

Sylvain DUBUCQUOI^{1,*}, Elisabeth SOLAU-GERVAIS²

Biologie et polyarthrite rhumatoïde : un point d'actualité en 2007

RÉSUMÉ

Ces dernières années, deux événements ont radicalement modifié la prise en charge médicale de la polyarthrite rhumatoïde (PR) et en ont transformé le pronostic. Il s'agit tout d'abord de la prise de conscience que l'instauration précoce d'une thérapeutique appropriée permet de limiter le handicap à long terme lié à l'évolution naturelle de la maladie. D'autre part, l'avènement de nouvelles biothérapies (Infliximab ou Rituximab, par exemple) ouvrent des perspectives d'action spectaculaire, là où les traitements conventionnels montrent parfois des limites d'efficacité. La prise en charge de la PR a donc évolué d'un problème de « comment traiter » à « comment en faire précocement le diagnostic », c'est à dire avant que les signes cardinaux (... les critères de l'American College of Rheumatology) n'apparaissent. Dans cette dimension, la biologie peut trouver une place légitime, d'autant que ces dernières années ont vu émerger de nouveaux tests sérologiques qui peuvent utilement compléter les paramètres classiquement prescrits dans la mise en place diagnostique et le suivi de la PR.

MOTS-CLÉS

Polyarthrite rhumatoïde, prise en charge biologique, facteurs rhumatoïdes, anticorps anti-peptides ou protéines citrullinés.

Clinical chemistry and rheumatoid arthritis what's new in 2007

SUMMARY

Last years, several data have modified the management of the rheumatoid arthritis (RA) and have transformed the prognosis of the disease. First, it has been demonstrated that early treatments have a significant impact on disease activity years later. Second, treatments have known a spectacularly improve of efficiency, associated with the emergence of biotherapies using anti-tumor-necrosis-factor-alpha or anti-CD20 monoclonal antibodies, for example. These findings have shifted the medical problem from "how to treat" to "how to make an early diagnosis of RA". In this way, biological markers of RA have to update in order to optimize early diagnosis and follow up of the disease.

KEYWORDS

Rheumatoid arthritis, biological management, rheumatoid factor, anti-citrullinated proteins antibodies.

I - Qu'est ce que la polyarthrite rhumatoïde ?

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire de la synoviale articulaire aboutissant à l'érosion, à la déformation et à la destruction des articulations. Sa prévalence se situe entre 0,5 et 1 % de la population et 3 malades sur 4 sont des femmes. La maladie se révèle généralement autour de l'âge de la ménopause, mais peut se voir chez le sujet jeune. Elle débute souvent aux petites articulations des mains, des pieds et aux poignets. Le patient se plaint de dou-

leurs qui le réveillent la nuit, avec potentiellement une perte fonctionnelle dans la journée. Les articulations peuvent être gonflées, chaudes et rouges. D'autres articulations peuvent ensuite être atteintes, souvent de manière symétrique, mais la distribution des arthrites reste majoritairement périphérique. Près d'un tiers des patients atteints de PR présentent des lésions extra-articulaires. Les plus fréquentes touchent le poumon (risque de fibrose interstitielle), la peau (vascularite, nodules sous-cutanés), le système nerveux (périphérique ou central), les yeux (sclérite). Les manifestations extra-articulaires témoignent en général de la gravité

¹ Laboratoire d'Immunologie, CHRU de Lille.

² Service de Rhumatologie, CHU de Poitiers.

*Pour correspondance :

Laboratoire d'Immunologie – CHRU de Lille – 2, avenue Oscar Lambret – 59037 Lille cedex – E-Mail : s-dubucquoi@chru-lille.fr

Biologie et Polyarthrite Rhumatoïde : un point d'actualité en 2007

du pronostic. Un syndrome de Sjögren (syndrome sec, infiltration lymphoplasmocytaire des glandes salivaires, présence d'anticorps anti-SS-A / SS-B) peut également s'associer à la maladie.

Le diagnostic de la maladie repose sur l'examen clinique, avec la difficulté pour le clinicien d'évoquer au plus tôt le diagnostic, alors que la symptomatologie peut être fruste, et l'imagerie conventionnelle (radiographies) peu éloquente. Des progrès en imagerie ont été réalisés (échographie, imagerie par résonance magnétique) mais ces approches restent du domaine des spécialistes. Naturellement donc, le clinicien se tourne vers la biologie pour l'aider dans sa démarche. L'évaluation de l'inflammation générale (vitesse de sédimentation, dosage de la C Reactive Protein...) reste un élément indispensable des différentes étapes de diagnostic, de suivi et d'évaluation pronostique de la pathologie. Cette dimension biologique ne sera toutefois pas abordée dans cet article qui se focalisera sur l'aide que peut apporter le laboratoire d'immunologie, notamment par les dosages de facteurs rhumatoïdes et d'Ac anti-peptides ou protéines citrullinés (anti-PPC).

II - Performances des différentes méthodes dosant le FR.

Les facteurs rhumatoïdes (FR) sont des auto-anticorps susceptibles de réagir avec le fragment Fc des immunoglobulines (Ig)G. Ils peuvent être de différentes classes : IgM, IgG, IgA (voire IgE). Toutefois, les techniques de dosages (hormis l'ELISA), mais aussi la pratique quotidienne, ne s'intéressent qu'aux IgM anti-IgG. L'apparition des FR est associée aux processus inflammatoires. Limités à la reconnaissance des IgG humaines, et transitoires, ces auto-anticorps constituent un procédé physiologique d'élimination d'immuns complexes circulants. En revanche, persistance, titres élevés, et extension des capacités d'interaction de ces anticorps aux IgG animales (stigmate de polyclonalité) traduisent un processus inflammatoire chronique et probablement un dérèglement du système immunitaire qui peut être observé dans différentes pathologies.

Avant d'aborder l'importante question de la sensibilité et de la spécificité des différentes techniques de dosages de FR, il est important de rappeler quelques généralités. En effet, l'intégration des notions de performances d'un test reste hautement délicate pour tout praticien (rhumatologue ou biologiste) qui souhaite transposer les résultats de la littérature dans sa pratique personnelle. Il faut en effet rappeler que les données publiées ont été obtenues par une collection

d'experts, qui ont travaillé à partir de populations de malades sélectionnés sur des critères permettant de poser avec certitude un diagnostic (reflet d'un recrutement d'un rhumatologue – interniste ? – de ville, - hospitalier, - universitaire ?), à partir de méthodes optimisées et manipulées par des personnels rompus à cette pratique. Dans quelle mesure ces données publiées reflètent-elles la routine issue d'un recrutement singulier de patients ? Patients dont le biologiste ignore souvent tout des motifs de consultation, et dont les résultats biologiques sont générés à partir de réactifs distribués par différentes sociétés industrielles, dont aucune autorité compétente n'a validé les performances techniques, et souvent sélectionnés sur des critères économiques. Ces rappels de bon sens encouragent tout à chacun à procéder à ses propres évaluations, ou à se rapprocher de ceux qui ont les moyens de les conduire, ne serait ce parce qu'ils disposent d'informations cliniques.

Concernant les dosages de FR, une pratique ancienne (et manifestement française) vise à combiner 2 tests (« latex – Waaler-Rose », par exemple), explorant les FR anti-IgG humaines et anti-IgG animales. Cette combinaison, associant un test présumé sensible et un test présumé spécifique, est supposée apporter sensibilité et spécificité au diagnostic biologique de la PR... Avec un peu de réflexion, on prend rapidement conscience que cette combinaison n'apporte rien à la démarche, surtout dans une dimension de diagnostic précoce (*tableau 1*). Dans cette dernière circonstance, le test de Waaler Rose ne garantit pas une sensibilité suffisante. Si la réalisation de ce test trouvait encore une justification par sa spécificité... on verra qu'elle est largement dépassée aujourd'hui.

III - Dosage des Ac anti-peptides et protéines citrullinés : une révolution dans la prise en charge du diagnostic biologique de la PR

La piètre spécificité des FR anti-IgG humaines dans la mise en place diagnostique de la PR, a, depuis longtemps, motivé la recherche de marqueurs biologiques plus spécifiques de la pathologie. Dès le début des années 1960, on a donc vu apparaître certains tests, apportant parfois un complément diagnostique utile à la prise en charge de la PR, notamment par leur grande spécificité. Basés sur l'immunofluorescence, ils recherchent des anticorps anti-facteurs périucléaires (7) ou des anticorps anti-kératine (8).

Tableau 1

Sensibilités et spécificités des différentes méthodes dosant les FR distinguant les populations de patients souffrant de PR depuis plus de 2 ans ou depuis moins d'un an. Dans ces publications, sont considérées comme « avérées », les PR évoluant depuis plus de 2 ans^a (1, 2), et comme « précoces »^b les PR évoluant depuis moins d'un an (3-6).^c C'est la sensibilité de la combinaison « latex – Waaler-Rose » qui est rapportée ici.

	Sensibilité (%)		Spécificité (%)
	PR avérées ^a	PR précoces ^b	
Test au latex	70	} 32-55% ^c	80
Test de Waaler Rose	60		90-95
Néphélométrie / Turbidimétrie	82	50-66	87-95
ELISA	79	65	84-94

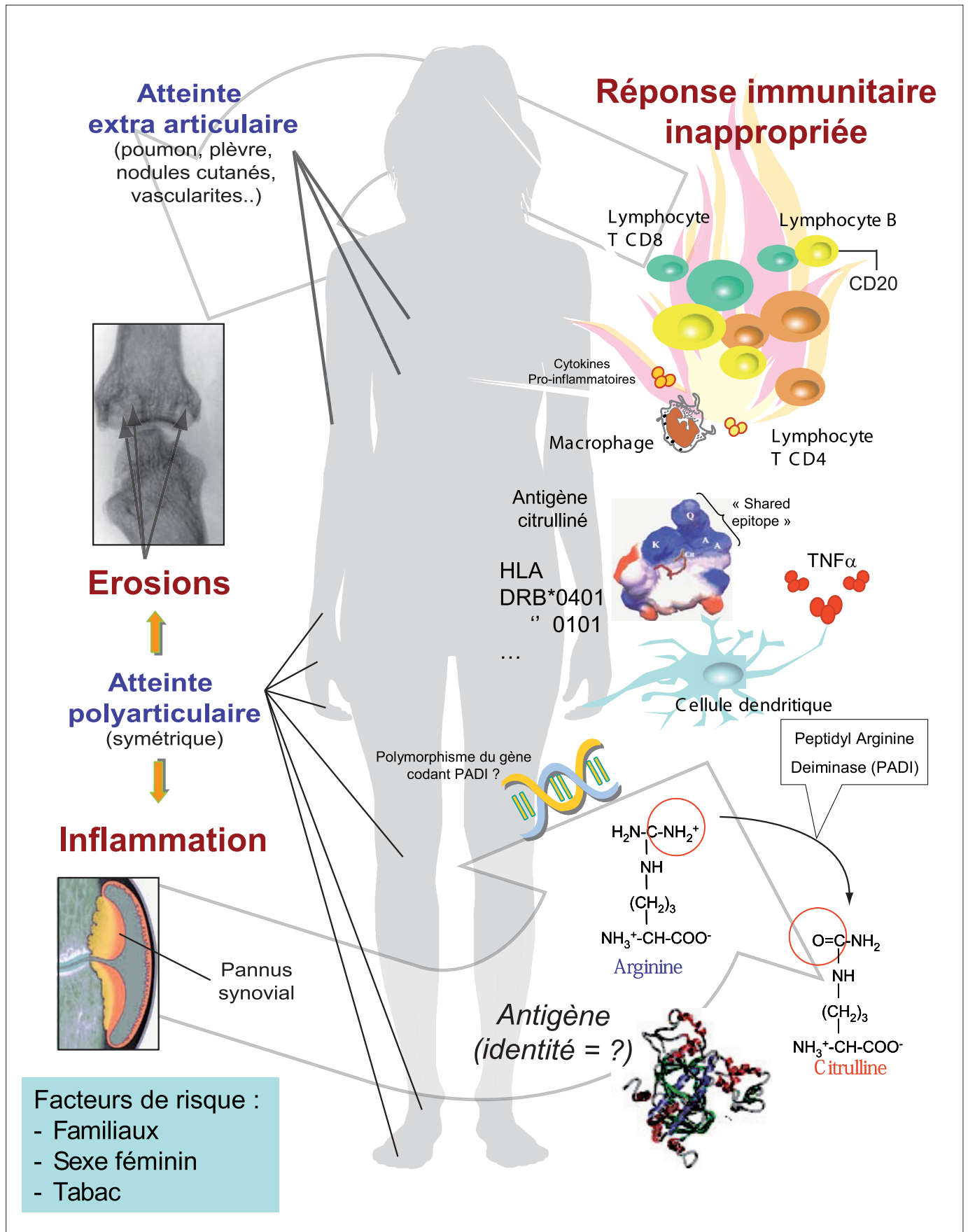
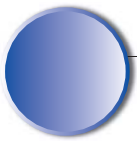


Figure 1
Polyarthrite rhumatoïde, synopsis physiopathologique.

Ces tests n'ont toutefois connu qu'une diffusion confidentielle du fait d'un manque majeur de standardisation des techniques, mais surtout de leur mauvaise sensibilité (6, 9). Malgré ces piètres performances, ils ont conduit à l'identification d'un antigène, cible de la réactivité des sérums de patients souffrant de PR : la (pro-) filagrine citrullinée. Si cette molécule n'existe pas au sein de l'articulation, des travaux plus récents, ont montré qu'il pouvait co-exister différentes cibles moléculaires (fibrine (10), vimentine (11), ou d'autres encore qu'il reste à identifier) susceptibles d'être transformées *in vivo* par processus de « déimination ». Ces phénomènes peuvent être liés à l'inflammation locale et au recrutement de macrophages, qui possèdent dans leur arsenal enzymatique, la peptidyl-arginine-dé-iminase, enzyme de la citrullination. Il semble que les épitopes citrullinés, générés au sein de l'articulation inflammatoire, soient bien exposés à la surface des cellules présentatrices d'Ag par les molécules HLA, et notamment les allotypes associés à la PR (HLA DRB1*0101, DRB1*0404, par exemple). Ils conduiraient à une réponse immunitaire inappropriée, s'accompagnant d'inflammation chronique et de destruction osseuse (figure 1).

IV - Amélioration des performances des trouses dosant les Ac anti-protéines ou peptides citrullinés, pré-requis à la large diffusion des tests diagnostiques de la PR

Parallèlement à une meilleure compréhension des processus physiopathologiques, l'identification d'antigènes, cibles de la réactivité immunitaire associée à la PR, a débouché sur d'importants progrès dans le domaine du diagnostic biologique de cette pathologie. Dès 1998, l'équipe de Van Venrooij de Nimègue aux Pays Bas, rapporte les performances d'un test ELISA mesurant la réactivité spécifique de sérums de patients souffrant de PR vis-à-vis de différents peptides citrullinés de la filagrine (12). Deux ans plus tard, les mêmes auteurs présentent les performances d'un nouveau test utilisant comme cible spécifique, un peptide citrulliné et cyclique de la filagrine (13). L'utilisation de ce peptide sera à l'origine de l'apparition de la première génération des trouses ELISA dosant les Anticorps anti-peptide cyclique et citrulliné de la filagrine (anti-CCP1). Rapidement, les performances de ce test ont pu être encore améliorées, et une deuxième génération de coffrets (Ac anti-CCP2) a remplacé la première. La cyclisation du peptide, ainsi qu'une modification des séquences peptidiques (les épitopes ne dériveraient plus de la filagrine) apportent un gain et de sensibilité et de spécificité au dosage. Selon l'analyse de la littérature réalisée par J. Avouac *et al.*, la sensibilité des trouses dosant les Ac anti-CCP2 a été mesurée en moyenne à 68% (extrêmes : 39–94%) et la spécificité à 95% (extrêmes : 81–100%) (14). Ces résultats

Fréquence Populations étudiées	Anti-CCP2
PR « avérées » ^a	53% [39-62%]
PR « précoces » ^b	23% [16-33%]
Lupus	9%
Sjögren	5%
Hépatite C	1%
Spondylarthrite ankylosante	3%
Rhumatisme psoriasique	8%
Rhumatisme palindromique	44%

sont bien évidemment hautement dépendants des populations étudiées (tableau II).

Dans notre expérience (données non publiées) évaluée à partir du recrutement du service de Rhumatologie du CHRU de Lille, (1500 dossiers sur la période concernée, voir plus bas), la sensibilité de la trousse de dosage utilisée en routine a été mesurée à 67,9% pour 365 patients suivis de septembre 2002 à décembre 2005, dont le diagnostic de PR a été établi sans équivoque, avec une durée médiane d'évolution de 25 mois. La spécificité du coffret a été mesurée à 99,3% (établie pour une population de 203 patients dont le diagnostic de PR a pu être formellement exclu, voir note 1). A titre de comparaison, dans les mêmes populations, le dosage des FR (anti-IgG humaines, par ELISA) présentait une sensibilité de 67,7% et une spécificité de 87%. Nous avons noté avec intérêt que 30% des patients qui n'ont pas de FR ont des Ac anti-CCP2. Inversement, on retrouvait des FR chez 30% des patients qui ne présentaient pas d'Ac anti-CCP2. Quinze pour cent des patients présentaient des FR de façon isolée.

Dans notre démarche, il apparaît que le dosage des FR reste utile au diagnostic de la PR, notamment pour les formes débutantes. Il pourrait toutefois s'inscrire en seconde intention, devant une forte suspicion clinique de PR mais en l'absence d'Ac anti-CCP2. Le Tableau II rappelle aussi que les dosages des anti-protéines ou peptides citrullinés sont peu sensibles au début de la maladie, et ce quelque soit le fournisseur de réactifs. Dans notre expérience, leur sensibilité ne dépasse pas 50% la première année d'évolution de la PR. Il semble donc utile de répéter les dosages les 2 premières années d'évolution d'un rhumatisme inflammatoire chronique, dans la mesure où les premiers résultats sont revenus négatifs.

V - Le dosage des Ac anti-CCP2 a-t-il amélioré la prise en charge de la PR ?

L'intégration qu'une prise en charge thérapeutique précoce constitue un engagement pour son efficacité et d'autre part, l'amélioration des performances des dosages biologiques, a conduit à réviser les critères diagnostiques de la PR, puisqu'il apparaît évident que les critères de l'American College of

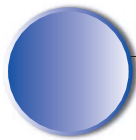
Tableau II

Fréquence des anti-CCP2 au sein de différentes populations de PR et chez des patients ne présentant pas de PR, mais une autre pathologie rhumatismale. Durée moyenne d'évolution de la pathologie :

^a : 23 mois, et ^b : 5 mois (extrait de Avouac *et al.* (14).

NOTE 1

Dans cette population « contrôle » sont exclus les patients présentant une connectivite.



NOTE 2

Les critères de l'ACR sont des critères de classification (définissant une population homogène de malades en vue de publication), et non des critères diagnostiques. Le lecteur intéressé pourra consulter rheumatology.org.

NOTE 3

Le rapport « Recherche d'anticorps anti-protéines citrullinées » est disponible en téléchargement libre sur le site de la HAS, www.has-sante.fr, sous la rubrique « Toutes nos publications ».

Rheumatology (ACR, voir note 2) (15), s'ils sont sensibles et spécifiques, sont d'apparition retardée.

Différentes équipes ont tenté de cerner les marqueurs cliniques, morphologiques et biologiques qui, associés, permettaient de prédire avec efficacité le risque de développer une arthrite érosive. Dans cette démarche, la recherche des Ac anti-CCP2 présentait le meilleur odds ratio (16). Ainsi le risque relatif de développer une PR quand l'individu se plaint de douleurs et inflammation articulaires, serait multiplié par 37,8 en présence d'Ac anti-CCP2 (17).

En ce début d'année 2007, il existe toutefois une limite à la diffusion des dosages des Ac anti-protéines ou peptides citrullinés au sein des laboratoires français, notamment en ville : L'absence d'intégration de ce paramètre à la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (NABM), ce qui empêche le remboursement. Cet obstacle devrait prochainement être levé car un collège d'experts s'est réuni, sous l'égide de la haute Autorité de Santé, pour débattre de la prise en charge précoce de la PR, et reconnaître la prescription de ces dosages comme indispensable à l'établissement du diagnostic de la pathologie. Le rapport résultant de ce travail préconise aussi, l'abandon des dosages d'Ac anti- kératine (voir note 3).

Les industriels ont de leur côté anticipé cette démarche, car le marché s'est largement étoffé depuis l'apparition des premières trousse de dosages des Ac anti-CCP2. On évoque dorénavant le dosage d'Ac anti-protéines ou peptides citrullinés (PPC en français, ACPA pour Anti-Citrullinated Proteins Antibodies, dans la littérature anglophone).

Si en 2002, le biologiste qui souhaitait doser les anti-CCP2 se trouvait limité dans le choix des coffrets qui utilisaient tous les mêmes - 1) antigènes (CCP2), -2) principe technique (ELISA), -3) phase solide (barrette sécable), il découlait de ces « contraintes » un avantage certain : les résultats étaient globalement comparables d'un coffret à l'autre. En 2007, la diversification des antigènes, trousse, méthodes, automates, maintenant accessibles (*tableau III*), élargit certes le choix mais pose clairement la question de l'évaluation des performances des trousse disponibles sur le marché. Les résultats d'évaluation montrent de larges différences en terme de performances (sensibilité et de spécificité), même au sein des coffrets utilisant parfois la même cible antigénique (CCP2) (18, 19). Le biologiste doit de plus, être convaincu qu'aucune performance n'est jamais définitivement acquise pour une trousse dont le fournisseur a toute liberté de modifier un paramètre (utilisation de puits sécables en lieu et place de barrettes sécables, par exemple). C'est donc avec la plus grande vigilance que les comparaisons de trousse seront organisées à partir de populations bien documentées de patients souffrant de PR, prises à différents temps d'évolution de la maladie, pour ne pas négliger la dimension de diagnostic précoce (19, 20). C'est à ce prix que le rhumatologue, et bien évidemment le patient, apprécieront l'aide apportée par le biologiste dans la prise en charge biologique de la PR.

Tableau III

Principales caractéristiques des coffrets disponibles en France pour le dosage des Ac anti-CCP. (*Mutated Citrullinated Vimentine)

Fournisseur	Antigène	Source antigénique	Méthode	Analyse au « coup/coup »	Seuil (U/ml)
Diasorin	CCP2	Eurodiagnostica	ELISA (Barrettes sécables)	non	25
Bioadvance	CCP2	Axis Shield	ELISA (Puits sécables)	±	5
Inova (A. Menarini)	CCP2	Eurodiagnostica	ELISA (Barrettes sécables)	non	20
bmd	CCP2	Axis Shield	ELISA (Barrettes sécables)	non	5
Ingen	CCP2	Eurodiagnostica	ELISA (Puits sécables)	±	5
PHADIA	CCP2	Eurodiagnostica	Automate d'immunoanalyse	oui	10
Abbott	CCP2	Axis Shield	Automate d'immunoanalyse	oui	5
Orgentec	MCV*	Orgentec	ELISA (Puits sécables)/ Automate d'immunoanalyse	± / oui	20
Inova (A. Menarini)	CCP3	Inova	ELISA (Puits sécables)	±	20

VII - Marqueurs biologiques de la PR : quel avenir ?

La dimension diagnostique est une large part de la prise en charge du patient souffrant de PR, mais elle n'est pas la seule, surtout depuis les avancées thérapeutiques. Ces progrès thérapeutiques légitiment en effet l'anticipation de la part du clinicien de la dimension pronostique de la maladie mais également de l'appréciation de l'efficacité des traitements proposés dans cette pathologie. Plus précisément, il apparaît possible par l'évaluation précoce de certaines manifestations de prédire l'évolution de la maladie, ou l'efficacité d'un traitement. Naturellement se pose la question de la place des paramètres biologiques dans cette évaluation. Pour les marqueurs biologiques, parallèlement à l'homozygotie HLADRB1*0101 (ou tout autre allèle exprimant l'épitope partagé – « shared epitope »–), un syndrome inflammatoire majeur, et les titres élevés de FR ont été associés aux maladies rhumatoïdes d'évolution les plus péjoratives, avec notamment le risque d'atteintes extra articulaires, grevant la qualité de vie (voire la survie) des patients et justifiant d'une prise en charge thérapeutique potentiellement plus agressive (21, 22). En pratique courante, l'identification allélique du HLA n'est pas retenue du fait de la haute technicité requise et des coûts qui en découlent. Le clinicien se reporte donc sur les titres des FR (mais il n'est pas utile de les doser régulièrement s'ils ont déjà été observés élevés), et sur les marqueurs d'inflammation (CRP).

Aujourd'hui, l'intérêt des dosages d'Ac anti-CCP à visée pronostique est plus délicat à juger, les données de la littérature étant parfois contradictoires. Il faut en effet rappeler que la présence d'Ac anti-CCP est fortement liée à la présence des allèles HLA associés à la PR (23, 24) et d'autre part à la présence (voire au développement futur) d'érosions articulaires, érosions osseuses qui définissent, il faut le rappeler, la maladie rhumatoïde. Les publications antérieures à 2004 ne semblent pas montrer de réelles associations entre la présence d'Ac anti-PPC et une évolution particulièrement péjorative de la maladie (25). Il faut aussi préciser que « seuls » 20 à 30% des patients souffrant de PR connaîtront une évolution défavorable de la maladie. On perçoit donc qu'un test dont la sensibilité dépasse 70% (quand la maladie est installée), n'est peut-être pas le plus adapté pour estimer une évolution défavorable de la PR. Cette interprétation mérite peut-être d'être nuancée par le fait que l'estimation des titres

des anti-CCP n'est pas encore clairement définie pour les biologistes. Cette étape requiert évidemment une calibration selon une gamme de concentrations, calibration qui n'est pas systématiquement réalisée, pour des raisons économiques. Des données complémentaires sont donc indispensables pour fixer l'opinion car plusieurs études rapportent une corrélation entre les titres des anti-CCP et la gravité de la PR (26-28).

De la même façon, l'estimation de l'efficacité des traitements proposés dans la PR présente un décalage entre les données publiées (29-31) et le ressenti quotidien des rhumatologues (données rarement publiées...). Quelques études évoquent en effet l'intérêt de juger de la décroissance des titres des anti-CCP pour apprécier l'efficacité des biothérapies (Ac monoclonaux anti-TNF α , ou anti-CD20) (30, 32, 33). L'enthousiasme lié à l'apparition de nouveaux marqueurs diagnostiques performants mérite donc d'être tempéré par le recul des années et le nombre des publications cohérentes, pour apprécier leur utilité dans une dimension de suivi de la maladie rhumatoïde. On peut par ailleurs imaginer qu'avec le développement de la génomique, la transcriptomique ou autre (immuno)protéomique, de nouveaux paramètres pronostiques et/ou marqueurs d'efficacité thérapeutique, indépendants des marqueurs diagnostiques classiques, voient prochainement le jour (34).

VIII - Conclusion

La prise en charge de la PR vit actuellement un tournant important de son histoire : elle s'éclaire de nouvelles dimensions, diagnostique, pronostique et bien sûr thérapeutique. Le biologiste est un partenaire actif de chacune de ces étapes. Il peut au mieux définir la stratégie de prescription et d'interprétation des différents paramètres (actuels et futurs), stratégie affinée à la lumière des performances des marqueurs ou de leur combinaison. A l'ère des développements technologiques (puces à ADN, ARN, (immuno)protéomique) et des analyses de profil de réactivité (« multiplex »), il serait surprenant que l'on ne cerne pas d'autres marqueurs pertinents, facilitant encore la prise en charge, à la carte, des patients souffrant de PR. Alors dans cet avenir qui se précise de jour en jour, l'intérêt des dosages de FR sera-t-il confirmé ? Il n'est peut-être pas certain qu'on fêtera le centenaire de ce marqueur diagnostique dans nos laboratoires.



BIBLIOGRAPHIE

- (1) ULVESTAD E, KANESTROM A, MADLAND TM, THOMASSEN E, HAGA HJ, Clinical utility of diagnostic tests for rheumatoid factor. *Scand. J. Rheumatol.*, 2001, 30, 87-91.
- (2) VASILIAUSKIENE L, WIJK A, HOIER-MADSEN M., Prevalence and clinical significance of antikeratin antibodies and other serological markers in Lithuanian patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2001, 60, 459-466.
- (3) SARAUX A, VALLS I, VOISIN V, KOREICHI A, BARON D, YOUINOU P. *et al.*, How useful are tests for rheumatoid factors, antiperinuclear factors, antikeratin antibody, and the HLA DR4 antigen for the diagnosis of rheumatoid arthritis? *Rev. Rhum. Engl. Ed.*, 1995, 62, 16-20.
- (4) CORDONNIER C, MEYER O, PALAZZO E, DE BANDT M, ELIAS A, NICAISE P, *et al.*, Diagnostic value of anti-RA33 antibody, antikeratin antibody, antiperinuclear factor and antinuclear antibody in early rheumatoid arthritis: comparison with rheumatoid factor. *Br. J. Rheumatol.*, 1996, 35, 620-624.
- (5) GOLDBACH-MANSKY R, LEE J, MCCOY A, HOXWORTH J, YARBORO C, SMOLLEN JS, *et al.*, Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res.*, 2000, 2, 236-243 Epub 2000 Mar 31.
- (6) SARAUX A, BERTHELOT JM, CHALES G, LE HENAFF C, MARY JY, THOREL JB, *et al.* Value of laboratory tests in early prediction of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2002, 47, 155-165.
- (7) NIENHUIS RL, MANDEMA E, a New Serum Factor in Patients with Rheumatoid Arthritis : the Antiperinuclear Factor (Apf), *Ned. Tijdschr Geneesk.*, 1965, 109, 1173-1174.
- (8) MALLYA RK, YOUNG BJ, PEPYS MB, HAMBLINTJ, MACE BE, HAMILTON EB, Antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis : frequency and correlation with other features of the disease. *Clin. Exp. Immunol.*, 1983, 51, 17-20.
- (9) VINCENT C., DE KEYSER F, MASSON-BESSIERE C., SEBBAG M., VEYS EM, SERRE G., Anti-perinuclear factor compared with the so called "antikeratin" antibodies and antibodies to human epidermis filaggrin, in the diagnosis of arthritides. *Ann. Rheum. Dis.*, 1999, 58, 42-48.
- (10) NIELEN MM, VAN DER HORST AR, VAN SCHAARDENBURG D, VAN DER HORST-BRUIJNSMA IE, VAN DE STADT, RJ, AARDEN L., *et al.*, Antibodies to Citrullinated Human Fibrinogen (Acf) Have Diagnostic and Prognostic Value in Early Arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64;1199-1204
- (11) DEJACO C., KLOTZ W., LARCHER H., DUFTNER C., SCHIRMER M., HEROLD, M., Diagnostic value of antibodies against a modified citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2006, 8(4), R119.
- (12) SCHELLEKENS GA, DE JONG BA, VAN DEN HOOGEN FH, VAN DE PUTTE LB, VAN VENROOIJ WJ, Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J. Clin. Invest.*, 1998, 101, 273-281.
- (13) SCHELLEKENS, GA, VISSER H., DE JONG BA, VAN DEN HOOGEN FH, HAZES, JM, BREEDVELD FC, *et al.*, The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum.*, 2000, 43, 155-163.
- (14) AVOUAC J., GOSSEC L., DOUGADOS M., Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann. Rheum. Dis.*, 2006, 65, 845-851 Epub 2006 Apr 10.
- (15) ARNETT FC, EDWORTHY SM, BLOCH DA, MCSHANE DJ, FRIES JF, COOPER, NS *et al.* The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 1988, 31, 315-324.
- (16) VISSER H, LE CESSIE S., VOS K., BREEDVELD FC, HAZES JM, How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2002, 46, 357-365.
- (17) RIEDEMANN JP, MUNOZ S, KAVANAUGH A. The use of second generation anti-CCP antibody (anti-CCP2) testing in rheumatoid arthritis—a systematic review. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2005, 23, S69-76.
- (18) VANDER CRUYSSSEN 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.*, 2006, 8, R122.
- (19) COENEN D, VERSCHUEREN P, WESTHOVENS R, BOSSUYT X., Technical and diagnostic performance of 6 assays for the measurement of citrullinated protein/peptide antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin. Chem.*, 2007, 53, 498-504.
- (20) DUBUCQUOI S., Diagnostic biologique de la polyarthrite rhumatoïde : Anticorps anti-protéines et peptides citrullinés : la saga continue, *Revue Française des Laboratoires*, 2006, 384 bis, 47-51.
- (21) GORONZY JJ, MATTESON EL, FULBRIGHT JW, WARRINGTON KJ, CHANG-MILLER A, HUNTER GG, *et al.*, Prognostic markers of radiographic progression in early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2004, 50, 43-54.
- (22) VANDER CRUYSSSEN B, PEENE I, CANTAERT T, HOFFMAN IE, DE RYCKE L, VEYS EM, *et al.*, Anti-citrullinated protein/peptide antibodies (ACPA) in rheumatoid arthritis: specificity and relation with rheumatoid factor. *Autoimmun. Rev.*, 2005, 4, 468-474.
- (23) VAN DER HELM-VAN MIL AH, VERPOORT KN, LE CESSIE S, HUIZINGA TW, DE VRIES RR, TOES RE., The HLA-DRB1 shared epitope alleles differ in the interaction with smoking and predisposition to antibodies to cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum*, 2007, 56, 425-432.
- (24) VAN DER HELM-VAN MIL AH, VERPOORT KN, BREEDVELD FC, HUIZINGA TW, TOES RE, DE VRIES RR, The HLA-DRB1 shared epitope alleles are primarily a risk factor for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and are not an independent risk factor for development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2006, 54, 1117-1121.
- (25) JANSEN LM, VAN SCHAARDENBURG D, VAN DER HORST-BRUIJNSMA I, VAN DER STADT RJ, DE KONING MH, DIJKMANS BA, The predictive value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in early arthritis. *J. Rheumatol.*, 2003, 30, 1691-1695.
- (26) FORSLIND K, AHLMEN M., EBERHARDT K, HAFSTROM I, SVENSSON B, Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann. Rheum. Dis.*, 2004, 63, 1090-1095.
- (27) LINDQVIST E., EBERHARDT K., BENDTZEN K., HEINEGARD D., SAXNE, T., Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2005, 64, 196-201.
- (28) KALTENHAUSER S., PIERER M., ARNOLD S., KAMPRAZ M., BAERWALD C., HANTZSCHEL H., *et al.*, Antibodies against cyclic citrullinated peptide are associated with the DRB1 shared epitope and predict joint erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 2006, 25, 2007;46(1), 100-104.
- (29) AOTSUKA, S., OKAWA-TAKATSUJI M., NAGATANI K., NAGASHIO C., KANO T., NAKAJIMA K., *et al.*, A retrospective study of the fluctuation in serum levels of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.*, 2005, 23, 475-81.
- (30) ATZENI F, SARZI-PUTTINI P, DELL'ACQUA D, DE PORTU S, CECCHINI G, CRUINI C., *et al.*, Adalimumab clinical efficacy is associated with rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody titer reduction: a one-year prospective study. *Arthritis Res Ther.*, 2005, 8, R3.
- (31) CHEN HA, LIN KC, CHEN CH, LIAO HT, WANG HP, CHANG HN, *et al.*, The effect of etanercept on anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2006, 65, 35-39. Epub 2005 Jun 23.
- (32) ALESSANDRI C, BOMBARDIERI M, PAPA N, CINQUINI M, MAGRINI L, TINCANI A, *et al.*, Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti-TNFalpha therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement. *Ann. Rheum. Dis.*, 2004, 63, 1218-1221.
- (33) BRAUN-MOSCOVICI Y, MARKOVITS D, ZINDER O, SCHAPIRA D, ROZIN A, EHRENBURG M, *et al.*, Anti-cyclic citrullinated protein antibodies as a predictor of response to anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 2006, 33, 497-500.
- (34) LEQUERRET, GAUTHIER-JAUNEAU AC, BANSARD C., DERAMBURE C., HIRON M., VITTECOQ O., *et al.*, Gene profiling in white blood cells predicts infliximab responsiveness in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2006, 8, R105.