

REVISIÓN - ACTUALIZACIÓN

## El laboratorio en la evaluación de la artritis reumatoide temprana

Publio Giovanni Saavedra R.<sup>1</sup>, Gloria María Vásquez D.<sup>2</sup>

### Resumen

El tratamiento de la artritis reumatoide (AR) ha cambiado considerablemente desde 1987. El objetivo es iniciar el manejo tan temprano como sea posible, antes que aparezcan los marcadores radiológicos de enfermedad establecida.

El epítoto compartido, una secuencia de aminoácidos codificada por alelos específicos del gen HLA-DR4, se asocia a AR en la mayoría de pacientes caucásicos. Este gen claramente predispone a la AR, pero debe decirse que mientras el HLA-DR4 puede predecir el curso más severo de la enfermedad, no logra una especificidad suficiente como para hacerlo útil clínicamente.

La determinación del factor reumatoide (FR) ha sido la prueba de laboratorio central en la artritis de inicio temprano, jugando un papel crítico en el diagnóstico y en menor medida para predecir el pronóstico de la AR.

Varios autoanticuerpos han demostrado recientemente mejor rendimiento que el FR y se han propuesto como marcadores diagnósticos y pronósticos en AR.

Schellekens *et al.* diseñaron un péptido citrulinado cíclico (CCP) sintético con argininas deiminadas para usarlo como antígeno en un ELISA para

anticuerpos anti-CCP. Este ensayo demostró una especificidad del 98% en pacientes con AR establecida y de 96% para pacientes con AR temprana. La sensibilidad fue del 68 y del 48% respectivamente. El FR es la prueba de oro en el soporte serológico del diagnóstico de la AR, pero tiene una especificidad del 90-95% dependiendo de la edad del individuo estudiado. Por lo tanto, la identificación de anticuerpos anti-CCP tiene el potencial de discriminar mejor entre pacientes con AR temprana de otras poliartritis inflamatorias.

**Palabras clave:** artritis reumatoide, factor reumatoide, anticuerpo anti-péptido citrulinado cíclico.

### Summary

The treatment of rheumatoid arthritis (RA) has changed considerably since 1987. The aim is to start treatment as early in the disease course as possible, preferably before the hallmarks of established disease such as radiographic erosions have developed.

The shared epitope, a sequence of amino acids encoded by specific alleles of the HLA-DR4 gene, is associated with RA in most Caucasian groups. This gene clearly predispose to RA, although it must be said that while HLA-DR4 may predict

---

1 MD, RI Reumatología. Universidad de Antioquia.

2 MD, Dsc. Docente Investigadora. GICIG-GRUA. Universidad de Antioquia.

---

Enviado para publicación: Noviembre 27/2003  
Aceptado en forma revisada: Febrero 13/2004

more severe disease, it does not achieve sufficient specificity to be of practical diagnostic value.

The determination of RF has been the central laboratory test performed in early onset arthritis, playing a critical role for both diagnosis and to lesser extent outcome prediction in RA.

Several additional autoantibodies have recently demonstrated better performance than RF and have been proposed as diagnostic and prognostic markers for RA.

Schellekens et al. designed a synthetic cyclic citrullinated peptide with deiminated arginines for use as the antigen in an ELISA for anti-CCP autoantibodies. This essay demonstrate an impressive specificity of 98% in patients with established RA and 96% in patients with early RA. The sensitivity was 68% and 48% in patients with established RA and early RA, respectively. RF is the gold standard test for serologic support of a diagnosis of RA but has a specificity of only 90-95% depending upon age of the individual tested. Therefore, detection of anti-CCP antibodies has the potential to better distinguish early RA from other non-RA inflammatory polyarthritis.

**Key words:** rheumatoid arthritis, rheumatoid factor, antibodies anti-cyclic citrullinated peptide.

## Introducción

El reconocimiento de la evolución a largo plazo de los pacientes con artritis reumatoide (AR) en los años ochenta generó un cambio muy grande en las estrategias dirigidas al manejo de esta entidad. El esquema tradicional preexistente de un tratamiento con antiinflamatorios no esteroides (AINES) por varios años seguidos por la introducción secuencial de agentes modificadores de enfermedad (DMARDS), conocido como la "pirámide" ha sido reemplazado por un manejo temprano, más agresivo y dirigido a lograr remisión. Así entonces en la actualidad la AR se considera una "emergencia médica"<sup>1</sup>, y el fin es "tratar ahora y no más tarde"<sup>2</sup>.

Todos estos argumentos han generado la necesidad de identificar cuáles pacientes con una poliartritis inflamatoria temprana tienen el potencial de presen-

tar una enfermedad destructiva y persistente con el fin de que este grupo de pacientes sean agresivamente tratados<sup>3</sup>.

Los criterios del Colegio Americano de Reumatología (ACR) han sido solo ocasionalmente evaluados en AR temprana y generalmente no han demostrado ser tan útiles como lo son en la enfermedad crónica establecida<sup>4</sup>. Vale la pena recordar que estos criterios fueron diseñados para clasificación y no para diagnóstico<sup>5</sup>. Modelos de predicción multivariados que incluyen parámetros clínicos (patrón y extensión del proceso inflamatorio), o de laboratorio (factor reumatoide [FR], proteína C reactiva y otros) han demostrado ser mejores predictores del pronóstico de pacientes con poliartritis inflamatoria.

Hablar de AR establecida es hablar de un estadio en la evolución de una entidad, ya que no es claro que la AR temprana sea una entidad diferente; en general en estadios tempranos más que acuñar un nombre a un diagnóstico lo que debe procurarse es establecer un riesgo. En la actualidad la evaluación de este riesgo se basa en la presencia de factores tales como la positividad del FR ya sea individualmente o en combinación, con detección de nuevos autoanticuerpos, o determinantes genéticos<sup>6</sup>.

## Determinantes genéticos

Una tasa de concordancia de un 30% en gemelos monocigotos sugiere un componente genético en el desarrollo de la AR. Es claro que varios factores genéticos modulan la susceptibilidad, el patrón de manifestaciones y el curso de la enfermedad. De manera prominente los genes del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) están involucrados. Esta afirmación se basa en estudios de concordancia de los Antígenos Leucocitarios Humanos (HLA) en hermanos afectados y además por un estudio realizado con "genome wide screen" en familias blancas con AR que evidenció una asociación significativa con el MHC<sup>7</sup>.

Los genes involucrados en el desarrollo de AR y otras enfermedades autoinmunes poseen un muy bajo valor predictivo del desarrollo de enfermedad<sup>8</sup>. Por esta razón la utilización del HLA como marcador de riesgo del desarrollo de AR en tamizajes poblacionales no es apropiado.

Hace ya dos décadas Stastny<sup>9</sup> describió la asociación de AR con el HLA-DR4, pero esta asociación no fue tan simple y posteriormente aparecieron evidencias que concluían que la asociación genética dependía de la variabilidad étnica. En la búsqueda de un denominador común se llevaron a cabo comparaciones en las secuencias de los DRB1 de los diferentes alelos asociados, esto permitió sugerir que la asociación con AR se encontraba determinada por una secuencia incluida en la tercera región hipervariable de cada uno de estos alelos, más que por el HLA-DR4, este “motivo” se denominó el “epítoto compartido” (SE, del inglés Shared Epítoto), el cual se encuentra en un 80-90% de los blancos con AR, ocupando las posiciones 70-74 y se caracteriza por la secuencia de aminoácidos: QRRAA, QKRAA o RRRAA.

Pero el SE varía en el grado de conferir riesgo, dependiendo del alelo en que él se encuentre. Por ejemplo, el SE en el contexto de DR1 confiere un riesgo menor que cuando este ocurre en el contexto del DR4 ya que todos los alelos no son idénticos en su capacidad de conferir riesgo. Algunos estudios han sugerido que el número de copias que contengan el SE, dosis, tiene importancia en la severidad de la AR<sup>10</sup>.

Se ha descrito que muchos de los alelos que contienen SE poseen sutiles diferencias en su secuencia de aminoácidos y es posible que estas variaciones menores tengan implicaciones funcionales.

Pero conociendo que el HLA no es útil para tamizaje diagnóstico lo que nos interesa es su utilidad como predictor de enfermedad severa en pacientes con AR temprana. Los primeros estudios de la influencia de la inmunogenética en la progresión de la destrucción articular encontraron una frecuencia incrementada de HLA-DR4 en pacientes con enfermedad erosiva cuando el análisis se restringió a cierto grupo de pacientes, pero la positividad del DR4 no necesariamente se asocia con un mal pronóstico a tres años<sup>11</sup>. Posteriormente un número de estudios retrospectivos demostraron una asociación del HLA-DR4 con enfermedad erosiva<sup>7</sup>.

El estudio prospectivo de Leipzig, en la clínica de AR temprana, demostró que los pacientes positivos para el DRB1\*04 tenía un riesgo 14 veces mayor de desarrollar enfermedad erosiva<sup>12</sup>.

El diseño de estudio de la cohorte de Norfolk (NOAR) ha permitido distinguir entre aquellos factores genéticos que influyen en la susceptibilidad y aquellos que influyen en la persistencia o severidad de la enfermedad. En un estudio familiar de 208 pacientes con diagnóstico temprano de AR y utilizando sus amigos como controles, se encontró que no había un incremento en los casos de AR en familiares de primer grado<sup>13</sup>. Un análisis preliminar mostró sólo una débil asociación entre HLA-DRB1\*04 y DRB1\*01 de desarrollar AR, en este estudio no se incluyeron los subtipos de DRB1\*04<sup>14</sup>.

Un estudio posterior, más grande con 608 pacientes, evaluando esta misma cohorte evidenció también una modesta asociación entre poliartritis inflamatoria y el epítoto compartido. Pero el riesgo de desarrollar una poliartritis inflamatoria en el grupo de personas \*0404 fue de 17,9 (95% CI 4,2-77,8), similar al de desarrollar AR<sup>15</sup>.

Con respecto a la evolución, el epítoto compartido no fue capaz de predecir una enfermedad más agresiva en la cohorte de NOAR, sólo en aquellos pacientes FR negativo el alelo \*0404 se asoció a mayor número de erosiones radiológicas y se asoció también a una mayor mortalidad por todas las causas y por causas cardiovasculares<sup>16-17</sup>.

Por su parte los estudios holandeses basados en hallazgos de una contribución muy limitada del epítoto compartido al desarrollo de AR trabajaron en una nueva hipótesis en la cual los alelos DR eran protectores y algunos alelos DQ se asociaban más a enfermedad. Estos alelos DR protectores compartían una secuencia de aminoácidos común, la “DERAA” en la región hipervariable 3 (HV3) de la proteína. Estudios realizados en esta población en una clínica de artritis reumatoide temprana evidenciaron una fuerte predisposición en los individuos portadores de DQ3 y DQ5, pero si estos DQ se acompañaban de alelos DR portadores de la secuencia “DERAA” se observaba un efecto dominante negativo<sup>18-19</sup>.

Igualmente este modelo protector fue capaz de predecir en esta población los pacientes con capacidad de entrar en remisión o pacientes que evolucionaron a una enfermedad erosiva<sup>19</sup>.

Igualmente importante es la capacidad de la presencia del SE de predecir la respuesta o no a un tratamiento específico, el reciente estudio de O'Dell

evidenció que los pacientes positivos para el SE respondían en un 50 % a la combinación de metotrexate, sulfasalazina e hidroxiclороquina, comparados a cuando solo se utilizaba metotrexate, por su parte los pacientes negativos para SE respondían bien independiente del tratamiento. Adicionalmente, los pacientes SE positivos o negativos respondieron igualmente bien a la terapia combinada<sup>20</sup>.

### **Autoanticuerpos. Factor reumatoide**

Descrito hace 75 años, el factor reumatoide (FR) es un anticuerpo dirigido contra la fracción cristalizante de la Ig G, encontrado en aproximadamente un 75% de los pacientes con AR, su especificidad es limitada y se encuentra en pacientes con otras enfermedades autoinmunes y en cierto porcentaje de personas sanas (3-5%) o individuos ancianos (3-10%). Aun con su baja especificidad el FR se utiliza ampliamente en el diagnóstico de AR. No es claro si el FR está relacionado con los síntomas de la AR, aunque sí se conoce que el FR es encontrado más a menudo en aquellos casos de enfermedad agresiva. En estos casos los títulos se han relacionado linealmente con la severidad de la inflamación<sup>21</sup>. La presencia de FR es uno de los criterios del Colegio Americano de Reumatología, se determina en la mayoría de los laboratorios mediante un test sencillo y económico. Múltiples estudios se han llevado a cabo para establecer la incidencia, naturaleza y especificidad del FR en AR.

En estudios como el llevado a cabo en la cohorte de Norfolk, en la que se incluyeron 439 pacientes y se siguieron con el índice de Larsen a los 24 meses y a los 5 años, la presencia de factor reumatoide en títulos mayores que 1/640 se asoció con una progresión del índice de Larsen en 2-3 veces<sup>22</sup>.

Evaluaciones del FR por ELISA o por Latex demostraron ser útiles en apoyar el diagnóstico de una AR aun en estadios tempranos de evolución<sup>23</sup>.

### **Anticuerpos dirigidos contra el péptido cíclico citrulinado (anti-CCP)**

Recientemente, se describió que anticuerpos encontrados en pacientes con AR se unían a determi-

nantes antigénicos que contenían un aminoácido poco usual, ya que se encontraba citrulinado, lo que implicaba la modificación postranslacional de los residuos de arginina por la enzima peptidil arginina deaminasa<sup>24</sup>. Los anticuerpos dirigidos contra los sustratos citrulinados son los mismos que reconocen al factor perinuclear (APF) y antikeratina (AKA), estos anticuerpos se detectan en un 80% de los pacientes con AR<sup>24</sup>.

Los péptidos sintéticos son, en principio, ideales como sustratos antigénicos. Péptidos con una secuencia definida pueden producirse en grandes cantidades con un alto grado de pureza, adicionalmente la modificación de péptido lineal a cíclico aumenta la afinidad de los anticuerpos, por mejorar las condiciones estéricas de la reacción (Schellekens *et al.*, 1998)<sup>24-25</sup>.

Múltiples estudios se han realizado para evaluar la sensibilidad de los anti-CCP en el diagnóstico de AR, de 2848 sueros evaluados en ocho diferentes estudios se encontró una sensibilidad de 78%. En esta misma población la especificidad fue de 96%. En contraste la sensibilidad del FR fue de 74% con una especificidad de sólo el 65% (Axis-Shield company).

Un estudio en el cual se colectaron 249 sueros enviados a un servicio de reumatología y se evaluaron para la presencia de FR y de anti-CCP, permitió evidenciar que la sensibilidad y especificidad de los anti-CCP fue de 66 y 90,4%, respectivamente. La sensibilidad y especificidad del FR fue por su parte de 71,6 y 80,3%. Adicionalmente, 10/29 (34%) de los pacientes que fueron FR negativo con AR mostraron positividad en los anti-CCP. Así, la presencia de ya sea FR o anti-CCP incrementa la sensibilidad para el diagnóstico de AR a 81,4%, la presencia de ambos demostró una especificidad de 91,4%, muy semejante a la de la positividad contra anti-CCP aislado<sup>26</sup>.

Con respecto a la capacidad de los autoanticuerpos de permitir la diferenciación en pacientes con poliartritis no-diferenciada vs. AR temprana, ha sido también evaluada. Por ejemplo, un total de 379 pacientes fueron estudiados para FR y presencia de anti-CCP, 258 de ellos fueron diagnosticados como AR, 121 como poliartritis no-diferenciada, la com-

binación de FR positivo > 40 UI/ml y de anti-CCP > 50 UA/ml, mostró una alta especificidad (97,5%) pero una baja sensibilidad (33,3%)<sup>27</sup>. De otro lado 282 pacientes con sinovitis de más de 2 articulaciones y con una evolución menor a 2 años fueron evaluados con FR y anti-CCP, encontrándose que 32% de los pacientes fueron positivos para anti-CCP, la presencia de anti-CCP se correlacionó con la progresión hacia una enfermedad erosiva en el seguimiento a 2 años, aunque no con el grado de incapacidad. Esto permitió afirmar que el hallazgo de anticuerpos anti-CCP podía predecir una enfermedad moderada y más en el subgrupo de pacientes FR negativo<sup>28</sup>. Por su parte, un estudio con 191 pacientes con AR de inicio menor de un año, permitió evidenciar que 58,9 % de los pacientes fueron positivos para anti-CCP, además evidenciaron que el ELISA para anti-CCP tenía una buena capacidad de predecir el desarrollo de enfermedad erosiva a los cinco años de seguimiento<sup>29</sup>.

Dentro de los modelos creados para predecir el desarrollo de una enfermedad erosiva y persistente se han incluido algunos parámetros de laboratorio como son la positividad del FR y los anti-CCP, fortaleciendo la capacidad predictiva de estos modelos. Por su parte los estudios genéticos aún son dudosos y en los modelos de Visser y cols.<sup>30</sup> sólo el DQ<sup>RA</sup> mostró alguna capacidad de incrementar el valor predictivo.

Recientemente se espera que la detección temprana en fase preclínica de anticuerpos sea capaz de predecir el desarrollo de la enfermedad. Publicaciones como las de Arbuckle<sup>31-32</sup>, en las que se describen estudios retrospectivos de casos y controles, en las cuales se encontró un 55% de 133 pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES), tenían anticuerpos dirigidos contra el DNA de doble cadena (anti-DNA<sub>dc</sub>) en sueros colectados hasta 9,4 años previos a la enfermedad.

Por su parte en AR, la reciente publicación de Rantapää-Dahlqvist y cols., concluye que la positividad de los anti-CCP y el FR en todos sus isotipos predice con una media de 2,5 años previos el inicio de la AR. Los anti-CCP presentaron el mayor valor predictivo. Esto sugiere que la citrulinación y la producción de los anti-CCP y el FR son eventos tempranos en el proceso de la AR<sup>33</sup>.

Todos estos hallazgos permiten afirmar que en el desarrollo de la AR se dan tres fases: una fase I en la que se posee el riesgo genético, una fase II o preclínica en la que pueden detectarse autoanticuerpos como el FR o los anti-CCP y posiblemente células T autoreactivas, y una fase III o fase clínica en la que se detectan los signos y síntomas, las alteraciones radiológicas, persisten los autoanticuerpos y posiblemente existan células T patogénicas<sup>34</sup>.

Esperamos que los avances en genética e inmunología molecular permitan detectar con precisión los pacientes tempranamente y así brindar unas opciones terapéuticas más precisas y eficientes.

## Referencias

1. Pincus T. Rheumatoid arthritis: a medical emergency? *Scand J Rheumatol* 1994; 100: 21-30.
2. Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis: treat now, not later! *Ann Intern Med* 1996; 124: 773-774.
3. Symmons DP. Epidemiology of rheumatoid arthritis: determinants of onset, persistence and outcome. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2002; 16: 707-722.
4. Harrison BJ et al. The performance of the 1987 ARA classification criteria for Rheumatoid arthritis in a population based cohort of patients with early inflammatory polyarthritis. American Rheumatism Association. *J Rheumatol* 1998; 25(12): 2324-2330.
5. Schumacher HR et al. Diagnosing early rheumatoid arthritis. What are the problems and opportunities? *Clin Ep Rheumatol* 2003; 45 (5 suppl 31): 515-519.
6. Symmons DP, Hazes JM, Silman AJ. Cases of early inflammatory polyarthritis should not be classified as having rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 902-904.
7. Wassmuth R, Wagner U. Prognostic use of human leukocyte antigen genotyping for Rheumatoid arthritis susceptibility, disease course and clinical stratification. *Rheum Dis Clin North Am* 2002; 28(1): 17-37.
8. Jawaheer D, Gregersen PK. Rheumatoid arthritis. The genetic components. *Rheum. Dis. Clin. North Am* 2002; 28: 1-15.
9. Stastny P. Association of the B-cell alloantigen DRw4 with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 1978; 298: 869-871.
10. Weyand CM, Goronzy JJ. Disease-associated human histocompatibility leukocyte antigen determinants in patients with seropositive rheumatoid arthritis. Functional role in antigen-specific and allogeneic T cell recognition. *J Clin. Invest* 1990; 85: 1051-1057.
11. Silman AJ, Reeback J, Jaraquemada D. HLA-DR4 as a predictor of outcome three years after onset of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 1986; 6: 233-235.
12. Wagner U, et al. HLA markers and prediction of clinical course and outcome in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 341-351.
13. Jones MA, Silman AJ, Whiting S, Barrett EM & Symmons D.P. Occurrence of rheumatoid arthritis is not increased in the first degree relatives of a population based inception

- cohort of inflammatory polyarthritis. *Ann Rheum Dis* 1996; 55: 89-93.
14. Thomson W. et al. Absence of an association between HLA-DRB1\*04 and rheumatoid arthritis in newly diagnosed cases from the community. *Ann. Rheum. Dis.* 1993; 52: 539-541.
  15. Thomson W. et al. Quantifying the exact role of HLA-DRB1 alleles in susceptibility to inflammatory polyarthritis: results from a large, population-based study. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 757-762.
  16. Godson NJ, et al. Mortality in early inflammatory polyarthritis: cardiovascular mortality is increased in seropositive patients. *Arthritis Rheum* 2002; 46(8): 2010-2019.
  17. Harrison, B.J. et al. The influence of HLA-DRB1 alleles and rheumatoid factor on disease outcome in an inception cohort of patients with early inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2174-2183.
  18. Van der Horst-Bruisnma I.E et al. HLA-DQ associated predisposition to an dominant HLA-DR associated protection against rheumatoid arthritis. *Hum Immunol* 1999; 60(2): 152-158.
  19. Vos K et al. Evidence for a protective role of the human leukocyte antigen class II region in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology. (Oxford)* 2001; 40: 133-139.
  20. O'Dell JR et al. HLA-DRB1 typing in rheumatoid arthritis: predicting response to specific treatments. *Ann Rheum Dis* 1998; 57 (4): 209-213.
  21. 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.
  22. Bukhari M. et al. Erosions in inflammatory polyarthritis are symmetrical regardless of rheumatoid factor status: results from a primary care-based inception cohort of patients. *Rheumatology. (Oxford)* 2002; 41: 246-252.
  23. Saraux A. et al. Value of laboratory tests in early prediction of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 47: 155-165.
  24. Schellekens GA et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis specific antibodies. *J Clin Invest* 1998; 101(1): 273-281.
  25. Schellekens GA et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43(1): 155-163.
  26. Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 870-874.
  27. Annemarie LMA et al. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptide differentiate rheumatoid arthritis from indifferiated polyarthritis in patients with early arthritis. *J Rheumatol* 2002; 29: 2074-2076.
  28. Jansen LM et al. The predictive value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in early arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 1691-1695.
  29. Meyer O et al. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 120-126.
  30. Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC. & Hazes JM. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 357-365.
  31. Arbuckle MR et al. Development of anti-dsDNA autoantibodies prior to clinical diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Scand. J Immunol* 2001; 54: 211-219.
  32. Arbuckle MR et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 1526-1533.
  33. Rantapaa-Dahlqvist S. et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2741-2749.
  34. Majka DS & Holers VM. Can we accurately predict the development of rheumatoid arthritis in the preclinical phase? *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2701-2705.