la proteína, como la capacidad de formar puentes de hidrógeno o las interacciones con otros residuos de aminoácidos, lo que afecta su

estructura conformacional y su vida media (103,104). La citrulinación está involucrada en procesos como en la diferenciación epidérmica, inflamación, apoptosis, funcionalidad del sistema inmunológico, aislamiento neuronal y plasticidad del sistema nervioso central; mediada por las enzimas PAD (35,105).

Ilustración 2. Mecanismo de citrulinación mediado por las enzimas PAD.



Tomado de: Cantagrel A, Degboé Y. New autoantibodies associated with rheumatoid arthritis recognize posttranslationally modified self-proteins. *Joint Bone Spine* [Internet]. 2015; 83(1):11–7.

Existen 6 isoformas de la enzima PAD (PAD-1, PAD-2, PAD-3, PAD 4/5, PAD y PAD-6), expresadas fisiológicamente en diversos tejidos, con funciones diferentes y dependientes de los niveles de Calcio (aunque se ha visto que los estrógenos también están involucrados (106)). La enzima PAD-1 se expresa en el tejido epidérmico y uterino. La enzima PAD-2 se encuentra en los tejidos hematopoyético, nervioso central y musculoesquelético. La enzima PAD-3 se expresa en el folículo piloso. La enzima PAD-4/5 está presente en bazo, glándulas secretoras, neutrófilos y eosinófilos y la enzima PAD-6 se expresa en diversos tejidos como hígado y pulmones (80,81).

Teniendo en cuenta las alteraciones a nivel celular y molecular que generan las situaciones de estrés fisiológico como la inflamación (29,35); en este caso específico se pueden dar lugar a eventos de citrulinación continua y generación de

proteínas citrulinadas, ocasionando la pérdida de tolerancia en pacientes con susceptibilidad genética, generando autoanticuerpos de tipo anti-CCP (34).

Varias proteínas citrulinadas han sido identificadas como antígenos blanco de los autoanticuerpos anti-CCP en la AR (como el colágeno, fibrinógeno, vimetina, enolasa, etc.), algunas de ellas presentes en la cavidad sinovial. (107–111) Así mismo se ha encontrado que en esta zona se expresan las enzimas PAD-2 y PAD-4, siendo esta última relacionada con la formación de autoantígenos (34,112,113), lo que explicaría el daño articular en pacientes que presentan estos autoanticuerpos y es por ello se ha asociado la citrulinación con esta enfermedad autoinmune.

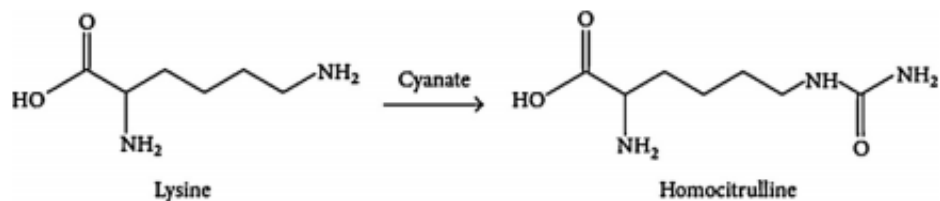
La técnica establecida para la detección de los autoanticuerpos anti-CCP es el ensayo inmunoenzimático conocido como ELISA de tipo sándwich, que emplea una placa de 96 pocillos como fase sólida, los cuales están recubiertos en su interior de un péptido citrulinado como antígeno. Estos antígenos formarán complejos inmunes con los autoanticuerpos anti-CCP presentes en el suero del paciente que podrán detectarse por medio de una reacción secundaria con un segundo anticuerpo dirigido contra la porción Fc de los anticuerpos humanos, marcado con una enzima y agregando su correspondiente sustrato para generar una reacción colorimétrica. Desde el hallazgo de estos autoanticuerpos y hasta la fecha, se han desarrollado kits de ELISA de “primera, segunda y tercera generación”. La principal diferencia entre esos ensayos reside en los antígenos empleados para detectar autoanticuerpos anti-CCP, cuyo valor diagnóstico fue establecido al demostrar la importancia de usar péptidos citrulinados apropiados (107,114,115), aumentando la sensibilidad de la prueba sin disminuir su especificidad.

3.5.1.2. Anticuerpos anti-proteínas carbamiladas (anti-CarP).

Aunque actualmente no hacen parte del panel serológico para el diagnóstico de la AR, los autoanticuerpos anti-CarP fueron descritos por Shi et al. en pacientes con AR que presentaban altos índices de daño articular y ausencia de autoanticuerpos anti-CCP, postulándose como prominentes biomarcadores de esta enfermedad (13). Sin embargo, ya existía información acerca de la producción de estos autoanticuerpos y su posible asociación a enfermedades, inducidos por la MPT conocida como carbamilación (14).

La carbamilación es una MPT fisiológica no enzimática e irreversible de proteínas, lípidos, péptidos y aminoácidos (116), que ocurre de manera ubicua en presencia de cianato (29). Consiste en la unión de este metabolito a los grupos amino libre de las proteínas, transformando los residuos de lisina en homocitrulina (36). La principal fuente de cianato es la urea, aunque posee otras fuentes, como lo son las moléculas derivadas como el tiocianato que proviene del metabolismo fisiológico del cianuro ingerido en los alimentos, así como del tabaquismo (117,118). En condiciones normales, la urea y el cianato están presentes en los líquidos corporales y en equilibrio, a concentraciones demasiado bajas como para inducir alteraciones proteicas (36). A pesar de ello, es posible detectar trazas de proteínas carbamiladas en pacientes sanos (119,120).

Ilustración 3. Mecanismo de carbamilación mediado por la presencia de cianato.

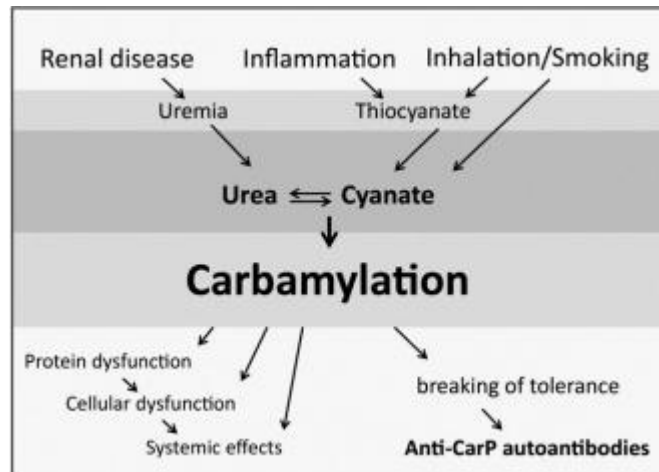


Tomado de: Cantagrel A, Degboé Y. New autoantibodies associated with rheumatoid arthritis recognize posttranslationally modified self-proteins. Joint Bone Spine [Internet].

2015; 83(1):11-7.

En patologías como la falla renal, la carbamilación puede inducirse debido al aumento de los niveles plasmáticos de urea. Así mismo, durante la inflamación se puede estimular la carbamilación gracias a los procesos mediados por la enzima mieloperoxidasa de los neutrófilos (MPO) (121,122). Los neutrófilos pueden producir cianato a partir de la oxidación del tiocianato empleando peróxido de Hidrógeno (H_2O_2) y la MPO para generar hipocianato, y así mismo este es capaz de disociarse en cianato y otros iones (122,123). Adicionalmente, la reacción enzimática catalizada por la MPO entre el H_2O_2 y el ión Cloruro genera una serie de reacciones en cadena que finalizan en el aumento de los niveles de cianato (122,124). De acuerdo con las características que comparten la AR y la carbamilación (inflamación crónica, tabaquismo), se ha postulado que la potencial carbamilación excesiva, sería una nueva fuente de neoantígenos que podrían romper la tolerancia inmunológica en pacientes con susceptibilidad genética y desencadenar la enfermedad autoinmune.

Ilustración 4. Causas y consecuencias de la carbamilación.



Tomado de: Shi J, van Veelen PA, Mahler M, Janssen GMC, Drijfhout JW, Huizinga TWJ, et al. Carbamylation and antibodies against carbamylated proteins in autoimmunity and other pathologies. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2014;13(3):225–30

La técnica para detectar autoanticuerpos anti-CarP fue diseñada inicialmente por Shi y colaboradores en 2011 empleando el ensayo inmunoenzimático ELISA con características al ensayo para detectar autoanticuerpos anti-CCP, con excepción del anclaje de antígenos carbamilados a su fase sólida (13). Debido al reciente interés por investigarlos, la evaluación de autoanticuerpos anti-CarP en el contexto de la artritis reumatoide apenas está emergiendo (125,126).

3.5.1.3. Factor Reumatoide (FR).

El FR hace parte de una familia de autoanticuerpos dirigidos contra la porción Fc de la IgG (127). Son producidos de manera local por los Linfocitos B presentes en estructuras similares a ganglios linfoides y folículos germinales que se forman en las cavidades sinoviales inflamadas de pacientes con AR (128,129). El isotipo IgM ha sido el principal asociado en AR, siendo detectado en el 60-80% de estos pacientes (130), por ello ha sido catalogado como el marcador más importante en el diagnóstico de la enfermedad y así mismo fue incluido por el ACR en sus criterios de clasificación en 1987 (131).

Sin embargo, el mecanismo que estimula su producción no está dilucidado (132) y es posible observar el FR tanto en enfermedades autoinmunes (LES, SS y enfermedades mixtas del tejido conectivo) como en infecciones crónicas (como la tuberculosis) e incluso de manera natural conforme avanza la edad (130).

La técnica empleada para la determinación del FR es la nefelometría cinética, la cual consiste en la detección de la parte de la luz que es dispersada en una variedad de ángulos al atravesar una suspensión. Al suero del paciente se le agregará un anticuerpo dirigido contra el factor reumatoide el cual en caso positivo formará un agregado, sobre el cual un láser detectará y generará dispersión de la luz, la cual puede ser cuantificada.

3.5.2. Evaluación de la actividad reumática.

3.5.2.1. *Disease Activity Score 28 – DAS28.*

Este procedimiento se basa en los recuentos de 28 articulaciones dolorosas (NAD28) y tumefactas (NAT28), velocidad de sedimentación globular y evaluación global de la salud efectuada por el paciente (EGP) sobre una escala analógica visual donde (0) indica que el paciente se encuentra muy bien y (44) muy mal. Se debe tener en cuenta que la escala que se utiliza es analógica y por tanto hay que convertir las puntuaciones de las escalas numéricas que van de 1 a 10 en sus correspondientes valores de 1 a 100 para el adecuado cálculo del índice. Es el que recomienda la EULAR. El cálculo se realiza a partir de la siguiente fórmula: $DAS28 = 0.56 (\sqrt{NAD28}) + 0.28 (\sqrt{NAT28}) + 0.70 (\ln VSG) + 0.014 (EGP)$, en la cual el DAS28 es igual a 0,56 por la raíz cuadrada del número de articulaciones dolorosas del recuento de 28 articulaciones más 0,28 por la raíz cuadrada del número de articulaciones tumefactas del recuento de 28 articulaciones más 0,70 por el logaritmo neperiano de la velocidad de sedimentación más 0,014 por la valoración global del paciente. También se puede emplear el valor de la proteína C reactiva (PCR) en reemplazo de la VSG.

3.5.2.2. Proteína C reactiva (PCR) y la velocidad de sedimentación globular (VSG).

Estos dos parámetros han mostrado una alta utilidad en la evaluación de la actividad clínica reumática en los pacientes con AR (133). La VSG consiste en la sedimentación de los eritrocitos, influenciada por las proteínas plasmáticas (también conocidas como reactantes de fase aguda en las que se encuentran proteínas como el fibrinógeno) que reducen las fuerzas electrostáticas negativas entre ellos (134). Introducida en la década de 1920, la VSG permite obtener una valoración de la actividad clínica con varias ventajas, tales como su costo, su frecuencia de uso y su reproducibilidad (133,135). Sin embargo posee varias desventajas, ya que este parámetro refleja la respuesta de fase aguda que puede

verse influenciada por otros factores ajenos a la AR, como la anemia, el sexo e incluso la edad (136–138). Por otro lado, la valoración de PCR permite establecer la actividad clínica reumática de una manera más acertada, debido a su relación directa con la respuesta de fase aguda (133). Esta proteína se sintetiza y libera principalmente en el hígado como respuesta a la inflamación aguda y crónica (139), cuyos niveles en plasma se elevan de 4 a 6 horas después de presentarse el estímulo y un pico de concentración entre 24 y 72 horas después, presentando una vida media de 5 a 7 horas (139,140). Usualmente los valores de VSG y PCR tienen una correlación clínica (141). Sin embargo, en AR, los niveles de PCR tienen mayor relación con la severidad y la progresión radiológica en comparación a la VSG (142). A pesar de ello, estos parámetros se siguen usando en conjunto para realizar la valoración clínica reumatológica de los pacientes con AR.

4. METODOLOGÍA

4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Estudio de corte transversal.

4.2. POBLACIÓN

Pacientes con AR temprana de menos de dos años de evolución y familiares en primer grado de consanguinidad. Estos son individuos que están participando en el proyecto en curso: *Evaluación de los niveles de anticuerpos contra péptidos carbamylados en pacientes con artritis reumatoide temprana e individuos familiares en primer grado de pacientes con Artritis reumatoide y su asociación con índices de actividad reumática y periodontal. HMC 2015-047.*

4.3. MUESTRA

Se tomaron los pacientes y familiares en primer grado de consanguinidad que ingresen al estudio desde el día 1 de enero de 2016 hasta el día 31 de enero de 2017.

4.4. SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Recolección no probabilística por conveniencia.

4.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

4.5.1. Criterios de inclusión para individuos grupo de pacientes con AR. Pacientes mayores de 18 y menores de 65 años con criterios clasificatorios de AR según el consenso de ACR y EULAR de 2010 (38), para enfermedad temprana, con tratamiento convencional.

4.5.2. Criterios de inclusión para individuos grupo de riesgo para desarrollar AR. Individuos colombianos mayores de 18 y menores de 50 años relacionados familiarmente en primer grado de consanguinidad con pacientes con AR o con signos clínicos sin diagnóstico aún de la ciudad de Bogotá, según la guía de recomendaciones de EULAR en 2012 (37).

4.5.3. Criterios de inclusión para individuos grupo control sano. Pacientes mayores de 18 y menores de 65 años que estén o estén bajo circunstancias laborales o ambientales similares a los pacientes seleccionados. Individuos que firmen el consentimiento informado.

4.6. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

4.6.1. Criterios de exclusión para pacientes con AR temprana:

- Individuos con proceso infeccioso en curso o diagnóstico de neoplasia.
- Individuos con diagnóstico de diabetes mellitus.
- Pacientes que rehúsen entrar al estudio y por tanto no firmen el consentimiento informado.
- Pacientes con dificultades para completar la información pertinente

- Pacientes que se encuentren bajo tratamiento antibiótico antes de tres meses previos a la toma de las muestras.
- Pacientes con aparatología ortodóntica.
- Pacientes que hayan tenido terapia periodontal en los últimos 6 meses.
- Pacientes en embarazo o lactancia.
- Tener más de dos años de diagnóstico de AR.

4.6.2. Criterios de exclusión individuos de grupo de riesgo para AR:

- Pacientes con proceso infeccioso en curso, diagnóstico de neoplasia u otra enfermedad autoinmune.
- Pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2.
- Pacientes con discapacidad mayor, definida como clase funcional por HAQ mayor de 3.
- Pacientes que rehúsen entrar al estudio y por tanto no firmen el consentimiento informado.
- Pacientes con dificultades para completar la información pertinente.
- Pacientes que estén recibiendo antibiótico en los últimos 3 meses.
- Pacientes con aparatología ortodóntica.
- Pacientes que hayan tenido terapia periodontal en los últimos 6 meses.
- Pacientes en embarazo o lactancia.

4.6.3. Criterios de exclusión para grupo control sano:

- Individuos con proceso infeccioso en curso, diagnóstico de neoplasia u otra enfermedad autoinmune.
- Individuos con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2.
- Individuos con discapacidad mayor, definida como clase funcional por HAQ

mayor de 3.

- Individuos que rehúsen entrar al estudio y por tanto no firmen el consentimiento informado.
- Individuos con dificultades para completar la información pertinente.
- Individuos que estén recibiendo antibiótico en los últimos 3 meses.
- Individuos con aparatología ortodóntica.
- Individuos que hayan tenido terapia periodontal en los últimos 6 meses.
- Individuos en embarazo o lactancia.
- Individuos familiares de pacientes con enfermedad autoinmune

4.7. HIPÓTESIS

- Hipótesis Alternativa: La frecuencia de los autoanticuerpos anti-CarP en pacientes con AR es mayor que en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad.
- Hipótesis Nula: Los autoanticuerpos anti-CarP no están presentes en los pacientes con AR ni familiares en primer grado de consanguinidad.

- Hipótesis Alternativa: Los autoanticuerpos anti-CarP se asocian a manifestaciones articulares en pacientes con AR.
- Hipótesis Nula: Los autoanticuerpos anti-CarP no se asocian a manifestaciones articulares en pacientes con AR.

- Hipótesis Alternativa: Los autoanticuerpos anti-CCP se asocian a manifestaciones articulares en pacientes con AR.
- Hipótesis Nula: Los autoanticuerpos anti-CCP no se asocian a manifestaciones articulares en pacientes con AR.

4.8. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

4.8.1. Detección y cuantificación de autoanticuerpos anti-CCP.

Para la medición cuantitativa de IgG/IgA contra péptido citrulinado en suero, se empleó un sistema ELISA tipo sándwich (Quanta lite® CCP 3.1 IgG/IgA, INNOVA Diagnosis, San Diego, CA, USA y IMTEC –ITC 60015).

4.8.2. Detección y cuantificación de autoanticuerpos anti-CarP.

Para la medición cuantitativa de IgG/IgA contra péptido carbamilado en suero, se empleó un sistema ELISA indirecta basado en el protocolo establecido por Shi y colaboradores (13). Se empleó como antígeno de superficie, el péptido sintetizado en GenScript de alta calidad (98% de pureza) derivado de la secuencia de la cadena beta del fibrinógeno posición 36-53 (18mers), de nombre *FibHomo*, con la modificación del aminoácido Arginina por Homocitrulina (Homo) en la posición 9: *NEEGFFSAHomoGHRPLDKK*.. Como control negativo, se realizó el mismo procedimiento para determinar la presencia de anticuerpos contra la molécula sin modificación, de nombre *FibNorm*. Se siguió el protocolo establecido a continuación:

1. Sensibilización de las placas con el antígeno.

- a. Se sensibilizan los pozos de las placas de ELISA (Greiner Bio One®) agregando 100 µL/pozo del péptido *FibNorm/FibHomo*, diluido en buffer PBS 1X + BSA 0.1%, a concentración de 5 µg/mL.
- b. Se cubre la placa con papel termoadhesivo (Plate sealer - Easy seal®) y se llevan a incubación durante 16 horas, a temperatura de 4 °C.

2. Lavado.
 - a. Con una solución PBS 1X, se realizan 3 ciclos de lavado de 1 minuto cada uno.
3. Estabilización y bloqueo de sitios inespecíficos
 - a. Las placas se bloquean con una solución PBS 1X + BSA 0.1%, empleando 150 μ L/pozo para su posterior incubación durante 1 hora a temperatura ambiente.
4. Procedimiento para las muestras.
 - a. Se añade 100 μ L/pozo de suero diluido en PBS 1X/0.05% Tween/1% BSA, a concentración de 1/50 y 1/100 (por duplicado), incubar 1 hora a 37°C en atmósfera humidificada.
 - b. Se realizan 3 ciclos de lavado de 1 minuto cada uno, con una solución PBS 1X + 0.05% Tween.
 - c. Se agrega 100 μ L/pozo de anti IgG marcado con HRP (Dako[®]) diluido en una solución PBS 1X/0.05% Tween/1% BSA, a concentración 1:10000, durante 1 hora a temperatura ambiente.
 - d. Se repite el procedimiento de lavado con una solución PBS 1X + 0.05% Tween, como se realizó previamente.
 - e. Se procede a revelar la formación de inmunocomplejos agregando 100 μ L/pozo de una solución TMB-H₂O₂, permitiendo reaccionar durante 1 minuto.
 - f. Se adiciona 100 μ L/pozo de solución STOP para detener la reacción enzimática (ácido sulfúrico - H₂SO₄ 2M).
 - g. Finalmente, se miden los valores de densidad óptica (DO) usando un lector de placas de ELISA (Tecan Infinite[®] 200 PRO) a una longitud de onda de 450 nm.

Para la interpretación de los resultados obtenidos, se realizó una normalización con los valores de DO obtenidas al realizar el ensayo con el péptido *FibNorm*.

4.8.3. PCR ultrasensible.

Para la medición y cuantificación de PCR ultrasensible se realizó por medio de quimioluminiscencia, definida como la emisión de luz asociada con la disipación de la energía con una sustancia electrónicamente excitada. Si los electrones de un componente luminiscente son estimulados por una luz en estado normal, estos dan energía en forma de luz cuando ellos regresan al estado basal. El resultado final será en mg/L y en UI/mL respectivamente (Immulate 1000, Siemens®).

4.8.4. VSG.

Se remitió al Instituto de referencia andino (IRA). La determinación de la VSG se realizará por el método de Westergreen. En ésta técnica se mide la velocidad de sedimentación de los glóbulos rojos en 1 hora, utilizando sangre anticoagulada que se introduce en una columna. La columna utilizada esta graduada hasta 100 mm³ con un diámetro de 1 mm. El resultado al finalizar la hora cronometrada, indica cuantos milímetros cúbicos se sedimentaron o asentaron los glóbulos rojos durante una hora.

4.8.5. Evaluación de la actividad reumática.

Este procedimiento en los pacientes se realizó siguiendo el protocolo de valoración establecido en el *Disease Activity Score 28 – DAS28*.

4.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis exploratorio de los datos de las variables con métodos gráficos y con medidas de tendencia central, de posición y de dispersión según la naturaleza cuantitativa de las variables, esto permitió en primera instancia evaluar los supuestos de normalidad e independencia utilizando los métodos estadísticos paramétricos o no paramétricos, según su pertinencia. Para el análisis bivariado se realizarán tablas de 2x2, para aquellas variables cuantitativas de distribución normal se utilizó la distribución t-student y para las no paramétricas se realizó la prueba de Mann-Whitney. El análisis de las variables cualitativas se realizó por medio de la prueba de chi-cuadrado (valores esperados >5) o Fisher (valor esperado <5), según los resultados obtenidos en la evaluación de los supuestos.

5. RESULTADOS

5.1 DISTRIBUCIÓN SOCIODEMOGRÁFICA DE LOS GRUPOS DE ARTRITIS REUMATOIDE TEMPRANA Y FAMILIARES EN PRIMER GRADO DE CONSANGUINIDAD

Se aceptaron 60 individuos, distribuidos en dos grupos de pacientes: el primer grupo corresponde a 30 individuos con diagnóstico de artritis reumatoide temprana y el segundo grupo corresponde a 30 individuos Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis; de acuerdo con los criterios establecidos por la ACR/EULAR para dichas categorizaciones (37,38). Cada grupo de pacientes cuenta con su respectivo grupo control pareado por edad y sexo.

El grupo artritis reumatoide temprana estuvo compuesto por 24 (80,0%) mujeres y 6 (20,0%) hombres, con un promedio de edad en general de $50,1 \pm 11,0$. se presentó un promedio de IMC de $26,91 \pm 4,46$, comorbilidades en 16(53,3%), se identificaron 12 (40%) que han tenido algún contacto con consumo de cigarrillo.

En cuanto al grupo de familiares en primer grado de consanguinidad, su distribución estuvo dada por 25 (83,3%) mujeres y 5 (16,6%) hombres, con un promedio de edad en general de $40,0 \pm 11,6$, El IMC presentó un promedio en de $24,7 \pm 3,6$. Se presentaron comorbilidades en 14 (46,6%). Se identificaron 3 (10,0%) individuos que han tenido contacto con consumo de cigarrillo (**Tabla 1**).

Tabla 1. Distribución de parámetros sociodemográficos en el total de individuos participantes en el estudio.

Variable	ART n:30 (100%)	Controles ART n:30 (100%)	FPC n:30 (100%)	Controles FPC n:30 (100%)
Edad (Años)				
Media±DE	50,1±11,0	49,7±10,6	40,0±11,6	40,0 ±11,6
Sexo (%)				
Mujer	24 (80,0)	24 (80,0)	25 (83,3)	25 (83,3)
Hombre	6 (20,0)	6 (20,0)	5 (16,7)	5 (16,7)
Ocupación (%)				
Hogar	13 (43,3)	8 (26,6)	5 (16,6)	4 (13,3)
Independiente	4 (13,3)	0 (0,0)	6 (20,0)	0 (0,0)
Empleado	8 (26,6)	17 (56,6)	18 (60,0)	21 (70,0)
Pensionado	4 (13,3)	4 (13,3)	0 (0,0)	2 (6,6)
Estudiante	1 (3,3)	1 (3,3)	1 (3,3)	3 (10,0)
Estudios (%)				
Primaria	6 (20,0)	6 (20,0)	1 (3,3)	2 (6,6)
Bachillerato	11 (36,6)	7 (23,3)	8 (26,6)	6 (20,0)
Técnico	1 (3,3)	4 (13,3)	4 (13,3)	5 (16,6)
Universitario	12 (40,0)	13 (43,3)	17 (56,6)	17 (56,6)
Vivienda (%)				
Propia	25 (83,3)	21 (70,0)	16 (53,3)	16 (53,3)
Arrendada	4 (13,3)	8 (26,6)	6 (20,0)	12 (40,0)
Común	1 (3,3)	0 (0,0)	8 (26,6)	2 (6,6)
En alojamiento	0 (0,0)	1 (3,3)	0 (0,0)	0 (0,0)
Estado civil (%)				
Casado	21 (70,0)	9 (30,0)	12 (40,0)	10 (33,3)
Soltero	2 (6,6)	8 (26,6)	16 (53,3)	13 (43,3)
Viudo	2 (6,6)	3 (10,0)	1 (3,3)	2 (6,6)
Unión libre	4 (13,3)	5 (16,6)	1 (3,3)	4 (13,3)
Separado	1 (3,3)	5 (16,6)	0 (0)	1 (3,3)
Comorbilidad (%)				
Presencia	16 (53,3)	16 (53,3)	14 (46,6)	9 (30,0)
IMC				
Media±DE	26,9±4,4	23,98±2,8	24,79±3,6	23,67±3,5
Fuma (%)				
Presencia	2 (6,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (10,0)
Fumó (%)				
Presencia	7 (23,3)	10 (33,3)	0 (0,0)	10 (33,3)
Fumador pasivo (%)				
Presencia	3 (10,0)	5 (16,6)	3 (10,0)	5 (16,6)

DE: Desviación estándar; IMC: Índice de masa corporal, ART: Artritis reumatoide temprana, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR.

5.2. COMPARACIÓN DE VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS EN ARTRITIS REUMATOIDE TEMPRANA Y FAMILIARES EN PRIMER GRADO DE CONSANGUINIDAD CON SUS RESPECTIVOS CONTROLES

La comparación de las variables sociodemográficas entre el grupo de artritis reumatoide temprana y su respectivo grupo control arrojó una diferencia en el peso siendo mayor en el grupo de artritis reumatoide temprana ($p=0,005$) (**Tabla 2**).

Tabla 2. Comparación de las variables demográficas entre el grupo de artritis reumatoide temprana y su respectivo grupo control.

Variables		Control		ARt		Valor p
		Mediana RIQ		Mediana RIQ		
Edad		52,5	41.0 - 57.0	52,5	41.0 - 58.0	0,859
Peso		59,5	56.0 - 67.0	66,5	62.0 - 75.0	0,005*
		n	%	n	%	
Comorbilidad	Ausencia	14	50,0%	14	50,0%	1,000
	Presencia	16	50,0%	16	50,0%	
Fuma	Ausencia	30	51,7%	28	48,3%	0,150
	Presencia	0	0,0%	2	100,0%	
Antecedente de Cigarrillo	Ausencia	20	46,5%	23	53,5%	0,448
	Presencia	10	58,8%	7	41,2%	
Fumador pasivo	Ausencia	25	48,1%	27	51,9%	0,390
	Presencia	5	62,5%	3	37,5%	
Economía	Hogar	8	38,1%	13	61,9%	0,077
	Independiente	0	0,0%	4	100,0%	
	Empleado	17	68,0%	8	32,0%	
	Pensionado	4	50,0%	4	50,0%	
	Estudiante	1	50,0%	1	50,0%	
Vivienda	Propia	21	45,6%	25	54,4%	0,298
	Arrendada	8	66,7%	4	33,3%	
	Común	0	0,0%	1	100,0%	
	Alojamiento	1	100,0%	0	0,0%	
Estado civil	Casado	9	30,0%	21	70,0%	0,023
	Soltero	8	80,0%	2	20,0%	
	Viudo	3	60,0%	2	40,0%	
	Unión libre	5	55,6%	4	44,4%	
	Separado	5	83,3%	1	16,7%	

Estudios	Primaria	6	50,0%	6	50,0%	0,435
	Bachillerato	7	38,9%	11	61,1%	
	Técnico	4	80,0%	1	20,0%	
	Universitario	13	52,0%	12	48,0%	

RIQ: Rango intercuartílico, ARt: Artritis reumatoide temprana

*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

En cuanto al grupo de familiares en primer grado de consanguinidad, se observó diferencia significativa entre ambos grupos en la presencia de antecedentes de cigarrillo, encontrándose únicamente en el grupo control ($p=0,001$) (**Tabla 3**).

Tabla 3. Comparación entre variables demográficas entre el grupo de familiares en primer grado y su respectivo grupo control.

Variables		Control		FPC		Valor p
		Mediana	RIQ	Mediana	RIQ	
Edad		37.5	31.0-51.0	37.5	31.0-51.0	1,000
Peso		57.5	52.0-68.0	64.5	56.0-72.0	0,181
		n	%	n	%	
Sexo	Masculino	6	54,5%	5	45,5%	0,739
	Femenino	24	48,9%	25	51,1%	
Comorbilidad	Ausencia	21	56,7%	16	43,3%	0,184
	Presencia	9	39,2%	14	60,8%	
Fumador activo	Ausencia	27	47,4%	30	52,6%	0,076
	Presencia	3	100,0%	0	0,0%	
Antecedente de cigarrillo	Ausencia	20	40,0%	30	60,0%	0,001*
	Presencia	10	100,0%	0	0,00%	
Fumador pasivo	Ausencia	25	48,1%	27	51,9%	0,448
	Presencia	5	62,5%	3	37,5%	
Economía	Hogar	4	44,4%	5	55,6%	0,053
	Independiente	0	0,0%	6	100,0%	
	Empleado	21	53,8%	18	46,2%	
	Pensionado	2	100,0%	0	0,0%	
	Estudiante	3	75,0%	1	25,0%	
Vivienda	Propia	16	50,0%	16	50,0%	0,061
	Arrendada	12	66,7%	6	33,3%	
	Común	2	20,0%	8	80,0%	
Estado civil	Casado	10	45,5%	12	54,5%	0,459
	Soltero	13	44,8%	16	55,2%	
	Viudo	2	66,7%	1	33,3%	

Estudios	Unión libre	4	80,0%	1	20,0%	0,866
	Separado	1	100,0%	0	0,0%	
	Primaria	2	66,7%	1	33,3%	
	Bachillerato	6	42,8%	8	57,2%	
	Técnico	5	55,6%	4	44,4%	
	Universitario	17	50,0%	17	50,0%	

RIQ: Rango intercuartílico, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR

*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

5.3. MARCADORES E INDICES DE ACTIVIDAD REUMATOLÓGICA

Del grupo de pacientes con artritis reumatoide temprana, el 80% manifestaron tener al menos 1 articulación dolorosa y el 90% presentaron al menos 1 articulación inflamada. La actividad articular se estableció con la medición del índice DAS28. El promedio del valor DAS28-VSG fue de $3,9 \pm 1,2$, los pacientes que tenían un valor menor a 2,6 correspondieron a 5 (16,7%) y 25 (83,3%) pacientes obtuvieron un valor mayor a 2,6, de los cuales 2 (8,0%) obtuvieron un valor entre 2,6 – 3,2 y 23 (92,0%) obtuvieron un valor mayor a 3,2.

Con respecto a los biomarcadores solubles, la VSG presentó un promedio en $26,7 \pm 28,6$; 33,3% pacientes presentaron valores mayores a 20 mm/h. El promedio de la PCR fue de $20,0 \pm 35,3$ mg/L; el 33,0% de los pacientes presentaron valores entre 3–9 mg/L y el 30,0% presentaron valores superiores a 9 mg/L. El FR presentó un promedio de $44,94 \pm 55,47$; se observaron valores entre 20-59 UI/mL en el 40% de los pacientes y en un 20% se observaron valores mayores a 60 UI/mL. El promedio de los niveles de autoanticuerpos anti-CCP isotipos IgG/IgA fue de $118,05 \pm 160,01$; el 46,6% de los pacientes presentaron niveles positivos de anti-CCP de los cuales el 28,5% presentaron niveles entre 20 – 39 UI/mL y el 71,4% presentaron niveles entre 40 – 59 UI/mL.

En cuanto al grupo de familiares en primer grado de consanguinidad, el 50,0%

manifestaron dolor en más de 1 articulación y el 16,6% presentaron más de 1 articulación inflamada. El promedio del valor DAS28 VSG fue de $1,9 \pm 1,0$; el 70,0% de los individuos obtuvieron un valor menor a 2,6 y el 30,0% obtuvieron un valor mayor a 2,6. El promedio de la VSG fue $7,2 \pm 6,1$; donde el 3,3% de los sujetos presentó niveles superiores a 20 mm/h. El promedio de la PCR fue de $8,7 \pm 20,6$; el 26,6% de los individuos presentaron valores entre 3–9 mg/L y el 13,3% presentaron valores superiores a 9 mg/L. El FR presentó un promedio de $27,7 \pm 63,2$, donde el 16,0% de los sujetos presentó positividad para FR. Con respecto a los niveles de autoanticuerpos anti-CCP isotipos IgG/IgA, el valor promedio fue de $8,6 \pm 4,8$ y solamente el 3,3% de los individuos fue considerado positivo para estos anticuerpos (**Tabla 4**).

Tabla 4. Distribución de parámetros reumatológicos en el total de individuos participantes en el estudio.

Variable	ARt n:30 (100%)	Controles ARt n:30 (100%)	FPC n:30 (100%)	Controles FPC n:30 (100%)
N° Art. dolorosas (%) Mayor a 1	24 (80,0)	8 (26,7)	15 (50)	5 (16,7)
N° Art. inflamadas (%) Mayor a 1	27 (90,0)	4 (13,4)	5 (16,7)	3 (10,0)
DAS 28 VSG (%) Media \pm DE	$3,9 \pm 1,2$	$2,1 \pm 1,2$	$1,9 \pm 1,0$	$1,8 \pm 1,2$
DAS 28 PCR (%) Media \pm DE	$3,7 \pm 0,9$	$2,1 \pm 0,8$	$2,2 \pm 0,9$	$1,7 \pm 0,7$
VSG mm/h Media \pm DE	$26,7 \pm 28,6$	$16,9 \pm 23,4$	$7,2 \pm 6,1$	$14,7 \pm 22,3$
PCR mg/L Media \pm DE	$20,0 \pm 35,37$	$4,0 \pm 5,4$	$8,7 \pm 20,6$	$3,2 \pm 6,3$
FR UI/L Media \pm DE	$44,9 \pm 55,4$	$16,05 \pm 25,98$	$27,7 \pm 63,2$	$13,7 \pm 20,4$
Anti-CCP IgG/IgA UI/mL Media \pm DE	$118,0 \pm 160,0$	$17,6 \pm 40,1$	$8,6 \pm 4,8$	$7,8 \pm 0,1$

DAS28: Disease activity score, Art: Articulaciones, VSG: Velocidad de sedimentación globular, PCR: Proteína C reactiva, FR: Factor Reumatoide, Anti-CCP: Anticuerpos anti-péptidos cíclicos citrulinados, ARt: Artritis Reumatoide temprana, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR.

*Rangos de puntuación del DAS 28. Menor o igual a 2.6: sin actividad, 2.6 – 3.2: moderado, mayor a 3.2: severa.

*Valores de referencia de PCR. Menor a 3 mg/L: negativo, 3 – 9 mg/L: positivo, mayor a 9 mg/L: positivo alto.

*Valores de referencia de FR: Menor a 20 UI/mL: negativo, 20 – 59 UI/mL: positivo, mayor a 60 UI/mL: positivo alto.

*Valores de referencia de VSG. Menor o igual a 20 mm/h: negativo, mayor a 20mm/h: positivo.

*Valores de referencia de Anti-CCP IgG/IgA. Menor a 20 UI/mL: negativo, 20 – 39 UI/mL: positivo débil, 40 – 59 UI/mL: positivo moderado, mayor a 60 UI/mL: positivo alto.

5.4. COMPARACIÓN DE VARIABLES REUMATOLÓGICAS ENTRE LOS GRUPOS DE ESTUDIO Y SUS CORRESPONDIENTES GRUPOS CONTROL

Al comparar las variables reumatológicas, se observó que los pacientes del grupo de artritis reumatoide temprana presentaron valores superiores de autoanticuerpos anti-CCP ($p=0,007$) y FR ($p=0,001$), así como el número de articulaciones dolorosas ($p=0,001$) e inflamadas ($p=0,001$), índices de actividad reumatológica DAS28 PCR ($p=0,001$) y RAPID 3 ($p=0,005$) frente a los sujetos sanos del grupo control, con diferencias estadísticamente significativas (**Tabla 5**).

Tabla 5. Comparación entre variables reumatológicas entre el grupo de artritis reumatoide temprana y su respectivo grupo control.

Variable	Control		ARt		Valor p	
	Recuento	%	Recuento	%		
VGS	Negativo	23	56,1%	18	43,9%	0,165
	Positivo	7	36,8%	12	63,2%	
PCR	Negativo	17	60,7%	11	39,3%	0,055
	3-9 mg/L	11	52,4%	10	47,6%	
	>9 mg/L	2	18,2%	9	81,8%	
FR	Negativo	27	69,3%	12	30,7%	0,001*
	20-59	2	14,3%	12	85,7%	
	>59	1	14,3%	6	85,7%	
Anti-CCP IgG/IgA	Negativo	26	61,9%	16	38,1%	0,007*
	20-59	3	42,9%	4	57,1%	
	>59	1	9,1%	10	90,9%	
Articulaciones Dolorosas	Ninguna	22	78,6%	6	21,4%	0,001*
	Al menos 1	8	25,0%	24	75,0%	
Articulaciones inflamadas	Ninguna	26	89,6%	3	10,4%	0,001*
	Al menos 1	4	12,9%	27	87,1%	
DAS28-VSG	<2.6	18	78,3%	5	21,7%	0,001*
	2.6-3.2	5	71,4%	2	28,6%	
	>3.2	7	23,3%	23	76,7%	
DAS28- PCR	<2.6	23	88,5%	3	11,5%	0,001*
	2.6-3.2	2	28,6%	5	71,4%	
	>3.2	5	18,5%	22	81,5%	
VAS	0-50	26	57,8%	19	42,2%	0,037
	>50	4	26,7%	11	73,3%	

HAQ	≤ 1	25	67,7%	12	32,4%	0,005
	1,1-2	2	40,0%	3	60,0%	
	2,1-3	1	20,0%	4	80,0%	
	>3	2	15,4%	11	84,6%	
RAPID 3	>12	6	27,3%	16	72,7%	0,005*
	6,1-12	6	42,8%	8	57,2%	
	3,1,6	3	50,0%	3	50,0%	
	<3	15	83,3%	3	16,7%	

ARt: Artritis Reumatoide temprana, VAS: Visual Analog Scale for Pain, HAQ: Health assessment questionnaire, RAPID3: Routine Assessment of Patient Index Data 3

*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

La comparación de variables reumatológicas en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad, arrojó que los individuos de dicho grupo presentan un mayor número de articulaciones dolorosas, frente a su respectivo grupo control, con diferencias estadísticamente significativas (p=0,015) (**Tabla 6**).

Tabla 6. Comparación entre variables reumatológicas entre el grupo de familiares en primer grado y su respectivo grupo control.

Variable	Control		FPC		Valor p	
	n	% de la fila	n	% de la fila		
VGS	Negativo	26	47,7%	29	52,7%	0,161
	Positivo	4	80,0%	1	20,0%	
PCR	Negativo	22	55,0%	18	45,0%	0,322
	3-9 mg/L	7	46,7%	8	53,3%	
	>9 mg/L	1	20,0%	4	80,0%	
FR	Negativo	29	53,7%	25	46,3%	0,192
	20-59	1	25,0%	3	75,0%	
	>59	0	0,0%	2	100,0%	
Anti-CCP IgG/IgA	Negativo	30	50,8%	29	49,2%	0,313
	Positivo	0	0,0%	1	100,0%	
Articulaciones Dolorosas	Ninguna	24	61,5%	15	38,5%	0,015*
	Al menos 1	6	28,6%	15	71,4%	
Articulaciones inflamadas	Ninguna	27	51,9%	25	48,1%	0,448
	Al menos 1	3	37,5%	5	62,5%	
HAQ	≤ 1	28	52,8%	25	47,2%	0,373
	1,1-2	1	20,0%	4	80,0%	
	>3	1	50,0%	1	50,0%	

HAQ: Health assessment questionnaire, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR *p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

5.5. MARCADORES MICROBIOLÓGICOS E INDICES CLÍNICOS DE COMPROMISO PERIODONTAL

Adicionalmente, se evaluaron marcadores microbiológicos e índices clínicos periodontales. En el grupo de pacientes con artritis reumatoide temprana, 20 (66,6%) pacientes presentaron diagnóstico de enfermedad periodontal, de los cuales 3 (15,0%) se encontraban en estadio leve, 10 (50,0%) en estadio moderado y 7 (35,0%) pacientes, en estadio severo. Así mismo, 22 (73,3%) pacientes presentaron niveles detectables de *P. gingivalis*, microorganismo asociado a enfermedad periodontal (y artritis reumatoide *per se*), mientras que en 12 (40,0%) pacientes se determinó positividad para anticuerpos anti-*P.gingivalis* isotipo IgG1 y 8 (26,6%) para el isotipo IgG2 (**Tabla 7**).

En cuanto al grupo de individuos familiares en primer grado de consanguinidad, 16 (53,3%) sujetos presentaron enfermedad periodontal, de los cuales 6 (37,5%) se encontraban en condición leve, 9 (56,3%) en condición moderada y 1 (6,2%) sujeto, en condición severa. En este grupo, 21 (70,0%) individuos presentaron niveles detectables de *P. gingivalis*, mientras que en 16 (53,3%) individuos se determinó positividad para anticuerpos anti-*P.gingivalis* isotipo IgG1 y 16 (53,3%) para el isotipo IgG2 (**Tabla 7**).

Tabla 7. Distribución de frecuencias con respecto a los marcadores clínicos y microbiológicos de diagnóstico periodontal en pacientes con artritis reumatoide temprana, familiares en primer grado de consanguinidad y sus respectivos grupos control.

Variable	ART n: 30 (100%)	Controles ART n:30 (100%)	FPC n:30 (100%)	Controles FPC n:30 (100%)
Enfermedad periodontal F (%)				
Positivo	20 (66,7)	22 (73,3)	16 (53,3)	14 (46,7)
Severidad Periodontal F (%)				
Leve	3 (15,0)	3 (13,6)	6 (37,5)	2 (14,3)
Moderada	10 (50,0)	18 (81,8)	9 (56,2)	9 (64,3)
Severa	7 (35,0)	1 (4,6)	1 (6,3)	3 (21,4)
<i>P. gingivalis</i> F (%)				
Positivo	22 (73,3)	12 (40,0)	21 (70,0)	12 (40,0)
Anticuerpos IgG1 <i>P. gingivalis</i> F (%)				
Positivo >1:100	12 (40,0)	20 (66,6)	22 (73,3)	16 (53,3)
Anticuerpos IgG2 <i>P. gingivalis</i> F (%)				
Positivo >1:100	8 (26,6)	18 (60,0)	21 (70,0)	16 (53,3)

P. gingivalis: Porphyromonas gingivalis, ART: Artritis Reumatoide temprana, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR

5.6. COMPARACIÓN DE VARIABLES PERIODONTALES ENTRE LOS GRUPOS DE ESTUDIO Y SUS CORRESPONDIENTES GRUPOS CONTROL

La comparación de variables periodontales en el grupo de artritis reumatoide temprana, resaltó una mayor presencia de *P. gingivalis* ($p=0,009$), frente a su respectivo grupo control. Sin embargo, los individuos del grupo control presentaron en mayor proporción, títulos de anticuerpos anti-*P.gingivalis* superiores a 1:100, tanto en el isotipo IgG1 ($p=0,038$) como en el isotipo IgG2 ($p=0,009$), con diferencias estadísticamente significativas (**Tabla 8**).

Tabla 8. Comparación entre variables periodontales entre el grupo de artritis reumatoide temprana y el respectivo grupo control.

Variable		Control		ARt		Valor p
		n	%	n	%	
Diagnóstico periodontal	Ausencia	8	44,44%	10	55,56%	0,573
	Presencia	22	52,38%	20	47,62%	
Severidad	Ninguna	8	44,44%	10	55,56%	0,072
	Leve	3	50,00%	3	50,00%	
	Moderada	18	64,29%	10	35,71%	
	Severa	1	12,50%	7	87,50%	
<i>P. gingivalis</i>	Ausencia	18	69,23%	8	30,77%	0,009*
	Presencia	12	35,29%	22	64,71%	
Títulos de anticuerpos IgG1 contra <i>P.gingivalis</i>	Títulos <1/100	10	35,71%	18	64,29%	0,038*
	Títulos >1/100	20	62,50%	12	37,50%	
Títulos de anticuerpos IgG2 contra <i>P.gingivalis</i>	Títulos <1/100	12	35,29%	22	64,71%	0,009*
	Títulos >1/100	18	69,23%	8	30,77%	

P. gingivalis: *Porphyromonas gingivalis*, ARt: Artritis Reumatoide temprana, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR
*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

La comparación de variables periodontales en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad resaltó una mayor detección de *P. gingivalis*, frente a su respectivo grupo control, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,020$) (Tabla 9).

Tabla 9. Comparación entre variables periodontales entre el grupo de familiares en primer grado y respectivo grupo control.

Variable		Control		FPC		Valor p
		n	%	n	%	
Diagnóstico Periodontal	Ausencia	16	53,33%	14	46,67%	0,606
	Presencia	14	46,67%	16	53,33%	
Severidad	Ninguna	16	53,33%	14	46,67%	0,372
	Leve	2	25,00%	6	75,00%	
	Moderada	9	50,00%	9	50,00%	
	Severa	3	75,00%	1	25,00%	
<i>P. gingivalis</i>	Ausencia	18	66,67%	9	33,33%	0,020*
	Presencia	12	36,36%	21	63,64%	
Títulos de anticuerpos IgG1 contra <i>P.gingivalis</i>		Mediana	RIQ	Mediana	RIQ	0,403
		100,00	50.00-200.00	100,00	50.00-200.00	
Títulos de anticuerpos IgG2 contra <i>P.gingivalis</i>		100,00	50.00-200.00	100,00	50.00-200.00	0,209

P. gingivalis: *Porphyromonas gingivalis*, ART: Artritis Reumatoide temprana, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR

*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

5.7. ANTICUERPOS ANTI-FIBRINOGENO

5.7.1. Anticuerpos anti-fibrinógeno nativo.

En este estudio se evaluó la respuesta inmune a través de la presencia de autoanticuerpos frente al fibrinógeno, una de principales moléculas asociadas a la ruptura de la tolerancia inmunológica, empleando un péptido sintético de fibrinógeno sin modificaciones denominado *FibNorm*. Se observó que, entre los pacientes del grupo de artritis reumatoide temprana, el 40,0% y el 20,0% presentaron reactividad frente al péptido *FibNorm* en las diluciones $\geq 1:50$ y $\geq 1:100$ respectivamente. En el grupo familiares en primer grado de consanguinidad, el 36,7% y 26,7% presentaron reactividad a dicho péptido en las diluciones $\geq 1:50$ y $\geq 1:100$ respectivamente. Cabe resaltar que ningún individuo perteneciente a los grupos control presentó reactividad frente a la molécula nativa de fibrinógeno (**Tabla 10**).

Tabla 10. Reactividad frente al péptido *FibNorm*.

Títulos de anticuerpos anti- <i>FibNorm</i>	ARt n:30 (100%)	Controles ARt n:30 (100%)	FPC n:30 (100%)	Controles FPC n:30 (100%)
$\geq 1/50$	18 (60,0)	0 (0,0)	19 (63,4)	0 (0,0)
$\geq 1/100$	6 (20,0)	0 (0,0)	8 (26,7)	0 (0,0)

ARt: Artritis Reumatoide temprana, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR.

5.7.2. Anticuerpos anti-fibrinógeno carbamilado.

Se evaluó la presencia de anticuerpos anti-péptidos carbamilados utilizando la secuencia del fibrinógeno nativo con las modificaciones correspondientes al

proceso de carbamilación, resultando en péptido sintético de fibrinógeno que incluye una homocitrulina, denominado *FibHomo*, observando una reactividad frente a este péptido en diluciones $\geq 1:50$ y $\geq 1:100$ de 13,4% y 46,6% respectivamente en el grupo de pacientes de artritis reumatoide temprana. En tanto, se evidenció en los individuos familiares en primer grado de consanguinidad presentaron reactividad frente al péptido *FibHomo* en diluciones $\geq 1:50$ y $\geq 1:100$, de 10% y el 30% respectivamente. **(Tabla 11).**

Tabla 11. Reactividad frente al péptido *FibHomo*.

Títulos de anticuerpos anti- <i>FibHomo</i>	ARt n:30 (100%)	Controles ARt n:30 (100%)	FPC n:30 (100%)	Controles FPC n:30 (100%)
$\geq 1/50$	18 (60,0)	5 (16,7)	12 (30,0)	3 (10,0)
$\geq 1/100$	14 (46,7)	1 (3,3)	12 (30,0)	0 (0,0)

ARt: Artritis Reumatoide temprana, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR.

5.7.3. Comparación entre títulos de anticuerpos frente a *FibNorm* y *FibHomo*. en el grupo de artritis reumatoide temprana.

La comparación realizada entre los títulos de anticuerpos anti-*FibNorm*, arrojó que el 100,0% de los pacientes que presentaron títulos $\geq 1:50$ pertenecen al grupo de artritis reumatoide temprana, frente a su grupo control, siendo estadísticamente significativo ($p=0,001$). En cuanto los títulos de anticuerpos anti-*FibHomo*, se evidenció que el 93,3% de los pacientes que presentaron títulos $\geq 1:100$ pertenecían a el grupo de artritis reumatoide temprana ($p=0,001$) **(Tabla 12).**

Tabla 12. Comparación de títulos de anticuerpos frente a *FibNorm* y *FibHomo* en el grupo de artritis reumatoide temprana y su respectivo grupo control.

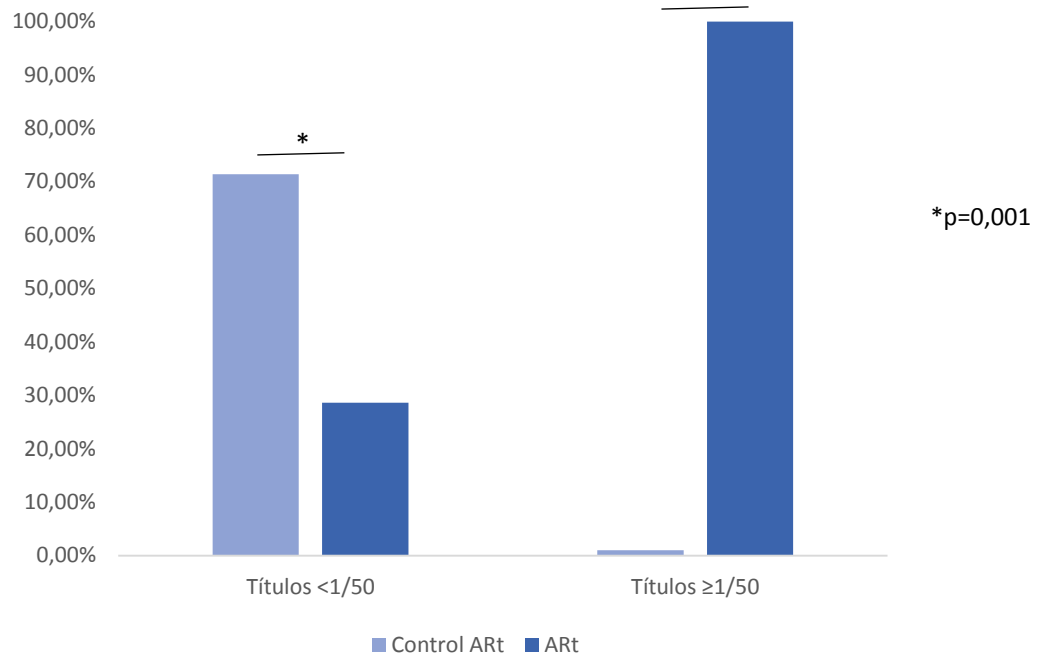
Variable		Control		ARt		Valor p
		n	%	n	%	
Anticuerpos anti- péptido <i>FibNorm</i>	Títulos <1/50	30	71,4%	12	28,6%	0,001*
	Títulos ≥1/50	0	0,0%	18	100,0%	
Anticuerpos anti- péptido <i>FibHomo</i>	Títulos <1/50	25	67,6%	12	32,4%	0,001*
	Títulos ≥1/50	5	21,7%	18	78,3%	
Anticuerpos anti- péptido <i>FibHomo</i>	Títulos <1/100	29	64,4%	16	35,6%	0,001*
	Títulos ≥1/100	1	6,7%	14	93,3%	

ARt: Artritis Reumatoide temprana

*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

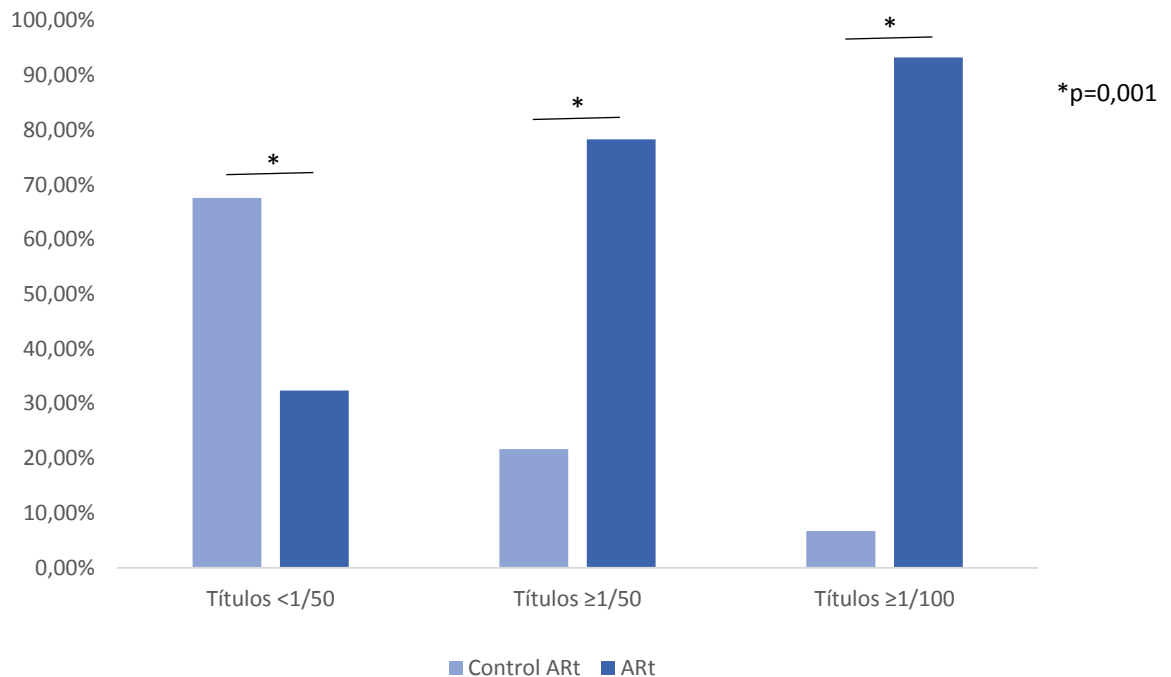
Ilustración 5. Porcentaje de pacientes con artritis reumatoide temprana frente a su respectivo grupo Control en titulación de anticuerpos anti-FibNorm

*



*p= 0.001

Ilustración 6. Porcentaje de pacientes con artritis reumatoide temprana frente a su respectivo grupo Control en titulación de anticuerpos anti-FibHomo



*p= 0.001

5.7.4. Comparación entre títulos de anticuerpos frente a *FibNorm* y *FibHomo*.en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad.

La comparación entre los títulos de anticuerpos contra el péptido *FibNorm* arrojó que el 100,0% de los individuos que presentaron títulos $\ge 1:50$ pertenecían al grupo de familiares en primer grado de consanguinidad, con diferencias estadísticamente significativas frente a su grupo control ($p=0,001$). Así mismo, de los individuos que presentaron títulos $\ge 1:100$ de anticuerpos contra el péptido *FibHomo* el 100% hacían parte del grupo de familiares en primer grado de

consanguinidad, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,001$) (**Tabla 13**).

Tabla 13. Comparación de títulos de anticuerpos frente a *FibNorm* y *FibHomo* entre el grupo de familiares en primer grado y su correspondiente grupo control.

Variable		Control		FPC		Valor p
		n	% de la fila	n	% de la fila	
Anticuerpos anti- péptido <i>FibNorm</i>	Títulos <1/50	30	73,2%	11	26,8%	0,001*
	Títulos \geq 1/50	0	0,0%	19	100,0%	
Anticuerpos anti- péptido <i>FibHomo</i>	Títulos <1/50	27	60,0%	18	40,0%	0,007*
	Títulos \geq 1/50	3	20,0%	12	80,0%	
Anticuerpos anti- péptido <i>FibHomo</i>	Títulos <1/100	30	62,5%	18	37,5%	0,001*
	Títulos \geq 1/100	0	0,00%	12	100,0%	

FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR
 * $p > 0,05$: diferencia estadísticamente significativa

Ilustración 7. Porcentaje de individuos familiares en primer grado de consanguinidad frente a su respectivo grupo control en titulación de anticuerpos anti-FibNorm

*

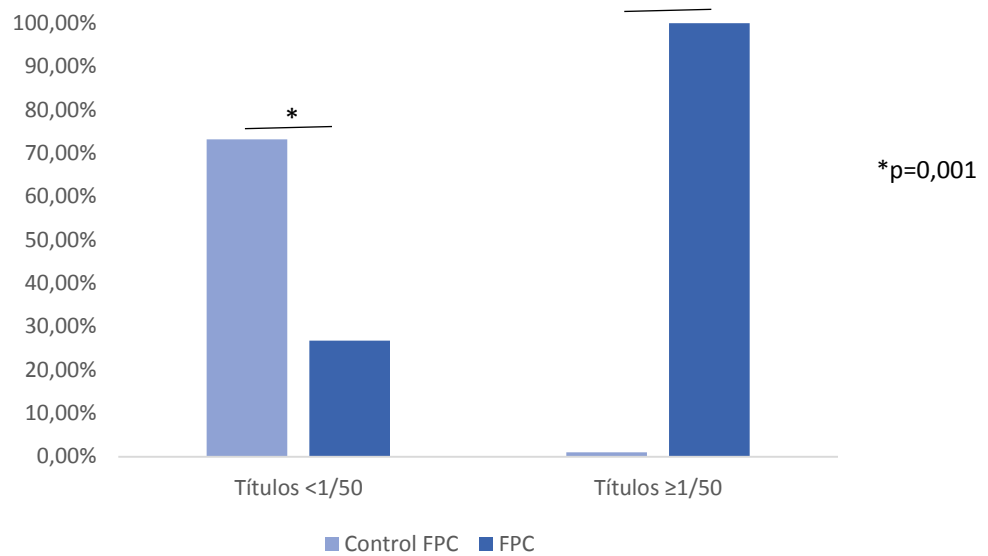
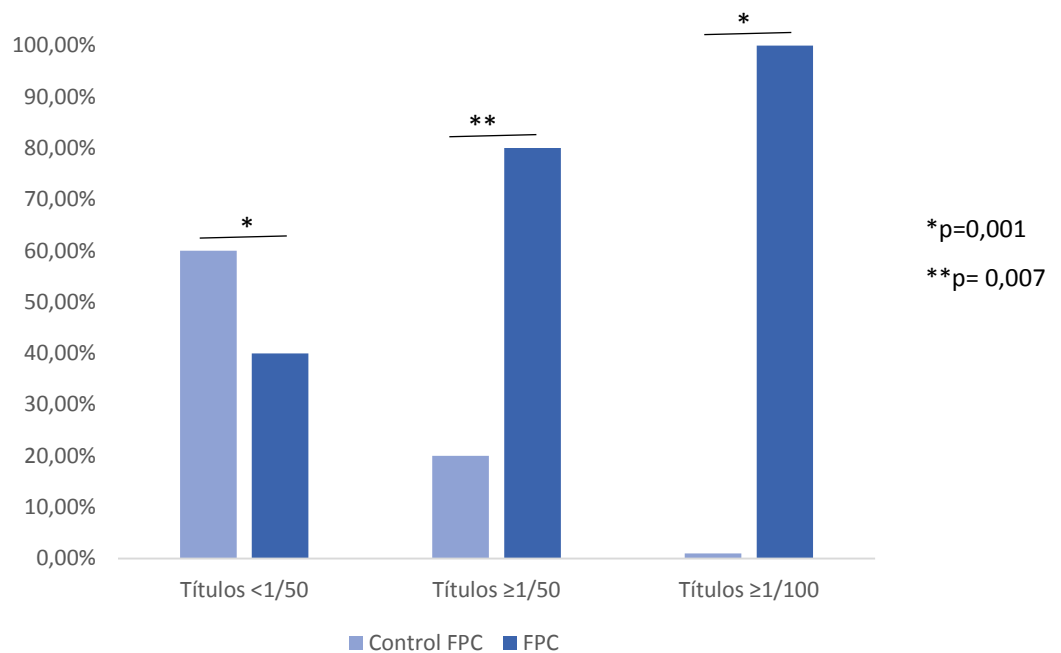


Ilustración 8. Porcentaje de individuos familiares en primer grado de consanguinidad frente a su respectivo grupo control en titulación de anticuerpos anti-FibHomo



5.7.5. Distribución sociodemográfica de artritis reumatoide temprana y familiares en primer grado de consanguinidad positivos para anticuerpos anti péptido carbamilado

En el grupo de artritis reumatoide temprana se observó presencia de anticuerpos anti-péptido carbamilado por parte de 18 (60,0%), de los cuales 17 (94,4%) son mujeres y 1 (5,6%) hombre. El promedio de IMC para ese subgrupo fue $28,3\pm 4,8$ y se identificaron comorbilidades en 10 (55,6%). Entre ellos, 1 (5,6%) manifestó ser fumador activo y 3 (16,7) tuvieron exposición al cigarrillo. 13 (72,2%) de los pacientes presentaban enfermedad periodontal, En el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad 12 (40,0%), siendo 10 (83,3%) de ellos mujeres y 2 (16,7%) hombres. El promedio de IMC fue $25,8\pm 3,1$; 5 (41,7%) sujetos presentaron comorbilidades y 2 (16,7) manifestaron tener previo contacto con consumo de cigarrillo siendo ambos fumadores activos. **(Tabla 14).**

Tabla 14. Distribución de frecuencias sociodemográficas entre los grupos de estudio positivos para anticuerpos anti-péptido carbamilado.

Variables	ARt n:18 (100%)	Controles ARt n:5 (100%)	FPC n: 12(100%)	Controles FPC n: 3 (100%)
Género F (%)				
Mujer	17 (94,4)	4 (80,0)	10 (83,3)	2 (66,7)
Hombre	1 (5,6)	1 (20,0)	2(16,7)	1 (33,3)
IMC				
Media \pm DE	28,3 \pm 4,8	23,4 \pm 3,6	25,8 \pm 3,1	22,5 \pm 2,2
Fuma (%)	1 (5,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Fumó (%)	3 (16,7)	1 (20)	0 (0)	1 (33,3)
Fumador pasivo (%)	0 (0,0)	1 (20)	2 (16,7)	0 (0)
Otras comorbilidades (%)	10 (55,6)	2 (40)	5 (41,7)	1 (33,3)

IMC: Índice de masa corporal

5.7.6. Distribución de variables reumatológicas en artritis reumatoide temprana y familiares en primer grado de consanguinidad positivos para anticuerpos anti péptido carbamilado

En el grupo de artritis reumatoide temprana positivo para anticuerpos anti péptido carbamilado, la actividad reumatológica evaluada por el índice DAS28VSG presentó un promedio de $3,9 \pm 1,2$; evidenciando solo 3 (16,7%) pacientes obtuvieron un puntaje menor a 2,6, 1 (5,6%) obtuvo un puntaje entre 2,6 – 3,2 y 14 (77,7%) pacientes obtuvieron puntajes mayores a 3,2. De los 18 pacientes que presentaron reactividad frente al péptido *FibHomo 4* (22,2%) de ellos presentaron positividad para FR, 2 (11,1%) presentaron positividad para autoanticuerpos anti-CCP y 8 (44,4%) presentaron positividad para los 3 autoanticuerpos. De los 12 (40,0%) individuos pertenecientes al grupo de familiares en primer grado de consanguinidad que presentaron reactividad frente al péptido *FibHomo*, solo 2 (16,7%) presentaron positividad para FR. Ningún individuo del grupo de familiares con positividad para anticuerpos anti-péptido carbamilado presentó niveles detectables de anticuerpos anti CCP (**Tablas 15, Gráficas 1 y 2**).

Tabla 15. Distribución de frecuencias frente a las variables reumatológicas entre los grupos de estudio positivos para anticuerpos anti-péptido carbamilado.

Variables	ARt n:18 (100%)	Controles ARt n:5 (100%)	FPC n:12 (100%)	Controles FPC n:5 (100%)
DAS28 VSG				
Media \pm DE	3,9 \pm 1,2	2,1 \pm 1,2	1,9 \pm 1,01	1,8 \pm 1,2
< 2,6	3 (16,7)	3 (60,0)	3 (25,0)	2 (66,7)
2,6 - 3,2	1 (5,6)	1 (20,0)	2 (16,7)	1 (33,3)
> 3,2	14 (77,7)	1 (20,0)	1 (8,3)	0 (0,0)

DAS28 PCR				
Media±DE	3,7±0,9	2,1±0,8	2,2±0,9	1,7±0,7
<2,6	2 (11,1)	4 (13,3)	0 (0,0)	2 (66,7)
2,6-3,2	3 (16,7)	0 (0,0)	1 (8,3)	0 (0,0)
>3,2	13 (72,2)	1 (20,0)	1 (8,3)	1 (33,3)
Anti-CCP IgG/IgA (+)	2 (11,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
FR UI/mL (+)	4 (22,2)	1 (20,0)	2 (16,7)	0 (0,0)
Anti-CCP IgG/IgA/FR UI/mL (+)	8 (44,4)	1 (20,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Anti-CCP IgG/IgA/FR UI/mL (-)	6 (33,3)	3 (60,0)	10 (83,3)	0 (0,0)

DE: Desviación estándar, DAS28: Disease activity score, Art: Articulaciones, VSG: Velocidad de sedimentación globular, PCR: Proteína C reactiva, FR: Factor Reumatoide, Anti-CCP: Anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados, ART: Artritis Reumatoide temprana, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR

*Rangos de puntuación del DAS 28. Menor o igual a 2.6: sin actividad, 2.6 – 3.2: moderado, mayor a 3.2: severa.

*Valores de referencia de PCR. Menor a 3 mg/L: negativo, 3 – 9 mg/L: positivo, mayor a 9 mg/L: positivo alto.

*Valores de referencia de FR: Menor a 20 UI/mL: negativo, 20 – 59 UI/mL: positivo, mayor a 60 UI/mL: positivo alto.

*Valores de referencia de VSG. Menor o igual a 20 mm/h: negativo, mayor a 20mm/h: positivo.

*Valores de referencia de Anti-CCP IgG/IgA. Menor a 20 UI/mL: negativo, 20 – 39 UI/mL: positivo débil, 40 – 59 UI/mL: positivo moderado, mayor a 60 UI/mL: positivo alto.

Ilustración 9. Distribución de frecuencias frente a biomarcadores reumatológicos en el grupo de pacientes con diagnóstico de artritis reumatoide temprana.

No. total de pacientes
30

Triple negativo
4

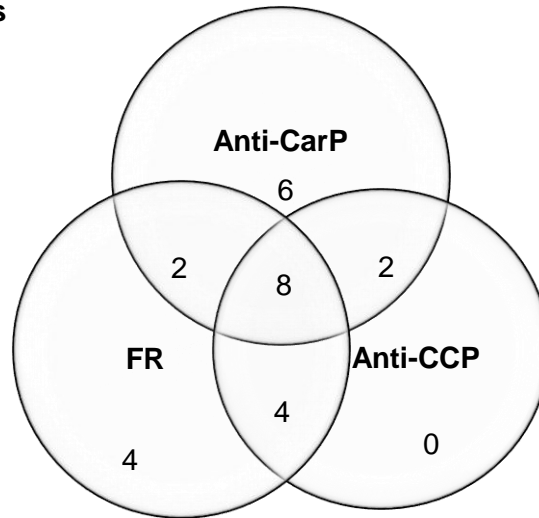
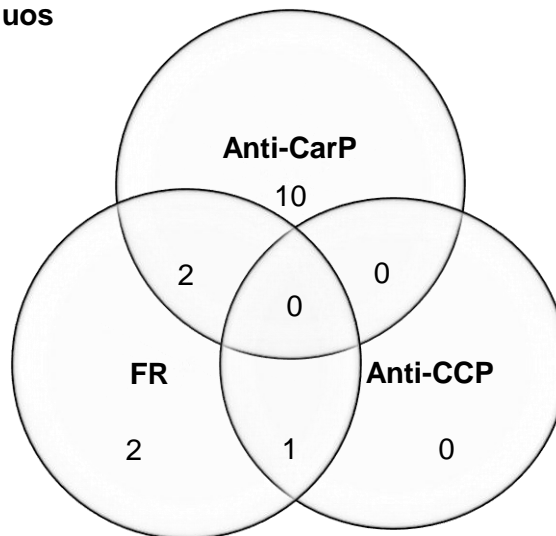


Ilustración 10. Distribución de frecuencias frente a biomarcadores reumatológicos en el grupo de individuos familiares en primer grado de consanguinidad.

No. total de individuos
30

Triple negativo
15



5.7.7. Distribución de variables periodontales en artritis reumatoide temprana y familiares en primer grado de consanguinidad positivos para anticuerpos anti-péptido carbamilado

En cuanto a las variables periodontales en el grupo de artritis reumatoide temprana positivo para anticuerpos anti-péptido carbamilado, se observó que 13 (72,2%) pacientes del grupo de artritis reumatoide temprana presentaron diagnóstico de enfermedad periodontal, de los cuales 2 (15,4%) se encontraban en estadio leve, 6 (46,1%) en estadio moderado y 5 (38,5%) pacientes, en estadio severo. Se detectó la presencia de *P. gingivalis* en 14 (43,3%) pacientes, además en 8 (26,7%) pacientes se determinó positividad para anticuerpos anti-*P.gingivalis* isotipo IgG1 y 6 (20,0%) pacientes presentaron positividad para anticuerpos anti-*P.gingivalis* isotipo IgG2.

En el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad positivos para anticuerpos anti-péptido carbamilado se observó que 8 (66,7%) individuos presentaron enfermedad periodontal, de los cuales 1 (15,0%) se encontraba en condición leve, 6 (75,0%) en condición moderada y 1 (15,0%) sujeto, en condición severa. Se detectó *P. gingivalis* en 9 (30,0%) individuos, y se determinó positividad para anticuerpos anti-*P.gingivalis* isotipo IgG1 en 10 (33,3%) y positividad para anticuerpos anti-*P.gingivalis* isotipo IgG2 en 8 (26,7%) (**Tabla 16**).

Tabla 16. Distribución de frecuencias frente a las variables periodontales entre los grupos de estudio positivos para anticuerpos anti-péptido carbamilo.

Variables	ARt n:18 (100%)	Controles ARt n:5 (100%)	FPC n:12 (100%)	Controles FPC n:3 (100%)
Enfermedad periodontal F (%)				
Positivo	13 (72,2)	4 (80)	8 (66,66)	2 (66,6)
Severidad Periodontal F (%)				
Leve	2 (15,4)	0 (0)	1 (15)	0 (0)
Moderada	6 (46,1)	4 (100)	6 (75)	1 (33,33)
Severa	5 (38,5)	0 (0)	1 (15)	1 (33,33)
<i>P. gingivalis</i> F (%)				
Positivo	14 (77,8)	3 (10)	9 (30)	2 (6,66)
Anticuerpos IgG1 <i>P. gingivalis</i> F (%)				
Positivo >1:100	8 (44,4)	2 (6,66)	10 (33,33)	1 (3,33)
Anticuerpos IgG2 <i>P. gingivalis</i> F (%)				
Positivo >1:100	6 (33,3)	2 (6,66)	8 (26,66)	1 (3,33)

P. gingivalis: Porphyromonas gingivalis, ARt: Artritis Reumatoide temprana, FPC: Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR.

5.8. ASOCIACIONES ENTRE GRUPOS FRENTE A LOS ANTICUERPOS ANTI-FIBRINÓGENO

El análisis estadístico permitió determinar las posibles asociaciones entre variables periodontales y/o reumatológicas frente a la positividad para anticuerpos anti-péptido de fibrinógeno nativo y carbamylado. En el grupo de artritis reumatoide temprana, la presencia de anticuerpos anti-*FibNorm* no estuvo asociada a alguna de las variables reumatológicas analizadas (**Tabla 17**). Los títulos de anticuerpos anti-*FibHomo* positivos 1/50 y 1/100 no tuvieron asociación con alguna de las variables reumatológicas analizadas (**Tablas 18 y 19**).

Tabla 17. Asociación entre anticuerpos anti-*FibNorm* y variables reumatológicas en el grupo de pacientes con artritis reumatoide temprana.

Variables reumatológicas		Anticuerpos anti- <i>FibNorm</i>				Valor p
		Negativo		Positivo		
		n	% de la fila	n	% de la fila	
VGS	Negativo	8	44,4%	10	55,6%	0,543
	Positivo	4	33,3%	8	66,7%	
PCR	Negativo	6	54,5%	5	45,5%	0,340
	3-9 mg/L	4	40,0%	6	60,0%	
	>9 mg/L	2	22,2%	7	77,8%	
FR	Negativo	5	41,7%	7	58,3%	0,392
	20-59	6	50,0%	6	50,0%	
	>59	1	16,7%	5	83,3%	
Anti-CCP IgG/IgA	Negativo	7	43,8%	9	56,3%	0,654
	Positivo	5	35,7%	9	64,3%	
Articulaciones Dolorosas	Menos de 1	2	33,3%	4	66,7%	0,709
	Al menos 1 o mas	10	41,7%	14	58,3%	
Articulaciones inflamadas	Menos de 1	1	33,3%	2	66,7%	0,288
	Al menos 1 o mas	1	33,3%	2	66,7%	
DAS28 VSG	Menor a 2,6	2	40,0%	3	60,0%	0,485
	Entre 2,6 – 3,2	0	0,0%	2	100,0%	
	Mayor a 3,2	10	43,5%	13	56,5%	

DAS28 PCR	Menor a 2,6	1	33,3%	2	66,7%	0,969
	Entre 2,6 – 3,2	2	40,0%	3	60,0%	
	Mayor a 3,2	9	40,9%	13	59,1%	

DAS28: Disease activity score, VSG: Velocidad de sedimentación globular, PCR: Proteína C reactiva, FR: Factor Reumatoide, Anti-CCP: Anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados.

*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

Tabla 18. Asociación entre títulos de anticuerpos anti-*FiHomo* positivos 1/50 y variables reumatológicas en el grupo de pacientes con artritis reumatoide temprana.

Variables reumatológicas		Anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> 1/50				Valor p
		Negativo		Positivo		
		n	% de la fila	n	% de la fila	
VGS	Negativo	8	44,4%	10	55,6%	0,543
	Positivo	4	33,3%	8	66,7%	
PCR	Negativo	4	36,4%	7	63,6%	0,725
	3-9 mg/L	5	50,0%	5	50,0%	
	>9 mg/L	3	33,3%	6	66,7%	
FR	Negativo	4	33,3%	8	66,7%	0,784
	20-59	5	41,7%	7	58,3%	
	>59	3	50,0%	3	50,0%	
Anti-CCP IgG/IgA	Negativo	8	50,0%	8	50,0%	0,232
	Positivo	4	28,6%	10	71,4%	
Articulaciones Dolorosas	Ninguna	2	33,3%	4	66,7%	0,709
	Al menos 1 o mas	10	41,7%	14	58,3%	
Articulaciones inflamadas	Ninguna	2	66,7%	1	33,3%	0,320
	Al menos 1 o mas	10	37,0%	17	63,0%	
DAS28 VSG	Menor a 2,6	2	40,0%	3	60,0%	0,956
	Entre 2,6 – 3,2	1	50,0%	1	50,0%	
	Mayor a 3,2	9	39,1%	14	60,9%	
DAS28 PCR	Menor a 2,6	1	33,3%	2	66,7%	0,969
	Entre 2,6 – 3,2	2	40,0%	3	60,0%	
	Mayor a 3,2	9	40,9%	13	59,1%	
RAPID 3	Severidad Alta	5	31,3%	11	68,8%	0,084
	Severidad Moderado	6	75,0%	2	25,0%	
	Severidad Baja	0	0,0%	3	100,0%	
	Remisión	1	33,3%	2	66,7%	

DAS28: Disease activity score, VSG: Velocidad de sedimentación globular, PCR: Proteína C reactiva, FR: Factor Reumatoide, Anti-CCP: Anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados, RAPID3: Routine Assessment of Patient Index Data 3.

*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

Tabla 19. Asociación entre anticuerpos anti-*FibHomo* en títulos 1/100 y variables reumatológicas en el grupo de pacientes con artritis reumatoide temprana.

Variables reumatológicas		Anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> 1/100				Valor p
		Negativo		Positivo		
		n	% de la fila	n	% de la fila	
VSG	Negativo	12	66,7%	6	33,3%	0,073
	Positivo	4	33,3%	8	66,7%	
PCR	Negativo	7	63,6%	4	36,4%	0,351
	3-9 mg/L	6	60,0%	4	40,0%	
	>9 mg/L	3	33,3%	6	66,7%	
FR	Negativo	5	41,7%	7	58,3%	0,547
	20-59	7	58,3%	5	41,7%	
	>59	4	66,7%	2	33,3%	
Anti-CCP IgG/IgA	Negativo	9	56,3%	7	43,8%	0,732
	Positivo	7	50,0%	7	50,0%	
Articulaciones Dolorosas	Ninguna	4	66,7%	2	33,3%	0,464
	Al menos 1	12	50,0%	12	50,0%	
Articulaciones inflamadas	Ninguna	2	66,7%	1	33,3%	0,626
	Al menos 1	14	51,9%	13	48,1%	
DAS28 VSG	Menor a 2,6	3	60,0%	2	40,0%	0,946
	Entre 2,6 – 3,2	1	50,0%	1	50,0%	
	Mayor a 3,2	12	52,2%	11	47,8%	
DAS28 PCR	Menor a 2,6	2	66,7%	1	33,3%	0,818
	Entre 2,6 – 3,2	3	60,0%	2	40,0%	
	Mayor a 3,2	11	50,0%	11	50,0%	

DAS28: Disease activity score, VSG: Velocidad de sedimentación globular, PCR: Proteína C reactiva, FR: Factor Reumatoide, Anti-CCP: Anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados.

*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

Frente a las variables periodontales, se observó una tendencia estadística entre la positividad para anticuerpos anti-*FibHomo* en títulos 1/100 y la presencia de anticuerpos anti-*P.gingivalis* isotipo IgG2 en títulos >1/100 (p=0,062) (**Tabla 20**).

Tabla 20. Asociación entre anticuerpos anti-*FibHomo* en títulos 1/100 y variables periodontales en el grupo de pacientes con artritis reumatoide temprana.

Variables periodontales	Anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> 1/100				Valor p	
	Negativo		Positivo			
	n	% de la fila	n	% de la fila		
DX Periodontal	Ausencia	5	50,0%	5	50,0%	0,796
	Presencia	11	55,0%	9	45,0%	
Severidad	Ninguna	5	50,0%	5	50,0%	0,862
	Leve	1	33,3%	2	66,7%	
	Moderada	6	60,0%	4	40,0%	
	Severidad	4	57,1%	3	42,9%	
<i>P. gingivalis</i> (F)	Ausencia	5	62,5%	3	37,5%	0,544
	Presencia	11	50,0%	11	50,0%	
Anticuerpos IgG1 contra <i>P.gingivalis</i>	<1/100	11	61,1%	7	38,9%	0,296
	>1/100	5	41,7%	7	58,3%	
Anticuerpos IgG2 contra <i>P.gingivalis</i>	<1/100	14	63,6%	8	36,4%	0,061
	>1/100	2	25,0%	6	75,0%	

P. gingivalis: *Porphyromonas gingivalis*
 *p <0,05: diferencia estadísticamente significativa

En el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad, se asoció la presencia de anticuerpos anti-*FibNorm* y un bajo número de articulaciones inflamadas (p=0,028) (**Tabla 21**).

Tabla 21. Asociación entre anticuerpos anti-*FibNorm* y variables reumatológicas en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide.

Variables	Anticuerpos anti- <i>FibNorm</i>					
		Negativo		Positivo		Valor p
		n	%	n	%	
VGS	Negativo	10	34,48%	19	65,52%	0,181
	Positivo	1	100,00%	0	0,00%	
PCR	Negativo	7	38,89%	11	61,11%	0,227
	3-9 mg/L	4	50,00%	4	50,00%	
	>9 mg/L	0	0,00%	4	100,00%	
FR	Negativo	8	32,00%	17	68,00%	0,461
	20-59	2	66,67%	1	33,33%	
	>59	1	50,00%	1	50,00%	
Anti-CCP IgG/IgA	Negativo	11	37,93%	18	62,07%	0,439
	Positivo	0	0,00%	1	100,00%	
Articulaciones dolorosas	Negativo	4	26,67%	11	73,33%	0,256
	Al menos 1	7	46,67%	8	53,33%	
Articulaciones inflamadas	Negativo	7	28,00%	18	72,00%	0,028*
	Al menos 1	4	80,00%	1	20,00%	
HAQ	≤ 1	10	40,00%	15	60,00%	0,627
	1,1-2	1	25,00%	3	75,00%	
	>3	0	0,00%	1	100,00%	

DAS28: Disease activity score, VSG: Velocidad de sedimentación globular, PCR: Proteína C reactiva, FR: Factor Reumatoide, Anti-CCP: Anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados, HAQ: Health assessment questionnaire.
*p <0,05: diferencia estadísticamente significativa

En cuanto a la presencia de anticuerpos anti-*FibHomo* en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad se observó que en la medida que aumentaron los títulos de estos anticuerpos, el porcentaje de individuos con articulaciones dolorosas fue constante pero el porcentaje de individuos con articulaciones inflamadas aumentó, con diferencias estadísticamente significativas (**Tablas 22 y 23**).

Tabla 22. Asociación entre anticuerpos anti-*FibHomo* en títulos 1/50 y variables reumatológicas en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide.

Variables reumatológicas		Anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> 1/50				Valor p
		Negativo		Positivo		
		n	% de la fila	n	% de la fila	
VGS	Negativo	18	62,07%	11	37,93%	0,213
	Positivo	0	0,00%	1	100,00%	
PCR	Negativo	10	55,56%	8	44,44%	0,207
	3-9 mg/L	4	50,00%	4	50,00%	
	>9 mg/L	4	100,00%	0	0,00%	
FR	Negativo	15	60,00%	10	40,00%	0,329
	20-59	1	33,33%	2	66,67%	
	>59	2	100,00%	0	0,00%	
Anti-CCP IgG/IgA	Negativo	17	58,62%	12	41,38%	0,406
	Positivo	1	100,00%	0	0,00%	
Articulaciones dolorosas	Ninguna	12	80,00%	3	20,00%	0,025*
	Al menos 1	6	40,00%	9	60,00%	
Articulaciones inflamadas	Ninguna	17	68,00%	8	32,00%	0,046*
	Al menos 1	1	20,00%	4	80,00%	
HAQ	≤ 1	14	56,00%	11	44,00%	0,547
	1,1-2	3	75,00%	1	25,00%	
	>3	1	100,00%	0	0,00%	
SDAI	≤ 3,3	7	70,00%	3	30,00%	0,039
	3,3-11	4	33,33%	8	66,67%	
	>11	7	87,50%	1	12,50%	

DAS28: Disease activity score, VSG: Velocidad de sedimentación globular, PCR: Proteína C reactiva, FR: Factor Reumatoide, Anti-CCP: Anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados, HAQ: Health assessment questionnaire. SDAI: Simple Disease Activity Index

*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

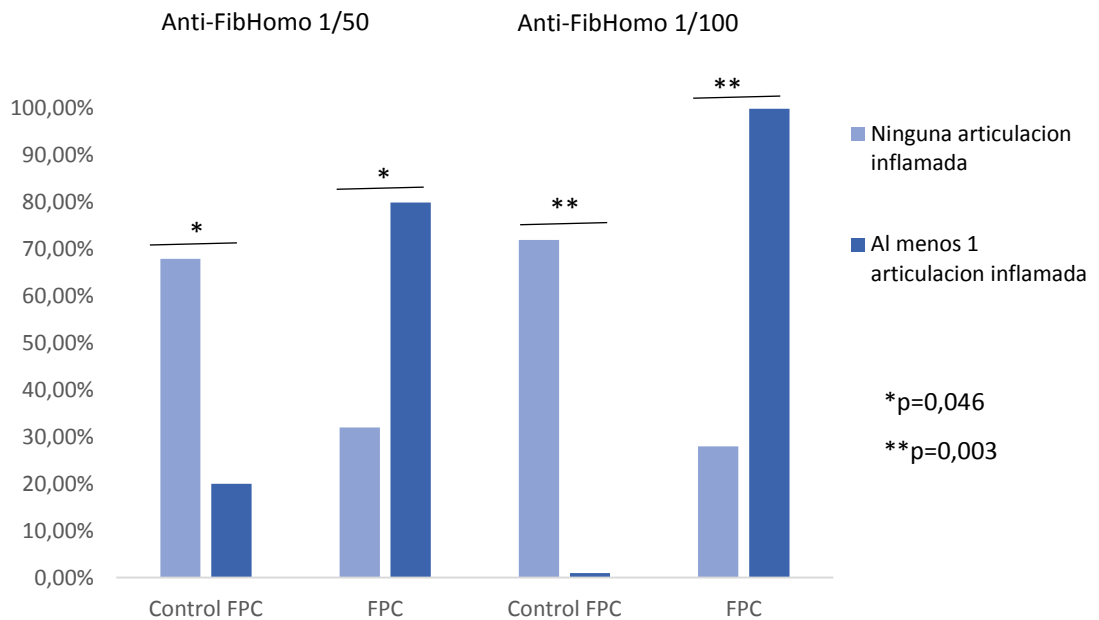
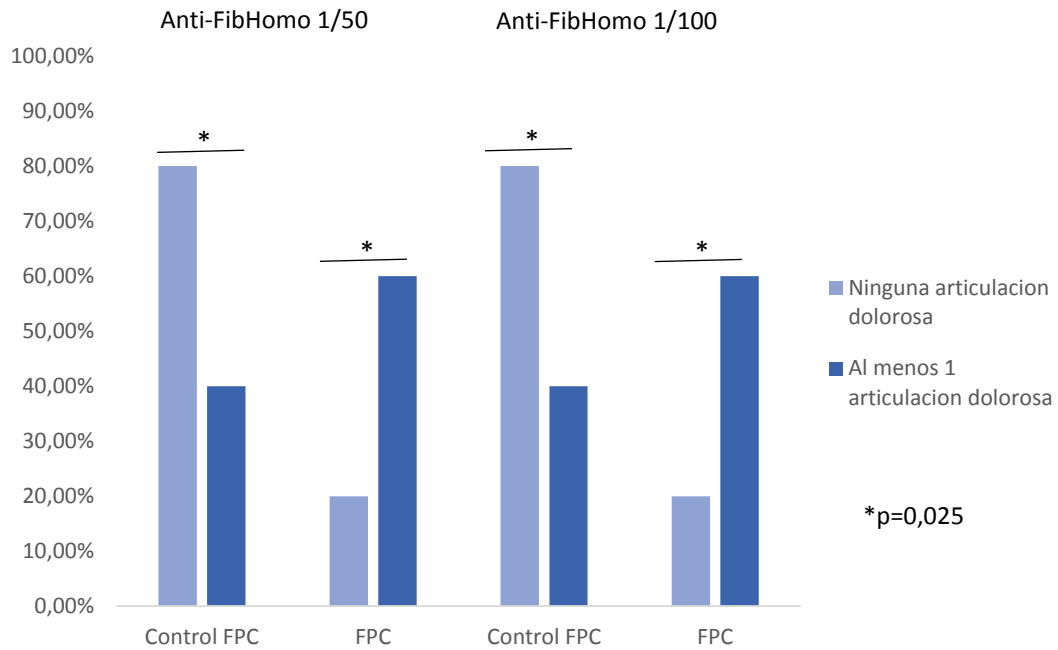
Tabla 23. Asociación entre anticuerpos anti-*FibHomo* en títulos 1:100 y variables reumatológicas en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide.

Variables reumatológicas		Anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> 1/100				Valor p
		Negativo		Positivo		
		n	% de la fila	n	% de la fila	
VSG	Negativo	18	62,07%	11	37,93%	0,213
	Positivo	0	0,00%	1	100,00%	
PCR	Negativo	11	61,11%	7	38,89%	0,699
	3-9 mg/L	4	50,00%	4	50,00%	
	>9 mg/L	3	75,00%	1	25,00%	
FR	Negativo	14	56,00%	11	44,00%	0,459
	20-59	2	66,67%	1	33,33%	
	>59	2	100,00%	0	0,00%	
Anti-CCP IgG/IgA	Negativo	17	58,62%	12	41,38%	0,406
	Positivo	1	100,00%	0	0,00%	
Articulaciones dolorosas	Ninguna	12	80,00%	3	20,00%	0,025*
	Al menos 1	6	40,00%	9	60,00%	
Articulaciones inflamadas	Ninguna	18	72,00%	7	28,00%	0,003*
	Al menos 1	0	0,00%	5	100,00%	

DAS28: Disease activity score, VSG: Velocidad de sedimentación globular, PCR: Proteína C reactiva, FR: Factor Reumatoide, Anti-CCP: Anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados.

*p < 0,05: diferencia estadísticamente significativa

Ilustración 11. Comportamiento de variables articulares en individuos familiares en primer grado de consanguinidad con respecto a los títulos de anticuerpos anti-FibHomo.



En cuanto a las variables periodontales se observó que el grupo familiares en primer grado de consanguinidad positivos para anticuerpos anti-*FibHomo* 1/100 presentó asociación con la severidad del daño periodontal ($p=0,043$) (**Tabla 24**).

Tabla 24. Asociación entre anticuerpos anti-*FibHomo* en títulos 1/100 y variables periodontales en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide.

Variables periodontales		Anticuerpos anti- <i>FibHomo</i> en títulos 1/100				Valor p
		Negativo		Positivo		
		n	% de la fila	n	% de la fila	
Diagnostico Periodontal	Ausencia	10	71,43%	4	28,57%	0,232
	Presencia	8	50,00%	8	50,00%	
Severidad	Ninguna	10	71,43%	4	28,57%	0,043*
	Leve	5	83,33%	1	16,67%	
	Moderada	2	22,22%	7	77,78%	
	Severa	1	100,00%	0	0,00%	

* $p < 0,05$: diferencia estadísticamente significativa

6. DISCUSIÓN

La detección de autoanticuerpos como el FR y los autoanticuerpos anti-CCP, en el diagnóstico de la AR, han marcado una especial importancia ya que permiten su diferenciación frente a otras artropatías además de establecer factores pronósticos, lo que facilita la toma de decisiones en cuanto a opciones terapéuticas y el seguimiento de la enfermedad. En este último apartado, el valor de los autoanticuerpos anti-CCP prima por sobre el FR al tener una mayor sensibilidad, especificidad y valor pronóstico (8,99,143). De manera reciente se descubrió una nueva familia de autoanticuerpos dirigido a proteínas homocitrulinadas, que se han visto asociados a esta enfermedad y que podrían presentarse como nuevo biomarcador de diagnóstico y pronóstico en individuos en condición de riesgo y pacientes cuyos niveles de autoanticuerpos anti-CCP son indetectables o negativos, a pesar de cursar con daño articular (13,16)

La predominancia del sexo femenino sobre el masculino en cuanto al padecimiento de la enfermedad es visible y esta posiblemente asociada a la producción de estrógenos, ya que hay autores que han descrito el papel de esta hormona en la modulación de la respuesta inmune y una incidencia de 2–10 veces mayor en el desarrollo de enfermedades inflamatorias y autoinmunes (144,145).

Se observó que hay un aumento del IMC en los individuos de los grupos de estudio, frente a sus respectivos controles. En la literatura se han realizado descripciones acerca del aumento del IMC como posible factor de riesgo para el desarrollo de AR tanto en pacientes como en individuos familiares en primer grado de consanguinidad (146,147). Una posible explicación a este fenómeno es que el aumento del IMC que conduce al sobrepeso representa un estado inflamatorio

crónico del tejido adiposo que involucra la producción de citocinas propias de este tejido (adipocinas), implicadas en la patogénesis de desórdenes inflamatorios autoinmunes (148).

Así mismo, se evidenció que existe un elevado porcentaje de individuos familiares en primer grado de consanguinidad que presentaban enfermedad periodontal, significando un aporte en la asociación entre la enfermedad periodontal y la AR en este grupo poblacional. Esto ha sido señalado por otros autores, donde relatan que la periodontitis es una condición presente en la mayoría de estos individuos y sería un factor que logre desencadenar la enfermedad autoinmune en este grupo considerado de riesgo por su antecedente genético (147,149).

En el marco de la investigación de la AR, se han identificado proteínas como el fibrinógeno, la filagrina, la vimetina, el colágeno y la enolasa, cuya modificación post-traducciona está asociada a la ruptura de la tolerancia inmunológica, actuando como autoantígenos blanco de los autoanticuerpos anti-CCP (citrulinación) (107–111) y ahora, los autoanticuerpos anti-CarP (carbamilación). La carbamilación es la modificación post-traducciona que consiste en reemplazar un residuo de lisina por homocitrulina (llamada así por su similitud molecular con la citrulina) y recientemente se ha asociado a la etiopatología y actividad de la AR (36)

Teniendo en cuenta lo anterior, se empleó la secuencia peptídica del fibrinógeno nativa como control y homocitrulinada para determinar la presencia de autoanticuerpos anti-CarP, basado en el ensayo realizado por Shi y colaboradores (13).

Se observó que tanto los pacientes con artritis reumatoide temprana como los individuos familiares en primer grado de consanguinidad, presentaron anticuerpos contra el péptido de fibrinógeno nativo, con respecto a los sujetos de los grupos control, con diferencias estadísticamente significativas. Se podría pensar que la causa de este fenómeno es el daño articular que permitiría la liberación tanto de proteínas nativas como modificadas al espacio extracelular (principalmente fibrinógeno), y por efectos de la desregulación inmunológica propia de la AR, se favorecería la presentación antigénica y posterior producción de autoanticuerpos para los dos tipos de proteínas. Como se mencionó anteriormente, el fibrinógeno es un blanco en la producción de autoanticuerpos (108) y, en concordancia con estos resultados, autores como Auger et al. han descrito que la proliferación de Linfocitos T frente a péptidos nativos y modificados de fibrinógeno es frecuente en pacientes con AR y ausente en personas sanas (150). Sin embargo, no se explica por qué los individuos familiares en primer grado de consanguinidad presentan estos anticuerpos cuando son, en teoría, personas sanas. Cabría la posibilidad de que este sea un mecanismo subyacente que desencadene la enfermedad y así mismo estos autoanticuerpos sean indicadores del inicio de la misma.

La mayor parte de individuos que presentaron anticuerpos frente al péptido de fibrinógeno homocitrulinado pertenecían al grupo de pacientes con artritis reumatoide temprana e individuos familiares en primer grado de consanguinidad, con ausencia en población sana, siendo estadísticamente significativo. Así mismo, un bajo porcentaje de individuos de estos dos grupos manifestaron haber tenido algún tipo de contacto con el cigarrillo. A pesar de que en la literatura se ha mencionado que el tabaquismo puede aumentar los niveles de cianato en sangre y así inducir la carbamilación, no es la única fuente, ya que el cianato también

puede encontrarse en el aire, producto de la polución (118), lo que podría explicar los resultados obtenidos, teniendo en cuenta que Bogotá presenta niveles altos de contaminación atmosférica (151). En concordancia con esto, Jiang y colaboradores reportaron no hallar asociación entre el tabaquismo y la producción de autoanticuerpos anti-CarP, sugiriendo que si bien el tabaco está asociado con la producción de autoanticuerpos anti-CCP, posiblemente los autoanticuerpos anti-CarP se generen por mecanismos que no involucren el contacto con cigarrillo (20).

Se observó que en los pacientes del grupo de artritis reumatoide temprana positivos para anticuerpos contra el péptido carbamylado, el 33,3% fueron seronegativos tanto para el FR como para los autoanticuerpos anti-CCP, el 11,1% fueron positivos para FR, el 11,1% fueron positivos para autoanticuerpos anti-CCP y el 44,4% presentaron positividad para el FR y los autoanticuerpos anti-CCP. Así mismo, no se observó asociación entre los títulos de autoanticuerpos anti-CCP y autoanticuerpos anti-CarP, lo que bien podría señalar que éstas son dos familias de autoanticuerpos independientes, como se ha descrito en otros estudios (13,16).

En el presente estudio no se lograron establecer asociaciones entre la producción de autoanticuerpos anti-CarP y variables reumatológicas en el grupo de artritis reumatoide temprana. En contraste con estos resultados, autores como Shi et al., han señalado la asociación de estos autoanticuerpos con el inicio de signos y síntomas articulares (artralgias) previos al desarrollo de AR (16); así como Yee y colaboradores han encontrado correlación entre el aumento en el índice de actividad reumatológica DAS28 y la medición conjunta de los autoanticuerpos anti-CarP y anti-CCP (17). Esto podría deberse al tamaño de la muestra que se utilizó en este estudio.

En contraste, frente al grupo de familiares en primer grado de consanguinidad, se resalta que el número de sujetos positivos para autoanticuerpos anti-CarP, es en su totalidad, seronegativos para autoanticuerpos anti-CCP. Así mismo, se observó que los títulos de anticuerpos frente al péptido de fibrinógeno carbamilado están asociados con variables reumatológicas como las articulaciones dolorosas e inflamadas, con diferencias estadísticamente significativas, lo que indicaría que en estos individuos aparentemente sanos presentan rasgos de actividad reumatológica, así como de producción de anticuerpos. Esto podría tratarse de un posible indicador del desarrollo de la enfermedad. Aunque en la literatura se ha descrito la presencia de autoanticuerpos anti-CarP en este grupo poblacional y su asociación frente al desarrollo de la enfermedad es debatible (23,24), en el presente estudio se encontró índices de actividad reumatológica asociada específicamente a los autoanticuerpos anti-CarP, lo que representaría un posible marcador que permitiría realizar una detección temprana de la enfermedad en estos individuos. Además sería la explicación de los resultados iniciales donde se observó un alto número de sujetos con articulaciones dolorosas, en comparación con los sujetos del grupo control, revelando que incluso estos individuos en condición de riesgo presentan rasgos de daño articular.

Con respecto a las variables periodontales, se observó que en el grupo de familiares en primer grado de consanguinidad, la presencia de anticuerpos contra el péptido carbamilado estuvo asociado a un aumento en el daño periodontal. Como se mencionó anteriormente, hay estudios que relatan la presencia de esta enfermedad en individuos con riesgo de padecer AR (147,149), así como la asociación entre la enfermedad periodontal principalmente causada por *P. gingivalis* y la AR, debido a los procesos de citrulinación mediados por este patógeno y como posible causa de la ruptura inmunológica (80–83). De igual manera, se ha documentado sobre la presencia de proteínas carbamiladas en el tejido gingival inflamado (152), por lo que esta asociación es factible ya que la

enfermedad periodontal involucra la infiltración y acción de los neutrófilos (153) liberando mieloperoxidasa al espacio extracelular, enzima responsable de aumentar los niveles de cianato y por ende, inducir el proceso de carbamitación (118,121,122).

7. CONCLUSIONES

Se establece la presencia de anticuerpos frente a péptidos carbamitados en la población de familiares en primer grado de consanguinidad colombiana estudiada asociándolos con variables clínicas de compromiso articular así como a un estado periodontal más severo, apoyando el enlace entre la enfermedad periodontal y la AR en este grupo considerado “de riesgo”. Confirmando a este grupo de individuos en riesgo lo cual indica un seguimiento clínico estricto en el tiempo.

Si bien no se pudieron determinar las asociaciones anteriormente mencionadas en los pacientes con artritis reumatoide temprana, este estudio establece parámetros para realizar futuros estudios con un número de muestra más amplio, o estudios de cohorte a través del tiempo para confirmar o contrastar lo observado en este estudio.

De forma interesante se observó que tanto los pacientes con artritis reumatoide temprana como familiares en primer grado de consanguinidad presentaron anticuerpos frente al péptido nativo de fibrinógeno, fenómeno que podría explicar las fases iniciales en la patogénesis de la enfermedad. Se sugiere realizar estudios que permitan evaluar la importancia de la aparición temprana de estos anticuerpos, su asociación frente a la enfermedad y el desarrollo de la misma.

8. REFERENCIAS

1. Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* [Internet]. 2003 May 15;423(6937):356–61. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature01661>
2. Klareskog L, Rönnelid J, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L. Immunity to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2008;26:651–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18173373>
3. Wegner N, Lundberg K, Kinloch A, Fisher B, Malmström V, Feldmann M, et al. Autoimmunity to specific citrullinated proteins gives the first clues to the etiology of rheumatoid arthritis. *Immunol Rev*. 2010;233(1):34–54.
4. Rosales-borjas DM, Arévalo MA, Ortiz-ortiz L. Artritis reumatoide: importancia de los antígenos citrulinados en el diagnóstico del padecimiento. *Rev Médica la Extensión Port*. 2009;4(3):125–30.
5. 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* [Internet]. 2007 Jun 5;146(11):797–808. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17548411>
6. van Venrooij WJ, Hazes JM, Visser H. Anticitrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. *Neth J Med*. 2002;60(10):383–8.
7. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BAW, 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 [Internet]. 2003 Oct;48(10):2741–9. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14558078>

8. van der Helm-van Mil AHM, Verpoort KN, Breedveld FC, Toes REM, Huizinga TWJ. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2005;7(5):R949-58. Available from:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1257421&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
9. Van Der Woude D, Young A, Jayakumar K, Mertens BJ, Toes REM, Van Der Heijde D, et al. Prevalence of and predictive factors for sustained disease-modifying antirheumatic drug-free remission in rheumatoid arthritis: Results from two large early arthritis cohorts. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2009 Aug;60(8):2262–71. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.24661>
10. Nielen MMJ, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MHMT, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2004 Feb;50(2):380–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14872479>
11. Willemze A, Trouw L a, Toes REM, Huizinga TWJ. The influence of ACPA status and characteristics on the course of RA. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2012;8(3):144–52. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22293763>
12. 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* [Internet]. 2006 Apr;65(4):453–8. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16176994>

13. Shi J, Knevel R, Suwannalai P, van der Linden MP, Janssen GMC, van Veelen P a., et al. Autoantibodies recognizing carbamylated proteins are present in sera of patients with rheumatoid arthritis and predict joint damage. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108(42):17372–7.
14. Steinbrecher UP, Fisher M, Witztum JL, Curtiss LK. Immunogenicity of homologous low density lipoprotein after methylation, ethylation, acetylation, or carbamylation: generation of antibodies specific for derivatized lysine. *J Lipid Res* [Internet]. 1984 Oct;25(10):1109–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6439810>
15. Mydel P, Wang Z, Brisslert M, Hellvard A, Dahlberg LE, Hazen SL, et al. Carbamylation-dependent activation of T cells: a novel mechanism in the pathogenesis of autoimmune arthritis. *J Immunol* [Internet]. 2010 Jun 15;184(12):6882–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20488785>
16. Shi J, Van De Stadt LA, Levarht EWN, Huizinga TWJ, Toes REM, Trouw LA, et al. Anti-carbamylated protein antibodies are present in arthralgia patients and predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2013;65(4):911–5.
17. Yee A, Webb T, Seaman A, Infantino M, Meacci F, Manfredi M, et al. Anti-CarP antibodies as promising marker to measure joint damage and disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Immunol Res*. 2014;61(1–2):24–30.
18. Shi J, van de Stadt L a, Levarht EWN, Huizinga TWJ, Hamann D, van Schaardenburg D, et al. Anti-carbamylated protein (anti-CarP) antibodies precede the onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2014;73(4):780–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24336334>
19. Brink M, Verheul MK, Rönnelid J, Berglin E, Holmdahl R, Toes REM, et al.

Anti-carbamylated protein antibodies in the pre-symptomatic phase of rheumatoid arthritis, their relationship with multiple anti-citrulline peptide antibodies and association with radiological damage. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2015;17:25. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4350267&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

20. Jiang X, Trouw L a, van Wesemael TJ, Shi J, Bengtsson C, Källberg H, et al. Anti-CarP antibodies in two large cohorts of patients with rheumatoid arthritis and their relationship to genetic risk factors, cigarette smoking and other autoantibodies. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2014;1761–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24812286>
21. Gan RW, Trouw LA, Shi J, Toes REM, Huizinga TWJ, Demoruelle MK, et al. Anti-carbamylated Protein Antibodies Are Present Prior to Rheumatoid Arthritis and Are Associated with Its Future Diagnosis. *J Rheumatol* [Internet]. 2015 Apr 1;42(4):572–9. Available from: <http://www.jrheum.org/cgi/doi/10.3899/jrheum.140767>
22. Shi J, van Steenbergen HW, van Nies JAB, Levarht EWN, Huizinga TWJ, van der Helm-van Mil AHM, et al. The specificity of anti-carbamylated protein antibodies for rheumatoid arthritis in a setting of early arthritis. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2015;17(1):339. Available from: <http://arthritis-research.com/content/17/1/339>
23. Alessandri C, Bartosiewicz I, Pendolino M, Mancini R, Colasanti T, Pecani A, et al. Anti-carbamylated protein antibodies in unaffected first-degree relatives of rheumatoid arthritis patients: Lack of correlation with anti-cyclic citrullinated protein antibodies and rheumatoid factor. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33(6):824–30.
24. Koppejan H, Trouw LA, Sokolove J, Lahey LJ, Huizinga TJW, Smolik IA, et al. Role of Anti-Carbamylated Protein Antibodies Compared to Anti-

Citrullinated Protein Antibodies in Indigenous North Americans With Rheumatoid Arthritis, Their First-Degree Relatives, and Healthy Controls. *Arthritis Rheumatol* [Internet]. 2016 Sep;68(9):2090–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.39664>

25. Reed E, Jiang X, Kharlamova N, Ytterberg AJ, Catrina AI, Israelsson L, et al. Antibodies to carbamylated α -enolase epitopes in rheumatoid arthritis also bind citrullinated epitopes and are largely indistinct from anti-citrullinated protein antibodies. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2016;1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13075-016-1001-6>
26. Montes A, Regueiro C, Perez-Pampin E, Boveda MD, Gomez-Reino JJ, Gonzalez A. Anti-Carbamylated Protein Antibodies as a Reproducible Independent Type of Rheumatoid Arthritis Autoantibodies. Kuwana M, editor. *PLoS One* [Internet]. 2016 Aug 18;11(8):e0161141. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0161141>
27. Gibofsky A. Overview of epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am J Manag Care* [Internet]. 2012 Dec;18(13 Suppl):S295-302. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23327517>
28. McInnes IB, Schett G. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 Dec 8;365(23):2205–19. Available from: <http://rcnpublishing.com/doi/abs/10.7748/phc2011.11.21.9.29.c8797>
29. Burska AN, Hunt L, Boissinot M, Strollo R, Ryan BJ, Vital E, et al. Autoantibodies to Posttranslational Modifications in Rheumatoid Arthritis. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2014;2014:1–19. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/mi/2014/492873/>
30. Nissim A, Winyard PG, Corrigan V, Fatah R, Perrett D, Panayi G, et al. Generation of neoantigenic epitopes after posttranslational modification of type II collagen by factors present within the inflamed joint. *Arthritis Rheum*

[Internet]. 2005 Dec;52(12):3829–38. Available from:
<http://doi.wiley.com/10.1002/art.21479>

31. Marcinkiewicz J, Biedroń R, Maresz K, Kwaśny-Krochin B, Bobek M, Kontny E, et al. Oxidative modification of type II collagen differentially affects its arthritogenic and tolerogenic capacity in experimental arthritis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* [Internet]. 52(4):284–91. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15467493>
32. Anderton SM. Post-translational modifications of self antigens: implications for autoimmunity. *Curr Opin Immunol* [Internet]. 2004 Dec;16(6):753–8. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0952791504001451>
33. Eggleton P, Nissim A, Ryan BJ, Whiteman M, Winyard PG. Detection and isolation of human serum autoantibodies that recognize oxidatively modified autoantigens. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2013 Apr;57:79–91. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584912018060>
34. Valesini G, Gerardi MC, Iannuccelli C, Pacucci VA, Pendolino M, Shoenfeld Y. Citrullination and autoimmunity. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2015 Jun;14(6):490–7. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1568997215000282>
35. Baka Z, György B, Géher P, Buzás EI, Falus A, Nagy G. Citrullination under physiological and pathological conditions. *Jt Bone Spine* [Internet]. 2012 Oct;79(5):431–6. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1297319X12000127>
36. Cantagrel A, Degboé Y. New autoantibodies associated with rheumatoid arthritis recognize posttranslationally modified self-proteins. *Joint Bone Spine* [Internet]. 2015;83(1):11–7. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26639222>

37. Gerlag DM, Raza K, van Baarsen LGM, Brouwer E, Buckley CD, Burmester GR, et al. EULAR recommendations for terminology and research in individuals at risk of rheumatoid arthritis: report from the Study Group for Risk Factors for Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(5):638–41.
38. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 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.
39. O'Dell J. Rheumatoid arthritis. In: Goldman L, Schafer AI E, editor. *Goldman's Cecil Medicine*. 25th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2016.
40. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 1987 Nov;30(11):1205–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2446635>
41. Bax M, van Heemst J, Huizinga TWJ, Toes REM. Genetics of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Immunogenetics* [Internet]. 2011 Aug 10;63(8):459–66. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00251-011-0528-6>
42. 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* [Internet]. 2001 Mar;60(3):223–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11171682>
43. Källberg H, Ding B, Padyukov L, Bengtsson C, Rönnelid 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* [Internet]. 2011 Mar;70(3):508–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21149499>

44. 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* [Internet]. 1999 May;42(5):910–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10323446>
45. Kochi Y, Suzuki A, Yamamoto K. Genetic basis of rheumatoid arthritis: A current review. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2014;452(2):254–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.07.085>
46. Suzuki A, Yamada R, Chang X, Tokuhira S, Sawada T, Suzuki M, et al. Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* [Internet]. 2003 Aug 29;34(4):395–402. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ng1206>
47. Kochi Y, Suzuki A, Yamada R, Yamamoto K. Ethnogenetic heterogeneity of rheumatoid arthritis—implications for pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2010 May 16;6(5):290–5. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrrheum.2010.23>
48. Nakashima K, Hagiwara T, Ishigami A, Nagata S, Asaga H, Kuramoto M, et al. Molecular characterization of peptidylarginine deiminase in HL-60 cells induced by retinoic acid and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D(3). *J Biol Chem* [Internet]. 1999 Sep 24;274(39):27786–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10488123>
49. Irigoyen P, Lee AT, Wener MH, Li W, Kern M, Batliwalla F, et al. Regulation of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis: Contrasting effects of HLA-DR3 and the shared epitope alleles. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2005 Dec;52(12):3813–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.21419>
50. Cha S, Choi C-B, Han T-U, Kang CP, Kang C, Bae S-C. Association of Anti–

Cyclic citrullinated peptide antibody levels with PADI4 haplotypes in early rheumatoid arthritis and with shared epitope alleles in very late rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2007 May;56(5):1454–63. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.22570>

51. Gregersen PK, Lee H-S, Batliwalla F, Begovich AB. PTPN22: Setting thresholds for autoimmunity. *Semin Immunol* [Internet]. 2006 Aug;18(4):214–23. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1044532306000467>
52. Cohen S, Dadi H, Shaoul E, Sharfe N, Roifman CM. Cloning and characterization of a lymphoid-specific, inducible human protein tyrosine phosphatase, Lyp. *Blood* [Internet]. 1999 Mar 15;93(6):2013–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10068674>
53. Vang T, Miletic A V, Arimura Y, Tautz L, Rickert RC, Mustelin T. Protein tyrosine phosphatases in autoimmunity. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2008;26:29–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18303998>
54. Thomson W, Barton A, Ke X, Eyre S, Hinks A, Bowes J, et al. Rheumatoid arthritis association at 6q23. *Nat Genet* [Internet]. 2007 Dec 4;39(12):1431–3. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ng.2007.32>
55. Musone SL, Taylor KE, Lu TT, Nititham J, Ferreira RC, Ortmann W, et al. Multiple polymorphisms in the TNFAIP3 region are independently associated with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet* [Internet]. 2008 Sep 1;40(9):1062–4. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ng.202>
56. Matmati M, Jacques P, Maelfait J, Verheugen E, Kool M, Sze M, et al. A20 (TNFAIP3) deficiency in myeloid cells triggers erosive polyarthritis resembling rheumatoid arthritis. *Nat Genet* [Internet]. 2011 Aug 14;43(9):908–12. Available from:

<http://www.nature.com/doi/finder/10.1038/ng.874>

57. Adrianto I, Wen F, Templeton A, Wiley G, King JB, Lessard CJ, et al. Association of a functional variant downstream of TNFAIP3 with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet* [Internet]. 2011 Mar 20;43(3):253–8. Available from: <http://www.nature.com/doi/finder/10.1038/ng.766>
58. Zheng J, Yin J, Huang R, Petersen F, Yu X. Meta-analysis reveals an association of STAT4 polymorphisms with systemic autoimmune disorders and anti-dsDNA antibody. *Hum Immunol* [Internet]. 2013 Aug;74(8):986–92. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0198885913001201>
59. Kariuki SN, Kirou KA, MacDermott EJ, Barillas-Arias L, Crow MK, Niewold TB. Cutting Edge: Autoimmune Disease Risk Variant of STAT4 Confers Increased Sensitivity to IFN- in Lupus Patients In Vivo. *J Immunol* [Internet]. 2009 Jan 1;182(1):34–8. Available from: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.182.1.34>
60. Kochi Y, Okada Y, Suzuki A, Ikari K, Terao C, Takahashi A, et al. A regulatory variant in CCR6 is associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Nat Genet* [Internet]. 2010 Jun 9;42(6):515–9. Available from: <http://www.nature.com/doi/finder/10.1038/ng.583>
61. Hirota K, Yoshitomi H, Hashimoto M, Maeda S, Teradaira S, Sugimoto N, et al. Preferential recruitment of CCR6-expressing Th17 cells to inflamed joints via CCL20 in rheumatoid arthritis and its animal model. *J Exp Med* [Internet]. 2007 Nov 26;204(12):2803–12. Available from: <http://www.jem.org/lookup/doi/10.1084/jem.20071397>
62. Nagpal R, Yamashiro Y, Izumi Y. The Two-Way Association of Periodontal Infection with Systemic Disorders: An Overview. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2015;2015:1–9. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/mi/2015/793898/>

63. Liubomorova I. State of periodontium in patients affected with rheumatism. *Stomatologija (Mosk)*. 1964;33 – 37.
64. Mikuls TR, Payne JB, Yu F, Thiele GM, Reynolds RJ, Cannon GW, et al. Periodontitis and *Porphyromonas gingivalis* in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol* [Internet]. 2014 May;66(5):1090–100. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.38348>
65. Mercado F, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM. Is there a relationship between rheumatoid arthritis and periodontal disease? *J Clin Periodontol* [Internet]. 2000 Apr;27(4):267–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10783841>
66. Mercado FB, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM. Relationship between rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Periodontol* [Internet]. 2001 Jun;72(6):779–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11453241>
67. Arkema E V., Karlson EW, Costenbader KH. A Prospective Study of Periodontal Disease and Risk of Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* [Internet]. 2010 Sep 1;37(9):1800–4. Available from: <http://www.jrheum.org/cgi/doi/10.3899/jrheum.091398>
68. Abdelsalam SK, Hashim NT, Elsalamabi EM, Gismalla BG. Periodontal status of rheumatoid arthritis patients in khartoum state. *BMC Res Notes* [Internet]. 2011;4(1):460. Available from: <http://bmcresnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-0500-4-460>
69. Gleissner C, Willershausen B, Kaesser U, Bolten WW. The role of risk factors for periodontal disease in patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Med Res* [Internet]. 1998 Aug 18;3(8):387–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9707521>
70. Kässer UR, Gleissner C, Dehne F, Michel A, Willershausen-Zönnchen B,

- Bolten WW. Risk for periodontal disease in patients with longstanding rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 1997 Dec;40(12):2248–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9416864>
71. Cooles FAH, Isaacs JD. Pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* [Internet]. 2011 May;23(3):233–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21427580>
 72. Socransky SS, Haffajee AD. Effect of Therapy on Periodontal Infections. *J Periodontol* [Internet]. 1993 Aug;64(8s):754–9. Available from: <http://www.joponline.org/doi/10.1902/jop.1993.64.8s.754>
 73. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000* [Internet]. 1999 Jun;20:168–238. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10522227>
 74. Kesavalu L, Holt SC, Ebersole JL. Trypsin-like protease activity of *Porphyromonas gingivalis* as a potential virulence factor in a murine lesion model. *Microb Pathog* [Internet]. 1996 Jan;20(1):1–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8692006>
 75. Birkedal-Hansen H, Taylor RE, Zambon JJ, Barwa PK, Neiders ME. Characterization of collagenolytic activity from strains of *Bacteroides gingivalis*. *J Periodontal Res* [Internet]. 1988 Jul;23(4):258–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2846816>
 76. Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev* [Internet]. 1998 Dec;62(4):1244–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9841671>
 77. McGraw WT, Potempa J, Farley D, Travis J. Purification, characterization, and sequence analysis of a potential virulence factor from *Porphyromonas gingivalis*, peptidylarginine deiminase. *Infect Immun* [Internet]. 1999

Jul;67(7):3248–56. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10377098>

78. Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen K-A, Lundberg K, et al. Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and α -enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2010 Sep;62(9):2662–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20506214>
79. Batool H, Afzal N, Shahzad F, Kashif M. Relationship between rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. *J Med Radiol Pathol Surg* [Internet]. 2016;2(6):11–4. Available from: <http://www.joponline.org/doi/abs/10.1902/jop.2001.72.6.779%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11453241>
80. Koziel J, Mydel P, Potempa J. The link between periodontal disease and rheumatoid arthritis: an updated review. *Curr Rheumatol Rep* [Internet]. 2014 Mar;16(3):408. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24458478>
81. Mangat P, Wegner N, Venables PJ, Potempa J. Bacterial and human peptidylarginine deiminases: targets for inhibiting the autoimmune response in rheumatoid arthritis? *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2010;12(3):209. Available from: <http://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar3000>
82. Rodríguez SB, Stitt BL, Ash DE. Cysteine 351 is an essential nucleophile in catalysis by *Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 2010 Dec;504(2):190–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003986110003838>
83. Farquharson D, Butcher JP, Culshaw S. Periodontitis, *Porphyromonas*, and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Mucosal Immunol* [Internet]. 2012;5(2):112–20. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22274780>

84. Brinkmann V. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science* (80-) [Internet]. 2004 Mar 5;303(5663):1532–5. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1092385>
85. Brinkmann V, Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2007 Aug;5(8):577–82. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrmicro1710>
86. Neeli I, Khan SN, Radic M. Histone deimination as a response to inflammatory stimuli in neutrophils. *J Immunol* [Internet]. 2008 Feb 1;180(3):1895–902. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18209087>
87. Klareskog L, Malmström V, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L. Smoking, citrullination and genetic variability in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Semin Immunol* [Internet]. 2011 Apr;23(2):92–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1044532311000157>
88. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Källberg 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* [Internet]. 2006 Jan;54(1):38–46. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.21575>
89. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren A-K, Nicholas AP, Zendman AJW, Eklund A, et al. Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2008 Oct 1;67(10):1488–92. Available from: <http://ard.bmj.com/cgi/doi/10.1136/ard.2007.075192>
90. 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* [Internet]. 2004 Oct;50(10):3085–92. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.20553>

91. Linn-Rasker SP. Smoking is a risk factor for anti-CCP antibodies only in rheumatoid arthritis patients who carry HLA-DRB1 shared epitope alleles. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2006 Mar 1;65(3):366–71. Available from: <http://ard.bmj.com/cgi/doi/10.1136/ard.2005.041079>
92. 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* [Internet]. 2007 May;56(5):1446–53. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.22597>
93. Lundström E, Källberg H, Alfredsson L, Klareskog L, Padyukov L. Gene–environment interaction between the DRB1 shared epitope and smoking in the risk of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis: All alleles are important. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2009 Jun;60(6):1597–603. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.24572>
94. Anaya JM, Correa PA, Mantilla R, Jiménez F, Kuffner T MJ. Rheumatoid arthritis in African Colombians from Quibdó. *Semin Arthritis Rheum* [Internet]. 2001;31:191–8. Available from: [http://www.semearthritisrheumatism.com/article/S0049-0172\(01\)33477-7/abstract](http://www.semearthritisrheumatism.com/article/S0049-0172(01)33477-7/abstract)
95. Diaz JA, Dávila-Ramírez FA, Quintana-López G, Aristizábal-Gutiérrez F, Brown P. Prevalencia de artritis reumatoide en Colombia: Una aproximación basada en la carga de la enfermedad año 2005. *Rheumatoid Arthritis prevalence in Colombia: An approach based on burden of disease study 2005*. 2015;3(1):11–6.
96. Machado-Alba JE, Ruiz AF, Medina Morales DA. The epidemiology of

- rheumatoid arthritis in a cohort of Colombian patients. *Rev Colomb Reumatol* [Internet]. 2015;22(3):148–52. Available from:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S012181231500047X>
97. Muñetón, G. A.; Quintana G. La epidemiología de la artritis reumatoide. *Rev Colomb Reumatol* [Internet]. 2016;2(3):145–7. Available from:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rcr/v22n3/v22n3a01.pdf>
98. Bright R, Proudman SM, Rosenstein ED, Bartold PM. Is there a link between carbamylation and citrullination in periodontal disease and rheumatoid arthritis? *Med Hypotheses* [Internet]. 2015 Jun;84(6):570–6. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306987715001115>
99. Kroot EJ, de Jong BA, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen FH, van't Hof M, et al. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2000 Aug;43(8):1831–5. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10943873>
100. Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Arnaud M, Dalbon P, Sebbag M, Vincent C, et al. The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol* [Internet]. 1999 Jan 1;162(1):585–94. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9886436>
101. Aggarwal R, Liao K, Nair R, Ringold S, Costenbender KH. Anti-citrullinated peptide antibody assays and their role in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* [Internet]. 2009 Nov 15;61(11):1472–83. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.24827>
102. Liao F, Li Z, Wang Y, Shi B, Gong Z, Cheng X. *Porphyromonas gingivalis* may play an important role in the pathogenesis of periodontitis-associated rheumatoid arthritis. *Med Hypotheses* [Internet]. 2009 Jun;72(6):732–5.

Available from:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306987709000504>

103. Orgován G, Noszál B. The complete microspeciation of arginine and citrulline. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2011 Apr;54(5):965–71. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0731708510006667>
104. Carrasco-Marín E, Paz-Miguel JE, López-Mato P, Alvarez-Domínguez C, Leyva-Cobián F. Oxidation of defined antigens allows protein unfolding and increases both proteolytic processing and exposes peptide epitopes which are recognized by specific T cells. *Immunology* [Internet]. 1998 Nov;95(3):314–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9824492>
105. Szodoray P, Szabó Z, Kapitány A, Gyetvai Á, Lakos G, Szántó S, et al. Anti-citrullinated protein/peptide autoantibodies in association with genetic and environmental factors as indicators of disease outcome in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2010 Jan;9(3):140–3. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1568997209001116>
106. Nagata S, Yamagiwa M, Inoue K, Senshu T. Estrogen regulates peptidylarginine deiminase levels in a rat pituitary cell line in culture. *J Cell Physiol* [Internet]. 1990 Nov;145(2):333–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jcp.1041450219>
107. Sebbag M, Chapuy-Regaud S, Auger I, Petit-Teixeira E, Clavel C, Nogueira L, et al. Clinical and pathophysiological significance of the autoimmune response to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Jt Bone Spine* [Internet]. 2004 Nov;71(6):493–502. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1297319X04001460>
108. Masson-Bessiere C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, et al. The Major Synovial Targets of the Rheumatoid Arthritis-Specific Antifilaggrin Autoantibodies Are Deiminated Forms of the - and -

Chains of Fibrin. *J Immunol* [Internet]. 2001 Mar 15;166(6):4177–84.

Available from:

<http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.166.6.4177>

109. Sebbag M, Moinard N, Auger I, Clavel C, Arnaud J, Nogueira L, et al. Epitopes of human fibrin recognized by the rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated proteins. *Eur J Immunol* [Internet]. 2006 Aug;36(8):2250–63. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/eji.200535790>
110. Bang H, Egerer K, Gaudiard A, Lühke K, Rudolph PE, Fredenhagen G, et al. Mutation and citrullination modifies vimentin to a novel autoantigen for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2007 Aug;56(8):2503–11. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.22817>
111. Kinloch A, Tatzler V, Wait R, Peston D, Lundberg K, Donatien P, et al. Identification of citrullinated alpha-enolase as a candidate autoantigen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2005;7(6):R1421-9. Available from: <http://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar1845>
112. Foulquier C, Sebbag M, Clavel C, Chapuy-Regaud S, Al Badine R, Méchin M-C, et al. Peptidyl arginine deiminase type 2 (PAD-2) and PAD-4 but not PAD-1, PAD-3, and PAD-6 are expressed in rheumatoid arthritis synovium in close association with tissue inflammation. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2007 Nov;56(11):3541–53. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.22983>
113. Quirke A-M, Fisher BAC, Kinloch AJ, Venables PJ. Citrullination of autoantigens: Upstream of TNF α in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *FEBS Lett* [Internet]. 2011 Dec 1;585(23):3681–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1016/j.febslet.2011.06.006>
114. Vander Cruyssen B, Cantaert T, Nogueira L, Clavel C, De Rycke L, Dendoven A, et al. Diagnostic value of anti-human citrullinated fibrinogen

- ELISA and comparison with four other anti-citrullinated protein assays. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2006;8(4):R122. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16859515>
115. Chapuy-Regaud S, Nogueira L, Clavel C, Sebbag M, Vincent C, Serre G. IgG subclass distribution of the rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated fibrin. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2005 Mar;139(3):542–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15730401>
116. Berlyne GM. Carbamylated proteins and peptides in health and in uremia. *Nephron* [Internet]. 1998;79(2):125–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9647489>
117. Nolte W. *Microbiología Odontológica*. México: Editorial Interamericana; 1985.
118. Shi J, van Veelen PA, Mahler M, Janssen GMC, Drijfhout JW, Huizinga TWJ, et al. Carbamylation and antibodies against carbamylated proteins in autoimmunity and other pathologies. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2014;13(3):225–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2013.10.008>
119. Trepanier DJ, Thibert RJ. Carbamylation of erythrocyte membrane aminophospholipids: an in vitro and in vivo study. *Clin Biochem* [Internet]. 1996 Aug;29(4):333–45. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0009912096000185>
120. Lapko VN, Smith DL, Smith JB. Methylation and carbamylation of human γ -crystallins. *Protein Sci* [Internet]. 2003 Aug;12(8):1762–74. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1110/ps.0305403>
121. Wang Z, Nicholls SJ, Rodriguez ER, Kummu O, Hörkkö S, Barnard J, et al. Protein carbamylation links inflammation, smoking, uremia and atherogenesis. *Nat Med* [Internet]. 2007;13(10):1176–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17828273>

122. Holzer M, Zangger K, El-Gamal D, Binder V, Curcic S, Konya V, et al. Myeloperoxidase-Derived Chlorinating Species Induce Protein Carbamylation Through Decomposition of Thiocyanate and Urea: Novel Pathways Generating Dysfunctional High-Density Lipoprotein. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2012 Oct 15;17(8):1043–52. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2011.4403>
123. Kalmár J, Woldegiorgis KL, Biri B, Ashby MT. Mechanism of Decomposition of the Human Defense Factor Hypothiocyanite Near Physiological pH. *J Am Chem Soc* [Internet]. 2011 Dec 14;133(49):19911–21. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja2083152>
124. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2005 Jan 26;77(5):598–625. Available from: <http://www.jleukbio.org/cgi/doi/10.1189/jlb.1204697>
125. Jaisson S, Pietrement C, Gillery P. Carbamylation-Derived Products: Bioactive Compounds and Potential Biomarkers in Chronic Renal Failure and Atherosclerosis. *Clin Chem* [Internet]. 2011 Nov 1;57(11):1499–505. Available from: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2011.163188>
126. Jaisson S, Gillery P. Evaluation of Nonenzymatic Posttranslational Modification-Derived Products as Biomarkers of Molecular Aging of Proteins. *Clin Chem* [Internet]. 2010 Sep 1;56(9):1401–12. Available from: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2010.145201>
127. Song YW, Kang EH. Autoantibodies in rheumatoid arthritis: rheumatoid factors and anticitrullinated protein antibodies. *QJM* [Internet]. 2010 Mar 1;103(3):139–46. Available from: <https://academic.oup.com/qjmed/article-lookup/doi/10.1093/qjmed/hcp165>
128. Wernick RM, Lipsky PE, Marban-Arcos E, Maliakkal JJ, Edelbaum D, Ziff M. IgG and IgM rheumatoid factor synthesis in rheumatoid synovial membrane

- cell cultures. *Arthritis Rheum* [Internet]. 1985 Jul;28(7):742–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4015721>
129. Jones V, Taylor PC, Jacoby RK, Wallington TB. Synovial synthesis of rheumatoid factors and immune complex constituents in early arthritis. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 1984 Apr;43(2):235–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6712294>
130. Nell VPK. Autoantibody profiling as early diagnostic and prognostic tool for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2005 Dec 1;64(12):1731–6. Available from: <http://ard.bmj.com/cgi/doi/10.1136/ard.2005.035691>
131. 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* [Internet]. 1988 Mar;31(3):315–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3358796>
132. Arend WP, Firestein GS. Pre-rheumatoid arthritis: predisposition and transition to clinical synovitis. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2012;8(10):573–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2012.134>
133. Otterness IG. The value of C-reactive protein measurement in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* [Internet]. 1994 Oct;24(2):91–104. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7839158>
134. Brigden M. The erythrocyte sedimentation rate. *Postgrad Med* [Internet]. 1998 May 30;103(5):257–74. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0736467997001972%5Cnh>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9404806>
135. Kushner I. C-reactive protein in rheumatology. *Arthritis Rheum* [Internet]. 1991 Aug;34(8):1065–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.1780340819>

136. Bedell SE, Bush BT. Erythrocyte sedimentation rate. From folklore to facts. *Am J Med* [Internet]. 1985 Jun;78(6 Pt 1):1001–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4014259>
137. Shearn MA, Kang IY. Effect of age and sex on the erythrocyte sedimentation rate. *J Rheumatol* [Internet]. 1986 Apr;13(2):297–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3723495>
138. Fabry TL. Mechanism of erythrocyte aggregation and sedimentation. *Blood* [Internet]. 1987 Nov;70(5):1572–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3663946>
139. Pepys MB. C-reactive protein fifty years on. *Lancet* (London, England) [Internet]. 1981 Mar 21;1(8221):653–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6110874>
140. Gewurz H, Mold C, Siegel J, Fiedel B. C-reactive protein and the acute phase response. *Adv Intern Med* [Internet]. 1982;27:345–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7041546>
141. Tishler M, Caspi D, Yaron M. C-reactive protein levels in patients with rheumatoid arthritis: the impact of therapy. *Clin Rheumatol* [Internet]. 1985 Sep;4(3):321–4. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BF02031616>
142. Larsen A. The relation of radiographic changes to serum acute-phase proteins and rheumatoid factor in 200 patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* [Internet]. 1988;17(2):123–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3387929>
143. Im CH, Kang EH, Ryu HJ, Lee JH, Lee EY, Lee YJ, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody is associated with radiographic erosion in rheumatoid arthritis independently of shared epitope status. *Rheumatol Int* [Internet]. 2009 Jan;29(3):251–6. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18751982>

144. Wilder RL, Sternberg EM. Neuroendocrine hormonal factors in rheumatoid arthritis and related conditions. *Curr Opin Rheumatol* [Internet]. 1990 Jun;2(3):436–40. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2203424>
145. Ahmed SA, Hissong BD, Verthelyi D, Donner K, Becker K, Karpuzoglu-Sahin E. Gender and risk of autoimmune diseases: Possible role of estrogenic compounds. *Environ Health Perspect*. 1999;107(SUPPL. 5):681–6.
146. Feng J, Chen Q, Yu F, Wang Z, Chen S, Jin Z, et al. Body Mass Index and Risk of Rheumatoid Arthritis: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2016;95(8):e2859. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26937917>
147. Unriza-Puin S, Bautista-Molano W, Lafaurie GI, Valle-O??ate R, Chalem P, Chila-Moreno L, et al. Are obesity, ACPAs and periodontitis conditions that influence the risk of developing rheumatoid arthritis in first-degree relatives? *Clin Rheumatol* [Internet]. 2017;36(4):799–806. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1007/s10067-016-3519-z>
148. Gremese E, Tolusso B, Gigante MR, Ferraccioli G. Obesity as a Risk and Severity Factor in Rheumatic Diseases (Autoimmune Chronic Inflammatory Diseases). *Front Immunol* [Internet]. 2014 Nov 11;5. Available from:
<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2014.00576/abstract>
149. Bello-Gualtero JM, Lafaurie GI, Hoyos LX, Castillo DM, De-Avila J, Munevar JC, et al. Periodontal Disease in Individuals With a Genetic Risk of Developing Arthritis and Early Rheumatoid Arthritis: A Cross-Sectional Study. *J Periodontol* [Internet]. 2016 Apr;87(4):346–56. Available from:
<http://doi.wiley.com/10.1902/jop.2015.150455>
150. Auger I, Sebbag M, Vincent C, Balandraud N, Guis S, Nogueira L, et al.

Influence of HLA-DR genes on the production of rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated fibrinogen. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2005 Nov;52(11):3424–32. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.21391>

151. Bogotá supera los niveles de contaminación atmosférica aceptados por la OMS [Internet]. 2017 [cited 2017 Jan 1]. Available from: <http://www.rcnradio.com/nacional/bogota-supera-los-niveles-contaminacion-atmosferica-aceptados-la-oms/>
152. Bright R, Thiele GM, Manavis J, Mikuls TR, Payne JB, Bartold PM. Gingival tissue, an extrasynovial source of malondialdehyde-acetaldehyde adducts, citrullinated and carbamylated proteins. *J Periodontal Res* [Internet]. 2017 Oct 17; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jre.12486>
153. Freire MO, Van Dyke TE. Natural resolution of inflammation. *Periodontol 2000* [Internet]. 2013 Oct;63(1):149–64. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/prd.12034>

9. ANEXOS

9.1. FORMATO DE CRITERIOS DE INCLUSION/EXCLUSION

Fecha: _____ Género: F M Edad: _____
 Nombre: _____ C.C: _____
 Procedencia: _____

Paciente con proceso infeccioso en curso	SI__	NO__
Paciente con diagnóstico de otra enfermedad autoinmune.	SI__	NO__
Pacientes que rehúsen entrar al estudio y por tanto no firmen el consentimiento informado	SI__	NO__
Pacientes que rehúsen entrar al estudio o cuyos padres no autoricen el ingreso al mismo	SI__	NO__
Recibió tratamiento periodontal en los últimos seis meses	SI__	NO__
Consumió Antibióticos en los últimos 3 meses	SI__	NO__
Paciente en lactancia o embarazo	SI__	NO__
Paciente con ortodoncia	SI__	NO__
Paciente con cáncer	SI__	NO__
Paciente con Diabetes	SI__	NO__
Pacientes con número de dientes menor de 6	SI__	NO__
Paciente reconoce porque perdió sus dientes	SI__	NO__

ACEPTADO SI NO

_____ **NOMBRE EXAMINADOR**

_____ **FIRMA**

Observaciones: _____

DATOS EPIDEMIOLOGICOS COMPLEMENTARIOS:

1. **Tipo de Vivienda** Propia:____ Arrendada:____ Común:____ Alojamiento:____
2. **Estado Civil** Casado:____ Soltero:____ Viudo:____ Unión libre:____
3. **Nivel de estudios** Primaria:____ Bachillerato:____ Universitario:____
4. **Actividad económica** Hogar:____ Independiente:____ Empleado dependiente:____
Pensionado:____ Estudiante:____
5. **Actividad física** SI:____ NO:____ Leve:____ Moderada:____ Excesiva:____
6. **Talla:**____ **Peso:**____
7. **Paciente con exposición actual a cigarrillo. Cuantos diarios:**____ SI__ NO__
8. **Paciente con exposición pasada a cigarrillo. Hace cuánto:**____ SI__ NO__
9. **Paciente fumador pasivo. Hace cuánto:**____ SI__ NO__

9.2. FORMATO DE RECOLECCION DE DATOS PACIENTES CON AR Y FAMILIARES:

Fecha: _____ Número: _____

Nombre: _____ cédula: _____

Edad (años): _____ Sexo: M _____ F _____

Diagnóstico: Pre AR _____ Clínica _____ Familiar de AR _____ AR temprana: _____

Otros diagnósticos o comorbilidades: _____

Tratamiento actual: _____

Toma bifosfonatos _____ otros _____

Fuma: SI ___ NO ___ Fumó: SI ___ NO: _____ Hace cuánto: _____

Fumador pasivo: _____ Hace cuánto: _____

Edad al Dx de la AR: _____ Tiempo de diagnóstico: _____

Ocupación: _____ Tipo de vivienda: _____ Estado civil: _____

Nivel de estudio _____

Actividad física: Leve _____ Moderada _____ Fuerte _____

Tto biológico previo _____ DMARD previo _____

Articulaciones inflamadas _____ articulaciones dolorosas _____

VAS pte _____ VAS del médico _____ SCDAI _____ RAPID 3 _____

HAQ _____ DAS28 _____ VSG _____ PCru: _____

Peso _____ estatura _____ IMC _____

Responsable _____