

ZNACZENIE PRZECIWCIAŁ PRZECIW CYKLICZNEMU CYTRULINOWEMU PEPTYDOWI (ANTI-CCP) WE WCZESNEJ DIAGNOSTYCE REUMATOIDALNEGO ZAPALENIA STAWÓW – PRZEGLĄD DANYCH KLINICZNYCH

MEANING OF ANTI-CYCLIC CITRULLINATED PEPTIDE ANTIBODIES (ANTI-CCP) IN EARLY DIAGNOSIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS – REVIEW OF CLINICAL DATA

Alicja Świątek-Pawelczak¹, Katarzyna Cebrowska², Joanna Graszka¹

¹ Szpital Wojewódzki w Poznaniu

² Szpital im. Teodora Dunina w Kościanie

Streszczenie

Reumatoidalne zapalenie stawów to choroba układowa o podłożu zapalnym, należąca do grupy jednostek chorobowych z autoagresji. Choroba przebiega rzutami i doprowadza nie tylko do upośledzenia funkcjonowania stawów, ale również do powikłań wielonarządowych. Wczesna diagnostyka i leczenie dają możliwość złagodzenia objawów choroby oraz jej powikłań. W tym celu wykorzystuje się badania laboratoryjne, serologiczne oraz diagnostykę obrazową. Badanie poziomu przeciwciał anti-CCP aktualnie jest najbardziej swoistą i specyficzną metodą wykrywania RZS.

Słowa kluczowe: RZS – reumatoidalne zapalenie stawów, anti-CCP, RF.

Abstract

Rheumatoid arthritis is a chronic and inflammatory disease from group of autoimmune diseases. RA affects not only joints, but also leads to multi-organ failure. Early diagnosis and treatment gives opportunity to control symptoms and minimize further complications. In this case, lab tests, serological tests and imaging are used, but anti-CCP levels are actually the most specific blood test in RA early diagnosis.

Keywords: RA – rheumatoid arthritis, anti-CCP, RF (rheumatoid factor).

55

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) to zapalna choroba układowa należąca do grupy chorób z autoagresji. Aktualnie wyróżnia się 17 podgrup chorych na RZS, wyodrębnionych na podstawie różnej swoistości przeciwciał przeciwko cytrulinowanemu peptydom (ACPA) [13]. Na RZS choruje około 2% populacji, a szczyt zachorowań przypada na okres między 40. a 50. rokiem życia. Kobiety zapadają na tę chorobę 3–4 razy częściej niż mężczyźni. Występują częste zachorowania u członków rodziny. RA (rheumatoid arthritis) rozwija się od zapalenia błony maziowej stawów (synovitis) do kaletki maziowej (bursitis) i pochewek ścięgniowych (tendovaginitis). Choroba przebiega rzutami i doprowadza do upośledzenia czynności stawu, zniszczenia stawu, a w konsekwencji do inwalidztwa (nawet już po 2 latach od wystąpienia pierwszych objawów choroby)! Ze względu na szybko postępujące i nieodwracalne zmiany, istotne jest wczesne rozpoznanie. W chorobie tej może dochodzić również do wystąpienia objawów narządowych. Na podstawie wielu badań stwierdzono, że wiarygodnym parametrem we wczesnym diagnozowaniu RZS jest miano przeciwciał przeciw cyklicznemu cytrulinowemu peptydowi (anti-CCP – anti-cyclic citrullinated peptide antibodies).

Przyczyna choroby nie została dotychczas poznana. Rozważa się możliwość zainicjowania procesu zapalnego przez czynnik zakaźny m.in. wirusy, niektóre szczepy mykoplazmy. Zwraca się także uwagę na rolę czynników genetycznych w RZS – częsta obecność u chorych antygenów HLA-DR4 i DR1 (u 70% chorych stwierdza się antygen DR4 układu HLA). Uważa się, że genetyczna zmiana struktury receptorów limfocytów T (TCR – T-cell receptor) może być przyczyną nieprawidłowego rozpoznania antygenów.

Podstawą procesu zapalnego jest wyzwolenie reakcji immunologicznej, w której dochodzi do interakcji między limfocytami i monocytami, której skutkiem jest wytwarzanie prozapalnych cytokin tj. IL-1, IL-6, TNF- α ; immunoglobulin i autoprzeciwciał przeciwko fragmentowi Fc immunoglobuliny IgG (RF – czynnik reumatoidalny). W wyniku aktywacji układu dopełniacza dochodzi do uwalniania mediatorów zapalenia i enzymów niszczących chrząstkę stawową. W wyniku nagromadzenia się komórek zapalnych, tj. limfocytów T i B, makrofagów i innych, tworzy się ziarnina reumatoidalna. Równocześnie toczą się procesy naprawcze, które prowadzą do powstania zrostów włóknistych, a następnie kostnych, co doprowadza do usztywnienia stawów. Często dochodzi do powstania

guzków reumatoidalnych, co ma związek z zajęciem przez proces zapalny tkanki podskórnej.

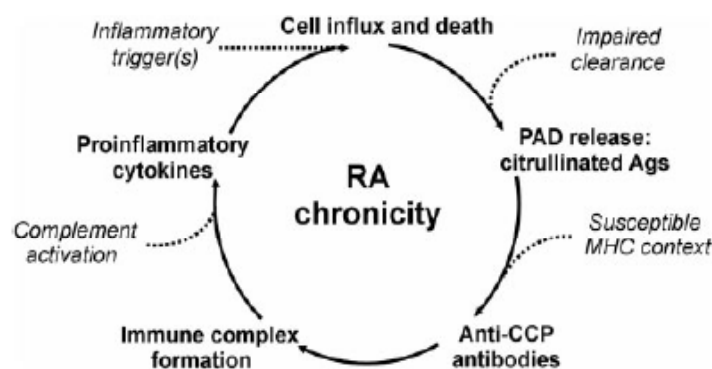
Reumatoidalne zapalenie stawów dzielimy na:

- seropozytywne (występuje RF, a także u większości z tych chorych występuje HLA-DR1 – gorsze rokowanie i cięższy przebieg)
- seronegatywne (brak RF, przebieg choroby łagodniejszy).

Rozpoznanie opiera się na obrazie klinicznym, badaniach laboratoryjnych (morfologia, OB, diagnostyka serologiczna – RF, anti-CCP) oraz obrazowych (głównie radiologiczne – nadżerki krawędzi kostnych stawu, geody). Istotne jest dokładne przeprowadzenie badania podmiotowego (m.in. sztywność poranna, zapalenie i obrzęk stawu, guzki reumatoidalne, ograniczenie ruchomości w stawie) oraz badania przedmiotowego (m.in. dokładnie obejrzeć stawy, zbadać ruchomość stawów, bolesność uciskową, określenie ewentualnych przykurczy). Należy pamiętać, że mogą występować również objawy pozastawowe, np. zespół cieśni nadgarstka, zapalenie osierdzia czy też zespół nerczycowy, co świadczy o znacznym zaawansowaniu choroby [1, 7, 11, 12].

Wczesne zdiagnozowanie RZS jest bardzo trudne, ale jakże istotne! Rozpoznanie choroby w początkowym jej okresie umożliwia szybkie wdrożenie prawidłowego leczenia: przede wszystkim zastosowanie leków modyfikujących przebieg choroby, które są najskuteczniejsze we wczesnych stadiach choroby, co łączy się z wydłużeniem życia chorych (przyjmuje się, że RZS skraca przewidywaną długość życia o dekadę), a także

tożym komórek lub defektów genetycznych, dotyczących degradowania komórek martwiczych, dochodzi do uwalniania enzymów PAD (deiminazy peptydyloargininowej) z komórek zapalnych. Enzymy te do swojej aktywności wymagają stosunkowo wysokich stężeń Ca^{2+} (około 100 razy wyższych niż występujące w cytozolu), aby przekształcić resztę argininową do cytrulinowej, np. „cytrulinacja” fibryny, wimentyny, fibronektyny, fibrynogenu, antytrombiny III oraz od niedawna – kolagen typu II i α -enolaza. Następnie dochodzi do prezentacji przez komórki APC (komórki prezentujące antygen) fragmentów białkowych posiadających reszty cytruliny limfocytom T (uważa się, że produkt genu HLA-DRB1 tzw. „shared epitope” <SE> ulega ekspresji na komórkach MHC klasy II, umożliwiając wiązanie cyklicznego peptydu cytrulinowego z SE i prezentowanie go limfocytom T) [4, 9]. W rezultacie limfocyty B rozpoczynają produkcję przeciwciał przeciw cyklicznemu peptydowi cytrulinowemu (anti-CCP). Następnie powstają kompleksy immunologiczne – antygen–przeciwciało, które stymulują proces zapalny. Do tak zmienionego zapalnie miejsca napływają monocyty i granulocyty, które ponownie uwalnają enzymy PAD i w ten sposób kontynuują rozpoczęty proces „dodawania” reszt cytrulinowych i produkcji w konsekwencji przeciwciał anti-CCP. Ponadto uważa się, że zachodzi silna korelacja między epitopem HLA-DRB1 i genem PTPN22 u palaczy (którego mutacja wpływa na ryzyko wystąpienia chorób autoimmunologicznych) [1, 2, 4, 12, 13] (**Rycina 1**).



Rycina 1. Cykl ilustrujący hipotezę przewlekłości procesu chorobowego w RZS [2]

zapobiega wysokim kosztom leczenia związanego z ortopedyczną interwencją „naprawczą” zniekształconych stawów [1, 6].

We wczesnym rozpoznaniu RZS znamienne rolę odgrywa marker anti-CCP. Marker ten to przeciwciało przeciw trzeciorzędowym białkom posiadającym wiele reszt cytrulinowych. Występowanie peptydów cytrulinowych związane jest z nekrozą lub apoptozą komórek. W wyniku rozległej apop-

Metoda stosowana do wykrywania przeciwciał anti-CCP to ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Charakteryzuje się wysoką swoistością (91–97,4%) oraz umiarkowanie wysoką czułością (47,1–68%), jednak dzięki zmodyfikowaniu metody ELISA czułość wzrosła do 60–70%. Jeżeli chodzi o pozytywną i negatywną wartość predykcyjną, to wynoszą one odpowiednio 93,8% i 68,9%. Natomiast swoistość dotycząca RF to

Tabela 1. Porównanie czułości i specyficzności ww. autoprzeciwciał dla wczesnego RZS [1, 2, 6, 8]

Autoprzeciwciało	Antygen	Czułość %	Swoistość %
RF	IgG	75	74
AKA	Keratyna śluzówki przełyku	46	94
APF	Trichohialina śluzówki jamy ustnej	28	95
Sa	Wimentyna	68	95
RA33	Peptydy A2-RNP	28	85
Anty-CCP	Wszystkie wymienione po modyfikacji cytruliny	68	97

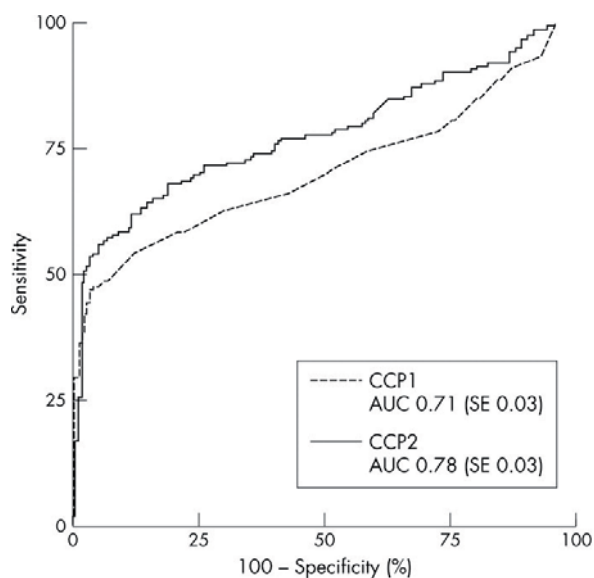
90%, a czułość 40–60%. Z kolei pozytywna wartość predykcyjna wynosi 79,5%, a negatywna równa się 61,2% (**Tabela 1**).

Znany jest fakt, że rutynowo wykorzystuje się oznaczanie wartości RF w surowicy w celu diagnostyki RZS. Jednak we wczesnych przypadkach RZS jest on wykrywany u zaledwie 25–30% przypadków [6]. Natomiast stosowanie jako rutynowego markera w diagnostyce RZS miana przeciwciał anti-CCP umożliwiłoby wczesne wykrycie tej choroby nawet 14 lat przed pojawieniem się objawów klinicznych lub przed wystąpieniem nieodwracalnych zmian stawowych. W jednym z (wielu) badań, mających na celu udowodnienie istotności anti-CCP we wczesnej diagnostyce RZS, wykorzystano surowice 43 chorych. Oznaczenie przeciwciał anti-CCP zostało wykonane za pomocą metody ELISA. Punktem odcięcia była wartość 5RU/ml. Z każdej z tych surowic wykonano oznaczenie RF metodą odczynu wiązania lateksu oraz metodą Waalera-Rosego. Wyodrębniono 4 podgrupy chorych:

- I. 23 pacjentów z wczesnym RZS (od 2 do 12 miesięcy od początku choroby), u 19 z nich stwierdzono obecność anti-CCP w mianie przekraczającym wartość progową, natomiast RF znajdował się w mianie progowym lub był nieobecny.
- II. 4 chorych z podejrzeniem RZS, anti-CCP w 3 przypadkach przekraczał normę, a w jednym był poniżej wartości odcięcia.
- III. 4 chorych z seronegatywnym zapaleniem stawów, w żadnym przypadku nie odnotowano obecności anti-CCP.
- IV. 12 chorych z podejrzeniem RZS, u których ostatecznie rozpoznano chorobę Still'a (1), polimialgię reumatyczną (1), seronegatywne zapalenie stawów (4), łuszczycowe zapalenie stawów (1), polimiositis (1), reaktywne zapalenie stawów (1), toczeń układowy (2), chorobę zwyrodnieniową stawów (1) – w żadnym z wyżej wymienionych przypadków nie stwierdzono obecności przeciwciał anti-CCP [1, 3, 5].

Mimo bardzo dobrych parametrów jakie reprezentują testy anti-CCP zaczęto je udoskonalać; w ten sposób powstał test z wykorzystaniem anti-CCP2. Różnica polega na tym, że anti-CCP1 (the

first generation of ELISAs for anti-CCP) zawiera ludzki cytrulinowy peptyd, natomiast anti-CCP2 (the second generation of ELISAs for anti-CCP) został utworzony in vitro w wyniku cytrulinacji białek, takich jak filagryna, fibrynogen. Metoda z wykorzystaniem anti-CCP2 wykazuje, że specyficzność i czułość są wyższe aniżeli w metodzie opartej na anti-CCP1. Jest to związane z „czystością” stosowanych w teście antygenów. W teście anti-CCP1 dochodzi do reakcji z niecytrulinowanymi fragmentami białka lub innymi zanieczyszczeniami, co obniża specyficzność metody. Natomiast produkcja peptydów in vitro (anti-CCP2) dała możliwość standaryzacji metody i jej powtarzalności, czego wynikiem jest utrzymywanie specyficzności na stałym poziomie [2, 8] (**Rycina 2**).

**Rycina 2.** Porównanie czułości i specyficzności anti-CCP1 i anti-CCP2 dla wczesnego RA [8]

Analiza metod została przeprowadzona na 467 pacjentach w początkowym stadium RA. Każdy z chorych został przebadany: bad. przedmiotowe, bad. laboratoryjne oraz RTG dłoni i stóp w celu możliwości udowodnienia progresu choroby i wykazania zależności między wynikiem anti-CCP1 i/lub anti-CCP2 a postępowaniem choroby. Na

Tabela 2. Porównanie czułości i specyficzności anti-CCP1 i anti-CCP2 dla wczesnego RA [8]

	anti-CCP1	anti-CCP2
specyficzność	42%	54%
czułość	97%	96%
pozytywna wartość predykcyjna	89%	86%
negatywna wartość predykcyjna	78%	81%

tej podstawie określono czułość i swoistość obu metod oraz wykazano wyższość anti-CCP2 nad anti-CCP1 [8] (**Tabela 2**).

Wykorzystanie anti-CCP2 w diagnostyce RA umożliwia przewidywanie przebiegu choroby u pacjentów anti-CCP dodatnich w 93%, natomiast u pacjentów anti-CCP ujemnych w 25% [7].

Obecność przeciwciał anti-CCP umożliwia różnicowanie pomiędzy RZS a niezróżnicowanym zapaleniem stawów. Przeciwciała anti-CCP są także obecne u seronegatywnych pacjentów. Brak czynnika RF nie wyklucza rozpoznania RZS, natomiast obecność przeciwciał anti-CCP praktycznie pozwala na ustalenie diagnozy, ponadto mają one duże znaczenie prognostyczne, wskazują na agresywny przebieg RZS, prowadzący do znacznych destrukcji stawów. Z testami wykrywającymi miano przeciwciał anti-CCP wiąże się przyszłość nie tylko diagnostyczną, ale także umożliwiającą planowanie indywidualnej strategii terapeutycznej, ponieważ anti-CCP znajdują zastosowanie w przewidywaniu przebiegu choroby w okresie (jak na razie) 3-letnim. Ponadto bierze się pod uwagę możliwość wdrożenia diagnostyki anti-CCP, a szczególnie anti-CCP2 jako testu screeningowego w wykrywaniu RA [8, 9, 10].

Zastosowanie w praktyce klinicznej oznaczania miana przeciwciał anti-CCP w jego wczesnym okresie wydaje się być bardzo cennym diagnostycznie markerem reumatoidalnego zapalenia stawów. Rutynowe wykorzystanie tych markerów w diagnostyce laboratoryjnej umożliwiłoby wczesne wykrywanie, a w konsekwencji zastosowanie odpowiedniego leczenia, które mogłoby zapobiec rozwojowi bardzo nasilonych zmian w obrębie stawów, a także późniejszym powikłaniom, szczególnie narządowym. Ponadto wykorzystywanie ACPA o różnej swoistości (np. związanych z wimentyną czy alfa-enolazą) w kontekście ich zależności z poszczególnymi genami (np. PTPN22) jest podstawą do dalszych badań

wpływu czynników genetycznych i środowiskowych na etiopatogenezę RZS [13].

Piśmiennictwo

- [1] Tuchocka-Piotrowska A, Zimmermann-Górska I, Białkowska-Puszczewicz G. Określenie przydatności oznaczania przeciwciał przeciw cyklicznemu cytrulinowemu peptydowi (aCCP) w surowicy krwi w rozpoznawaniu reumatoidalnego zapalenia stawów w jego wczesnym okresie. *Reumatologia*. 2004;42:223.
- [2] Zendman AJ, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. Use and significance of anti-CCP autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2006;45:20–25.
- [3] Lopez-Hoyos M, Ruiz de Alegria C, Blanco R et al. Clinical utility of anti-CCP antibodies in the differential diagnosis of elderly-onset rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Rheumatology*. 2004;43:655–657.
- [4] Bas S, Genevay S, Meyer O et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2003;42:677–680.
- [5] Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. 2003;62:870–874. Xiaofeng Zeng, Maixing Ai, Xiping Tian et al. Diagnostic Value of Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibody in Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol*. 2003;30:1451–1455.
- [6] Quinn MA, Gough AK, Green MJ et al. Anti-CCP antibodies measured at disease onset help identify seronegative rheumatoid arthritis and predict radiological and functional outcome. *Rheumatology*. 2005;1/3.
- [7] Khosha P, Shackar S, Duggal L. Anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis. *Indian Rheumatol Assoc*. 2004;12:143–146.
- [8] van Gaalen FA, Visser H, Huizinga TW. A comparison of the diagnostic accuracy and prognostic value of the first and second anti-cyclic citrullinated peptides (CCP1 and CCP2) autoantibody tests for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005;64:1510–1512.
- [9] de Vries RR, Huizinga TW, Toes RE. Redefining the HLA and RA association to be or not to be anti-CCP positive. *Journal Of Autoimmunity*. 2005;25:21–25.
- [10] Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis. *Ann of the Rheum Dis*. 2004;63:1085–1089.
- [11] Herold G. Reumatoidalne zapalenie stawów. *Medycyna wewnętrzna*. Siedlecka A. Wydawnictwo lekarskie PZWL, Warszawa 2000, 714–23.
- [12] Biernacka E, Ząbek J. Przeciwciała dla cytrulinowanych białek – nowe kierunki badań. *Reumatologia*. 2010;48(4):262–270.
- [13] Zimmermann-Górska I. *Reumatologia – postępy* 2013. *Medycyna Praktyczna*. 2014;278:36–38.

adres do korespondencji

Szpital Wojewódzki w Poznaniu
ul. Juraszów 7/19
60-479 Poznań
tel.: 61 821 22 00