

О.П. Борткевич
Ю.В. Білявська

Національний науковий
центр «Інститут кардіології
ім. М.Д. Стражеска»
АМН України, Київ

КЛІНІКО-ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ ДО ЦИКЛІЧНОГО ЦИТРУЛІНОВОГО ПЕПТИДУ У ПАЦІЄНТІВ З РІЗНОЮ ТРИВАЛІСТЮ РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ

Ключові слова: ревматоїдний артрит, недиференційований артрит, антитіла до циклічного цитрулінового пептиду.

Резюме. З метою визначення клініко-діагностичного значення антитіл до циклічного цитрулінового пептиду (АЦЦП) обстежено 114 пацієнтів: 86 хворих на ревматоїдний артрит різної тривалості та 28 пацієнтів з недиференційованим артритом. Встановлено високу чутливість та специфічність АЦЦП, доведено їх об'єктивність у діагностиці РА. Виявлені кореляційний зв'язок АЦЦП з рівнем С-реактивного протеїну в сироватці крові та наявністю випоту за даними ультрасонографічного дослідження свідчать про можливість використання зазначеного серологічного маркера як показника інтенсивності запалення.

ВСТУП

Ревматоїдний артрит (РА) — поширене системне запальне захворювання невідомої етіології, що характеризується розвитком хронічного деструктивного артрититу та широким спектром позасуглобових проявів (Harris E.D., 1990). Останніми роками в Україні відзначають збільшення численності хворих на РА. Щорічна захворюваність становить близько 0,02%, а в останні 10 років хвороби 50% пацієнтів втрачають працездатність, з них 20% стають прикутими до ліжка, потребуючи постійного нагляду та сторонньої допомоги (Коваленко В.М., 2005). Своєчасне встановлення правильного діагнозу і як результат негайне призначення хворобомодифікуючих антиревматичних препаратів (ХМАРП) на ранніх етапах процесу суттєво знижує ризик втрати працездатності та значно поліпшує якість життя цієї категорії пацієнтів (Wolfe F. et al., 1991; Buckley C.D., 1997).

В рекомендаціях Європейської антиревматичної ліги (EULAR), на основі результатів одного систематичного огляду, даних декількох рандомізованих та численних проспективних досліджень, зазначено, що саме раннє застосування ХМАРП зумовлює доведено кращий результат, а оптимальний проміжок часу, протягом якого воно має бути здійснено, становить 6 тиж з моменту появи перших симптомів захворювання (<http://ard.bmjournals.com/cgi/reprintform>). Із врахуванням цього очевидна необхідність ранньої діагностики РА, яка досить часто є ускладненою внаслідок відсутності високочутливих діагностичних критеріїв або специфічних лабораторно-інструментальних тестів.

Саме з цією метою проводиться велика кількість досліджень, присвячених вивченню діагностичного та прогностичного значення різних імунологічних маркерів при РА (Tuomi T., 1989). Однак в лабораторній діагностиці РА найбільш важливим

та поширеним на сьогодні так і залишається виявлення ревматоїдного фактора (РФ) (Del Puente A. et al., 1988; van Zeben D., Breedveld F.C., 1996; Swedler W. et al., 1997; Houssien D.A. et al., 1998). Однак недостатньо висока специфічність цього показника (Eggelmeijer F. et al., 1990; Atkinson J.C. et al., 1992; Witte T. et al., 2000), особливо у дебюті РА (Eberhardt K.B., et al. 1988), та існування серонегативного варіанта захворювання зумовлює необхідність пошуку інших серологічних маркерів захворювання. На сучасному етапі розвитку діагностики РА важливим додатком до виявлення його ранньої стадії розглядають антитіла до циклічного цитрулінового пептиду (АЦЦП) — аутоантитіла, що взаємодіють із синтетичними пептидами, що містять атипову амінокислоту — цитрулін (Schellekens G.A. et al., 1998).

Початком досліджень АЦЦП слід вважати 1964 р., коли R. Nienhuis та E. Mandema у процесі вивчення антиядерних антитіл при ревматичних захворюваннях виявили у хворих на РА так званий антиперинуклеарний фактор (АПФ). Використовуючи метод непрямой імуофлюоресценції, автори визначили, що взаємодія сироваток крові пацієнтів із РА з клітинами слизової оболонки щоти дає крапчасте свічення розміщених навколо ядра частинок (Насонов Е.Л. і соавтр., 1993). Зазначені антитіла виявили високу специфічність (96–99%) та чутливість (76–87%) при РА, також встановлено кореляційний зв'язок їх наявності з більш тяжким перебігом захворювання.

У 1979 р. В. Young та співавтори виявили антитіла, що реагували з епітелієм стравоходу криси. Також визначено високу специфічність цих антитіл при РА. Вони отримали назву антикератинових антитіл (АКА). У кінці 90-х років ХХ ст. виявлено, що антигеном для АПФ, АКА, а також для антифілагринових антитіл (АФА) є цитрулін. Цитрулінові пептиди становлять посттрансляційно модифіковані за-

лишки аргініну (Paimela L. et al., 1992; Bas S. et al., 2000; Genevay S. et al., 2002). Процес цитрулінування пептидів відбувається за участю фермента пептидиларгініндеіменіази (ПАД). На сьогодні відомо 4 типи цього ферменту. ПАД-1 та ПАД-3 виявлені переважно у епідермісі та волосяних фолікулах, ПАД-2 — у клітинах м'язової, мозкової та гемопоетичної тканин, а ПАД-4 — у макрофагах та моноцитах. Останні два ізоформи — найбільш вірогідні кандидати для активації цитрулінування синовіальних білків при РА. У фізіологічних умовах ПАД-2 та ПАД-4 неактивні. Цитрулінування синовіальних білків є активним процесом, що виникає під час запалення (Vossenaar E.R. et al., 2004; Charuy-Regaud S. et al., 2005). Для активації процесів цитрулінування необхідне значне підвищення рівня внутрішньоклітинного кальцію, яке також відзначають і при апоптозі (рисунк).

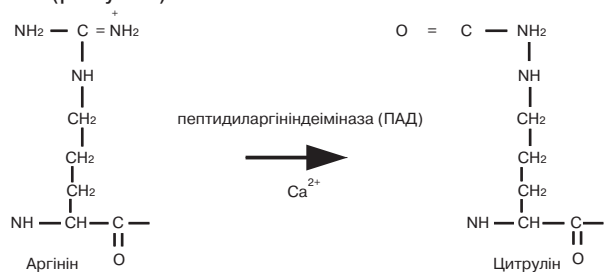


Рисунок. Процес цитрулінування амінокислотного залишку аргініну під впливом ПАД і високої концентрації кальцію

Фізіологічна роль цитрулінування, найбільш ймовірно, полягає у виконанні важливої ролі щодо підготовки внутрішньоклітинних білків до деградації під час апоптозу, а також у регуляції транскрипції через цитрулінування гістонів (Menard H.A., et al., 2000; Masson-Bessierre C. et al., 2001).

Досі вивчено лише декілька білків ссавців, що можуть підлягати цитрулінуванню. Окрім філагрину, до них належать трихогіалин та основний білок мієліну. Проте жоден із зазначених білків не наявний у синовіальній тканині, їх роль в утворенні АЦЦП при РА є суперечливою. Однак слід зауважити, що при апоптозі у патологічних умовах цитрулінуванню можуть підлягати і деякі інші клітинні білки. У дослідженні С. Masson-Bessierre та співавторів (2001) продемонстровано, що у запальній синовіальній тканині цитрулінові білки представлені віментином, альфа- та бета-ланцюгами фібрину.

Е. Vossenaar та співавтори (2003; 2004) на мишиній моделі та у людини, вивчали локальну продукцію в синовіальній тканині цитрулінових пептидів та антитіл до них. Вони продемонстрували, що у пацієнтів з РА концентрація АЦЦП у синовіальній рідині у 1,4 раза вища від концентрації у сироватці крові, що свідчить про локальну продукцію цих антитіл.

На сьогодні основна увага дослідників спрямована на виявлення ролі АЦЦП у діагностиці РА, встановлення їх прогностичного значення та зв'язку з активністю захворювання.

Проведено цілий ряд досліджень щодо оцінки чутливості та специфічності АЦЦП при РА. При використанні циклічного цитрулінового пептиду філагрину першого покоління чутливість АЦЦП була

варіабельною — від 41 до 68%. Нещодавно було запропоновано використовувати пептиди, які б дозволили розробити набір другого покоління для визначення АЦЦП. Чутливість методу при цьому зростає до 75–80%, а специфічність збереглася на рівні >98% (van Gaalen F.A. et al., 2005). Зазначену високу специфічність АЦЦП відзначають всі дослідники. За даними деяких досліджень вона становить від 89 до 98% при різній тривалості захворювання. При інших ревматичних захворюваннях АЦЦП виявляли не більше ніж у 3% випадків у разі системної склеродермії, в 1% — при васкуліті; реактивному артриті та хворобі Шегрена. При інфекційних захворюваннях (туберкульоз, вірусний гепатит, ієрсиніоз, бактеріальний ендокрадит) позитивними за АЦЦП були не більше 2% пацієнтів.

Ф.А.С. van Gaalen та співавтори (2004) вивчали прогностичне значення АЦЦП і продемонстрували, що у разі недиференційованого суглобового синдрому за наявності АЦЦП ризик прогресування процесу у РА протягом 3 років становить >90%. Поява АЦЦП за декілька років до розвитку захворювання є особливістю цих антитіл. Проте із врахуванням того, що ці антитіла можуть існувати протягом тривалого часу за умов відсутності клінічних проявів артрити, це підтверджує думку про те, що їх продукція та розвиток захворювання є двома окремими подіями (Vossenaar E.R., van Venroij W.J., 2004; Charuy-Regaud S. et al., 2005). І хоча наявність АЦЦП тісно пов'язана з наявністю РА, вони не є необхідними для маніфестації захворювання, оскільки в дебюті у приблизно 20% пацієнтів з РА немає цієї групи антитіл.

Чутливість АЦЦП в середньому становить від 41 до 88%. Таку низьку чутливість можна пояснити гетерогенністю цитрулінових білків. Відзначимо, що за даними різних авторів, АЦЦП виявляли у 34–69,3% пацієнтів з РА, серонегативних за РФ (Schellekens G.A. et al. 1998, Suzuki K. et al., 2003). Це є свідченням безсумнівної діагностичної цінності цього серологічного маркера.

Отже, АЦЦП мають схожу з РФ чутливість при РА, і зарекомендували себе як найбільш специфічний маркер для цього захворювання. Цей тест особливо вагомий у сумнівних випадках або у серонегативних за РФ пацієнтів з підозрою на РА.

До інших антитіл, що володіють потенційним діагностичним та прогностичним значенням, належать антитіла до альфа-ендолази і антитіла «анти-Sa». Значення інших маркерів, таких як антитіла до РНП/Ra33, до важких ланцюгів зв'язуючого протеїну (p68), глюкозо-6-фосфатізомерази та описаних нещодавно антитіл до С-залишків амінокислот кальпастана, ще не вивчено (M.A. van Boekel, 2002).

Мета дослідження — визначити клініко-діагностичне значення рівня АЦЦП у сироватці крові у пацієнтів з РА різної тривалості захворювання.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження були включені 114 пацієнтів віком від 18 до 70 років. Після обстеження пацієнта відносили до однієї з 3 груп: 1-ша — 28 пацієнтів із

недиференційованим артритом (НДА) — персистувальним артритом, що на момент обстеження не відповідав діагностичним критеріям РА чи іншого ревматичного захворювання та потребував динамічного спостереження з метою уточнення діагнозу; 2-га група — 56 пацієнтів із раннім РА (тривалість захворювання ≤12 міс); 3-тя група — 30 пацієнтів із РА з тривалістю захворювання >12 міс. Детальну клінічну характеристику груп включених пацієнтів представлено у табл. 1.

Таблиця 1

Показник	Кількість пацієнтів, n (%)		
	Ранній РА (n=56)	НДА (n=28)	РА (n=30)
Жінки	43 (77)	22 (79)	24 (80)
Чоловіки	13 (23)	6 (21)	6 (20)
Вік, років	51,8±10,99	46,6±14,6	52,8±12,8
<30	3 (5)	4 (14)	3 (10)
30–39	4 (7)	8 (29)	6 (20)
40–49	14 (25)	7 (25)	8 (27)
50–59	23 (41)	4 (14)	7 (23)
>60	12 (21)	5 (28)	6 (20)
Тривалість симптомів, міс	5,8±2,8	3,7±1,8	69,6±36,7
Ступінь активності*			
0	1 (2)	1 (4)	—
I	6 (11)	3 (11)	4 (13)
II	35 (63)	17 (61)	17 (57)
III	14 (25)	7 (25)	9 (30)

*Ступінь активності визначали відповідно до критеріїв В.О. Насонові, М.Г. Астапенко.

Зваживши результати, отримані у дослідженні G. Schellekens та співавторів (1998), які запропонували використовувати для виявлення цієї групи антитіл метод ІФА, та дані F. van Gaalen та співавторів (2005), які продемонстрували більшу чутливість набору для ІФА другого покоління, було вирішено використовувати в нашому дослідженні саме його. Отже, визначення АЦЦП в сироватці крові пацієнтів проводили ІФА з використанням комерційного набору «Axies-Shield Diagnostic» (Великобританія) згідно з інструкцією виробника.

З метою виявлення чутливості та специфічності АЦЦП було набрано контрольну групу, яку становили 20 здорових осіб без будь-якої патології та скарг з боку опорно-рухового апарату, зіставні за віком і статтю з основними групами. Встановлено, що верхня межа норми у обстежених пацієнтів становила 5 од./мл, що відповідає рекомендаціям фірми-виробника.

Для визначення клініко-діагностичного значення вибраного серологічного маркера пацієнти перебували під динамічним спостереженням протягом 12 міс. Серед аналізованих параметрів проводили визначення оцінки інтенсивності болю пацієнтом за ВАШ, число болючих суглобів (ЧБС), число припухлих суглобів (ЧПС), суглобовий індекс Річі, тривалість ранкової скутості, DAS28, функціональний індекс HAQ.

Усі пацієнти підлягали проведенню ультрасонографічного дослідження (УСД) опорно-рухового апарату, яке виконували на апараті SONOLINE Omnia (Siemens) з лінійним датчиком 7,5L70 (частота 7,5 МГц) в режимі «ortho» із застосуванням стан-

дартного позиціонування датчика. Під час УСД проводили оцінку стану кісткових суглобових поверхонь (включаючи зміни поверхні субхондральної кістки — наявність кіст, ерозій, інших дефектів), оцінку суглобової щілини, синовіальної оболонки, навколосуглобових м'яких тканин, наявність випоту, кровотоку в синовії, змін зв'язкового апарату і деякі інші параметри.

Рентгенологічну стадію РА визначали за класифікацією Steibroker шляхом стандартної рентгенографії кистей та дистальних відділів стоп у прямої проєкції.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За даними проведеного дослідження позитивні результати щодо визначення АЦЦП сироватки крові (>5,0 од./мл) виявлено у 43 (77%) із 56 пацієнтів у групі раннього РА, у 26 (87%) із 30 у групі РА з тривалістю симптомів >12 міс та у 9 (32%) осіб із 28 у групі НДА (табл. 2).

Таблиця 2

Частота виявлення АЦЦП у групах обстежених пацієнтів та групи здорових донорів

Група	Кількість пацієнтів, n	Кількість пацієнтів з підвищеним рівнем АЦЦП, n (%)
РА >12 міс	30	26 (87)
Ранній РА	56	43 (77)
НДА	28	9 (32)
Здоровий контроль	20	0

Слід зазначити, що із 9 пацієнтів групи НДА, серопозитивних за АЦЦП, в ході подальшого спостереження 2 особи вибули з дослідження, а 7 пацієнтам, які продовжили дослідження, встановлено діагноз РА.

Згідно з отриманими даними частота виявлення АЦЦП в сироватці крові обстежених пацієнтів не залежала від тривалості симптомів артриту. У групі раннього РА при тривалості симптомів <3 міс концентрація АЦЦП була підвищена у 10 (77%) із 13 пацієнтів, при тривалості симптоматики 3–6 міс — у 19 (79%) з 24 пацієнтів, при терміні захворювання 6–12 міс — у 14 (74%) з 19 осіб відповідно.

Серед пацієнтів у групі НДА серопозитивність за АЦЦП виявлялася частіше при збільшенні тривалості симптомів артриту — у 3 (27%) з 11 при тривалості симптомів <3 міс, у 6 (46%) з 13 при тривалості симптомів захворювання 3–6 міс.

У 19 (68%) пацієнтів групи НДА рівень АЦЦП не перевищував норму (табл. 3). Із серопозитивних за результатами визначення АЦЦП пацієнтів цієї групи концентрацію >100 од./мл відзначали у 4 (44%) із 9 пацієнтів, що достовірно нижче порівняно з групою раннього РА — 32 (74%) з 43 ($\chi^2=3,97$; $p=0,045$) відповідно.

Таблиця 3

Ступінь підвищення концентрації АЦЦП у пацієнтів з раннім РА (n=56) та НДА (n=28)

Концентрація АЦЦП, од./мл	Ранній РА, n (%)	НДА, n (%)
<5	13 (23)	19 (68)
5–100	11 (20)	4 (14)
>100	32 (57)	5 (18)

У ході аналізу рівнів АЦЦП у підгрупах з різною тривалістю раннього РА, нами встановлено, що зростання концентрації АЦЦП не залежало від три-

валості симптомів РА. При тривалості процесу <3 міс концентрація АЦЦП становила 75,4±53,2 од./мл, при тривалості РА 3–6 міс — 73,0±55,1 од./мл, при РА тривалістю 6–12 міс — 77,4±56,7 од./мл, а при РА >12 міс — 79,6±42,2 од./мл. При цьому рівень концентрації АЦЦП у сироватці крові у пацієнтів з раннім РА був вищим порівняно з групою пацієнтів з НДА та групою здорових донорів, причому виявлена різниця була статистично достовірною (p<0,05 для обох порівнюваних груп) (табл. 4).

Таблиця 4

Група пацієнтів	M±m (медіана)
Ранній РА	73,3±53,4 (100)
РА >12 міс	79,6±42,2 (100)
НДА	25,1±41,8 (0,8)
Здорові донори	0,38±0,36 (0,2)

У подальшому за загальноприйнятною методикою на основі отриманих результатів проведення розрахунок чутливості та специфічності АЦЦП. Встановлено, що чутливість АЦЦП при РА з тривалістю >12 міс становила 93%, при ранньому РА — 77%. При включенні в групу пацієнтів з раннім РА 14 осіб з НДА, яким в ході спостереження встановлено діагноз РА, чутливість АЦЦП відчутно знизилась до 64%. У групі осіб із достовірним діагнозом РА незалежно від тривалості захворювання, а також 14 пацієнтів з НДА, яким в ході спостереження встановлено діагноз РА, чутливість АЦЦП становила 75%.

При визначенні специфічності з групи НДА було виключено 14 пацієнтів, яким в ході спостереження встановлено діагноз РА. При цьому специфічність АЦЦП при РА становила 94%.

Наступною частиною нашого дослідження було встановлення зв'язку концентрації АЦЦП з певними конституційними характеристиками пацієнтів, клінічними проявами та лабораторними параметрами активності РА. З цією метою обстежено 56 пацієнтів з раннім РА, 14 — з НДА, яким встановлено діагноз РА та 30 пацієнтів з РА з тривалістю симптомів >12 міс. Мета дослідження — встановлення залежності рівня АЦЦП у сироватці крові від статі, віку пацієнтів та клініко-лабораторних особливостей (позасуглобових проявів, кількісних характеристик суглобового синдрому, значення індексу DAS28; рівня ШОЕ тощо) РА.

За отриманими даними у чоловіків рівень АЦЦП перевищував норму в 87% випадків, у жінок — у 75,5% осіб (p=0,06). Середній рівень АЦЦП у чоловіків (85,6±53,2 од./мл) достовірно не відрізнявся від такого у групі осіб жіночої статі (73,5±49,7 од./мл). Оскільки виявлені відмінності не були статистично достовірними, це стало свідченням відсутності залежності рівня АЦЦП у сироватці крові від статі пацієнтів.

Результати аналізу впливу віку пацієнтів на значення рівня АЦЦП у сироватці крові свідчать, що середня концентрація АЦЦП найбільш висока у групі пацієнтів віком 40–60 років. Серед пацієнтів віком >60 років підвищення АЦЦП реєстрували рідше порівняно з групою пацієнтів віком 41–60 років ($\chi^2=4,13$; p=0,042), і рівень цього маркера був нижчим, хоч відмінність у концентрації не досяга-

ла статистично достовірних значень. Таким чином, зроблено висновок про відсутність кореляційного зв'язку між рівнем АЦЦП та віком пацієнтів. Детальні результати визначення концентрації АЦЦП у різних вікових групах наведено у табл. 5.

Таблиця 5

Вікова група, років	Кількість пацієнтів, n	АЦЦП, M±m	Кількість пацієнтів з підвищеним рівнем АЦЦП, n (%)
<30	8	56,5±44,4	5 (62,5)
30–39	13	62,9±55,5	9 (69)
40–49	25	70,8±58,4	17 (68)
50–59	32	74,2±48,7	26(81)
>60	22	54,2±56,5	13 (59)

Результати визначення залежності рівня АЦЦП у сироватці крові від основних параметрів активності та кількісних характеристик суглобового синдрому наведено у табл. 6.

Таблиця 6

Показник	Коефіцієнт кореляції Спірмена	p
ЧБС	0,06	0,59
ЧПС	0,01	0,95
Індекс Річі	0,13	0,24
Інтенсивність болю за ВАШ	0,06	0,59
Тривалість ранкової скрутості, хв	-0,2	0,87
Позасуглобові прояви	0,01	0,93
DAS 28	0,04	0,73
НАQ, балів	0,04	0,75
Виявлення випоту в суглобах при УСД	0,31	0,052

Як видно з отриманих нами даних, кореляції концентрації АЦЦП у сироватці крові з окремими клінічними ознаками (ЧБС, ЧПС, індекс Річі, інтенсивність болю за ВАШ тощо) у пацієнтів у групі раннього РА не виявлено, проте відзначено прямий кореляційний зв'язок з виявленням ознак наявності випоту в суглобах в ході УСД у пацієнтів з РА (r=0,31; p<0,01). Останній факт є свідченням наявності можливого взаємозв'язку між АЦЦП та інтенсивністю запалення.

При аналізі активності пацієнтів за допомогою індексу DAS28 було встановлено, що рівень АЦЦП був підвищений у 14 пацієнтів із 21 (67%) з I ступенем активності, у 30 із 37 пацієнтів (81%) з II ступенем активності та у 34 із 42 (80%) пацієнтів з III ступенем активності, що оцінювались відповідно за значенням DAS28, (p>0,05) для всіх порівнянь. Результати визначення середньої сироваткової концентрації АЦЦП в групах пацієнтів з РА з різними значеннями індексу DAS28 наведені у табл. 7.

Таблиця 7

Показник	Ступінь активності		
	низька (n=21)	середня (n=37)	висока (n=42)
АЦЦП, од./мл	55,1±54,5	60,6±52,4	66,8±56,8
p	>0,05	>0,05	>0,05

Отже, очевидно, що активність процесу при РА не впливає на середню концентрацію АЦЦП у сироватці крові цієї категорії пацієнтів, оскільки кореляції між рівнем АЦЦП у сироватці крові та показниками активності РА, визначеної за індексом DAS28, не виявлено.

Наступним етапом нашого дослідження було встановлення зв'язку частоти виявлення АЦЦП залежно від значень лабораторних показників обстежених пацієнтів. Отримані результати наведено у табл. 8.

Таблиця 8

Зв'язок між рівнем АЦЦП у сироватці крові та лабораторними показниками у пацієнтів з РА

Показник	Коефіцієнт кореляції Спірмена	p
ШОЕ, мм/год	0,08	0,47
СРП, мг/л	0,38	0,008
Гемоглобін, г/л	-0,09	0,46
Кількість лейкоцитів, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,1	0,35
Кількість тромбоцитів, $\cdot 10^9/\text{л}$	-0,02	0,84

На основі отриманих даних визначено, що рівень АЦЦП має кореляційний зв'язок лише з концентрацією СРП у сироватці крові ($p < 0,01$).

Взаємозв'язок частоти виявлення та середньої концентрації АЦЦП з деякими позасуглобовими проявами РА наведено у табл. 9.

Таблиця 9

Зв'язок рівня АЦЦП у сироватці крові з деякими клініко-лабораторними проявами РА

Показник	Кількість пацієнтів, n	АЦЦП, М \pm m	Кількість пацієнтів з підвищеним рівнем АЦЦП, n (%)	p
Позасуглобові прояви				
Наявні	37	71,4 \pm 52,5	30 (81)	0,92
Відсутні	63	63,8 \pm 55,8	48 (76)	
Ревматоїдні вузлики				
Наявні	19	68,7 \pm 52,6	16 (84)	0,98
Відсутні	81	64,4 \pm 55,2	62 (77)	
Ерозії (за даними УСД і рентгенографії)				
Наявні	29	75,3 \pm 54,1	25 (86)	0,32
Відсутні	71	64,4 \pm 52,7	53 (75)	
ШОЕ, мм/год				
<20	31	61,3 \pm 55,6	24 (77)	0,80
≥ 20	69	67,4 \pm 52,7	54 (78)	
СРП, г/л				
$\leq 10,0$	11	28,2 \pm 48,4	3 (27%)	0,03
$\geq 10,0$	89	76,1 \pm 47,2	75 (84%)	

Дані свідчать, що зв'язку між концентрацією і частотою виявлення АЦЦП та наявністю позасуглобових проявів взагалі, ревматоїдних вузликів та ерозій зокрема, не виявлено. Відсутній був і зв'язок між підвищенням рівня і концентрації АЦЦП та значенням показника ШОЕ у групах обстежених пацієнтів. У 3 (27%) з 11 осіб з нормальним рівнем СРП виявлено підвищення АЦЦП, а з 89 пацієнтів з підвищеним рівнем СРП — зростання рівня АЦЦП у сироватці крові виявлено у 75 (84%).

Таким чином, встановлено, що зв'язок між частотою виявлення та концентрацією АЦЦП і окремими клінічними та лабораторними ознаками РА відсутній. Частота виявлення та концентрація АЦЦП корелювали лише з рівнем СРП у сироватці крові. Зв'язку між рівнем АЦЦП у сироватці крові та активністю захворювання, що оцінювалася за індексом DAS28, не встановлено. Це підтверджує високу інформативність даного імунологічного маркера у діагностиці РА, а встановлений кореляційний зв'язок наводить на думку про можливість використання АЦЦП як маркера інтенсивності запалення.

Останнім часом значна кількість досліджень присвячена вивченню клінічної та діагностичної ролі АЦЦП (Goldbach-Mansky R. et al., 2000; Lee D., Schur P., 2003; Pinheiro G.C. et al., 2003; Saraux A. et al., 2003; Zeng X. et al., 2003; Bombardieri M. et al., 2004; De Rycke L. et al., 2004; Dubucquoi S. et al., 2004; Vallbracht I. et al., 2004; van Gaalen F.A. et al., 2005), в ході яких доведена певна роль цитрулінових пептидів у патогенезі РА, а виявлення антитіл до них описується як маркер несприятливого перебігу захворювання. Серед найбільш фундаментальних досліджень цього питання варто виділити такі роботи: K. Suzuki та співавтори (2003), які виявили кореляцію між АЦЦП і такими показниками активності, як ШОЕ, СРП; I. Vallbracht та співавтори (2004) продемонстрували частоту виявлення АЦЦП у пацієнтів з різною активністю захворювання (при високій активності РА АЦЦП визначали у 81,4% випадків, а при низькій — у 58,5% випадків).

За даними проведеного нами дослідження встановлено, що частота виявлення АЦЦП при ранньому РА становила 77%. Цей показник дещо перевищує результати, отримані в інших роботах: згідно з даними досліджень інших авторів частота виявлення АЦЦП у хворих на ранній РА (тривалість захворювання ≤ 2 років) становила від 35 до 70% (Lee D., Schur P., 2003; Saraux A. et al., 2003; Zeng X. et al., 2003; Vallbracht I. et al., 2004; van Gaalen F.A. et al., 2005). За нашими даними при тривалості РА > 12 міс позитивними за АЦЦП були 87% хворих. Нами проведено порівняння отриманих даних з результатами інших досліджень, присвячених вивченню цього питання у пацієнтів з різною тривалістю РА (Goldbach-Mansky R. et al., 2000; Bizzaro N. et al., 2001; Bas S. et al., 2002; Lee D., Schur P., 2003; Saraux A. et al., 2003; Suzuki K. et al., 2003; Zeng X. et al., 2003; Bombardieri M. et al., 2004; De Rycke L. et al., 2004; Dubucquoi S. et al., 2004; Vallbracht I. et al., 2004), згідно з результатами яких частота виявлення АЦЦП становила від 43 до 88%. Отримання нами більш високих значень зумовлене використанням набору другого покоління ІФА для визначення АЦЦП.

За даними дослідження K. Suzuki та співавторів (2003), а також X. Zeng та співавторів (2003), які аналізували частоту виявлення АЦЦП у пацієнтів із раннім РА та РА тривалістю > 12 міс; різниця при РА тривалістю < 12 міс та > 12 міс була незначною (84 та 88%, а також 43 та 47% відповідно). Більш виражену різницю між двома групами пацієнтів з РА, виявлену нами, можна пояснити тим, що групу з більшою тривалістю РА становили пацієнти з високою клініко-лабораторною активністю та вираженою суглобовою деструкцією. Це повністю відповідає результатам дослідження G. Pinheiro та співавторів (2003), які встановили, що АЦЦП виявляють в середньому у 80% хворих на РА тривалістю в середньому 12 років і корелюють з активністю захворювання.

Результатами багатьох досліджень доведено, що основною перевагою АЦЦП перед РФ є висока специфічність (Goldbach-Mansky R. et al., 2000; Bizzaro N. et al., 2001; Bas S. et al., 2002; Lee D., Schur P., 2003; Saraux A. et al., 2003; Suzuki K. et al., 2003; Zeng X. et al., 2003; Bombardieri M. et al., 2004; De Rycke L. et al., 2004; Dubucquoi S. et al., 2004;

Vallbracht I. et al., 2004). За даними різних авторів значення специфічності АЦЦП становить від 89 до 98%. За результатами нашого дослідження специфічність АЦЦП становить 94%, що відповідає діапазону результатів отриманих в інших дослідженнях.

У дослідженні К. Suzuki та співавторів (2003) виявлено кореляцію АЦЦП з рівнями СРП, що свідчить про можливий зв'язок АЦЦП з активністю запалення. У дослідженні I. Vallbracht та співавторів (2004) позитивність за АЦЦП теж виявляли достовірно частіше у разі високої активності захворювання (81,4%) порівняно з низькою (58,5%) при оцінці за допомогою критеріїв АКР.

Під час нашого дослідження також виявлено кореляцію між рівнями АЦЦП та СРП у сироватці крові. Це дає можливість використовувати АЦЦП не лише як діагностичний показник, а також як показник активності запалення та прогностичного маркера. Однак це потребує проведення подальших досліджень.

За результатами нашого спостереження не встановлено зв'язку між АЦЦП та наявністю кісткових ерозій. Це не відповідає результатам дослідження S. Vas та співавторів (2003), які виявили вищу частоту виявлення АЦЦП серед пацієнтів із вираженою кістковою деструкцією. Таку відмінність у результатах можна пояснити тим, що при ранньому РА кісткові ерозії наявні у незначній кількості пацієнтів (16%).

Таким чином, на основі отриманих результатів можна зробити висновок, що використання АЦЦП із врахуванням їх високої чутливості та специфічності для ранньої діагностики РА є виправданим. А беручи до уваги відсутність зв'язку АЦЦП з тривалістю захворювання, статтю та віком пацієнтів, більшістю клінічних проявів та лабораторних параметрів, активністю захворювання, цінність визначення АЦЦП при ранньому РА зростає, особливо при атиповому перебігу процесу чи у складних диференційно-діагностичних випадках.

ВИСНОВКИ

На підставі результатів визначення рівня АЦЦП у сироватці крові пацієнтів з раннім РА, НДА та РА тривалістю захворювання >12 міс можна стверджувати, що ця група антитіл є високочутливим діагностичним маркером, в тому числі на ранньому етапі розвитку захворювання. За нашими даними серопозитивними за АЦЦП були 87% пацієнтів з РА тривалістю >12 міс, 77% — з раннім РА та 32% — з НДА ($p < 0,001$). Визначено, що чутливість АЦЦП при РА різної тривалості становить 75%, а специфічність 94%. Під час динамічного спостереження всім пацієнтам групи НДА ($n=9$) з позитивними результатами визначення АЦЦП встановлено діагноз РА. Це свідчить про цінність цього показника у диференційній діагностиці ревматичних захворювань.

АЦЦП — відносно об'єктивний серологічний маркер РА, оскільки не має кореляційного зв'язку з конституційними особливостями пацієнтів (віком, статтю), окремими клінічними проявами захворювання (ЧБС, ЧПС, індексом Річі, тривалістю ранкової скруті, оцінкою інтенсивності болю за ВАШ, наявністю позасуглобових проявів, тощо), лабора-

торними показниками (рівнем гемоглобіну, лейкоцитів, ШОЕ), а також з активністю процесу. Це значно підвищує діагностичну цінність зазначеного імунологічного маркера.

Наявність кореляційного зв'язку концентрації АЦЦП у сироватці крові з ознаками наявності випоту в суглобах у пацієнтів з РА ($r=0,31$; $p < 0,01$) за даними УСД та рівнями СРП у сироватці крові ($r=0,38$; $p < 0,01$) свідчить про можливий зв'язок цієї групи антитіл з інтенсивністю запалення. Це може свідчити про можливість використання АЦЦП не лише як діагностичного маркера РА, а також як показника інтенсивності запалення.

ЛІТЕРАТУРА

- Коваленко В.М. (ред.)** (2005) Сучасний стан здоров'я народу та напрямки його покращення в Україні. Київ, 140 с.
- Насонов Е.Л., Штутман В.З., Сперанский А.И.** (1993) Антиперинуклеарный фактор и антитела к кератину: новые серологические маркеры ревматоидного артрита. Клин. ревматология, 2: 20–24.
- Atkinson J.C., Travis W.D., Slocum L. et al.** (1992) Serum anti-SS-B/La and IgA rheumatoid factor are markers of salivary gland disease activity in primary Sjogren's syndrome. Arth. Rheum., 35: 1368–1372.
- Bas S., Perneger T.V., Mikhnevitch E. et al.** (2000) Association of rheumatoid factors and anti-fillagrin antibodies with severity of erosions in rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford), 39: 1082–1088.
- Bizzaro N., Mazzanti G., Tonutti E. et al.** (2001) Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. Clin. Chem., 47(6): 1089–1093.
- Bombardieri M., Alessandri C., Labbadia G., et al.** (2004) Role of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in discriminating patients with rheumatoid arthritis from patients with chronic hepatitis C infection-associated polyarticular involvement. Arth. Res. Ther., 16(2): 137–141.
- Buckley C.D.** (1997) Science, medicine and the future. Treatment of rheumatoid arthritis. BMJ, 315: 236–238.
- Chapuy-Regaud S.M., Sebagg M., Baeten D. et al.** (2005) Fibrin deimination in synovial tissue is not specific for rheumatoid arthritis but commonly occurs during synovitides. J. Immunol., 174: 5057–5064.
- Del Puente A., Knowler W.C., Pettitt D.J. et al.** (1988) The incidence of rheumatoid arthritis is predicted by rheumatoid factor titer in a longitudinal population study. Arth. Rheum., 31: 1239–1244.
- Dubucquoi S., Solau-Gervais E., Lefranc D. et al.** (2004) Evaluation as hallmarks for the diagnosis of rheumatic diseases. Ann. Rheum. Dis., 63: 415–419.
- De Rycke L., Peene I., Hoffman I.E. et al.** (2004) Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations. Ann. Rheum. Dis., 63: 1587–1593.
- Eberhardt K.B., Svensson B., Truedson I. et al.** (1988) The occurrence of rheumatoid factor isotypes in early definite rheumatoid arthritis. J. Rheumatol., 15: 1070–1074.
- Eggelmeijer F., Otten H.G., de Rooy H.H. et al.** (1990) Significance of rheumatoid factor in seronegative rheumatoid arthritis. Rheumatol., 10: 43–46.
- Goldbach-Mansky R., Lee J., McCoy A. et al.** (2000) Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. Arth. Res., 2: 236–243.
- Genevay S., Hauem G., Verpillat P. et al.** (2002) An eight year prospective study of outcome prediction by antiperinuclear factor and antikeratin antibodies at onset of rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis., 61: 734–736.
- Harris E.D.** (1990) Rheumatoid arthritis. Pathophysiology and implications for therapy. New Eng. J. Med., 322: 1277–1289.
- Houssien D.A., Jonsson T., Davies E., Scott D.L.** (1998) Rheumatoid factor isotypes, disease activity and the outcome of rheumatoid arthritis: comparative effects of different antigens. Scand. J. Rheumatol., 27: 46–53.

Lee D., Schur P. (2003) Clinical utility of the anti-CCP assays in patients with rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.*, 62: 870–874.

Masson-Bessier C., Sebbag M., Girbal-Neuhauser E. et al. (2003) The major synovial targets of rheumatoid arthritis-specific antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the alpha- and beta-chains of fibrin. *J. Immunol.*, 166: 4177–4184.

Menard H.A., Lapointe E., Rochdi M.D. et al. (2000) Insights into rheumatoid arthritis derived from the Sa immune system. *Arthritis. Res.*, 2: 429–432.

Nienhuis R.L.F., Maudema E.A. (1964) A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The antiperinuclear factor. *Ann. Rheum. Dis.*, 23: 302–305.

Paimela L., Gripenberg M., Kurki P. et al. (1992) Antikeratin antibodies: diagnostic and prognostic markers for early rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 51: 743–746.

Pinheiro G.C., Scheinberg M.A., Aparecida da Silva M. et al. (2003) Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in advanced rheumatoid arthritis. *Ann. Intern. Med.*, 39(3): 234–235.

Saraux A., Berthelot J.M., Devauchelle V. et al. (2003) Value of antibodies to citrulline-containing peptides for diagnosing early rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 30(12): 2535–2539.

Schellekens G.A., de Jong B.A., van den Hoogen F.H. et al. (1998) Citrulline is an essential constituent of antigenic determinations recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J. Clin. Invest.*, 101(1): 273–281.

Suzuki K., Sawada T., Murakami A. et al. (2003) High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 32(4): 197–204.

Swedler W., Wallman J., Froelich C.J. et al. (1997) Routine measurement of IgM, IgG, IgA rheumatoid factors: high sensitivity, specificity, and predictive value for rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 24: 1037–1044.

Tuomi T. (1989) Which antigen to use in the detection of rheumatoid factors? Comparison of patients with rheumatoid arthritis and subjects with false positive rheumatoid factors reactions. *Clin. Exp. Immunol.*, 77: 349–355.

Vallbracht I., Rieber J., Oppermann M. et al. (2004) Diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 63(9): 1079–1084.

van Boekel M.A., Vossenaar E.R., van den Hoogen F.H. et al. (2002) Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arth. Res.*, 4(2): 87–93.

van Gaalen F.A., Visser H., Huizinga T.W. (2005) A comparison of the diagnostic accuracy and prognostic value of the first- and second anti-cyclic citrullinated peptide autoantibody (CCP1 and CCP2) tests for rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, online 30 Mar 2005.-doi 10.1136/ard.2004.035089.

van Gaalen F.A., Linn-Rasker S.P., van Venrooij W.J. et al. (2004) Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression of rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arth. Rheum.*, 50: 709–715.

van Zeben D., Breedveld F.C. (1996) Prognostic factors in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 44: 31–33.

Vossenaar E.R., Nijenhuis S., Helsen M.M. et al. (2003) Citrullination of synovial proteins in murine models of rheumatoid arthritis. *Arth. Rheum.*, 48(9): 2489–2500.

Vossenaar E.R., van Venrooij W.J. (2004) Citrullinated proteins: sparks that may ignite the fire in rheumatoid arthritis. *Arth. Res.*, 6: 107–111.

Vossenaar E.R., Radstake T.R.D., van der Heijde A. et al. (2004) Expression and activity of citrullinating peptidylarginine deiminase enzymes in monocytes and macrophages. *Ann. Rheum. Dis.*, 63: 373–381.

Witte T., Hartung K., Sachse C. et al. (2000) Rheumatoid factors in systemic lupus erythematosus: associations with clinical and laboratory parameters/ SLE study group. *Rheumatol. Int.*, 19(3): 107–111.

Wolfe F., Hawley D.J., Cathey M.A. (1991) Clinical and health status measures over time: prognosis and outcome measures assessment in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 18: 190–197.

Young B.J., Mallya R.K., Leslie R.D. et al. (1979) Anti keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br. Med. J.*, 2: 97–99.

Xiaofeng Zeng, Maixing Ai, Xiping Tian et al. (2003) Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 30: 1451–1455.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АНТИТЕЛ К ЦИКЛИЧЕСКОМУ ЦИТРУЛИНОВОМУ ПЕПТИДУ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

О.П. Борткевич, Ю.В. Белявская

Резюме. С целью определения клинико-диагностического значения антител к циклическому цитрулиновому пептиду (АЦЦП) обследовано 114 пациентов: 86 больных ревматоидным артритом разной продолжительности и 28 пациентов с недифференцированным артритом. Установлена высокая чувствительность и специфичность АЦЦП, доказана его объективность в диагностике РА. Выявленная коррелятивная связь АЦЦП с уровнем С-реактивного протеина в сыворотке крови и наличием выпота по данным ультрасонографического исследования свидетельствует о возможности использования указанного серологического маркера в качестве показателя интенсивности воспаления.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, недифференцированный артрит, антитела к циклическому цитрулиновому пептиду.

CLINICAL AND DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF ANTI-CYCLIC CITRULLINATED ANTIBODY IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS OF DIFFERENT DURATION

O.P. Bortkevych, Y.V. Biliavska

Summary. 114 patients among them 86 persons with rheumatoid arthritis of different duration and 28 patients with undifferentiated arthritis were examined in order to evaluate clinical and diagnostic significance of anti-cyclic citrullinated antibody (anti-CCP). High level of anti-CCP sensitivity and specificity was established and its objectivity in the diagnostic of rheumatoid arthritis was proved. Correlative relation between serum C-reactive protein level and signs of exudation on the base of ultrasonographic investigation was also determined. This relation affirm the possibility of this marker usage as an inflammation intensity index.

Key words: rheumatoid arthritis, undifferentiated arthritis, anti-cyclic citrullinated antibodies.

Адреса для листування:

Білявська Юлія Вікторівна
03151, Київ, вул. Народного ополчення, 5
Національний науковий центр
«Інститут кардіології ім. М.Д. Стражеска»
АМН України