



Jean-Jacques PERRIER\*

# Le dosage des anticorps anti-protéines citrullinées : intérêt pour le diagnostic et le pronostic de la polyarthrite rhumatoïde

D'après les interventions des Professeurs Xavier LE LOËT<sup>1</sup> et Olivier VITTECOQ<sup>2</sup> lors de l'atelier « Dosage des anticorps anti-CCP dans le cadre de la polyarthrite rhumatoïde : intérêt diagnostique et pronostique » organisé par la société ABBOTT le 3 novembre 2005 dans le cadre du Café scientifique des Journées Internationales de Biologie.

## RÉSUMÉ

Il est désormais démontré qu'un traitement de fond instauré durant les six premiers mois de la polyarthrite rhumatoïde peut prévenir ou limiter la destruction articulaire caractéristique de cette grave pathologie. Les outils permettant le diagnostic précoce de ce rhumatisme présentent donc un intérêt majeur. C'est le cas des tests Elisa de seconde génération destinés au dosage des auto-anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP2). D'apparition relativement récente ces tests se distinguent notamment par leur grande spécificité et constituent un bon outil prédictif de l'évolution de la maladie. Un sujet en pleine évolution, qui bouleverse déjà la prise en charge des malades.

## I - La polyarthrite rhumatoïde : définition, fréquence et enjeux

Avec 90 nouveaux cas annuels par million d'habitants en France, la polyarthrite rhumatoïde (PR) est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques de l'adulte. Elle se caractérise par une inflammation du tissu synovial, responsable d'articulations gonflées et douloureuses, et qui peut conduire à une destruction irréversible du tissu osseux et cartilagineux des articulations. Elle peut survenir à tout âge, mais elle est surtout fréquente après 50 ans.

Au total, elle touchait en France, en 2001, 0,3 % de la population adulte (150 000 personnes), dont trois fois plus de femmes que d'hommes (1), sans que l'on en comprenne la raison. Ses répercussions fonctionnelles, sociales et économiques sont majeures : avant le début de l'ère des biothérapies (anticorps anti-cytokines, en 2000-2001), on estimait que 50 % des patients devaient cesser leur activité professionnelle au bout de cinq ans, tandis que le coût du traitement par patient et par an atteignait 2 300 à 4 500 euros.



Xavier LE-LOËT et Olivier VITTECOQ

### 1. Contrôler l'« activité » de la pathologie

Parallèlement au traitement symptomatique de la PR (antalgiques, anti-inflammatoires non stéroïdiens, cortisone), le traitement de fond de la maladie vise à freiner son évolution et ses conséquences pour les malades. Il repose essentiellement sur des médicaments anti-inflammatoires (anti-inflammatoires non stéroïdiens et corticoïdes) et immunomodulateurs (salazopyrine, méthotrexate,

<sup>1,2</sup> Service de Rhumatologie, Unité Inserm 519 et Institut fédératif de recherche multidisciplinaire sur les peptides (IFR 23), Centre Hospitalier Universitaire de Rouen - Hôpitaux de Rouen, Hôpital de Bois-Guillaume, 76031 Rouen cedex - Tél. : 02 32 88 90 19 - E-Mail : xavier.le-loet@chu-rouen.fr - olivier.vittecoq@chu-rouen.fr

\* Journaliste scientifique

## Le dosage des anticorps anti-protéines citrullinées : intérêt pour le diagnostic et le pronostic de la polyarthrite rhumatoïde

leflunomide, plus récemment biothérapies à base d'inhibiteurs du TNF-alpha, tels que l'étanercept, l'infliximab et l'adalimumab, ou d'inhibiteur de l'interleukine-1). Or, on sait depuis quelques années que ce traitement de fond doit être le plus précoce possible pour contrôler l'« activité » de la maladie, c'est-à-dire l'inflammation et freiner voire stopper la destruction des articulations.

En effet, des travaux publiés en 2001 par une équipe du centre médical de l'université de Leyde (Pays-Bas) ont démontré que l'on réduit les chances de contrôler l'atteinte structurale au niveau articulaire si l'on diffère le traitement (2). Au bout de deux ans, l'atteinte structurale mesurée chez 109 patients par contrôle radiographique des mains, des poignets et des pieds (selon le score dit de Sharp) était trois fois plus importante quand le traitement avait été reporté (médiane de 123 jours) que lorsque le traitement avait été instauré précocement (médiane de 15 jours). La « fenêtre de tir » d'un traitement efficace correspond donc aux premiers mois de la maladie, c'est-à-dire à l'expression des premiers symptômes.

### 2. Adapter le traitement à l'activité de la maladie

Ce traitement de fond précoce doit être adapté à l'activité de la maladie, propre à chaque patient. Cliniquement, cette activité est évaluée grâce à un « score d'activité de la maladie », le DAS 28 (Disease Activity Score), qui est calculé à partir de l'examen clinique de 28 articulations selon la formule suivante (3) :

$$\text{DAS 28} = (0,56 \times \sqrt{\text{nombre d'articulations douloureuses sur 28}}) + (0,28 \times \sqrt{\text{nombre d'articulations gonflées sur 28}}) + (0,70 \times \ln(\text{vitesse de sédimentation})) + (0,014 \times \text{indice d'évaluation de la maladie par le patient}).$$

La valeur de cet indice constitue un guide de pratique clinique quotidienne qui permet de classer la maladie selon son activité :

- DAS > 5,1 très active ;
- 3,2 < DAS ≤ 5,1 moyennement active ;
- 2,6 ≤ DAS ≤ 3,2 peu active ;
- DAS < 2,6 en rémission.

### 3. Personnaliser le traitement selon le pronostic structural

Le traitement de fond doit être également adapté au pronostic relatif à l'atteinte future des articulations. Actuellement, la prédiction se fonde sur trois grands types d'indicateurs : l'atteinte radiologique initiale, l'intensité du syndrome inflammatoire que mesurent la vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS) et le taux de protéine C réactive (CRP) et, enfin, la présence de facteur rhumatoïde. On arrive ainsi à prédire correctement le risque de destruction articulaire chez 80 % des patients environ.

En cas de risque avéré, il est logique de prescrire un traitement de fond incisif. Un travail récent d'un groupe de la Société française de rhumatologie (SFR) a montré que le méthotrexate et le leflunomide constituent les deux médicaments de choix en cas d'activité modérée ou forte de la maladie et d'érosion articulaire dans une polyarthrite rhumatoïde débutante (4).

## II - La place des auto-anticorps en pratique clinique

Un traitement de fond précoce suppose que le diagnostic soit lui-même réalisé le plus tôt possible. Celui-ci repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques. Parmi ces derniers, outre les signes d'inflammation articulaire - augmentation de la VS et de la CRP - la détection d'auto-anticorps est, on va le voir, un critère de plus en plus utilisé.

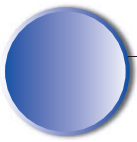
### 1. Courbes ROC et caractéristiques des tests utilisés

Il faut garder en mémoire deux notions préalables importantes pour le diagnostic par auto-anticorps. Tout d'abord, quatre paramètres caractérisent tous les marqueurs biologiques : leur sensibilité (nombre de tests positifs chez les sujets malades), leur spécificité (nombre de tests négatifs chez les sujets non malades), leur valeur prédictive positive (VPP, probabilité de la maladie en cas de test positif), et leur valeur prédictive négative (VPN, probabilité d'absence de la maladie chez les sujets en cas de test négatif).

Deuxième notion importante : très souvent, les valeurs des taux d'anticorps ne suivent pas une distribution gaussienne. Aussi, pour déterminer de façon fiable le seuil de positivité d'un test, fait-on appel aux courbes ROC (Receiver Operator Characteristic). Ces courbes, qui indiquent le taux de vrais positifs en fonction de la proportion de faux positifs pour une gamme de valeurs seuils, offrent le meilleur compromis entre sensibilité et spécificité. Pour utiliser ces tests, il faut en outre tenir compte des données épidémiologiques et notamment de la prévalence de la maladie dans la population générale voire dans une consultation de rhumatismes inflammatoires. Ainsi, dans une consultation spécialisée de rhumatologie, un patient présentant un rhumatisme débutant, caractérisé par l'existence d'au moins 2 articulations gonflées, a un risque de 20 à 30 % d'être atteint de PR. Cette probabilité « prétest » est une valeur prédictive qui, bien entendu, augmentera avec les examens qui suivront (probabilité post-test).

### 2. Les principaux facteurs utilisables pour diagnostiquer la PR

Ce sont d'une part les facteurs rhumatoïdes (FR), c'est-à-dire des auto-anticorps IgA, IgG ou IgM,

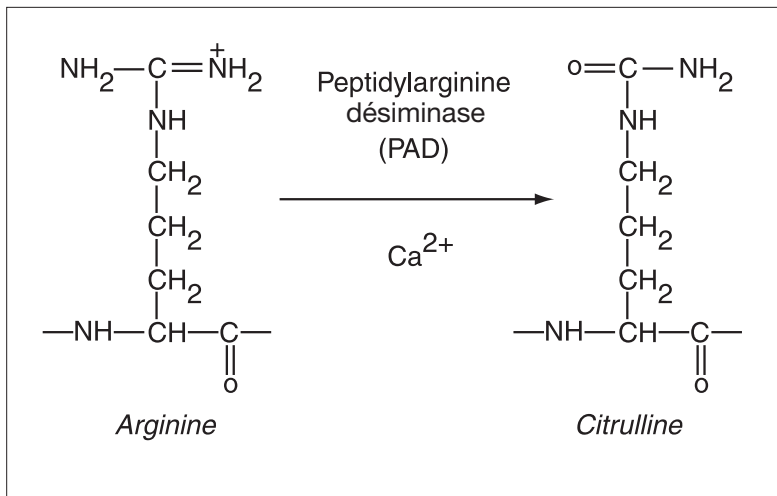


dirigés contre la partie Fc des IgG, d'autre part des anticorps dirigés contre des protéines citrullinées : ce sont notamment les anticorps anti-CCP (anti cyclic citrullinated peptides, antipeptides cycliques citrullinés), appelés anciennement anticorps anti-filaggrine.

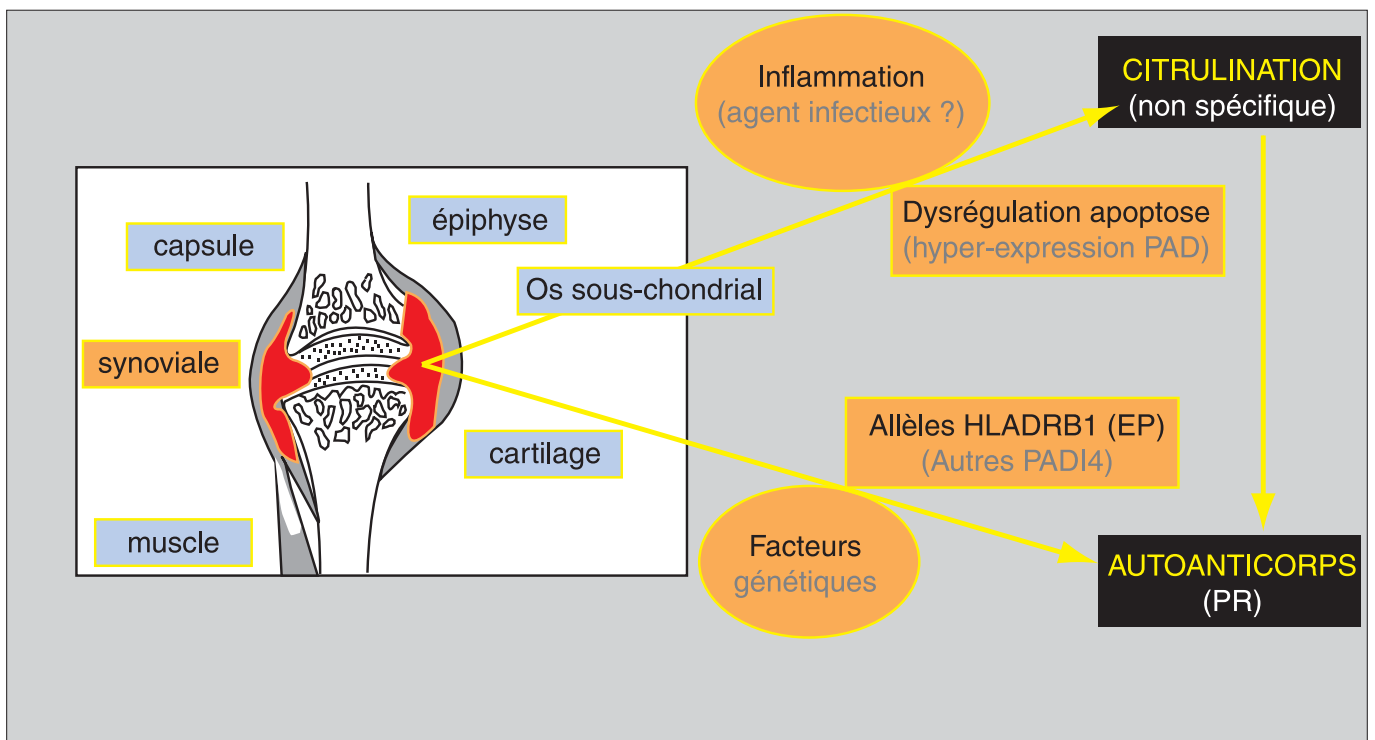
## 2.1 - Les facteurs rhumatoïdes (FR)

Ils sont détectables par différentes méthodes :  
 - **Les techniques d'agglutination** : réaction au latex, test de Waaler Rose, et la néphélogétrie, techniques standardisées détectant les FR de classe IgM ;  
 - **La méthode Elisa (Enzyme Linked Immuno**

**Figure 1**  
 La citrullination est un processus médié par les peptidyl-arginine désiminases (PAD).



**Figure 2**  
 Les auto-anticorps anti-protéines citrullinées caractéristiques de la PR. EP : épitope partagé ; PAD14 ; isoforme 4 de la peptidyl-arginine désiminase.



**Sorbent Assay, test d'immuno-absorption enzymatique**) : elle présente l'avantage de détecter les trois isotypes de FR (IgA, IgG, IgM) mais elle n'est pas standardisée.

On a observé que la positivité à plusieurs tests, synonyme de détection de plusieurs isotypes de FR, est spécifique de la PR.

## 2.2 - Les anticorps anti-protéines citrullinées

Produits dans l'articulation, au sein de la synoviale rhumatoïde, ces anticorps reconnaissent des épitopes « citrullinés » qui apparaissent sur diverses protéines (filaggrine, fibrine, etc.) du tissu synovial inflammatoire par suite de la transformation de leurs résidus arginyl en résidus citrullyl. Cette « désimination » de protéines, fréquemment qualifiée de « citrullination », est une modification post-traductionnelle catalysée par une famille d'enzymes, les peptidyl-arginine désiminases (PAD) (figure 1).

La citrullination n'est pas spécifique de la PR mais se retrouve dans bon nombre de rhumatismes inflammatoires. En effet, elle est médiée par l'inflammation. En revanche, comme l'a montré le groupe de Gerard Schellekens et Walther J. van Venrooij (Université de Nimègue, Pays-Bas) en 1998 (5), la production d'auto-anticorps dirigés contre des protéines citrullinées est tout à fait spécifique de la PR. Cette production est la résultante d'une part de la citrullination de protéines, due à l'inflammation, d'autre part de la présence d'autres facteurs dont certains seraient génétiques ; on sait en effet qu'il existe un lien très étroit entre la production d'anticorps anti-CCP et les allèles HLA associés à un risque élevé de PR (haplotypes HLA-DR1 et DR4, notamment allèles HLA-DRB1\*0401, DRB1\*0404,

## Le dosage des anticorps anti-protéines citrullinées : intérêt pour le diagnostic et le pronostic de la polyarthrite rhumatoïde

DRB1\*0101) ; de plus des polymorphismes génétiques des enzymes PAD ou des récepteurs de cytokines (TNF-alpha) interviennent probablement dans la susceptibilité à la maladie (figure 2).

Il existe en fait plusieurs types d'auto-anticorps dirigés contre des séquences protéiques citrullinées : les anticorps anti-facteur périmoléculaire (APF), les anticorps anti-kératine (AKA), les anticorps anti-Sa/vimentine citrullinée, les anti-collagènes citrullinés, les anti-alpha-énolase citrullinée, et les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP, pour « anti-cyclic citrullinated peptides »). Ces derniers sont détectables dès les premiers symptômes de la PR, voire même des années avant. Leur détection présente une sensibilité supérieure à celle des autres auto-anticorps - proche de 80 %, contre 50 % en moyenne pour les AKA, ce qui signifie que 20 % des malades ne produisent pas d'anticorps anti-CCP - et surtout une haute spécificité (98 %) pour la PR.

### 2.3 - Méthodes de détection des anticorps anti-protéines citrullinées

La première méthode de détection, apparue dans les années 1960, était appliquée à des cellules de muqueuse buccale. Elle visait à détecter par immunofluorescence indirecte (IFI) les granules de kératohyaline de ces cellules, mais elle s'est révélée impossible à standardiser et à appliquer en pratique de ville. A la fin des années 1970, l'application de l'IFI sur des coupes du tiers moyen de l'œsophage de rat a permis le développement d'un test inscrit à la nomenclature et ayant bien diffusé en biologie clinique de ville.

Cependant, les stratégies actuelles s'appuient sur la détection, par la méthode immuno-enzymatique Elisa des auto-anticorps dirigés contre des protéines citrullinées (filaggrine, fibrine, etc.) : plus précisément, contre des fragments particuliers de ces protéines, les peptides citrullinés. D'un kit commercial à un autre, les résultats du test sont très variables. Ils varient en effet selon la nature du substrat antigénique (filaggrine entière citrullinée ou peptides), sa pureté, le procédé de fixation de l'antigène, le degré de dilution du sérum appliqué sur la plaque, etc.

### 2.4 - Les méthodes de détection des anticorps anti-CCP

En fait, seuls les kits à base de peptides citrullinés permettent une reconnaissance spécifique. Dans cette optique, en 1999, l'équipe de Walther J. van Venrooij a synthétisé plusieurs peptides dérivés d'une séquence d'acides aminés particulière de la filaggrine humaine (séquence 306-324) et possédant des degrés de citrullination différents. Un peptide cyclique a alors été sélectionné pour produire un test Elisa anti-CCP de première génération (CCP1) (6). Ce test, doté d'une sensibilité de 68 % (pour une PR de plus de deux ans) et d'une spécificité de 95 %, a ensuite été commercialisé par la société Euro-Diagnostica (Arnhem, Pays-Bas) sous le nom d'ImmunoScan RA (voir tableaux I et II).

**Tableau I**

Les différents kits diagnostiques anti-CCP actuellement disponibles en pratique

Test	Fournisseur
• ImmunoScan RA1 anti-CCP1 et RA2 anti-CCP2	Euro-diagnostica (Arnhem, Pays-Bas)
• Diastat anti-CCP2	Axis-Shield (Dundee, Royaume-Uni)
• Quanta Lite	Inova Diagnostics (San Diego, Etats-Unis)
• Elia CCP	Pharmacia Diagnostics (Uppsala, Suède)
• EDRA/CPA*	Genesis Diagnostics/bioMérieux
• Un test anti-CCP2 sera commercialisé par Abbott au printemps 2006	Abbott Diagnostic

\*Le test EDRA/CPA de bioMérieux utilise des peptides citrullinés non cycliques

KIT	Polyarthrite rhumatoïde avérée		Polyarthrite rhumatoïde récente	
	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
ImmunoScan RA1 anti-CCP1	68	98	41	96-98
Diastat anti-CCP2	67	99	52,8	ND
ImmunoScan RA2 anti-CCP2	82	96-98	52,8	ND
Quanta Lite anti-CCP2	?	?	58,5	ND

**Tableau II**

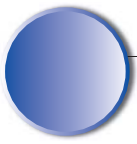
Performances diagnostiques de différents kits Elisa CCP1/CCP2. ND : non déterminé.

En 2002, sont apparus des tests Elisa de deuxième génération (CCP2) qui comprenaient non plus un mais plusieurs peptides citrullinés.

## III - L'intérêt diagnostique des auto-anticorps anti-CCP

Les anti-CCP2 ne sont pas pathognomoniques de la PR : ils peuvent être détectés dans d'autres pathologies, dont deux relativement fréquentes mais d'interprétation relativement difficile, d'autant qu'elles peuvent être associées à la PR : le syndrome de Gougerot-Sjögren primitif et le rhumatisme psoriasique. Des anti-CCP2 sont détectés respectivement dans 3 à 7,5 % des cas, et dans 5 à 15 % des cas.

En revanche, une forte concentration d'anti-CCP (c'est-à-dire un seuil de 50 unités au minimum) est très spécifique de la PR. Il existe de plus une forte corrélation des anti-CCP avec les facteurs rhumatoïdes : quand le test de détection des auto-anticorps est positif, la détection de FR est positive dans 65 à 85 % des cas. Ainsi, la détection des anticorps anti-CCP se révèle-t-elle très complémentaire de la mesure des facteurs rhumatoïdes pour le diagnostic de la PR.



## 1. Que prescrire en pratique ?

Face à un rhumatisme débutant (moins de trois mois, ayant au moins 2 articulations gonflées), la probabilité « prétest » d'être en présence d'une PR est de 30 % ; celles d'une spondylarthropathie est de 10-20 %, d'un rhumatisme inflammatoire indifférencié de 20-30 %.

En pratique, face à un rhumatisme débutant sans signe d'orientation clinique, le médecin est en droit de prescrire la détection à la fois des FR et des auto-anticorps anti-CCP (figure 3). Comme le montre le tableau III, les anticorps anti-kératine (AKA) ont une sensibilité deux fois inférieure (28 %) à celle des anti-CCP. La positivité conjointe des FR et des anti-CCP donne une spécificité et une valeur prédictive positive proches l'une comme l'autre de 100 %. Cette double positivité est donc synonyme d'un diagnostic quasi certain de PR (7, 8, 9).

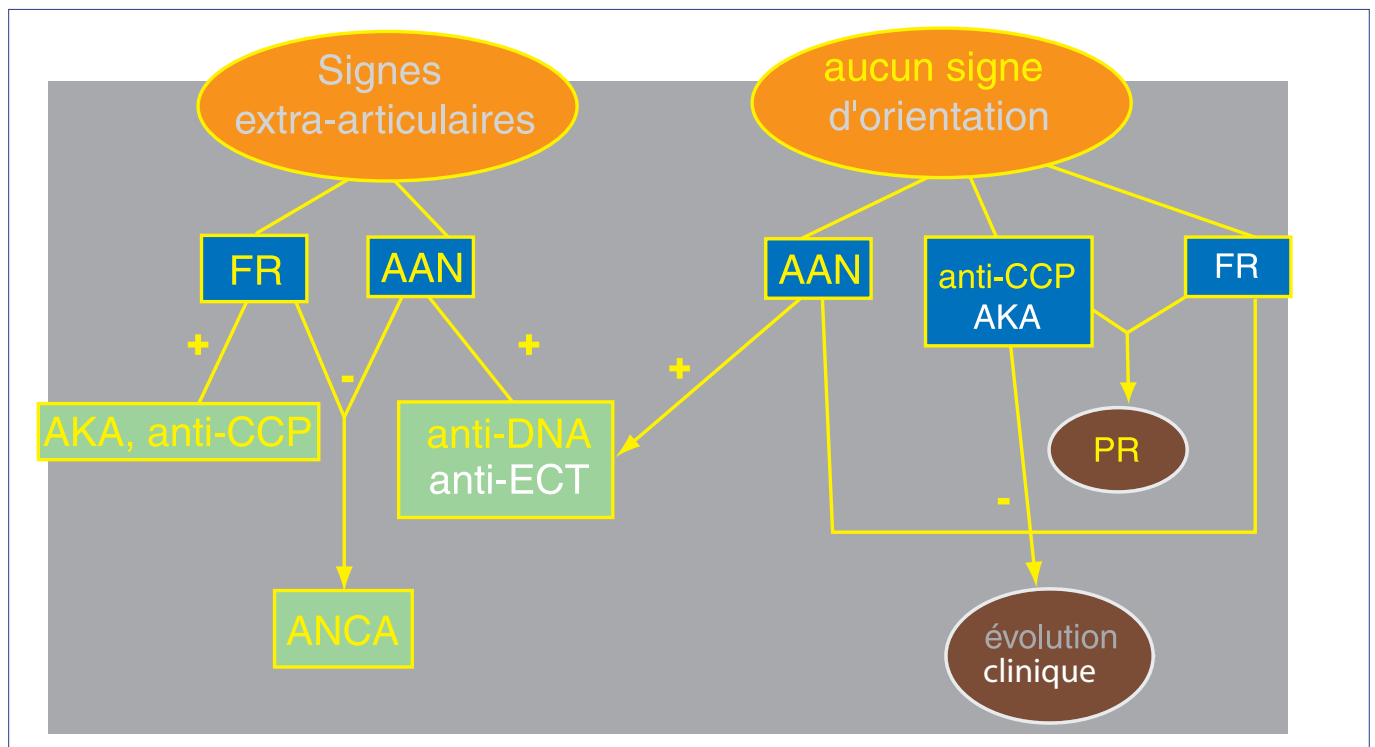
**Figure 3**

Quels auto-anticorps prescrire face à une polyarthrite débutante en pratique ? FR : facteurs rhumatoïdes, AAN : anticorps anti-nucléaires, Anti-CCP : anti-peptides cycliques citrullinés.

de la synoviale rhumatoïde avait une sensibilité de 70 %, tout en présentant une forte spécificité pour la PR (10).

## IV - La valeur pronostique des anticorps anti-CCP

Le pronostic de la sévérité de la PR s'appuie sur l'analyse de l'atteinte structurale, c'est-à-dire la présence ou non d'un pincement ou d'une érosion articulaire, et de son degré. L'objectif est de prédire si l'évolution d'une PR débutante conduira ou non au développement d'érosions articulaires au bout de deux, trois ou cinq ans. Plusieurs études ont établi le bien-fondé de cette perspective.



## 2. L'avenir du diagnostic de la PR

A l'avenir, des tests multiparamétriques reposant sur des algorithmes diagnostiques impliquant au moins 10 antigènes seront probablement disponibles. Par ailleurs, les puces à protéines devraient connaître un développement important dans le diagnostic de la PR en permettant d'établir des profils antigéniques différents. Récemment, une équipe de la Stanford University School of Medicine (Stanford, Californie) a ainsi montré qu'un microarray comprenant 225 peptides et protéines représentatifs des antigènes connus ou potentiels

### 1. Anti-CCP vs facteurs rhumatoïdes ?

La première étude a été réalisée en 2000 par deux équipes de l'université de Nimègue et de l'université de Groningue (Pays-Bas) (11). Elle a démontré que, chez des sujets atteints d'une PR depuis moins d'un an, les anticorps anti-CCP1 sont associés à une évolution vers une atteinte structurale marquée au bout de six ans, mais que la valeur prédictive de ce critère est moindre que celle d'un facteur rhumatoïde IgM.

En 2005, le groupe d'Elisabet Lindqvist (Département de rhumatologie, hôpital universitaire de



## Le dosage des anticorps anti-protéines citrullinées : intérêt pour le diagnostic et le pronostic de la polyarthrite rhumatoïde

**Tableau III**

Paramètres des principaux tests anti-flaggrine d'après les résultats d'études prospectives longitudinales sur 3 cohortes de malades. ND : non déterminé.

1 - D'après GA SCHELLEKENS et al., voir (6)

2 - D'après R. GOLDBACH-MANSKY et al., *Arthritis Res.*, 2000, 2(3), 236-243.

3 - Résultats de la cohorte VerA (Very early inflammatory Arthritis) voir (16)

	Sensibilité	Spécificité	Valeur prédictive positive	Valeur prédictive négative
<b>Facteurs rhumatoïdes</b>				
1	54	91	74	81
2	66	87	80	76
3	35	92	92	34
<b>AKA</b>				
1	ND	ND	ND	ND
2	26	84	56	58
3	23	96	95	31
<b>Anti-CCP</b>				
1	48	96	84	81
2	41	91	78	66
3	39	95	96	35
<b>Facteurs rhumatoïdes et anti-CCP</b>				
1	39	98	91	78
2	50	96	90	70
3	30	100	100	34

Lund, Suède) a mis en évidence quatre paramètres pronostiques de l'atteinte structurale : la vitesse de sédimentation des érythrocytes, la production de FR de classe IgA, le taux sérique de la protéine COMP (cartilage oligomeric matrix protein), et les anti-CCP sont associés à une atteinte structurale marquée au bout de 5 ans ; seuls le taux de protéine C réactive (CRP) et le taux d'anti-CCP prédisent bien une atteinte sévère à long terme, au bout de 10 ans (12).

Une autre étude suédoise, l'étude Barfot (Better anti-rheumatic pharmacotherapy), avait confirmé l'année précédente la valeur prédictive des anticorps anti-CCP2 pour l'atteinte structurale et son aggravation en montrant que cette valeur était indépendante des autres facteurs prédictifs (13).

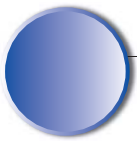
Enfin, les travaux de chercheurs de l'Institut de rhumatologie de Prague (République tchèque) ont permis de conclure que la combinaison de la détection des anticorps anti-CCP et du dosage des facteurs rhumatoïdes de type IgM est la plus précise pour établir un pronostic structural (14). Parmi 104 patients atteints de PR, 83 % de ceux qui souffraient d'au moins une érosion articulaire et 76 % de ceux dont l'atteinte structurale s'aggravait présentaient des taux d'anti-CCP et d'IgM significatifs.

## 2. Que faire en face d'un rhumatisme inflammatoire débutant ?

Deux études prospectives ont permis de préciser si le dosage des anticorps anti-CCP peut être utile pour prédire une éventuelle atteinte structurale chez un patient atteint depuis moins de trois mois d'un rhumatisme articulaire.

En 2002, une étude du Centre médical de l'université de Leyde a construit un modèle prédictif de la persistance du rhumatisme inflammatoire et de l'apparition d'érosions osseuses deux ans après le début des symptômes (15). Le modèle était fondé sur l'analyse de sept variables : durée des symptômes lors de la première visite, raideur matinale (« dérouillage ») supérieure ou non à une heure, présence d'arthrite dans au moins trois articulations, douleur bilatérale au niveau des articulations métatarsophalangiennes (MTP), détection d'un facteur rhumatoïde, existence d'auto-anticorps anti-CCP, et présence d'érosions osseuses aux mains ou aux pieds. L'étude a montré que le modèle permettait de discriminer les patients « persistants érosifs » des patients « persistants non érosifs », c'est-à-dire les patients atteints de PR de ceux qui sont affectés par un rhumatisme articulaire.

Le deuxième étude prospective, à laquelle nous avons



participé avec les services et Collèges de rhumatologie de Rouen, d'Amiens et du Havre, l'étude Haute-Normandie-Amiens, a évalué à 0, 3, et 6 mois, puis tous les 6 mois pendant deux ans, une population de 310 adultes (cohorte VErA) présentant initialement au moins deux articulations gonflées pendant au moins quatre semaines, depuis moins de six mois. Cette étude a confirmé l'association entre l'existence d'au moins une érosion osseuse au bout de deux ans et la présence d'anti-CCP2 ou de différents facteurs rhumatoïdes (IgM, IgA). La mesure des anticorps anti-CCP et de ces facteurs rhumatoïdes apparaît donc bien de nature à prédire l'apparition d'érosions dues à la polyarthrite rhumatoïde chez des patients atteints d'un rhumatisme articulaire.

## V - Conclusion

Les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés peuvent être détectés très tôt chez des patients présentant un rhumatisme débutant. Malgré une sensibilité moyenne et variable selon les tests, ils constituent des marqueurs sérologiques très spécifiques de la polyarthrite rhumatoïde, et fournissent un bon pronostic du risque d'érosion articulaire. Associée à celle des facteurs rhumatoïdes, leur détection permet d'instaurer précocement un traitement de fond « agressif » et de réduire les répercussions de cette grave maladie.

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) GUILLEMIN F., et al., *Ann. Rheum. Dis.* 2005, 64(10), 1427-1430.
- (2) LARD LR, et al., Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies, *Am. J. Med.*, 2001, 111(6), 446-451.
- (3) VAN GESTEL AM, HAAGSMA CJ, VAN RIEL PLCM, Validation of rheumatoid arthritis improvement criteria that include simplified joint counts, *Arthritis Rheum.*, 1998, 41, 1845-1850.
- (4) LE LOET X., et al., Clinical practice decision tree for the choice of the first disease-modifying antirheumatic drug for very early rheumatoid arthritis: a 2004 proposal of the French Society of Rheumatology, *Ann. Rheum. Dis.*, June 2005.
- (5) SCHELLEKENS GA., et al., Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies, *J. Clin. Invest.*, 1998, 101(1), 273-281.
- (6) SCHELLEKENS GA., et al., The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide, *Arthritis Rheum.*, 2001, 43(1), 155-163.
- (7) BAS S., et al., Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis, *Rheumatology (Oxford)*, 2003, 42(5), 677-680.
- (8) JANSEN AL., 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(10), 2074-2076.
- (9) RAZA K., et al., Predictive value of antibodies to cyclic citrullinated peptide in patients with very early inflammatory arthritis, *J. Rheumatol.*, 2005, 32(2), 231-238.
- (10) HUEBER W., et al., Antigen microarray profiling of autoantibodies in rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum.*, 2005, 52(9), 2645-2655.
- (11) KROOT EJ., et al., The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum.*, 2000, 43(8), 1831-1835.
- (12) LINDQVIST E., et al., Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis, *Ann. Rheum. Dis.*, 2005, 64(2), 196-201.
- (13) FORSLIND K., et al., Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP), *Ann. Rheum. Dis.*, 2004, 63(9), 1090-1095.
- (14) VENCOSKY J., et al., Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis, *Ann. Rheum. Dis.*, 2003, 62(5), 427-430.
- (15) VISSER H., et al., How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis, *Arthritis Rheum.*, 2002, 46(2), 357-365.
- (16) VITTECOQ O, et al., Auto antibodies recognizing citrullinated rat flagrin 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.