

Η χρήση των αντικυκλικών κιτρουλλινικών αντισωμάτων στην πρώιμη διάγνωση, πρόγνωση, εξέλιξη και παρακολούθηση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας

Π. ΚΩΝΣΤΑΝΤΟΠΟΥΛΟΥ
Ν. ΕΥΑΓΓΕΛΑΤΟΣ
Λ. ΠΑΝΤΑΖΗ
Γ. ΒΑΪΟΠΟΥΛΟΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι αυτοάνοση συστηματική φλεγμονώδης νόσος με συχνότητα εμφάνισης, διεθνώς, περίπου 1%¹. Σε πολύ πρώιμα στάδια της νόσου, τα κλινικά συμπτώματα μπορεί να είναι είτε πολύ ήπια, είτε να μην έχουν πλήρως εκδηλωθεί, οπότε η χρήση των κριτηρίων ταξινόμησης του Αμερικανικού Κολεγίου Ρευματολογίας (ACR) του 1987² για τη ΡΑ δε βοηθά στη διάγνωση της νόσου^{3,4}. Στις περιπτώσεις αυτές, θα ήταν χρήσιμος ένας ειδικός και ευαίσθητος ορολογικός δείκτης, ο οποίος να μπορεί να προβλέπει την εμφάνιση της ΡΑ αλλά και τη διαβρωτική ή μη εξέλιξή της. Τα αντισώματα έναντι κιτρουλλινικών πρωτεϊνών (anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-CCP antibodies) έχουν υψηλή ειδικότητα (98%) για τη ΡΑ, προηγούνται της έναρξης των συμπτωμάτων και φαίνεται να παίζουν ρόλο στην παθογένεια της νόσου. Στην παρούσα ανασκόπηση αναλύονται οι δυνατότητες που προσφέρουν τα αντισώματα αυτά στη διάγνωση, πρόγνωση, εξέλιξη και παρακολούθηση της ΡΑ.

Ελληνική Ρευματολογία 2006,17(4):324-333

Όροι ευρετηρίου: anti-CCP αντισώματα, ρευματοειδής αρθρίτιδα, ορολογικός δείκτης.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ΡΑ είναι μια συστηματική πάθηση που χαρακτηρίζεται από χρόνια υμενίτιδα των αρθρώσεων και οδηγεί σε προοδευτική καταστροφή τους. Είναι, επομένως, επιτακτική η ανάγκη να βρεθεί ένας εργαστηριακός δείκτης υψηλής ειδικότητας, ικανός να θέτει τη διάγνωση της ΡΑ πριν την εμφάνιση της αρθρικής βλάβης. Ο μόνος ορολογικός δείκτης που συμπεριλαμβάνεται, μέχρι σήμερα, στα κριτήρια του

Α΄ Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Λαϊκό Νοσοκομείο

ACR είναι ο ρευματοειδής παράγοντας (ΡΠ), ο οποίος, παρότι ανιχνεύεται στην πλειοψηφία των ασθενών με ΡΑ, δεν είναι ειδικός για τη νόσο^{5,6}. Η πρώιμη εμφάνιση και η υψηλή ειδικότητα των αντικυκλικών κίτρουλλινικών πεπτιδικών αντισωμάτων τα καθιστούν εξαιρετικό δείκτη για τη διάγνωση και πρόγνωση της ΡΑ, όπως φαίνεται από τα μέχρι σήμερα υπάρχοντα δεδομένα.

Τα αντι - κυκλικά κίτρουλλινικά πεπτιδικά αντισώματα (anti-ccp)

Το παλαιότερο και ευρύτερα γνωστό ανιχνεύσιμο αυτοαντίσωμα για τη ΡΑ είναι ο ΡΠ (ρευματοειδής παράγων), ο οποίος κατευθύνεται στο Fc τμήμα της IgG ανοσοσφαιρίνης^{7,8}. Παρά το γεγονός ότι διάφοροι ισότυποι ανοσοσφαιρίνης (IgG, IgA, IgM) μπορεί να εμφανίζουν δραστηριότητα ΡΠ, συνήθως πιο εύκολα ανιχνεύσιμη είναι η IgM, η οποία και χρησιμοποιείται συχνότερα στη διαγνωστική πρακτική. Ο ΡΠ ανιχνεύεται μέχρι και στο 80% των ασθενών με ΡΑ, αλλά μπορεί να ανεβρεθεί και σε άλλες παθήσεις, όπως σε χρόνιες βακτηριακές λοιμώξεις, ιογενείς λοιμώξεις, παρασιτώσεις, χρόνιες φλεγμονώδεις ή κοκκιωματώδεις νόσους, μικτή κρουσφαιριναιμία, υπεργαμμασφαιριναιμική πορφύρα, καθώς και σε υγιή άτομα, κυρίως ηλικιωμένους (10-30%)^{9,10}. Πρόκειται, επομένως, για ένα δείκτη με υψηλή ευαισθησία αλλά με χαμηλή ειδικότητα.

Έχουν περιγραφεί διάφορα συστήματα αντισωμάτων θετικών σε ασθενείς με ΡΑ, που όμως λόγω έλλειψης ευαισθησίας ή ειδικότητας δε χρησιμοποιούνται διαγνωστικά¹¹. Αντίθετα, μεγάλο ενδιαφέρον έχουν τα αντισώματα που στρέφονται σε επιτόπους που περιέχουν κίτρουλλίνη στη δομή τους. Η κίτρουλλίνη είναι ένα αμινοξύ που φυσιολογικά δεν ενσωματώνεται στις πρωτεΐνες κατά τη διάρκεια της σύνθεσής τους, ωστόσο, μπορεί να παραχθεί μέσω της τροποποίησης της αργινίνης από το ένζυμο πεπτιδυλοαργινική διαμινάση (PAD)^{12,13}. Η μετατροπή της αργινίνης σε κίτρουλλίνη περιλαμβάνει την αντικατάσταση μιας ομάδας αμινών από ένα άτομο οξυγόνου στην πλευρική αλυσίδα του αμινοξέος και σχετίζεται με την απώλεια του θετικού του φορτίου (σε ουδέτερο pH). Αν και η

αλλαγή στη χημική δομή είναι σχετικά μικρή, η αντίδραση των αντισωμάτων με τους κίτρουλλινικούς επιτόπους βασίζεται στην κίτρουλλίνη¹⁴. Πέντε ένζυμα PADs (PAD1 - PAD4, PAD6), το καθένα με κατανομή σε συγκεκριμένο ιστό, μεσολαβούν για την κίτρουλλινοποίηση της αργινίνης, παρουσία επαρκούς συγκέντρωσης ιόντων ασβεστίου¹². PADs έχουν βρεθεί στα μονοκύτταρα (PAD4) και στα μακροφάγα (PAD2 και PAD4) του αρθρικού υγρού, υποδηλώνοντας ότι η ενεργοποίησή τους ενέχεται στην κίτρουλλινοποίηση των πρωτεϊνών του υμένα¹⁵. Όπως έχει φανεί, η κίτρουλλινοποίηση των πρωτεϊνών του υμένα είναι μια ενεργός διαδικασία κατά τη διάρκεια της φλεγμονής και διάφορες κίτρουλλινικές πρωτεΐνες, όπως η ινική, μπορούν να βρεθούν στον υμένα ασθενών με ΡΑ^{16,17,18}. Μαζί με τις κίτρουλλινικές πρωτεΐνες ανιχνεύονται και Β-λεμφοκύτταρα που εκκρίνουν αντι-κίτρουλλινικά αντισώματα στο αρθρικό υγρό και στον υμένα των ασθενών με ΡΑ, τα οποία, αντίθετα, δεν ανευρίσκονται στο περιφερικό αίμα των ασθενών ή στα υγιή άτομα^{19,20}.

Η ιστορία των αντι-κίτρουλλινικών αντισωμάτων ξεκίνησε πριν τέσσερις δεκαετίες, όταν περιγράφηκαν τα APF (anti-perinuclear factor) αντισώματα, καθώς και τα AKA (anti-keratin antibodies), τα οποία ανιχνεύονται στο ήμισυ των ασθενών με ΡΑ και έχουν υψηλή ειδικότητα για τη νόσο^{21,22}. Οι μέθοδοι αυτές περιλαμβάνουν δύσκολες τεχνικές ανοσοφθορισμού και δε χρησιμοποιούνται διαγνωστικά. Η ανακάλυψη ότι μια κίτρουλλινική πρωτεΐνη της επιδερμίδας, η φιλαγκρίνη (filaggrin), είναι το κοινό αντιγόνο των APF και AKA αντισωμάτων, οδήγησε στην ανάπτυξη νέων τεχνικών ανίχνευσης αντισωμάτων ειδικών για τη ΡΑ, χρησιμοποιώντας τη ως αντιγόνο²³⁻²⁵. Φάνηκε ότι η αντίδραση των αντισωμάτων με τη φιλαγκρίνη ήταν πλήρως εξαρτημένη από την παρουσία της κίτρουλλίνης στο αντιγόνο-στόχο^{14,26}. Χρησιμοποιώντας αυτή τη γνώση, έγινε προσπάθεια να βελτιωθεί η ευαισθησία των έναντι της φιλαγκρίνης αντισωμάτων (AFA) με τη χρήση in vitro της ανασυνδυασμένης κίτρουλλινικής φιλαγκρίνης ως αντιγόνο. Με τον τρόπο αυτό, τα AFA ανιχνεύονταν στο 60% των ασθενών με ΡΑ^{27,28},

αν και υπήρχαν προβλήματα στην τεχνική, όπως η δυσκολία παραγωγής φιλαγκρίνης με αναπαραγωγίσιμο κίτρουλλινικό περιεχόμενο και η τυποποίηση της μεθόδου. Επιπρόσθετα, η παρουσία φυσικών αυτοαντισωμάτων έναντι μη-κίτρουλλινικής φιλαγκρίνης, που ανιχνεύονταν στον ορό τόσο ασθενών με ΡΑ, όσο και υγιών ατόμων, οδήγούσε σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα²⁸.

Σημαντικό βήμα στην εξέλιξη της ανίχνευσης των αυτοαντισωμάτων απέτέλεσε η ανάπτυξη μιας ανοσοενζυμικής μεθόδου (ELISA), η οποία χρησιμοποιούσε συνθετικά κίτρουλλινικά πεπτιδία παραγόμενα από τη φιλαγκρίνη¹⁴. Η διαδικασία αυτή απλοποίησε την ανίχνευση αντι-κίτρουλλινικών πρωτεϊνικών αντισωμάτων και επέτρεψε την καλύτερη τιτλοποίησή τους. Επιπρόσθετα, η χρήση κυκλικών πεπτιδίων, στα οποία εκτίθενται οι επίτοποι που περιέχουν κίτρουλλίνη, κατέληξε σε αύξηση της ευαισθησίας της²⁹. Χρησιμοποιώντας αυτές τις πρώτης γενιάς CCP δοκιμασίες (CCP1), η ευαισθησία έφτασε στο 68% και η ειδικότητα για τη ΡΑ στο 97-98%. Οι μελέτες που χρησιμοποίησαν CCP1 δοκιμασίες ανασκοπήθηκαν από τους van Boekel και συν¹¹. Προκειμένου να βελτιωθεί η ευαισθησία, έγιναν πολλά screening που τελικά κατέληξαν στη δεύτερη γενιά CCP δοκιμασιών (CCP2), η οποία παρουσιάζει ευαισθησία συγκρινόμενη με αυτήν του ΡΠ (~80%), αλλά εμφανίζει υψηλότερη ειδικότητα (98%)⁵.

Η υψηλή ειδικότητα των anti-CCP μπορεί να είναι πολύτιμη στη διαφοροδιάγνωση της ΡΑ σε αρχικά στάδια από νοσήματα κλινικά παρόμοια με αυτήν και στα οποία συχνά είναι θετικός ο ΡΠ. Παραδείγματα τέτοιων καταστάσεων είναι ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος με διαβρωτική αρθρίτιδα και η αρθρίτιδα της ηπατίτιδας C^{30,31}. Σε δύο πρόσφατες μελέτες ασθενών με HCV-αρθρίτιδα, το 0% και το 7% είχαν θετικά anti-CCP αντισώματα, ενώ αντίστοιχα, το 38% και το 76% των ασθενών αυτών ήταν θετικοί για το ΡΠ^{32,33}.

Διαγνωστική και προγνωστική αξία των anti-CCP στη ρευματοειδή αρθρίτιδα

Τα anti-CCP ανευρίσκονται σε ποσοστό μικρό-

τερο του 1% στον υγιή πληθυσμό. Ωστόσο, όταν ελέγχθηκε ως προς την παρουσία anti-CCP τυχαίο δείγμα ατόμων που επισκέπτονταν μια ρευματολογική κλινική, περίπου 2-5% αυτών ήταν θετικοί για τα αντισώματα, αλλά δε φαίνονταν να είχαν ΡΑ³⁴. Δύο πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι αυτοί οι «ψευδώς θετικοί ασθενείς» βρίσκονται, στην πραγματικότητα, σε διαδικασία ανάπτυξης ΡΑ^{35,36}.

Από μεγάλο αριθμό εργασιών φάνηκε ότι η ευαισθησία των anti-CCP αντισωμάτων κυμαίνεται από 39-94%, η ειδικότητά τους από 89-98%, η θετική προγνωστική τους αξία από 71-91% και η αρνητική προγνωστική αξία τους από 79-96%^{28,29,37-66}. Σε όλες, σχεδόν, τις εργασίες μετρήθηκε και ο IgM ΡΠ και οι αντίστοιχοι αριθμοί ήταν για την ευαισθησία 25-95%, την ειδικότητα 31-95%, τη θετική προγνωστική αξία 74-89% και την αρνητική προγνωστική αξία 31-93%^{28,29,37-66}. Επιπρόσθετα, στις εργασίες που αφορούσαν σε ασθενείς με πρώιμη ΡΑ, αξιολογήθηκε η ικανότητα των ορολογικών δεικτών να προβλέπουν την εμφάνιση της νόσου^{51,60,61,67} και αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι η παρουσία των anti-CCP αντισωμάτων προβλέπει την εμφάνιση της ΡΑ με πιθανότητα 37,8 σε σύγκριση με 9,8 του ΡΠ⁶⁷. Η δε παρουσία και των δύο αντισωμάτων ταυτόχρονα έχει μεγαλύτερη αξία για την πρόβλεψη της εμφάνισης ΡΑ από ό,τι η παρουσία του καθενός ξεχωριστά^{51,60}.

Οι Rantapaa-Dahlqvist και συν.³⁵ ανέλυσαν δείγματα από 83 αιμοδοτές που ανέπτυξαν ΡΑ στη συνέχεια και βρήκαν ότι τα anti-CCP2 αντισώματα μπορούν να ανιχνευθούν σε μερικούς ασθενείς έως και δέκα χρόνια πριν από την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων. Το μέσο ποσοστό των θετικών για anti-CCP ασθενών ήταν 25% έως και ενάμιση χρόνο πριν από την έναρξη των πρώτων συμπτωμάτων, ποσοστό που αυξήθηκε σε 52% κατά τον τελευταίο ενάμιση χρόνο πριν την εκδήλωση της νόσου. Ο ΡΠ ανιχνευόταν επίσης στα προ της νόσου δείγματα, αλλά σε χαμηλότερη συχνότητα από τα anti-CCP. Σύμφωνα με την ίδια μελέτη, περισσότεροι από το 70% των ασθενών ήταν θετικοί για anti-CCP2 αντισώματα κατά την πρώτη τους επίσκεψη στη ρευματολογική κλινική.

Σε μια παρόμοια μελέτη, οι Nielsen και συν.³⁶ μέτρησαν anti-CCP1 και IgM-RP σε δείγματα 79 αιμοδοτών που αργότερα ανέπτυξαν ΡΑ. Τα anti-CCP αντισώματα ανιχνεύονταν μέχρι και 14 χρόνια πριν την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων, ενώ το 41% των ασθενών ήταν anti-CCP θετικό κατά την πρώτη τους επίσκεψη στο ρευματολόγο. Οι αντίστοιχες παράμετροι για τον IgM-RP ήταν 10 χρόνια και 28%. Οι συγγραφείς, βάσει των δεδομένων τους, υπολόγισαν ότι η πιθανότητα στο γενικό πληθυσμό για την εμφάνιση ΡΑ μέσα στα επόμενα 5 χρόνια ήταν 5,3% για αυτούς που είχαν anti-CCP, 1,9% για αυτούς που είχαν θετικό IgM RP και 100% για αυτούς που είχαν θετικά και τα δύο αντισώματα.

Ωστόσο, σε ένα ποσοστό ΡΑ ασθενών τα anti-CCP αντισώματα δεν προηγούνται της νόσου, γεγονός που σημαίνει είτε ότι η παρουσία τους δεν είναι υποχρεωτική για την ανάπτυξη της νόσου, είτε ότι οι παθογενετικοί μηχανισμοί στους anti-CCP αρνητικούς ασθενείς με ΡΑ είναι διαφορετικοί. Οι παρατηρήσεις αυτές εγείρουν το ερώτημα αν οι θετικοί για anti-CCP ασθενείς και οι αρνητικοί για anti-CCP ασθενείς είναι κλινικά διαφορετικές ομάδες. Πρόσφατα, οι van der Helen-van Mil και συν.⁶⁸ και οι van Gaalen και συν.⁶⁵ έδειξαν, σε δύο ανεξάρτητους πληθυσμούς Καυκάσιων, ότι ο κοινός επίτοπος που κωδικοποιεί τα HLA-DRB1 αλληλία σχετίζεται με τη ΡΑ στους ασθενείς με anti-CCP, αλλά όχι, όμως, και στους ασθενείς χωρίς αυτά τα αντισώματα. Προηγουμένως, σε πειραματικά πρότυπα ΡΑ σε ποντίκια, είχε δείχθει ότι η κιτροϋλινοποίηση της αργινίνης οδηγεί σε μεγαλύτερη συγγένεια (binding affinity) του παραγόμενου πεπτιδίου με το HLA-DRB*0401 (ενός σημαντικού αλληλίου του κοινού επιτόπου), επιτρέποντας την ειδική για το πεπτίδιο T-κυτταρική επαγωγή⁸². Βασιζόμενοι σε αυτό το δεδομένο, καθώς και σε δικά τους ευρήματα σε ασθενείς με ΡΑ, οι van Gaalen και συν.⁶⁵ υποστηρίζουν την υπόθεση ότι και στον άνθρωπο η κιτροϋλινοποίηση βελτιώνει την αντιγονοπαρουσία στα CD4(+) T-λεμφοκύτταρα και ότι το γενετικό υπόβαθρο (η παρουσία αλληλίων κοινού επιτόπου) παρέχει τη βάση στην κιτροϋλινο-ειδική

ανοσοαντίδραση. Επιπρόσθετα, σε δύο μελέτες παρατηρήθηκε μεγαλύτερη συσχέτιση μεταξύ των anti-CCP και του κοινού επιτόπου από ό,τι μεταξύ του RP κι αυτού, ενώ αντίθετα μια άλλη δεν είχε τα ίδια αποτελέσματα^{44,46,71}. Τα ευρήματα αυτά είναι σημαντικά, καθώς υποδηλώνουν ότι τα αλληλία δε φαίνεται να σχετίζονται γενικά με τη ΡΑ, αλλά μάλλον με ένα συγκεκριμένο φαινότυπο της νόσου.

Η χρησιμότητα των anti-CCP στην εξέλιξη και στην παρακολούθηση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας

Η σχέση μεταξύ των ορολογικών δεικτών και της ενεργότητας της ΡΑ απασχολεί σημαντικά τους ερευνητές. Σε μία μελέτη, δε βρέθηκε συσχέτιση της ενεργότητας με τον IgM RP ή με τα anti-CCP αντισώματα⁴⁴, ενώ σε άλλη διατυπώθηκε ότι υπήρχε ισχυρότερη συσχέτιση της ενεργότητας με τα anti-CCP συγκριτικά με τον IgM RP⁶⁴. Έχουν γίνει πολυάριθμες μελέτες για τη συσχέτιση των ορολογικών δεικτών και της ακτινολογικής εξέλιξης της ΡΑ, στις περισσότερες από τις οποίες βρέθηκε να είναι ισχυρότερη η σχέση των ακτινολογικών βλαβών με την παρουσία anti-CCP συγκριτικά με την παρουσία RP^{49,53,58,64,66,69}. Οι Forslind και συν.⁴⁹ μέτρησαν anti-CCP αντισώματα σε 379 ασθενείς με πρώιμη ΡΑ και εκτίμησαν την ακτινολογική βλάβη και την πρόοδο της νόσου μετά από δύο χρόνια παρακολούθησης. Φάνηκε ότι η παρουσία των anti-CCP συνδέεται ισχυρότερα με διαβρωτική νόσο απ' ό,τι η παρουσία του RP ή και άλλων παραμέτρων της νόσου. Σε πρόσφατη μελέτη των Berglin και συν.⁷⁰ φάνηκε ότι η παρουσία των anti-CCP πριν την έναρξη της νόσου συνδέεται με πιο σοβαρή ακτινολογική βλάβη κι ότι η βαρύτητα της νόσου σχετίζεται με τον τίτλο τους. Αντίθετα, μια άλλη μελέτη έδειξε ισχυρότερη τη συσχέτιση των ακτινολογικών βλαβών με το RP απ' ό,τι με τα anti-CCP⁵⁴. Ωστόσο, ενδιαφέρον είναι ότι εκτός από τις ακτινολογικά εμφανείς διαβρώσεις, τα anti-CCP είναι κριτήριο που μπορεί, μάλλον, να διαχωρίσει τη διαβρωτική από τη μη-διαβρωτική ΡΑ, τεκμηριώνοντας το σημαντικό ρόλο που μπορεί να παίξουν στην

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΤΑ ΑΝΤΙ-CCP ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΆΛΛΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (SCHUR PH. INT J OF ADVANCES IN RHEUMATOLOGY 2005)⁷³

Νόσος	Anti-CCP (+) άτομα	Βιβλιογραφική Αναφορά
Υγιή άτομα	25/3151 (0,79%)	29,33,35-38,40,44,48,59,63,64,71,74
Αγκυλοποιητική σπονδυλαρθρίτιδα	4/99 (4%)	44,55,60,71
Ινομυαλγία	1/10	55
Ηπατίτιδα C	1/177 έναντι 53/77 (30%) με ΡΠ (+)	33,37,50,57,75
Λοιμώδη νοσήματα	8/406 (2%) έναντι 46/366 (12,6%) με ΡΠ (+)	29
Φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου	2/10	60
Νεανική ιδιοπαθής αρθρίτιδα	41/529 (7,8%) έναντι 55/410 (13,4%) με ΡΠ (+)	38,52,55,74,76,77
Οστεοαρθρίτιδα	0/37	29,60
Παλίνδρομος ρευματισμός	18/33 (55%) έναντι 14/33 (42%) με ΡΠ (+)	78
Ρευματική πολυμυαλγία	0/49	57
Πολυμυοσίτιδα/ Δερματομυοσίτιδα	0/60	29
Ψωριασική αρθρίτιδα	22/190 (11,6%)	55,67,79
Αντιδραστική αρθρίτιδα	1/40 (2,5%) έναντι 4/40 (10%) ΡΠ (+)	29
Σαρκοείδωση	0/10	60
Σύνδρομο Sjogren	23/429 (5,4%) έναντι 149/307 (48,5%) ΡΠ (+)	29,44,48,63,71,80,81
Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος	11/397 (2,8%) έναντι 49/231 (21,2%) ΡΠ (+)	29,30,38,44,48,55, 60,63,71,74
Αδιαφοροποίητη νόσος του συνδετικού ιστού	30/282 (10,6%) έναντι 104/282 (36,9%) ΡΠ (+)	69
Αγγειίτιδες	1/30 έναντι 4/30 ΡΠ (+)	29

πρώιμη διάγνωση της νόσου³⁹.

Οι Kastbom και συν.⁵³ παρακολούθησαν για τρία χρόνια 242 ασθενείς με ΡΑ πρόσφατης έναρξης και τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι τα anti-CCP είχαν παρόμοια διαγνωστική ευαισθησία με το ΡΠ στην πρώιμη ΡΑ, αλλά υπερείχαν ως προγνωστικός δείκτης της εξέλιξης της νόσου κατά τη διάρκεια των τριών ετών.

Μια σειρά μελετών εξέτασαν την επίδραση της θεραπείας με anti-TNF παράγοντες στους ορολογικούς δείκτες και τα αποτελέσματά τους ήταν αντικρουόμενα. Σε κάποιες φάνηκε ότι με τη θεραπεία ελαττώνονται τα επίπεδα τόσο του ΡΠ όσο και των anti-CCP αντισωμάτων^{37,42}, ενώ

σε άλλες παρατηρήθηκε ελάττωση μόνο του ΡΠ⁴⁷ ή κανενός εκ των δύο αντισωμάτων⁴⁵. Σε πρόσφατη μελέτη των Chen και συν.⁷² για την επίδραση στα επίπεδα των anti-CCP και του ΡΠ, της ετανερσέπτης ως μονοθεραπείας ή σε συνδυασμό με άλλα τροποποιητικά της νόσου φάρμακα (DMARDs), φάνηκε ότι ο συνδυασμός των φαρμάκων οδηγεί σε μεγαλύτερη ελάττωση των επιπέδων, η οποία είναι συμβατή και με τη μείωση της ενεργότητας της νόσου.

Η παρουσία των anti-CCP στα άλλα νοσήματα

Στον πίνακα 1 αναφέρονται τα αποτελέσμα-

τα μελετών σχετικά με την παρουσία anti-CCP αντισωμάτων σε άλλα, εκτός της ΡΑ, νοσήματα, όπως αυτά συγκεντρώθηκαν από τον Schur⁷³. Φαίνεται ότι anti-CCP αντισώματα μπορούν να ανιχνευθούν και σε κάποιους ασθενείς με άλλα ρευματικά νοσήματα, όπως ο παλίνδρομος ρευματισμός, η ψωριασική αρθρίτιδα και η νεανική αρθρίτιδα, σε χαμηλούς, ωστόσο, τίτλους.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ανίχνευση των anti-CCP αντισωμάτων προσφέρει έναν ορολογικό δείκτη επιπρόσθετο στο ΡΠ, χρήσιμο για τη διάγνωση της ΡΑ. Η μέθοδος της αφορά σε μια εύκολα αναπαραγώγιμη και εκτελέσιμη ELISA, στοιχείο ιδιαίτερα σημαντικό για την ευρεία εργαστηριακή της χρήση.

Τα anti-CCP αντισώματα: α) έχουν υψηλή ειδικότητα για τη νόσο, β) είναι ικανά να διακρίνουν τη ΡΑ από τις άλλες αρθρίτιδες που τη μιμούνται, γ) ανιχνεύονται πολύ νωρίς κατά τη διάρκεια της νόσου και δ) είναι χρήσιμα στην πρόγνωση της νόσου. Σημαντικό είναι, επίσης, το γεγονός ότι προβλέπουν καλύτερα τη ΡΑ από το ΡΠ σε ασθενείς με πρώιμη αρθρίτιδα, σχετίζονται ισχυρότερα από ό,τι ο ΡΠ με βαρύτερη νόσο, όπως αυτή διαπιστώνεται από την ακτινολογική εξέλιξη των διαβρώσεων, ενώ επιπρόσθετα, μπορούν να διαχωρίσουν επαρκώς τη διαβρωτική από τη μη διαβρωτική μορφή της ΡΑ, τεκμηριώνοντας το σημαντικό τους ρόλο στην πρώιμη διάγνωση της νόσου.

Ο συνδυασμός θετικών anti-CCP με θετικό ΡΠ παρέχει υψηλή προγνωστική αξία για την εμφάνιση ΡΑ τόσο σε άτομα υψηλού κινδύνου, όσο και στο γενικό πληθυσμό και θα πρέπει να ενθαρρύνει το ρευματολόγο για την άμεση χορήγηση DMARDs στην πρώιμη ΡΑ. Ως επακόλουθο, μπορεί να ελαττωθεί σημαντικά ο χρόνος ανάμεσα στην πρώτη επίσκεψη στο ρευματολόγο και στην απόφαση για έναρξη ανοσοτροποποιητικής παρέμβασης έχοντας ως αποτέλεσμα οι αρθρικές διαβρώσεις να ανασταλούν ήδη από τα πολύ αρχικά τους στάδια.

Είναι απαραίτητες, ωστόσο, οι μελέτες με μεγα-

λύτερες ομάδες ασθενών ώστε να επιβεβαιωθούν αυτά τα δεδομένα και ενδεχομένως να τεκμηριωθούν περαιτέρω συσχετίσεις που μπορεί να είναι χρήσιμες για το διαχωρισμό κλινικών υποομάδων μεταξύ των ασθενών με ΡΑ. Τα συμπεράσματα που θα εξαχθούν μπορεί να χρησιμεύσουν μελλοντικά στο σχεδιασμό καλύτερων θεραπευτικών στρατηγικών.

ABSTRACT

The use of anti-CCP antibody system for early diagnosis, prognosis and monitoring of rheumatoid arthritis

P. Kontantopoulou, N. Evagelatos, L. Pantazi, G. Vaiopoulos

1st Dept of Internal Medicine, University of Athens, "Laikon" General Hospital

Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic inflammatory autoimmune disease of unknown cause with a worldwide prevalence of about 1%. The American College of Rheumatology classification criteria for RA (1987) are not helpful in predicting disease's initiation or diagnosing RA at an early sub-clinical stage, so that, it is essential for a specific and sensitive serological marker, which may be present very early in the course of the disease, to be found. An adequate marker should indicate not only the disease's clinical progression, but also predict its erosive or non-erosive course.

Antibodies to citrullinated proteins (anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-CCP antibodies) are highly specific for RA (98%) and precede the onset of its clinical manifestations, indicating possibly a pathogenetic role for these antibodies in RA. This review will discuss the value of anti-CCP antibodies in the diagnosis, prognosis and monitoring of RA.

Hellenic Rheumatology 2006;17(4):324-333

Key words: anti-CCP antibodies, rheumatoid arthritis, serological marker.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Rheumatoid arthritis. *Cell* 1996; 85:307-10.
2. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31:315-24.
3. Kaarela K, Kauppi MJ, Lehtinen KE. The value of the ACR 1987 criteria in very early rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1995; 24:279-81.
4. Saraux A, Berthelot JM, Chales G et al. Ability of the American College of Rheumatology 1987 criteria to predict rheumatoid arthritis in patients with early arthritis and classification of these patients two years later. *Arthritis Rheum* 2001; 44:2485-91.
5. 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; 60:383-8.
6. Lisse JR. Does rheumatoid factor always mean arthritis? *Postgrad Med* 1993; 94:133-4,139.
7. Waaler E. On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1940; 17:172-188.
8. Mageed RA. The RF antigen. In: van Vevrooij WJ, Maini RN editors. *Manual of Biological Markers of Disease*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1996; 1-27.
9. Anderson RJ. Rheumatoid Arthritis: Clinical and Laboratory Features. In: *Primer on the Rheumatic Diseases*. Klippel JH, Crofford LJ, Weyand CM (eds). Atlanta, Georgia, 2001; 218-25.
10. Palosuo T, Tilvis R, Strandberg T, Aho K. Filaggrin related antibodies among the aged. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:261-3.
11. van Boekel MA, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, van Venrooij WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res* 2002; 4:87-93.
12. Vossenaar ER, Zendman AJW, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: Genes, features and involvement in disease. *Bioessays* 2003; 25:1106-18.
13. Steiner G, Smolen JS. Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance. *Arthritis Res* 2002; 4 Suppl 2:S1-5.
14. 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; 101:273-81.
15. Vossenaar ER, Radstake TR, van der Heijden A, van Mansum MA, Dieteren C, de Rooij DJ, Barrera P, Zendman AJ, van Venrooij WJ. Expression and activity of citrullinating peptidylarginine deiminase enzymes in monocytes and macrophages. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:373-81.
16. Vossenar ER, Smeets TJ, Kraan MC, Raats JM, van Venrooij WJ, Tak PP. The presence of citrullinated proteins is not specific for rheumatoid synovial tissue. *Arthritis Rheum* 2004; 50:3485-94.
17. Chapuy-Regand S, Sebbag M, Baeten D, Clavel C, Foulgier C, De Keyser F, Serre G. Fibrin deimination in synovial tissue is not specific for rheumatoid arthritis but commonly occurs during synovitides. *J Immunol* 2005; 174:5057-64.
18. Masson-Bessiere C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, Serre G. The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the α - and β - chains of fibrin. *J Immunol* 2001; 166:4177-84.
19. Reparon-Schuijt C, van Esch WJ, van Kooten C, Schellekens GA, de Jong BA, van Venrooij WJ, Breedveld FC, Verweij CL. Secretion of anti-citrulline containing peptide antibody by B lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44:41-7.
20. Mason-Bessiere C, Sebbag M, Durieux JJ, Nogueira L, Vincent C, Girbal-Neuhauser E, Durroux R, Cantagrel A, Serre G. In the rheumatoid pannus, antifilaggrin autoantibodies are produced by local plasma cells and constitute a higher proportion of IgG than in synovial fluid and serum. *Clin Exp Immunol* 2000; 119:544-52.
21. Nienhuis RLF, Mandema EA. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1964; 23:302-5.
22. Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ, Hamblin TJ. Antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J* 1979; 2:97-9.
23. Sebbag M, Simon M, Vincent C et al. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1995; 95:2672-9.
24. Hoet RM, Boerbooms AM, Areds M, Ruiters DJ, van Venrooij WJ. Antiperinuclear factor, a marker

- autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann Rheum Dis* 1991; 50:611-8.
25. Nogueira L, Sebbag M, Vincent C et al. Performance of two ELISAs for antifilaggrin autoantibodies, using either affinity purified or deiminated recombinant human filaggrin, in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001; 60:882-7.
 26. Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Arnaud M et al. The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are post-translationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol* 1999; 162:585-94.
 27. Vincent C, Nogueira L, Sebbag M et al. Detection of antibodies to deiminated recombinant rat filaggrin by enzyme-linked immunosorbent assay: a highly effective test for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46:2051-8.
 28. Vittecoq O, Incauragarat B, Jouen-Beades F et al. Autoantibodies recognising citrullinated rat filaggrin in an ELISA using citrullinated and non-citrullinated recombinant proteins as antigens are highly diagnostic for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2004; 135:173-80.
 29. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43:155-63.
 30. Mediwake R, Isenberg DA, Schellekens GA, van Venrooij WJ. Use of anti-citrullinated peptide and anti-RA33 antibodies in distinguishing erosive arthritis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001; 60:67-8.
 31. Olivieri I, Palazzi C, Padula A. Hepatitis C virus and arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2003; 29:111-22.
 32. Bombardieri M, Alessandri C, Labbadia G et al. Role of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in discriminating patients with rheumatoid arthritis from patients with chronic hepatitis C infection-associated polyarticular involvement. *Arthritis Res Ther* 2004; 6:R137-R141.
 33. Wener MH, Hutchinson K, Morishima C et al. Absence of antibodies to cyclic citrullinated peptide in sera of patients with hepatitis C virus infection and cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 2004; 50:2305-8.
 34. Pruijn GJM, Vossenaar ER, Drijfhout JW, van Venrooij WJ, Zendman JW. Anti-CCP antibody detection facilitates early diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Current Rheum Rev* 2005; 1:1-7.
 35. Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E et al. Antibodies against citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48(10):2741-9.
 36. Nielen MMJ, van Schaardenburg D, Reesink HWR et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004; 50:380-6.
 37. Alessandri C, Bombardieri M, Papa N et al. Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti-TNF α therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1218-21.
 38. Avcin T, Cimaz R, Falcini F et al. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:608-611.
 39. Bas S, Perneger TV, Seitz M et al. Diagnostic tests for rheumatoid arthritis: comparison of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-keratin antibodies and IgM rheumatoid factors. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41:809-14.
 40. Bas S, Genevay S, Meyer O et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2003; 42:677-80.
 41. Bizarro N, Mazzani G, Tonutti et al. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2001; 47:1089-93.
 42. Cambridge G, Leandro MJ, Edwards JCW et al. Serologic changes following B lymphocyte depletion therapy for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48:2146-54.
 43. Caponi L, Petit-Teixeira E, Sebbag M et al. A family based study shows no association between rheumatoid arthritis and the PAD14 gene in a white French population. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:587-93.
 44. Correa PA, Tobon GJ, Citera G et al. Anti-cyclic

- citrullinated antibodies in rheumatoid arthritis: relation with clinical features, cytokines and HLA-DRB1. *Biomedica* 2004; 24:140-152.
45. Caramaschi P, Biasi D, Tonolli E et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptides in patients affected by rheumatoid arthritis before and after infliximab treatment. *Rheumatol Int* 2005; 26(1):58-62.
 46. de Rycke L, Peene I, Hoffman IEA et al. Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1587-93.
 47. de Rycke L, Verhelst X, Kruithof E et al. Rheumatoid factor, but not anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, is modulated by infliximab treatment in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:299-302.
 48. Dubucquoi S, Solau-Gervais E, Lefranc D et al. Evaluation of anti-citrullinated filaggrin antibodies as hallmarks for the diagnosis of rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:415-9.
 49. Forslind K, Ahlmen M, Eberhardt K, Hafstrom I, Svensson B. Prediction of radiological outcome in early RA in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1090-5.
 50. Girelli F, Foschi FG, Bedeschi E et al. Is anti-citrullinated peptide a useful laboratory test for the diagnosis of rheumatoid arthritis? *Allerg Immunol (Paris)* 2004; 36:127-130.
 51. Jansen AL, van der Horst-Bruinsma I, van Scaardenburg D et al. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptide differentiate rheumatoid arthritis from undifferentiated polyarthritis in patients with early arthritis. *J Rheumatol* 2002; 29:2074-6.
 52. Kasapcopur O, Altun S, Aslan M et al. Diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1687-9.
 53. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during three years in early rheumatoid arthritis (the TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1085-9.
 54. Kroot EJ, de Jong BA, van Leeuwen MA et al. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43:1831-5.
 55. Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:870-4.
 56. Lindqvist E, Eberhardt K, Bendtzen K, Heinegard D, Saxne T. Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(2):196-201.
 57. Lopez-Hoyos M, de Alergeria CR, Blanco R et al. Clinical utility of anti-CCP antibodies in the differential diagnosis of elderly onset rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Rheumatology* 2004; 43:655-7.
 58. Meyer O, Labarre C, Dougados M et al. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:120-6.
 59. Pinheiro GC, Scheinberg MA, da Silva MA. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in advanced rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 2003; 139:234-5.
 60. Rasa K, Breese M, Nightingale P et al. Predictive value of antibodies to cyclic citrullinated peptide in patients with very early inflammatory arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32:231-8.
 61. Saroux A, Berthelot JM, Devauchelle V et al. Value of antibodies to citrulline-containing peptides for diagnosing early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:2535-9.
 62. Suzuki K, Sawada T, Murakami A et al. High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Scan J Rheumatol* 2003; 32:197-204.
 63. Tampoia M, Brescia V, Fontana A et al. Anti cyclic citrullinated peptide autoantibodies measured by an automated enzyme immunoassay: analytical performance and clinical correlations. *Clin Chim Acta* 2005; 355:137-144.
 64. Vallbracht I, Rieber J, Oppermann M, Forger F, Siebert U, Helmke K. Diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1079-84.
 65. van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TW et al. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCP) affects severity of rheumatoid arthritis.

- Arthritis Rheum 2004; 50:2113-21.
66. Vencovsky J, Machacek S, Sedova L et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:427-30.
 67. 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. *Arthritis Rheum* 2004; 50:709-15.
 68. 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* 2005; 7(5):R949-R958.
 69. Jansen LM, van Schaardenburg D, van der Horst-Bruinsma HL, van de Stadt RJ, de Koning MHM, Dijkmans BA. The predictive value of anti-cyclic citrullinated Peptide antibodies in early arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:1691-5.
 70. Berglin E, Johanson T, Sundin U et al. Radiological outcome in rheumatoid arthritis is predicted by presence of antibodies against cyclic citrullinated peptide before and at disease onset and by IgA-RF at disease onset. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(4):453-8.
 71. Zeng X, Ai M, Tian X et al. Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:1451-5.
 72. Chen HA, Lin KC, Chen CH 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(1):35-9.
 73. Schur PH. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies: diagnostic, predictive and monitoring value in rheumatoid arthritis. *Int J of Advances in Rheumatology* 2005; 3(3):77-83.
 74. Low JM, Chauhan AK, Kietz DA et al. Determination of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in the sera of patients with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2004; 31:1829-33.
 75. Lienesch D, Morris R, Metzger A. et al. Absence of cyclic citrullinated peptide antibody in monoarthritic patients with chronic hepatitis C infection. *J Rheumatol* 2005; 31:489-93.
 76. Hromadnikova I, Stechova K, Pavla V et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Autoimmunity* 2002; 35:397-401.
 77. van Rossum M, van Soesbergen R, de Kort S et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (Anti-CCP) antibodies in children with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:825-8.
 78. Salvador G, Gomez A, Vinas O et al. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide and antikeratin antibodies in palindromic rheumatism. An abortive form of rheumatoid arthritis? *Rheumatology* 2003; 42:972-5.
 79. Boglio L, Alpini C, Caporali R et al. Antibodies to cyclic citrullinated peptides in psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32:511-5.
 80. Gottenberg J-E, Mignot S, Nicaise-Roland P et al. Prevalence of anti-cyclic citrullinated peptide and anti-keratin antibodies in patients with primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:114-7.
 81. van Noord C, Hooijkaas H, Dufour-van den Goorbergh BCM et al. Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies to detect rheumatoid arthritis in patients with Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:160-2.
 82. 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 molecule. *J Immunol* 2003; 171:538-41.