

ΑΦΙΕΡΩΜΑ ΣΤΟΝ ΕΛΕΥΘΕΡΟΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΑ ΙΑΤΡΟ

Τα αντι-κιτρουλλινικά αντισώματα (αντι-CCP) στη ρευματοειδή αρθρίτιδα

Κλινικοεργαστηριακός και παθογενετικός ρόλος

*Σειρά άρθρων αφιερωμένα στον κλινικό ιατρό
για τη χρησιμότητα και την αξιοπιστία των ανοσολογικών εξετάσεων*



**ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ - ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ:
ΙΩΑΝΝΗΣ ΡΟΥΤΣΙΑΣ**

Μικροβιολόγος - Ανοσολόγος
Λέκτορας Παν/μίου Αθηνών

2. Αντι-κιτρουλλινικά αντισώματα

Ι. ΡΟΥΤΣΙΑΣ, ΔΗΜ. ΓΟΥΛΕΣ, Π. ΒΟΥΛΓΑΡΗ

¹Υπεύθυνος ανοσολογικού ΕΚΠΑ,

²Ρευματολόγος, Επιστ. Συνεργάτης ΕΚΠΑ,

³Αν. Καθηγήτρια Ρευματολογίας, Ιωάννινα

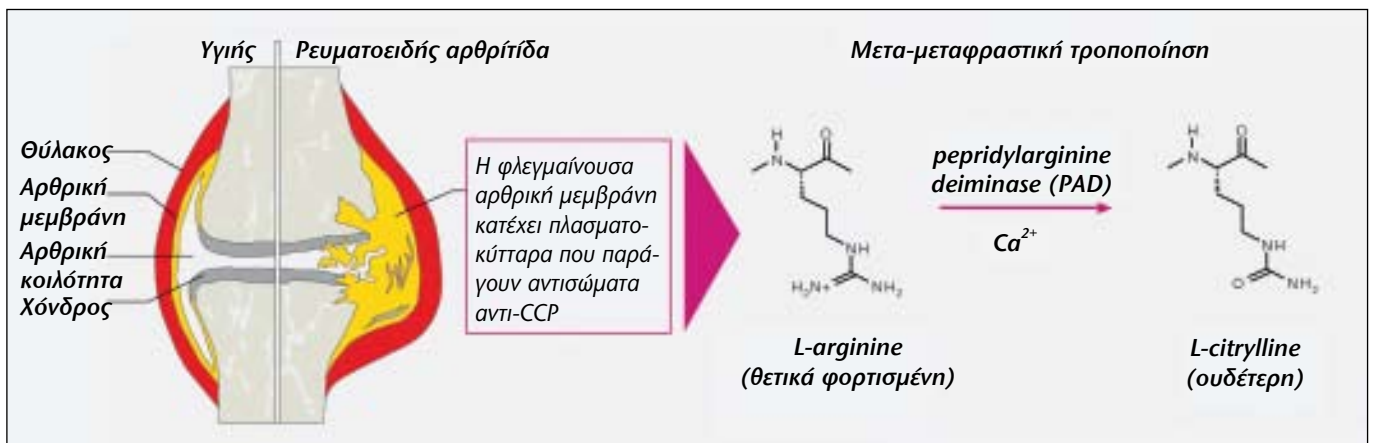
Το πιο ειδικό και ευαίσθητο διαγνωστικό τεστ για την Ρευματοειδή Αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι η ανίχνευση των αντι-κιτρουλλινικών αντισωμάτων (anti-citrullinated protein antibodies, ACPA). Τα αντισώματα αυτά αναγνωρίζουν κυρίως τις κιτρουλλινοποιημένες πρωτεΐνες φιλαγγρίνη, κερατίνη, φιβρίνη, βιμεντίνη και το κολλαγόνο και ανιχνεύονται στο εργαστήριο μέσω μιγμάτων κυκλικών κιτρουλλινοποιημένων πεπτιδίων (cyclic citrullinated peptides, CCP). Τα αντι-CCP αντισώματα εμφανίζονται αρκετά έτη πριν από την έναρξη της κλινικής συμπτωματολογίας στη ΡΑ και έχουν μεγαλύτερη διαγνωστική αξία από τον Ρευματοειδή Παράγοντα (ΡΠ), τον αντιπεριπυρηνικό παράγοντα (ΑΡΡ) και τα αντικερατινικά αντισώματα (ΑΚΑ). Επίσης συσχετίζονται θετικά με την βαρύτητα της νόσου και το Larsen score. Ακόμα, τα αντι-CCP αντισώματα συσχετίζονται ισχυρά με το κάπνισμα και τον κοινό (ρευματοειδή) επίτοπο της ΡΑ.

Λέξεις κλειδιά: ACPA, αντι-CCP, αντι-κιτρουλλινικά αντισώματα, ρευματοειδής επίτοπος, ρευματοειδής αρθρίτιδα

Με τον όρο κιτρουλλινοποίηση (ή κιτρουλλινώση) μιας πρωτεΐνης ή ενός πεπτιδίου εννοούμε τη μετατροπή των καταλοίπων αργινίνης σε κατάλοιπα κιτρουλλίνης. Το φαινόμενο αυτό γίνεται με τη βοήθεια ενός ειδικού ενζύμου της peptidylarginine deiminase (PAD), λαμβάνει χώρα ενδοκυττάρια ως μετα-μεταφραστικός μηχανισμός,

προσδίδοντας στο πρωτεϊνικό μόριο νέο-ανιγονικές ιδιότητες (Εικόνα 1). Λαμβάνει χώρα κάτω από συνθήκες φλεγμονής, απόπτωσης ή κερατινοποίησης των κυττάρων.

Στη Ρευματοειδή Αρθρίτιδα έχουν βρεθεί αντισώματα εναντίον κιτρουλλινοποιημένων πρωτεϊνών και πεπτιδίων. Τα αντισώματα αυτά λέγονται ACPA (anti-citrullinated



Εικόνα 1. Τα ACPA παράγονται τοπικά στην άρθρωση και στοχεύουν την μετα-μεταφραστικά τροποποιημένη αργινίνη.

protein antibodies) και αντι-CCP (anti-cyclic citrullinated peptide antibodies)⁵ και φαίνεται ότι είναι «ειδικά» για τη νόσο. Τα αντισώματα αυτά αναγνωρίζουν κυρίως την κιτρουλινοποιημένη πρωτεΐνη φιλαγγρίνη, μια πρωτεΐνη που αφθονεί στο δέρμα και τον οργανισμό. Άλλα κιτρουλινοποιημένα (ή κιτρουλλινωμένα) πρωτεϊνικά μόρια, που υφίστανται δηλαδή κιτρουλλινοποίηση, είναι η κερατίνη, η φιβρίνη, η βιμεντίνη και το κολλαγόνο.

Ο ρευματοειδής παράγων (ΡΠ), αν και ανιχνεύεται σε μεγάλο ποσοστό ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ) και περιλαμβάνεται στα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου, δεν είναι ειδικός γι' αυτή και έτσι έγιναν προσπάθειες εξεύρεσης ενός νέου αυτοαντισώματος με μεγαλύτερη ειδικότητα για τη ΡΑ. Αρχικά χρησιμοποιήθηκαν οι μέθοδοι ανίχνευσης του αντιπεριπυρηνικού παράγοντα και των αντικεραιτικών αντισωμάτων (που αναγνωρίζουν παρόμοιο επίτοπο της κιτρουλινοποιημένης πρωτεΐνης φιλαγγρίνης), οι οποίες παρά τον αρχικό ενθουσιασμό, δεν καθιερώθηκαν για την εργαστηριακή επιβεβαίωση της ΡΑ.

Η πρωτεΐνη φιλαγγρίνη, η οποία βρίσκεται σε αφθονία στο δέρμα και στον οργανισμό (αλλά όχι στις αρθρώσεις), έχει την ιδιότητα να δρα ως αυτοαντιγόνο στους ασθενείς με ΡΑ. Η αντιγονικότητα του μορίου εξαρτάται από την κιτρουλλινοποίηση της πρωτεΐνης αυτής, δηλαδή τη μετατροπή της αργινίνης σε κιτρουλλίνη, από το ένζυμο PAD (peptidyl arginine deiminase, από-ιμινάση πεπτιδυλ-αργινίνης). Το ένζυμο αυτό, ενώ είναι ανενεργό ενδοκυττάρια, ενεργοποιείται με τη παρουσία ιόντων Ca^{++} . Τέτοια αθρόα εισροή ιόντων Ca^{++} συμβαίνει σε νέκρωση και κυτταρικό θάνατο, ενώ η διαφυγή του ενζύμου PAD από κύτταρα που υφίστανται νέκρωση έχει ενοχοποιηθεί για την κιτρουλλινοποίηση εξωκυττάρων πρωτεϊνών.

Γενικώς, η κιτρουλλινοποίηση είναι διεργασία που παρατηρείται στην κερατινοποίηση ή την απόπτωση των κυττάρων, την φλεγμονή και σε διάφορες παθήσεις όπως η ΡΑ, η ψωριασική αρθρίτιδα, η σκλήρυνση κατά πλάκας, κ.λπ.

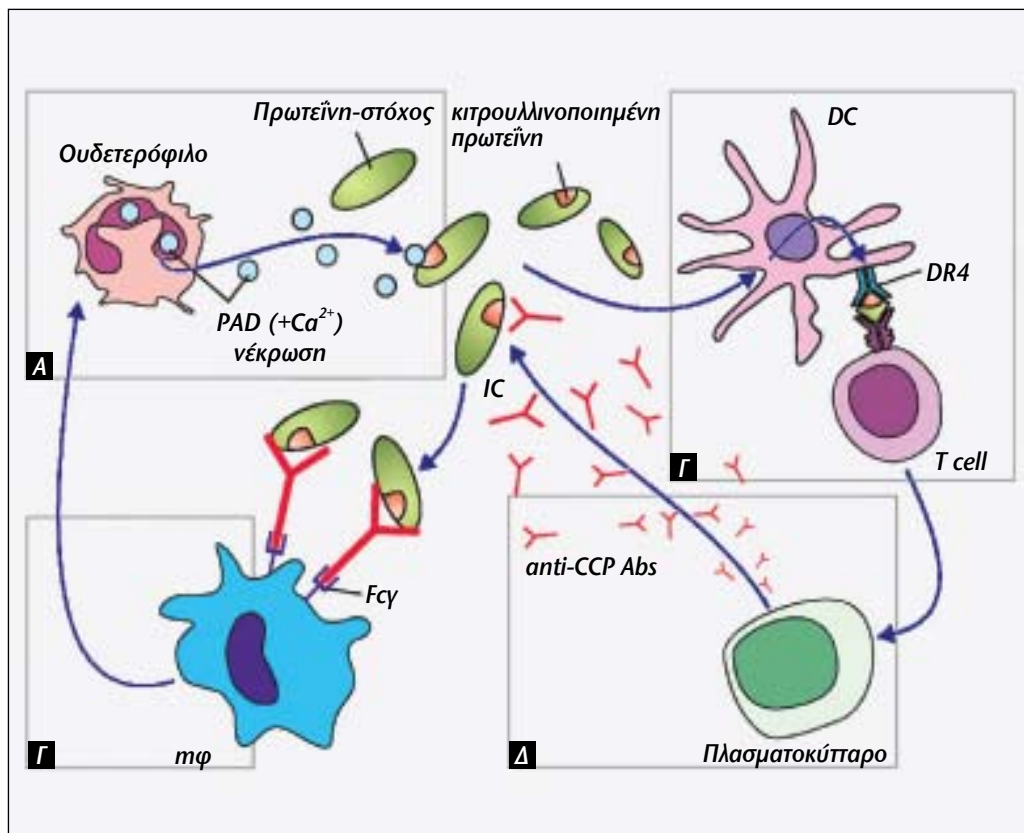
Πιστεύεται, ότι μετά την εγκατάσταση της ΡΑ, τα αντι-CCP αντισώματα παράγονται στον αρθρικό υμένα και διαχέονται στον ορό. Στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα έχουν βρεθεί επίσης διάφορες κιτρουλλινοποιημένες πρωτεΐνες, όπως η βιμεντίνη, η ινωδονεκτίνη, το κολλαγόνο και το ινωδογόνο οι οποίες έχουν θεωρηθεί ως πραγματικά αυτοαντιγόνα-στόχοι των ACPA και αντι-CCP. Η δραστηριότητα έναντι της κιτρουλλινοποιημένης φιλαγγρίνης μπορεί να εξηγηθεί με το φαινόμενο της μοριακής ομοιότητας και μίμησης

Διαγνωστική αξία

Τα αντι-CCP αντισώματα έχουν μεγαλύτερη διαγνωστική αξία από τον ΡΠ στη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Σχετίζονται στενότερα με τους δείκτες ενεργότητας, τις αρθρικές και εξωαρθρικές εκδηλώσεις της νόσου. Χρησιμοποιούνται ενισχυτικά για την διάγνωση της αδιαφοροποίητης μονοαρθρίτιδας ή πολυαρθρίτιδας, της πρώιμης ρευματοειδούς και της παροδικής αρθρίτιδας ή του παλίνδρομου ρευματισμού. Έχουν ευαισθησία περίπου 0,70 και ειδικότητα 0,95. Τα αντι-CCP αντισώματα προσδιορίζονται στον ορό των ασθενών με την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA. Τιμές μεγαλύτερες των 15IU/L θεωρούνται παθολογικές (θετικές). Σε ασθενείς με ΡΑ συνήθως οι τιμές των αντι-CCP υπερβαίνουν τις 100IU/L. Μικρότεροι τίτλοι αντι-CCP ανιχνεύονται σε λίγους ασθενείς με άλλα χρόνια ρευματικά νοσήματα, όπως η ψωριασική αρθρίτιδα και ο παλίνδρομος ρευματισμός.

Σήμερα κυκλοφορεί το CCP2 (δεύτερης γενιάς) τεστ που έχει καλύτερη διαγνωστική και προγνωστική ικανότητα από το CCP1⁴. Είναι χρήσιμο για τη διάκριση των ασθενών με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΡΑ συγκριτικά με εκείνους που είναι σε κίνδυνο για την ανάπτυξη άλλων αρθροπαθειών.

Υπάρχει και το τεστ CCP3 που έχει μεγαλύτερη ευαισθησία για τη διάγνωση της ΡΑ συγκριτικά με το CCP2. Εμφανίζει όμως μικρότερη ειδικότητα λόγω διασταυρούμε-



Εικόνα 2. Α) Πιθανή σχέση των αντισωμάτων αντι-CCP με γενετικούς παράγοντες στη ΡΑ:

Πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου μπορούν να οδηγήσουν σε αυξημένη έκφραση της PADI4 και σε αυξημένη κιτρουλινοποίηση πρωτεϊνών του εαυτού¹.

Β) Τα σχετιζόμενα με τη ΡΑ αντιγόνα ιστοσυμβατότητας HLA-DR4 μπορούν να δεσμεύσουν και να αντιγονοπαρουσιάσουν τα κιτρουλινωμένα πεπτιδία πιο αποτελεσματικά από ότι τα μη κιτρουλινωποιημένα².

Γ) Πολυμορφισμοί (ενός νουκλεοτιδίου) στον επαγωγέα της IL-10 σχετίζονται με την αυξημένη παραγωγή αντι-CCP αντισωμάτων και αυξημένη ενεργότητα της νόσου³.

Δ) Διάφοροι πολυμορφισμοί σε γονίδια κυτταροκινών και άλλων σχετιζόμενων με τη ΡΑ μορίων μπορούν να οδηγήσουν σε ισχυρότερη διέγερση διάφορων κυτταρικών πληθυσμών από ανοσοσυμπλέγματα.

νης αντίδρασης με πάσχοντες από το σύνδρομο CREST⁵. Πρόσφατα, από την Inova (San Diego, CA, USA) αναπτύχθηκε το τεστ CCP3.1 το οποίο ανιχνεύει συνδυασμό IgG και IgA αντι-CCP αντισωμάτων⁶.

Η ευαισθησία των αντι-CCP είναι 77% και η ειδικότητα 92% ενώ του IgM ΡΠ και IgA ΡΠ η ευαισθησία είναι 86% και 63,3% αντίστοιχα και η ειδικότητα 82% και 94,4%⁷.

Σε σχέση με την ανίχνευση άλλων αντισωμάτων που σχετίζονται με κιτρουλινωποιημένους επιτόπους όπως του αντιπεριπυρηνικού παράγοντα (APF) και των αντικερατινικών αντισωμάτων (AKA), τα αντι-CCP υπερτερούν κατά πολύ στην ευαισθησία τους για την ΡΑ. Συγκεκριμένα, σε μια πρόσφατη μελέτη η ευαισθησία των αντι-CCP, AKA και APF βρέθηκε να είναι 76,2%, 43,4% και 34,5%, αντίστοιχα, ενώ οι ειδικότητες τους ήταν συγκρίσιμες (96,0%, 98,4% και 99,6%)⁸. Η συνδυασμένη ανίχνευσή των αντι-CCP, APF και AKA επίσης δεν πρόσφερε κανένα επιπλέον πλεονέκτημα. Έτσι είναι σαφές ότι τα αντι-CCP αντικαθιστούν πλήρως τις παλαιότερες εξετάσεις APF και AKA.

Προγνωστική αξία

Είναι γνωστό ότι η παρουσία του ΡΠ και των αντι-CCP αντισωμάτων μπορεί να προηγείται αρκετά έτη της έναρξης της νόσου⁹. Η εμφάνιση των αντι-CCP πριν την έναρξη της νόσου σχετίζεται με σημαντικά αυξημένο Larsen

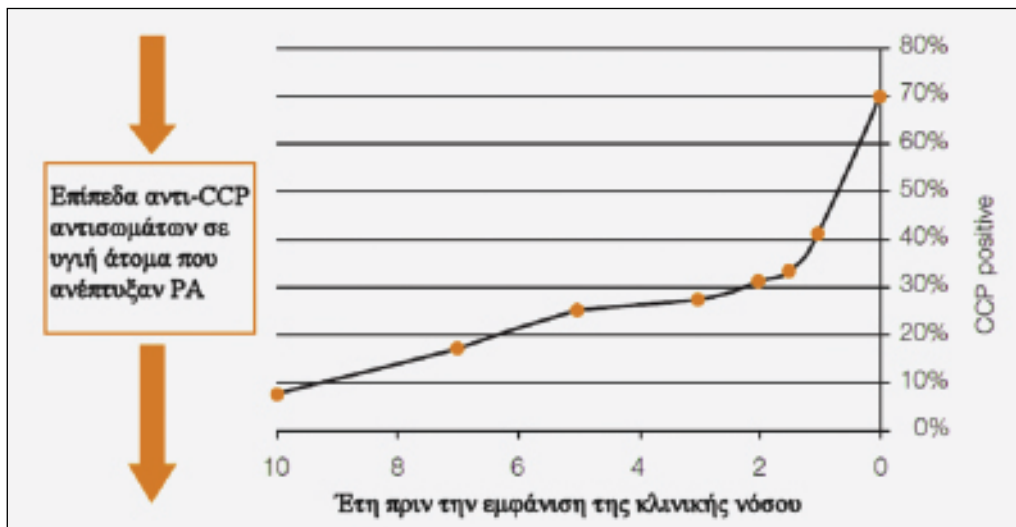
score, τόσο στην έναρξη όσο και 2 έτη αργότερα. Ως γνωστόν με το Larsen score εκτιμώνται ακτινολογικά οι αρθρικές διαβρώσεις.

Συγκεκριμένα, ο τίτλος των αντι-CCP αντισωμάτων κατά την έναρξη της νόσου είναι ο πιο σημαντικός προγνωστικός δείκτης για τη δυνητική επιδείνωση της ακτινολογικής εικόνας μέσα στα επόμενα έτη και σχετίζεται αυτονόητα με τη βαρύτητα της νόσου¹⁰. Τα αντι-CCP αντισώματα, συγκρινόμενα με τον ΡΠ, είναι καλύτερος προγνωστικός δείκτης σε ό,τι αφορά την εμφάνιση των διαβρώσεων. Γενικά, σύμφωνα με άλλη μελέτη, η παρουσία των αντι-CCP αντισωμάτων σχετίζεται με πιο επιθετική νόσο, μεγαλύτερη ενεργότητα (αυξημένος δείκτης DAS 28 – disease activity score), πιο σοβαρές ακτινολογικές βλάβες και μεγαλύτερες παραμορφώσεις των αρθρώσεων¹¹.

Οι τίτλοι των αντι-CCP μειώνονται μετά από επιτυχή απόκριση στη θεραπεία με τους αντι-TNFα βιολογικούς παράγοντες^{12,13}. Τα επίπεδα των αντι-CCP επίσης μπορούν να προβλέψουν την απόκριση σε θεραπεία με αντι-TNFα βιολογικούς παράγοντες¹⁴.

ΡΠ και αντι CCP αντισώματα

Τα δύο αντισώματα χαρακτηρίζουν τη ρευματοειδή αρθρίτιδα και αλληλοσυμπληρώνονται όσον αφορά την κλινική χρησιμότητά τους. Τα αντι-CCP χαρακτηρίζονται από



Εικόνα 3. Τα αντι-CCP αντισώματα μπορούν να εμφανιστούν αρκετά έτη πριν από την έναρξη της κλινικής συμπτωματολογίας της PA, αλλά η συχνότητά τους αυξάνει δραματικά λίγο πριν την εμφάνιση της κλινικής συμπτωματολογίας.

υψηλή ειδικότητα και είναι χρήσιμα σε ασθενείς με αρνητικό ρευματοειδή παράγοντα. Στην ομάδα αυτή τα αντι-CCP αντισώματα βρίσκονται θετικά στο 40% των ασθενών^{15,16}. Από τους πάσχοντες με ρευματοειδή αρθρίτιδα με αρνητικά αντι-CCP αντισώματα, περίπου το 28% εμφανίζουν θετικό ρευματοειδή παράγοντα. Όπως είναι αυτονόητο, η θετικότητα ενός ασθενούς και στα δύο αντισώματα υπαγορεύει τη κλινική διάγνωση σε πρώιμη φάση, σχετίζεται με βαρύτερη πρόγνωση και ενισχύει την απόφαση για έγκαιρη επιθετική θεραπεία.

Ρευματοειδής επίτοπος και αντι-CCP αντισώματα

Υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του ρευματοειδούς επιτόπου (PE) και της παραγωγής των αντι-CCP. Σε ασθενείς με PA υπήρξε συσχέτιση των αντι-CCP με την παρουσία 2 αλληλίων PE, OR 11,79 ($p < 0,0001$), ενώ για 1 αλληλίο PE, OR 4,37 ($p < 0,0001$) σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες χωρίς PE¹⁷. Επιπρόσθετα, σε υγιείς αιμοδότες η συνύπαρξη PE και αντι-CCP συσχετιζόταν ισχυρότερα με την ανάπτυξη PA (OR 66,8), συγκριτικά με την ύπαρξη μόνο αντι-CCP (OR 25,01) ή PE (OR 1,9)¹⁸. Σε ασθενείς ωστόσο, με PA η συνύπαρξη ρευματοειδούς επιτόπου και αντι-CCP συσχετιζόταν με υψηλότερο Sharp score (7,6 μονάδες/έτος) συγκριτικά με την παρουσία των αντι-CCP (2,4 μονάδες/έτος) ή του PE (1,6 μονάδες/έτος)¹⁹.

Σε άλλη εργασία φάνηκε ότι τα αλληλίου του PE δεν συμβάλλουν στην ανάπτυξη της PA ανεξάρτητα από την αδιαφοροποίητη αρθρίτιδα, αλλά συμβάλλουν στην ανάπτυξη αντι-CCP²⁰. Τόσο η PA, όσο και η παραγωγή των αντι-CCP αντισωμάτων συσχετίζονται με τον κοινό επίτοπο HLA-DRB1²¹, ιδίως στους Βορειοευρωπαίους.

Κάπνισμα και αντι-CCP

Σύμφωνα με το μοντέλο αιτιοπαθογένειας της PA, στην έκφραση της νόσου εμπλέκονται γενετικοί αλλά και περι-

βαλλοντικοί παράγοντες, όπως το κάπνισμα. Έχει περιγραφεί δόσοεξαρτώμενη σχέση ανάμεσα στο κάπνισμα και στην παρουσία αντι-CCP αντισωμάτων²². Παρατηρήθηκε επίσης ισχυρή αλληλεπίδραση μεταξύ καπνίσματος και ρευματικού επιτόπου για τη PA με θετικά αντι-CCP. Ο συνδυασμός καπνίσματος και παρουσίας 2 αλληλίων ρευματικού επιτόπου αύξησε 21 φορές τον κίνδυνο για ρευματοειδή αρθρίτιδα συγκριτικά με τους μη καπνιστές με αρνητικό ρευματικό επίτοπο (PE)²².

Η έκθεση στον καπνό προκαλεί κιτροαλλοιοποίηση στις πρωτεΐνες, οι οποίες, αφού υποστούν επεξεργασία από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, παρουσιάζονται συνδεδεμένες με HLA τάξεως II (PE) σε CD4+ κύτταρα, με αποτελέσματα ενεργοποίηση της ανοσολογικής απάντησης και παραγωγή αντι-CCP αντισωμάτων. Άρα, το κάπνισμα συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης PA επάγοντας την παραγωγή αντι-CCP αλλά και ΡΠ, γεγονός που υποδηλώνει μηχανισμούς σχετιζόμενους με την ενεργοποίηση του Β λεμφοκυττάρου.

Συμπέρασμα

Τα αντικιτροαλλινικά αντισώματα εμφανίζουν μεγαλύτερη ευαισθησία, ειδικότητα, καθώς και καλύτερη θετική και αρνητική προγνωστική αξία συγκριτικά με το ΡΠ, όσον αφορά στη διάγνωση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Αν και πλεονεκτούν έναντι του ΡΠ στην ικανότητα «πρόβλεψης» μεταξύ των ασθενών με αδιαφοροποίητη αρθρίτιδα για την ανάπτυξη PA, ο συνδυασμός της παρουσίας των αντι-CCP και του ΡΠ είναι αυτός που καθιστά πιο ισχυρή την πρόβλεψη αυτή. Τα αντι-CCP συνδέονται με σοβαρότερη κλινικά και ακτινολογικά νόσο. Μπορεί να προηγούνται της εμφάνισης της νόσου κατά έτη. Αποτελούν αξιόλογο διαγνωστικό εργαλείο, αλλά η παρουσία τους πρέπει να ερμηνεύεται με βάση την κλινική πιθανότητα των ασθενών να εμφανίσουν PA, ανεξαρτήτως της μέτρησης των αντι-CCP αντισωμάτων.

ABSTRACT

Anti-citrullinated protein antibodies (ACPA) detection, is the he most sensitive and specific test for the diagnosis of Rheumatoid Arthritis (RA). These autoantibodies recognize mainly citrullinated filaggrin, keratin, fibrin, vimentin and collagen and they detected in laboratories using mixtures of cyclic citrullinated peptides (CCP). Anti-CCP antibodies appear several years before the clinical onset of RA and they have higher diagnostic value than rheumatoid factor (RF), antiperinuclear factor (APF) and anti-keratin antibodies (AKA). Anti-CCP antibodies are strongly correlated with smoking and common epitope of RA. In addition anti-CCP are positively correlated with disease severity and Larsen score in RA.

Key words: ACPA, anti-CCP, rheumatoid epitope, rheumatoid arthritis.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Suzuki A, Yamada R, Chang X, Tokuihiro S, Sawada T, Suzuki M, Nagasaki M, Nakayama-Hamada M, Kawaida R, Ono M, Ohtsuki M, Furukawa H, Yoshino S, Yukioka M, Tohma S, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Nishioka Y, Sekine A, Iida A, Takahashi A, Tsunoda T, Nakamura Y, Yamamoto K, Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2003; 34:395-402.
2. Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E, Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1*0401 MHC class II molecule. *J Immunol* 2003; 171:538-41.
3. Lard LR, van Gaalen FA, Schonkeren JJ, Pieterman EJ, Stoeken G, Vos K, Nelissen RG, Westendorp RG, Hoeven RC, Breedveld FC, Toes RE, Huizinga TW, Association of the -2849 interleukin-10 promoter polymorphism with autoantibody production and joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48:1841-8.
4. van Gaalen FA, Visser H, Huizinga TW, A comparison of the diagnostic accuracy and prognostic value of the first and second anti-cyclic citrullinated peptides (CCP1 and CCP2) autoantibody tests for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1510-2.
5. Wu R, Shovman O, Zhang Y, Gilburd B, Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y, Increased prevalence of anti-third generation cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with rheumatoid arthritis and CREST syndrome. *Clin Rev Allergy Immunol* 2007; 32:47-56.
6. Wiik AS, van Venrooij WJ, Puijn GJ, All you wanted to know about anti-CCP but were afraid to ask. *Autoimmun Rev*.
7. Greiner A, Plischke H, Kellner H, Gruber R, Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-citrullin antibodies, and IgM and IgA rheumatoid factors with serological parameters of disease activity in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050:295-303.
8. Zhao J, Liu X, Wang Z, Liu R, Li Z. Is It Necessary to Combine Detection of Anticitrullinated Protein Antibodies in the Diagnosis of Rheumatoid Arthritis? *J Rheumatol* 2010; in press.
9. Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, Sundin U, van Venrooij WJ, Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48:2741-9.
10. Markatseli TE, Voulgari PV, Alamanos Y, Drosos AA, Prognostic Factors of Radiological Damage in Rheumatoid Arthritis: A 10-year Retrospective Study. *J Rheumatol* 2010; in press.
11. del Val del Amo N, Ibanez Bosch R, Fito Manteca C, Gutierrez Polo R, Loza Cortina E, Anti-cyclic citrullinated peptide antibody in rheumatoid arthritis: relation with disease aggressiveness. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24:281-6.
12. Atzeni F, Turiel M, Capsoni F, Doria A, Meroni P, Sarzi-Puttini P, Autoimmunity and anti-TNF-alpha agents. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1051:559-69.
13. Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Dell'Acqua D, de Porto S, Cecchini G, Cruini C, Carrabba M, Meroni PL, Adalimumab clinical efficacy is associated with rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody titer reduction: a one-year prospective study. *Arthritis Res Ther* 2006; 8:R3.
14. Braun-Moscovici Y, Markovits D, Zinder O, Schapira D, Rozin A, Ehrenburg M, Dain L, Hoffer E, Nahir AM, Balbir-Gurman A, 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.
15. Caro-Oleas JL, Fernandez-Suarez A, Reneses Cesteros S, Porrino C, Nunez-Roldan A, Wichmann Schlipf I, Evaluation of third generation anti-CCP antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis from undifferentiated polyarthritis after 4 years of follow-up. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26:461-3.
16. Quinn MA, Gough AK, Green MJ, Devlin J, Hensor EM, Greenstein A, Fraser A, Emery P, Anti-CCP antibodies measured at disease onset help identify seronegative rheumatoid arthritis and predict radiological and functional outcome. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45:478-80.
17. Huizinga TW, Amos CI, van der Helm-van Mil AH, Chen W, van Gaalen FA, Jawaheer D, Schreuder GM, Wener M, Breedveld FC, Ahmad N, Lum RF, de Vries RR, Gregersen PK, Toes RE, Criswell LA, Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis Rheum* 2005; 52:3433-8.
18. Berglin E, Padyukov L, Sundin U, Hallmans G, Stenlund H, Van Venrooij WJ, Klareskog L, Dahlqvist SR, A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004; 6:R303-8.
19. van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TW, Schreuder GM, Breedveld FC, Zanelli E, van Venrooij WJ, Verweij CL, Toes RE, de Vries RR, Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50:2113-21.
20. 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; 54:1117-21.
21. Matthews AG, Li J, He C, Ott J, Andrade M, Adjusting for HLA-DRbeta1 in a genome-wide association analysis of rheumatoid arthritis and related biomarkers. *BMC Proc* 2009; 3 Suppl 7:S12.
22. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg H, Bengtsson C, Grunewald J, Ronnelid J, Harris HE, Ulfgren AK, Rantapaa-Dahlqvist S, Eklund A, Padyukov L, Alfredsson L, A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006; 54:38-46.