

## АНТИТЕЛА СРЕЩУ ЦИКЛИЧНИ ЦИТРУЛИНИРАНИ ПЕПТИДИ

М. Балева, С. Лесичкова и Кр. Николов

Клиника по клинична имунология, Университетска болница „Александровска“ – София

## ANTIBODIES TO CYCLIC CITRULLINATED PEPTIDES

M. Baleva, S. Lesichkova and Kr. Nikolov

Department of Clinical Immunology, University Hospital "Aleksandrovska" – Sofia

<p><b>Резюме:</b></p> <p><b>Ключови думи:</b></p> <p><b>Адрес за кореспонденция:</b></p>	<p>Използването на CCP антителата в клиничната практика предоставя възможността за по-ранното определяне на диагнозата и прогнозата при болни с ревматоиден артрит (РА). Метаанализът на 50 статии, в които се определя CCP с първа и втора генерация методи, и на 37 статии, в които се определя РФ, показва високата доказателствена стойност на двата показателя при РА. Последният консенсус на ARA/EULAR през 2010 г. препоръчва определянето на CCP антителата в диагностичните критерии при РА.</p> <p>ревматоиден артрит, ревматоиден фактор, CCP антитела</p> <p><i>Проф. д-р Марта Балева, Университетска болница „Александровска“, ул. "Св. Г. Софийски" № 1, 1431 София, e-mail: marta_baleva@yahoo.com</i></p>
<p><b>Summary:</b></p> <p><b>Key words:</b></p> <p><b>Address for correspondence:</b></p>	<p>The determination of antibodies to CCP is an usefull test for an early diagnosis and prognosis of patients with RA. The evaluation of meta-analysis of 50 reports on CCP, determined with first and second generation methods and 37 reports on RF shows a high diagnostic accuracy of these two parameters in RA. The last consensus of ARA/EULAR in 2010 recommends the investigation of CCP antibodies as a diagnostic marker of RA.</p> <p>rheumatoid arthritis, rheumatoid factor, CCP antibodies</p> <p><i>Prof. Marta Baleva, M. D., University Hospital "Aleksandrovska", 1, Sv. G. Sofiyski Str., Bg – 1431 Sofia, e-mail: marta_baleva@yahoo.com</i></p>

През 1964 г. R. L. Nienhuis и E. Mandema [1] описват ново антитяло, което те наричат антиперинуклеарен фактор (APF). Това антитяло се визуализира с индиректен имуофлуоресцентен тест върху клетки от букална мукоза и е насочено към кератохиалинните гранули около ядрото. Този тест е с висока специфичност и чувствителност – съответно 73-99% и 90%, но не се налага в практиката, защото трудно се изпълнява и стандартизира. Описаният 15 години по-късно метод за определяне на антикератинови антитела от В. J. Young и сътр. [2] върху криостатен срез от плъши езофаг има същите недостатъци. През 1995 г. M. Sebbag и сътр. [3] доказват, че тези две антитела принадлежат на фамилията от автоантителата, насочени към цитрулинирания филагрин – протеин от епителните клетки. Цитрулинирането е посттранслационна модификация на аргинина в цитрулин от ензима пептидил аргинин деиминаза. Този процес се наблюдава при възпаление, апоптоза и кератинизация. Антителата срещу филагрин може би са

насочени срещу деструктирани структури на синовиалните клетки или по-вероятно – реагират кръстосано с други структури в синовията (фибриноген, фибронектин), тъй като синовиалните клетки не експресират филагрин [4], т.е. е налице молекулна мимикрия. Тази теза се потвърждава от използването на синтетични линейарни цитрулинирани пептиди, отделени от човешки филагрин при извършване на ELISA методите [4]. За да се определи антигенният състав и разпознаването на антителата, се използва цикличен цитрулиниран пептид – CCP [5]. В периода 2000-2001 г. започва употребата и на първата генерация ELISA методи за определяне на антицитрулеин протеин антитела – АСРА [5], като се използват пептиди, отделени от филагрин. Тестът се позитивира при 53% от болните с РА и има специфичност 96%. През следващите години се разработват нови генерации на ELISA за определяне на анти-CCP антителата [6] – CCP2 (със синтетични циклични цитрулинирани пептиди, които са с по-висока специфичност за

РА, отколкото РФ), ССР3 и ССР3.1 (с използването на допълнителни епитопи).

Описани са още няколко антитела срещу цитрулинирани белтъци: мутиран цитрулиниран виментин (anti-MCV), анти-Sa антитела, деиминиран нуклеарен антиген от вируса на Epstein-Barr [7, 8, 9]. Виментинът се секретира и цитрулинира от макрофагите в отговор на апоптоза или от проинфламаторни цитокини като TNF-alpha [10, 11]. Чувствителността и специфичността на anti-MCV при РА е съответно 82% и 96-98% и корелира с активността на болестта [9].

### УЧАСТИЕ НА АНТИТЕЛАТА СРЕЩУ ЦИТРУЛИНИРАНИ ПРОТЕИНИ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА РА

Сега се смята, че цитрулиният е антигенът, към който са насочени АРФ, анти-кератиновите антитела и анти-Sa антителата. Детайлни проучвания върху цитрулинираните филагинови пептиди показват, че различните болни от РА разпознават различни линейни цитрулинирани пептиди, което предполага поликлонален отговор. Ролята на тези антитела в патогенезата на РА е все още неясна. АСРА антителата са по-чести при носители на HLA-DRB1 [17] и RTPN22 [18].

### ДИАГНОСТИЧНА СТОЙНОСТ НА ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА ССР АНТИТЕЛАТА ПРИ РА

Диагнозата РА в много случаи е трудна. Главна цел на наблюдението в тези случаи е откриването на ранните клинични и лабораторни маркери на болестта. Счита се, че ССР антителата могат значително да подпомогнат този процес. Има данни, че АСРА са асоциирани с по-висок риск от развитие на РА при здрави хора и се позитивират преди появата на клиничните симптоми [12, 13]; при вече започнала болест тези антитела свидетелстват за по-тежки структурни промени, рентгенова прогресия и незадоволителен терапевтичен ефект [14, 15, 16]. При едно проучване на замразени серуми от донори е установено, че АСРА се позитивират 15 г. преди изявата на клиничните симптоми на РА [13].

ССР антителата се доказват при 50-60% от болните с ранен РА, средно 5-6 месеца след започването на първите симптоми. Специфичността им в тези случаи е 95-98%. Важно е да се подчертае, че чрез позитивния резултат в тези случаи могат да се разграничат недиференцираните форми на артрит, които в бъдеще няма да прогресират в РА. IgM RF често се позитивира при тези пациенти, но е с по-малка специфичност за РА. При положителни едно-

временно ССР резултати с методите от първа генерация и положителен IgM RF чувствителността за РА е 55%, а специфичността – 97% [20]. В някои случаи определянето на IgA RF заедно със ССР антителата е важно, но трябва да се има предвид че положителен IgA RF се установява само при 0-5% от здравите, докато процентът на положителен IgM RF при същата популация е 9-13% [25].

С използването на методи за определяне на ССР от втора генерация чувствителността се увеличава и достига 70%. Нещо повече, прогресия на недиференцирания артрит в РА при положителни антитела при първата визита се установява при 93% от болните, докато само 25% от негативните пациенти след тригодишен период на наблюдение развиват РА [21].

Метаанализът на 50 статии, в които се определя ССР с първа и втора генерация методи, и на 37 статии, в които се определя РФ [23], показва следната доказателствена стойност на двата показателя при РА (табл. 1).

Таблица 1. Сравнителен анализ на данните от ССР и РФ

Данни	ССР 1 или 2	РФ
Чувствителност	67	69
Специфичност	95	85
Позитивна предсказваща стойност	12,46	4,86
Негативна предсказваща стойност	0,36	0,38

Според някои проучвания позитивирането на ССР антителата в ранните фази на болестта е свързано с по-висока честота на ерозивни промени [22]. Положителният резултат за тези антитела в ранните стадии до голяма степен може да промени решението в полза на прилагането на по-агресивно лечение при тези болни, вкл. и използването на болестопроменящи медикаменти [23].

### АСРА ПРИ ДРУГИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

АСРА са установени при 9% от болните с псориаитичен артрит, при 8% – от системен лупус, 8% – от ювенилен артрит, 7% – болни със склеродермия и CREST синдром, 6% – синдром на Сьогрен, и 5% – при васкулит. Важно е да се подчертае, че при част от тези болни са намерени следните асоциации: при псориаитичен артрит е установена по-висока честота на HLA-DRB1, който често се открива и при РА; при болните с overlap синдром (ерозивен артрит, системен лупус и склеродермия) АСРА са по-чести, а при ювенилен артрит с положителни АСРА е установен положителен РФ – находка, типична за

РА [6]. В много случаи определянето на ССР антителата може да разграничи РА от друго заболяване с артритна симптоматика. Така напр. при висока стойност на РФ, ставни болки без данни за класически РА трябва да се мисли за друга болест – напр. хепатит С вирусна инфекция или ендокардит, при които ССР антителата ще бъдат отрицателни. При наличие обаче на позитивни ССР антитела диагнозата най-вероятно е начален стадий на РА [24].

### СТАНОВИЩЕ НА ARA/EULAR ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА ССР АНТИТЕЛАТА

Според дефиницията на ARA/EULAR [19], когато резултатите от изследването на RF или ССР се изразяват в единици (IU), трябва да се съобразят следните три категории:

- Негативен резултат – стойност на показателя, по-малка или равна на горната граница на нормалните стойности за лабораторията или използвания тест;
- Нискоположителен резултат – по-висок от горната граница на нормата, но равен или по-малък от тази стойност, умножена по 3;
- Високоположителен резултат – по-висок от трикратната стойност на горната граница на нормата.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Използването на ССР антителата в клиничната практика предоставя възможността за по-ранно определяне на диагнозата и прогнозата при различни болни с РА. В много случаи този тест е указание за по-ранно включване на агресивна терапия с оглед недопускане на появата на ерозивни ставни промени или други усложнения при тези болни.

### Библиография

1. Nienhuis, R. L. et E. Mandema. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis: the antiperinuclear factor. – *Ann. Rheum. Dis.*, **23**, 1964, 302-305.
2. Young, B. J. et al. Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. – *Br. Med. J.*, **2**, 1979, № 6182, 97-99.
3. Sebbag, M. et al. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. – *J. Clin. Invest.*, **95**, 1995, № 6, 2672-2679.
4. Schellekens, G. A. et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. – *J. Clin. Invest.*, **101**, 1998, № 1, 273-281.
5. Schellekens, G. A. et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. – *Arthritis Rheum.*, **43**, 2000, 155-163.
6. Aggarwal, R. et al. Anti-citrullinated peptide antibody assays and their role in the diagnosis of rheumatoid arthritis.

- *Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)*, **61**, 2009, № 11, 1472-1483.
7. Vossenaar, E. R. et al. Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. – *Arthritis Res. Ther.*, **6**, 2004, № 2, R142-150.
8. Pratesi, F. et al. Deiminated Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 is a target of anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis. – *Arthritis Rheum.*, **54**, 2006, № 3, 733-741.
9. Bang, H. et al. Mutation and citrullination modifies vimentin to a novel autoantigen for rheumatoid arthritis. – *Arthritis Rheum.*, **56**, 2007, № 8, 2503-2511.
10. Asaga, H., M. Yamada et T. Senshu. Selective deimination of vimentin in calcium ionophore-induced apoptosis of mouse peritoneal macrophages. – *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **243**, 1998, № 3, 641-646.
11. Mor-Vaknin, N. et al. Vimentin is secreted by activated macrophages. – *Nat. Cell Biol.*, **5**, 2003, № 1, 59-63.
12. Berglin, E. et al. A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis. – *Arthritis Res. Ther.*, **6**, 2004, R303-308.
13. Nielen, M. M. et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. – *Arthritis Rheum.*, **50**, 2004, 380-386.
14. Berglin, E. et al. Radiological outcome in rheumatoid arthritis is predicted by presence of antibodies against cyclic citrullinated peptide before and at disease onset, and by IgA-RF at disease onset. – *Ann. Rheum. Dis.*, **65**, 2006, 453-458.
15. Vencovsky, J. et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. – *Ann. Rheum. Dis.*, **62**, 2003, 427-430.
16. Delvaldel Amo, N. et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody in rheumatoid arthritis: relation with disease aggressiveness. – *Clin. Exp. Rheumatol.*, **24**, 2006, 281-286.
17. Snir, O. et al. Multiple antibody reactivities to citrullinated antigens in sera from rheumatoid arthritis patients: association with HLA-DRB1 alleles. – *Ann. Rheum. Dis.*, **68**, 2009, 736-743.
18. Orozco, G. et al. Auto-antibodies, HLA and PTPN22: susceptibility markers for rheumatoid arthritis. – *Rheumatology (Oxford)*, **47**, 2008, 138-141.
19. Aletaha, D. et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. – *Ann. Rheum. Dis.*, **69**, 2010, № 9, 1580-1588.
20. Jansen, A. L. et al. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptide differentiate rheumatoid arthritis from undifferentiated polyarthritis in patients with early arthritis. – *J. Rheumatol.*, **29**, 2002, 2074-2076.
21. Salvador, G. et al. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide and antikeratin antibodies in palindromic rheumatism. An abortive form of rheumatoid arthritis? – *Rheumatology*, **42**, 2003, 972-975.
22. Kroot, E. J. et al. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. – *Arthritis Rheum.*, **43**, 2000, 1831-1835.
23. Nishimura, K. et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. – *Ann. Intern. Med.*, **146**, 2007, № 11, 797-808.
24. Bose, N. et L. H. Calabrese. Should I order an anti-CCP antibody test to diagnose rheumatoid arthritis? – *Cleveland Clin. J. Med.*, **79**, 2012, № 4, 249-252.
25. Bas, S. et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. – *Rheumatology*, **42**, 2003, 677-680.