



# REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br



## Artigo original

# Independência de isoformas de transferrina deficiente em carboidrato e peptídeos citrulinados cíclicos na artrite reumatoide



Monika Gudowska<sup>a</sup>, Ewa Gindzienska-Sieskiewicz<sup>b</sup>, Ewa Gruszewska<sup>a</sup>,  
Bogdan Cylwik<sup>c</sup>, Stanislaw Sierakowski<sup>b</sup>, Maciej Szmitkowski<sup>a</sup> e Lech Chrostek<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Medical University of Białystok, Department of Biochemical Diagnostics, Białystok, Polônia

<sup>b</sup> Medical University of Białystok, Department of Rheumatology and Internal Medicine, Białystok, Polônia

<sup>c</sup> Medical University of Białystok, Department of Pediatric Laboratory Diagnostics, Białystok, Polônia

## INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 9 de abril de 2015

Aceito em 5 de janeiro de 2016

On-line em 3 de março de 2016

Palavras-chave:

Anticorpos anti-peptídeos  
citrulinados cíclicos  
Transferrina deficiente em  
carboidrato  
Fator reumatoide  
Artrite reumatoide

## R E S U M O

**Objetivo:** Avaliar a relação entre os dois tipos de modificações pós-translacionais de proteínas na AR: glicosilação no caso da transferrina deficiente em carboidrato (TDC) e citrulinização por meio dos anticorpos no caso do anti-peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP).

**Métodos:** O estudo foi feito em 50 pacientes com AR. A TDC foi medida com o teste imunofelométrico N Latex CDT e os resultados foram apresentados em unidades absolutas e relativas. O anti-CCP foi mensurado com o método quimioluminescente e o fator reumatoide (FR) pelo método imunoturbidimétrico.

**Resultados:** Dos pacientes com AR, 80% foram positivos para anti-CCP, 70% para FR e 62% para ambos (anti-CCP e FR). A percentagem de transferrina total (%TDC) esteve significativamente elevada, mas o nível absoluto de TDC não esteve alterado. A concentração média de TDC absoluta foi maior nos pacientes anti-CCP positivos do que naqueles anti-CCP negativos. A TDC (concentração absoluta e relativa) não se correlacionou com o anti-CCP e o FR. No entanto, o FR sérico se correlacionou significativamente com o anti-CCP. O percentual de TDC não se correlacionou com o anti-CCP, mas seu nível absoluto se correlacionou com o anti-CCP apenas em pacientes FR negativos e anti-CCP negativos. A TDC não se correlacionou com o FR, somente com o anti-CCP em pacientes anti-CCP negativos. O anti-CCP se correlacionou com o DAS 28 apenas nos pacientes com AR anti-CCP negativos, mas a TDC (unidades absolutas e relativas) se correlacionou com o DAS 28 quando considerados todos os pacientes com AR e em pacientes com AR anti-CCP positivos.

**Conclusões:** Esses resultados sugerem que as alterações na TDC e as concentrações de anti-CCP não estão associadas e indicam a independência dessas modificações pós-translacionais na artrite reumatoide. Apenas as alterações na glicosilação da transferrina refletem a atividade da AR.

© 2016 Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

\* Autor para correspondência.

E-mail: [chrostek@umb.edu.pl](mailto:chrostek@umb.edu.pl) (L. Chrostek).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2016.01.001>

0482-5004/© 2016 Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Independence of carbohydrate-deficient isoforms of transferrin and cyclic citrullinated peptides in rheumatoid arthritis

### A B S T R A C T

#### Keywords:

Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies  
Carbohydrate-deficient transferrin  
Rheumatoid factor  
Rheumatoid arthritis

**Objective:** The aim of this study was to assess the relationship between the two types of posttranslational modifications of proteins in RA: glycosylation on the example of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) and citrullination by means of autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (anti-CCP).

**Methods:** The study was carried out in 50 RA patients. CDT was measured using N Latex CDT immunonephelometric test, the results were presented in absolute and relative units. Anti-CCP were measured using the chemiluminescent method and rheumatoid factor (RF) by immunoturbidimetric method.

**Results:** 80% of RA patients were positive for anti-CCP, 70% for RF and 62% for both, anti-CCP and RF. The level of %CDT was significantly elevated, but absolute CDT level was not changed. The mean absolute CDT concentration was higher in anti-CCP positive patients than that in anti-CCP negative. CDT (absolute and relative concentration) did not correlate with anti-CCP and RF. However, serum RF significantly correlated with anti-CCP. %CDT did not correlate with anti-CCP, but absolute level correlated with anti-CCP only in anti-CCP negative and RF negative patients. CDT did not correlate with RF, but solely with anti-CCP in anti-CCP negative patients. Anti-CCP correlated with DAS 28 only in anti-CCP negative RA, but CDT (absolute and relative units) correlated with DAS 28 in all patients and in anti-CCP positive RA.

**Conclusions:** These results suggest that the changes in CDT and anti-CCP concentrations are not associated with oneself and indicate on the independence of these posttranslational modifications in rheumatoid arthritis. Only the alterations in transferrin glycosylation reflected the activity of RA.

© 2016 Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introdução

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune crônica dos tecidos conjuntivos, que conta com o aparecimento de vários tipos de autoanticorpos.<sup>1</sup> Os autoanticorpos específicos produzidos na AR têm sido associados a modificações pós-translacionais de proteínas e peptídeos.<sup>2</sup> Essas envolvem modificações na glicosilação, citrulinização, metilação, acetilação e ubiquitinação que ocorrem em condições fisiológicas e têm um importante papel no funcionamento normal do sistema imune.<sup>3</sup> O primeiro tipo de autoanticorpos encontrado em pacientes com AR foi o fator reumatoide (FR), que é um autoanticorpo do domínio Fc da IgG. Encontrou-se que as alterações na glicosilação (galactosilação/sialilação) da IgG estão associadas à patogênese da AR e podem ser úteis do ponto de vista diagnóstico e terapêutico.<sup>4</sup> Foram feitos estudos para reconhecer as alterações na glicosilação de outras glicoproteínas, como a IgA, a alfa 1-glicoproteína ácida, a fibronectina, a haptoglobina e a transferrina. A transferrina humana existe como uma população heterogênea de variantes glicosiladas que diferem na composição de carboidratos.<sup>5</sup> Em pessoas saudáveis, ocorrem principalmente glicofomas tetrasialiladas; as glicofomas que carecem de um ou ambos N-glicanos completos são chamadas de transferrina deficiente em carboidrato (TDC).<sup>5</sup> Assume-se que a TDC é soma de três isoformas: asialotransferrina, monosialotransferrina e disialotransferrina. A glicosilação da transferrina no plasma muda na artrite reumatoide e pode levar ao aumento no

nível de TDC.<sup>6</sup> A modificação pós-translacional recentemente descoberta na AR é a citrulinização.<sup>7</sup> Trata-se da conversão enzimática da arginina em citrulina, catalisada pela peptidilarginina deiminase (PAD). Em pacientes com AR, a PAD pode extravasar das células que morrem nas articulações sinoviais, que podem citrulinar a arginina e produzir peptídeos citrulinados cíclicos (CCP).<sup>8,9</sup> Autoanticorpos contra CCP são considerados biomarcadores diagnósticos e prognósticos precoces na AR.<sup>10</sup> A sua presença em pacientes AR-negativos indica uma AR precoce com pior prognóstico.<sup>8</sup> Foram detectadas muitas proteínas citrulinadas em pacientes com AR, como fibrinogênios, vimentina, enolase e colágeno tipo II.<sup>3</sup>

O objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre os diferentes tipos de modificações pós-translacionais – glicosilação e citrulinização – na AR, por meio da concentração de TDC e anti-CCP.

## Material e métodos

O estudo foi feito em 50 pacientes com AR (41 mulheres, nove homens, média de 53 anos) recrutados do Departamento de Reumatologia e Doenças Internas (Universidade Médica de Białystok). O diagnóstico de AR foi confirmado de acordo com os critérios estabelecidos pelo American College of Rheumatology (ACR). Os pacientes foram entrevistados em relação ao uso de álcool. Os pacientes consumiam álcool apenas ocasionalmente.

**Tabela 1 – Resultados dos exames laboratoriais em pacientes com artrite reumatoide e controles**

	PCR (mg/L)	FR (UI/mL)	IgG (g/L)	TDC (mg/L)	% TDC	Anti-CCP (U/L)
AR (n = 50)	22,96 ± 25,54 p = 0,000 <sup>a</sup>	172,23 ± 229,37 p < 0,01 <sup>a</sup>	11,79 ± 3,06 p = 0,904	42,70 ± 69,40 p = 0,564	2,03 ± 0,24 p < 0,01 <sup>a</sup>	185,42 ± 325,02 p = 0,000 <sup>a</sup>
Controles (n = 33)	1,04 ± 0,78	21,58 ± 1,23	11,43 ± 1,42	42,52 ± 9,23	1,77 ± 0,22	0,57 ± 0,21

Os dados são expressos com a média e o desvio padrão.  
<sup>a</sup> p < 0,05 para as diferenças entre os pacientes com AR e o grupo controle (Teste U de Mann-Whitney).

O grupo controle consistiu de 33 indivíduos saudáveis (média de idade de 41 anos) recrutados entre os funcionários do hospital. Coletaram-se amostras de sangue por punção venosa, após 12 horas de jejum. Todos os indivíduos (saudáveis e com AR) deram o seu consentimento informado para participar do estudo. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Bioética da Universidade de Medicina de Bialystok e foi feito de acordo com a Declaração de Helsinque.

A atividade da AR foi determinada pelo escore de atividade da doença (DAS 28) de acordo com a fórmula:

$$\text{DAS 28} = 0,56 * \sqrt{(t28)} + 0,28 * \sqrt{(s28)} + 0,7 * \ln(\text{VHS}) + 0,014 * \text{VAS}$$

Foram usadas nessa fórmula a quantidade de articulações dolorosas (t28), a quantidade de articulações inchadas (s28), a velocidade de hemossedimentação (VHS) e a escala visual analógica (EVA). A baixa atividade da AR (DAS 28 entre 2,6 e 3,2) não foi detectada; 27,08% dos pacientes apresentaram atividade da doença moderada (DAS 28 entre 3,2 e 5,1); e foi encontrada alta atividade da doença (DAS 28 acima de 5,1) em 72,92%. A TDC foi medida por meio do teste imunonefelométrico N Latex CDT no analisador BN II (Siemens Healthcare Diagnostics, Somerville, USA). Os resultados foram fornecidos como unidades absolutas de TDC (mg/L) e percentagem da transferrina total (%TDC). Os anticorpos anti-peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) foram medidos no analisador Architect i2000. Os resultados acima de 5 U/L são considerados negativos e  $\geq 5,0$  U/L positivos. Determinaram-se os valores de fator reumatoide (FR; valores normais < 30 UI/mL), proteína C-reativa (PCR; intervalo normal de: 0,8 a 1,2 mg/L) e imunoglobulina G (IgG; intervalo normal de 5,52 a 16,31 g/L) com métodos imunoturbidimétricos no c8000 Architect (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, EUA). A VHS (mm/h) foi medida pelo método de Westergren no Sediplus S 2000 (Sarstedt, Alemanha).

### Análise estatística

As diferenças entre os grupos teste e controle foram avaliadas pelo teste U de Mann-Whitney. Consideraram-se valores de p < 0,05 como estatisticamente significativos. A correlação entre as variáveis foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman.

### Resultados

Os resultados dos exames laboratoriais em pacientes com AR e controles são apresentados na [tabela 1](#). Os níveis médios de

PCR, FR, %TDC e anti-CCP foram significativamente mais elevados nos pacientes com artrite reumatoide em comparação com o grupo controle. Dos pacientes com AR, 80% eram positivos para anti-CCP, 70% para FR e 62% para ambos (anti-CCP e FR).

A concentração de TDC não se correlacionou com o anti-CCP quando considerados todos os pacientes com AR ([tabela 2](#)), exceto nos indivíduos anti-CCP negativos ( $r = 0,696$ ) e FR negativos ( $r = 0,629$ ). A comparação dos níveis de TDC (unidades absolutas) em relação às concentrações de anti-CCP e FR apresentou diferença estatisticamente significativa apenas ao considerar os níveis de anti-CCP. Nos pacientes anti-CCP positivos, a concentração de TDC ( $43,1 \pm 7,4$  mg/L) era significativamente mais elevada do que em indivíduos anti-CCP negativos ( $38,9 \pm 2,4$  mg/L) ( $p = 0,022$ ) ([fig. 1](#)).

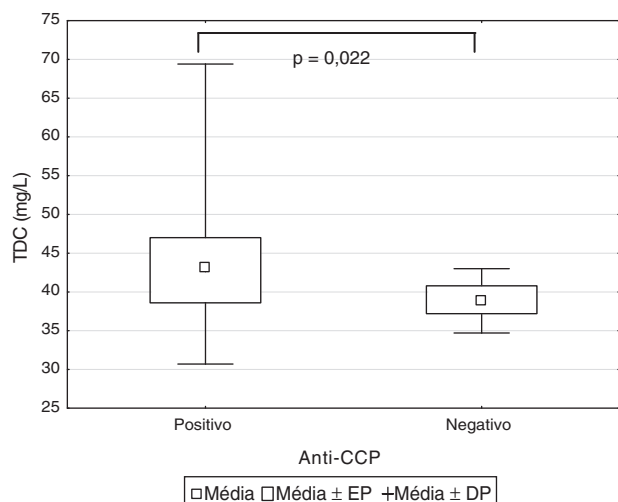
A concentração de TDC (unidades absolutas e relativas) se correlacionou com a atividade de AR (ou seja, com a pontuação no DAS 28) quando considerados todos os pacientes com AR ([tabela 3](#)). A alta atividade da AR está associada a uma baixa concentração de TDC absoluta e alta concentração relativa de TDC. A TDC (expressa em ambas as unidades) se correlacionou com o DAS 28 independentemente dos níveis de anti-CCP, exceto a TDC% em pacientes FR positivos. A concentração de anti-CCP não se correlacionou com o DAS 28 quando considerados todos os pacientes com AR, exceto nos indivíduos anti-CCP negativos.

A TDC não se correlacionou com o FR quando considerados todos os pacientes com AR, exceto ao se considerarem os valores de anti-CCP e FR (positivos ou negativos) ( $p > 0,05$  para cada comparação). Ao contrário, o anti-CCP se correlacionou com o FR quando considerados todos os pacientes com AR ( $R = 0,348$ ;  $p = 0,019$ ) e nos indivíduos anti-CCP negativos ( $R = 0,750$ ;  $p = 0,032$ ).

**Tabela 2 – Correlação entre a TDC e o anti-CCP**

	Teste	R	p
Todos os pacientes com AR	TDC	0,088	0,547
	% TDC	0,033	0,821
Anti-CCP positivo	TDC	-0,212	0,195
	% TDC	-0,069	0,677
Anti-CCP negativo	TDC	0,696	0,025 <sup>a</sup>
	% TDC	0,364	0,301
FR positivo	TDC	-0,063	0,741
	% TDC	0,223	0,235
FR negativo	TDC	0,629	0,012 <sup>a</sup>
	% TDC	-0,016	0,954

<sup>a</sup> Correlação significativa.



**Figura 1 – Concentração de TDC em pacientes anti-CCP positivos e negativos.**

**Tabela 3 – Correlação do DAS 28 com o anti-CCP e TDC**

	Teste	R	P
<i>Correlação entre o DAS 28 e a TDC</i>			
Todos os pacientes com AR	TDC	-0,350	0,014 <sup>a</sup>
	% TDC	0,321	0,026 <sup>a</sup>
Anti-CCP positivo	TDC	-0,446	0,003 <sup>a</sup>
	% TDC	0,324	0,047 <sup>a</sup>
Anti-CCP negativo	TDC	0,567	0,112
	% TDC	0,627	0,070
FR positivo	TDC	-0,306	0,094
	% TDC	0,399	0,026 <sup>a</sup>
FR negativo	TDC	-0,428	0,144
	% TDC	0,319	0,288
<i>Correlação entre o DAS 28 e o anti-CCP</i>			
Todos os pacientes com AR		0,050	0,739
Anti-CCP positivo		0,193	0,246
Anti-CCP negativo		0,748	0,020 <sup>a</sup>
FR positivo		0,113	0,550
FR negativo		-0,198	0,517

<sup>a</sup> Correlação estatisticamente significativa.

O DAS 28 não diferiu entre os pacientes anti-CCP positivos ( $5,63 \pm 1,37$  U/L) e anti-CCP negativos ( $6,14 \pm 1,20$  U/L) ( $p=0,337$ ) e entre indivíduos FR positivos ( $5,84 \pm 1,22$  U/L) e FR negativos ( $5,06 \pm 1,41$  U/L) ( $p=0,113$ ). O valor de FR foi significativamente maior em indivíduos com AR anti-CCP positivos ( $176 \pm 216$  UI/mL) do que naqueles anti-CCP negativos ( $142 \pm 307$  UI/mL) ( $p=0,047$ ), mas o anti-CCP não diferiu entre os pacientes com AR FR positivos ( $222 \pm 378$  U/L) em comparação com aqueles FR negativos ( $117 \pm 224$  U/L) ( $p=0,126$ ).

## Discussão

O presente estudo mostrou uma ausência de associação entre a concentração de isoformas de transferrina deficiente em carboidratos (TDC) e o nível de proteínas e peptídeos citrulinados medido por autoanticorpos (anti-CCP) em pacientes

com AR. Considerando-se a relação entre o anti-CCP ou TDC e o escore de atividade da doença (DAS 28), houve apenas associação com a concentração de TDC. Os resultados do presente estudo estão de acordo com os estudos de Serdaroglu et al.<sup>11</sup> e Aridogan et al.,<sup>12</sup> que mostraram não haver correlação significativa entre o anti-CCP e o DAS 28. Similarmente, eles não encontraram diferença estatisticamente significativa no DAS 28 entre indivíduos anti-CCP negativos e positivos e entre indivíduos FR positivos e negativos. Do mesmo modo, eles encontraram diferenças significativas no FR entre pacientes com AR anti-CCP positivos e negativos. Um único estudo, o de Önder et al., revelou que o anti-CCP esteve positivamente associado a maiores escores no DAS-28, enquanto esses não estiveram associados à VHS e à PCR.<sup>13</sup> Em outro estudo, foi observada uma correlação fraca entre os anti-CCP e o DAS 28, mas todos os pacientes com AR eram positivos para anti-CCP.<sup>14</sup> Embora não tenha sido encontrada correlação entre a TDC e o anti-CCP na AR, houve associação entre dois marcadores sorológicos da AR, o FR e o anti-CCP. A TDC se correlacionou com o anti-CCP apenas em pacientes FR negativos e anti-CCP negativos, embora em pacientes com artrite reumatoide soronegativos. Esse fenômeno pode ser responsável pela concentração significativamente maior de TDC em pacientes com AR anti-CCP-positivos do que em anti-CCP-negativos. Contudo, conforme demonstrado por Aridoğan et al.,<sup>12</sup> os anticorpos contra o CCP eram mais específicos para a AR do que o FR (100% versus 96,8%) e o anti-CCP não se correlacionou com a atividade da doença (DAS 28), mas com o FR. A acurácia diagnóstica (área sob as curvas ROC) do anti-CCP também foi mais elevada do que a do FR.<sup>15</sup> A ausência de correlação entre a atividade da doença e o anti-CCP e a sua existência concomitante ao TDC pode ser indicada pela diferença dependente do tempo na atividade dessas duas modificações pós-translacionais diferentes das proteínas. O DAS 28 indica a atividade da doença em curso, mas a ativação da DAP e a citrulinização de várias proteínas ultrapassam os sintomas clínicos da doença, embora as alterações na glicosilação da transferrina sejam paralelas ao desenvolvimento da doença. Hamad et al. também descobriram que a presença de um nível elevado de anti-CCP não está associada a uma maior atividade da doença.<sup>16</sup> No entanto, a positividade para anti-CCP e o título se correlacionaram com a duração da doença, o que pode reforçar nossa hipótese sobre a mudança dependente do tempo na citrulinização em relação à glicosilação na AR. O anti-CCP pode ser encontrado no início do curso da AR, até mesmo anos antes do aparecimento dos sintomas clínicos.<sup>17</sup> É muito interessante que o status de anti-CCP pode mudar (de negativo para positivo e vice-versa) após três anos do início da AR e a média do nível sérico de anti-CCP declinar ao longo dos anos.<sup>18</sup>

A principal conclusão deste estudo é que, em pacientes com AR, as mudanças na glicosilação da transferrina medidas por meio de isoformas deficientes em carboidratos (TDC) não estão relacionadas com a citrulinização, outro tipo de modificação pós-translacional na AR.

## Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## REFERÊNCIAS

1. 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(2):357-65.
2. Burska AN, Hunt L, Boissinot M, Strollo R, Ryan BJ, Vital E, et al. Autoantibodies to posttranslational modifications in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:492873.
3. György B, Toth E, Tarcsa E, Falus A, Buzas EI. Citrullination: a posttranslational modification in health and disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2006;38(10):1662-77.
4. Axford JS. Glycosylation and rheumatic disease. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1455(2-3):219-29.
5. Stibler H. Carbohydrate-deficient transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clin Chem.* 1991;37(12):2029-37.
6. Gruszevska E, Chludzinska A, Chrostek L, Cylwik B, Gindzienska-Sieskiewicz E, Szmitkowski M, et al. Carbohydrate-deficient transferrin depends on disease activity in rheumatoid arthritis and systemic sclerosis. *Scand J Rheumatol.* 2013;42(3):203-6.
7. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum.* 2000;43(1):155-63.
8. Vossenaar ER, van Venrooij WJ. Citrullinated proteins: sparks that may ignite the fire in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2004;6(3):107-11.
9. Utz PJ, Genovese MC, Robinson WH. Unlocking the PAD lock on rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2004;63(4):330-2.
10. Manivelavan D, Vijayasamundeeswari CK. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody: an early diagnostic and prognostic biomarker of rheumatoid arthritis. *J Clin Diagn Res.* 2012;6(8):1393-6.
11. Serdaroğlu M, Çakırbay H, Değer O, Cengiz S, Kul S. The association of anti-CCP antibodies with disease activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2008;28(10):965-70.
12. Aridoğan BC, Kaya S, Savaş S, Cetin ES, Akkuş S, Demirci M. The role of anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies in serologic diagnosis and evaluation of disease activity in rheumatoid arthritis. *Mikrobiyol Bul.* 2008;42(4):669-74.
13. Önder B, Kurtaran A, Kimyon S, Selçuk B, Akyüz M. Association of anti-CCP positivity with serum ferritin and DAS-28. *Rheumatol Int.* 2009;30(2):223-7.
14. Landmann T, Khel G, Bergner R. The continuous measurement of anti-CCP-antibodies does not help to evaluate the disease activity in anti-CCP-antibody-positive patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2010;29(12):1449-53.
15. Ryu HJ, Takeuchi F, Kuwata S, Kim YJ, Lee EY, Lee EB, et al. The diagnostic utilities of anti-agalactosylIgG antibodies, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, and rheumatoid factors in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2011;31(3):315-9.
16. Hamad MB, Marzouk A, Kaddour N, Masmoudi H, Fakhfakh F, Rebai A, et al. Acticyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor in South Tunisian patients with rheumatoid arthritis: association with disease activity and severity. *J Clin Lab Anal.* 2014;28(1):21-6.
17. Farid SSh, Azizi G, Mirshafey A. Anti-citrullinated protein antibodies and their clinical utility in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis.* 2013;16(4):379-86.
18. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis.* 2004;63(9):1085-9.