

Nowe autoprzeciwciała w rozpoznaniu reumatoidalnego zapalenia stawów

New autoantibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis

Magdalena Kuligowska, Grażyna Odrowąż-Sypniewska, Magdalena Krintus

Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej *Collegium Medicum* w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, kierownik Katedry prof. dr hab. Grażyna Odrowąż-Sypniewska

Słowa kluczowe: reumatoidalne zapalenie stawów, autoprzeciwciała.

Key words: rheumatoid arthritis, autoantibodies.

Streszczenie

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest najczęściej występującą chorobą zapalną stawów. Rozpoznanie tego schorzenia, pomimo ustalonych kryteriów diagnostycznych, nadal stwarza wiele trudności, zwłaszcza we wczesnym stadium. Zbyt niska czułość oznaczenia czynnika reumatoidalnego w początkowym okresie choroby oraz stosunkowo późne rozpoznanie zmian w obrazie radiologicznym sprawiają, że wciąż poszukuje się nowych markerów o wysokiej czułości i swoistości, które byłyby przydatne w laboratoryjnej diagnostyce RZS. Spośród parametrów serologicznych wymienia się przede wszystkim przeciwciała przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi (anty-CCP), przeciwciała antykeratynowe (AKA), przeciwciała antyfilagrynowe (AFA) oraz czynnik antyperinuklearny (APF). Jednakże ze względu na wysoką specyficzność i czułość jednym z najbardziej użytecznych w diagnostyce RZS może stać się oznaczanie przeciwciał anty-CCP. W związku z automatyzacją oznaczenia tych przeciwciał ich badanie powinno wkrótce znaleźć zastosowanie w rutynowej diagnostyce reumatoidalnego zapalenia stawów.

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest najczęstszą chorobą zapalną stawów. Ze względu na postępujący charakter choroby istnieje konieczność wczesnego, ale i agresywnego leczenia pacjentów z RZS. Farmakoterapia spowalnia postęp zmian kostno-stawowych, ale jednocześnie często doprowadza do wielu powikłań narządowych. Dlatego tak istotne jest prawidłowe rozpoznanie tego schorzenia [1].

Summary

Rheumatoid arthritis (RA) is the most common inflammatory joint disease. The diagnosis of this disease, despite established criteria, still creates many difficulties, especially in the early stage of the disease. The sensitivity of rheumatoid factor (RF) in the initial phase of disease is too low and the relatively late occurrence of radiological changes means that searching for new markers with high sensitivity and specificity useful in laboratory diagnosis of RA is highly appreciated. Among serological parameters special attention has been focused on anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP), antikeratin antibodies (AKA), antifilaggrin antibodies (AFA) and antiperinuclear factor (APF). However, for high specificity and sensitivity, anti-CCP seem to be the most useful in diagnosis of RA. Anti-CCP will be available very soon in an automatic immunological analyzer enabling the detection of these antibodies in routine laboratories.

Rozpoznanie reumatoidalnego zapalenia stawów, szczególnie wczesnego okresu choroby i postaci o nietypowym przebiegu, pomimo ustalonych przez *American College of Rheumatology* (ACR) kryteriów klinicznych, radiologicznych i immunologicznych, nadal stwarza wiele trudności. Czynnikiem reumatoidalnym, jako dotychczas jedyne kryterium immunologiczne rozpoznawania RZS, oznaczany w początkowym okresie cho-

Adres do korespondencji:

dr med. Magdalena Kuligowska, Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, *Collegium Medicum* im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel. +48 52 585 36 85, faks +48 52 585 36 03, e-mail: magdalenakuligowska@wp.pl

Praca wpłynęła: 2.01.2007 r.

roby, w tzw. wczesnym RZS, jest wykrywany zaledwie u 30% chorych [2]. Ponadto jego obecność stwierdza się nie tylko w reumatoidalnym zapaleniu stawów, ale również w różnych chorobach reumatycznych, zakaźnych i wielu innych, a także u 3–5% osób zdrowych, co znacznie zmniejsza jego wartość diagnostyczną jako markera specyficznego dla RZS [3].

Zmiany widoczne w obrazie radiologicznym występują również stosunkowo późno, dlatego niekiedy potwierdzenie rozpoznania dokonane jest w zaawansowanym stadium RZS, tj. wtedy, gdy uszkodzenie chrząstki stawowej jest już nieodwracalne. Dlatego też wciąż poszukuje się nowych wczesnych markerów o wysokiej czułości i swoistości, które byłyby przydatne w diagnostyce laboratoryjnej tej choroby [1, 4, 5].

Wśród serologicznych parametrów diagnostycznych charakterystycznych dla RZS opisano wiele swoistych i nieswoistych przeciwciał, takich jak przeciwciała przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi (anty-CCP) i wimentynie (anty-Sa), przeciwciała przeciwko kolagenowi typu II (CII), przeciwciała przeciw białku wiążącemu immunoglobuliny (anty-BiP), przeciwciała antykeratynowe (AKA), antyfilagrynowe (AFA) oraz czynnik okołojądrowy (APF), a ponadto przeciwciała anty-GPI i anty-RA 33 (tab. I) [2, 4, 5].

Mechanizmy odpowiedzialne za powstawanie tych przeciwciał nie są dokładnie poznane, wiadomo jednak, że ich obecność obrazuje wzajemne oddziaływania między komórkami T i B układu immunologicznego, będące podłożem patogenezы reumatoidalnego zapalenia stawów [6].

Przeciwciała przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi

Od pewnego czasu w diagnostyce laboratoryjnej RZS wykorzystywane są przeciwciała przeciw cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi (anty-CCP). Nadal jednak pozostają one przedmiotem intensywnych badań naukowych i klinicznych, mających na celu ocenę ich użyteczności diagnostycznej. Również postęp w badaniach nad rolą czynników genetycznych dotyczy obecności przeciwciał anty-CCP u chorych na RZS. Wydaje się, że chorzy z obecnymi przeciwciałami (anty-CCP +) różnią się immunogenetycznie od tych, u których się ich nie stwierdza [7]. Sugeruje się nawet konieczność zmiany kryteriów klasyfikacji, w związku z występowaniem różnic fenotypowych uwzględniających obecność lub brak przeciwciał anty-CCP.

Przeciwciała anty-CCP w literaturze są określane jako idealny marker reumatoidalnego zapalenia stawów [3]. Po raz pierwszy zostały opisane przez Schellekens

i wsp. w 1998 r. [3, 8]. Wykazali oni, że przeciwciała obecne w surowicy chorych na RZS wiążą determinanty antygenowe zawierające cytrulinę, czyli aminokwas występujący w białkach ludzkich, takich jak filagryna, mielina i trychohialina [8, 9]. Cytrulina powstaje w tzw. reakcji cytrulinacji, czyli deiminacji peptydyloargininy, katalizowanej przez swoisty enzym – deiminazę peptydyloargininową (PAD) [10, 11]. Zidentyfikowano 4 formy ludzkiego enzymu PAD. Ich specyficzność substratowa i sposób aktywacji oraz lokalizacja w komórce nie zostały do tej pory dokładnie poznane [9]. Wiadomo jednak, że wariant genu PAD4, kodujący jeden z izotypów enzymu PAD, zwiększa podatność na reumatoidalne zapalenie stawów poprzez wzrost aktywności enzymatycznej PAD [9, 11]. Wykazano, że zarówno ekspresja PAD, jak i cytrulinacja białek są związane z błoną maziową [11]. Ponadto wyniki badań przeprowadzonych na myszach sugerują, że w stymulacji PAD mogą odgrywać rolę żeńskie hormony płciowe [9]. Girbal-Neuhausser i wsp. w 1999 r. stwierdzili [12], że rekombinowane fragmenty filagryny są rozpoznawane przez autoprzeciwciała obecne w RZS po ich enzymatycznej deiminacji *in vitro*, co potwierdza wcześniejsze doniesienia [9, 10].

Wykazano, że przeciwciała anty-CCP należą do klasy IgG [13, 14] i są produkowane miejscowo w reumatoidalnie zmienionej błonie maziowej [11, 13, 15]. Ponadto limfocyty B pochodzące z płynu stawowego pacjentów anty-CCP dodatnich mogą spontanicznie wytwarzać przeciwciała przeciwko cytrulinie, w przeciwieństwie do komórek B krwi obwodowej i limfocytów B chorych na RZS, u których nie stwierdza się tych przeciwciał [9, 16].

Tabela I. Czulość i specyficzność markerów serologicznych w reumatoidalnym zapaleniu stawów [18]

Table I. Sensitivity and specificity of serological markers in rheumatoid arthritis [18]

Przeciwciała	Czułość [%]	Specyficzność [%]
APF	29–79	89–98
AKA	27–47	84–94
AFA	33–76	93–98
Sa	22–40	85–95
anty-RA33	29–36	40–87
anty-BiP/p68	64	93
anty-GPI	64	98
anty-CCP	60–80	98

Biologiczne znaczenie tych przeciwciał nie jest jednak do końca poznane. Prawdopodobnie procesy zapalne, nasilona apoptoza lub martwica prowadzą do miejscowych przemian, w wyniku których dochodzi do modyfikacji związanej z powstawaniem nowych epitopów antygenowych. Tak zmienione autoantygeny stymulują wytwarzanie przeciwciał anti-CCP, prowadząc do reakcji autoimmunologicznej [15]. Badania wykazały, że u chorych na RZS cytrulinacji ulegają białka błony maziowej – łańcuchy α i β fibryny. Ponadto w płynie stawowym pacjentów z RZS stwierdza się wysokie miana przeciwciał skierowanych przeciwko cytrulinie, co sugeruje, że badane przeciwciała reagują z cytrulinowanymi łańcuchami fibryny błony maziowej zmienionych zapalnie stawów [9, 10, 13].

Przeciwciała anti-CCP a diagnostyka reumatoidalnego zapalenia stawów

Opracowanie przez Schellekensa i wsp. testu enzymatycznego (ELISA) z użyciem syntetycznego cytrulinowanego peptydu jako antygeny pozwoliło na wykrycie przeciwciał anti-CCP w surowicy chorych na RZS. Wykazano, że zastosowanie cyklicznego, zamiast liniowego, peptydu zawierającego cytrulinę znacznie zwiększa czułość i specyficzność metody [17]. Testy z użyciem liniowego peptydu cfc1, który w miejsce argininy ma podstawioną cytrulinę, cechuje czułość wynosząca 49%, natomiast zastosowanie cyklicznego peptydu cfc1-cyc, utworzonego przez substytucję seryny cysteiną w cfc1, zwiększa czułość wykrywania tych przeciwciał do 68% (testy I generacji) [4, 9, 10]. Wykorzystanie wysoko oczyszczonych syntetycznych peptydów zawierających cytrulinę w testach II generacji pozwoliło na uzyskanie czułości 75–82% i specyficzności 98% [3, 9, 18].

Większość autorów potwierdza obecność przeciwciał anti-CCP już we wczesnym reumatoidalnym zapaleniu stawów, co może być wykorzystywane w postawieniu rozpoznania [3, 19, 20]. Dane literaturowe wskazują na występowanie anti-CCP we wczesnym okresie RZS u 30–45% badanych [20], a wg Vallbrachta i wsp. [3] nawet u 40–60% chorych.

Badania dowodzą także, że występowanie przeciwciał anti-CCP może poprzedzać pierwsze objawy choroby [3, 19, 21], również ryzyko rozwoju RZS w ciągu 5 lat jest większe u osób anti-CCP dodatnich niż RF IgM dodatnich.

Przeciwciała anti-CCP są wykrywane również u ok. 35–40% chorych z RF (-) postacią RZS, co może okazać się pomocne w diagnozowaniu tych przypadków.

Wielu autorów podkreśla wartość przeciwciał anti-CCP jako wskaźnika prognostycznego aktywności cho-

roby [19, 22, 23]. Według Lee i wsp. [24] u pacjentów z dodatnim wynikiem testu anti-CCP obserwuje się większe zmiany w obrazie radiologicznym oraz nasiloną destrukcję stawów, co potwierdzają także badania innych autorów [25, 26]. Wykazano, że stężenie przeciwciał koreluje z rozwojem nadżerkowej postaci choroby [3, 9, 16, 18, 27, 28].

Przydatność diagnostyczną anti-CCP oceniano również do rozpoznania i przebiegu idiopatycznego młodzieńczego zapalenia stawów. Stwierdzono ich występowanie jedynie u chorych z wielostawowym zapaleniem i obecnością czynnika reumatoidalnego w surowicy, rutynowe oznaczanie anti-CCP w przypadku tej jednostki chorobowej nie jest zatem uzasadnione [29].

Przeciwciała wiążące filagrynę

Filagryna jest białkiem o masie 37 kDa, związanym z filamentami pośrednimi, uczestniczącym w agregacji filamentów cytokeratyny w procesie rogowacenia naskórka [30]. Jest syntetyzowana w postaci ufosforylowanego białka prekursorowego – profilagryny, magazynowanego w ziarnistościach keratohialiny [4, 10, 16, 28]. Podczas późnego etapu różnicowania komórek epitelialnych dochodzi do częściowej defosforylacji profilagryny, w wyniku której ulega ona proteolitycznemu rozpadowi do 10–12 podjednostek filagryny.

W konsekwencji ok. 20% podstawień argininowych ulega zamianie na cytrulinowe [4, 9, 16, 28].

Oczyszczoną filagrynę pochodzącą z ludzkiego naskórka wykorzystuje się jako antygen w metodzie immunoblottingu i ELISA do wykrywania przeciwciał anti-filagrynowych (anti-AFA) [28]. Obecność przeciwciał anti-AFA stwierdza się u 41% chorych na RZS. Ponadto anti-AFA są wykrywane we wczesnym okresie RZS, a także w 45% przypadkach surowiczoujemnego RZS, przebiegającego ze zmianami nadżerkowymi w stawach [16]. Pomimo wysokiej specyficzności anti-AFA (99%), ich czułość jest zbyt mała, aby były przydatne w rozpoznaniu RZS, mimo iż wykazano, że użycie rekombinowanej filagryny może zwiększyć czułość metody do 52%.

Do przeciwciał rozpoznających epitopy fragmentów filagryny lub profilagryny zalicza się także przeciwciała antykeratynowe (AKA) i przeciwko czynnikowi okołojądrowemu (AFP).

Przeciwciała przeciwko czynnikowi okołojądrowemu

Przeciwciała przeciwko czynnikowi okołojądrowemu (APF) po raz pierwszy opisali Nienhuis i Mandema w 1964 r. [30]. Wykazano, że reagują one z okołojądrowymi ziarnistościami keratohialiny komórek błony śluzowej policzka [9, 16, 28, 31, 32] i zazwyczaj należą

do immunoglobulin klasy G, rzadziej A i M [31]. Występują u 49–91% chorych na RZS, a ich oznaczanie cechuje się specyficznością 73–99% [4, 10, 16, 28, 31]. Jednak ze względu na trudności z uzyskaniem odpowiedniego materiału (substratu) do badania oraz trudności w interpretacji wyników nie są oznaczane rutynowo w laboratoriach diagnostycznych [9, 16, 28, 31].

Przeciwciała przeciwkeratynowe

W 1979 r. Young i wsp. odkryli w surowicy chorych na reumatoidalne zapalenie stawów przeciwciała reagujące z komórkami warstwy rogowej nabłonka przełyków szczurzych, zawierające głównie keratynę (AKA) [33]. Zostały one wykryte metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF) [4, 16, 31, 32, 34]. Później wykazano, że antygenem rozpoznawanym przez przeciwciała AKA jest filagryna naskórka ludzkiego o masie cząsteczkowej 37 kDa.

Przeciwciała antykeratynowe występują u 36–59% chorych na RZS, ze specyficznością 88–99% [16]. Obecność tych przeciwciał nie zależy jednak od czasu trwania choroby, może natomiast poprzedzać objawy kliniczne RZS. Wykazano, że miana AKA koreluje z innymi przeciwciałami oraz obecnością czynnika reumatoidalnego w surowicy chorych, a ponadto z aktywnością i ciężkością przebiegu choroby [9, 31].

Sebbag i wsp. [35] sugerują, że AKA i APF są tymi samymi autoprzeciwciałami rozpoznającymi białka związane z ludzką naskórkową filagryną i profilagryną komórek nabłonkowych policzka [4, 10, 31, 36].

Przeciwciała anty-Sa

Przeciwciała anty-Sa po raz pierwszy opisali w 1994 r. Despres i wsp. [4, 10, 37]. Antygen Sa jest białkiem o masie 48–50 kDa, obecnym w ludzkiej śledzionie, ekstrakcie z łożyska i tłuszczce reumatoidalnej [16]. Sugeruje się, że antygen ten jest cytrulinową formą przejściową filamentów białka wimentyny, dlatego też mógłby być zaliczony do rodziny białek filagryny/cyklicznego cytrulinowanego peptydu (CCP).

Antygen Sa jest rozpoznawany przez autoprzeciwciała ok. 40% chorych na RZS [16]. Obecność przeciwciał stwierdza się przede wszystkim u chorych z ustalonym rozpoznaniem oraz destrukcyjną postacią choroby. Dlatego też uważa się, że przeciwciała anty-Sa mogą być wczesnym markerem szybkiej destrukcji stawów u pacjentów z RZS [5, 18]. Ponadto stwierdza się je także w 23% przypadków wczesnej postaci RZS [4, 10, 16]. Jednakże przeciwciała anty-Sa występują również w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów i u 7% osób zdrowych, co zmniejsza ich wartość diagnostyczną jako markera swoistego dla RZS [4, 10].

Przeciwciała przeciwko łańcuchom ciężkim białka p68

Autoprzeciwciała skierowane przeciw białku p68, czyli łańcuchom ciężkim białka – BiP (anty-BiP), wykryto u ok. 64% chorych na RZS. Początkowo BiP zidentyfikowano jako 68K antygen, którego ekspresję wykazano w błonie maziowej stawów i komórkach układu immunologicznego, a ponadto w białkach, zwanych czaperoninami, zlokalizowanych w *reticulum* endoplazmatycznym. Głównym epitopem tego antygeny, zależnego od limfocytów B, są prawdopodobnie grupy węglowodanowe N-acetyloglukozaminy znajdujące się w *reticulum* endoplazmatycznym lub cytoplazmie komórki. Wykazano, że pod wpływem stresu, a szczególnie szoku cieplnego, antygen ten może ulec przemieszczeniu do jądra komórkowego. Sugeruje się, że to нефизjologiczne położenie, związane z przesunięciem w miejscu glikozylacji, wywołuje zmianę reaktywności tego antygeny i wyzwala odpowiedź immunologiczną. Przeciwciała anty-BiP wykryto także w zapaleniu stawów u myszy, wywołanym przez kolagen [16, 18]. Ze względu na brak możliwości ich oznaczania nie znalazły one jednak zastosowania w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej reumatoidalnego zapalenia stawów.

Przeciwciała przeciwko izomerazie glukozy-6-fosforanowej

Izomeraza glukozy-6-fosforanowa (GPI) została opisana jako nowy typ autoantygeny występujący w RZS. Wykazano, że przeciwciała anty-GPI są wykrywane u 64% chorych [16]. W wyższym stężeniu niż w surowicy występują one w płynie stawowym, co może wskazywać na ich lokalną syntezę. Badania immunohistochemiczne błony maziowej pochodzącej od chorych na RZS wykazały wyższe stężenie anty-GPI na powierzchni błony maziowej i komórek śródbłonna tętnic [16], dlatego też stwierdza się częstsze ich występowanie u chorych z pozastawowymi objawami, szczególnie w zespole Felty'ego [13].

Przeciwciała anty-RA 33

Antygen 33 kDa został wykryty przez Hassfelda i wsp. metodą immunoblottingu z wykorzystaniem ekstraktów jądrowych komórek HeLa [4, 10, 16, 31, 38]. Wykazali oni w surowicach 36% pacjentów z RZS i u 1% osób zdrowych obecność przeciwciał, nazwanych anty-RA33 [16, 38]. Antygen RA33 zidentyfikowano jako białko A2 wchodzące w skład heterogenego jądrowego rybonukleoproteinowego kompleksu (hnRNP-A2) [2, 4, 10, 16, 31].

Sugeruje się, że przeciwciała anty-RA33 mogą stanowić marker wczesnego zapalenia stawów [5, 16].

Ich czułość, pomimo wysokiej specyficzności, jest mniejsza w porównaniu z czynnikiem reumatoidalnym [5]. Badania wykazały, że anty-RA33 są obecne u pacjentów zarówno z seropozytywną, jak i seronegatywną postacią RZS [4]. Ponadto u chorych, u których wystąpiła remisja choroby, niekiedy może dojść do zanikania tych przeciwciał [4, 10]. Przypuszcza się również, że przeciwciała anty-RA33 mogą być wskaźnikiem destrukcji stawów. Ich obecność stwierdza się u pacjentów z toczniem rumieniowatym układowym (SLE), u których występują zmiany erozyjne w stawach [18, 31].

Ze względu na występowanie ich także w 25% surowic chorych na SLE oraz mieszaną chorobę tkanki łącznej (25–40%), ich użyteczność w diagnostyce RZS jest ograniczona [4, 10, 16].

Podsumowując, należy podkreślić, iż nowoczesna diagnostyka reumatoidalnego zapalenia stawów, oparta na oznaczaniu nowych markerów serologicznych obok podstawowych parametrów w RZS (RF IgM, CRP czy OB), powinna być znacznie szerzej rozpowszechniona. Jednym z najbardziej użytecznych w diagnostyce RZS może stać się test anty-CCP, ze względu na wysoką specyficzność i czułość w reumatoidalnym zapaleniu stawów. Sugeruje się nawet poszerzenie kryteriów ACR o oznaczanie przeciwciał anty-CCP w reumatoidalnym zapaleniu stawów.

Badania dowodzą, że łączne oznaczanie kilku wskaźników (np. anty-CCP i RF) ma zdecydowanie wyższą czułość i swoistość w reumatoidalnym zapaleniu stawów niż analiza pojedynczych markerów i może okazać się bardziej przydatne w diagnostyce laboratoryjnej tej choroby, szczególnie jej wczesnego okresu [23, 39, 40].

Ze względu na opracowanie testów do zastosowania na powszechnie dostępnych analizatorach immunologicznych [41], oznaczenie przeciwciał anty-CCP powinno znaleźć zastosowanie w rutynowej diagnostyce reumatoidalnego zapalenia stawów.

Piśmiennictwo

- Filipowicz-Sosnowska A, Stanisławska-Biernat E, Zubrzycka-Sienkiewicz A. Reumatoidalne zapalenie stawów. *Stand Med* 2005; 2: 1376-1386.
- Filipowicz-Sosnowska A, Przygodzka M, Ząbek J. Wczesne reumatoidalne zapalenie stawów w aspekcie diagnostyki różnicowej. *Reumatologia* 2001; 39: 3-14.
- Vallbracht I, Helmke K. Additional diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 389-394.
- Biernacka E, Ząbek J. Celowość oznaczania czynnika reumatoidalnego w zestawieniu z wartością wykrywania innych przeciwciał występujących w reumatoidalnym zapaleniu stawów. *Reumatologia* 2003; 41: 55-68.
- Filipowicz-Sosnowska A, Przygodzka M. Wczesne reumatoidalne zapalenie stawów – implikacje kliniczne. *Terapia* 2001; 6: 3-7.
- Kuligowska M, Odrowąż-Sypniewska G. Rola interleukiny-17 w destrukcji chrząstki i kości w reumatoidalnym zapaleniu stawów. *Ortop Traumat Rehab* 2004; 6: 235-241.
- Deighton C, Criswell LA. Recent advances in the genetics of rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2006; 8: 394-400.
- Schellekens G, de Jong B, van den Hoogen F, et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998; 101: 273-281.
- Szmyrka-Kaczmarek M, Dziemiątko I, Szechiński J. Przeciwciała antycytrulinowe w reumatoidalnym zapaleniu stawów – znaczenie diagnostyczne i prognostyczne. *Pol Arch Med Wewn* 2003; 110: 915-920.
- Tuchocka-Piotrowska A, Piotrowski A. Reumatoidalne zapalenie stawów – jego historia oraz rozwój diagnostycznych metod laboratoryjnych w świetle nowych osiągnięć w tej dziedzinie. *Nowiny Lek* 2004; 73: 398-404.
- Yamada R, Suzuki A, Chang X, et al. Citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Front Biosci* 2005; 10: 54-64.
- Girbal-Neuhaus E, Durieux JJ, Arnaud M, et al. The Epitopes targeted by the rheumatoid arthritis – associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro) filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol* 1999; 162: 585-594.
- Wisłowska M. Rola limfocytów B w reumatoidalnym zapaleniu stawów i toczniu rumieniowatym układowym. *Probl Lek* 2003; 42: 277-279.
- Altindış M. A new marker for the diagnosis of rheumatoid arthritis citrullinated peptide antibodies (anti-CCP). *Mikrobiyol Bul* 2003; 37: 313-318.
- Mimori T. Clinical significance of anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis. *Intern Med* 2005; 44: 1122-1126.
- van Boekel M, Vossenaar E, van den Hoogen F, et al. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res* 2002; 4: 87-93.
- Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 155-163.
- Marcelletti J, Nakamura R. Assessment of serological markers associated with rheumatoid arthritis. Diagnostic autoantibodies and conventional disease activity markers. *Clin Appl Immun Rev* 2003; 4: 109-123.
- Vossenaar ER, Smeets T, Kraan MC, et al. The presence of citrullinated proteins is not specific for rheumatoid synovial tissue. *Arthritis Reum* 2004; 50: 3485-3494.
- Steiner G, Smolen JS. Neue Autoantikörper in der Diagnostik der rheumatoiden Arthritis. *Z Rheumatol* 2002; 61: 667-673.
- Saleem B, Cox SR, Emery P. Biomarkers: Strategies to predict outcome of rheumatoid arthritis. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies* 2006; 3: 11-16.
- Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, et al. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2001; 47: 1089-1093.

23. Greiner A, Plischke H, Kellner H, et al. Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-citrullin antibodies, and IgM and IgA rheumatoid factors with serological parameters of disease activity in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050: 295-303.
24. Lee D M, Schur P H. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatoid diseases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 870-874.
25. Meyer O, Labarre C, Dougados M, et al. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 120-126.
26. van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, Breedveld FC, et al. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: 949-958.
27. Filipowicz-Sosnowska A, Stanisławska-Biernat E, Zubrzycka-Sienkiewicz A. Reumatoidalne zapalenie stawów. *Med po Dypl* 2002; 11: 63-76.
28. Vasishta A. Diagnosing early – onset rheumatoid arthritis: The role of anti-CCP antibodies. *Clin Note* 2004; 4: 18-22.
29. Brunner J, Sitzmann FC. The diagnostic value of anti-cyclic citrullinated (CCP) antibodies in children with Juvenile Idiopathic Arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24: 449-451.
30. Nienhuis RLF, Mandema EA. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1964; 23: 302-305
31. Nakamura R. Progress in the use of biochemical and biological markers for evaluation of rheumatoid arthritis. *J Clin Lab Anal* 2000; 14: 305-313.
32. Vincent Ch, de Kayser F, Masson-Bessière Ch, et al. Anti-perinuclear factor compared with the so called „antikeratin” antibodies and antibodies to human epidermis filaggrin, in the diagnosis of arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999; 58: 42-48.
33. Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, et al. Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J* 1979; 14: 97-99.
34. Ząbek J, Brzezicki J, Biernacka E i wsp. Przeciwciała przeciwko cytokeratynie jako marker wczesnego reumatoidalnego zapalenia stawów. *Reumatologia* 2001; 39: 303-331.
35. Sebbag M, Simon M, Vincent C, et al. The antiperinuclear factor and so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1995; 95: 2672-2679.
36. Nogueira L, Sebbag M, Vincent C, et al. Performance of two ELISAs for antifilaggrin autoantibodies, using either affinity purified or deimmunized recombinant human filaggrin, in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 882-887.
37. Despres N, Boire G, Lopez-Long FJ, et al. The Sa system: a novel antigen – antibody system specific for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1994; 21: 1027.
38. Hassfeld W, Steiner G, Hartmuth K, et al. Demonstration of a new antinuclear antibody (anti RA-33) that is highly specific for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 32: 1515-1520.
39. Bas S, Genevay S, Meyer O, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2003; 42: 677-680.
40. Matsui T, Shimada K, Ozawa N, et al. Diagnostic utility of anti-cyclic citrullinated Peptide antibodies for very early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2006; 33: 2390-2397.
41. Creagmile SD, Brown N, Grant L, et al. Performance of the axSym anti-CCP (anti-cyclic citrullinated peptide) assay as a diagnostic test for rheumatoid arthritis (RA). *Clin Chem* 2006; 6: 142.