Livelli sierici di COMP in pazienti affetti da artrite reumatoide prima e dopo trattamento con infliximab: performance analitiche e correlazioni cliniche

M. Tampoia[a], A. Zucano[a], V. Brescia[a], A. Fontana[a], E. Scioscia[b], G. Lapadula[b], N. Pansini[a]

[a]Laboratorio Patologia Clinica I, Azienda Policlinico di Bari
[b]Clinica Reumatologica, Università degli Studi di Bari

Riassunto

Premesse. **Il dosaggio della proteina oligomerica della matrice cartilaginea (COMP) è stato proposto come marcatore biologico utile nella valutazione a breve e a lungo termine dei pazienti affetti da artrite reumatoide (AR). Scopo del lavoro è stato quello di valutare le performance analitiche del dosaggio immunoenzimatico della COMP e le variazioni delle concentrazioni sieriche in pazienti affetti da AR in trattamento.**
Pazienti e metodi. **Per la valutazione analitica è stato utilizzato lo standard NCCLS EP15-A2 che prevede l'esecuzione di un esperimento di precisione e un esperimento sull'accuratezza del metodo. Per la valutazione clinica sono stati studiati 28 pazienti affetti da AR, 23 femmine e 5 maschi, età media 41.7 anni (range 18-68). Al tempo 0 e a 6 mesi dalla somministrazione del farmaco, sono state eseguite valutazioni cliniche ed esami di laboratorio (VES, proteina C reattiva). Il dosaggio della COMP è stato eseguito con metodica immunoenzimatica (AnaMar Medical AB, Lund, Svezia) in completa automazione.**
Risultati. **Per valori di concentrazione media compresi tra 7.09 U/L e 14.69 U/L, i valori di CV% within-run sono stati inferiori o uguali al 5.50%, i valori di CV% within-laboratory inferiori o uguali al 4.87%. Il test di accuratezza analitica ha mostrato una risposta lineare per concentrazioni comprese tra 4 e 32 U/L. Dopo 6 mesi di trattamento con infliximab, i livelli sierici di COMP sono risultati significativamente ridotti nei pazienti che hanno avuto una risposta secondo i criteri dell'American College of Rheumatology (ACR), ACR responders, sono risultati stabili o aumentati nei pazienti che non hanno avuto risposta, ACR non responders. Le concentrazioni di COMP non hanno mostrato una correlazione statisticamente significativa con parametri clinici e di laboratorio.**
Conclusioni. **Il dosaggio della COMP ha mostrato buone performance analitiche, in automazione, e si propone come marcatore, non invasivo, nella valutazione dell'efficacia farmacologica del paziente in trattamento.**

Summary

Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) following infliximab treatment in patients with rheumatoid arthritis: analitical performances and clinical correlations.
Background. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) is a biomarker for the cartilage turnover and is described as a valuable parameter for the assessment of therapy response in patients with rheumatoid arthritis (RA). This study evaluated the analytical performances and clinical correlations of an automated enzyme immunoassay for the detection of COMP (COMP^{R} ELISA; AnaMar Medical AB, Lund, Sweden).
Methods. Commercial controls and serum pool were used to evaluation of method precision and accuracy in accordance with the description in the NCCLS guideline EP15-A2. Twenty-eight patients with established RA were studied during a 6-month period from initiation of treatment with infliximab. COMP levels were correlated with clinical evaluation and laboratory tests (VES, C reactive protein) and compared before and after treatment.
Results. The total imprecision (CV% within-laboratory) was 3.27%-5.50% for concentrations ranging between 7.09 and 14.69 U/L. The test was linear for concentrations ranging between 4 and 32 U/L. COMP levels decreased in ACR responders patients, remained unchanged or increased in ACR non responders. There was no significant correlation between COMP levels and laboratory test evaluated.
Conclusions. The COMP assay we examined on a fully automated system showed a good analytical performances (precision and linearity) and can provide useful data for evaluating tissue effects of novel treatment in RA.

Keywords: cartilage oligomeric matrix protein (COMP); rheumatoid arthritis; ELISA; C reactive protein; method precision; method accuracy; performance; infliximab.

Ricevuto: 09-01-2006 Accettato: 08-03-2006 Pubblicato on-line: 19-06-2006

Corrispondenza a: Dott.ssa Marilina Tampoia, Laboratorio di Patologia Clinica I, Azienda Ospedaliera Policlinico, 70124 Bari.
Tel. +39-080-5592415, fax +39-080-5592629, e-mail: mtampoia@libero.it

Introduzione

L'artrite reumatoide (AR) è una poliartropatia infiammatoria cronica, caratterizzata da dolore, impotenza funzionale e distruzione delle strutture articolari. Nelle prime fasi di malattia, i sintomi e i segni, a carico delle articolazioni, riflettono i processi di flogosi spesso predominanti, nelle fasi successive sono la conseguenza dell'estensione del danno articolare[1].

Il legame tra flogosi e distruzione articolare è stato ed è tuttora oggetto di discussione[2].

In fase precoce, il trattamento farmacologico consiste nella somministrazione di "farmaci di fondo", DMARDs (disease modifying antirheumatic drugs) in grado di alleviare soprattutto i sintomi relativi ai processi flogistici. Tali farmaci, tuttavia, risultano meno efficaci nel ritardare il progressivo danno articolare[2].

La disponibilità di molecole biologiche, in grado di bloccare l'azione di talune citochine pro-infiammatorie, come il TNF-α, che svolgono un ruolo centrale nell'automantenimento della flogosi, ha modificato l'approccio terapeutico nei pazienti affetti da AR[3]. Molecole chimeriche (parzialmente umanizzate), recettoriali (etanercept) o anticorpali (infliximab), in grado di legare e neutralizzare il TNF-α, si sono mostrate efficaci nel ridurre i segni e i sintomi di artrite[4-6].

Reperti radiografici di mani e piedi, utilizzati come endpoint clinico, in pazienti in trattamento con questi farmaci, spesso in associazione al methotrexato, sembrano evidenziare una riduzione del danno articolare[7-9]. Gli stessi studi tuttavia dimostrano che sono necessari controlli a lungo termine (circa 1 anno) perché si possano rilevare variazioni significative.

Marcatori biologici di danno articolare, potrebbero proporsi come alternativa o in associazione alla radiografia tradizionale per valutare gli effetti farmacologici a breve e a lungo termine[10,11]. Tra questi marcatori vi è la COMP (cartilage oligomeric matrix protein), proteina pentamerica (PM 434kDa), originariamente isolata nella cartilagine[12].

Il primo test di laboratorio utilizzato per la sua determinazione nel siero e nel liquido sinoviale è stato descritto già nel 1992 e si basava sull'utilizzo di una metodica immunoenzimatica ad inibizione che prevedeva l'uso di un antisiero policlonale[13]. Nel nostro lavoro abbiamo valutato le performance analitiche (precisione e accuratezza) di una metodica immunoenzimatica a sandwich, che utilizza due anticorpi monoclonali, e le abbiamo confrontate con quelle della ditta fornitrice e con quelle riportate in letteratura. Abbiamo, quindi, valutato le concentrazioni sieriche di COMP in pazienti affetti da AR, le abbiamo correlate ad alcuni indici di attività clinica di malattia e di laboratorio e comparate prima e dopo trattamento con infliximab.

Metodi

Dosaggio della COMP

E' stato eseguito con metodica immunoenzimatica a sandwich (AnaMar Medical AB, Lund, Svezia), nella quale due anticorpi monoclonali adesi alla fase solida, riconoscono due differenti determinanti antigenici della molecola della COMP umana. Durante l'incubazione, la COMP presente nel campione reagisce con anticorpi anti-COMP legati alla perossidasi (coniugato). Il coniugato legato, non rimosso da una precedente fase di lavaggio, viene rilevato tramite una reazione colorimetrica tra la perossidasi e la 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (substrato), bloccata dall'aggiunta di acido solforico 0,5M. L'intensità della colorazione, letta con spettrofotometro a 450 nm, è funzione dell'enzima coniugato al complesso ed è misurata in unità di assorbanza. La concentrazione della proteina presente nel campione viene stimata dall'interpolazione di una curva costruita con 5 calibratori a differente concentrazione (4, 7, 12, 18 e 32 U/L).

Il dosaggio è stato eseguito su strumentazione ETI-Max (DiaSorin, Saluggia, Italia), analizzatore per micropiastre completamente automatico, che esegue il trattamento dei campioni (pre-diluizione e dispensazione), la dispensazione dei reagenti, l'incubazione, il lavaggio, la lettura fotometrica e l'interpolazione dei risultati. Lo strumento è controllato tramite un software che consente di eseguire il test secondo le specifiche del kit. L'esecuzione semplice e veloce permette di ottenere risultati dopo circa 3 ore.

Protocollo di validazione

Per la validazione metodologica è stato utilizzato lo standard NCCLS, EP15-A2[14] .

Per lo studio della precisione abbiamo utilizzato due pool di sieri , ottenuti da soggetti sani e da pazienti, a differente concentrazione di COMP (pool A e pool B). La procedura specifica ha previsto l'esecuzione di tre determinazioni dei due pool di sieri per cinque giorni consecutivi.

Per lo studio dell'accuratezza abbiamo utilizzato i cinque calibratori, inclusi nel kit diagnostico, a differente livello di concentrazione. La procedura specifica ha previsto l'esecuzione di due determinazioni per ciascuno calibratore per cinque giorni consecutivi.

Dosaggio della proteina C reattiva

La proteina C reattiva (PCR) è stata dosata con tecnica immunologica turbidimetrica (Dade Behring, Liederbach, Germania) con amplificazioni di particelle di latex (PETIA) che, sensibilizzate con un anticorpo diretto contro la PCR (AbPR), si aggregano in presenza della PCR del campione. L'aumento della torbidità, che accompagna l'aggregazione, è proporzionale alla concentrazione della PCR.

Pazienti

Sono stati valutati 28 pazienti, affetti da artrite reumatoide, classificati secondo i criteri dell'American College of Rheumatology (ACR)[15], 23 femmine e 5

maschi con età media di 41.7 anni (range 18-68 anni) e con mediana di malattia di 8.0 anni (range 1-33). Tutti i pazienti sono stati sottoposti a trattamento con infliximab (Remicade, Schering-Plough, Segrate), anticorpo monoclonale chimerico umano-murino anti-TNF-α, con posologia di 3 mg/kg in infusione e.v. alle settimane 0, 2, 6, e poi ogni 8 settimane. Tutti i pazienti assumevano in associazione methotrexato (Methotrexate^{R}, Wyeth Lederle, St. David's, PA, USA) alla dose di 7.5-10 mg/settimana. Sono stati esclusi pazienti sottoposti a terapia corticosteroidea infiltrativa o a dosi di cortisone > 10 mg/die.

Il trattamento con anti-TNF-α è stato sospeso in sei casi: in una paziente per la comparsa di cefalea e tremori durante l'infusione alla 6ª settimana, in una paziente per la comparsa di nausea, diarrea e dolori addominali, in una terza paziente per la comparsa di una capillarite iatrogenica e in tre pazienti per l'insorgenza di infezioni (congiuntivite virale, infezione delle vie urinarie, herpes zooster nucale).

La risposta alla terapia è stata valutata come risposta ACR (ACR 20, 50, 70): sono stati considerati "responders" i pazienti che, dopo 6 mesi di trattamento, avevano ottenuto una risposta ACR 50 o ACR 70, e "non responders" i pazienti che avevano raggiunto una risposta uguale o inferiore ad ACR 20.

Al tempo 0 e a 6 mesi dalla somministrazione del farmaco sono state eseguite valutazioni cliniche: conta delle articolazioni dolenti (TJC) e tumefatte (SJC), scala visuale-analogica del dolore (VAS), calcolo dell'indice di attività di malattia (DAS28), indice articolare di Ritchie ed esami ematochimici: VES, PCR e COMP.

I sieri dei pazienti sono stati raccolti, aliquotati e congelati a – 20°C e sono stati processati nella stessa seduta analitica per ridurre al minimo le variazioni inter-

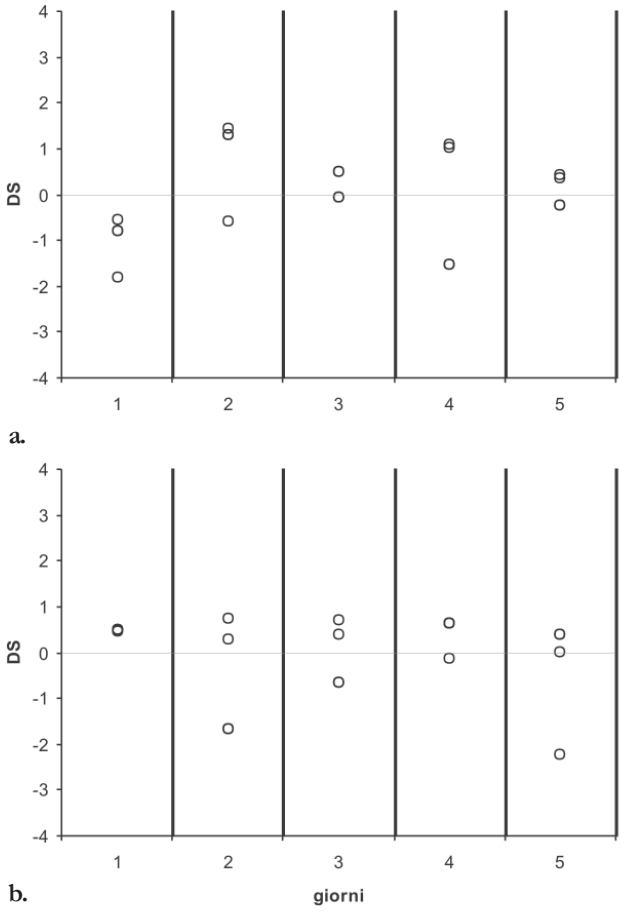

Figura 1. Esperimento di precisione eseguito secondo lo standard NCCLS EP15-A2 su due differenti livelli di concentrazione di COMP, pool A a concentrazione media 7.09 U/L (a), pool B a concentrazione media 14.69 U/L.

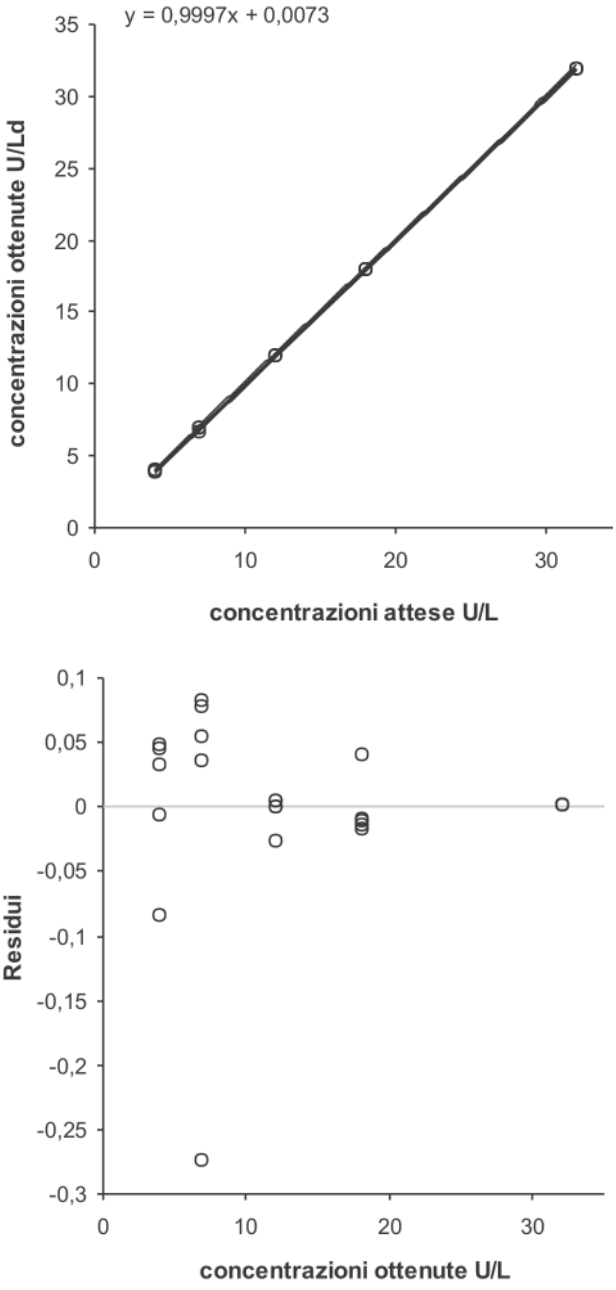

Figura 2. Esperimento di accuratezza eseguito secondo lo standard NCCLS EP15-A2 utilizzando 5 calibratori forniti dalla ditta.

Tabella I. Confronto tra i valori di deviazione standard (DS) ottenuti in laboratorio e quelli dichiarati dalla ditta, per gli stessi livelli di concentrazione della COMP, in rapporto ad un valore di verifica, calcolato secondo le specifiche dello standard.

Concentrazione media U/L	*Deviazioni Standard within-run*		*Valore di verifica*	*Deviazioni Standard within-laboratory*		*Valore di verifica*
	ottenute	*dichiarate*		*ottenute*	*dichiarate*	
7.09	0.22	0.21	0.30	0.24	0.24	0.30
14.69	0.33	0.25	0.36	0.29	0.46	0.56

assay.

Come gruppo controllo abbiamo considerato 20 soggetti sani, 15 femmine e 5 maschi, età media 41.1 anni (range 20-50).

Analisi Statistica

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il test Anova per calcolare il CV% within-run e il CV% within-laboratory. Il linear fit test è stato utilizzato per verificare l'accuratezza del metodo. Il t test di Student e il test di Wilcoxon sono stati utilizzati per le comparazioni. Il test di Pearson è stato utilizzato per le correlazioni. L'utilizzo di un test parametrico o non parametrico è dipeso dalla distribuzione dei dati. E' stato considerato significativo un valore di $p < .05$.

Risultati

Studi di precisione e accuratezza

Le concentrazioni medie e la deviazione standard (DS) ottenute sui due pool (pool A e pool B) durante l'esperimento di precisione sono riportate nella Figura 1.

L'analisi dei risultati ha fornito valori di CV% within-run del 3.27% e di CV% within-laboratory (total CV%) del 3.34% per una concentrazione media di 7.09 U/L (pool A) e di CV% within-run del 5.50% e di CV% within-laboratory del 4.87% per una concentrazione media di 14.69 U/L (pool B) .

I risultati sull'accuratezza analitica del test hanno mostrato una risposta lineare per concentrazioni comprese tra 4 U/L e 32 U/L [y=0.9997x + 0.0073] (Fig. 2).

Tabella II. Caratteristiche cliniche e di laboratorio dei 28 pazienti affetti da AR al tempo 0.

Pazienti	*media*	*range*
Età (anni)	41.7	(18-68)
Durata di malattia (anni)*	11.5	(1-33)
Livelli sierici di COMP (U/L)	9.2	(3.0-21.9)
Proteina C reattiva (mg/L)	39	(4-179)
Velocità di eritrosedimentazione	38	(8-75)
Scala visuale-analogica (VAS)	55.9	(17-90)
Conteggio articolazioni tumefatte (SJC)	18.4	(3-36)
Conteggio articolazioni dolenti (TJC)	23.3	(2-47)
Indice articolare di Ritchie	15.9	(4-48)
Indice di attività di malattia (DAS28)	4.9	(2.7-7.3)

(* mediana della durata di malattia 8.0 anni)

I dati relativi all'esperimento di precisione, espressi in termini di deviazione standard (DS), hanno dimostrato che, per gli stessi livelli di concentrazione della COMP, i valori da noi ottenuti, pur superiori a quelli dichiarati dalla ditta, sono stati compresi entro il valore di verifica calcolato secondo le specifiche dello standard NCCLS (Tab. I).

I dati della letteratura riguardo la valutazione della precisione analitica del dosaggio della COMP con metodo ELISA a sandwich, espressi in termini di CV% intra-assay e CV% inter-assay, riportano valori compresi tra 1.9 e 8% e 2.7 e 10 % rispettivamente, ma spesso sono carenti di informazioni relative al materiale (controlli, pool) e ai livelli di concentrazione di COMP utilizzati, nonchè al protocollo seguito nei saggi [16-21].

Valutazioni cliniche

Alcune delle caratteristiche dei pazienti al tempo 0 sono riportate nella Tabella II.

La concentrazione media di COMP, nei pazienti affetti da AR, è stata di 9.2±4.0 U/L (range 3.0-21.9), e di 6.0±1.2 U/L (range 3.0-7.9 U/L) nel gruppo controllo, con differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($p<.0001$) (Fig. 3).

Le caratteristiche cliniche e di laboratorio dei pazienti ACR responders e ACR non responders non erano differenti al tempo 0 (Tab. III).

I livelli sierici di COMP, valutati prima del trattamento con infliximab, hanno mostrato solo una bassa correlazione con indice di Ritchie, TJC e PCR e nessuna

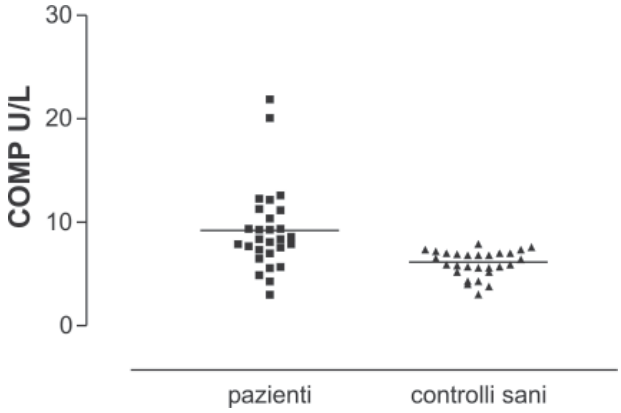

Figura 3. Concentrazioni di COMP nei pazienti affetti da AR e nei controlli sani. La concentrazione media è statisticamente diversa tra i due gruppi (t test, $p<.0001$).

Tabella III. Caratteristiche cliniche e di laboratorio dei pazienti ACR responders e ACR non responders al tempo 0. Il valore della p dimostra che non ci sono significative differenze tra i due gruppi.

Pazienti	*ACR responders (n.13)*	*ACR non responders(n.9)*	*Differenzavalore p*
Età (anni)	43.8(29-62)	34.5(18-68)	0.18
Durata di malattia (anni)	11.7(1-33)	12(2-21)	0.95
Livelli sierici di COMP (U/L)	10.9(6.1-21.9)	7.9(3.0-12.6)	0.12
Proteina C reattiva (mg/L)	49(6-179)	35(4-95)	0.45
Velocità di eritrosedimentazione	38.6(8-75)	40.3(20-75)	0.82
Indice articolare di Ritchie	17.5(8-33)	14.5(4-48)	0.55
Indice di attività di malattia (DAS28)	5.1(3.6-7.3)	4.6(2.7-6.7)	0.39

Tabella IV. Coefficiente di correlazione (test di Pearson) tra livelli sierici di COMP e indici clinici, al tempo 0 (a) e dopo 6 mesi di trattamento, nei pazienti ACR responders e ACR non responders (b) * p<.05.

	COMP	*VES*	*PCR*	*durata di malattia*	*VAS*	*SJC*	*TJC*	*indice di Ritchie*	*DAS28*
a.									
Pazienti al tempo 0 (n.28)	coefficiente	-0.08	0.44*	0.02	0.30	0.25	0.47*	0.35*	0.34
b.									
ACR responders(n.13)	coefficiente	-0.14	0.22	-0.12	0.14	-0.06	-0.09	-0.08	-0.03
ACR non responders (n.9)	coefficiente	-0.23	-0.33	0.14	0.26	-0.59	-0.07	-0.08	-0.35

correlazione con gli altri parametri clinici (durata di malattia, VAS, SJC, DAS28) e di laboratorio (Tab. IV a). Nessuna correlazione è stata inoltre dimostrata tra livelli sierici di COMP e i parametri clinici e di laboratorio, dopo 6 mesi di trattamento, sia nei pazienti ACR responders sia negli ACR non responders (Tab. IV b).

Dopo 6 mesi di trattamento con infliximab, i livelli di COMP sono risultati significativamente ridotti nei 13 pazienti ACR responders (p=.008), stabili o aumentati nei 9 pazienti ACR non responders (p=0.14) (Fig. 4, a e b).

Nei pazienti ACR responders che al tempo 0 presentavano livelli di COMP, superiori alla media, il decremento dei livelli di COMP era già significativo a 6 settimane di trattamento (p=.010), rispetto ai pazienti ACR responders con livelli inferiori alla media (p=.067) (Fig. 5, a e b) ed è rimasto significativamente ridotto fino ai 6 mesi di trattamento.

Discussione

Recenti studi hanno dimostrato l'utilità clinica di marcatori di turnover cartilagineo nell'inquadramento diagnostico e nel monitoraggio dell'AR[22]. La COMP, marcatore biochimico di distruzione articolare, è ritenuta un valido indicatore di progressione di malattia[22].

E' stato, infatti, dimostrato che elevati livelli di COMP riflettono l'entità e l'evoluzione del danno cartilagineo in pazienti affetti da AR senza documentati segni radiografici[22].

Premessa necessaria a dimostrare l'applicabilità clinica di un test è quella di valutare le performance analitiche del metodo utilizzato. L'analisi dei principali lavori, riguardo l'utilizzo clinico della COMP, evidenzia, in generale, una insufficiente valutazione delle caratteristiche analitiche (precisione e accuratezza) prima del suo impiego. Infatti le procedure di validazione metodologica descritte risultano poco standardizzate per mancanza di informazioni riguardo la frequenza dei replicati (numerosità campionaria), la concentrazione dell'analita utilizzato, la struttura del saggio e i criteri di accettabilità dei risultati ottenuti.

Il nostro studio è stato condotto seguendo il protocollo EP15-A2 del NCCLS[14]. Tale protocollo, è risultato semplice e facilmente applicabile, ma anche rigoroso nel fornire informazioni statisticamente valide e confrontabili. Infatti le performance analitiche (precisione ed accuratezza), ottenute in "attività di routine" hanno confermato le specifiche prodotte in fase sperimentale e hanno supportato l'idoneità dell'utilizzo clinico del test su strumentazione di routine completamente automatizzata.

Pertanto, il dosaggio della COMP può rappresentare un valido supporto agli altri parametri clinici e strumentali, utilizzati nella diagnosi e nel monitoraggio dell'AR, che sebbene standardizzati, risultano difficilmente quantificabili[23-26].

La valutazione clinica da noi eseguita ha mostrato che i livelli sierici di COMP non correlano o correlano poco con indici di flogosi aspecifica (VES, PCR), sia al tempo 0 che dopo trattamento farmacologico. Questa osservazione, già documentata in letteratura, supporta l'ipotesi che il processo infiammatorio e la distruzione cartilaginea non siano direttamente legati[27,28].

Avendo tali caratteristiche, la COMP potrebbe rappresentare una variabile aggiuntiva da utilizzare non solo nella valutazione dello stato di malattia ma anche della

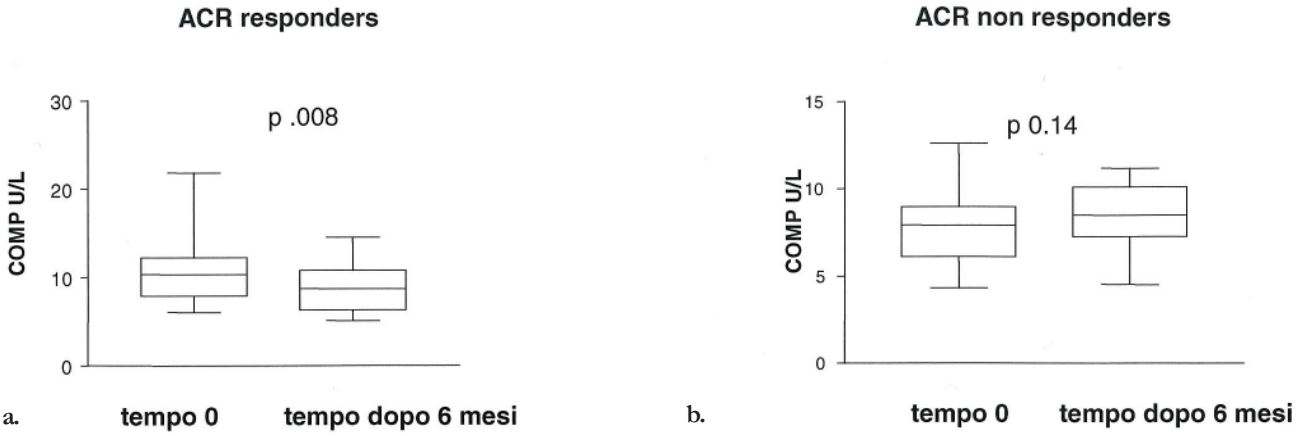

Figura 4. Livelli circolanti di COMP, prima e dopo trattamento con infliximab. I livelli sono (a) significativamente ridotti nei 13 pazienti ACR responders (test di Wilcoxon, p=.008), (b) non ridotti o aumentati nei 9 pazienti ACR non responders (test di Wilcoxon, p=0.14).

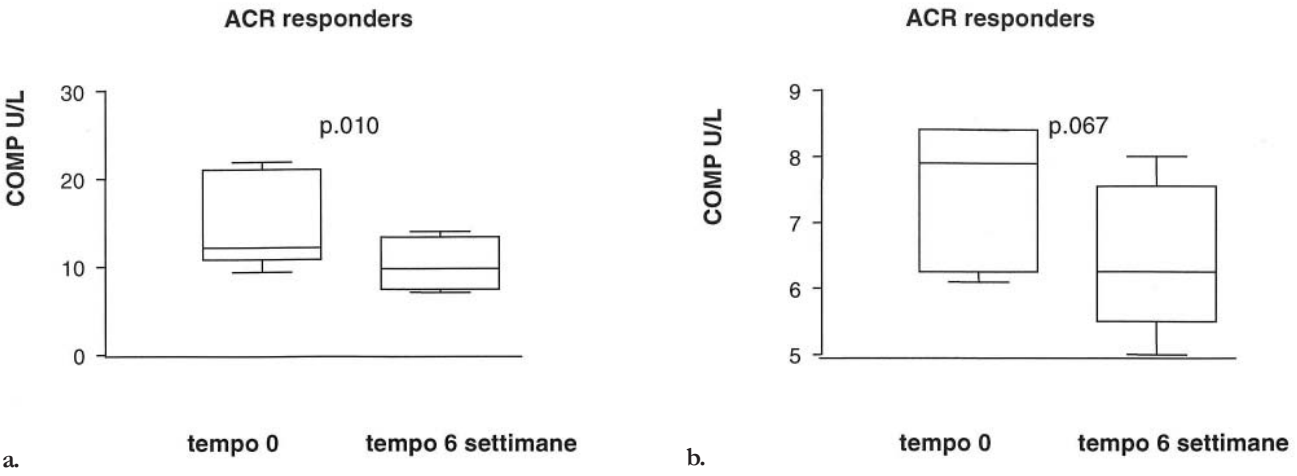

Figura 5. Livelli circolanti di COMP a 6 settimane di trattamento con infliximab nei pazienti ACR responders. Il decremento è già (a) significativo nei pazienti con livelli di COMP al tempo 0 superiori alla concentrazione media (test di Wilcoxon, p=.010), (b) non significativo in quelli con livelli di COMP al tempo 0 inferiori alla concentrazione media (test di Wilcoxon, p=.067).

valutazione dell'efficacia del trattamento farmacologico nel bloccare la degradazione cartilaginea o nel migliorare i sintomi e i segni di infiammazione[29].

Nella nostra casistica, la riduzione dei livelli di COMP si è verificata solo nei pazienti ACR responders al trattamento con infliximab ed è risultata già significativa, dopo 6 settimane di terapia, in quei pazienti che presentavano al tempo 0 livelli di concentrazione superiore alla media. Tale riduzione, che è persistita nel tempo, è stata attribuibita al farmaco che ha ritardato la progressione della distruzione articolare e non all'esaurimento del tessuto cartilagineo conseguente al progredire della malattia. Dall'altra parte, nei pazienti ACR non responders i livelli di concentrazione di COMP sono risultati stabili o aumentati per lo stesso periodo di osservazione.

Un bias al nostro studio può essere l'assenza di reperti radiografici per le correlazioni e le comparazioni dei dati ottenuti nei pazienti esaminati. Tuttavia i nostri risultati sono in accordo con quelli ottenuti da trial clinici che includevano il dato radiografico[9].

Rispetto alle metodologie per immagine, il dosaggio della COMP potrebbe fornire una valutazione più immediata dell'efficacia terapeutica di un farmaco, senza richiedere lunghi periodi di follow-up[25].

In conclusione, il dosaggio della COMP ha mostrato buone performance analitiche anche in regime di routine. In fase diagnostica può rappresentare un valido supporto agli altri parametri clinici e di laboratorio nel valutare lo stato di malattia non solo in un gruppo di pazienti, ma anche nel singolo paziente. In fase di monitoraggio può avere il vantaggio, rispetto alle metodologie per immagine, di fornire una documentazione più rapida dell'effetto farmacologico.

Bibliografia

1. Welsing PM, van Gestel AM, Swinkels HL, Kiemeney LA, Van Riel PL. The relationship between disease activity, joint

destruction, and functional capacity over the course of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2001;44:2009-17.
2. Van den Berg WB. Uncoupling of inflammatory and destructive mechanisms in arthritis. Semin Arthritis Rheum 2001;30:7-16.
3. Feldmann M, Maini RN. Discovery of TNF-α as a therapeutic target in rheumatoid arthritis: preclinical and clinical studies. Joint Bone Spine 2002;69:12-8.
4. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Long-Fox A, Charles P, Katsikis P, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with chimeric monoclonal antibodies to tumor necrosis factor alpha. Arthritis Rheum 1993;36:1681-90.
5. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Kalden JR, Antoni C, Smolen JS, et al. Randomised double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor alpha versus placebo in rheumatoid arthritis. Lancet 1994;344:1105-10.
6. Moreland LW, Baumgartner SW, Schiff MH, Tindall EA, Fleischmann RM, Weaver AL, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with a ricombinant human tumor necrosis factor receptor(p75)-Fc fusion protein. N Engl J Med 1997;337:141-7.
7. Bathon JM, Martin RW, Fleischmann RM, Tesser JR, Schiff MH, Keystone EC, et al. A comparison of etanercept and methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. N Engl J Med 2000;343:1586-93.
8. Jiang Y, Genant HK, Watt I, Cobby M, Bresnihan B, Aitchison R, et al. A multicenter, double-blind, dose-ranging, randomized, placebo-controlled study of recombinant human IL-1 receptor antagonist in patients with rheumatoid arthritis: radiologic progression and correlation of Genant and Larsen scores. Arthritis Rheum 2000;43: 1001-9.
9. Lipsky PE, van der Heijde DM, St. Clair EW, Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR, et al. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. Anti-tumor necrosis factor trial in RA with concomitant therapy study group. N Engl J Med 2000;343:1594-602.
10. Van der Heijde D, Simon L, Smolen J, Strand V, Sharp J, Boers M, et al. How to report radiographic data in randomized clinical trials in RA: guidelines from a roundtable discussion. Arthritis Rheum 2002;47:215-8.
11. Saxne T, Mansson B. Molecular markers for assessment of cartilage damage in RA. In Rheumatoid Arthritis. New Frontiers in Pathogenesis and Treatment. In Firestein G, Panayi GS, Wollheim FA (eds). Oxford: Oxford University Press; 2000:291-304.
12. Hedbom E, Antonsson P, Hijerpe A, Aeschlimann D, Paulsson M, Rosa-Pimentel E, et al. Cartilage matrix proteins. An acidic oligomeric protein (COMP) detected only in cartilage. J Biol Chem 1992;267: 6132-6.
13. Saxne T, Månsson D. Cartilage oligomeric matrix protein: a novel marker of cartilage turnover detectable in synovial fluid and blood. Br J Rheumatol 1992,31:583-91.
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline-second edition. NCCLS guideline EP15-A2. Wayne, PA: NCCLS, February 2005.
15. 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.
16. Vilim V, Olejarova M, Machacek S, Gatterova J, Kraus VB, Pavelka K. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) correlate with radiographic progression of knee osteoarthritis. OsteoArthritis and Cartilage 2002;10:707-13.
17. Crnkic M, Månsson B, Larsson L, Geborek P, Heinegård D, Saxne T. Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) decreases in rheumatoid arthritis patients treated with infliximab or etanercept. Arthritis Res Ther 2003;5:181-5.
18. Vilim V, Voburka Z, Vytasek R, Senolt L, Tehetverikov I, Kraus VB, et al. Monoclonal antibodies to human cartilage oligomeric matrix protein: epitope mapping and characterization of sandwich ELISA. Clin Chim Acta 2003;328:59-69.
19. Jordan JM, Luta G, Stabler T, Renner J, Dragomir AD, Vilim V, et al. Ethnic and sex differences in serum levels of cartilage oligomeric matrix protein. Arthritis Rheum 2003;48:675-81.
20. Pavelka K, Forejtova S, Olejarova M, Gatterova J, Senolt L, Spacek P, et al. Hyaluronic acid levels may have predictive value for the progression of knee osteoarthritis. Osteo Arthritis and Cartilage 2004;12:277-83.
21. Mundermann A, Dyrby CO, Andriacchi TP, King KB. Serum concentration of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) is sensitive to physiological cyclic loading in healthy adults. OsteoArthritis and Cartilage 2005;13:34-8.
22. Christgau S, Cloos P. Cartilage degradation products as markers for evaluation of patients with rheumatic disease. Clin Appl Immunol Rev 2004; 4:277-94.
23. Stucki G, Langenegger T. Management of rheumatoid arthritis. Curr Opin Rheumatol 1997;9:229-35.
24. Scott DL, Houssien DA. Clinical and laboratory assessments in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Br J Rheumatol 1996;35:6-9.
25. Ory PA. Interpreting radiographic data in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2003;62:597-604.
26. Skoumal M, Kolarz G, Klingler A. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein. A predicting factor and valuable parameter for disease management in rheumatoid arthritis: Scand J Rheumatol 2003;32:156-61.
27. Roux-Lombard P, Eberhardt K, Saxne T, Dayer JM, Wollheim FA. Cytokines, metalloproteinases, their inhibitors and cartilage oligomeric matrix protein: relationship to radiological progression and inflammation in early rheumatoid arthritis. A prospective 5-year study. Rheumatology 2001;40(5):544-51.
28. Larsson E, Erlandsson HH, Lorentzen JC, Larsson A, Månsson B, Klareskog L, et al. Serum concentrations of cartilage oligomeric matrix protein, fibrinogen and hyaluronan distinguish inflammation and cartilage destruction in experimental arthritis in rats. Rheumatology 2002;41:996-1000.
29. Christgau S, Cloos PAC. Current and future applications of bone turnover markers. Clin Lab 2003;49:439-46.