

ROMATOİD ARTRİTİN SEROLOJİK TANISINDA VE HASTALIK AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE ANTI-CCP (CYCLIC CITRULLINATED PEPTIDE) ANTİKORLARININ ROLÜ

THE ROLE OF ANTI-CYCLIC CITRULLINATED PEPTIDE (ANTI-CCP) ANTIBODIES IN SEROLOGIC DIAGNOSIS AND EVALUATION OF DISEASE ACTIVITY IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Buket CİCİOĞLU ARIDOĞAN¹, Selçuk KAYA¹, Serpil SAVAŞ², Emel SESLİ ÇETİN¹, Selami AKKUŞ², Mustafa DEMİRCİ¹

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta. (drbuket@gmail.com)

² Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Isparta.

ÖZET

Son yıllarda romatoid artrit (RA)'in serolojik tanısında anti-CCP (anti-cyclic citrullinated peptide) antikorlarının tespiti, oldukça duyarlı ve özgül bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, RA ve osteoartritli hastalar ile sağlıklı kontrollerin anti-CCP antikor düzeyleri karşılaştırılarak, anti-CCP'nin RA için tanısallık duyarlılık ve özgüllüğü ile hastalık aktivitesinin değerlendirilmesindeki yerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Prospektif ve kesitsel olarak planlanan ve Temmuz 2004-Temmuz 2005 tarihleri arasında gerçekleştirilen bu çalışmaya 34 RA'lı (ortalama yaş: 53.8 ± 8.6 ; 29'u kadın), 32 osteoartritli (ortalama yaş: 53.1 ± 8.1 ; 26'sı kadın) ve 32 sağlıklı gönüllü (ortalama yaş: 49.6 ± 6.7 ; 24'ü kadın) dahil edilmiştir. RA'lı hastaların tanıları "American College of Rheumatology (ACR)" kriterlerine göre konulmuştur. Hastalığın aktivitesi, DAS28 (Disease Activity Score); fiziksel kapasite ise HAQ (Health Assessment Questionnaire) indeksi ile belirlenmiştir. Anti-CCP IgG düzeyleri ticari bir ELISA kiti (Euroimmun, Almanya) ile araştırılmıştır. Çalışmamızda, RA'lı hastaların 25 (%73.5)'inde anti-CCP (ortalama değer: 74.6 ± 64.9 RU/ml), 24 (%70.6)'ünde ise RF (ortalama değer: 62.6 ± 84.8 IU/ml) pozitif olarak tespit edilmiş ve bu fark osteoartritli hasta (hepsinde anti-CCP negatif; %6.2'sinde RF pozitif) ve kontrol (hepsinde anti-CCP ve RF negatif) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). RA'lı hastaların 22 (%64.7)'inde anti-CCP ve RF birlikte pozitif, 7 (%20.6)'sinde ise birlikte negatif olarak sonuç vermiştir. ACR kriterlerine göre tanımlanan RA'lı hastalar için anti-CCP testinin duyarlılığı %73.5, özgüllüğü ise %100 olarak hesaplanırken, bu oranlar RF için sırasıyla %70.6 ve %96.8 olarak belirlenmiştir. Anti-CCP ve RF pozitif RA'lı hastaların DAS28 ve HAQ skorlarının ortalama değerleri, anti-CCP ve RF negatif RA hastalarından daha yüksek olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). RA'lı hastaların anti-CCP düzeyleri ile HAQ skorları arasında korelasyon tespit edilirken, DAS28 skorları arasında korelasyon gösterilememiştir. Sonuç olarak çalışmamızda, RA tanısında anti-CCP tespiti-

nin, RF'den daha duyarlı ve özgül olduğu kanısına varılmış ve bu hastaların tanı ve izleminde RF'ye ek olarak anti-CCP düzeylerinin daha yararlı olacağı düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Romatoid artrit, cyclic citrullinated peptide, anti-CCP, romatoid faktör.

ABSTRACT

Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies are used as highly specific and sensitive markers in the diagnosis of rheumatoid arthritis (RA), in recent years. The aim of this prospective and cross-sectional study was to measure the levels of anti-CCP and rheumatoid factor (RF) in patients with RA and osteoarthritis, and healthy volunteers to evaluate the specificity and possible diagnostic value of anti-CCP and RF, as well as their correlations with parameters of disease activity. Thirty-four patients with RA (mean age: 53.8 ± 8.6 ; 29 female), 32 patients with osteoarthritis (mean age: 53.1 ± 8.1 ; 26 female) and 32 healthy controls (mean age: 49.6 ± 6.7 ; 24 female) were evaluated between July 2004-July 2005. RA diagnosis was done on the basis of criteria recommended by American College of Rheumatology (ACR). Clinical parameters, including disease activity score (DAS28) and health assessment questionnaire (HAQ) indices for physical capacity were detected for RA patients. As a result, 25 (73.5%) of the patients with RA were found positive for anti-CCP (mean value: 74.6 ± 64.9 RU/ml), while 24 (70.6%) were positive for RF (mean value: 62.6 ± 84.8 IU/ml). Serum levels of anti-CCP and RF showed statistically significant increase in patients with RA in comparison with osteoarthritis patients (all were negative for anti-CCP; 6.2% were positive for RF) and healthy controls (all were negative for anti-CCP and RF) ($p < 0.001$). Twenty-two of the RA patients (64.7%) yielded positive results for both anti-CCP and RF, while seven (20.6%) were negative for both of the parameters. The sensitivity and specificity of anti-CCP reactivity for RA patients diagnosed based on ACR criteria were detected as 73.5% and 100%, respectively; the corresponding results for RF were 70.6% sensitivity and 96.8% specificity. The mean DAS28 and HAQ scores of RA patients with anti-CCP and RF were higher than the patients without anti-CCP and RF, however these differences were not statistically significant ($p > 0.05$). Furthermore, a correlation between serum anti-CCP levels and HAQ score was determined, while there was no correlation between DAS28 and anti-CCP levels. In conclusion, antibodies against CCP were thought to be more specific than RF for RA, and the determination of anti-CCP in addition to RF could be helpful in serological diagnosis and monitorization of patients with RA.

Key words: Rheumatoid arthritis, cyclic citrullinated peptide, anti-CCP, rheumatoid factor.

GİRİŞ

Romatoid artrit (RA), dünya üzerindeki popülasyonların yaklaşık %1'ini etkileyen önemli otoimmün hastalıklardan biridir. Küçük eklemlerden büyük eklemlere simetrik olarak yayılan, sinovyal eklemin inflamasyonu ile karakterize bir hastalıktır. Erken tanı hastalığı kontrol altına almak için gereklidir. Günümüze kadar RA şüpheli olguların laboratuvar tanısında en sık uygulanan serolojik test romatoid faktör (RF)'ün tespiti^{1,2}. RF, IgG molekülünün Fc kısmına karşı oluşan otoantikorlar olup, RA hastalarının %60-80'inde ortaya çıkmaktadır. Ancak RF pozitifliği, sağlıklı kişilerde, çeşitli enfeksiyonlarda ve diğer otoimmün hastalıklarda da görülebilmektedir^{2,3}.

Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda RA'da RF'den ayrı olarak klinik önemleri ve olası patojenik rolleri tartışılan başka otoantikorların da tespit edilebildiği bildirilmektedir^{3,4}. Bunlar arasında özellikle filagrin ve onun sirküler formu olan "cyclic citrullinated peptid (CCP)" antikorları, RA'lı hastalardaki yüksek duyarlılık ve özgüllüğü nedeniyle dikkati çek-

miştir^{1,3}. Anti-CCP'nin aynı zamanda hem hastalık şiddeti hem de hastalık aktivitesi ile önemli derecede ilişkili olduğu ileri sürülmektedir⁴. Birçok çalışma, ilerlemiş RA hastalarının klinik değerlendirilmesinde ve prognostik öngörüsünde anti-CCP'nin yararlı bir serolojik gösterge olabileceğini vurgulamaktadır⁴⁻⁷. Bu çalışmada, RA'lı hastalar ile osteoartritli hastalar ve sağlıklı kontrollerin anti-CCP antikor seviyeleri karşılaştırılarak, anti-CCP tespitinin RA için tanısal duyarlılık ve özgüllüğü ile hastalık aktivitesinin değerlendirilmesindeki yerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Prospektif ve kesitsel (cross-sectional) olarak planlanan bu çalışma Temmuz 2004-Temmuz 2005 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği ile Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapıldı. Çalışmaya 34 RA ve 32 osteoartritli hasta ile kontrol grubu olarak 32 sağlıklı ve gönüllü kişi dahil edildi. Tüm RA'lı hastaların tanıları "American College of Rheumatology (ACR)" kriterlerine göre konuldu⁸. Hastalık süresi 2 yıldan fazla olan hastalar RA'lı hasta grubuna dahil edildi. O andaki hastalık aktivitesi, hastalık aktivite skoru (DAS28); fiziksel kapasite ise HAQ (Health Assessment Questionnaire) indeksi ile belirlendi⁹. Ekstraartiküler bulgular, tedavi rejimleri ve eski eklem cerrahilerini içeren bilgiler kaydedildi. Bütün hastalardan çalışmanın başında aydınlatılmış onam alındı.

Serum anti-CCP IgG düzeyleri, ticari bir ELISA kiti (Euroimmun; Medizinische Labor-Diagnostika GmbH, Almanya) kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda araştırıldı. Serum antikor titreleri 0-5 RU/ml arasında ise negatif; > 5 RU/ml ise pozitif olarak değerlendirildi. Kantitatif RF ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri immünonefelometrik yöntem (Prospec, Dade Behring) ile saptandı. RF için 15 IU/ml ve CRP için > 5 mg/dl değerler pozitif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel değerlendirmede, kategorik değişkenler ki-kare testi ile, devamlı değişkenler Student's t testi ve Mann-Whitney testleri ile karşılaştırıldı. Kantitatif değişkenler arasındaki korelasyon Spearman korelasyon katsayısı ile değerlendirildi. Üç grup arasındaki karşılaştırmalar ise Scheffe ve Tukey-Oneway "post-hoc" testleri ile yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde "SPSS 11.0 for Windows software" programından yararlanılıp, istatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ değeri dikkate alındı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan RA ve osteoartritli hasta grupları ile kontrol grubunun demografik özellikleri ve anti-CCP ile RF düzeyleri Tablo I'de gösterilmiştir. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel bir fark yoktur (Tablo I). RA'lı hastaların 22 (%64.7)'sinde anti-CCP ve RF birlikte pozitif, 7 (%20.6)'sinde ise birlikte negatif olarak saptanmış; RA'lı hastaların anti-CCP ve RF düzeyleri, osteoartritli hasta ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). ACR kriterlerine göre tanı konulan 34 RA'lı hasta için anti-CCP testinin duyarlılığı %73.5, özgüllüğü ise %100 olarak hesaplanmış; bu oranlar RF için sırasıyla %70.6 ve %96.8 olarak belirlenmiştir.

Tablo I. Çalışma Gruplarının Demografik Özellikleri ve Anti-CCP ve RF Bulguları

	Çalışma grubu		
	Romatoid artritli hasta (n= 34)	Osteoartritli hasta (n= 32)	Kontrol (n= 32)
Ortalama yaş (yıl)	53.8 ± 8.6	53.1 ± 8.1	49.6 ± 6.7
Cinsiyet (kadın/erkek)	29/5	26/6	24/8
Anti-CCP pozitif sayı (ortalama RU/ml değeri)	25 (74.6 ± 64.9)	0 (1.1 ± 0.3)	0 (0.9 ± 0.6)
RF pozitif sayı (ortalama IU/ml değeri)	24 (62.6 ± 84.8)	2 (10.3 ± 3.3)	0 (9.5 ± 1)
RF: Romatoid faktör.			

Tablo II. Anti-CCP ve RF Pozitif ve Negatif Romatoid Artritli Hastaların Karşılaştırılması

	Anti-CCP			RF		
	Pozitif (n= 25)	Negatif (n= 9)	p	Pozitif (n= 24)	Negatif (n= 10)	p
Ortalama yaş (yıl)	54.3 ± 9.3	52.2 ± 6.6	0.46	54.2 ± 9	53.5 ± 7.3	0.8
Kadın cinsiyet	22	7	0.45	20	9	0.67
Ortalama hastalık süresi (ay)	81.5 ± 31.7	78.5 ± 30.1	0.92	83.8 ± 31.3	77.5 ± 30.1	0.69
Ortalama DAS28 skoru	3.1 ± 1.2	2.7 ± 1.2	0.22	3.1 ± 1.3	2.7 ± 0.9	0.32
Ortalama HAQ skoru	0.5 ± 0.6	0.2 ± 0.4	0.22	0.6 ± 0.6	0.2 ± 0.3	0.1
RF: Romatoid faktör.						

Anti-CCP pozitif ve negatif RA hastaları arasında yaş, cinsiyet ve hastalık süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo II). Hastalık aktivite göstergelerinden DAS28 ve HAQ ortalama skorları da, anti-CCP ve RF pozitif RA'lı hastalarda, negatif RA'lı hastalara göre daha yüksek saptanmış, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). RA'lı hastaların anti-CCP düzeyleri ile HAQ skorları arasında bir korelasyon tespit edilirken, anti-CCP düzeyleri ile DAS28 skorları arasında korelasyon gösterilememiştir. Ayrıca RF düzeyleri ile DAS28 ve HAQ skorları arasında da bir korelasyon saptanmamıştır.

TARTIŞMA

Sık görülen otoimmün hastalıklardan olan RA'nın laboratuvar tanısında RF tespiti, önemli bir serolojik belirleyicidir. Ancak RF testinin RA tanısındaki duyarlılığı yüksek olmasına karşın özgüllüğü düşüktür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda anti-CCP antikorlarının RA serolojik tanısında RF ile benzer duyarlılıkta ve RF'den daha özgül olduğu saptanmıştır⁸⁻¹¹. Çalışmamızda, RA'lı hastalarda saptanan serum anti-CCP ve RF düzeyleri, inflamatuvar bir eklem hastalığı olmayan osteoartritli hastalardan ve sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Ayrıca, anti-CCP testinin duyarlılık (%73.5) ve özgüllüğünün (%100), RF için saptanan duyarlılık

(%70.5) ve özgüllük (%96.8) değerlerinden yüksek bulunması; anti-CCP testinin RA'nın erken tanı ve tedavisine önemli katkıda bulunabileceğini düşündürmüştür.

Anti-CCP antikorları, RA'nın çok erken dönemlerinde saptanabilmektedir. Erken dönem sinoviyitli hasta grupları ile erken dönem artrit yakınması olan hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda, olguların %40-70'inde anti-CCP pozitif bulunmuştur. Bunun yanında erken artrit döneminde yapılmış bir çalışmada, anti-CCP pozitif ve negatif hastaların ilk başvuru anındaki semptom ve bulguları arasında anlamlı fark bulunmamasına rağmen, ilerleyen dönemde anti-CCP pozitif hastalarda, anti-CCP negatif hastalara göre eklem şişliğinin ve erozif radyolojik bulguların daha fazla gözlemlendiği bildirilmiştir¹². Çalışmamızda da, anti-CCP pozitif hastalarda hastalık aktivite göstergeleri, anti-CCP negatif hastalardan daha yüksek bulunmasına karşın, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgular, olgu sayımızın az olması göz önünde bulundurularak, anti-CCP değerleri ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesini zorlaştırmıştır.

Anti-CCP düzeyleri ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi araştıran birçok çalışma mevcuttur¹²⁻¹⁶. Hastalığın prognozu ile anti-CCP değerlerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda, anti-CCP pozitif RA'lı hastalarda anti-CCP negatif olanlardan çok daha ciddi radyolojik hasar geliştiği ifade edilmektedir^{15,16}. İnanc ve arkadaşları⁵, DAS28 skorları ile anti-CCP antikorları arasında zayıf fakat anlamlı korelasyon bulmalarına karşın RF ile bu korelasyonu bulamamışlardır. Ayrıca HAQ skorları ile anti-CCP düzeyleri arasında da zayıf bir korelasyon bildirilmektedir^{5,10}. Bizim çalışmamızda da anti-CCP ile HAQ skorları arasında korelasyon saptanmasına rağmen, DAS28 skorları ile arasında korelasyon gözlenmemiştir. Buna ek olarak RF ile DAS28 ve HAQ skorları arasında da bir korelasyon bulunmamıştır. Sonuç olarak, RA tanısında anti-CCP tespitinin, RF'den daha duyarlı ve özgül olduğu izlenmiş ve RA'lı hastaların tanı ve izleminde RF'ye ek olarak anti-CCP düzeylerinin saptanmasının yararlı olacağı düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Mimori T. Clinical significance of anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis. *Intern Med* 2005; 44: 1122-6.
2. Jonsson T, Arinbjarnarson S, Thorsteinsson J, et al. Raised IgA rheumatoid factor (RF) but not IgM RF or IgG RF is associated with extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1995; 24: 372-5.
3. 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: 155-63.
4. Bas S, Genevay S, Meyer O, Gabay C. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42: 677-80.
5. Inanc N, Dalkilic E, Kamali S, et al. Anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 17-23.
6. Ceccato F, Roverano S, Barrionuevo A, Rillo O, Paira S. The role of anticyclic citrullinated peptide antibodies in the differential diagnosis of elderly-onset rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Clin Rheumatol* 2006; 25: 854-7.
7. Samanci N, Ozdem S, Akbas H, et al. Diagnostic value and clinical significance of anti-CCP in patients with advanced rheumatoid arthritis. *J Natl Med Assoc* 2005; 97: 1120-6.
8. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.

9. Senerdem N, Gul A, Konice M, et al. The use of two different Health Assessment Questionnaires in Turkish rheumatoid arthritis population and assessment of the associations with disability. *Clin Rheumatol* 1999; 18: 33-7.
10. van Boekel MA, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, van Venrooij WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res* 2002; 4: 87-93.
11. Us D, Gülmez D, Hasçelik G. Cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) together with some other parameters used for serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. *Mikrobiyol Bul* 2003; 37: 163-70.
12. van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, Breedveld FC, Toes RE, Huizinga TW. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: R949-58.
13. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1085-9.
14. Forslind K, Ahlmen M, Eberhardt K, Hafstrom I, Svensson B; BARFOT Study Group. 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.
15. Meyer O, Labarre C, Dougados M, et al. Anticitrullinated protein/peptide antibody assay in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 120-6.
16. Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JM. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 357-65.