

ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALARDA ACCP (ANTI-CYCLIC CITRULLINATED PEPTIDE) DÜZEYLERİ

(ACCP (Anti Cyclic Citrullinated Peptide) Levels in Rheumatoid Arthritic Patients)

Derya Gültekin*, Hayrettin Çürüksulu*, Güvenç Güvenen, Hale Aral**, İncihan Ocakoğlu*, Nilgün Arıkan Başaran***

Özet

Bu çalışmada, tanı ve tedavide geç kalınması neticesi sakatlıklara yol açan romatoid artritli (RA) hasta gruplarında RF ile anti-cyclic citrullinated peptide (ACCP) düzeylerini saptamayı ve hastalıkla olan ilişkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışma, Ekim-Kasım 2004 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Romatoloji polikliniğinde görülen (en az 5 yıldır RA tanısıyla izlenmekte olan) yaşları 35 ile 65 arasında değişen, 45'i kadın ve 15'i erkek toplam 60 olgu üzerinde yapıldı. Olguların seçiminde, seropozitif (n=30) ve seronegatif romatoid artrit (n=30) olmak üzere 2 alt grup hedeflendi. Kontrol grubu (n=20) sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Serum RF nefelometrik yöntemle (Beckman Coulter, USA), ACCP düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika GmbH, Germany). ACCP pozitifliği oranı seropozitif olgularda (96,7), seronegatif olgulardan (%26,7) istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulundu ($p<0,01$). Kontrol grubunda ACCP pozitifliği saptanmadı. RF'nin sensitivitesi %50, spesifitesi %100, pozitif prediktif değeri %100, negatif prediktif değeri %40; ACCP'nin sensitivitesi %61,67, spesifitesi %100, pozitif prediktif değeri %100 ve negatif prediktif değeri %46,51 olarak saptandı. Sonuç olarak çalışmamız, RA tanısında ACCP'nin RF'ye göre daha iyi bir serolojik belirteç olduğu hipotezini desteklemektedir. ACCP antikorlarının hastalığın sınıflandırma kriterleri arasında kabul edilmesinin, bu hastalarda erken tanı ve tedavi edici yaklaşımlara ek destek sağlayacağı öngörülebilir.

Anahtar kelimeler: ACCP, romatoid artrit, RF.

Summary

In this study, we aimed to determine the RF and anti cyclic citrullinated peptide (ACCP) levels in patients with rheumatoid arthritis (RA) in which early diagnosis and therapeutic intervention leads to earlier disease control and less joint damage. The study was carried out at the Ministry of Health Istanbul Göztepe Training and Research Hospital, Rheumatology Clinic on total of 60 patients (afflicted for more than 5 years) of which 45 were female and 15 were male, between the ages of 35 and 65. The patients were divided into two subgroups

according to RF results seropositive (n=30) and seronegative (n=30). The control group (n=20) comprised of healthy individuals. Serum RF levels were measured by nephelometric method (Beckman Coulter, USA) and ACCP levels were measured by ELISA (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika GmbH, Germany). ACCP antibodies were found to be positive in 96.7% of the seropositive and 26.7% of the seronegative patients and the difference was significant ($p<0.01$). No positive result was found in control group. It was determined that RF sensitivity of 50%, specificity of 100%, positive predictive values of %100, negative predictive values of %40; ACCP sensitivity of 61.67%, specificity of 100%, positive predictive values of %100, negative predictive values of %46.51. In conclusion, our study supports the hypothesis that in RA diagnosis, ACCP is a better indicator than RF. It is suggested that using ACCP test as one of the diagnosis criteria of the disease, will provide additional support for early diagnosis and treatment of RA.

Key words: ACCP, rheumatoid arthritis, RF.

* Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarı

** Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarı, İstanbul

GİRİŞ

Romatoid Artrit (RA), nedeni bilinmemekle birlikte, tipik bulgularının çoğunu periferik sinovyal eklemlerde gösteren kronik, progresif, sistemik bir hastalıktır. RA tanısının erken konulması ve gelişecek artrit formunun (erozif, non-erozif) önceden tahmin edilmesi, ortaya çıkacak eklem hasarlarını önlemede çok önemlidir. Bugüne kadar RA tanısında yaygın olarak kullanılan romatoid faktör, tanıda ne spesifik ne de tamamen sensitiftir ve hastalığın patogenezi ile ilgili tam bir fikir verememektedir.

Son zamanlarda, RA'lı hastaların %40-60'ında epidermal filagrin (flaman agreve edici protein)'e karşı spesifik otoantikorlar tanımlanmıştır ^(1,2). Bu antikörlerin hedefinin, memeli deri ve özefagus epitel hücrelerinin terminal diferansiyasyonunun ileri safhalarında eksprese edilen bir protein olan filagrin olduğu ortaya çıkarılmıştır ^(3,4). Sitrulin, filagrin molekülünde bulunan nadir bir aminoasittir. Bu çalışmada romatoid artritli (RA) hasta gruplarında RF ile anti-cyclic citrullinated peptide (ACCP) düzeylerini saptamayı ve hastalıkla olan ilişkilerini araştırmayı amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Çalışma, Ekim-Kasım 2004 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Romatoloji polikliniğinde görülen, yaşları 35 ile 65 arasında değişen, en az 5 yıldır RA tanısıyla izlenmekte olan 45'i kadın ve 15'i erkek toplam 60 olgu üzerinde yapıldı. Olguların seçiminde, seropozitif (RF +) romatoid artrit (n=30) ve seronegatif (RF -) romatoid artrit (n=30) olmak üzere 2 alt grup hedeflendi. Kontrol grubu (n=20) sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Olgular tanı zamanı, tedavi süresi, sigara içimi, başka bir sistemik hastalığı olup olmadığı, kullandığı ilaçlar yönünden sorgulandı.

Serum örnekleri analiz gününe kadar (yaklaşık 1 ay) -20°C'de saklandı. Serum RF nefelometrik yöntemle (Beckman Coulter, USA), anti-CCP düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika GmbH, Germany). Intraassay and interassay CV değerleri sırasıyla %4,2 ve 7,8 idi. Serum ACCP düzeyi >5 RU (relative unit)/ml olanlar pozitif kabul edildi.

İstatistiksel analizler için SPSS 10.0 programı kullanıldı. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklı çıkan grubun tesbitinde Tukey HSD testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi. Tanı tarama testi kullanılarak (sensitivite, spesifite vb.) romatoid faktör ve anti-CCP değerlendirmesi yapıldı.

BULGULAR

- Tüm olguların demografik özellikleri ve laboratuvar verileri tablo 1'de verilmiştir.
- Kontrol grubu olgularının ESR düzeyleri, seropozitif ve seronegatif olguların ESR düzeylerinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı düşükken ($p=0,001$); seropozitif ve

seronegatif olguların ESR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p=0,903)

- c) Kontrol grubu olgularının CRP düzeyleri, seropozitif olguların CRP düzeylerinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı düşükken (p=0,001); seronegatif olguların CRP düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür (p=0,017). Seropozitif ve seronegatif olguların CRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p=0,096)
- d) Gruplara göre olgularda ACCP pozitifliği tablo 2'de verilmiştir. ACCP pozitifliği oranı seropozitif olgularda (%96,7), seronegatif olgulardan (%26,7) istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulundu (p<0,01). Kontrol grubunda anti-CCP pozitifliği saptanmadı (Şekil 1).
- e) RF'nin sensitivitesi %50, spesifitesi %100, pozitif prediktif değeri %100, negatif prediktif değeri %40; ACCP'nin sensitivitesi %61,67, spesifitesi %100, pozitif prediktif değeri %100 ve negatif prediktif değeri %46,51 olarak saptandı.

Tablo 1. Gruplara göre demografik özelliklerin ve laboratuvar verilerinin karşılaştırılması

	Kontrol (n=20)		Seronegatif RA (n=30)		Seropozitif RA (n=30)		p
	Ort.	SD	Ort.	SD	Ort.	SD	
Yaş	46,95	8,62	46,90	9,88	51,70	8,81	0,085
Hastalık süresi(yıl)	-	-	8,26	3,84	9,36	3,80	0,175
ESR	15,00	7,91	23,56	10,94	24,53	6,35	0,001**
CRP	0,27	0,19	0,62	0,42	0,86	0,55	0,001**
ASO	103,19	64,91	94,17	73,62	65,42	40,83	0,058
Hemoglobin	13,23	1,39	12,13	1,55	12,59	1,47	0,043*
Lökosit	6279,00	1512,89	7181,67	1942,71	7501,67	1905,32	0,070
Cinsiyet	n	%	n	%	n	%	
Kadın	14	70,0	23	76,7	22	73,3	0,869
Erkek	6	30,0	7	23,3	8	26,7	

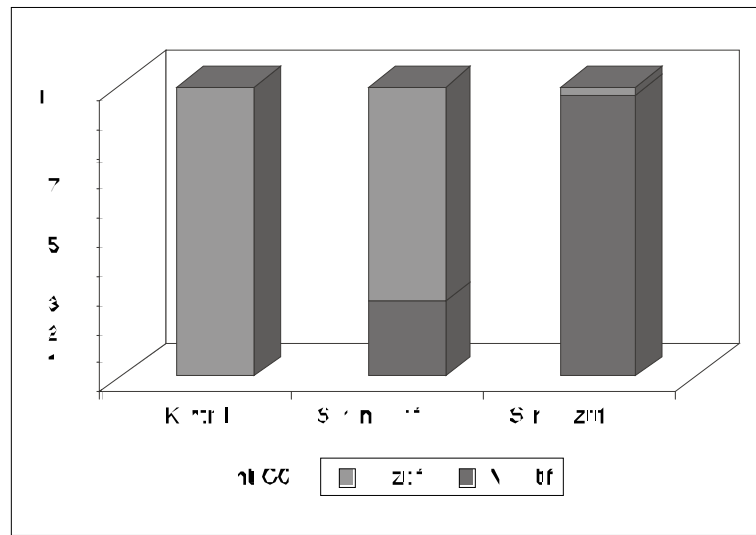
* p<0,05; ** p<0,01

Tablo 2. Gruplara göre ACCP daÜİİmİ

		Kontrol (n=20)		Seronegatif RA (n=30)		Seropozitif RA (n=30)		p
		n	%	n	%	n	%	
ACCP	Pozitif	-	-	8	26,7	29	96,7	0,001*
	Negatif	20	100,0	22	73,3	1	3,3	

* $p<0,01$

Şekil 1. Gruplara göre Anti-CCP daÜİİmİ



TARTIŞMA

RA dünya popölasyonunun yaklaşık %1'ini etkileyen, en yaygın otoimmün hastalıklardan biridir. RA tanısının erken konulması, tedavi ile eklem dokusundaki hasarın önüne geçilebilmesi açısından çok önemlidir. RF, RA için bir ölçüde sensitif fakat spesifik olmayan bir parametredir. RA dışında, diğer otoimmün hastalıklarda, çeşitli enfeksiyonlarda ve sağlıklı kişilerde de sıklıkla yüksek serum düzeyleri saptanmaktadır. Bu nedenle tanısal değeri düşüktür.

Kroot ve ark. yeni başlayan romatoid artritli hastalarda anti-CCP-1'in prediktif değerini araştıran ilk kişilerdi. Anti-CCP'i pozitif olan hastalarda 6 yıllık takip sonrası anti-CCP'i negatif olan hastalara göre anlamlı derecede daha şiddetli radyolojik hasar gelişmekte idi. Ancak, multipl regresyon analizinde, bu antikörlerin gruptaki ilave prediktif değeri yalnızca orta dereceli idi (5). Rantapaa-Dahlquist ve ark. yaptığı benzer tipte bir çalışmada, daha sonra RA gelişen 83

kan vericisinin erken kan örnekleri incelendi. Anti-CCP antikorları hastaların %25'inde hastalık ilk semptomlarının başlamasından 1.5 ile 9 yıl önce tespit edilebilir düzeyde idi ⁽⁶⁾.

Tampoia ve ark. yaptığı çalışmada ACCP'nin sensitivitesini %67.5 ve spesifitesini %99.3 buldular. RF için sensitivite %66.3, spesifite %82.1 idi ⁽⁷⁾. Solanki ve ark., erken RA'lı (hastalık süresi 2 yılın altında olan) ve geç RA'lı (hastalık süresi 2 yılın üstünde olan) hastalarda anti-CCP ve RF'ün spesifitesini araştırdıkları çalışmalarında; erken RA'lı hastalarda RF ve anti-CCP'nin sensitivitesi sırasıyla %57 ve %79 idi. Bu oran geç RA'lı hastalarda ise %81 ve %84 idi. Erken RA tanısında ACCP'in RF'den %20 daha sensitif olduğunu bildirmektedirler ⁽⁸⁾. Vallbracht ve ark., yüksek hastalık aktivitesi ve şiddetli eklem hasarı olan romatoid artritli hastalarda, ACCP'yi bütün RF izotiplerinden daha sık pozitif bulmuşlardır (%81,4 ve %83,6). Aynı çalışmada bütün RF izotipleri negatif olan RA'lı hastaların %34.5'de ACCP pozitif bulunmuş ve bu durumda özellikle RF negatif veya belirsiz (sınırdan) olan RA'lı hastalarda ilgili testin tanı koyma yeteneğine dikkat çekilmiştir ⁽⁹⁾. Schellekens ve ark. ACCP antikorlarının RA için çok spesifik (%98) olduğu sonucuna vardılar ⁽²⁾. Lee DM ve Schur PH'nın yaptığı bir çalışmada anti-CCP için sensitivite ve spesifite sırasıyla %66 ve %99; RF için %72 ve %80 idi ⁽¹⁰⁾. Zeng ve ark. RA'lı hastaların (n=191) %47.1'sinde, diğer romatizmal hastalığı (n=132) olanların %1,5'inde ACCP'yi pozitif buldular. Anti-CCP antikorlarının sensitivitesi %47, spesifitesi %97.4 idi ⁽¹¹⁾. Meyer ve ark., yeni başlayan RA'sı olan 191 hastayı 5 yıl süreyle prospektif olarak izlemişlerdir. Bu hastaların serum örnekleri AKA, APF ve CCP1 açısından incelenmiş; erezyonlar Van Heijde tarafından modifiye edilen sharp skorları ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar, 5 yıl sonra total sharp skorlarında artışın, ACCP antikor pozitif olan hastalarda (odds oranı 2.5) RF'si pozitif olan hastalara göre (odds oranı 0.7) daha yüksek olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar sitrulin protein/peptidlere karşı gelişen antikorların radyografik eklem hasarının iyi prediktörleri olduğu sonucuna varmışlardır ⁽¹²⁾.

Elde edilen tüm veriler ACCP'nin RA için aslında iyi bir serolojik belirteç olduğunu göstermektedir, birinci basamak diagnostik test olarak kullanılmaya uygun olduğu öngörülebilir. Çünkü hastalığın klinik tablosu oturmadan önce de sıklıkla tespit edilebilir. ACCP prognostik potansiyeli sayesinde agresif tedavi adaylarını belirlemede de yardımcı olur. Yüksek spesifitesi nedeniyle ACCP RA'yı diğer eroziv ve RF pozitif olabilen artrit formlarından ayırt etmede kullanılabilir. ACCP seronegatif RA'lı hastalarda RA teşhisini koymada faydalı olabilir. Çünkü RF negatif RA hastalarının bir bölümünde ACCP pozitif bulunmuştur.

Literatür bilgileri ile uyum gösteren çalışmamızda seronegatif RA'lı hastaların %27'sinde, seropozitif RA'lı hastaların ise %96.7'sinde ACCP'yi pozitif bulduk. Kontrol grubunda hiç ACCP pozitif olgu bulunmadı. Sonuç olarak çalışmamız, RA tanısında anti-CCP'nin RF'ye göre daha iyi bir serolojik belirteç olduğu hipotezini desteklemektedir. ACCP antikorlarının hastalığın sınıflandırma kriterleri arasında kabul edilmesinin, bu hastalarda erken tanı ve tedavi edici yaklaşımlara ek destek sağlayacağı öngörülebilir.

KAYNAKLAR

1. Van Boekel MA, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, van Venroo WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res* 2002; 4: 87-93
2. Schellekens GA, Visser H, de Jong BAW, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, van Venrooij WJ. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing anti-cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 155-163

3. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998; 101: 273-281
4. Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Arnaud M, Dalbon P, Sebbag M, Vincent C, Simon M, Senshu T, Mason-Bessiere C, Jolivet-Reynaud C, Jolivet M, Serre G. The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated anti-flaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro) filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol* 1999; 162: 585-594
5. Kroot EJ, de Jong BA, van Leeuwen MA, Swinkels H, Van den Hoogen FH, van't Hof M, Van de Putte LB, van Rijswijk MH, van Venrooij WJ, van Riel PL. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1831-5
6. Rantapaa-Dahlqvist S, de-Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, et al. Antibodies against citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2741-2749
7. Tampoia M, Brescia V, Fontana A, Maggiolini P, Lapadula G, Pansini N. Anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies measured by an automated enzyme immunoassay: Analytical performance and clinical correlations. *Clin Chim Acta*. 2005; 355: 137-44
8. Solanki K, Spellerberg M, Chapman P, Moller P, O'Donnell J. Anti-cyclic citrullinated antibodies: complementary to IgM rheumatoid factor in the early diagnosis of rheumatoid arthritis. *NZ Med J* 2004; 117: U1097
9. Vallbracht I, Rieber J, Oppermann M, Forger F, Siebert U, Helmke K. Diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004;63:1079-84
10. Lee DM and Schur PH, Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 870-874
11. Zeng X, Ai M, Gan X, Shi Y, Song Q, Tang F. Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 1451-5
12. Meyer O, Labarre C, Dougados M, Goupille P, Dubois A, et al., Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 120-126