

Przydatność oznaczeń przeciwciał przeciwko cyklicznemu cytrulinowemu peptydowi (anty-CCP) w diagnostyce różnicowej zapaleń wielostawowych

Usefulness of anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies assays in differential diagnosis of polyarthritis

Arkadiusz Koszarny¹, Maria Majdan¹, Maria Kozioł-Montewka², Bożena Targońska-Stępiak¹, Justyna Niedźwiadek²

¹Katedra i Klinika Reumatologii i Układowych Chorób Tkanki Łącznej, kierownik Katedry i Kliniki prof. dr hab. med. Maria Majdan

²Zakład Mikrobiologii Lekarskiej Akademii Medycznej im. F. Skubiszewskiego w Lublinie,

kierownik Zakładu prof. dr hab. med. Maria Kozioł-Montewka

Słowa kluczowe: reumatoidalne zapalenie stawów, zapalenie wielostawowe, przeciwciała anti-CCP.

Key words: rheumatoid arthritis, polyarthritis, anti-CCP antibodies.

Streszczenie

Wczesny okres reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS) przebiega często niecharakterystycznie i trudno go jednoznacznie odróżnić od innych typów zapaleń wielostawowych. Udowodniono, że przeciwciała przeciwko cyklicznemu cytrulinowemu peptydowi (anty-CCP) są bardzo specyficzne dla RZS. Przeciwciała anti-CCP mogą być wykrywane kilka lat wcześniej przed klinicznym rozpoznaniem RZS. Celem pracy była retrospektywna ocena przydatności oznaczenia przeciwciał anti-CCP w diagnostyce różnicowej zapalenia wielostawowego.

Analizie poddano historie chorób 320 chorych, hospitalizowanych w Klinice Reumatologii i Układowych Chorób Tkanki Łącznej w latach 2003–2004 z objawami zapalenia wielostawowego. U wszystkich chorych wykonano oznaczenie przeciwciał anti-CCP metodą ELISA. Wynik pozytywny (>5 RU/ml) uzyskano u 165 chorych. Dalszej analizie poddano 124 osoby ze średnio (20–80 RU/ml) i wysoko dodatnim (>80 RU/ml) poziomem przeciwciał. W ciągu 2 lat obserwacji u 97 chorych (78,2%) rozpoznano RZS zgodnie z kryteriami Amerykańskiego Towarzystwa Reumatologicznego (ACR). U wszystkich chorych rozpoczęto terapię modyfikującą przebieg choroby. Pozostali chorzy (27 osób) w ciągu 2 lat nie spełniali kryteriów ACR i u 9 z nich rozpoznano inną chorobę tkanki łącznej (u 4 niezróżnicowaną chorobę tkanki łącznej – NChTŁ, u 3 toczeń układowy, u 1 pierwotny zespół Sjögrena, u 1 twardzinę układową), u 12 nie-

Summary

An early stage of rheumatoid arthritis (RA) has frequently an atypical course and it is difficult to differentiate it from other types of polyarthritis. It has been proved, that anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) are highly specific marker for RA. Anti-CCP can be found several years before clinical diagnosis of RA. The aim of the study was a retrospective assessment of usefulness of anti-CCP antibodies in differential diagnosis of polyarthritis.

We analyzed case histories of 320 patients (pts) with symptoms of polyarthritis, hospitalized in the Department of Rheumatology and Connective Tissue Diseases between 2003 and 2004. The presence of anti-CCP was determined in all patients by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The positive measurement was obtained in 165 pts. Further analysis was performed in 124 pts with significantly (20–80 RU/ml) and highly (>80 RU/ml) positive measurements of antibodies. During two years of observation, RA was diagnosed (according to the American College of Rheumatology, ACR, criteria) in 97 pts. A therapy with disease modifying antirheumatic drugs was administered in all the patients. The remaining patients did not fulfill the ACR criteria for RA in our observation period. The following diagnoses were established: in 9 pts other connective tissue diseases (4 pts with undifferentiated connective tissue disease – UCTD, 3 pts with sys-

Adres do korespondencji:

lek. Arkadiusz Koszarny, Katedra i Klinika Reumatologii i Układowych Chorób Tkanki Łącznej, Akademia Medyczna, ul. Jaczewskiego 8, 20-950 Lublin, tel. +48 81 724 47 90, faks +48 81 742 51 03, e-mail: arekkoszarny@wp.pl

zróznicowane zapalenie stawów (NZS), u 1 łuszczycowe zapalenie stawów, u 1 układowe zapalenie naczyń, u 4 chorobę zwyrodnieniową stawów. Wszyscy chorzy z grupy NZS i NChTŁ zostali poddani dalszej obserwacji w kierunku rozwoju RZS.

Na podstawie przeprowadzonej obserwacji wnioskujemy, że oznaczenie przeciwciał anti-CCP u chorych z objawami zapalenia wielostawowego pozwala potwierdzić rozpoznanie RZS i jednoznacznie zdecydować o zastosowaniu terapii modyfikującej w razie wyników dodatnich, natomiast przy braku pełnego obrazu klinicznego obliuguje do dalszej bacznej obserwacji w kierunku RZS.

Wstęp

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest przewlekłą chorobą zapalną stawów o podłożu autoimmunologicznym. Wyzwaniem współczesnej reumatologii jest określenie kryteriów umożliwiających wczesne rozpoznanie choroby, co pozwoli na skuteczne leczenie oraz zapobieganie powikłaniom narządowym i zmianom prowadzącym do inwalidztwa. Kryteria diagnostyczne RZS, podane przez Amerykańskie Towarzystwo Reumatologiczne (ACR) w 1987 r. [1], opierają się na objawach klinicznych, wyraźnych w rozwiniętej fazie choroby, dlatego często nie dają możliwości rozpoznania początkowego okresu RZS, o nietypowym przebiegu, bez wyraźnych zmian destrukcyjnych stawów. Stąd poszukiwania markerów serologicznych, specyficznych i obecnych we wczesnej fazie rozwoju choroby.

W przebiegu RZS wykrywane są różnorodne auto-przeciwciała, wśród których najlepiej poznane są czynniki reumatoidalne. Oznaczenie czynnika reumatoidalnego w klasie IgM jest stosowane rutynowo w diagnostyce RZS, a jego obecność jest jednym z obowiązujących kryteriów rozpoznania wg ACR. Kryterium to cechuje się czułością 60–70% i specyficznością 80–90% dla RZS [2]. Czynniki reumatoidalne wykrywa się u 70–80% chorych z długotrwałym RZS [3], jednak znacznie rzadziej we wczesnym okresie choroby (u 27–38% chorych) [4]. Te autoprzeciwciała występują także w innych chorobach (autoimmunologicznych, infekcyjnych, u 3–5% populacji ludzi zdrowych, a wśród nich nawet u 10–30% ludzi starszych). Dlatego obecność czynnika reumatoidalnego nie rozstrzyga o rozpoznaniu RZS.

Inną grupę autoprzeciwciał stanowią przeciwciała dla cytrulinowanych białek, do których zalicza się: przeciwciała przeciwko keratynie (AKA), antyfilagrynowe (AFA), przeciw czynnikiowi okołojądrowemu (APF) [5, 6]. Przeciwciała te reagują z determinantami antygenowymi, które zawierają cytrulinę, nietypowy aminokwas powstający w wyniku modyfikacji posttranslacyjnej argininy w cząsteczkach białkowych. Wydaje się, że proces cytrulinacji białek zachodzi w zmienionej zapalnie błonie maziowej stawów [5, 7]. W ostatnich latach stworzo-

temic lupus erythematosus – SLE, 1 pt with primary Sjögren's syndrome, 1 pt with scleroderma), in 1 pt systemic small-vessel vasculitis, in 12 pts undifferentiated arthritis (UA), in 1 pt psoriatic arthritis, in 4 pts osteoarthritis. All the patients with diagnosis of UA and UCTD will be still observed for the development of RA. It can be concluded that determination of anti-CCP antibodies in patients with polyarthritis allows us to confirm the diagnosis of RA and start treatment with disease modifying anti-rheumatic drugs. The patients with non-RA diagnoses should be carefully observed for the development of RA in the future.

no test diagnostyczny, wykorzystujący syntetyczny cykliczny peptyd cytrulinowy jako substrat do wykrywania przeciwciał przeciwcytrulinowych (anty-CCP), które w porównaniu z czynnikiem reumatoidalnym wykazują większą specyficzność (98%) i podobną czułość (68–80%). Dane z literatury wskazują, że obecność przeciwciał anti-CCP może wyprzedzać na wiele lat objawy kliniczne RZS [8, 9]. U chorych we wczesnym okresie zapalenia stawów obecność tych przeciwciał umożliwi różnicowanie pomiędzy RZS i niezróznicowanym zapaleniem stawów [2, 10, 11]. Ocenia się, że obecność przeciwciał anti-CCP ma znaczenie prognostyczne, wskazując na agresywny przebieg RZS, z tendencją do powstawania znaczących destrukcji stawów [6, 12].

Celem pracy była retrospektywna ocena przydatności oznaczania przeciwciał anti-CCP w diagnostyce różnicowej zapalenia wielostawowego.

Materiał i metody

Przeanalizowano historie chorób 320 pacjentów, hospitalizowanych w latach 2003–2004 w Klinice Reumatologii i Układowych Chorób Tkanki łącznej AM w Lublinie, z objawami zapalenia wielostawowego. Jednym z badań przeprowadzonych w diagnostyce różnicowej zapalenia stawów było oznaczenie przeciwciał anti-CCP, wykonane w Zakładzie Mikrobiologii Lekarskiej AM w Lublinie metodą ELISA (odczynniki firmy Euroimmun, Lubeka, Niemcy). Wynik dodatni oznaczenia (>5 RU/ml) uzyskano u 165 chorych, w tym miano słabo dodatnie (wątpliwe, 5–20 RU/ml) zanotowano u 41 chorych. Dalszej analizie poddano grupę 124 chorych z wynikami: średnio dodatnimi (20–80 RU/ml) oraz wysoko dodatnimi (>80 RU/ml).

W badanej przez nas grupie 320 chorych z zapaleniem wielostawowym obecność przeciwciał anti-CCP w mianie >20 RU/ml stwierdzono u 124 chorych (38,8%). Średnio dodatnie miano przeciwciał anti-CCP zanotowano u 23 chorych (7,2%), wysoko dodatnie miano u 101 chorych (31,6%). W tabeli I przedstawiono charakterystykę obydwu grup chorych. Zwraca uwagę znacząco większa średnia wieku chorych z wysoko dodatnim mianem przeci-

ciał anti-CCP. Płeć chorych w obu grupach była porównywalna i podobna do całej populacji chorych na RZS.

Wyniki

W ciągu 2-letniej obserwacji 124 chorych z obecnymi przeciwciałami anti-CCP (w mianie >20 RU/ml) rozpoznano RZS wg kryteriów ACR postawiono u 97 z nich (78,2%). Wśród chorych z RZS dodatkowo rozpoznano wtórny zespół Sjögrena (4 chorych), natomiast w 4 przypadkach RZS występował w zespole nakładania z inną układową chorobą tkanki łącznej (w 3 z toczniem rumieniowatym układowym – TRU i w 1 z twardziną układową – TU). U wszystkich chorych z rozpoznaniem RZS rozpoczęto terapię lekami modyfikującymi przebieg choroby.

W 27 przypadkach (21,8%) chorzy nie spełniali kryteriów diagnostycznych RZS. Ustalono rozpoznania obejmowały: inne układowe choroby tkanki łącznej, czyli TRU – 3 (2,4%), TU – 1 (0,8%), pierwotny zespół Sjögrena (pZS) – 1 (0,8%); niezróżnicowaną chorobę tkanki łącznej (NChTŁ) – 4 (3,2%); układowe zapalenie naczyń – 1 (0,8%); inne przewlekłe zapalenia stawów, tj. łuszczycowe zapalenie stawów (ŁZS) – 1 (0,8%), niezróżnicowane zapalenie stawów – 12 (9,7%); chorobę zwyrodnieniową stawów (ChZS) – 4 (3,2%). W tabeli II przedstawiono analizę ustalonych rozpoznań.

Dyskusja

W analizowanej grupie 124 pacjentów z zapaleniem wielostawowym i obecnymi przeciwciałami anti-CCP zdecydowaną większość (78,2%) stanowili chorzy, którzy spełniali kryteria rozpoznania RZS (wg ACR). Wynik ten potwierdza istotną rolę oznaczania przeciwciał anti-CCP we wczesnej diagnostyce RZS, zwłaszcza wtedy, gdy obraz kliniczny nie jest jeszcze typowy.

Inne niż RZS rozpoznania postawiono u 27 chorych (21,8%). Najczęściej (u 12 chorych) było to rozpoznanie niezróżnicowanego zapalenia stawów, co wynikało z niecharakterystycznego dla RZS obrazu klinicznego, pomimo obecności markera serologicznego tej choroby. Stąd konieczność dalszej oceny chorych, u których w trakcie obserwacji mogą pojawić się typowe objawy RZS. W kolejnych 10 przypadkach ustalono rozpoznanie innych układowych chorób tkanki łącznej lub układowego zapalenia naczyń. Ból i/lub zapalenie stawów mogą być jednym z pierwszych objawów klinicznych tych chorób. U 4 chorych rozpoznano chorobę zwyrodnieniową stawów, przebiegającą z odczynem zapalnym, co przy obecności przeciwciał anti-CCP wymaga również dalszej obserwacji w kierunku RZS.

Dane z literatury wskazują, że przeciwciała anti-CCP mogą być obecne w surowicy pacjentów bardzo wcześnie w przebiegu RZS, nawet przed pojawieniem się objawów klinicznych choroby. Nielen i wsp. stwierdzili obecność

Tabela I. Charakterystyka kliniczna analizowanych pacjentów anti-CCP dodatnich >20 RU/ml
Table I. Clinical characteristics of patients with a CCP >20 RU/ml

Wynik oznaczenia	20–80 RU/ml	<80 RU/ml	Razem
liczba pacjentów	23	101	124
średnia wieku	45,9	56,3	51,1
kobiety	87%	83,2%	85,1%
mężczyźni	13%	16,8%	14,9%

Tabela II. Ostateczne rozpoznanie ustalone u chorych z obecnymi przeciwciałami anti-CCP
Table II. Final diagnosis in patients with anti CCP antibodies >20 RU/ml

Rozpoznanie	Anti-CCP (+) (>80 RU/ml)	Anti-CCP (+) (>80 RU/ml)	Razem
liczba diagnozowanych chorych	23	101	124
RZS	19 (82,7%)	78 (77,2%)	97 (78,2%)
układowe choroby tkanki łącznej:			
TRU	1 (4,3%)	2 (2,0%)	3 (2,4%)
TU	0	1 (1,0%)	1 (0,8%)
pZS	0	1 (1,0%)	1 (0,8%)
NChTŁ	1 (4,3%)	3 (3,0%)	4 (3,2%)
układowe zapalenie naczyń	0	1 (1,0%)	1 (0,8%)
przewlekłe zapalenia stawów:			
ŁZS	0	1 (1,0%)	1 (0,8%)
niezróżnicowane zapalenie stawów	0	12 (11,9%)	12 (9,7%)
ChZ	2 (8,7%)	2 (2,0%)	4 (3,2%)

TRU – toczień rumieniowaty układowy; TU – twardzina układowa; pZS – pierwotny zespół Sjögrena; NChTŁ – niezróżnicowana choroba tkanki łącznej; ŁZS – łuszczycowe zapalenie stawów; ChZ – choroba zwyrodnieniowa stawów

przeciwciał anti-CCP w surowicach dawców krwi nawet do 14 lat przed pierwszymi objawami RZS [8]. W innym badaniu Rantapää-Dahlqvist i wsp. wykryli w surowicach pacjentów przeciwciała anti-CCP 9 lat przed pierwszymi objawami, a ich miano rosło w miarę zbliżania się do okresu klinicznej manifestacji choroby [9].

Według danych z piśmiennictwa obecność przeciwciał anti-CCP w innych niż RZS chorobach reumatycznych obserwuje się w niewielkim odsetku. Lee i Schur obserwowali występowanie przeciwciał anti-CCP u chorych z TRU (1/39 chorych), ŁZS (2/21 chorych), innymi zapaleniami stawów (3/26 chorych) [13]. Biorąc pod uwagę niski odsetek wyników *falszywie dodatnich*, autorzy ci podkreślali znaczenie badania przeciwciał anti-CCP w diagnostyce różnicowej zapaleń stawów. Sugerowali też jednoczesne oznaczanie przeciwciał: czynnika reumatoidalnego i anti-CCP, co zwiększa czułość diagnozy RZS i prognozuje rozwój nadzerkowej postaci choroby. Sauerland i wsp., badając 700 pacjentów, zanotowali wyniki *falszywie dodatnie* na obecność przeciwciał anti-CCP u chorych na TRU (12,7%), pZS (3,3%) oraz w grupie kontrolnej z przewlekłym zapaleniem wątroby (1,3%) [14]. Gottenberg i wsp. stwierdzili obecność przeciwciał anti-CCP u 7,5% chorych w 134-osobowej grupie pacjentów z pZS, którzy nie spełniali kryteriów diagnostycznych RZS. Natomiast u chorych na RZS przeciwciała te występowały z częstością 68,9% [15]. Autorzy ci sugerowali, że pacjenci, u których są obecne przeciwciała anti-CCP, mogą być predysponowani do rozwoju RZS, tym bardziej że udowodniono pojawienie się tych przeciwciał na wiele lat przed rozwojem objawów klinicznych choroby. Dlatego chorzy anti-CCP(+) wymagają okresowej oceny klinicznej i radiologicznej w celu stwierdzenia ewentualnej ewolucji choroby w kierunku RZS [15].

Podkreśla się również, że obecność przeciwciał anti-CCP pozwala na różnicowanie RZS i zapaleń wielostawowych przypominających RZS, nawet w przypadkach z obecnym czynnikiem reumatoidalnym [5, 16]. U znaczącej części pacjentów z przewlekłą infekcją wirusem HCV występują objawy symetrycznego zapalenia wielu stawów, bardzo przypominającego obraz kliniczny RZS, dodatkowo z dodatnim wynikiem badania czynnika reumatoidalnego. Bombardieri i wsp. badali grupę chorych na RZS oraz z przewlekłą infekcją wirusem HCV z artropatią i bez objawów zapalenia stawów. Stwierdzili obecność przeciwciał anti-CCP u 77% chorych na RZS, a nie stwierdzili u chorych z infekcją HCV. W tej samej grupie chorych czynnik reumatoidalny był obecny u 90% chorych na RZS, 37,5% chorych z artropatią w przebiegu infekcji HCV oraz u 9,7% chorych z infekcją HCV bez objawów stawowych [16].

Wnioski

Obecność przeciwciał anti-CCP potwierdza rozpoznanie RZS u większości chorych leczonych z powodu zapalenia wielostawowego. Część pacjentów z nietypowym obrazem klinicznym zapalenia stawów wymaga dalszej obserwacji, ze względu na możliwość rozwoju RZS przy obecnych przeciwciałach anti-CCP.

Piśmiennictwo

- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1979; 31: 315-24.
- Van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, Van Venrooij WJ, et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 709-15.
- Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A, et al. Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res* 2000; 2: 236-43.
- 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: 120-26.
- Nijenhuis S, Zendman AJ, Vossenaar E, et al. Autoantibodies to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis: clinical performance and biochemical aspects of an RA-specific marker. *Clin Chim Acta* 2004; 350: 17-34.
- Garcia-Berrocal B, González C, Pérez M, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies in IgM rheumatoid factor-positive patients. *Clin Chim Acta* 2005; 354: 123-30.
- Szmyrka-Kaczmarek M, Dziemianko I, Szechiński J. Anti-citrulline antibodies in rheumatoid arthritis; diagnostic and prognostic values [Polish]. *Pol Archiwum Med Wew* 2003; 110, 2: 915-20.
- Nielen MM, Van Schaardenburg D, Reesink HW. Specific antibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 380-5.
- Rantapää-Dahlqvist S, De Jong BA, Berglin E, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2741-9.
- Van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, Van Venrooij WJ, et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 709-15.
- Jansen AL, van der Horst-Bruinsma IE, van Schaardenburg D, et al. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptide differentiate rheumatoid arthritis from undifferentiated polyarthritis in patients with early arthritis. *J Rheumatol* 2002; 29: 2074-6.
- Forslind K, Ahlmen M, Eberhardt K, et al. Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1090-5.
- Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 870-74.
- Sauerland U, Becker H, Seidel M, et al. Clinical utility of anti-CCP assay: experience with 700 patients. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050: 314-8.
- Gottenberg JE, Mignot S, Nicaise-Rolland P, et al. Prevalence of anti-cyclic citrullinated peptide and anti-keratin antibodies in patients with primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 114-7.
- Bombardieri M, Alessandri C, Labbadia G, et al. Role of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in discriminating patients with rheumatoid arthritis from patients with chronic hepatitis C infection-associated polyarthritis involvement. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: R137-R141.