

Przydatność oceny wybranych markerów immunologicznych w diagnostyce młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów

Diagnostic value of selected immunological markers in children with JIA

JOANNA LIPIŃSKA ^{1/}, ELŻBIETA SMOLEWSKA ^{1/}, HENRYKA BRÓZIK ^{1/}, KRYSZYNA WYKA ^{2/}, JERZY STAŃCZYK ^{1/}

^{1/} Klinika Kardiologii Dziecięcej Katedry Pediatrii UM w Łodzi, Poradnia Reumatologiczna SP ZOZ Uniwersytecki Szpital Kliniczny Nr 4 im. Marii Konopnickiej UM w Łodzi, ul. Sporna 36/50, 91-738 Łódź

^{2/} Pracownia Immunopatologii Kliniki Chorób Dzieci Katedry Pediatrii UM w Łodzi, SP ZOZ Uniwersytecki Szpital Kliniczny Nr 4 im. Marii Konopnickiej UM w Łodzi

Cel pracy. Celem pracy była ocena przydatności przeciwciał anti-CCP, czynników reumatoidalnych klas IgM, IgG i IgA oraz przeciwciał AKA, ANA w diagnostyce młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów (MIZS).

Material i metody. W 79 próbkach surowic krwi i 17 płynów stawowych uzyskanych od pacjentów z MIZS w różnym okresie choroby, oznaczono CCP i RF klas IgM, IgG i IgA – oraz AKA i ANA. Grupę odniesienia stanowiło 22 zdrowych dzieci. Obliczono czułość i swoistość ww. markerów oraz badano korelacje przeciwciał z czasem trwania, postacią i aktywnością procesu reumatoidalnego.

Wyniki. Przy progowej wartości anti-CCP wynoszącej 203 RU, czułość testu wynosiła 56%, a swoistość – 100%. Anti-CCP występowały w seropozytywnych, jak i seronegatywnych surowicach dzieci z MIZS, we wszystkich 3 postaciach choroby, niezależnie od czasu jej trwania. Markery te były obecne w 67% przypadków już we wczesnym okresie choroby. RF-IgG wykazywał nieznacznie wyższą czułość (57%) i niższą swoistość (95,5%). W przeciwieństwie do anti-CCP, które nie występowały w grupie odniesienia, RF-IgG obecny był u 4,5% dzieci zdrowych. Inne oznaczane markery (RF-IgM, -IgA, AKA i ANA) miały niższą swoistość i zdecydowanie mniejszą czułość. Anti-CCP i RF-IgG wykazywały dodatnią korelację z aktywnością procesu reumatoidalnego. W płynach stawowych najczęściej wykrywano RF-IgG.

Wnioski. Przeciwciała anti-CCP charakteryzujące się 100% swoistością dla MIZS mogą być pomocne w ustaleniu rozpoznania już we wczesnych stadiach choroby. Dużą przydatność diagnostyczną posiada również RF-IgG. RF-IgM, RF-IgA, AKA i ANA mają jedynie znaczenie pomocnicze. Anti-CCP i RF-IgG korelują z aktywnością MIZS. W trudnych diagnostycznie przypadkach pomocne może być jednoczesne oznaczanie kilku autoprzeciwciał.

Alergia Astma Immunologia, 2005, 10(2), 75-82

Słowa kluczowe: młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów, przeciwciała anti-CCP, przeciwciała ANA, przeciwciała AKA, klasyczny czynnik reumatoidalny, czynnik reumatoidalny klasy IgG, IgA

Aim of the study. To assess the diagnostic value of anti-CCP, AKA, ANA and IgM, IgG and IgA rheumatoid factors (RF) in a cohort of patients with juvenile idiopathic arthritis (JIA).

Material and methods. In 79 sera and 17 synovial fluid samples from patients with JIA taken at different time of disease course the following parameters analyzed: CCP, IgM-RF, IgG-RF, IgA-RF ELISA and for AKA and ANA. All autoantibodies were also tested in sera of 22 sex-, and age-matched healthy children. Correlations between anti-CCP, other autoantibodies and disease characteristics were determined.

Results. At a cut-off value of 203 RU for anti-CCP, sensitivity was 56% and specificity – 100%. Anti-CCP were present in IgM-RF positive, as well as, negative sera, in all 3 subtypes of JIA and in 67% children with early stadium of JIA. IgG-RF had a slightly higher sensitivity (57%), and lower specificity (95,5%) – it was present in 4,5% healthy children. The sensitivity and specificity of IgM- and IgA-RF, AKA and ANA was low. We found a positive correlation of anti-CCP and IgG-RF with disease activity. In synovial fluid the most frequently found marker was RF-IgG.

Conclusions. With their excellent specificity, anti-CCP antibodies followed by RF-IgG can be useful in establishing the diagnosis of JIA even in early stadium of the disease. Moreover, anti-CCP and IgG-RF are good markers of disease activity. IgM-RF, IgA-RF, AKA and ANA presented only additional diagnostic value. In difficult diagnostic cases it could be useful to assay all those autoantibodies simultaneously.

Alergia Astma Immunologia, 2005, 10(2), 75-82

Key words: juvenile idiopathic arthritis, anti-CCP antibodies, IgM, IgG, IgA rheumatoid factor, anticytokeratin antibodies (AKA), antinuclear antibodies (ANA)

Obraz kliniczny młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów (MIZS) ze względu na brak patognomicznych objawów i różne typy początków choroby, często bywa niejednoznaczny. Szczególne trudności diagnostyczne występują we wczesnym okresie procesu reumatoidalnego. W MIZS występuje niewielka liczba auto-przeciwciał o ustalonym znaczeniu diagnostycznym [1]. Nadal głównym markerem serologicznym tej choroby pozostaje klasyczny czynnik reumatoidalny (RF-IgM) [1,2,3,4]. Jednak u dzieci z MIZS występuje on w niewielkim odsetku (20-30%) [3,5]. W początkowym okresie choroby RF-IgM wykrywany jest zaledwie w 4-14% przypadków [6,7,8]. Innymi rutynowo oznaczanymi markerami serologicznymi w MIZS są przeciwciała przeciwjądrowe (ANA) [2,3,9]. Jednak ANA, podobnie jak RF-IgM, nie są autoprzeciwciałami patognomicznymi dla procesu reumatoidalnego [10,11]. Trudności diagnostyczne powodują późne wdrożenie odpowiedniej farmakoterapii, hamującej proces zapalny, co pogarsza rokowanie. Stale trwają poszukiwania nowych wskaźników laboratoryjnych, które występowałyby już w początkowym okresie MIZS, charakteryzowały się wysoką swoistością i czułością oraz umożliwiły szybkie ustalenie rozpoznania. W piśmiennictwie, dotyczącym głównie dorosłych pacjentów z RZS, pojawiają się doniesienia wskazujące na przydatność oznaczania nowych markerów immunologicznych, określanych przeciwciałami antykeratynowymi [6,7,8]. W literaturze występują one pod różnymi nazwami: przeciwciała antycytkeratynowe (AKA – *antikeratin antibodies*), antyfilagrynowe (AFA – *antifilaggrin antibodies*), czynnik antyperinuklearny (APF – *antiperinuclear factor*) czy przeciwciała dla cyklicznego cytrulinowanego peptydu – antycytrulinowe (anty-CCP) [12,13,14]. Według piśmiennictwa są one obecne w surowicy już we wczesnych stadiach choroby, nawet jeszcze przed wystąpieniem objawów klinicznych (do 34% przypadków) oraz korelują z jej aktywnością [10,15,16]. AKA i APF, ze względu na trudności w interpretacji wyników, nie znalazły praktycznego zastosowania w diagnostyce MIZS czy RZS [7,10,12]. Bardziej obiecujące wydają się przeciwciała antycytrulinowe (anty-CCP). Autorzy podkreślają ich wysoką swoistość (96-98%) i czułość przekraczającą 60% [10,14,17,18]. Obecności przeciwciał anty-CCP nie stwierdza się w innych jednostkach chorobowych ani u osób zdrowych [4].

Celem naszej pracy była ocena częstości występowania autoprzeciwciał anty-CCP, czynników reumatoidalnych klas IgM, IgG i IgA oraz AKA i ANA w surowicy krwi i płynie stawowym dzieci chorych na MIZS oraz określenie ich przydatności diagnostycznej. Ponadto, podjęta została próba korelacji obecności w/w przeciwciał z czasem trwania, postacią choroby i aktywnością procesu reumatoidalnego.

PACJENCI I METODY

Badaniami objęto 79 pacjentów z MIZS, hospitalizowanych w latach 2003-2004 w Klinice Kardiologii Dziecięcej Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Rozpoznanie ustalono na podstawie kryteriów z Durbanu z 1997 roku [1]. Wiek pacjentów wahał się od 3 do 18 lat (średnio 12,8±4 lata). Ponad połowa grupy badanej to dzieci w wieku 7-14 lat (53%), przewagę stanowiły dziewczęta (62%). Ze względu na typ początku choroby (określony przez pierwsze 6 miesięcy choroby), pacjentów z MIZS podzielono na trzy podgrupy: z postacią wielostawową, skąpostawową i układową. Największą część grupy badanej stanowiły dzieci z wielostawową postacią MIZS (48%). Ponadto uwzględniono czas trwania choroby oraz aktywność procesu reumatoidalnego, którą określono według stosowanych w reumatologii dziecięcej kryteriów Wilkoszewskiego i wsp. Kryteria te obejmują objawy kliniczne ogólne, dotyczące stawów oraz laboratoryjne wskaźniki „ostrej fazy”: OB, CRP, MPT. Na ich podstawie wyróżnia się aktywność choroby znaczną, średnią i niską [19]. Dzieci z MIZS i krótkim wywiadem klinicznym, czyli we wczesnej fazie choroby (pierwsze objawy wystąpiły w okresie krótszym niż 6 miesięcy do momentu wykonania oznaczeń), stanowiły 23% grupy badanej. U ponad połowy dzieci chorych proces reumatoidalny wykazywał niską aktywność (53%) (tabela I).

Grupę odniesienia stanowiło 22 zdrowych dzieci (bez układowych chorób tkanki łącznej i innych procesów zapalnych), odpowiednio dobranych pod względem wieku i płci, hospitalizowanych w Klinice z powodu zaburzeń rytmu serca lub omdleń.

Tabela I. Charakterystyka grupy badanej

Ogółem badanych	n	%		
pleć:				
dziewczynki	49	62		
chłopcy	30	38		
rozkład wieku:				
<7lat	10	13		
7-14 lat	42	53		
>14 lat	27	34		
czas trwania choroby:				
< 6 miesięcy	18	} 45	} 23	} 57%
6-12 miesięcy	27			
> 12 miesięcy	34			
postać MIZS:				
skąpostawowa	31	39		
wielostawowa	38	48		
układowa	10	13		
aktywność procesu:				
znaczna	22	28		
średnia	15	19		
mała	42	53		

Materiał do badań stanowiło 79 próbek surowic i 17 próbek płynów stawowych uzyskanych od pacjentów z MIZS oraz 22 próbki surowic dzieci z grupy odniesienia. Krew do oznaczeń, w ilości 2-3 ml, pobierano na skrzep, przy okazji wykonywania rutynowych badań laboratoryjnych. Następnie, po odwirowaniu, surowicę zamrażano do czasu wykonania oznaczeń. Płyn stawowy uzyskiwano podczas wykonywania punkcji diagnostycznej lub przy dostawowym podawaniu leków. U wszystkich dzieci z MIZS jednocześnie oznaczano morfologię krwi obwodowej z rozmazem i liczbą płytek krwi oraz wskaźniki procesu zapalnego (OB, CRP). W surowicy i uzyskanych próbkach płynu stawowego oznaczano przeciwciała anti-CCP, czynniki reumatoidalne klas IgM, IgG i IgA, przeciwciała AKA i ANA.

Przeciwciała anti-CCP wykrywane były testem ELISA, przy użyciu komercyjnych zestawów diagnostycznych (EUROIMMUN Poland S.A.). Oznaczenia czynników reumatoidalnych klas IgM, IgG, IgA przeprowadzono testem ELISA przy zastosowaniu standardowych zestawów (BIOMEDICA Polska Sp. z o.o.). Występowanie przeciwciał AKA badano metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF), na skrawkach nabłonka błony śluzowej przełyków szczurzych (odczynniki firmy EUROIMMUN Poland S.A.). Fluorescencję obserwowano pod mikroskopem fluorescencyjnym LUMAR (Carl Zeiss Jena), pod 300-krotnym powiększeniem. Wyniki testu uznawane były za pozytywne przy mianie $\geq 1:20$. Przeciwciała ANA oceniano również metodą IIF, na komórkach Hep2 utrwalanych etanolem (odczynniki firmy EUROIMMUN Poland S.A.), z użyciem tego samego mikroskopu. Za znaczące uznawano miano przeciwciał ANA $\geq 1:320$. Wszystkie oznaczenia wykonywano dwukrotnie.

Do oceny rozkładów wartości stężeń przeciwciał wykorzystano test Schapiro-Wilka. Różnice statystyczne oceniano testem Fischera, do oceny korelacji zastosowano

test korelacji rang Spearmana i U-Manna Whitney oraz ANOVA rang Kruskala-Wallisa. Za statystycznie istotną przyjęto wartość $p < 0,05$.

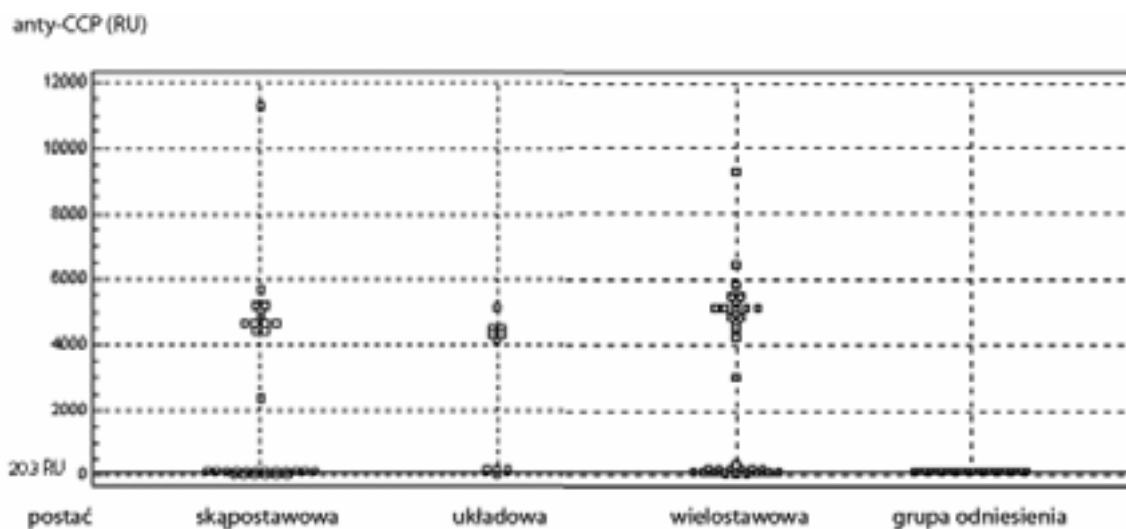
W związku ze znikomą liczbą badań dotyczących znaczenia przeciwciał anti-CCP w MIZS i brakiem danych literaturowych dotyczących norm u dzieci, najkorzystniejszą diagnostycznie wartością progową wyznaczono na podstawie krzywej ROC (ang. *receiver operating characteristic*). Tę metodę zastosowano również dla RF-IgG. Następnie, dla każdej wartości progowej obliczano czułość, swoistość oraz wartość predykcyjną dodatnią (PPV) i ujemną (NPV) wg odpowiednich wzorów. Ponadto, dla tych dwóch autoprzeciwciał określono OR (ang. *Odds Ratio*). Istotność statystyczną oceniano testem niezależności χ^2 . W oparciu o obliczone parametry utworzono wykres zależności czułości od wartości (100 – swoistość). Wykres ten – krzywa ROC – posłużył do oceny zdolności rozdzielczej testów diagnostycznych. Pole pod krzywą ROC – AUC (ang. *area under curve*) było sprawdzianem zdolności rozdzielczej testu. Dla metody idealnie różnicującej AUC wynosi 1,00. Im AUC bliższe jedności, tym test jest bardziej efektywny.

Za optymalną wartość graniczną dla anti-CCP uznano stężenie ≥ 203 RU. Dla czynnika reumatoidalnego klasy IgG wartość progowa określona również na podstawie krzywej ROC wynosiła ≥ 1384 RU.

Krzywa ROC nie znalazła zastosowania dla RF-IgM i -IgA, dlatego, za stężenia progowe w tych przypadkach, uznano wartość średniej w grupie kontrolnej +2SD. Dla RF-IgM za wartość progową stężenia przyjęto ≥ 3116 RU, a dla RF-IgA ≥ 1461 RU.

Do analiz wykorzystano licencjonowany program komputerowy MedCalc wersja 6.14. i Statistica 6.0.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej UM w Łodzi nr RNN/36/03/KE.

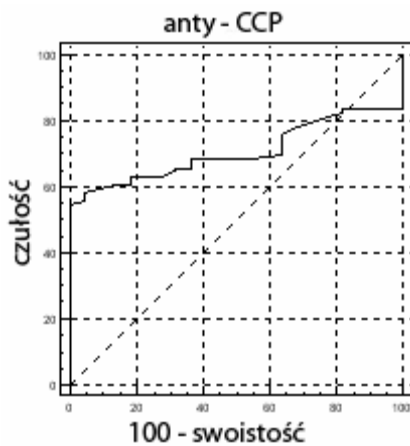


Ryc. 1. Anti-CCP – rozkład wartości w MIZS w zależności od postaci choroby i w grupie odniesienia (s – postać skąpostawowa; u – postać układowa; w – postać wielostawowa; k – grupa odniesienia); wartość progowa = 203RU

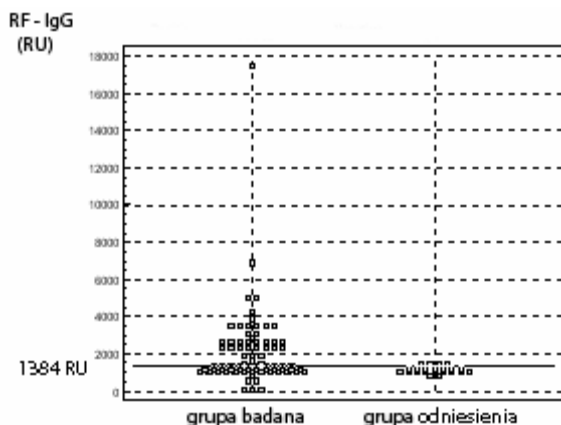
WYNIKI

Posługując się wyznaczonymi normami, dodatnie wartości anty-CCP zaobserwowano u ponad połowy grupy chorych dzieci – 44/79 (56%) i u żadnego pacjenta z grupy porównawczej. Z podobną częstością marker ten występował u dzieci z krótkim wywiadem klinicznym (<6 miesięcy) – 12/18 (67%), jak i w przypadku, kiedy choroba trwała dłużej niż rok – 23/34 (68%). Częstość wykrywania anty-CCP w zależności od poszczególnych postaci MIZS przedstawiała się następująco: w postaci wielostawowej – u 58% pacjentów, skąpostawowej – u 45%, układowej – u 80% (ryc.1). Najwyższy odsetek dodatnich przeciwciał (77%) stwierdzano u dzieci z wysoką aktywnością procesu reumatoidalnego. Czulość anty-CCP wynosiła 56%, a swoistość – 100%. Pole pod krzywą ROC – AUC obliczono na 0,71 (CI 0,61-0,79) (ryc.2). OR miało wartość przekraczającą 56 (CI 3,3-962,6). W związku ze 100% swoistością nie określano wartości predykcyjnej dodatniej, natomiast ujemna (NPV) wynosiła 0,46.

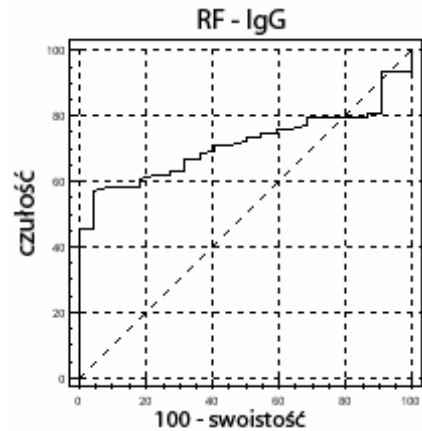
W przypadku czynnika reumatoidalnego klasy IgG dodatnie wyniki uzyskano u 57% (46/79) dzieci z grupy badanej i 4,5% (1/22) z grupy odniesienia (ryc.3). Podobnie jak w przypadku anty-CCP, RF-IgG był obecny w wy-



Ryc. 2. Krzywa ROC dla anty-CCP



Ryc. 3. Rozkład wartości RF-IgG w grupie badanej i odniesienia; wartość progowa=1384 RU



Ryc. 4. Krzywa ROC dla RF-IgG

sokich odsetkach zarówno we wczesnej (12/18=67%), jak i późnej fazie choroby (23/34=68%). W postaci wielostawowej i układowej występował on częściej, odpowiednio: 24/38 (63%) i 6/10 (60%) niż w skąpostawowej – 16/31 (52%). Przy znacznej aktywności procesu zapalnego RF-IgG był obecny u 77% (17/22) dzieci, a w miarę zmniejszania się jej wykrywano go coraz rzadziej, do 45% u dzieci (19/42) z niską aktywnością choroby. Czulość RF-IgG wynosiła 57%, a swoistość 95,5%. Pole pod krzywą ROC – AUC (95% CI) określono na 0,72 (CI 0,62-0,8) (Ryc.4), a OR – 28 (CI 3,6-217). Wartość predykcyjna ujemna (NPV) była równa 0,45, dodatnia (PPV) – 12,53.

Czynnik reumatoidalny klasy RF-IgM wykryto u 12/79 (15%) dzieci z grupy badanej i 1/22 (4,5%) z grupy porównawczej. Częstość występowania tego markera wzrastała wraz z czasem trwania choroby (od 11 do 18%) i była najwyższa u chorych z postacią wielostawową – 9/38 (24%), a najniższa w postaci skąpostawowej, gdzie wykryto go tylko u 2/31 (6,5%) dzieci. W zależności od aktywności procesu częstość występowania RF-IgM wahała się od 13% (przy średniej aktywności) do 17% (przy niskiej aktywności). Czulość RF-IgM wynosiła jedynie 15% przy 95,5% swoistości.

W surowicy krwi dzieci z MIZS częściej niż RF-IgM stwierdzono dodatni czynnik reumatoidalny klasy IgA. Był on obecny u 19/79 (24%) dzieci chorych i u 1/22 (4,5%) z grupy odniesienia. Najczęściej wykrywano go w przypadku trwania choroby powyżej 12 miesięcy – u 12/34 (35%) dzieci, w postaci skąpostawowej MIZS – 12/31 (39%) i przy znacznej aktywności procesu reumatoidalnego – 9/22 (41%). Czulość RF-IgA określono na 24%, a swoistość na 95,5%.

Przeciwciała AKA były obecne jedynie u 6/79 (7,6%) dzieci z grupy badanej, w tym u 3/38 – z postacią wielostawową, 1/31 z postacią skąpostawową i 2/10 – układową postacią MIZS oraz u żadnego dziecka z grupy odniesienia. Wykrywano je zarówno we wczesnych, jak i późnych okresach MIZS. Wśród 6 dzieci z dodatnimi przeciwciałami AKA, 3 należało do podgrupy ze znaczną (3/22

Tabela II. Występowanie poszczególnych markerów immunologicznych w surowicy krwi dzieci z MIZS i zdrowych oraz czułość i swoistość oznaczanych autoprzeciwciał

grupa	(n) liczba pacjentów	marker serologiczny											
		anty-CCP (+)		RF-IgM		RF-IgG		RF-IgA		AKA		ANA	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
odniesienia	22	0	0	1	4,5	1	4,5	1	4,5	0	0	0	0
MIZS	79	44	56	12	15	46	57	19	24	6	7,6	21	26,5
czułość		56%		15%		57%		24%		7,6%		26,5%	
swoistość		100%		95,5%		95,5%		95,5%		100%		100%	

Tabela III. Występowanie poszczególnych markerów immunologicznych w surowicy krwi dzieci z MIZS w zależności od czasu trwania, postaci i aktywności procesu reumatoidalnego

	(n) liczba pacjentów	marker serologiczny											
		anty-CCP (+)		RF-IgM		RF-IgG		RF-IgA		AKA		ANA	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
czas trwania													
< 6 miesięcy	18	12	67	2	11	12	67	5	28	1	5,5	2	11
6-12 miesięcy	27	9	33	4	15	13	48	2	7	3	11	13	48
> 12 miesięcy	34	23	68	6	18	23	68	12	35	2	6	6	18
postać													
wielostawowa	38	22	58	9	24	24	63	6	16	3	8	11	29
skąpostawowa	31	14	45	2	6,5	16	52	12	39	1	3	6	19
układowa	10	8	80	1	10	6	60	1	10	2	20	4	40
aktywność													
znaczna	22	17	77	3	14	17	77	9	41	3	14	10	45
średnia	15	10	67	2	13	10	67	5	33	0	0	2	13
mała	42	17	40	7	17	19	45	5	12	3	7	9	21

– 14%), a 3 – z niską (3/42 – 7%) aktywnością choroby. Czułość AKA wynosiła jedynie 7,6% przy 100% swoistości.

Przeciwciała ANA wykryto u 21/79 dzieci z MIZS, w tym u 11/38 z wielostawową, 6/31 skąpostawową i 4/10 z postacią układową MIZS. W surowicach pacjentów z grupy odniesienia nie były one obecne. Czułość ANA wynosiła 26,5% przy 100% swoistości.

Zbiorcze wyniki badań przedstawiono w tabeli II i tabeli III.

W grupie badanej, w surowicach, uzyskano znacząco statystycznie wyższe wartości stężeń przeciwciał anty-CCP i RF-IgM (odpowiednio $p=0,03$; $p=0,02$) w stosunku do grupy odniesienia. Wyższe wartości w grupie badanej stwierdzono także w przypadku RF-IgG i RF-IgA, jednak nie były to różnice statystycznie istotne. U chorych dzieci zaobserwowano dodatnią korelację między stężeniem RF-IgG a RF-IgA ($p=0,021$) oraz wartościami CRP a RF-IgG ($p=0,0005$) i anty-CCP ($p=0,027$). Czynniki reumatoidalny klasy IgG wykazywał również dodatnią kore-

lację z liczbą leukocytów ($p=0,019$), a stężenie anty-CCP z liczbą płytek krwi ($p=0,036$). Otrzymane wyniki ujawniły też dodatnią korelację pomiędzy stężeniami anty-CCP i RF-IgG w surowicy a aktywnością procesu reumatoidalnego (odpowiednio $p=0,01$; $p=0,03$).

Porównując stężenia oznaczanych przeciwciał w surowicach i odpowiednich próbkach płynów stawowych, zauważono wyższe statystycznie stężenia RF-IgG w płynach stawowych ($p=0,029$). Dodatkowo wyniki RF-IgG w płynach stawowych uzyskano w 11/17 (65%) przypadków, w tym 6 dzieci miało jednocześnie dodatni RF-IgG w surowicy. Natomiast, niższe wartości stężeń, w porównaniu do surowic, wykazano w odpowiednich próbkach płynów dla anty-CCP i RF-IgA, otrzymując pozytywne wyniki RF-IgA u 6/17 (35%) pacjentów i wszystkie poniżej wartości progowej dla anty-CCP. W żadnej z 17 badanych próbek płynów stawowych nie stwierdzono obecności RF-IgM. AKA w płynie stawowym były dodatnie tylko u 1 (5,9%) pacjenta, u którego nie występowały one w surowicy krwi. W żadnej próbce płynów stawowych nie wykryto przeciwciał przeciwjądrowych.

DYSKUSJA

Wyniki naszych badań pozwoliły na określenie częstości występowania poszczególnych autoprzeciwciał, a także na ocenę ich przydatności diagnostycznej w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów. Spośród oznaczanych przeciwciał na szersze omówienie zasługują anty-CCP. Jak już wspomniano we wstępie, anty-CCP uważane są za bardzo ważny marker serologiczny w diagnostyce RZS u chorych dorosłych ze względu na wysoką swoistość i ich dobrą czułość [10,11,16].

Wśród badanych przez nas dzieci obecność przeciwciał anty-CCP wykryto w surowicy u 56% chorych na MIZS i u żadnego dziecka z grupy kontrolnej. Dobra czułość i 100% swoistość nadaje im znaczenie patognomiczne w rozpoznawaniu MIZS. O ich wysokiej przydatności diagnostycznej świadczą również inne wyliczone wskaźniki: dobra dokładność rozdzielcza oraz ujemna wartość predykcyjna (NPV), a także wysoka wartość OR.

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt obecności anty-CCP u aż 67% dzieci chorujących nie dłużej niż 6 miesięcy, kiedy ustalenie rozpoznania sprawia największe trudności. Stwierdzono też, że anty-CCP występują niezależnie od czasu trwania procesu chorobowego. Równie często znajdowano je również u dzieci, u których czas trwania choroby przekraczał 12 miesięcy (68%). Przeciwciała anty-CCP były obecne we wszystkich podtypach MIZS, najczęściej w postaci układowej choroby, rzadziej w postaci wielostawowej i skąpostawowej. Zaobserwowano wyraźną dodatnią korelację między obecnością anty-CCP a wysoką aktywnością procesu reumatoidalnego.

Wyniki naszych badań porównywane z danymi z piśmiennictwa dotyczącymi dorosłych z RZS i dzieci z MIZS, potwierdziły obecność przeciwciał anty-CCP we wczesnym okresie procesu reumatoidalnego oraz ich utrzymywanie się w surowicy w trakcie trwania choroby. Van Rossum i wsp. podają, że anty-CCP wykrywane są głównie w grupie pacjentów z wielostawową, seropozytywną postacią MIZS. Autorzy uważają, że są one charakterystyczne dla przebiegu MIZS zbliżonego objawami klinicznymi do RZS, natomiast nie są dobrym markerem pozostałych postaci choroby. Van Rossum i wsp. oraz Avcin i wsp. obserwowali wprawdzie obecność anty-CCP także w postaciach układowych i skąpostawowych MIZS, ale zdecydowanie rzadziej niż wynika to z naszych badań [9,20]. Z pewną ostrożnością należy przyjąć wysoką wykrywalność przeciwciał anty-CCP w surowicach naszych chorych z postacią układową MIZS, ze względu na niewielką liczbę badanych dzieci, jednak fakt ten przemawia za dużą wartością diagnostyczną anty-CCP także w tych podtypach choroby. Wspomniane rozbieżności mogą wynikać zarówno z różnic w doborze badanej grupy chorych, jak i stosowanych innych zestawów do oznaczeń oraz wartości stężeń anty-CCP przyjętych jako normy. Nawiązując do sugestii Van Rossum i wsp., zwrócono uwagę na

związek pomiędzy występowaniem anty-CCP a seropozytywnymi postaciami MIZS. Wśród badanych przez nas dzieci prawie wszystkie (11/12), u których wykryto RF-IgM, miały również obecne anty-CCP. Wyjątek stanowił tylko jeden pacjent, u którego poza klasycznym czynnikiem reumatoidalnym, nie stwierdzono w surowicy żadnego z innych oznaczanych autoprzeciwciał. Jednakże, w odróżnieniu od Van Rossum i wsp., w grupie przez nas badanej wykryto przeciwciała anty-CCP w surowicy 48% (32/67) dzieci tzw. seronegatywnych, podczas gdy cytowani autorzy stwierdzili ich obecność jedynie u 2 dzieci bez czynnika RF-IgM [20]. Avcin i wsp., zbadali 109 dzieci z MIZS i dodatkowo anty-CCP wykryli zaledwie u 2 chorych, co stanowiło 1,8% grupy badanej, z których jeden był seronegatywny. Według tych autorów uzyskane przez nich wyniki potwierdzają heterogenność MIZS i odmienność tej jednostki chorobowej od RZS [9].

Klasyczny czynnik reumatoidalny (RF-IgM) wykryto jedynie u 12 z naszej grupy badanych dzieci (15%), z niewielkimi wahaniami co do częstości występowania w zależności od czasu trwania choroby i aktywności procesu zapalnego. Większość dodatnich wyników dotyczyła dzieci z wielostawową postacią MIZS (9/12), ale RF-IgM był także obecny u dwojga dzieci ze skąpostawową i jednego z układową postacią choroby. Wykryto go również u jednego dziecka z grupy odniesienia (4,5%). Porównanie przydatności diagnostycznej w MIZS czynnika RF-IgM z przeciwciałami anty-CCP wypadło wyraźnie na niekorzyść tego pierwszego. Jego czułość okazała się ponad trzykrotnie niższa od anty-CCP (15% vs 56%), mimo tylko nieco niższej swoistości (95,5% vs 100%). Według piśmiennictwa RF-IgM oznaczany u dorosłych z RZS wykazuje zazwyczaj wyższą czułość niż anty-CCP, które natomiast przewyższają go pod względem swoistości (97%-100%) [10,11,16]. Z danych przytaczanych przez Petty i Cassidy wynika, że wartość diagnostyczna RF-IgM w MIZS jest jeszcze mniejsza niż wykazały nasze badania; według autorów jego czułość wynosi zaledwie 4,8% przy 98% swoistości [2].

Zgodnie z wynikami naszych badań większą przydatność w rozpoznawaniu MIZS wydaje się mieć oznaczenie w surowicy czynnika reumatoidalnego w klasie IgG. RF-IgG był obecny w surowicy dzieci chorych prawie czterokrotnie częściej niż RF-IgM (57% vs 15%). Jego czułość okazała się prawie taka sama jak dla anty-CCP, przy nieco niższej swoistości (95,5% vs 100%). Wykrywano go niezależnie od czasu trwania choroby, zarówno w jej wczesnym (do 6 miesięcy – 67%), jak i późniejszym okresie (powyżej 12 miesięcy – 68%) oraz z podobną częstością we wszystkich podtypach MIZS. Najwyższe odsetki dodatnich wyników występowały przy znacznej aktywności procesu reumatoidalnego (17/22 – 77%), tak samo jak w przypadku anty-CCP. Badania wykazały również dobrą dokładność rozdzielczą RF-IgG oraz ujemną wartość predykcyjną, natomiast wskaźnik OR był dwukrotnie

niższy. Dlatego też, mimo wielu podobieństw pomiędzy tymi dwoma markerami, przeciwciała anty-CCP wykazują pewną przewagę nad RF-IgG. Stwierdzenie obecności przeciwciał anty-CCP pozwala również dokładniej przewidzieć rozwinięcie się MIZS niż w przypadku obecności RF-IgG.

Trzeci z badanych czynników reumatoidalnych, RF-IgA, przewyższał klasyczny czynnik reumatoidalny co do częstości występowania w MIZS, wykryto go bowiem u 24% dzieci. Był obecny we wczesnym (28%) i późnym okresie choroby (35%) i wykazywał tendencję do związku z postacią skąpostawową i wysoką aktywnością procesu. Jednak wobec niewielkiej ogólnej liczby dzieci z dodatnim RF-IgA (19/79), stwierdzone odsetki mogły być zjawiskiem przypadkowym i wymagają weryfikacji na większej grupie chorych. Czułość RF-IgA wynosząca 24%, mimo dobrej swoistości (95,5%), przemawia za dużo mniejszą przydatnością diagnostyczną w MIZS niż RF-IgG i tylko nieco większą niż RF-IgM. Charakteryzuje to także wartość wskaźnika OR dla tych trzech czynników reumatoidalnych, która jest najniższa dla RF-IgG oraz wyższa dla pozostałych dwóch. Porównanie wyników naszych badań dotyczących wartości diagnostycznej czynników reumatoidalnych klasy IgG i IgA w MIZS z danymi innych autorów nastęrcza pewne trudności, ponieważ obecnie nie są one przedmiotem dużego zainteresowania reumatologów dziecięcych. Można jednak przyjąć, że spośród trzech oznaczanych czynników reumatoidalnych tylko RF-IgG może znajdować zastosowanie w rozpoznawaniu MIZS. Natomiast, RF-IgA podobnie jak RF-IgM, należą do badań diagnostycznych uzupełniających.

Przeciwciała antycytkeratynowe (AKA) wykryto zaledwie u 6 dzieci, co stanowiło 7,6% ogółu badanej grupy, ale występowały one w każdej z wyłonionych przez nas podgrup. Niewielka liczba wyników dodatnich utrudniła wiarygodną ocenę ich związku z czasem trwania, postacią MIZS i aktywnością procesu reumatoidalnego. Dostępne dane literaturowe podają, że AKA są obecne we wszystkich podtypach MIZS, jednak z różną częstością – od 7% do 25%. Hromadnikowa i wsp. oraz inni autorzy nie wykazali ich związku z postacią MIZS i aktywnością procesu chorobowego [7,8,12]. Z powodu braku wystan-

daryzowanych odczynników do wykrywania AKA oraz dość subiektywnej metody ich oceny, nie wydają się mieć istotnego zastosowania diagnostycznego w MIZS.

Podobnie jak w pracach innych autorów, przeciwciała przeciwjądrowe – ANA (najczęściej o typie świecenia plamistym) występowały u ponad 26% dzieci z naszej grupy badanej. Nie zaobserwowano jednak ich korelacji z innymi markerami ani ze skąpostawową postacią MIZS, który to związek jest szczególnie podkreślany w piśmiennictwie [9]. Być może ze względu na to, że wśród badanych przez nas pacjentów żaden nie miał zmian w naczyniówce oka, dla których obecność ANA uznaje się za swoisty wyznacznik. Tak jak w badaniach Avcin i wsp., występowanie przeciwciał ANA nie koresponowało z obecnością anty-CCP czy wartościami OB [9]. Wcześniejsze doniesienia dotyczące RZS wykazywały jednak taką zależność [21].

Poszukiwanie markerów immunologicznych w płynach stawowych wykazało, że w większości z nich (65%) jest obecny czynnik reumatoidalny klasy IgG i to w stężeniach znacznie wyższych niż w surowicach. W co trzeciej próbce płynu stawowego (35%) znajdowano RF-IgA, jednak w niższych stężeniach w porównaniu do surowic. W żadnym przypadku nie wykryto RF-IgM. Wszystkie płyny stawowe uznano za ujemne pod względem obecności przeciwciał anty-CCP, ponieważ ich niskie stężenia nie przekraczały wartości progowej (203 RU).

Podsumowując, największą przydatność w diagnostyce MIZS mają przeciwciała anty-CCP. Wykrywane są niezależnie od postaci, zarówno w seropozytywnych, jak i seronegatywnych surowicach dzieci z MIZS, już we wczesnych stadiach choroby i charakteryzują się 100% swoistością przy dobrej czułości. Oznaczanie RF-IgG w surowicy wydaje się mieć przewagę diagnostyczną nad klasycznym czynnikiem reumatoidalnym. W celu poprawienia czułości badania, wskazane jest jednoczesne określanie stężeń przeciwciał anty-CCP i RF-IgG. W płynie stawowym do najczęściej wykrywanych markerów immunologicznych należy RF-IgG.

Badania finansowane z tematu pracy własnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi Nr 502-11-061.

Piśmiennictwo

1. Petty RE, Southwood TR, Baum J. Revision of the proposed Classification Criteria for Juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 1998; 25: 1991.
2. Petty RE, Cassidy JT. The juvenile idiopathic arthritis. w: *Textbook of Pediatric Rheumatology*, wyd. Saunders Comp 2001: 214-17.
3. Cassidy JT, Petty RE. The juvenile idiopathic arthritis. w: *Textbook of Pediatric Rheumatology*, wyd. Saunders Comp 2001: 218-321.
4. Smolen JS. Autoantibodies in rheumatoid arthritis. w: *Manual of biological markers of disease*, wyd. Dordrecht (The Netherlands): Kluwer Academic Publishers 1996; 1.1: 1-18.
5. Prieur AM. Juvenile (chronic) arthritis is not juvenile rheumatoid arthritis. *Rev Rheum* 1996; 63: 1-4.
6. Cordonnier C, Meyer O, Haim T i wsp. Anti-RA33, anti-keratin (AKA) antibodies and anti-perinuclear factor (APF) as early serological markers of rheumatoid arthritis (RA). A prospective study of 69 patients with suspected RA. *Clin Rheumatol* 1994; 13: 150.
7. Gabay C, Prieur AM, Meyer O. Occurrence of antiperinuclear antikeratin and anti-RA33 antibodies in juvenile chronic arthritis. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 785.

8. Ząbek J, Biernacka E, Gutowska-Grzegorzycz G i wsp. Przeciwciała przeciwko cytokeratynie (AKA) w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów (MIZS). *Reumatologia* 2002; 40: 222-228.
9. Avčin T, Cimaz R, Falcini F i wsp. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 608-611.
10. Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E i wsp. Diagnostic Accuracy of the Anti-citrulline Antibody Assay for Rheumatoid Arthritis. *Clin Chem* 2001; 47: 1089-1093.
11. Bas S, Genevay S, Meyer O i wsp. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2003; 42: 677-680.
12. Hromadnikova I, Vavrincova P, Stechova K i wsp. Anti-keratin antibodies in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19: 470-473.
13. Biernacka E, Ząbek J. Celowość oznaczania czynnika reumatoidalnego w zestawieniu z wartością wykrywania innych przeciwciał występujących w reumatoidalnym zapaleniu stawów. *Reumatologia* 2003; 41: 55-68.
14. Schellekens GA, de Jong BAW, van den Hoogen FHJ i wsp. Citrulline is an Essential Constituent of Antigenic Determinants Recognized by Rheumatoid Arthritis – specific Autoantibodies. *J Clin Invest* 1998; 101: 273-281.
15. Dubucquoi S, Solau-Gervais E, Lefranc D i wsp. Evaluation of anti-citrullinated filaggrin antibodies as hallmarks for the diagnosis of rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 415-19.
16. Bas S, Perneger TV, Seitz M i wsp. Diagnostic tests for rheumatoid arthritis: comparison of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-keratin antibodies and IgM rheumatoid factors. *Rheumatology* 2002; 41: 809-814.
17. Schellekens GA, Visser H, de Jong BAW i wsp. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 155-163.
18. Kroot E-JJA, de Jong BAW, van Leeuwen MA i wsp. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1831-1835.
19. Wilkoszewski E, Szymańska-Jagiello W, Konicka-Polak E. Uwagi na temat aktywności procesu chorobowego w przebiegu goścca przewlekłe postępującego u dzieci. *Ped Pol* 1974; XLIX: 1235-39.
20. Van Rossum M, van Sorsbergen R, de Kort S i wsp. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies in children with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 825-8.
21. Genevay S, Hayem G, Verpillat P i wsp. An eight year prospective study of outcome prediction by antiperinuclear factor and antikeratin antibodies at onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 734-736.