



Les anticorps anti-protéines/peptides citrullinés remplaceront-ils les facteurs rhumatoïdes dans les critères diagnostiques de la polyarthrite rhumatoïde ?

Farid BENKHADRA & René-Louis HUMBEL

Laboratoire Luxembourgeois d'Immunopathologie - L-4149 Esch-sur-Alzette - Luxembourg

Faut-il réviser à nouveau les critères de diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde de l'American College of Rheumatology ?

En 1987, l'American College of Rheumatology (ACR) a révisé ses critères diagnostiques de la polyarthrite rhumatoïde (PR) [1]. Sept critères, cliniques, radiologiques et biologiques, ont été retenus :

- une raideur matinale pendant au moins six semaines avec un dérouillage articulaire ou péri-articulaire d'au moins une heure ;
- une polyarthrite touchant au moins trois articulations pendant au moins six semaines, se manifestant par un gonflement simultané d'au moins trois articulations par hypertrophie des tissus mous ou par épanchement (et non par hypertrophie osseuse). Les 14 sites articulaires possibles sont les interphalangiennes proximales (IPP), les métacarpophalangiennes (MCP), les métatarsophalangiennes (MTP), les poignets, les coudes, les genoux et les chevilles. Les interphalangiennes distales ne sont pas touchées ;
- une arthrite touchant la main pendant au moins six semaines se manifestant par un gonflement d'au moins une articulation parmi les poignets, les MCP et les IPP ;
- une arthrite symétrique pendant au moins six semaines se manifestant par une atteinte bilatérale simultanée des articulations. L'atteinte bilatérale des IPP, MCP, MTP est acceptable, même en l'absence de symétrie parfaite ;
- des nodules rhumatoïdes. Ce sont des nodules sous-cutanés se localisant sur les crêtes osseuses, les faces d'extension, ou en péri-articulaire ;
- la présence dans le sérum de facteurs rhumatoïdes (FR) à titre élevé, détectés par toute technique donnant un résultat positif chez moins de 5 % de la population normale ;
- des lésions radiologiques, les lésions typiques de la PR sur des radios de mains et de poignets se mani-

festant par des érosions osseuses et une déminéralisation en bande.

Cette classification a d'emblée soulevé un vent de mécontentement, ces critères ne semblant pas suffisamment performants pour le diagnostic d'une PR débutante [2, 3]. Parmi les limites de ces critères, il y a les biais introduits par la sélection initiale des populations malade et témoin, les dérives dans l'utilisation courante de ces critères mais également les évolutions majeures observées dans les domaines de la biologie, de l'imagerie et de la pharmacologie avec notamment l'arrivée des biothérapies (anti-TNF α).

Révision motivée par les biais de sélection initiale des populations

Dans l'étude princeps, les patients ayant une poussée d'arthrite inflammatoire d'origine indéterminée n'ont pas été inclus. En effet, seuls ont été inclus :

- dans le groupe des malades, les PR connues depuis en moyenne sept ans ;
- dans le groupe témoin, les patients ayant une pathologie connue (lupus, fibromyalgie, ostéoarthritis).

Révision motivée par les biais d'inclusion de ces critères

La plupart des critères de l'ACR ont été choisis de façon subjective, leur inclusion reposant avant tout sur une conviction médicale.

De plus, la notion même de PR débutante a été longtemps contestée, le patient ayant soit une arthrite inflammatoire d'étiologie indéterminée soit une PR confirmée [4].

Révision motivée par les modes d'utilisation de ces critères

Les critères de l'ACR de 1987 peuvent être utilisés de deux manières. La première, la plus usitée, consiste à rechercher la présence pendant une durée de six

semaines de quatre des sept critères. La seconde, moins connue, repose sur un arbre décisionnel où il est possible de substituer certains critères par d'autres [5]. Or, bien que cette seconde méthode se soit avérée au moins aussi performante pour le diagnostic positif de PR, elle reste peu utilisée dans les études scientifiques.

La plupart des études cliniques utilise les critères de l'ACR pour inclure dans le groupe des PR les patients souffrant de poussées rhumatismales aiguës. Aussi, dispose-t-on de très peu de preuves médicales quant à la prise en charge thérapeutique des patients ayant des manifestations rhumatismales précoces et qui ne répondent pas aux critères de l'ACR.

Révision des critères motivée par l'évolution des technologies de l'imagerie

Rappelons que lorsque les critères de l'ACR ont été établis, l'imagerie médicale ne disposait pas d'outils suffisamment performants en termes de résolution et de sensibilité pour pouvoir mettre en évidence des modifications précoces des structures osseuses et cartilagineuses. Ces images sont aujourd'hui observables avant même l'apparition des signes d'érosion en radiologie conventionnelle.

Actuellement, l'objectif des cliniciens est de mettre en route une thérapeutique précoce afin d'éviter les lésions érosives destructrices [6, 7]. Les développements technologiques de l'imagerie permettant d'observer des modifications à minima du cartilage et de l'os sous-chondral par résonance magnétique ou échographie articulaire à haute fréquence ont sans aucun doute une place plus pertinente que certains des critères de l'ACR, sur une population bien ciblée [8-10].

Révision des critères motivée par l'apparition de nouveaux marqueurs biologiques

La présence de FR à un titre significatif (> 50 UI/L) est un marqueur prédictif de persistance de la maladie ainsi qu'un marqueur de sévérité [11, 12]. Cependant, ce marqueur pêche par son manque de spécificité (présence lors de lupus, de maladie de Sjögren, d'ostéomyélite chronique ainsi qu'à des titres faibles dans 10 % de la population générale). La présence de FR est également importante car c'est un marqueur prédictif de survenue de manifestations extra-articulaires. Ce marqueur reste d'une grande pertinence pour le diagnostic précoce notamment des formes graves de PR.

Mais, compte tenu du manque de spécificité des FR, la découverte des autoanticorps anti-protéines/peptides citrullinés et leurs implications dans le processus physiopathologique de la PR ont

soulevé des questions quant à leur indication comme marqueurs supplémentaires dans le diagnostic d'une PR. Ce marqueur est d'une très grande spécificité (> 90 %) et est retrouvé également dans les formes graves de la PR, indépendamment de la présence de FR [13].

En définitive, les critères de l'ACR sont pertinents pour classer les malades mais sont inadaptés pour porter un diagnostic précoce de PR. Ces critères ont fait l'objet d'une révision par le groupe néerlandais de Leiden [14]. De nouveaux critères ont été établis en 2002 à partir d'une étude prospective de deux ans portant sur une population de 524 personnes présentant des signes précoces d'inflammation articulaire. Après traitement statistique des données par régression logistique, cinq des critères de l'ACR ont été retenus. En revanche, l'arthrite des mains et les nodules rhumatoïdes ont été substitués par les douleurs bilatérales des MTP et la présence d'anticorps anti-CCP. Ces critères semblent ainsi plus pertinents pour poser le diagnostic précoce de PR.

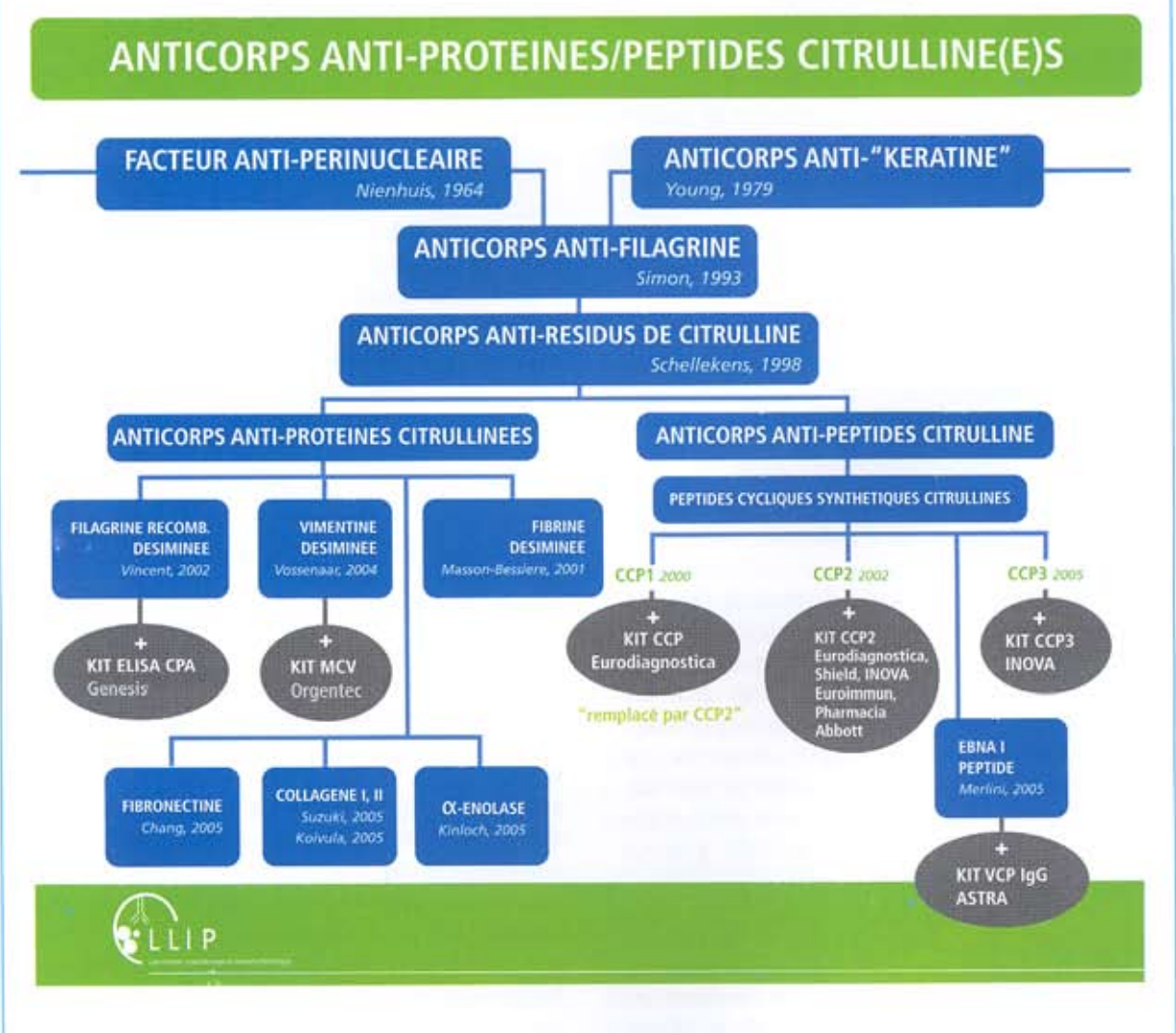
A propos des anticorps anti-CCP et de leur utilité dans le diagnostic de la PR

L'histoire des anticorps anti-protéines/peptides citrullinés commence en 1964 quand un groupe de chercheurs hollandais, l'équipe de Nienhuis, met en évidence dans le sérum de malades atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) des anticorps marquant en immunofluorescence indirecte les grains de kératohyaline du cytoplasme des cellules épithéliales de la muqueuse buccale humaine [15]. Ces anticorps ont été appelés « facteur antipérinucléaire ». En 1979, l'équipe de Young de Londres décrit des anticorps qui se fixent sur la couche cornée de l'épithélium malpighien de l'œsophage de rat [16]. En raison de cette localisation histologique, ces anticorps ont été dénommés « anticorps anti-kératine ». En 1996, c'est un groupe de chercheurs français, avec Guy Serre de Toulouse, qui identifie l'antigène cible de ces anticorps, qui s'avère être la filagrine et non la kératine [17]. Cette protéine permet l'agrégation des filaments de cytotkératine. Cette importante découverte a incité les chercheurs à utiliser la filagrine purifiée à partir d'extraits d'épiderme humain ou d'œsophage de rat pour rechercher les anticorps correspondants. Les résultats furent décevants puisque la sensibilité des tests était très faible et très variable. En 1998, l'équipe de Schellekens montre que les déterminants antigéniques présents sur la filagrine et reconnus par les anticorps sont constitués en grande partie de résidus de citrulline [18].

La citrulline est un acide aminé qui n'est pas encodé par l'ADN. Elle est formée secondairement à la transformation post-traductionnelle de l'arginine. Cette transformation est une étape de désimination placée sous l'action d'une enzyme, la peptidylarginine désiminase (PAD). Il existe diverses isoformes de PAD, dont la PAD2 et la PAD4 qui sont contenues dans les leucocytes. L'activité de la PAD est fortement dépendante des ions Ca⁺. La concentration intracellulaire de Ca⁺ est trop faible pour soutenir l'activité enzymatique. En revanche, dès que l'intégrité des cellules est altérée (inflammation, nécrose), un afflux important de calcium à l'intérieur de la cellule entraîne une activation de la PAD et en conséquence une accentuation de la « citrullination » de certaines protéines. Cette modification entraîne une augmentation de l'hydrophobicité et un déenroulement de la protéine citrullinée en modifiant les charges. En effet, alors que l'arginine est chargée positivement, la citrulline est neutre. Par ailleurs, de

nombreuses protéines de l'organisme subissent la citrullination dont la filagrine, la protéine basique de la myéline, la vimentine et le fibrinogène. Parmi celles-ci, seuls la vimentine et le fibrinogène se trouvent dans la synoviale enflammée. La réaction avec la filagrine relève donc d'une réaction croisée avec des épitopes citrullinés communs à ces protéines. Plus récemment, on a également montré que le collagène, la fibronectine et l' α -énolase, une fois citrullinés, pouvaient réagir avec les anticorps du sérum des malades atteints d'une PR. La citrullination des protéines au niveau de la synoviale est un phénomène survenant au cours de l'inflammation. En revanche, la production des anticorps contre les protéines citrullinées est tout à fait spécifique de la PR. Il semble également exister un lien entre la production des anticorps et les allèles HLA associés à un risque élevé de PR (épitopes partagés des haplotypes HLA-DR1 et DR4) [19-21].

Figure 1 : évolution des méthodes de détection des anticorps anti-protéines/peptides citrullinés

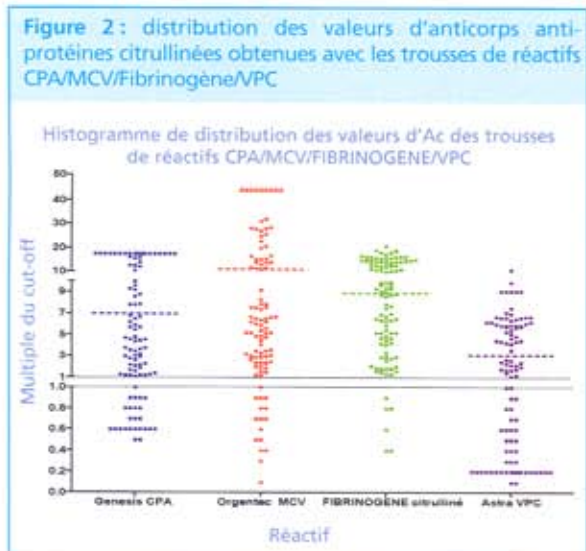


Anticorps anti-protéines citrulinées

Différentes protéines citrulinées sont utilisées pour la recherche de ces anticorps (fig. 1). La filagrine recombinée de rat, citrulinée in vitro, est utilisée dans un test ELISA commercialisé par la société GENESIS sous le nom de CPA [22]. La firme allemande ORGENTEC utilise de son côté une forme mutante de la vimentine, qui, une fois citrulinée, réagit de façon spécifique avec les anticorps des sérums atteints de PR (test MCV) [23]. Une autre protéine citrulinée, particulièrement intéressante puisqu'elle est présente dans la synoviale rhumatoïde, est la fibrine. Les chaînes α et β de la fibrine sont porteuses d'épitopes citrulinés analogues à ceux portés par la filagrine. Un test ELISA utilisant le fibrinogène humain citruliné a été mis au point par l'équipe de Guy Serre à Toulouse [24]. Par ailleurs, des chercheurs italiens ont pu montrer que l'une des protéines du virus d'Epstein-Barr, l'EBNA 1, contient dans sa région N-terminale une séquence d'acides aminés riche en arginine. Cette séquence a été synthétisée en substituant les résidus d'arginine par la citrulline. Le nouveau peptide est utilisé dans le test ELISA VPC récemment commercialisé par la firme italienne ASTRA [25].

Il n'existe pas à ce jour de réactifs commerciaux utilisant le collagène [26, 27], la fibronectine [28] ou l' α -énolase [29] citrulinés.

L'étude réalisée dans notre laboratoire [30] sur une population de 102 patients atteints de PR a mis en évidence une différence importante de sensibilité en fonction des substrats antigéniques citrulinés (fig. 2). Ces différences sont à mettre sur le compte de la nature et la composition des substrats antigéniques utilisés, et en particulier sur le nombre de résidus citrulinés et leur localisation dans l'environnement de la chaîne peptidique.



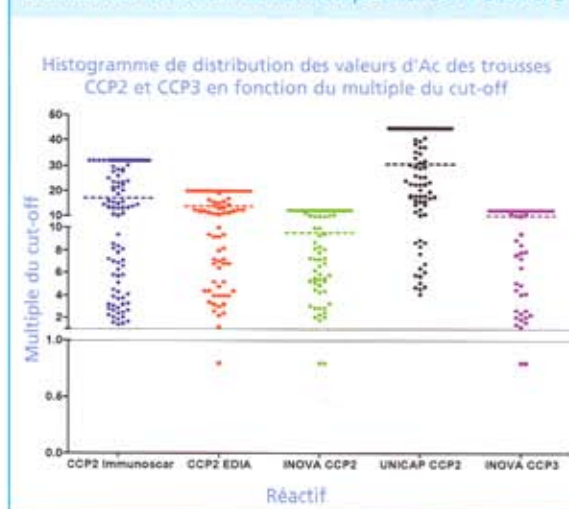
Anticorps anti-peptides synthétiques citrulinés

A partir des informations livrées par la structure antigénique de la filagrine humaine, des peptides ont été synthétisés, citrulinés, puis cyclisés, et ont été sélectionnés en raison de leur réactivité élevée avec les anticorps des malades atteints de PR (CCP1) [31]. Dans un second temps, de nouveaux peptides qui n'ont plus aucune homologie avec la filagrine ou d'autres protéines connues ont été préparés (CCP2 et CCP3). Ils ont été sélectionnés à partir d'une librairie de peptides, par leur forte réactivité avec le sérum de patients avec PR. La plupart des trousse de réactifs actuellement commercialisées pour la recherche des anticorps anti-CCP utilise exactement le même substrat peptidique CCP2 (fig. 1).

Nous avons effectué une étude comparative de quatre trousse de réactifs qui utilisent le même peptide citruliné CCP2 et d'une trousse détectant le peptide CCP3 sur une cohorte de 102 patients atteints d'une PR [30]. Nous avons noté une bonne concordance des résultats qualitatifs entre les trousse. En revanche, la distribution des valeurs par rapport au cut-off analytique propre à chaque trousse est très variable (fig. 3).

On constate que la trousse UniCAP® permet une meilleure discrimination, la valeur la plus basse observée étant située à plus de 4 fois le cut-off, contre deux fois pour les autres trousse [30] (fig. 3).

Figure 3 : distribution des résultats obtenus avec cinq trousse de détection des anticorps anti-CCP2 ou CCP3



Dans une étude plus récente de 2007 (non encore publiée) portant sur 317 patients ayant une PR, nous avons recherché les Ac anti-CCP2 chez 193 patients connus pour avoir des Ac anti-CCP3 par la trousse INOVA et les Ac anti-CCP3 chez 124 patients connus pour avoir des Ac anti-CCP2 par la trousse INOVA.

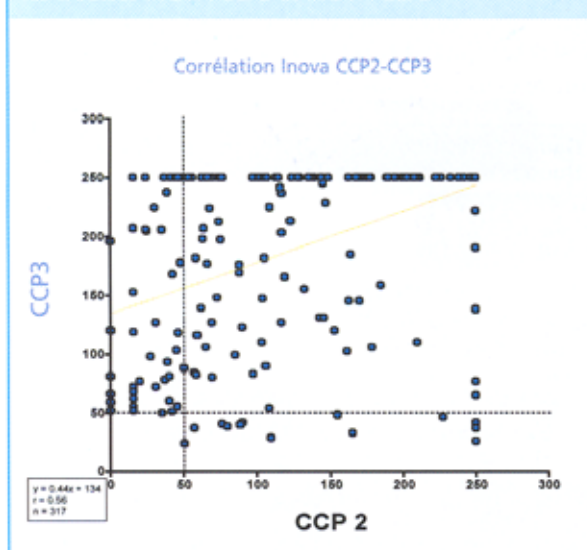
On retrouve des valeurs similaires de CCP2 et de CCP3 chez 143 patients (45,1 %), des valeurs significativement supérieures de CCP3 versus CCP2 chez

144 patients (45,4 %) contre des valeurs significativement supérieures de CCP2 versus CCP3 chez 30 patients (9,5 %). Par ailleurs, on observe 41 faux négatifs en CCP2 versus 11 faux négatifs en CCP3, ce qui, rapporté au prorata de la distribution initiale des patients en fonction de leur statut vis à vis des CCP, correspond à une sensibilité de 79 % pour la trousse INOVA CCP2 contre 92 % pour la trousse INOVA CCP3 (fig. 4).

Par ailleurs, il semble difficile, à l'heure actuelle, de comparer les valeurs quantitatives des différentes trousses d'anticorps anti-épitopes citrullinés compte tenu de l'hétérogénéité du substrat antigénique, de l'environnement analytique et de l'absence d'étalon international.

Cette restriction peut être un frein aussi bien pour la recherche d'une valeur seuil pronostique que pour la recherche d'une variation significative de cinétique des valeurs des anticorps pouvant s'inscrire dans le cadre d'une décision d'instauration ou de suivi thérapeutique.

Figure 4 : corrélation entre les résultats fournis par les trousses INOVA CCP2 et INOVA CCP3



Anticorps anti-protéines/peptides citrullinés dans la PR

Les anticorps anti-substrats citrullinés constituent à ce jour les marqueurs les plus spécifiques de la PR puisqu'on ne les retrouve que rarement au cours des autres maladies rhumatismales. Ces anticorps se sont révélés être des marqueurs précoces de la PR permettant d'identifier la maladie à un stade précoce. D'autre part, la présence de ces anticorps est associée à des formes sévères de la PR, la fréquence des érosions étant 10 fois plus élevée chez les patients avec des anti-CCP (Norfolk Arthritis Register [32]). La polyarthrite rhumatoïde est le plus fréquent des

rhumatismes inflammatoires chroniques. Elle se caractérise par une inflammation du tissu synovial, pouvant conduire à une destruction irréversible du tissu osseux et cartilagineux des articulations. Il est désormais admis qu'un traitement de fond instauré durant les trois premiers mois de la maladie peut prévenir ou limiter la destruction articulaire caractéristique de cette maladie. On dispose pour cela de nouveaux médicaments, en particulier les biothérapies à base d'inhibiteurs du TNF-alpha qui permettent de réduire l'inflammation et de contrôler l'activité de la maladie. Du fait de leur impact sur le système immunitaire mais aussi à cause de leur coût très élevé, ces médicaments doivent être réservés aux malades qui risquent d'évoluer vers une PR grave. Ces anticorps anti-CCP sont, à cet égard, un outil très précieux car ils caractérisent précisément les PR qui sont susceptibles d'évoluer vers une forme grave de la maladie, avec en particulier, des destructions osseuses [33-37].

La présence des facteurs rhumatoïdes (FR) est indépendante de celle des anticorps anti-CCP. Ces marqueurs doivent donc être associés pour améliorer leurs performances diagnostiques vis-à-vis de la PR. Par ailleurs, les thérapies actuelles ne semblent pas modifier de façon significative les titres des anticorps anti-CCP bien que les résultats des études restent contradictoires à ce jour. En revanche, les FR baissent très rapidement sous traitement efficace permettant un suivi à court terme de l'évolution d'une PR. De plus, les FR sont les seuls marqueurs associés aux manifestations extra-articulaires de la PR. Les FR ont donc encore de beaux jours devant eux...

De plus, en cas de forte présomption de PR chez des patients séronégatifs en IgG anti-CCP2 et en facteurs rhumatoïdes, il semble légitime de rechercher des anticorps contre un autre substrat citrulliné, dans la mesure où celui-ci est reconnu pour sa bonne sensibilité (comme le CCP3, le fibrinogène...), et/ou de rechercher des anticorps d'autre isotype (IgA). D'ailleurs, la société INOVA a développé une trousse de réactifs anti-CCP3 détectant les isotypes IgG et IgA, trousse qui permettrait selon leurs études d'améliorer la sensibilité de 2 %. Nous avons testé au LLIP 120 sérums négatifs en IgG anti-CCP3 par cette nouvelle trousse et nous avons noté un résultat fortement positif (valeur de 150 UI/L pour un cut-off à 50), dont l'isotypie IgA a été confirmée. Cette étude préliminaire plaide donc pour cette légère amélioration de la sensibilité de la trousse INOVA CCP3 détectant les 2 isotypes.

En résumé des deux études effectuées au LLJP sur les trousse anti-CCP...

Ces deux études montrent qu'il semble difficile, à l'heure actuelle, de comparer les valeurs quantitatives des différentes trousse d'anticorps anti-épitopes citrullinés compte tenu de l'hétérogénéité du substrat antigénique, de l'environnement analytique et de l'absence d'étalon international. Cette restriction peut être un frein aussi bien pour la recherche d'une valeur seuil pronostique, que pour celle d'une variation significative de cinétique des valeurs des anticorps pouvant s'inscrire dans le cadre d'une décision d'instauration ou de suivi thérapeutique.

Ces études nous rappellent que, parmi les critères de choix d'une trousse optimale pour la détection d'anticorps anti-peptides ou protéines citrullinés, il est sans doute nécessaire d'avoir de bonnes sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative, mais également d'obtenir une bonne discrimination des valeurs positives et négatives par rapport au cut-off analytique de la trousse. En effet, plus le pouvoir discriminant de cette trousse est important, plus le résultat observé nous permettra de nous conforter dans notre démarche diagnostique ou pronostique.

Enfin, à la lumière de ces données, il faut également rappeler l'importance pour le clinicien de bien connaître la trousse utilisée dans le laboratoire qui effectue cette détection afin de pouvoir interpréter au mieux les résultats.

Bibliographie

1. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988 ; 31 : 315-24.
2. Harrison BJ, Symmons DP, Barrett EM, Silman AJ. 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 : 2324-30.
3. Saraux A, Berthelot JM, Chalès G, Le Henaff C, Thorel JB, Hoang S, et al. Ability of the American College of Rheumatology 1987 criteria to predict rheumatoid arthritis in patients with early arthritis and classification of these patients two years later. *Arthritis Rheum.* 2001 ; 44 : 2485-91.
4. Dixon WG, Symmons DPM. Does early rheumatoid arthritis exist ? *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2005 ; 19:37-53.
5. Lunt M, Symmons DPM, Silman AJ. An evaluation of the decision tree format of the American College of Rheumatology 1987 classification criteria for rheumatoid arthritis : performance over five years in a primary care – based prospective study. *Arthritis Rheum.* 2005 ; 52 : 2277-83.
6. Lard LR, Visser H, Speyer I, vander Horst-Bruisma IE, Zwinderman AH, Breedveld FC, 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 : 446-51.
7. Nell VPK, Machold KP, Eberl G, Stamm TA, Uffmann M, Smolen JS. Benefit of very early referral and very early therapy with disease-modifying anti-rheumatic drugs in patients with early rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2004 ; 43 : 906-14.
8. McQueen FM, Stewart N, Crabbe J, Robinson E, Yeoman S, Tan PLJ, et al. Magnetic resonance imaging of the wrist in early rheumatoid arthritis reveals progression of erosions despite clinical improvement. *Ann Rheum Dis.* 1999 ; 58 : 156-63.
9. McGonagle D, Conaghan PG, O'Connor P, Gibbon W, Green M, Wakefield R, et al. The relationship between synovitis and bone changes in early untreated rheumatoid arthritis : a controlled magnetic resonance imaging study. *Arthritis Rheum.* 1999 ; 42 : 1706-11.
10. Wakefield RJ, Gibbon WW, Conaghan PG, O'Connor P, McGonagle D, Pease C, et al. The value of sonography in the detection of bone erosions in patients with rheumatoid arthritis : a comparison with conventional radiography. *Arthritis Rheum.* 2000 ; 43 : 2762-70.
11. Tunn EJ, Bacon PA. Differentiating persistent from self-limiting symmetrical synovitis in an early arthritis clinic. *Br J Rheumatol.* 1993 ; 32 : 97-103.
12. Wolfe F, Ross K, Hawley DJ, Roberts FK, Cathey MA. The prognosis of rheumatoid arthritis and undifferentiated polyarthritis syndrome in the clinic : a study of 1141 patients. *J Rheumatol.* 1993 ; 20 : 2005-9.
13. Mewar D, Coote A, Moore DJ, Marinou I, Keyworth J, Dickson MC, et al. Independent associations of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor with radiographic severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2006 ; 8R128.
14. 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 : 357-65.

15. *Nienhuis RL, Mandema E.* A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis: the antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis.* 1964 ; 23 : 302-5.
16. *Young BJJ, Mallya RK, Leslie RDG, Clark CJM, Hamblin TJ.* Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J.* 1979 ; 2 : 97-9.
17. *Serre G, Vincent C.* Filaggrin (keratin) autoantibodies. In : Peter JB, Shoenfeld Y, editors. *Autoantibodies.* Amsterdam : Elsevier Science BV ; 1996. p. 271-6.
18. *Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ.* Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest.* 1998 ; 101 : 273-81
19. *Berglin E, Padyukov L, Sundin U, Hallmans G, Stenlund H, van Venrooij WJ et al.* 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.
20. *Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Källberg H, Bengtsson C, Grunewald J, et al.* 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.
21. *van der Helm-van Mil AHM, Verpoort KN, Breedveld FC, Huizinga TWJ, Toes REM, de Vries RRP.* 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.
22. *Vincent C, Nogueira L, Sebbag M, Chapuy-Regaud S, Arnaud M, Letourneur O, et al.* Detection of antibodies to deiminated recombinant rat filaggrin by enzyme-linked immunosorbent assay: a highly effective test for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002 ; 46 : 2051-8.
23. *Vossenaar ER, Després N, Lapointe E, van der Heijden A, Lora M, Senshu T, et al.* Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. *Arthritis Res. Ther.* 2004 ; 6 : R142-50.
24. *Masson-Bessière C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, et al.* The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the alpha and beta-chains of fibrin. *J Immunol.* 2001 ; 166 : 4177-84.
25. *Merlini G, Anzilotti C, Chimenti D, Tommasi C, Bombardieri S, Migliorini P.* A deiminated viral peptide to detect antibodies in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2005 ; 1050:243-9.
26. *Suzuki A, Yamada R, Ohtake-Yamanaka M, Okazaki Y, Sawada T, Yamamoto K.* Anti-citrullinated collagen type I antibody is a target of autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Res Comm.* 2005 ; 33 : 418-26.
27. *Koivula MK, Aman S, Alasaarela E, Karjalainen A, Hakala M, Risteli J.* Inhibitory characteristics of citrullinated telopeptides of type I and II collagens for autoantibody binding in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2006 ; 45 : 1364-9.
28. *Chang X, Yamada R, Suzuki A, Kochi Y, Sawada T, Yamamoto K.* Citrullination of fibronectin in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Rheumatology.* 2005 ; 44 : 1374-82.
29. *Kinloch A, Tatzer V, Wait R, Peston D, Lundberg K, Donatien P, et al.* Identification of citrullinated α -enolase as a candidate autoantigen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2005 ; 7 : R1421-9.
30. *Benkhadra F, Hila I, Foerster G, Pierrard V, Humbel RL.* Etude comparative de 9 trousse de réactifs détectant des anticorps anti-protéines ou peptides citrullinés. *Immunoanal Biol Spec.* 2007 ; 22 : 223-35.
31. *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 : 155-63.
32. *Bukhari M, Thomson W, Naseem H, Bunn D, Silman A, Symmons D, et al.* The performance of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in predicting the severity of radiologic damage in inflammatory polyarthritis: Results from the Norfolk Arthritis Register. *Arthritis Rheum.* 2007 ; 56 : 2929-35.
33. *Van Dongen H, van Aken J, Lard L, et al.* Probable rheumatoid arthritis methotrexate versus placebo therapy (prompt)-study: indications for a window of opportunity in the treatment of patients with undifferentiated arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2006 ; 65 (suppl II) : 54.2006 (abstract).
34. *Meyer O, Nicaise-Roland P, dos Santos M, Labarre C, Dougados M, Goupille P, et al.* Serial determinations of cyclic citrullinated peptide autoantibodies predicted five-year radiological outcomes in a prospective cohort of patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2006 ; 8 : R40.
35. *Rönnelid J, Wick MC, Lampa J, Lindblad S, Nordmark B, Klareskog L, et al.* Longitudinal analysis of citrullinated protein/peptide antibodies

(anti-CP) during 5 year follow up in early rheumatoid arthritis : anti-CP status predicts worse disease activity and greater radiological progression. *Ann Rheum Dis.* 2005 ; 64 : 1744-9.

36. van der Helm-van Mil AHM, Verpoort KN, Breedveld FC, Toes REM, Huizinga TWJ. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2005 ; 7 : R949-58.

37. Vencovsky J, Machacek S, Sedova L, Kafkova J, Gatterova J, Pesakova V, et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2003 ; 62 : 427-30.

Évolution des marqueurs associés à la polyarthrite rhumatoïde chez des patients traités au long cours par un inhibiteur du TNF α



Nathalie BARDIN^{1,2}, Sophie JÉGO-DESPLAT¹, Marielle SANMARCO^{1,2}

1. Laboratoire d'Immunologie, Hôpital de la Conception, Marseille, France

2. INSERM UMR-S 608, UFR de Pharmacie, Université de la Méditerranée, Marseille, France

Les inhibiteurs du TNF α constituent une avancée thérapeutique considérable dans la prise en charge des polyarthrites rhumatoïdes (PR), avec des résultats probants tant au niveau clinique que biologique et radiologique (Toussirot et al). Ils ont démontré une efficacité spectaculaire dans des situations où les traitements classiques ne permettaient pas de soulager les patients atteints de PR. Les anti-TNF α utilisés actuellement en pratique clinique sont des anticorps monoclonaux contre le TNF α : Infliximab (Remicade[®]), Adalimumab (Humira[®]) ; et des récepteurs solubles du TNF α : Etanercept (Enbrel[®]). Comme tout médicament modulant l'immunité, les anti-TNF α utilisés ne sont pas dépourvus d'effets secondaires. Infections, réactions immunoallergiques, et induction d'affections néoplasiques représentent les principales complications liées au traitement par anti-TNF α . La survenue d'autoanticorps antinucléaires et anti-ADN natif a également été rapportée chez certains patients traités par anti-TNF α (Valesini et al). Toutefois la majorité de ces études n'ont pas analysé la survenue d'autoanticorps marqueurs de la PR au delà d'un an de traitement. Le but de notre travail a été d'analyser l'effet du traitement par anti-TNF α administré au long cours sur la modification des taux d'autoanticorps associés au diagnostic de la PR tels que les anticorps anti-CCP ou les facteurs rhumatoïdes (FR).

Pour cette étude, les sérums de 33 patients atteints de PR diagnostiquée selon les critères du Collège Américain de Rhumatologie révisés en 1987 ont été analysés rétrospectivement. Parmi ces patients, 20 étaient traités depuis deux ans par Infliximab et 13 ne l'étaient pas. Différents autoanticorps, marqueurs de la pathologie, ont été recherchés : les anticorps anti-CCP par une méthode fluoro-immunoenzymatique (EliA[™], Phadia) et les facteurs rhumatoïdes (FR) par des tests d'agglutination au latex.

La comparaison entre les patients traités et non traités révèle que la prévalence des FR est inférieure dans le sous-groupe des patients traités par Infliximab (55 vs 70 %) alors que celle des anticorps anti-CCP est équivalente entre les deux sous-groupes (69 vs 70 %). Afin d'approfondir ces données, 16 des 20 patients traités par Infliximab pendant deux ans ont été analysés rétrospectivement. Les principaux résultats sont présentés sur la figure 1 et mettent en évidence une réduction, statistiquement non significative, du titre des FR au cours du suivi alors que les taux d'anticorps anti-CCP n'ont pas évolué lors de ce traitement par anti-TNF α au long cours.

De tels résultats ont également été décrits par Bobbio-Pallavacini et al, suggérant que le FR représenterait un marqueur de la réponse au traitement.