

Anticuerpos antiqueratina

Antonio Gómez, Raimon Sanmartí y Odette Viñas*

Servicios de Reumatología e *Inmunología. Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad crónica sistémica de origen desconocido que afecta aproximadamente al 1% de la población mundial¹. Su diagnóstico sigue siendo difícil, sobre todo en los estadios precoces, cuando la prescripción de un tratamiento podría ser más efectivo o al menos podría retrasar su evolución². El diagnóstico se basa en una serie de hallazgos clínicos, radiológicos y biológicos, cuyo análisis ha conducido a la definición de un reducido número de criterios (criterios de la American College of Rheumatology [ACR]) que constituyen hasta la actualidad la referencia internacional para su diagnóstico³. Entre dichos criterios el factor reumatoide (FR) es el único criterio serológico aceptado. Por desgracia, su potencia diagnóstica es baja debido a la escasa capacidad discriminativa entre distintas enfermedades que a menudo cursan con títulos significativos de FR.

Al igual que otras enfermedades sistémicas, la AR se caracteriza por la presencia de múltiples autoanticuerpos en el suero de los pacientes. Sin embargo, la mayoría de dichos autoanticuerpos son poco específicos y no han demostrado ninguna relación con la fisiopatología de la enfermedad.

En 1979 Young et al⁴ describieron un nuevo marcador serológico en la AR, los anticuerpos antiqueratina (AKA), que hasta la fecha son los anticuerpos más específicos en la AR.

En esta revisión analizaremos el valor diagnóstico y pronóstico, así como la utilidad clínica de dichos autoanticuerpos.

Revisión histórica

La primera referencia a la presencia de anticuerpos antiqueratina en el suero humano la realizó RS

Lloyd en 1970 (datos no publicados). Con posterioridad se llevaron a cabo estudios preliminares en 10.589 sueros en los que, además de la determinación de los AKA, se determinó una batería de autoanticuerpos relacionados con otras enfermedades sistémicas conocidas. En este primer estudio pudo comprobarse la presencia de AKA en 552 sueros. El hecho de que 380 de dichos sueros fueran positivos también para el FR, llevó a Young a realizar el primer análisis dirigido a estudiar la presencia de AKA en el suero de pacientes afectados de AR. Young et al⁴ demostraron en 1979 mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) la presencia de AKA en el 58% de los sueros de pacientes afectados de AR estudiados. Con posterioridad, diversos estudios han confirmado estos resultados.

Especificidad antigénica

En un principio se pensó que los AKA iban dirigidos contra la queratina situada en la capa queratinizada del esófago de la rata, de ahí su nombre. En 1993 Girbal et al⁵ comprobaron que dichos autoanticuerpos no iban dirigidos contra la queratina sino contra dos proteínas del esófago de la rata con pesos moleculares entre 90-120 kDa y 210 kDa relacionadas estructuralmente con la profilagrina y la filagrina humanas. Este mismo grupo de trabajo demostró en 1995⁶ que los AKA y los anticuerpos antifactor perinuclear (*anti perinuclear factor* [APF]) compartían en gran medida los determinantes antigenicos contra los que iban dirigidos, siendo estos determinantes las isoformas neutras y ácidas de la filagrina, por lo que propusieron denominar a los anticuerpos APF y AKA, conjuntamente como anticuerpos anti(pro)filagrina (AFA).

La filagrina (*filagrin: filament-aggregating protein*) es una proteína estructural producida durante los últimos estadios de la diferenciación terminal de las células epiteliales de los mamíferos. Se sintetiza en forma de un precursor insoluble llamado profilagrina y se almacena en unos cuerpos densos llamados gránulos de queratohialina situados en la capa granular del epitelio queratinizado de las células epiteliales. La profilagrina es una proteína ácida muy fosforilada rica en arginina. Contiene entre 10

Correspondencia: Dr. A. Gómez.
Servicio de Reumatología. Hospital Clínic i Provincial.
Villarroel, 170. 08036 Barcelona.

Manuscrito recibido el 18-1-2001 y aceptado el 19-1-2001.

Rev Esp Reumatol 2001; 28: 71-77

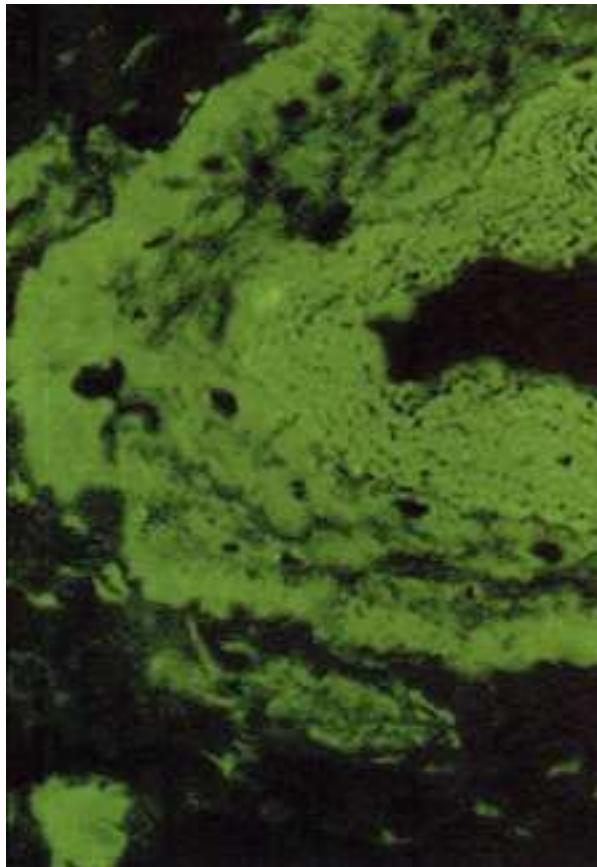


Figura 1. Sección de esófago de rata visto mediante microscopía de fluorescencia, donde se aprecia el patrón lineal del epitelio estratificado del esófago en un suero AKA+.

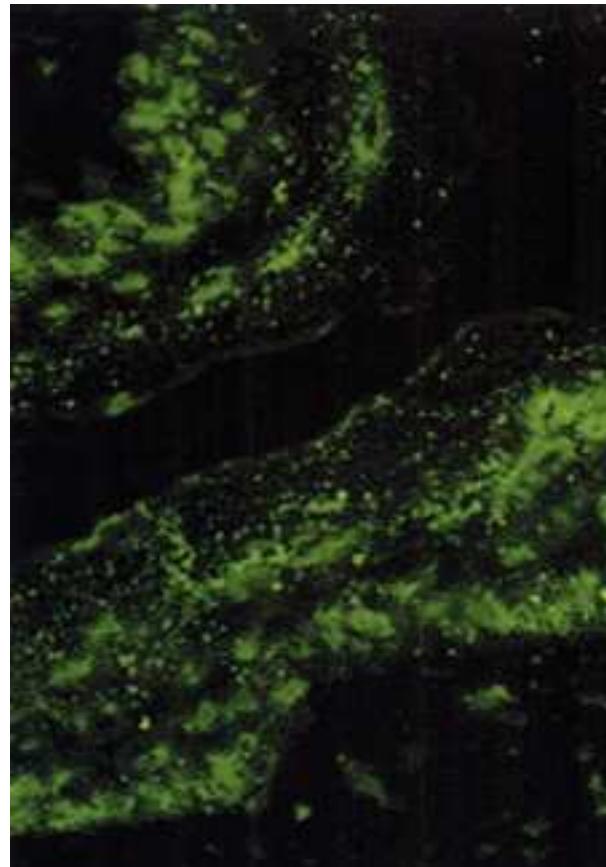


Figura 2. Inmunofluorescencia de un suero AKA- donde no se aprecia el patrón lineal del epitelio estratificado del esófago.

y 12 unidades de isoformas de filagrina ordenadas en forma de tandem y separadas por un pequeño heptapéptido de unión. Las isoformas de filagrina integrantes de la profilagrina presentan una gran heterogeneidad en su secuencia aminoácida. Entre el 10 y el 39% de sus 324 aminoácidos pueden variar entre una y otra isoforma. Para convertirse en filagrina funcional, la profilagrina debe ser defosforilizada y escindida del heptapéptido de unión, y pasa entonces a realizar su función de puente transversal entre proteínas fibrilares.

De forma sorprendente los AKA no reconocen la profilagrina en el inmunoblot⁷, ni a los 33 péptidos sintéticos de distintas secuencias de filagrina, que integran la secuencia consensuada de filagrina⁸, lo que sugiere que los antígenos reconocidos por dichos anticuerpos se generan por modificaciones postranscripcionales de la profilagrina y/o la filagrina. Entre dichas modificaciones destacan dos en particular: la defosforilación parcial de los residuos de serina y la deiminación de los residuos básicos de arginina para convertirlos en residuos neutros de citrulina, transformación producida por la enzima peptidilarginindeiminasa (PAD). Esta última

transformación parece ser la que confiere a los fragmentos peptídicos de la filagrina la capacidad de ser reconocidos por los AFA^{9,10}.

Técnica de detección de los anticuerpos antiqueratina

La técnica más utilizada para la detección de los AKA es la inmunofluorescencia indirecta. Se utilizan como sustrato criosecciones de esófago de rata.

A pesar de la existencia de AKA IgM multiespecíficos, sólo los AKA IgG son específicos para la AR, por lo que se aconseja la utilización de antisueros específicos de la cadena pesada gamma de las inmunoglobulinas humanas (específicos para la región Fc de la IgG) en la determinación de dichos autoanticuerpos.

Los sueros positivos producen un típico patrón estratificado en el epitelio queratinizado del esófago de rata, como se muestra en la figura 1, perfectamente distinguible de otros patrones de inmunofluorescencia (fig. 2).

Al ser la inmunofluorescencia indirecta una técnica en la que la interpretación del resultado es subjetiva

va y en gran medida dependiente de la experiencia del observador, se aconseja una lectura doble, por dos observadores distintos y establecer una puntuación semicuantitativa dependiendo de la intensidad de la inmunofluorescencia. El umbral de positividad de la técnica (dado que la intensidad de la inmunofluorescencia es un valor continuo) la deberá establecer la experiencia de cada equipo (siendo ésta una de las partes más delicadas de la puesta a punto de la técnica).

Debido a la laboriosidad de las técnicas de inmunofluorescencia, así como la subjetividad de su interpretación, se ha intentado la detección de los AKA mediante técnicas de inmunoblot¹¹ y ELISA¹², con poco éxito hasta ahora.

Valor diagnóstico

El valor diagnóstico de los AKA mediante inmunofluorescencia indirecta, lo han establecido 12 grupos de investigadores que han estudiado en conjunto más de 4.000 pacientes, incluyendo más de 1.500 afectados de AR. La sensibilidad diagnóstica global varía entre el 40 y el 55%, con una especificidad diagnóstica entre el 95 y el 99%¹³.

La sensibilidad varía dependiendo de la zona geográfica; así, existen estudios que han demostrado una baja sensibilidad entre los africanos¹⁴ y los griegos¹⁵, con una prevalencia aproximada del 16% de las AR, mientras que la mayoría de los estudios realizados en pacientes europeos¹⁶ y asiáticos¹⁷ presentan una sensibilidad cercana al 50%, datos que coinciden con el estudio realizado en nuestro país¹⁸. En nuestro estudio, hemos podido demostrar una prevalencia de los AKA del 60% en los pacientes afectados de AR (63% en los pacientes con AR y FR⁺ y un 50% en los con AR y FR⁻) y de un 2% entre los pacientes no AR estudiados (espondiloartropatías, LES, infección crónica por VHC)¹⁹.

De los anticuerpos estudiados hasta la actualidad, los AKA son los más específicos para la AR. Su valor predictivo positivo es alto, y así en una población de pacientes con una enfermedad reumática inflamatoria en la que la prevalencia de AR se sitúe alrededor del 30% (p. ej., población con una poliartritis de inicio), la probabilidad de padecer una AR en presencia de unos AKA positivos sería de 0,98¹³.

Puesto que los AKA están presentes en un porcentaje no despreciable de AR FR⁻ (entre el 30 y el 50% según los estudios), y dada su especificidad, la determinación de estos autoanticuerpos tiene importantes implicaciones diagnósticas en las AR con FR⁻. Además, y dado que estos anticuerpos parecen estar presentes desde el inicio de la enfermedad²⁰, su determinación podría ser de utilidad para la instauración de un diagnóstico precoz de AR en pacientes que acuden a la consulta de reumatología con una poliartritis aguda no filiada.

Valor pronóstico

La presencia de AKA no se relaciona con la edad, género o duración de la enfermedad.

Estos autoanticuerpos están presentes desde el inicio de la enfermedad. En estudios realizados en Finlandia, Kurki et al²⁰ detectaron la presencia de AKA mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta en 10 de 39 individuos que con posterioridad desarrollaron una AR seropositiva, y en uno de 15 individuos que desarrollaron una AR seronegativa. Estos datos, según los autores, sugieren que dichos autoanticuerpos podrían tener un papel patogénico en la enfermedad.

No se ha relacionado la desaparición o la variación de los títulos de los AKA con la respuesta al tratamiento ni con los distintos tratamientos utilizados.

Diversos estudios han intentado establecer una relación entre la presencia de los AKA y el pronóstico de la enfermedad, con resultados desiguales. Así, mientras unos estudios han hallado una relación entre la presencia de AKA e índices de mayor actividad de la enfermedad, como son la elevación de la VSG y la PCR, la positividad del FR, la presencia de nódulos subcutáneos y una mayor afectación de los índices funcionales (lo que podría sugerir que la presencia de AKA definiría formas más graves de la enfermedad)^{21,22}, otros estudios no han podido demostrar esta relación²³.

En este punto, es importante destacar dos estudios prospectivos publicados recientemente en los que se ha evaluado si la presencia de los anticuerpos del complejo AKA-APF-AFA estaría o no relacionada con la intensidad del daño radiológico.

Meyer et al²⁴ estudiaron 86 pacientes afectados de AR en los que se había realizado seguimiento desde el inicio de su enfermedad. En el momento del análisis la duración media de la AR era de 8 ± 4 años. Dividieron a los pacientes en 2 subgrupos según el daño radiológico que presentaban en el momento del análisis; los que presentaban un daño radiológico importante (definido como Larsen ≥ 2) y los que presentaban un daño radiológico moderado (Larsen < 2). A todos los pacientes se les determinaron distintos autoanticuerpos, a la vez que se recogían los parámetros clínicos, biológicos e inmunogenéticos. Se calculó la *odds ratio* para cada uno de los parámetros determinados. El análisis de los resultados mediante regresión múltiple demostró que únicamente la presencia de nódulos subcutáneos, del HLA DRB1*04 o DRB1*01 y/o la de AKA, definían un subgrupo de AR con un riesgo mayor de padecer una enfermedad precozmente erosiva.

Sin embargo, en otro estudio llevado a cabo por Kurki et al²³, en el que se estudiaron 133 pacientes seguidos durante 8 años, los autores llegan a la conclusión de que la presencia de AKA y/o APF no permitía distinguir las formas más graves de la enfermedad. Los datos de estos dos estudios sugerían

que los AKA podrían actuar como marcadores de un subgrupo de AR en las que las erosiones se producen de forma precoz. Cuando analizamos enfermos con poco tiempo de evolución, aquellos con AKA⁺ tienen tendencia a presentar un mayor número de erosiones. Sin embargo, a medida que evoluciona la enfermedad, esta diferencia se pierde, y a los 8-10 años de evolución las erosiones están presentes en el mismo porcentaje entre los pacientes AKA⁺ y AKA⁻. Aunque evidentemente se precisan más estudios para confirmar estos datos.

Relación de los anticuerpos antikeratina con otros autoanticuerpos presentes en el suero de pacientes con artritis reumatoide

Como se ha mencionado con anterioridad, se han descrito multitud de autoanticuerpos en el suero de los pacientes afectados de AR.

En este apartado analizaremos la relación entre los AKA y algunos de estos autoanticuerpos, que de una u otra forma se han relacionado con la AR.

Relación con el factor reumatoide

Desde su descripción por Waaler²⁵ y Rose²⁶, el FR se ha constituido en el autoanticuerpo por antonomasia de la AR.

Es el único autoanticuerpo aceptado por la ACR en sus criterios de clasificación. El FR ha permitido la distinción entre las AR FR⁺ y las FR⁻ confiriendo a esta diferencia un valor pronóstico, como queda demostrado en diversos estudios. Se ha relacionado su presencia con una enfermedad más grave, un mayor número de complicaciones extraarticulares y la presencia de nódulos reumatoideos en estadios avanzados.

Al ser el autoanticuerpo de referencia, los autoanticuerpos que se han descrito con posterioridad se han comparado con él para establecer si estos últimos aportan ventajas adicionales a las ofrecidas por el FR.

En prácticamente todos los estudios realizados con los AKA se ha determinado el FR, comprobándose que existe una gran correlación entre ellos. La mayoría de los estudios encuentra la positividad del FR en dos tercios de los pacientes AKA⁺. A pesar de la gran concordancia entre ambos autoanticuerpos, un tercio de los pacientes AKA⁺ son FR⁻, lo que indica que ambos autoanticuerpos no identifican la misma subpoblación de pacientes. Algunos estudios, además, han establecido que la presencia de AKA en las AR FR⁻ tendría un valor pronóstico, identificando a aquellas AR con peor pronóstico²⁷.

Relación con el complejo APF-AFA-APcC

Los APF son autoanticuerpos dirigidos contra antígenos situados en los gránulos perinucleares de las

células superficiales del epitelio escamoso de la mucosa bucal humana. Se detectan por técnicas de IFI. Varios estudios han evidenciado su valor diagnóstico y pronóstico²⁸.

Durante años se consideró que los APF y los AKA constituían dos familias de autoanticuerpos independientes, a pesar de la gran concordancia observada en los estudios en los que se habían determinado ambos autoanticuerpos.

Recientemente, se ha demostrado que los AKA y los APF corresponden a una población de autoanticuerpos altamente superpuesta que reconoce antígenos relacionados con la profilagrina y la filagrina humana, por lo que se ha propuesto la denominación genérica de anticuerpos antifilagrina (AFA)⁶.

En un estudio reciente, Vincent et al²⁹ investigaron las implicaciones diagnósticas de los AKA, los APF y los AFA. Tras determinar en el mismo grupo de pacientes los tres autoanticuerpos, llegaron a la conclusión de que aunque su distribución se superpone en un gran porcentaje, la coincidencia no es completa, y ninguno de los autoanticuerpos por separado reconocería la totalidad de los antígenos contra los que van dirigidos los citados autoanticuerpos.

Con el descubrimiento por Schellekens et al⁹ demostrando que los AFA van dirigidos contra fragmentos de filagrina citrulinados y la posterior descripción de los anticuerpos dirigidos contra péptidos cíclicos citrulinados (APcC)³⁰, se puede concluir que los AKA, APF, AFA y APcC forman una familia de autoanticuerpos que detectan antígenos muy relacionados o bien distintos determinantes antigenicos de un mismo antígeno y, por tanto, sería prácticamente sinónimo hablar de ellos. La diferencia se establecería únicamente en la técnica de detección, siendo los AKA y APF detectados mediante IFI, y los AFA y APcC detectados mediante técnicas de ELISA. En conjunto, todos ellos constituyen los autoanticuerpos más específicos de la AR.

Relación con ANTI-RA-33

En 1989 Hassfeld et al describieron un nuevo autoanticuerpo que reaccionaba en los inmunoblot con una proteína nuclear de aproximadamente 33 kDa³¹. Dado que dicho autoanticuerpo se detectó inicialmente sólo en sueros de pacientes afectados de AR, se denominó al antígeno como RA-33. Más tarde se ha comprobado que dicho antígeno es idéntico a la proteína A2 del complejo ribonúcleoproteico nuclear heterogéneo (hnRNP).

Utilizando la hnRNP-A2 parcialmente purificada, se han identificado autoanticuerpos contra dicha proteína en el LES, y en la enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC), además de en la artritis reumatoide. Dos estudios realizados con los anticuerpos anti-RA-33 como marcadores diagnósticos de AR han ofrecido resultados similares, indicando una sensi-

bilidad del 35% y una especificidad entre el 85 y el 88%³² para la AR.

No se ha podido establecer una relación entre la presencia de los AKA y la del anti-RA-33. El anti-RA-33 tampoco se relaciona con otros autoanticuerpos como el FR y los APF³³.

Relación con anti-Sa

Descritos por Despres et al³⁴ en 1994, los anticuerpos anti-Sa tienen una sensibilidad del 42% en la población de AR con una especificidad entre el 78 y el 99%. Se desconoce el antígeno contra el que van dirigidos, aunque se sabe que su peso molecular es de 52 kDa y que es distinto de la proteína de 52 kDa del sistema Ro/SS-A.

En pacientes con AR de larga evolución, Hayem et al³⁵ han encontrado una asociación significativa entre la presencia de anti-Sa y AKA, así como entre la presencia de anti-Sa y de FR, APF y HLA DRB1*04 o DRB1*01, aunque se desconoce el significado de dicha asociación. Por el contrario, no observaron relación entre la presencia de anti-Sa y la de anti-RA-33.

Relación con otros autoanticuerpos

No existen estudios que demuestren la asociación o la falta de asociación entre los AKA y otros autoanticuerpos descritos en la AR, como son los anticuerpos anticélula endotelial, los anticuerpos anticardiolipina, los anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo (ANCA), y los anticuerpos anti-Ro (SS-A).

Utilidad clínica

Con los datos que disponemos en la actualidad, podemos decir que la principal utilidad de los AKA es la posibilidad de realizar un diagnóstico precoz de la AR.

El hecho de que los AKA aparezcan precozmente en la AR³⁶, así como su gran especificidad, permiten que su determinación dentro de la rutina de laboratorio realizada para el diagnóstico de las poliartritis ayude a establecer un diagnóstico de certeza, sobre todo en aquellos casos dudosos como son los que tienen FR-, bien sea por ser AR seronegativos o bien porque se trate de una enfermedad de muy poco tiempo de evolución en la que todavía no se detecte el FR. Existen estudios que han comparado la determinación de diversos autoanticuerpos en las AR de inicio y han podido demostrar la utilidad de determinar los AKA (o APF), además del FR, consiguiéndose así una mayor sensibilidad, especificidad y un mayor valor predictivo en el diagnóstico de la AR. Así, los AKA permiten distinguir las verdaderas AR de otras entidades nosológicas que podrían remediarlas en algún momento. Demostrativo de este punto es el

estudio de Kessel et al³⁷ en el que se demuestra la utilidad para distinguir las AR de las poliartritis provocadas por la infección crónica del virus de la hepatitis C con factor reumatoide positivo.

Significado fisiopatológico

La eterna discusión sobre si los autoanticuerpos son causa o consecuencia en las enfermedades autoinmunes sigue estando vigente en la actualidad. Sin embargo, existen una serie de datos que debe hacernos reflexionar sobre el posible papel patogénico del complejo AKA-APF-AFA en el desarrollo de la AR. En primer lugar, diversos estudios han conseguido demostrar la presencia de AKA al inicio de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, e incluso en pacientes asintomáticos²⁰ que posteriormente han desarrollado una AR. Estos hallazgos apoyarían que estos anticuerpos ejercen un papel patogénico en el desarrollo de la AR, aunque no puede descartarse que se trate de un simple epifenómeno de un proceso patológico todavía desconocido que se iniciaría tiempo antes de comenzar las manifestaciones clínicas de la AR.

Por otro lado, la identificación de los antígenos contra los que van dirigidos estos autoanticuerpos y de los epítitos reconocidos, en particular la identificación de los péptidos ricos en citrulina, abre nuevas fronteras en la explicación fisiopatológica de la AR³⁸. Una posibilidad, como argumentan Schellekens et al⁹, sería la pérdida de la inmunotolerancia. Esta teoría se basa en que durante el desarrollo se establece una inmunotolerancia hacia determinadas proteínas. La modificación de dichas proteínas, por un daño celular masivo, o por una apoptosis incontrolada en el contexto de algún proceso inflamatorio, produciría modificaciones en determinados aminoácidos. Los aminoácidos modificados podrían producir una respuesta inmune al exponer antígenos «nuevos» al sistema inmunológico. Esta respuesta sería la responsable de la proliferación policlonal frente al nuevo antígeno, manifestándose con la presencia de los autoanticuerpos en el suero del paciente. Es probable que esta reacción autoinmune esté restringida a individuos susceptibles genéticamente, y así, por ejemplo, la modificación de la arginina convirtiéndose en citrulina puede romper la tolerancia a determinados péptidos, al igual que sucede en otros tipos de modificaciones postranscripcionales (como la fosforilización de autoantígenos) que se observa durante la apoptosis³⁹.

La enzima que transforma la arginina en citrulina en una cadena proteica, la PAD, se expresa en una amplia variedad de tejidos y de tipos celulares, sugiriendo que la deiminación de la arginina en las proteínas no es un fenómeno raro. Por ello, la presencia de dicha enzima en el tejido sinovial, no es improbable, y de hecho se ha demostrado su pre-

sencia en las células hematopoyéticas que infiltran la sinovial durante los procesos inflamatorios. Así, cobra plausibilidad la teoría de que un daño celular masivo o bien la respuesta inflamatoria a una agresión o a un agente patógeno podrían ser los desencadenantes de un proceso que al perpetuarse en sujetos predisponentes acabaría con el desarrollo de una AR.

Otro de los hechos que pueden indicar el papel patogénico de los AKA en la AR es que éstos se producen localmente en las células plasmáticas del *pannus* sinovial, como se ha demostrado recientemente⁴⁰.

Por todo lo expuesto en los párrafos anteriores, podríamos pensar que los AKA desempeñan un papel en la fisiopatología de la AR aunque no existen pruebas definitivas al respecto.

Conclusiones

De los datos señalados hasta aquí, podemos sacar varias conclusiones. Los AKA, junto al grupo APF, AFA, APcC, son los anticuerpos más específicos en la AR. Aparecen en períodos muy tempranos de la enfermedad, incluso antes de que ésta empiece a dar manifestaciones clínicas, y permiten distinguir las AR de enfermedades con rasgos clínicos comunes, siendo especialmente útiles en los casos de poliartritis seronegativas y en aquellas enfermedades que pueden simular una AR.

Queda por establecer si verdaderamente identifican un subgrupo con distinto pronóstico, pese a que existen estudios que han asociado su presencia a formas AR precozmente erosivas.

El impresionante desarrollo terapéutico que nos toca vivir en el tratamiento de las artritis, y en especial de la AR con la irrupción de los nuevos tratamientos biológicos, si cabe hacen más necesario el establecimiento de un diagnóstico precoz y certero. Por ello, cualquier herramienta que nos permita realizar este diagnóstico será de suma utilidad para establecer una correcta estrategia terapéutica. Es en este punto donde cobran importancia los distintos marcadores de la AR, tanto diagnósticos como pronósticos, y entre ellos los AKA, que son en la actualidad los anticuerpos más específicos en la AR.

Bibliografía

- Hochberg MC. Adult and juvenile rheumatoid arthritis. Current epidemiologic concepts. Epidemiol Rev 1981; 3: 27.
- Chan KWA, Felson DT, Yood RA, Walker AM. The lag time between onset of symptoms and diagnosis of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1993; 37: 814-20.
- 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.
- Joung BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ, Hamblin TJ et al. Antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. Br Med J 1979; 2: 97-9.
- Girbal E, Sebbag M, Gomès-Daudrix V, Simon M, Vincent C, Serre G. Characterisation of the rat oesophagus epithelium antigens defined by the so-called «antikeratin antibodies», specific for rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1993; 52: 749-57.
- Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson-Bessiere C, Girbal E, Durieux JJ et al. The antiperinuclear factor an the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. J Clin Invest 1995; 95: 2672-9.
- Simon M, Vincent C, Häftek M, Girbal E, Sebbag M, Gomès-Daurix V et al. The rheumatoid arthritis-associated autoantibodies to filaggrin label the fibrous matrix of the cornified cells but not the profilaggrin-containing keratohyalin granules in human epidermis. Clin Exp Immunol 1995; 100: 90.
- Gan S-Q, McBride WO, Idler WW, Markova N, Steinert PM. Organization, structure, and polymorphism of the human profilaggrin gene. Biochemistry 1990; 29: 9432.
- Schellekens GA, De Jong BAW, Van den Hoogen FHJ, Van de Putte LBA, Van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. J Clin Invest 1998; 101: 273-81.
- Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Arnaud M, Dalboni P, Sebbag M, Vincent C et al. The epitopes targeted by rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deamination of arginine residues. J Immunol 1999; 162: 585-94.
- Gomes-Daudrix V, Sebbag M, Girbal E, Vincent C, Simon M, Rakotoarivony J et al. Immunoblotting detection of so-called 'antikeratin antibodies': a new assay for the diagnosis of rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1994; 53: 735-42.
- Gripenberg M, Linder E. Demonstration of anti-keratin antibodies by ELISA using keratin or thiol-containing compounds in urea as antigens. J Immunol Methods 1984; 75: 65-72.
- Serre G, Vincent C. Filaggrin (keratin) autoantibodies: En Peter JB, Shoenfeld Y, editores. Autoantibodies. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1996; 271-6.
- Adebajo AO, Hazleman BL, Williams DG, Maini RN. Diagnostic role of antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis [cartal Ann Rheum Dis 1992; 51: 1264].
- Boki KA, Kurki P, Holthofer H, Tzioufas AG, Drosos AA, Moutsopoulos HM. Prevalence of antikeratin antibodies in Greek patients with rheumatoid arthritis. A clinical, serologic and immunogenetic study. J Rheumatol 1995; 22: 2046-8.
- Hajirossou VJ, Skingle J, Gillett AP, Webley M. Significance of antikeratin Antibodies in rheumatoid arthritis. J Rheumatol 1985; 12: 57-9.
- Sharma BL, Rani R, Misra R, Aggarwal A. Anti-keratin antibodies in patients with rheumatoid arthritis. Indian J Med Res 2000; 111: 215-8.
- Ordeig J, Guardia J. Diagnostic value of antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. J Rheumatol 1984; 11: 602-4.
- Gómez A, Viñas O, Sanmartí R, Salvador G, Cañete JD, Orellana C et al. ¿Es posible mejorar la sensibilidad diagnóstica de los AKA en la artritis reumatoide? Rev Esp Reumatol 1999; 26: 159.
- Kurki P, Aho K, Palosuo T, Heliovaara M. Immunopathology of rheumatoid arthritis. Antikeratin antibodies precede the clinical disease. Arthritis Rheum 1992; 35: 914-7.
- Serre G, Vincent C. Filaggrin (keratin) autoantibodies. En Peter JB, Shoenfeld Y, editores. Autoantibodies. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1996; 271-6.
- Paimela L, Gripenberg M, Kurki P, Leirisalo-Repo M. Antikeratin antibodies: diagnostic and prognostic markers for early rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1992; 51: 743-446.
- Kurki P, Von Essen R, Kaarela K, Isomäki H, Palosuo T, Aho K. Antibody to stratum corneum (antikeratin antibody) and antiperinuclear factor: markers for progressive rheumatoid arthritis. Scand J Rheumatol 1997; 26: 346-9.
- Meyer O, Combe B, Elias A, Benali K, Clot J, Sany J et al. Autoantibodies predict the outcome of rheumatoid arthritis:

- evaluation in two subsets of patients according to severity of radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 1997; 56: 682-5.
25. Waaler E. On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1940; 17: 172.
 26. Rose HM, Ragan C, Pearce E, Lipman MO. Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949; 68: 1.
 27. Kirstein H, Mathiesen FK. Antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. Methods and clinical significance. *Scand J Rheumatol* 1987; 16: 331-8.
 28. Muñoz-Fernández S, Álvarez Doorno R, González Tarrio JM, Balsa A, Richi P, Fontan G et al. Antiperinuclear factor as a prognostic marker in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999; 26: 2572-7.
 29. Vincent C, De Keyser F, Masson-Bessière C, Sebbag M, Veys E, Serre G. Anti-perinuclear factor compared with the so called «antikeratin» antibodies and antibodies to human epidermal filaggrin, in the diagnosis of arthritides. *Ann Rheum Dis* 1999; 58: 42-8.
 30. 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.
 31. Hassfeld W, Steiner G, Hartmuth K, Kolarz G, Scherak O, Graninger W et al. Demonstration of a new antinuclear antibody (anti-RA-33) that is highly specific for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 1515-20.
 32. Meyer O, Tauxe F, Fabregas D, Gabay C, Goycochea M, Haim T et al. Anti-RA 33 antinuclear autoantibody in rheumatoid arthritis and mixed connective tissue disease: comparison with antikeratin and antiperinuclear antibodies. *Clin Exp Rheumatol* 1993; 11: 473-8.
 33. Cordonnier C, Meyer O, Palazzo E, De Bandt M, Elias A, Nicaise P et al. Diagnostic value of anti-RA-33 antibody, anti-keratin antibody, antiperinuclear factor and antinuclear antibody in early rheumatoid arthritis: comparison with rheumatoid factor. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 620-4.
 34. Despres N, Boire G, López Longo FJ, Menard HA. The Sa system: a novel antigen antibody system specific for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1994; 21: 1027-33.
 35. Hayem G, Chazeraïn P, Combe B, Elias A, Haïm T, Nicaise P et al. Anti-Sa antibody is an accurate diagnostic and prognostic marker in adult rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999; 162: 585-94.
 36. Aho K, Von Essen R, Kurki P, Palosuo T, Heliovara M. Antikeratin antibody and antiperinuclear factor as markers for subclinical rheumatoid disease process. *J Rheumatol* 1993; 20: 1278-81.
 37. Kessel A, Rosner I, Zuckerman E, Dov Golan T, Toubi E. Use of antikeratin antibodies to distinguish between rheumatoid arthritis and poliarthritis associated with hepatitis C infection. *J Rheumatol* 2000; 27: 610-2.
 38. Van Venrooij WJ, Pruijn GJ. Citrullination: a small change for a protein with great consequences for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2000; 2: 249-51.
 39. Utz PJ, Hottelet M, Schur PH, Anderson P. Proteins phosphorylated during stress-induced apoptosis are common targets for autoantibody production in patients with systemic lupus erythematosus. *J Exp Med* 1999; 185: 843-54.
 40. Masson-Bessiere C, Sebbag M, Durieux JJ, Nogueira L, Vincent C, Girbal-Neuhauser E et al. In the rheumatoid panus, anti-filaggrin autoantibodies are produced by local plasma cells and constitute a higher proportion of Ig G than in Synovial fluid and serum. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 544-52.