

Обзор Клинической наблюдательной программы Каролинского института для врачей-ревматологов

23–25 мая 2013 г. в Каролинском институте (Стокгольм, Швеция) при поддержке Компании MSD была проведена Клиническая наблюдательная программа для врачей-ревматологов, в которой приняли участие известные ревматологи и ведущие специалисты института проф. R. van Vollenhoven, проф. L. Klareskog, д-р. E. af Klint, д-р. C. Carlens. В докладах и на интерактивных сессиях обсуждались проблемы ревматоидного артрита (РА), в том числе раннего РА (этиология, патогенез, лечение), регистры пациентов с ревматическими заболеваниями, УЗИ-диагностика воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата, биологическая терапия ревматических заболеваний, организация работы исследовательской иммунологической лаборатории, поликлинического отделения и отделения дневного стационара в ревматологической клинике. Программу посетили врачи из различных стран Европы (Швеция, Германия, Франция, Россия, Испания, Греция и др.).

Ниже представлен обзор материалов Клинической наблюдательной программы.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; плеврит; паренхиматозные болезни; антитела к циклическому цитруллинированному пептиду.

Overview of the Karolinska Institute's Clinical Observational Program for rheumatologists

On 23–25 May 2013, the Karolinska Institute (Stockholm, Sweden) with the support of MSD company held a meeting on a Clinical Observational Program for rheumatologists, which was attended by the well-known rheumatologists and leading specialists of the Institute Prof. R. van Vollenhoven, Prof. L. Klareskog, Dr. E. af Klint, and Dr. C. Carlens. The reports and interactive sessions discussed the problems of rheumatoid arthritis (RA), including early RA (pathology, pathogenesis, and treatment), registers of with rheumatic diseases; ultrasound diagnosis of inflammatory locomotor diseases; biological therapy for rheumatic diseases; organization of work in the research immunological laboratory, outpatient/day hospital units of a rheumatology clinic. The Program was also attended by physicians from different European countries (Sweden, Germany, Russia, Spain, Greece, etc.).

Below is given an overview of the proceedings of the Clinical Observational Program.

Key words: rheumatoid arthritis; pleurisy; parenchymal diseases; anticyclic citrullinated peptide antibodies.

Часть I. Поражение дыхательной системы у пациентов с ревматоидным артритом

Р.Р. Самигуллина

ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербурге

Part I. Respiratory system involvement in patients with rheumatoid arthritis

R.R. Samigullina

I.I. Mechnikov North Western State Medical University, Saint-Petersburg

Контакты: Рузана Рамиловна Самигуллина dr.samigullina@yandex.ru

Для ссылки: Самигуллина Р.Р. Часть I. Поражение дыхательной системы у пациентов с ревматоидным артритом. Современная ревматология. 2013;(4):62–70.

Contact: Ruzana Ramilovna Samigullina dr.samigullina@yandex.ru

For reference: Samigullina RR. Part I. Respiratory system involvement in patients with rheumatoid arthritis. *Modern Rheumatology Journal*. 2013;(4):62–70.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1996-7012-2013-2440>

Ревматоидный артрит (РА) — хроническое деструктивное системное аутоиммунное заболевание, сопровождающееся не только характерным эрозивным повреждением суставов, но и широким спектром экстраартикулярных поражений. Течение РА осложняется системными поражениями у 40% пациентов (1–3 на 100 пациенто-лет) [1, 2]. Чаше всего в воспалительный процесс вовлекаются сердечно-сосудистая и дыхательная системы. В связи с системными нарушениями РА в большей степени, чем другие заболевания, способствует инвалидизации и сокращению продолжительности жизни пациентов. Они попадают в группу высокого ри-

ска смертности от сердечно-сосудистой, бронхолегочной и онкологической патологии [3–5]. Медиана выживаемости по сравнению с населением в целом у больных РА уменьшается на 10–11 лет [3] и последние 40 лет принципиально не меняется [3, 6]. Несмотря на то, что сердечно-сосудистые заболевания становятся причиной большинства случаев смерти от РА [7], на долю легочных осложнений приходится 10–20% общей смертности [3–5]. Большинство плевропульмональных заболеваний развиваются в первые 5 лет после постановки диагноза и могут быть обнаружены у 10–20% пациентов. Первое сообщение Fuller и соавт. о патологии лег-

ких у больного РА появилось в 1860 г. [8], однако систематические описания поражения легких, связанного с данной патологией, появились лишь в конце 40-х годов XX в.

При РА возможно как первичное, так и вторичное поражение всех анатомических структур дыхательной системы. Если сфокусировать внимание на ассоциированных с РА поражениях легочной системы в целом, обнаруживается широкий спектр патологических процессов. Приблизительно у 1/3 пациентов наблюдаются определенные клинические проявления, у 2/3 – значимые изменения, выявляемые при компьютерной томографии (КТ) высокого разрешения, а функциональные нарушения встречаются реже [9, 10].

Первичные поражения дыхательной системы при РА [11]:

- повреждение плевры (плеврит, фиброз плевры);
- повреждение дыхательных путей (артрит перстне-черпаловидного сустава, бронхоэктазы, фолликулярный бронхолит, облитерирующий бронхолит, диффузный панбронхиолит);
- интерстициальное поражение легких (интерстициальная пневмония – обычная, неспецифическая, организованная, лимфоцитарная, острая эозинофильная пневмония, диффузное повреждение альвеол, апикальное фибробуллезное заболевание, амилоидоз, ревматоидные узлы);
- поражение сосудистого звена легких (легочная гипертензия, васкулит, диффузные альвеолярные геморрагии – АГ – с капилляритами).

Вторичные поражения дыхательной системы при РА:

- оппортунистическая инфекция (туберкулез, атипичная микобактериальная инфекция, нокардиоз, аспергиллез, цитомегаловирусный пневмонит);
- токсическое поражение легких в результате лечения основного заболевания (метотрексатом – МТ, солями золота, пеницилламином, сульфасалазином);
- поражение легких в результате терапии ингибиторами фактора некроза опухоли α – ФНО α (повышение риска развития туберкулеза и других инфекций).

Плеврит и плевральный выпот

Наиболее распространенный вид плевропульмонального поражения при РА – плеврит и плевральный выпот, которые при аутопсии обнаруживаются у 50% пациентов с данным заболеванием [12–14]. Гистологические изменения плевры широко варьируют: это могут быть и узелки, схожие с ревматоидными узелками в подкожной клетчатке, которые являются следствием гистиоцитарной реакции окружающей ткани на образовавшийся очаг фибриноидного некроза и чаще обнаруживаются на висцеральной плевре, и острая воспалительная реакция с инфильтрацией, и фиброзные изменения, и лимфоидная гиперплазия [12]. Выпот может быть односторонним и двусторонним, может рецидивировать и накапливаться, спонтанно разрешаться в течение нескольких недель либо затягиваться на несколько месяцев [12–15]. Вовлечение плевры в патологический процесс, как правило, протекает бессимптомно [16]. Болевой синдром, одышка и непродуктивный кашель появляются у 25% пациентов с РА и чаще ассоциируются с плевральным выпотом [15]. У 25% пациентов с РА плевральный выпот либо предшествует дебюту суставного синдрома, либо возникает одновременно с ним [12, 14, 15]. Низкое содержание глюкозы, комплемента, низкий рН, высокие уровни аденозиндезаминазы и лактатдегидрогеназы, белка и ревматоидного факто-

ра (РФ), нейрон-специфической енолазы и растворимого рецептора ИЛ2, повышение уровня полиморфно-ядерных лейкоцитов в плевральной жидкости ассоциированы с поражением плевры при РА, однако данные показатели не являются высокоспецифичными [17, 18]. Полиморфно-ядерные клетки содержат плотные черные гранулы, при распаде которых происходит высвобождение РФ [12, 14, 19].

Бессимптомное течение не требует специальных терапевтических вмешательств. Некоторые клинические исследования свидетельствуют о необходимости при большом плевральном выпоте с тяжелой одышкой проведения повторных торакоцентезов, возможно, плевродеза и введения глюкокортикоидов (ГК). Однако результаты большинства исследований указывают на эффективность терапии поражения плевры при адекватном базисном лечении основного заболевания. Также возможно появление осложнений в виде пневмоторакса и пиопневмоторакса в результате разрыва ревматоидных узелков на плевре. Этим же, вероятно, можно объяснить частоту эмпиемы плевры при РА.

Паренхиматозные болезни

Ревматоидные узелки являются частыми и специфическими поражениями легочной ткани у пациентов с РА. Впервые они были описаны А. Капланом в 1953 г. при изучении множественного двустороннего очагового поражения легких у шахтера, страдающего одновременно пневмокониозом и РА [12, 15]. Эти некробиотические легочные узелки встречаются редко и обычно бывают бессимптомными, хотя могут служить причиной кашля, а иногда и кровохарканья [14, 15]. В редких случаях узелки можно заподозрить по данным стандартной рентгенографии (<1%), чаще всего необходимо проведение КТ высокого разрешения (20%) и микроскопического исследования биоптата легких (30%) [20]. Гистологические изменения в легочной ткани представляют собой аналогичную картину, наблюдаемую в подкожной клетчатке и висцеральной плевре. Узелки могут появляться в любое время относительно дебюта суставного синдрома, но чаще всего они наблюдаются у мужчин в поздней стадии заболевания на фоне других внесуставных поражений [15]. Обычно они единичные (множественные узелки – это ревматоидные узелки) размером от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров, носят двусторонний характер и преобладают в верхних и средних отделах легких по периферии в субплевральных зонах, хотя иногда обнаруживаются и эндобронхиальные узелки [13, 15, 16]. Узелки, как правило, не имеют клинической картины и не изменяются с течением времени, но могут стать причиной осложнений – бронхоплеврального свища, пневмоторакса, абсцесса или кавитации, приводящих к кровохарканью, присоединению инфекции [12, 14, 15]. Обнаружение одного или более узелков в легких у пациентов с РА требует внимательного подхода к дифференциальной диагностике и исключению инфекционных и онкологических причин [20].

К частым плевропульмональным проявлениям РА относятся диффузные интерстициальные заболевания легких, встречающиеся у 40% больных РА [12, 14]. Изменения легочной ткани обнаруживают у 80% больных при микроскопическом исследовании биоптатов легких, у 50% по данным КТ высокого разрешения и менее чем у 5% на рентгенограммах грудной клетки [21]. Фиброзная трансформация является следствием хронического воспалительного про-

цесса в стенках альвеол, имеющего тенденцию к постепенному прогрессированию с последующей облитерацией просветов дыхательных путей и дилатацией бронхов и распространению от базальных отделов до верхушек легких [14, 20, 21]. Как правило, интерстициальные изменения в легочной ткани отмечаются у пациентов с системными проявлениями, например ревматоидными узелками, и высокими титрами РФ [12, 14]. Объективно при обследовании пациента отмечаются увеличение частоты дыхательных движений и наличие крепитации в базальных отделах легких. На рентгенограмме органов грудной клетки можно заметить усиление легочного рисунка с постепенным прогрессированием в сетчатый рисунок с сотовыми изменениями [14, 15]. У 40% пациентов, у которых отсутствуют изменения по данным рентгенографии органов грудной клетки, наблюдается снижение диффузионной способности легких, у 50% — изменения бронхоальвеолярного лаважа [12, 20]. Как правило, отмечается значимое увеличение количества лимфоцитов, особенно активированных (DR+)Т(СD3+)-хелперов и CD4+-клеток, а также значимое снижение уровня альвеолярных макрофагов, В(СD21+)-лимфоцитов и Т-супрессоров (СD8+) при увеличенном соотношении CD4/CD8 [13, 14]. Клинические симптомы в виде непродуктивного кашля и инспираторной одышки обычно наблюдаются при развитии нейтрофильного альвеолита, а бессимптомное течение — при лимфоцитарном альвеолите [20].

Гистопатологические и радиографические изменения при интерстициальных заболеваниях легких на фоне РА гетерогенны, но похожи на 2 типа структурных изменений, характерных для идиопатического интерстициального пневмонита, — обычную интерстициальную пневмонию (ОИП) и неспецифическую интерстициальную пневмонию (НСИП) [22]. ОИП ассоциируется с более плохим прогнозом и резистентностью к терапии, в то время как НСИП протекает благоприятнее и хорошо поддается лечению противовоспалительными препаратами. Поэтому большое значение имеют диагностические мероприятия для выявления ОИП. В большинстве случаев достаточно выполнить КТ высокого разрешения, при неоднозначных результатах ее можно дополнить открытой биопсией легкого [23, 24]. Изменения легочного рисунка, которые выявляются при КТ высокого разрешения, зависят от гистопатологического варианта поражения легочной паренхимы [25]. Как правило, выделяют 4 рентгенологических типа таких изменений у пациентов с РА-ассоциированными интерстициальными заболеваниями легких: ОИП-подобную структуру с билатеральным субплевральным сетчатым рисунком с сотовыми изменениями или без них; НСИП-подобный тип с преимущественной картиной матового стекла; картину воспалительного поражения дыхательных путей с центрлобулярными разветвленными линиями с бронхиальной дилатацией или без нее; структуру организующейся пневмонии с пятнистыми участками консолидации.

У больных РА с интерстициальными заболеваниями легких прогноз зависит от скорости их прогрессирования и состояния функции легких. Имеется сообщение о медиане выживаемости 3,5 года, что сходно с аналогичным показателем у пациентов с идиопатическим легочным фиброзом [26]. Терапия при этих состояниях неоднозначна. Поскольку биопсию у таких пациентов проводят редко, терапию назначают по существу эмпирически, а ее эффективность зависит от

преобладания процессов острого воспаления или фиброзирования. Препаратами первой линии являются ГК, которые обычно эффективны у 40% пациентов [27]. Циклофосфамид (ЦФ), азатиоприн, метотрексат (МТ), циклоспорин А (ЦсА) используются в качестве монотерапии, а также в сочетании с ГК для поддерживающей терапии при резистентных формах. В настоящее время тактика ведения таких пациентов не определена. В каждом клиническом случае необходим индивидуальный подход с учетом данных клинического, лабораторного и инструментального обследования.

Вторичный амилоидоз и апикальная фибробуллезная болезнь встречаются редко, но могут наблюдаться у пациентов с длительно текущим и высокоактивным РА.

Поражение дыхательных путей

У пациентов с РА довольно распространено бронхоэктатическое поражение бронхиального дерева. По данным КТ высокого разрешения, у 1/3 пациентов обнаруживают бронхоэктазы, связанные с интерстициальными изменениями паренхимы [28]. Однако данные аутопсии указывают на меньшую их встречаемость — у 5–12% пациентов, а клинические проявления наблюдаются лишь в 1–5% случаев. У большинства пациентов (90%) бронхоэктазы появляются за 25–30 лет до развития РА. Возможно вторичное развитие бронхоэктазов через 7–10 лет после начала РА. Появление бронхоэктазов более характерно для молодых женщин и ассоциировано со снижением медианы выживаемости на фоне курения, тяжелого течения артрита и приема ГК [21]. Бронхоэктазы становятся провоцирующим фактором развития легочной инфекции, одной из основных причин смерти пациентов с РА [29].

Обструкция дыхательных путей. В контролируемых исследованиях функции легких у пациентов с РА отмечена повышенная распространенность (38–68%) хронической обструкции дыхательных путей, обратимой благодаря терапии ингаляционными ГК и бронхолитиками [20]. Тяжелая обструкция у некурящих пациентов наблюдается реже, чем у курящих и пациентов, получавших D-пеницилламин [12, 14]. Облитерирующий бронхолит на фоне РА характеризуется воспалительными и фиброзными изменениями в бронхолах и альвеолярных протоках, приводящими к развитию обструкции [30]. Пациенты предъявляют жалобы на появление медленно прогрессирующей одышки и непродуктивного кашля. При инструментальном обследовании обнаруживают уменьшение легочного рисунка по периферии и синдром гипервоздушности по данным рентгенографии, бронхообструктивный тип изменения функции внешнего дыхания [27, 30]. КТ высокого разрешения позволяет выявить мозаичное чередование участков с редуцированным кровотоком и воздушными ловушками, а также бронхоэктазы, бронхоэктазы, участки утолщения стенки бронхов [25, 27].

Артрит черпаловидного сустава. Данный вид артрита характерен для пациентов с РА и может проявляться такими неспецифическими симптомами, как ощущение инородного тела в горле, боль в горле, охриплость голоса, одышка, трудности вдоха, боли с иррадиацией в уши, стридор, дисфагия, боль при глотании и боль, связанная с речью [31]. Диагноз верифицируется с помощью методов прямой и непрямой ларингоскопии, при обнаружении воспалительных изменений черпаловидного хряща — эритемы, отека, утолщения слизистой оболочки, снижения подвижности хряща [32]. Для под-

тверждения диагноза прибегают к КТ. В некоторых случаях анкилоз черпаловидного сочленения может индуцировать обструкцию верхних дыхательных путей с характерным рисунком на кривой поток – объем. Черпаловидный артрит может способствовать развитию обструктивного апноэ во время сна, которое чаще встречается у пациентов с РА.

Поражение сосудов

Васкулиты при РА чаще имеют кожную локализацию, но в редких случаях наблюдается легочный васкулит, который, как правило, приводит к развитию легочной гипертензии. Васкулиты наблюдаются у пациентов с высокой активностью и тяжелым течением РА. Описаны случаи легочных геморрагий на фоне легочного васкулита, иногда даже ассоциированных с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА). Диагноз легочного васкулита требует гистологического подтверждения и измерения параметров гемодинамики (например, давления в легочной артерии) [12, 14, 18].

Для лечения легочных васкулитов, ассоциированных с РА, используют ГК и цитотоксические лекарственные средства (МТ, азатиоприн, ЦФ). Сообщается о применении у таких больных пеницилламина и солей золота с различными результатами [20].

АГ – одно из распространенных проявлений поражения дыхательной системы при РА. К легочным АГ относится диффузное кровотечение из легочной сосудистой сети, в результате которого альвеолы наполняются кровью. Это приводит к классической триаде – кровохарканию, образованию диффузных инфильтратов и анемии. С патологической точки зрения АГ могут быть как острыми, так и хроническими. В случае острых АГ эритроциты и фибрин заполняют воздушное пространство, часто обнаруживают макрофаги с гемосидерином. Капилляриты в стенках альвеол встречаются в 88% случаев острых АГ у пациентов с РА. Рентгенологические изменения при АГ, ассоциированных с РА, зависят от степени кровотечения и времени, прошедшего после начала кровотечения. При рентгенографии и КТ органов грудной клетки выявляют характерные диффузные или локальные альвеолярные инфильтраты. Обычно они располагаются симметрично или периферически, не выявляются на верхушках легких и под реберно-диафрагмальными углами [21]. У пациентов с РА измерение диффузионной способности легких по окиси углерода может помочь в диагностике АГ.

Лекарственно-индуцированное поражение легких

Некоторые лекарственные препараты, используемые для лечения РА, могут провоцировать поражение легких. Хорошо известны побочные эффекты МТ, солей золота, Д-пеницилламина и нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) в органах дыхания. Частота инфекционных осложнений возрастает при приеме ГК.

Предикторы развития легочной патологии при РА

РА – сложное иммунное заболевание неизвестной этиологии, для которого характерно определенное влияние окружающих триггеров (артритогенных стимулов) на фоне ограниченной генетической предрасположенности, приводящее к прогрессирующему неконтролируемому синовиальному воспалению. В настоящее время нет единой гипотезы, которая учитывала бы все этиологические факторы

развития как РА, так и всех других аутоиммунных заболеваний [33]. Однако в последнее время накоплены убедительные данные, позволяющие сформулировать гипотезу развития экстраартикулярных поражений на фоне РА, в частности плевропульмональных.

Приводим данные, которые положены в основу этой гипотезы.

1) Курение является основным экологическим фактором риска РА, о чем свидетельствуют эпидемиологические исследования [34–38], хотя мало известно о механизмах его непосредственного триггерного влияния.

2) Третья гипервариабельная область цепи HLA-DRb, обозначенная как Shared Epitop (SE – общий эпитоп), составляет основной генетический фактор риска, предрасполагающий к развитию РА [39, 40], хотя данных о том, как гены способствуют возникновению потенциально артритогенных иммунных реакций, тоже очень мало.

3) Описана взаимосвязь генотип – среда между курением и HLA-DR SE как факторами риска РА, в частности оба эти фактора были отмечены исключительно у пациентов с РА, серопозитивных по РФ [33, 41].

4) Высокоспецифичные антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) присутствуют приблизительно у 2/3 всех пациентов с РА, но редко (<2%) встречаются и у здоровых людей и относительно редко – при других воспалительных заболеваниях [42–44]. При сбое ферментативных систем, регулирующих процесс дезаминирования аргинина в цитруллин, происходит накопление последнего и изменение иммуногенности таких белков, как фибриноген, фибронектин, виментин и другие белки, которые становятся артритогенными стимулами для появления аутоантител к синовиальной оболочке и развития воспаления. Образование этих антител было обнаружено за несколько лет до дебюта суставного синдрома, поэтому основой гипотезы развития РА послужило возникновение иммунитета к цитруллинированным белкам. Однако остается неопределенным, как курение, гены *HLA-DR SE* и иммунореактивность к цитруллинированным аутоантигенам могут взаимодействовать, способствуя развитию РА.

Чтобы обобщить новые данные, которые могут помочь сформулировать этиологическую гипотезу, в Каролинском университете была проведена серия эпидемиологических и экспериментальных исследований, первоначальным направлением которых было изучение влияния курения на развитие иммунного воспаления в ответ на цитруллинированные белки. В ходе исследования типа случай – контроль с участием пациентов с ранним РА были продемонстрированы поразительное взаимодействие генотип – среда между курением и *HLA-DR SE* в развитии АЦЦП-позитивного РА и отсутствие этого взаимодействия при АЦЦП-серонегативном РА. Таким образом, сочетание носительства *HLA-DR SE* и курения существенно увеличивает риск развития серопозитивного (особенно АЦЦП-позитивного) РА [37].

Исследование типа случай – контроль EIRA (эпидемиологическое исследование РА) предусматривало изучение взаимосвязи между курением и *HLA-DR SE* у пациентов с РА. В исследовании участвовали пациенты 18–70 лет с впервые поставленным диагнозом РА [38, 41]. Заболевание было верифицировано согласно критериям Американской коллегии ревматологов 1987 г.

О Б З О Р Ы

Включенные в группу контроля лица были выбраны случайным методом из Шведского национального регистра населения с учетом возраста, пола и места жительства. Кровь и клетки для серологического анализа и результаты ДНК-исследования были получены во время первого визита (до назначения болезнь-модифицирующих антиревматических препаратов). Биообразцы, взятые у лиц группы контроля, направляли из местных медицинских учреждений в лабораторию ревматологии Каролинского университета. Из 967 выявленных больных РА 930 (96%) заполнили анкету (654 женщины и 276 мужчин) [38]. Общее число вошедших в группу контроля составило 1357, из них адекватно ответили на все вопросы 83% (1126 человек – 791 женщина и 335 мужчин). Образцы крови были получены у всех пациентов, которые ответили на вопросы анкеты, и у 658 (58%) лиц контрольной группы (473 женщины и 185 мужчин) [33].

Информацию о воздействии окружающей среды у больных и лиц контрольной группы получали путем анкетирования. Выясняли, когда было начато и когда прекращено курение. Количественные данные о курении пациентов относились к периоду до появления первых признаков артрита, в контрольной группе – к соответствующей временной точке. Лица, курившие трубку или сигары (81 пациент и 48 человек из группы контроля), были исключены из анализа. Анализировали данные о курящих сигарет и никогда не куривших.

С целью изучения событий, произошедших до дебюта РА, использовали данные банка крови населения Северной Швеции (когортное исследование здоровья и болезни населения Северной Швеции), который содержит сыворотки крови и клетки вместе с данными относительно воздействия окружающей среды примерно о 90 000 тыс. жителей графства Вестерботтен. Образцы крови поступали в этот банк с 1989 г. Исследование S. Rantapää ä-Dahlqvist и соавт. [45] образцов крови пациентов, взятых до развития РА, который возник начиная с 1996 г., показало высокий уровень АЦЦП.

Бронхоальвеолярный лаваж был выполнен 8 здоровым добровольцам, у которых при рентгенографии не выявлено патологии органов грудной клетки; 4 из них (2 женщины; средний возраст – 46 лет) выкуривали 16–30 пачек сигарет в год, 4 (2 женщины; средний возраст – 25 лет) не курили.

Кроме того, бронхоальвеолярный лаваж был выполнен 3 женщинам и 1 мужчине (средний возраст – 40 лет) с диагнозом воспаления легких (саркоидоз, гистиоцитоз клеток Лангерганса и дыхательный бронхиолит). Все выкуривали около 10–30 пачек сигарет в год.

Уровни АЦЦП и РФ определяли путем иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием Immunoscan-RA Mark2 (Euro-Diagnostica, Мальме, Швеция). Все образцы собирали и замораживали, а исследования проводили одновременно. Образцы, имевшие высокие значения АЦЦП и РФ, дополнительно разводили. В соответствии с инструкциями уровень >25 ед/мл рассматривали как положительный и подтверждали в лаборатории клинической иммунологии в Упсале (Швеция). Уровень РФ в сыворотке определяли с помощью нефелометра. Анализ был выполнен в соответствии с международными стандартами 64/200 Национального института биологических стандартов и контроля.

Генотипирование для *HLA-DRB1*-аллотипов проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Среди *HLA-DRB1* гены *DRB1 * 01*, *DRB1 * 04* и *DRB1 * 10* были определены как гены *SE* [38, 40]. У 81 пациента было выполнено субтипирование для идентификации *HLA-DRB1 * 01*- и *DRB1 * 04*-аллелей. Определяли частоту аллелей *DRB1 * 0101* (89% у лиц с *HLA-DRB1 * 01*) и *DRB1 * 0401*, ** 0404*, ** 0405*, ** 0408* (98% у лиц с *HLA-DRB1 * 04*), далее генотипирование было ограничено DR из-за низкого разрешения анализа по практическим соображениям [41]. Любой генотип с комбинацией двух из этих генов во всех дальнейших анализах считали двойным *SE*-генотипом.

Статистический анализ

Отношения коэффициентов (ОК) были рассчитаны с 95% доверительным интервалом (95% ДИ) с помощью логистического регрессионного анализа. ОК интерпретировали как относительный риск (RR), так как исследование было популяционным и контроль представлял собой случайную выборку из базового исследования [46]. Поправки на принадлежность к социальному классу, индекс массы тела, семейное положение, четность и использование оральных контрацептивов оказали незначительное влияние на результаты исследования, поэтому их не включали в

Таблица 1. Число и доля больных РА с повышенным уровнем АЦЦП (>25 ед/мл) в зависимости от количества выкуриваемых сигарет и *SE*-генотипа¹

| Показатель | Число больных с АЦЦП-позитивным РА/общее число больных РА (%) | p |
|-------------------------|---|----------|
| Количество пачек в год: | | |
| 0–5 | 59/94(63) | 0,02* |
| >5–20 | 157/250(63) | <0,01* |
| >20 | 159/209(76) | <0,01** |
| Некурящие | 147/275(53) | |
| Всего больных | 522/828(63) | |
| <i>SE</i> -генотип: | | |
| нет <i>SE</i> | 85/248(34) | |
| единичный <i>SE</i> | 292/448(65) | 0,02*** |
| двойной <i>SE</i> | 178/217(82) | <0,01*** |
| Всего больных | 555/913(61) | |

Примечание. ¹ – все случаи РА с поправкой на возраст и пол; * – по сравнению с пациентами, которые никогда не курили; ** – по сравнению с пациентами, которые выкуривали 5–20 пачек в год; *** – по сравнению с пациентами без *SE*.

О Б З О Р Ы

Таблица 2. *PP PA у пациентов, подвергшихся воздействию курения и SE-генов, по сравнению с лицами, никогда не курившими и не имевшими генов SE*

| АЦЦП (+/-), статус курения | Число подвергшихся воздействию/контроль и PP (95% ДИ) | | |
|----------------------------|---|---------------|-----------------|
| | нет SE | единичный SE | двойной SE |
| Мужчины и женщины | | | |
| АЦЦП+ | 20/87 | 72–104 | 36/31 |
| Никогда не курили | Эталон | 3,3(1,8–5,9) | 5,4(2,7–10,8) |
| Курили когда-либо | 58/184 | 192/146 | 126/31 |
| | 1,5(0,8–2,6) | 6,5(3,8–11,4) | 21(11–40,2) |
| Мужчины и женщины | | | |
| АЦЦП- | 65/87 | 64/104 | 18/31 |
| Никогда не курили | Эталон | 0,8(0,5–1,3) | 0,7(0,4–1,5) |
| Курили когда-либо | 84/184 | 76/146 | 18/31 |
| | 0,6(0,4–1,0) | 0,8(0,5–1,2) | 0,8 (0,4–1,7) |
| Женщины | | | |
| АЦЦП+ | 18/74 | 58/75 | 30/25 |
| Никогда не курили | Эталон | 3,6 (1,9–6,8) | 5,4(2,5–11,5) |
| Курили когда-либо | 41/115 | 130/109 | 89/25 |
| | 1,5(0,8–2,9) | 6,0(3,3–10,8) | 19,0(9,3–38,5) |
| Женщины | | | |
| АЦЦП- | 50/74 | 45/75 | 15/25 |
| Никогда не курили | Эталон | 0,8(0,5–1,4) | 0,8(0,4–1,8) |
| Курили когда-либо | 62/115 | 52/109 | 11/25 |
| | 0,8(0,5–1,4) | 0,8(0,5–1,3) | 0,7(0,3–1,5) |
| Мужчины | | | |
| АЦЦП+ | 2/13 | 14/29 | 6/6 |
| Никогда не курили | Эталон | 3,1(0,4–21,7) | 6,1(0,7–50,6) |
| Курили когда-либо | 17/69 | 63/37 | 37/6 |
| | 1,9(0,3–13,3) | 15,1(2,3–100) | 59,2(7,7–457,3) |
| Мужчины | | | |
| АЦЦП- | 15/13 | 19/29 | 3/6 |
| Никогда не курили | Эталон | 0,6(0,2–1,6) | 0,4(0,1–2,3) |
| Курили когда-либо | 24/69 | 24/37 | 7/6 |
| | 0,3(0,1–0,7) | 0,5(0,2–1,4) | 0,9(0,2–3,8) |

Все анализы проводили с использованием пакета программного обеспечения SAS, версия 8.2 (SAS Institute, Cary, NC) [49].

Связь между курением и наличием АЦЦП. Была обнаружена связь между курением до развития РА и наличием АЦЦП на момент постановки диагноза. Определяли дозозависимое соотношение степени курения, рассчитанной как количество пачек/лет, и частоты повышенных уровней АЦЦП при развитии РА (табл. 1).

Изучали также возможную связь между курением и наличием АЦЦП у здоровых лиц, данные о которых были взяты из исследования EIRA и биобанка Северной Швеции. Из 576 когда-либо куривших АЦЦП обнаружены у 16 (2,78%) по сравнению с 6 (1,38%) из 435 никогда не куривших. Однако эта разница не была статистически значимой ($p = 0,13$ по критерию Фишера).

Связь между HLA-DR SE-генами и АЦЦП. Как свидетельствуют данные табл. 1, наличие *HLA DR SE* способствует образованию АЦЦП. Исследования показали, что *HLA-DR SE*-гены и курение – это факторы риска только в случаях РА, позитивного по АЦЦП.

К высокому риску развития АЦЦП-позитивного РА приводит взаимодействие ген – окружающая среда между курением и *HLA-DR SE*. При изучении связи между генетическими

и экзогенными факторами риска показано значимое взаимодействие генов и окружающей среды с курением и *HLA-DR SE*-генами в связи с риском развития (PP) АЦЦП-позитивного РА. Курение вызывало незначительное повышение PP этого подтипа РА у *SE*-отрицательных лиц (PP 1,5; 95% ДИ 0,8–2,6), в то время как добавление единичной или двойной копий генов *HLA-DR SE* резко увеличивало PP АЦЦП-позитивного РА до 6,5 (95% ДИ 3,8–11,4) у курильщиков, имеющих единичные *HLA-DR SE*-копии, и до 21,0

окончательный анализ. Взаимодействие между генотипом и курением оценивали с использованием отклонения от аддитивности эффектов как критерий взаимодействия, предложенный К.Л. Rothman и соавт. [47]. Количество взаимодействий (КВ) также рассчитывали с 95% ДИ [48]. КВ, которому присваивается значение от 0 до 1, определяет долю заболевших среди лиц, подвергшихся влиянию двух взаимодействующих факторов (т. е. отражает их совместное влияние за пределами суммы их независимых эффектов).

Таблица 3. *Доля курильщиков и лиц с генами SE среди пациентов с РА, которые были дискордантными по АЦЦП и РФ*

| Распространенность курения и SE (95% ДИ) | p | АЦЦП+, РФ- (n=68) абс. (%) | АЦЦП-, РФ+ (n=109) абс. (%) |
|--|--------|----------------------------|-----------------------------|
| Курение 0,93(0,75–1,16) | 0,53 | 43(63,2) | 74(67,9) |
| Единичный SE 1,42(1,01–1,92) | 0,02 | 40(58,8) | 45(41,3) |
| Двойной SE 1,80(0,99–3,29) | 0,05 | 18(26,5) | 16(14,7) |
| Любые SE 1,52(1,26–1,85) | 0,0001 | 58(85,3) | 61(56,0) |

ОБЗОРЫ

(95% ДИ 11–40,2) у имеющих двойные копии генов *HLA-DR SE*. Это сопоставимо с показателями для некурящих с одной копией гена *SE*, у которых *PP* составил 3,3 (95% ДИ 1,8–5,9), и для некурящих с двойными копиями этого гена (*PP* 5,4; 95% ДИ 2,7–10,8; табл. 2).

Связь курения и HLA-DR SE-генов с наличием АЦЦП и РФ. Изучали распределение курильщиков и лиц с генами *SE* среди пациентов с *РА*, которые были дискордантными по АЦЦП- и РФ-позитивности. Наличие гена *HLA-DR SE* в первую очередь ассоциировалось с выявлением АЦЦП, а не с позитивностью по РФ ($p=0,0001$), в то время как с курением такая связь не была очевидной ($p=0,53$; табл. 3).

Стимуляция цитруллинирования курением в клетках бронхоальвеолярного лаважа. Клетки для исследования на наличие цитруллинированных белков были получены из жидкости бронхоальвеолярного лаважа от некурящих (здоровых) и курильщиков (здоровых и пациентов с легочным воспалительным заболеванием). На долю альвеолярных макрофагов приходилось 94 и 89% (среднее значение) клеток бронхоальвеолярного лаважа у курильщиков и некурящих соответственно. У здоровых курильщиков было обнаружено в среднем 13,75% цитруллин-позитивных клеток, в то время как у курильщиков с воспалением легких средний показатель был еще выше (28,5%; табл. 4).

Таким образом, в исследовании EIRA были получены новые данные об этиологии *РА*. Во-первых, установлено, что влияние классического генетического фактора риска, наличия *HLA-DR SE*, наблюдается только в подгруппе пациентов с *РА*, позитивных по АЦЦП. Во-вторых, это также относится к одному из главных факторов риска окружающей среды – курению. При объединении этих факторов взаимодействие ген – среда между *HLA-DR SE* и курением приводило к 21-кратному повышению *RR* у курильщиков, несущих 2 копии гена, по сравнению с некурящими без гена. В-третьих, наблюдались биологические механизмы, которыми можно было бы объяснить эти результаты с точки зрения генетической эпидемиологии, а именно: курение может ассоциироваться с повышенным содержанием цитруллин-модифицированных белков в легких и в этом случае приводит к раннему поражению легких с ухудшением качества жизни и повышением риска смерти от легочной патологии.

Суммируя представленные данные, этиологическую гипотезу можно сформулировать следующим образом: вовлечение генов, факторов окружающей среды и иммунитета к собственным иммуногенным (возможно, артритогенным) молекулам может осуществляться через посттрансляционные модификации индуцированного экологического агента. Примечательно, что компоненты этого предполагаемого ряда событий присутствуют лишь в одной неоспоримой субпопуляции пациентов с *РА*.

В данном исследовании было показано, что длительное воздействие табачного дыма и других экзогенных факторов может потенцировать механизмы, ускоряющие дезаминирование аргинина в цитруллин и приводящие к накоплению аутоантигенов в легких через регуляцию деятельности ферментной системы пептидиларгинин – дезаминаза в макрофагах, вызывающих воспаление и апоптоз [11, 50]. Иммунный ответ на цитруллинированные белки может быстрее развиваться у лиц, несущих *HLA-DR SE*, так как цитруллинирование продемонстрировало повышенную связь модифицированных пептидов с *SE*-содержащими *HLA-DR*-антигенами,

Таблица 4. Количество цитруллин-экспрессирующих клеток бронхоальвеолярного лаважа у курильщиков с воспалением легких, здоровых курильщиков и здоровых некурящих

| Статус курения | Цитруллин-экспрессирующие клетки, % |
|----------------------------------|-------------------------------------|
| Курильщики с воспалением легких: | |
| 1 | 29,0 |
| 2 | 0,0 |
| 3 | 21,0 |
| 4 | 64,0 |
| Среднее значение | 28,5 |
| Здоровые курильщики: | |
| 1 | 0,0 |
| 2 | 15,0 |
| 3 | 14,0 |
| 4 | 26,0 |
| Среднее значение | 13,75 |
| Здоровые некурящие: | |
| 1 | 0,0 |
| 2 | 0,0 |
| 3 | 0,0 |
| 4 | 0,0 |
| Среднее значение | 0,0 |

Примечание. Клетки бронхоальвеолярного лаважа исследовали с помощью метода иммуногистохимического окрашивания с использованием кроличьих антицитруллин-модифицированных антител. Не менее 1000 клеток оценивали слепым методом.

в результате чего повышается иммуногенность белков [51]. Следствием длительного курения, как и действия других провоцирующих факторов, становится активация адаптивного иммунного ответа на цитруллинированные белки, которая может произойти за несколько лет до появления первых клинических симптомов [45, 52, 53], особенно у лиц, несущих в своем генотипе *HLA-DR SE*-гены [43, 54].

Дополнительные данные, касающиеся клинических признаков артрита, неизвестны, но было установлено, что цитруллинирование не является специфичным для *РА*, так как может возникать и при других типах артрита, включая недифференцированный [54]. Учитывая это, исследователи выдвинули предположение о двушаговой модели патогенеза *РА*, в которой индуцирование иммунитета к цитруллинированным белкам предшествует собственно заболеванию, что может приводить к развитию недифференцированного артрита, сопровождающегося образованием цитруллинированных белков в синовии. У лиц, не имеющих антицитруллинированного иммунитета, такие синовиты могут быть временными, в то время как хроническое заболевание *РА*, усиливающее воспаление суставов, с большей вероятностью будет развиваться у лиц с уже существующим антицитруллинированным иммунитетом [55].

В целях дальнейшего изучения такого возможного механизма заболевания необходимо охарактеризовать белки, цитруллинированные в легких и суставах, и изучить триггеры, специфичность и регуляцию иммунных реакций в ответ на модифицированные молекулы до и после дебюта *РА*. В настоящее время установлено, что цитруллинированные фибриноген и виментин присутствуют в суставах при *РА*, а в крови таких больных определяются антицитруллинированные антитела [56, 57], но

О Б З О Р Ы

вполне вероятно, что цитруллинирование происходит и в других белках, которые могут стать объектами для запуска иных аутоиммунных реакций.

В патогенез РА, помимо упомянутых, могут быть вовлечены и многие другие гены, факторы окружающей среды и иммунные реакции [58–62], что требует дальнейшего изучения в крупных когортных исследованиях.

Остаются открытыми вопросы диагностики и систематизации всего спектра респираторных нарушений у пациентов с аутоиммунными заболеваниями, в том числе с РА. Чрезвычайно актуальны детальное исследование бронхолегочной системы у пациентов с РА, разработка алгоритмов диагностики, позволяющих в стадии мини-

мальных патологических изменений заподозрить и верифицировать плевропульмональную патологию, а также спрогнозировать течение процесса и вовремя скорректировать тактику лечения. При РА, позитивном по АЦЦП, отмечаются более агрессивное течение деструктивного процесса и риск развития системных осложнений, включая бронхолегочные нарушения. Такие пациенты составляют группу риска и нуждаются в современной антицитокиновой терапии с целью сохранения качества жизни и снижения инвалидизации и смертности. Своевременное выявление и объективная оценка степени поражения и активности заболевания позволяют оптимизировать диагностический процесс.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Turesson C, O'Fallon WM, Crowson CS et al. Extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis: incidence trends and risk factors over 46 years. *Ann Rheum Dis*. 2003;62(8):722–7.
- Turesson C, Jacobsson LT. Epidemiology of extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 2004;33(2):65–72. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080%2F0300974031004621>.
- Minaur NJ, Jacoby RK, Cosh JA et al. Outcome after 40 years with rheumatoid arthritis: a prospective study of function, disease activity, and mortality. *J Rheumatol Suppl*. 2004;69:3–8.
- Sihvonen S, Korpela M, Laipalla P et al. Death rates and causes of death in patients with rheumatoid arthritis: a population-based study. *Scand J Rheumatol*. 2004;33(4):221–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080%2F0300974041005845>.
- Suzuki A, Ohosone Y, Obana M et al. Cause of death in 81 autopsied patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1994;21(1):33–6.
- Gabriel SE, Crowson CS, Kremers HM et al. Survival in rheumatoid arthritis: a population-based analysis of trends over 40 years. *Arthritis Rheum*. 2003;48(1):54–8.
- Maradit-Kremers H, Nicola PJ, Crowson CS et al. Cardiovascular death in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Arthritis Rheum*. 2005;52(3):722–32. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002%2Fart.20878>.
- Мазуров ВИ, Богданов АН. Поражение легких при диффузных заболеваниях соединительной ткани. Санкт-Петербург: ООО «Агентство РДК-Принт»; 2002. 120 с. [Mazurov VI, Bogdanov AN. Porazhenie legkikh pri diffuznykh zabolevaniyakh soedinitel'noy tkani. St-Petersburg: ООО «Агентство РДК-Принт»; 2002. 120 p.]
- Zrour SH, Touzi M, Bejia I et al. Correlations between high-resolution computed tomography of the chest and clinical function in patients with rheumatoid arthritis: prospective study in 75 patients. *Joint Bone Spine*. 2005;72(1):41–7.
- Bilgici A, Ulusoy H, Kuru O et al. Pulmonary involvement in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2005;25(6):429–35. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007%2Fs00296-004-0472-y>.
- Насонов ЕЛ, Насонова ВА. Ревматология: Национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2008. 737 с. [Nasonov EL, Nasonova VA. Revmatologiya: Natsional'noe rukovodstvo. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. 737 p.]
- Byrd SL, Case BA, Boulware DW. Pulmonary manifestations of rheumatic disease. *Postgrad Med*. 1993;93(1):149–51, 154–6, 159–61.
- Boulware DW, Weissman DN, Doll NJ. Pulmonary manifestations of the rheumatic diseases. *Clin Rev Allergy*. 1985;3(2):249–67. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007%2FBF02992987>.
- Morrison SC, Mody GM, Benatar SR, Meyers OL. The lungs in rheumatoid arthritis- a clinical, radiographic and pulmonary function study. *S Afr Med J*. 1996;86(7):829–33.
- Walker WC. Pulmonary manifestations of the rheumatic diseases. *Practitioner*. 1978;220(1315):51–5.
- Lipsky P. Rheumatoid arthritis. In: Fauci AS, Harrison TR, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 14th ed. New York: McGraw-Hill; 1998. 1880–8.
- Petersson T, Soderblom T, Nyberg P et al. Pleural fluid soluble interleukin 2 receptor in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 1994;21(10):1820–4.
- Nyberg P, Soderblom T, Petersson T et al. Neurone-specific enolase levels in pleural effusions in patients with rheumatoid arthritis. *Thorax*. 1996;51(1):92–4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136%2Fthx.51.1.92>.
- Turner-Stokes L, Haslam P, Jones M et al. Autoantibody and idiotype profile of lung involvement in autoimmune rheumatic disease. *Ann Rheum Dis*. 1990;49(3):160–2. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136%2Fard.49.3.160>.
- Lamblin C, Bergoin C, Saelens T, Wallaert B. Interstitial lung diseases in collagen vascular diseases. *Eur Respir J*. 2001;32:69s–80s.
- Dawson JK, Fewins HE, Desmond J et al. Fibrosing alveolitis in patients with rheumatoid arthritis as assessed by high resolution computed tomography, chest radiography, and pulmonary function tests. *Thorax*. 2001;56(8):622–7.
- Kim EJ, Collard HR, King TE Jr. Rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: the relevance of histopathologic and radiographic pattern. *CHEST*. 2009; 136(5):1397–405. DOI: 10.1378/chest.09-0444.
- Hunninghake GW, Zimmerman MB, Schwartz DA et al. Utility of a lung biopsy for the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(2):193–6.
- American Thoracic Society, European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society International multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:277–304.
- Tanaka N, Kim JS, Newell JD et al. Rheumatoid arthritis-related lung diseases: CT findings. *Radiology*. 2004;232(1):81–91. DOI: <http://dx.doi.org/10.1148%2Frad.2321030174>.
- Hakala M. Poor prognosis in patients with rheumatoid arthritis hospitalized for interstitial lung fibrosis. *Chest*. 1988;93(1):114–8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1378%2Fchest.93.1.114>.
- Banks J, Banks C, Cheong B et al. An epidemiological and clinical investigation of pulmonary function and respiratory symptoms in patients with rheumatoid arthritis. *Q J Med*. 1992;85:795–806.
- Vassallo R, Matteson E, Thomas CF Jr. Clinical response of rheumatoid arthritis-associated pulmonary fibrosis to tumor necrosis factor- α inhibition. *Chest*. 2002;122(3):1093–6.
- Kolarz G, Scherak O, Popp W et al. Bronchoalveolar lavage in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*. 1993;32(7):556–61. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093%2Frheumatology%2F32.7.556>.
- Geddes DM, Corrin B, Brewerton DA et al. Progressive airway obliteration in adults and its association with rheumatoid disease.

- Q J Med. 1977;46(184):427–44.
31. Tanoue LT. Pulmonary manifestations of rheumatoid arthritis. *Clin Chest Med*. 1998;19(4):667–85. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016%2FS0272-5231%2805%2970109-X>.
32. Bayar N, Kara SA, Keles I et al. Cricoarytenoiditis in rheumatoid arthritis: radiologic and clinical study. *J Otolaryngol*. 2003;32(06):373–8. DOI: <http://dx.doi.org/10.2310%2F7070.2003.13910>.
33. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope) – restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum*. 2006;54(1):38–46. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002%2Fart.21575>.
34. Vessey MP, Villard-Mackintosh L, Yeates D. Oral contraceptives, cigarette smoking and other factors in relation to arthritis. *Contraception*. 1987;35(5):457–64. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016%2F0010-7824%2887%2990082-5>.
35. Silman AJ, Newman J, MacGregor AJ. Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid arthritis: results from a nationwide study of disease-discordant twins. *Arthritis Rheum*. 1996;39(5):732–5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002%2Fart.1780390504>.
36. Heliövaara M, Aho K, Aromaa A et al. Smoking and risk of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1993;20(11):1830–5.
37. Uhlig T, Hagen KB, Kvien TK. Current tobacco smoking, formal education, and the risk of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1999;26(1):47–54.
38. Stolt P, Bengtsson C, Nordmark B et al. Quantification of the influence of cigarette smoking on rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2003;62(9):835–41. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136%2Fard.62.9.835>.
39. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis: an approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1987;30(11):1205–13. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002%2Fart.1780301102>.
40. Jawaheer D, Gregersen PK. Rheumatoid arthritis: the genetic components. *Rheum Dis Clin North Am*. 2002;28(1):1–15. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016%2FS0889-857X%2803%2900066-8>.
41. Padyukov L, Silva C, Stolt P et al. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-PDR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004;50(10):3085–92. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002%2Fart.20553>.
42. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum*. 2000;43(1):155–63. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002%2F1529-0131%28200001%2943%3A1%3C155%3A%3AAID-ANR20%3E3.0.CO%3B2-3>.
43. Van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TW et al. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004;50(7):2113–21. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002%2Fart.20316>.
44. Hoffman IE, Peene I, Cebeacuer L et al. Presence of rheumatoid factor and antibodies to citrullinated peptides in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(2):330–2. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136%2Fard.2004.022111>.
45. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48(10):2741–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002%2Fart.11223>.
46. Miettinen OS. Estimability and estimation in case-referent studies. *Am J Epidemiol*. 1976;103:226–35.
47. Rothman KJ, Greenland S, Walker AM. Concepts of interaction. *Am J Epidemiol*. 1980;112:467–70.
48. Hosmer DW, Lemeshow S. Confidence interval estimation of interaction. *Epidemiology*. 1992;3(5):452–6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097%2F00001648-199209000-00012>.
49. Cody RP, Smith JK. Applied statistics and the SAS programming language. 4th ed. Upper Saddle River (NJ): Prentice Hall; 1997.
50. Vossenaar ER, Radstake TR, van der Heijden A et al. Expression and activity of citrullinating peptidylarginine deiminase enzymes in monocytes and macrophages. *Ann Rheum Dis*. 2004;63(4):373–81. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136%2Fard.2003.012211>.
51. Hill JA, Southwood S, Sette A et al. Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1*0401 MHC class II molecule. *J Immunol*. 2003;171:538–41.
52. Nielsen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum*. 2004;50(2):380–6.
53. Aho K, Palosuo T, Heliövaara M et al. Antiflaggrin antibodies within «normal» range predict rheumatoid arthritis in a linear fashion. *J Rheumatol*. 2000;27:2743–6.
54. Berglin E, Padyukov L, Sundin U et al. A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2004;6:R303–8.
55. Van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Rheum*. 2004;50(3):709–15. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002%2Fart.20044>.
56. Masson-Bessiere C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E et al. The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antiflaggrin autoantibodies are deiminated forms of the alpha- and beta-chains of fibrin. *J Immunol*. 2001;166:4177–84.
57. Vossenaar ER, Despres N, Lapointe E et al. Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. *Arthritis Res Ther*. 2004;6:R142–50. Epub 2004 Feb 5.
58. Huizinga T. Genetics in rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2003;17(5):703–16. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016%2FS1521-6942%2803%2900040-8>.
59. Symmons DP, Bankhead CR, Harrison BJ et al. Blood transfusion, smoking, and obesity as risk factors for the development of rheumatoid arthritis: results from a primary care-based incident case-control study in Norfolk, England. *Arthritis Rheum*. 1997;40(11):1955–61. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002%2Fart.1780401106>.
60. Klareskog L, Alfredsson L, Rantapää-Dahlqvist S et al. What precedes development of rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis*. 2004;63 Suppl 2:ii28-ii31. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136%2Fard.2004.028225>.
61. Monach PA, Benoist C, Mathis D. The role of antibodies in mouse models of rheumatoid arthritis, and relevance to human disease. *Adv Immunol*. 2004;82:217–48. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016%2FS0065-2776%2804%2982005-4>.
62. Berg L, Ronnelid J, Sanjeevi CB et al. Interferon-gamma production in response to in vitro stimulation with collagen type II in rheumatoid arthritis is associated with HLA-DRB1(*0401 and HLA-DQ8. *Arthritis Res*. 2000;2(1):75–84.