

INVESTIGACIÓN ORIGINAL

Valores de referencia de los anticuerpos anti-citrulina IgG, e isotipos IgG e IgA del factor reumatoide en un grupo de individuos del Hospital Militar Central

Luz Mabel Ávila¹, John Darío Londoño², Angie Cardona³, Juan Carlos Salazar⁴, Ana María Santos⁵, Consuelo Romero⁶, Patricia Vélez⁷, Rafael Valle⁸

Resumen

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria, crónica y sistémica que está asociada significativamente a la pérdida de la función física y al deterioro de la calidad de vida de los enfermos que la padecen. El diagnóstico de la AR se basa en los criterios diagnósticos y clasificatorios del Colegio Americano de Reumatología (ACR) en los cuales se incluye la presencia del factor reumatoide (FR) isotipo IgM como prueba de laboratorio.

Los anticuerpos anticitrulina (anti-CCP), los isotipos del FR IgG e IgA preceden las manifestaciones clínicas y han sido correlacionados con un mal pronóstico en los pacientes con AR. Para

implementar su uso clínico es necesario obtener valores de referencia en nuestra población.

El propósito de este estudio fue establecer los valores de referencia de anticuerpos anti-CCP y los otros isotipos del FR IgG e IgA, en un grupo de individuos colombianos, en donde se incluyeron: pacientes con diagnóstico de AR, pacientes con diagnóstico de espondiloartropatías (EAS) e individuos sanos sin antecedentes de enfermedades reumáticas; utilizando la técnica de MicroELISA tanto para la detección de anticuerpos anti-CCP, como para los isotipos del FR IgG e IgA.

Los valores de referencia fueron obtenidos y analizados por medio de la curva operativa del receptor (curva ROC). Para los anticuerpos anti-CCP los valores de referencia fueron valores positivos mayores de 17 unidades, negativos menores de 8 unidades y una zona gris entre 8 y 17 unidades; con una $p = 0,01$. Para el FR isotipo IgG los valores de referencia fueron valores positivos mayores de 16 unidades, negativos menores de 13

- 1 Bcl, Inmunóloga MsC, Coordinadora Laboratorio de Inmunología Hospital Militar Central.
- 2 MD, Medicina Interna y Reumatología, Maestría en Ciencias Médicas, Clínica Universitaria Teletón-Universidad de la Sabana.
- 3 Bcl, Pontificia Universidad Javeriana.
- 4 MD, Especialista en Medicina Interna y Reumatología, Fundación Cardio-Infantil.
- 5 Bcl, Epidemióloga, Laboratorio de Inmunología Hospital Militar Central.
- 6 Bcl, Inmunóloga, MsC, Laboratorio de Inmunología Hospital Militar Central.
- 7 MD, Medicina Interna y Reumatología, Hospital Militar Central.
- 8 MD, Medicina Interna e Inmuno-Reumatología. Jefe del Servicio de Reumatología e Inmunología clínica. Hospital Militar Central.

Recibido para publicación: mayo 28/2004.
Aceptado en forma revisada: agosto 26/2004.

unidades y una zona gris entre 13 y 15 unidades; presentando significancia estadística $p \leq 0,02$. Por otro lado, para el FR isotipo IgA los valores de referencia fueron valores positivos mayores de 7,5 unidades, negativos menores de 3,8 unidades y una zona gris entre 3,8 y 7,5 unidades; presentando significancia estadística $p \leq 0,02$.

Todos los autoanticuerpos estudiados mostraron asociación con la enfermedad ($p < 0,00$), por lo tanto pueden ser utilizados como prueba diagnóstica y pronóstica para los pacientes con AR.

Palabras clave: artritis reumatoide, anticuerpos anticitrulinas, factor reumatoide IgA, factor reumatoide IgG.

Summary

Rheumatoid Arthritis (RA), is a chronic, systemic and inflammatory disease, that is significantly associated with the loss of the physical function and the deterioration of the quality of life. The diagnosis of the RA is based on the classification criteria of the American College of Rheumatology (ACR). The presence of the IgM Rheumatoid Factor (IgM RF) is included as a laboratory test. The anticitrulline antibodies (anti-CCP), the isotypes IgG RF and IgA RF, precede the clinical manifestations and they have been correlated with a bad prognostic in patients with RA. To implement their clinical use it is necessary to obtain reference values in our population.

The purpose of this study was to establish the reference values of anti-CCP antibodies and the IgG RF and IgA RF isotypes in a group of Colombian individuals. They were included: patient with diagnosis of RA, Spondyloarthropathies (SpA) and healthy individuals without antecedents of rheumatic diseases. The MicroELISA technique for the detection anti-CCP antibodies, and the IgG RF and IgA RF isotypes, were used.

The reference values were obtained and analyzed by means of the Receptor Operative Curve (ROC). For the anti-CCP antibodies the reference values were positive when they were higher than 17 units, negative smaller than 8 units and a gray area between 8 and 17 units; with a $p = 0,01$.

For IgG RF isotype the reference values were positive when they were higher than 16 units, negative smaller than 13 units and a gray area between 13 and 15 units; presenting statistical significancy $p \leq 0,02$. On the other hand, IgA RF isotype the reference values were higher positive values. 7,5 of units, negative smaller than 3,8 units and a gray area between 3,8 and 7,5 units; presenting statistical significancy $p \leq 0,02$.

All the studied autoantibodies showed association with the disease ($p < 0,00$), so they can be used as a prognostic and diagnostic test in patients with RA.

Key words: rheumatoid arthritis, antibodies anticitrulline, rheumatoid factor (RF) IgA and (RF) IgG.

Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad crónica autoinmune de etiología desconocida, caracterizada por artritis erosiva de presentación simétrica y en algunos casos se puede asociar a manifestaciones extra articulares. La mayoría de los pacientes experimentan un curso crónico e insidioso, a pesar del tratamiento, lo que con el tiempo produce destrucción articular, deformidad, discapacidad y muerte prematura¹⁻².

En la actualidad, para el diagnóstico de la AR se utilizan los criterios establecidos por el ACR en el año de 1987 y se fundamentan en hallazgos clínicos, radiológicos y de laboratorio. La sensibilidad de estos criterios es 91,2% y la especificidad 89,3%³. En los estadios tempranos de la enfermedad (menos de un año de evolución), la sensibilidad disminuye a 80,9% y la especificidad es de 88,2%. Sin embargo, son los más utilizados en todo el mundo⁴.

Recientemente se ha establecido que la evolución de la enfermedad y el desenlace dependen del diagnóstico temprano y del inicio de un tratamiento efectivo, que controle la inflamación y evite la destrucción articular⁵⁻⁸.

En el diagnóstico, el apoyo serológico se restringe a la determinación del FR, clasificado por el tipo de inmunoglobulina que conforma el anticuerpo

IgM, IgG, IgA, IgE. Su poder diagnóstico se ve limitado por la positividad sólo en el 50 a 80% de los enfermos y su presencia en otros tipos de enfermedades, como el síndrome de Sjogren, lupus eritematoso sistémico, enfermedad mixta del tejido conectivo, escleroderma, infecciones, neoplasias, enfermedades inflamatorias crónicas, y hasta en el 15% de personas sanas⁹. Sin embargo, la capacidad para predecir la severidad de la enfermedad y la destrucción articular parece estar bien establecida¹⁰.

En la última década se ha incrementado el estudio de otros anticuerpos en la patogénesis de la AR para implementarlos como pruebas diagnósticas o pronósticas de severidad de la enfermedad, entre los que se destacan los anticuerpos anticitrulinados (anti-CCP)¹¹.

La citrulina es un aminoácido resultante de la modificación enzimática de la arginina, presente principalmente en proteínas estructurales de la membrana sinovial como la filagrina. Se ha planteado como hipótesis que la modificación postranscripcional de estas proteínas, dada por la presencia de la citrulina, genera una respuesta inmune humoral con activación policlonal contra proteínas totales o proteínas que contengan el complejo. Lo anterior podría estar en relación con la participación de los anticuerpos anticitrulinados (anti-CCP) en la etiología y mantenimiento de los mecanismos fisiopatológicos responsables del daño a nivel sinovial, dando lugar a las manifestaciones clínicas típicas de AR¹²⁻¹⁵.

Varios estudios han establecido que los anti-CCP son más sensibles y específicos que el factor reumatoide IgM en el diagnóstico de la artritis reumatoide¹⁶⁻¹⁷, en pacientes con larga evolución de la enfermedad, como en aquellos con formas tempranas, incluso en etapas previas a la aparición de las manifestaciones clínicas¹⁸. También se ha establecido su papel como predictor del curso de la enfermedad, asociándose a formas más severas en las que es evidente un mayor daño articular¹⁹.

Por esta razón, los anti-CCP son ahora utilizados como prueba diagnóstica, con cualidades pronósticas en la artritis reumatoide. El hecho de que se promueva para el diagnóstico y tratamiento temprano²⁰⁻²², como forma eficiente de evitar la aparición de erosiones y la progresión de la enfermedad, hace

que estos anticuerpos ocupen un puesto importante en el diagnóstico actual de la enfermedad.

Para implementar el uso clínico de estos anticuerpos en nuestra población se hace necesario realizar estudios en los cuales se obtengan valores de referencia como prueba diagnóstica, que permitan su utilización en la práctica clínica.

El objetivo principal de este estudio fue el de evaluar las características operativas para el rendimiento de pruebas serológicas (sensibilidad y especificidad), para la determinación de anticuerpos anti-citrulina y de los isotipos IgG e IgA del factor reumatoide, en un grupo de pacientes con artritis reumatoide que acuden regularmente a consulta al Hospital Militar Central en Bogotá, Colombia.

Materiales y métodos

El Hospital Militar Central en Bogotá, Colombia, es una Institución de tercer nivel de atención, con una población asignada de 469.000 personas. El Servicio de Reumatología e Inmunología Clínica es el lugar de referencia para la atención de pacientes con enfermedades reumáticas de esta población. Desde el año 2001 existe una clínica para la atención y el seguimiento de los pacientes con artritis reumatoide, los cuales se evalúan bajo un protocolo estructurado que recoge información periódica de carácter demográfico, clínico y de laboratorio. Durante el año 2003 se ingresaron 776 pacientes a este protocolo.

Para alcanzar el objetivo planteado se realizó un estudio de casos y controles, anidado en una cohorte, con el que se estableció la concordancia diagnóstica (sensibilidad y especificidad) de los anticuerpos anti-CCP y los isotipos del FR IgG e IgA.

Entre enero y junio del 2002 se ingresaron al estudio de manera consecutiva 93 individuos con edades comprendidas entre 18 y 75 años, clasificados de la siguiente manera: 58 pacientes con AR que cumplieron con los criterios del ACR, 7 con espondiloartropatías de acuerdo con los criterios del Grupo Europeo para el estudio de las espondiloartropatías ESGG²³ y 28 individuos sanos, sin antecedentes personales ni familiares de enfermedad reumática.

A todos los pacientes se les tomó una muestra de sangre en ayunas, de 10 cc, la cual fue inmediatamente centrifugada a 2500 r.p.m. durante 10 minutos. El suero fue posteriormente alicuotado y almacenado en microviales a -80°C hasta el momento del análisis.

Para la determinación de los Anti-CCP se utilizó el método de ELISA (Inova Diagnostics, Inc). Para la determinación de los isotipos de FR IgG e IgA se utilizó el método de ELISA, empleando como sustrato el reactivo de la casa comercial (Inova Diagnostics, Inc). Para todas las determinaciones se siguieron estrictamente las recomendaciones establecidas por el fabricante.

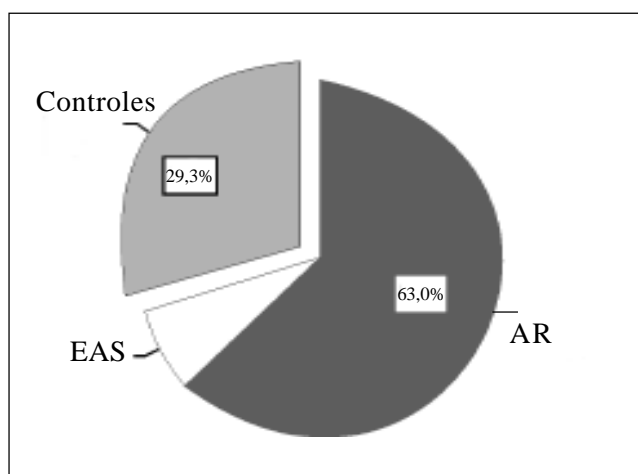
Para determinar las características diagnósticas de las pruebas (Anti-CCP, AR IgG y AR IgA) se estableció la sensibilidad y la especificidad a diferentes puntos de corte. Los resultados fueron representados en gráficas ROC (curvas operativas del receptor). Una vez calculados los valores predictivos positivo y negativo, se obtuvieron los puntos de corte óptimo para cada prueba.

El presente estudio contó con la aprobación del Comité de Ética Médica y de la oficina de investigación y educación médica del Hospital. Todos los pacientes llenaron un consentimiento informado.

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico SPSS 11.0 para Windows. Las diferencias encontradas entre las proporciones fueron comparadas mediante la prueba de Chi cuadrado, utilizando la corrección de Yates si fuere necesario. Se estableció un grado de significancia estadística con un valor de $p < 0,05$, e intervalos de confianza del 95%.

Resultados

Se estudiaron un total de 93 individuos, en donde se incluyeron 58 (62,4%) pacientes con artritis reumatoide, 45 mujeres (77,2%) y 13 hombres (22,8%), con edad de $55,4 \pm 12,3$ años y un rango de edad de 34-81 años. El promedio de evolución de la enfermedad fue $9,3 \pm 1,7$ años, la edad de inicio de los síntomas $40,8 \pm 14,2$ años. Se estudiaron 28 (29,3%) controles sanos y 7 (7,6%) pacientes con EAS (gráfica 1).



Gráfica 1. Distribución de los pacientes.

Las características generales de los pacientes y la información relacionada con la enfermedad se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Características generales de los pacientes.

Características	AR
Edad ($\bar{x} \pm \text{DE}$) años	55.43 ± 12.32
Sexo H/M	12/46
Tiempo de evolución de la enfermedad. Años	9.63 ± 1.7
Edad de inicio de la enfermedad. Años	40.80 ± 14.02
Número de articulaciones inflamadas ($\bar{x} \pm \text{DE}$)	6.98 ± 6.41
Número de articulaciones dolorosas ($\bar{x} \pm \text{DE}$)	8.36 ± 6.03
Rigidez matutina ($\bar{x} \pm \text{DE}$) minutos	49.35 ± 67.188
Erosiones a los RX (Larsen)	54.03 ± 22.09
VSG mm/hora	32.18 ± 22.7
HAQ	0.657 ± 0.57
AIMS	4.8 ± 1.25

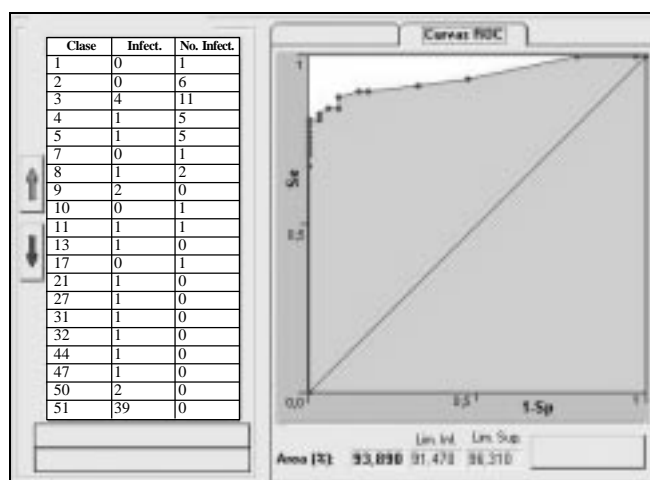
Características operativas del receptor

Para estimar el valor diagnóstico más representativo de los isotipos del factor reumatoide IgG, IgA y de los anticuerpos anti-citrulina en la artritis

reumatoide se utilizaron curvas operativas de receptor curvas (ROC), y así mismo la sensibilidad y la especificidad de cada una de las pruebas. Para ello se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VP+), valor predictivo negativo (VP-) y significancia (p), de cada una de las pruebas a evaluar. Se realizó la curva ROC, en la cual se representó gráficamente la tasa de verdaderos positivos frente a la tasa de verdaderos negativos, teniendo en cuenta las concentraciones arrojadas por cada una de las pruebas para la detección de cada anticuerpo estudiado, tanto en el grupo de pacientes con AR como en el grupo control y en los pacientes con EAS. En la curva se pudo determinar el punto de corte que poseía la más alta sensibilidad y especificidad, con sus respectivos valores predictivos positivos y negativos, teniendo en cuenta el punto más cercano al vértice superior izquierdo, que es el que más se aproxima a la sensibilidad y especificidad de 100%.

La sensibilidad de la prueba para anticuerpos anti-CCP fue de un 87,93%, con una especificidad del 91,18%, arrojando un valor predictivo positivo del 94,44% y un valor predictivo negativo del 81,58%, tomando como punto de corte en la población estudiada valores de positividad mayores de 17 U, con una significancia estadística de $p \leq 0,001$ (gráfica 2).

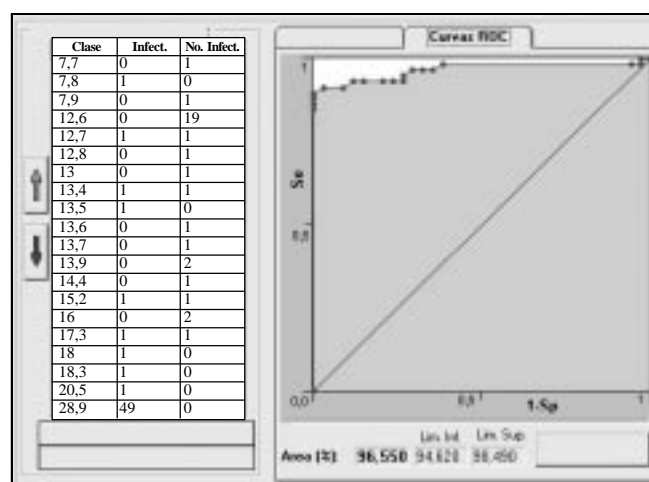
Se halló una zona donde, de acuerdo con la curva, se encontraron pacientes sin diagnóstico de AR con prueba positiva para anti-CCP (falsos positivos)



Gráfica 2. Curva ROC para anticuerpos anti-CCP.

y pacientes con diagnóstico clínico de AR con pruebas negativas (falsos negativos), determinando así una zona gris entre 8 y 17 U. Por lo tanto, el criterio negativo, de acuerdo con la caracterización operativa de la prueba, fue de valores < 8 U (tabla 2).

La sensibilidad de la prueba para factor reumatoide IgG fue de un 91,4% con una especificidad del 97,1%, arrojando un valor predictivo positivo del 98,2% y un valor predictivo negativo del 86,8% tomando como punto de corte en la población estudiada valores de positividad mayores de 16 U, con una $p \leq 0,002$ (gráfica 3).

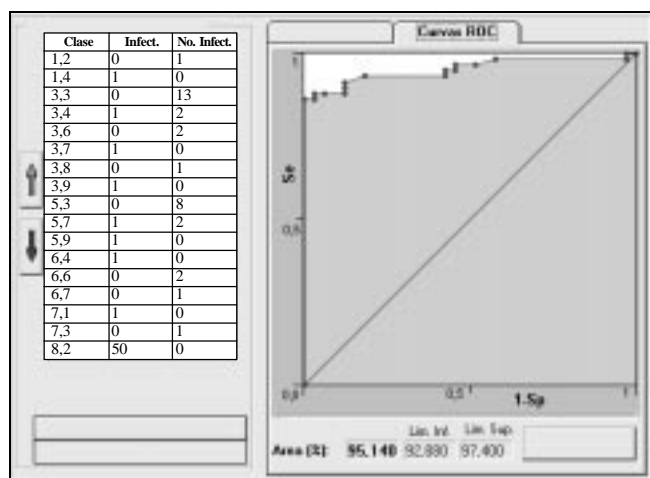


Gráfica 3. Curva ROC para factor reumatoide IgG.

Se halló una zona donde, de acuerdo con la curva, se encontraron pacientes sin diagnóstico de AR con prueba positiva para FR IgG (falsos positivos) y pacientes con diagnóstico clínico de AR con pruebas negativas (falsos negativos), determinando así una zona gris entre 13 y 15 U. Por lo tanto, el criterio negativo, de acuerdo con la caracterización operativa de la prueba, fue de valores < 13 U (tabla 2).

La sensibilidad de la prueba para factor reumatoide IgA fue de un 86,2% con una especificidad del 100%, arrojando un valor predictivo positivo del 100% y un valor predictivo negativo del 80,4% tomando como punto de corte en la población estudiada valores de positividad mayores de 7,5 U con una significancia estadística de $p \leq 0,02$ (gráfica 4).

Se halló una zona donde, de acuerdo con la curva, se encontraron pacientes sin diagnóstico de AR



Gráfica 4. Curva ROC para factor reumatoide IgA.

con prueba positiva para FR IgA (falsos positivos) y pacientes con diagnóstico clínico de AR con pruebas negativas (falsos negativos), determinando así una zona gris entre 3,9 y 7,5 U. Por lo tanto, el criterio negativo, de acuerdo con la caracterización operativa de la prueba, fue de valores < 3,8 U (tabla 2).

Comportamiento de las pruebas en la población estudiada

Una vez obtenidos los puntos de corte de mayor rendimiento diagnóstico, se evaluó la frecuencia de los anticuerpos anti-CCP con respecto a los grupos estudiados, y se encontró que 47 (81%) de los 58 pacientes con AR presentaron respuesta positiva en la prueba, 31 (88,5%) de los 35 controles (normales y EAS) arrojaron pruebas negativas. El comporta-

miento del factor reumatoide isotipo IgG en cada uno de los grupos de estudio se representa en la tabla 3, en donde 53 (94,3%) de 58 pacientes con AR fueron positivos para IgG y 24 (68,6%) de los 35 pacientes controles fueron negativos. Al evaluar el comportamiento del factor reumatoide IgA se observó que 20 (57,1%) de los 35 pacientes controles estuvieron negativos en la prueba y 50 (86,2%) de los 58 pacientes con AR obtuvieron resultados positivos (tabla 3).

Discusión

En pacientes del Hospital Militar Central, atendidos por el servicio de Reumatología, pertenecientes a este estudio, se presentó una relación en cuanto al sexo mujer:hombre (46/12) de 3,8:1 correspondientes al 79,3% y 20,6%, respectivamente, lo cual confirma la información universal previamente establecida que indica una marcada tendencia de la enfermedad en el sexo femenino. Se estableció además el predominio en la quinta década de la vida (promedio de edad de 55 años), con una tendencia al incremento en la población comprendida entre los 45 y 60 años.

Este trabajo confirmó los datos de asociación y de características diagnósticas de los anti-CCP y el FR IgG e IgA, en un grupo de pacientes colombianos con artritis reumatoide, concordantes con lo previamente establecido en otras poblaciones, como lo reportado por Schellekens *et al.*¹⁶.

Tabla 2. Caracterización de las pruebas anti-CCP, FR IgA e IgG.

Anticuerpos anti-Citrulina						
Positivo	Z. Gris	Negativo	Sensibilidad	Especificidad	VP+	VP-
>17u	8-17U	<8U	87,93%	91,18%	94,44%	81,58%
Factor reumatoide IgG						
>16u	13-15U	<13U	91,4%	97,1%	98,2%	86,8%
Factor reumatoide IgA						
>7,5	3,9 - 7,5	<3,8	86,2%	100%	100%	80,4%

Tabla 3. Comportamiento de las pruebas en las poblaciones estudiadas.

	Artritis reumatoide (n = 58)	Controles (n = 35)	Sensibilidad	Especificidad
Anti-CCP	47	4	81%	88,6%
F.R. IgG	53	11	91%	68,5%
F.R. IgA	50	15	86,2%	57,1%

La determinación de anticuerpos anti-CCP realizada por la técnica ELISA, presentó una alta sensibilidad (87,97%) y una alta especificidad (91,18%), comparable con las encontradas para el FR IgG (91,4% y 97,1%) y el FR IgA (86,2% y 100%). Es de aclarar que la mayoría de los pacientes del estudio tenían largo tiempo de evolución de la enfermedad (9,63 años), la mayoría con erosiones detectables a los rayos X, lo que explica el porqué del rendimiento diagnóstico de las pruebas. En este estudio no se pudo establecer cuál podría ser el comportamiento de estas pruebas en la población colombiana con artritis temprana o la enfermedad inflamatoria articular no definida.

Los puntos de corte óptimos para la estandarización de los anti-CCP fueron: positivo > 17 U, negativo valores menores de 8 U y una zona gris donde se encontraron pacientes enfermos y sanos con valores entre 8 y 17 U. Se encontró significancia estadística con una $p \leq 0,01$.

Al analizar la razón de que algunos de los pacientes con AR presentaron factor reumatoide IgM negativo al momento de la toma de la muestra, a pesar de ser previamente seropositivos a lo largo de su historial clínico, y que también resultaron negativos para anti-CCP, se cuestiona el efecto que pudo tener la administración de agentes biológicos (anti TNF-alfa) para el tratamiento de la enfermedad, como ha sido previamente reportado por Weinblatt *et al.*²⁴.

Con respecto a el FR IgG, se encontró una sensibilidad del 91,4% y una especificidad del 97,1% arrojando puntos de corte de positividad mayores

de 16 U y los negativos menores de 13 U. Se encontró que es estadísticamente significativo con una $p \leq 0,02$. Esta prueba realizada por la técnica ELISA mostró una zona gris entre 13 y 16 U.

La presencia del factor reumatoide isotipo IgA en pacientes con AR por la técnica de ELISA, mostró una sensibilidad del 86,2% con una especificidad del 100%, obteniendo el valor de corte de positivos con valores mayores de 7,5 U y negativos con < 3,8 U. Al igual que en la determinación de los anti-CCP se encontró una zona gris entre 3,9 y 7,5 U.

La importancia de estandarizar los valores de FR IgA está dada por el valor predictivo que ha demostrado previamente esta prueba para predecir el desarrollo temprano de erosiones óseas en los pacientes que lo presentan, lo cual ha sido planteado como un factor de mal pronóstico que puede ayudar al clínico a establecer terapéuticas más agresivas en forma temprana, que podrían controlar adecuadamente la inflamación, evitando la destrucción articular, y preservando la función, productividad e independencia del paciente.

Referencias

1. Harris ED Jr. Rheumatoid arthritis: Pathophysiology and Implications for therapy. *N Engl J Med* 1990; 322: 1277-1289.
2. American College of Rheumatology. Guidelines for the treatment of rheumatoid Arthritis 2002 Update. Subcommittee on rheumatoid arthritis Guidelines. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 328-346.
3. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the Classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-324.

4. Francisco Ramos Miembro. Enfermedades reumáticas criterios diagnósticos. Capítulo 3 pág. 23. Primera edición, McGraw-Hill Interamericana editores S.A. de C.V. México D.F. 1999.
5. Landewé RB, Boers M, Verhoeven AC, Westhovens R, van der Laar MA, Markusse HM, et al. COBRA combination Therapy in patients with early rheumatoid Arthritis. Long Term Structural benefits of brief intervention. *Arthritis rheum* 2002; 46: 347-356.
6. Landewé Robert B. The benefits of early treatment in rheumatoid arthritis: confounding by indication, and the issue of timing. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1-5.
7. Lard LR, Visser H, Speyer I, van der Hosdt-Bruinsma IE, Zwinderman AH, 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: 446-451.
8. Genovese MC, Bathon JM, Martin R, Fleischmann R, Tesser JR, Schiff MH, Keystone EC, et al. Etanercept versus Methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1443-1450.
9. Wernick R, Campell SM. Update in Rheumatology. *Annals of internal Medicine* 2000; 132: 125-133.
10. Bukhari M, Lunt M, Harrison BJ, Scott DG, Symmons DP, Silman AJ. Rheumatoid factor is the major predictor of increasing severity of radiographic erosions in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 906-912.
11. Hueber W, UtzPJ, Robinson WH. Autoantibodies en early arthritis: advances in diagnosis and prognostication. *Clin Exp Rheum* 2003; 21(s31): 59-64.
12. Scott DL, Symmonds DP, Coulton BL, Popert AJ. Long-term outcome of treating rheumatoid arthritis. Results after 20 years. *Lancet* 1987; 1: 1108-1111.
13. Union A, Mehcus L, Humbel RL, Conrad K, Steiner G, Mocreels H, Pottel H, Serre, Keyser FD. Identification of citrullinated rheumatoid arthritis-specific epitopes in natural filaggrin Relevant for antifilaggrin autoantibody detection by line immunoassay. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1885-1895.
14. Schellekens GA, Jong BA, van den Hoogen FH, van den Putte LB, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific auto antibodies. *J Clin Invest* 1998; 101: 273-281.
15. Reparón-Schuijt CC, Esch WJ, Kooten C, Schellekens GA, Jong BA, van den Hoogen FH, van Venrooij WJ, Breedveld F, Verweij C. Secretion of anti-citrulline-containing peptide antibody by B lymphocytes in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 41-47.
16. Schellekens GA, Visser H, Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JH, Breedveld F, van Venrooij WJ. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a Cyclic Citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 155-163.
17. Bizzaro N, Manzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of anti-citrulline Antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clinical Chemistry* 2001; 47: 1089-1093.
18. Aho K, Palosuo T, Heliövaara M, Knekt P, Alha P, von Essen R. Antifilaggrin antibodies within Normal range predict rheumatoid arthritis in a linear fashion. *J Rheumatol* 2000; 27: 2713-2716.
19. Kroot E, van de Jong BA, van Leeuwen A, Swinkels H, van den Hoogen FH, van t Hof M, van de Putte LB, van Rijswijk MH, van Venrooij WJ, van Riel PI. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1831-1835.
20. American College of Rheumatology Subcommittee on rheumatoid arthritis guidelines. Guidelines for the Management of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 328-346.
21. Lard L, Visser H, Speyer I, van dr Horst-Bruinsma IE, Zwinderman AH, Breedveld F, Hazes JM. Early versus Delayed Treatment in Patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison os two cohorts who received different treatment strategies. *Am J Med* 2001; 111: 446-451.
22. Bukhari MA, Wiles NJ, Lunt M, Harrison BJ, Scott DG, Symmons DP, Silman AJ. Influence of disease-modifying therapy on radiographic outcome in inflammatory polyarthritis at five years. Results from a large observational inception Study. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 46-53.
23. Dougados M, van dr linden S, Juhlin R, et al. The spondylarthropathy study group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 1218-1227.
24. Weinblatt ME, Kremer JM. A trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein, in patients with rheumatoid arthritis receiving metothrexate. *N Engl J Med* 1999; 340: 253-259.