

TC  
Sağlık Bakanlığı  
İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü  
Vekil şef: Dr. Güvenç GÜVENEN

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

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Derya GÜLTEKİN**

**İstanbul 2005**

## ÖNSÖZ

*S.B. İstanbul Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Başhekimi Sayın Doç. Dr. Rafet Yiğitbaşı'na; uzmanlık eğitimim ve tez çalışmamda sağladığı imkanlardan dolayı Eski Başhekim Sayın Prof. Dr. Hasan Erbil'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.*

*Gerek eğitimim ve gerekse tez çalışmamda bana her türlü yardım ve desteği sağlayan S.B. İstanbul Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Klinik Şefi Sayın Uzman Dr. Güvenç Güvenen'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.*

*Asistanlığım süresince hoşgörü ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Uzm. Bio. Filiz Nartop'a; bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli uzmanlarımız Uzm. Dr. İncihan Ocakoğlu , Uzm. Kim. Müh. Şükran Özgel ve tez çalışmamda yardım ve desteğini esirgemeyen Uzm. Dr. Hale Aral'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.*

*Tez çalışmamda gösterdiği yakın ilgi ve desteklerinden dolayı S.B. İstanbul Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Romatoloji Klin. Uzm. Dr. Füsün Moral Oğuz'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.*

*Tez çalışmamda bana verdikleri yardım ve destekten dolayı S.B. İstanbul Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Klin. Uzm. Funda Yalçın'a ve Fizik Tedavi Ve Rehabilitasyon Klin. Uzm. Ali Emrem'e;*

*Aynı çalışma ortamını paylaştığım ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma;*

*Tez çalışmamda bana gösterdiği yardımdan dolayı Bio. Reşat Karabacak'a; S.B. İstanbul Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Bakteriyoloji laboratuvarı çalışanlarına;*

*Ve bugüne kadar bana her türlü desteği gösteren sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.*

*Dr.Derya GÜLTEKİN*

## **KISALTMALAR**

<b>RA</b>	: Romatoid Artrit
<b>RF</b>	: Romatoid Faktör
<b>ACCP</b>	: Anti-Cyclic Citrullinated Peptide
<b>AKA</b>	: Anti-Keratin Antikor
<b>AFA</b>	: Anti-Filagrin Antikor
<b>APF</b>	: Antiperinükleer Faktör
<b>PAD</b>	: Peptidilarginin Deiminaz
<b>MHC</b>	: Major Histokompatibilite Kompleksi
<b>HLA</b>	: İnsan Lökosit Antijeni
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon Gama
<b>IL-1</b>	: İnterlökin 1
<b>IL-2</b>	: İnterlökin 2
<b>IL-6</b>	: İnterlökin 6
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
<b>VEGF</b>	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
<b>GM-CSF</b>	: Granülosit-Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör
<b>M-CSF</b>	: Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
<b>ESR</b>	: Eritrosit Sedimentasyon Hızı
<b>CRP</b>	: C-Reaktif Protein
<b>ARA</b>	: Amerikan Romatizma Derneği
<b>PİF</b>	: Proksimal İnterfalangial
<b>DİF</b>	: Distal İnterfalangial

<b>MKF</b>	: Metakarpofalangial
<b>MTF</b>	: Metatarsofalangial
<b>SLE</b>	: Sistemik Lupus Eritematozus

## **İÇİNDEKİLER**

GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
GENEL BİLGİLER .....	3
GEREÇ VE YÖNTEM .....	33
BULGULAR .....	37
TARTIŞMA VE SONUÇ .....	48
ÖZET .....	54
KAYNAKLAR .....	56

## GİRİŞ VE AMAÇ

Romatoid Artrit (RA), dünya popülasyonunun yaklaşık % 1'ini etkileyen en yaygın otoimmün hastalıklardan biridir. Etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik, hormonal ve enfeksiyöz ajanlar gibi risk faktörleri üzerinde durulmaktadır. RA ile HLA-DR4 ve HLA sınıf II DR1 doku grubu arasında güçlü bir ilişki vardır (1,2). Diğer birçok otoimmün hastalıkta olduğu gibi kadınlarda daha sık görülür.

RA eklemlerin sinovyal membranlarında kronik inflamasyonla karakterizedir. Hastalığın ilk belirtisi, genellikle parmak eklemlerinde meydana gelen ağrı ve şişliktir. Daha sonra büyük eklemler, özellikle diz, dirsek, omuz etkilenir. Aktive olmuş inflamatuvar mediatörler, sinovyal membranları infiltre ederek kemik ve kıkırdakta hasara yol açarlar. Deri altında romatoid nodüller oluşur. RA sistemik bir hastalık olduğu için daha ileri aşamalarda vücudun diğer bölümleri ve organları da etkilenir (3).

RA tanısının erken konulması, tedavi ile eklem dokusundaki hasarın önüne geçilebilmesi açısından çok önemlidir. RA kronik bir poliartrittir ve başlangıç şekli hastadan hastaya farklılık gösterir. Tipik semptomları olanlarda sıklıkla hastalığın ilk yılında tanı kolaylıkla konulabilir. Fakat çoğu zaman hastalığın ilk dönemlerinde klinik semptomlar belirgin değildir. Atipik ilerleme

gösteren semptomlara sahip birçok hastada tanı koymak için uzun zaman geçebilir. Bu nedenle tanı için spesifik ve sensitif serolojik testlere ihtiyaç vardır.

RA şüphesi olan vakalarda bugüne kadar en yaygın kullanılan test Romatoid faktördür (RF). RA'lı hastaların % 79'unda RF pozitiftir. RF, RA için sensitif fakat spesifik olmayan bir parametredir. RA dışında, diğer otoimmün hastalıklarda, çeşitli enfeksiyonlarda ve sağlıklı bireylerde de yüksek serum düzeyleri saptanabilir. Bu nedenle tanısız değeri düşüktür.

Son zamanlarda, RA'lı hastaların % 40– 60'ında epidermal filagrin (filaman agrege edici protein)'e karşı spesifik otoantikorlar tanımlanmıştır. Sitrulin, filagrin molekülünde bulunan nadir bir aminoasittir. Son araştırmalarda sitrulinin, filagrindeki antijenik epitopun yapısal bir parçası olduğu gösterilmiştir. Siklik peptid içeren sitrulin antikorları [anti-CCP (anti-cyclic citrullinated peptide)] RA için yeni ve RF'den çok daha spesifik bir parametre olarak bildirilmektedir. CCP'ye karşı oluşan antikorlar, çoğunlukla IgG sınıfındadır ve RA için % 97 oranında spesifiktir. Hastaların % 79'unda hastalığın erken aşamasında tespit edilebilir. Bu antikorlar, sitrulin içeren sentetik peptitlerin geliştirilmesi sayesinde ELİSA yöntemiyle kolayca tespit edilebilmektedir (3,4).

Bu çalışmada; ülkemizde en sık görülen otoimmün hastalıklardan olan, tanı ve tedavide geç kalınması neticesi sakatlıklara yol açan romatoid artritli hasta gruplarında RF ile Anti-CCP düzeylerini saptamayı ve hastalıkla olan ilişkilerini araştırmayı amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### ROMATOİD ARTRİT

Romatooid artrit (RA), özellikle periferik sinovyal eklemleri simetrik şekilde tutan, kimi zaman belirgin derecede eklem dışı tutulumun da eşlik ettiği kronik, multisistemik bir hastalıktır. İnflamatuvar artritler arasında en sık görülenidir.

Hastalık eklem sinovyasında yangıyla başlar. Zamanla sinovya da pannüs formasyonu oluşturup kıkırdak, kemik ve diğer komşu dokularda yıkıma neden olarak eklem deformasyonlarına yol açar. Eklemlerde hareket kabiliyeti kısıtlanır ve sakatlıklar meydana gelir. Sonuçta hastaların yaşam kalitesi azalır (5,6,7)

### Epidemiyoloji

RA'nın prevalansı çeşitli toplumlarda % 0.3-5 arasında değişmektedir (5,8). Birçok otoimmün hastalık gibi kadınlarda daha sık görülmektedir. Kadın / erkek oranı  $2/1-4/1$  arasında değişmektedir. Hastaların %80'i 35-50 yaşları arasındadır. Genellikle genç erişkinlerin hastalığı olmakla birlikte tüm yaşlarda ortaya çıkabilir. Yaş ilerledikçe cinsiyet farkı azalır (5).

### Etyoloji

Etyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte, üzerinde en çok durulanlar; genetik, hormonal ve enfeksiyöz ajanlardır (9).

### ***Genetik Faktörler***

RA'da genetik yatkınlığın olduğunu gösteren birçok veri vardır. Seropozitif bireylerin birinci derece akrabalarında yaklaşık dört kat daha fazla görülmektedir (6,9). Monozigot ikizlerde RA görülme olasılığı dizigot ikizlere göre dört kat daha fazladır (9).

Major Histokompatibilite Kompleksi (MHC) veya bilinen diğer adıyla insan Lökosit Antijenleri (HLA), MHC sınıf I ve II ürünleri ile T hücrelerine antijenik peptidleri sunan sistemi sağlayan bir gen bölgesidir. RA'nın HLA-DR4 ve -DR1 ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. HLA-DR4'ün alt gruplarından HLA-DRB1\*0401, -\*0404, -\*0408 RA ile ilişkili alellerdir. Bu MCH genleri sadece hastalığın başlaması ile değil, seyri ve şiddeti ile de ilgilidir. Hastalıkla ilgili bu alelleri taşımayanlarda hastalık daha hafif ve seronegatif seyretmektedir. İki (homozigot) DRB1\*04 aleli olanlarda ise daha ağır ve ekstraartiküler tutulumlu bir hastalık tablosu olduğu bildirilmiştir (7). HLA DR2, -DR3, -DR7'nin hastalık riskini azalttığı kabul edilmektedir (9).

HLA kompleksi dışındaki bazı genler de RA'da genetik yatkınlığa katkıda bulunmaktadır. Bunlar, T hücrelerinde antijen reseptörünün ekspresyonunu ve immünoglobulinin (Ig) hem hafif hem de ağır zincirlerini kontrol eden genlerdir. Ayrıca tümör nekroz faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve interlökin (IL) 10 genlerindeki polimorfizmler ve kromozom 3 (3q13)'deki bir bölgenin de RA ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (10).

### ***Cinsiyet ve Hormonal faktörler***

RA, kadınlarda daha sık görülmekte ve daha şiddetli seyretmektedir. Doğum yapmamışlarda RA gelişme riski 2-3 kat daha fazladır. Hamilelikte RA'lı hastalar % 75'e varan oranda iyileşme ve remisyon gösterir. Ancak,



hamilelik sonrası olguların % 80-90'ında olay tekrar alevlenmektedir. Östrojenler, T hücrelerinin antijen stimülasyon etkisini baskılar, T hücre supresör aktiviteyi azaltır. Progesteron ise T hücre supresör aktiviteyi artırır, fakat lenfosit proliferatif etki gösteren antijeni inhibe eder.

Testesteron, T hücre supresör aktiviteyi artırır, fakat sitotoksik hücre aktivitesini inhibe eder. RA'lı hastalarda hipotalamus-pituiter-adrenal (HPA) aksında bir disfonksiyon söz konusudur (5).

### ***Enfeksiyon Ajanları***

RA'ya etken olan ajanlar arasında enfeksiyöz nedenler üzerinde de çok durulmakla birlikte, bu güne kadar herhangi bir mikroorganizma ortaya çıkarılmamıştır. Ancak insanlarda birçok bakteri (Mycoplasma Fermantas, Proteus Mirabilis, Mycobacterium Tuberkulozis, E. Coli), virüs (Retro Virüs, Ebstein- Barr Virüs, İnsan Herpes Virüs Tip 6, Parvovirüs B-19) ve spiroketler (Lyme artriti) poliartrit oluşturabilirler (5,8,9).

Genetik olarak yatkın kişilerde, mikroorganizmaların meydana getirdiği T hücre reaktivitesindeki küçük değişimler veya mikroorganizmaların girişi ile konakta yeni antijenlerin oluşması hastalığı başlatmak için yeterli olabilir(11).

### ***Isı Şok Proteinleri (IŞP)***

Hücreler tarafından strese yanıt olarak sentez edilirler. Görevleri arasında, proteinlerin intrasellüler translokasyonlarını kolaylaştırma ve sonuç olarak da ısı, bakteri ve oksijen radikalleri gibi etkenlerden hücreleri korumaları vardır. İnsan IŞP ile bakteri IŞP arasında aminoasit diziliminde moleküler benzerlikler olabilir. İnflamatuar artritlerde sinovyal hücrelerin IŞP oluşturdukları ve bunların çapraz reaksiyon veren T hücreler ve antikolar tarafından tanındığı bildirilmektedir (5).

## ***Tip II Kollagen***

RA'lı hastaların serumlarında denatüre tip II kollagene karşı oluşan antikör titresi yüksek bulunmuştur. Anti-kollagen antikörler RA için özgül değildir. Eklem harabiyeti ve inflamasyonun devamında rol oynadıkları düşünülmektedir (5).

## ***Diğer Nedenler***

**Diyet:** Zeytinyağı ve balıkyağı tüketiminin koruyucu, selenyum ve bakır eksikliğinin ise RA ile bağlantılı olabileceği bildirilmiştir.

**Sigara:** Sigaranın doz bağımlı olarak RA şiddetini arttırdığı bildirilmiştir.

**Evcil hayvanlar:** Kontrollü bir çalışmada RA'lı hastaların prepubertal dönemde kedi ile yakın temaslarının olduğu gözlenmiştir. Daha zayıf bir ilişki kuşlarla da bulunmuştur.

***Negatif ilişkiler:*** Gut ve RA nadiren birlikte bulunurlar. Şizofrenililerde RA'ya yakalanma riski 4-6 kat daha az bulunmuştur (9).

## **Patogenez**

RA patogenezinde hümmoral ve hüccresel bağışıklık mekanizmaları birlikte rol oynar. Temel patoloji, eklem kıkırdağı ve subkondral kemiğin ektopik ve hiperplastik bir sinovya tarafından yıkılmasıdır.

Sinovyal membran, intima ve subintima şeklinde 2 tabakadan oluşur. İntima, 1 veya 2 hücre tabakası kalınlığındadır ve 2 major hücre tipi içerir. Tip A sinovyal (makrofaj benzeri) hücre ve tip B sinovyal (fibroblast benzeri) hücre. İntima, bir epitel tabakasının tipik özelliklerini taşımaz ve bazal membranı veya sinovisitler arasında sıkı intrasellüler bağlantıları yoktur.

Subintima, değişik oranlarda lipid, kollagen lifleri ve daha organize fibröz dokudan oluşan bir matrix içinde kan damarları, lenfatikler ve sinir uçları içeren gevşek, vasküler bir bağ dokusu stromasıdır. Bu iki tabaka ortak çalışır. Glikozaminoglikanların yapımını ve vasküler yapılara filtrasyonunu sağlama temel görevleridir (12).

İmmün cevabın erken ve en önemli komponenti T lenfositler ve özellikle CD4+ hafıza hücreleridir. Bu hücreler genelde postkapiller ve venüller etrafında, HLA-DR pozitif makrofaj ve dendritik hücrelere yakın pozisyonda bulunur. CD8+T lenfositler ise daha az sayıda ve tüm dokuda yaygın haldedir.

RA patogenezinde başlangıç stimülüs bilinmese de dokudaki inflamatuvar sürecin CD4+ T hücre aktivasyonu ile başladığı bilinmektedir. Aktive olan bu hücreler IFN- $\gamma$  ve IL-2 gibi sitokinleri salgılayarak diğer T lenfosit hücrelerini, makrofajları ve fibroblastları uyarır. IFN- $\gamma$  monosit/makrofaj hücrelerinin sentez ve sekresyon fonksiyonlarını aktive eder. Aktive olan makrofajlardan sürekli IL-1 ve TNF- $\alpha$  salgılanır. IFN- $\gamma$  ile inkübasyondan sonra monositler morfolojik, metabolik ve fenotipik değişiklikler gösterirler. MHC sınıf II ve Fc reseptörleri tanımlamaya başlarlar. IFN- $\gamma$ , kollagen sentezini önleyen bir kapasiteye de sahiptir(13). Buna rağmen RA'lı hastaların sinovyal sıvı ölçümlerinde IFN- $\gamma$  düzeyleri çok düşük tespit edilmiştir. IFN- $\gamma$  ile TNF- $\alpha$ 'nın birbirlerine zıt etkileri vardır. IFN- $\gamma$ 'nın RA'lı hastalarda düşük saptanmasının nedeni TNF- $\alpha$ 'nın bu hastalarda artmış olmasından kaynaklanabilir (14).

Yardımcı T lenfositler tarafından aktive edilen B lenfositler, plazma hücrelerine dönüşerek Ig ve RF salgırlar. Salgılanan Ig'ler sinovyal membran, sinovyal sıvı ve eklem kıkırdağındaki antijenlerle birleşerek immun kompleksleri oluştururlar. Eklem boşluğuna serbestçe yayılan immun kompleksler, komplemanı aktive ederek kemotaktik faktörlerin salınmasına yol açarlar. Kemotaktik faktörler damarsal geçirgenliği artırırlar, polimorfonükleer lökositlerin ve monositlerin bu bölgede toplanmasını sağlarlar. Bu hücreler

immün kompleksleri fagosite ederek doku hasarına neden olan prostoglandin, lökotrien, serbest radikal ve proteolitik enzimlerin yapım ve serbestleşmesine neden olurlar. Mast hücrelerinden salgılanan histamin gibi vazoaktif peptitler de inflamatuvar bölgeye inflamatuvar hücrelerin girişini sağlarlar (13). Sonuçta sinoviyumu kaplayan hücrelerin sayısında artışla birlikte mononükleer hücrelerin perivasküler alanda infiltrasyonu görülmektedir. Bu dönem ışık mikroskopuyla incelendiğinde; sinoviyumu kaplayan hücrelerin hipertrofi ve hiperplazisi, mikrovasküler hasar, tromboz, neovaskülarizasyon gibi fokal veya segmental damarsal değişiklikler ve küçük kan damarları etrafında toplanmış mononükleer hücre infiltrasyonları şeklinde görülür (15).

RA patogenezinde sitokinler önemli role sahiptir. Sitokinler, hücreler arasında kimyasal haberleşmeyi, hücrelerin büyüme ve farklılaşmasını, immün cevabın regülasyonunu sağlayan proteinlerdir. İmmün sistem hücreleri tarafından salgılanırlar. RA'da, sinoviyada sitokinlerin düzeyleri artar. En belirgin artışlar, TNF- $\alpha$  ve IL-1'de görülür. Her iki sitokin de lenfosit kemotaksisini, angiogenezi, damar geçirgenliğini ve metalloproteinaz üretimini arttırırlar. Ayrıca IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF), transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) gibi sitokinlerin de önemli rolü olduğu gösterilmiştir. RA'li hastalarda trombosit sayısı, C-reaktif protein (CRP), serum amiloid A ve gama globulin yüksekliği, IL-6'nın aşırı üretilmesiyle açıklanmaya çalışılmıştır (16). Diğer pro-inflamatuvar sitokinler nitrik oksit, prostoglandinler, lökotrienler ve oksijen radikallerini içerir. Romatoid sinovitin neovaskülarizasyonunu hipoksi, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi faktörler stimüle eder. Vasküler endotel üzerinde E-Selektin ve intersellüler adezyon molekülleri de bol miktarda bulunur (12).

Hastalığın kronik fazında sinovyal tabakada hücre infiltrasyonu, özellikle tip A ve tip B sinovyal hücrelerde artma olmaktadır. Hücre artışı sonucu villöz

oluşumlar meydana gelir ve pannus oluşur. Pannusların etkili olduğu alan kıkırdak ile kemiğin birleştiği bölgelerdir. Pannusta bulunan makrofajların salgıladıkları proteinaz ve kollajenazların yıkıcı etkileri sonucu subkondral kemikte erezyonlar başlar. Pannus kartilajı harab ederken eklem aralığı gittikçe daralır. Ayrıca subkondral kemik boyunca da ilerler ve bu bölgede yüzeysel kistik oluşumların ortaya çıkmasına neden olur. Sonuçta eklemlerde zamanla deformiteler gelişmeye başlar (12).

RA'da klinik belirtiler sinovyal membranda T lenfosit aktivasyonu belirginleştiği zaman başlar. Bu dönem eklemlerde şişlik, hareket kısıtlılığı ve ağrı ile klinik bulgu verir.

## **Klinik**

Dikkatli bir klinik değerlendirme, en uygun tedavinin mümkün olduğunca erken başlatılması için çok önemlidir. Sabah tutukluğu, günlük aktivitelerde zorlanma, diffüz, simetrik eklem ağrıları ve periferik küçük eklemlerin şişliği en sık rastlanan yakınmalardır. RA'nın sistemik bir hastalık olduğu unutulmadan tam bir muayene yapılmalı ve ekstraartiküler bulgular araştırılmalıdır.

RA kronik bir poliartrittir ve başlangıç şekli hastadan hastaya farklılık gösterir. Hastalık olguların % 55-70 kadarında yavaş ve sinsi olarak başlar. Yorgunluk, halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı, yaygın kas-iskelet ağrıları ilk, spesifik olmayan yakınmalardır. Bazen düşük dereceli ateş, raynoud fenomeni gibi atipik bulgular olabilir. Haftalar veya aylar süren bir süreçte artraljiler, sabah tutukluğu ve eklemlerde şişlikler oluşur. Sabah tutukluğu, ağrıdan önce ortaya çıkan ilk bulgu olabilir. Bu fenomen büyük olasılıkla uyku esnasında inflame dokularda ödeme bağlı olabilir. Hareketin başlamasıyla kasların kullanımına bağlı olarak damarlarda dolaşımın hızlanmasıyla ödem azaldıkça tutukluluk azalır (5). Hastalık ilerledikçe tutulan eklem sayısı da yavaş yavaş

artar. Hastaların % 25 kadarı akut başlangıç gösterir. Başlangıçta tek veya az sayıda eklemi tutan şekli ise daha çok genç kadınlarda görülür ve RF negatiftir. Sistemik başlangıç, orta yaşlı erkeklerde daha sıktır. Hastalarda ateş, anemi, plörezi, perikardit, döküntü gibi eklem dışı klinik bulgular görülebilir. Palindromik başlangıç, ortalama iki-üç gün süren, düzensiz aralıklarla tekrarlayan, akut mono veya oligoartiküler artrit ile karakterizedir. Polimiyaljik başlangıç, ileri yaştaki kişilerde görülür. Sabah tutukluğu ile omuz ve kalça çevrelerinde ağrı ön plandadır. Zaman içinde eklem bulgularının yerleşmesi ile tanı konulur.

Çok yönlü bir hastalık olan RA tanısını kolaylaştırmak ve bir standarda bağlamak amacıyla 1987 yılında Amerikan Romatizma Derneği (ARA) tarafından belirlenmiş klasifikasyon kriterleri oldukça yol göstericidir.

### **1987 ARA kriterleri**

- 1- ***Sabah tutukluğu;*** Eklem ve çevrelerinde en az 1 saat süren sabah tutukluğu
- 2- ***3 veya daha fazla eklemden artrit;*** En az 3 eklemden hekim tarafından kaydedilen yumuşak doku şişliği veya sinovyal sıvı artışı ile beraber olan artrit.
- 3- ***El eklemlerinde artrit;*** El bileği, MKF ve PİF eklemlerinin en az birinde artrit.
- 4- ***Simetrik artrit;*** Vücudun iki yarısında aynı bölgedeki eklemlerin aynı anda tutulması; bilateral PİF, MKF veya mutlak simetri olmaksızın bilateral MTF eklemlerinin artriti.
- 5- ***Romatoid nodüller;*** Kemik çıkıntıları üzerinde, ekstansör yüzeylerde veya eklemlerin çevresinde hekim tarafından gözlenen subkutan nodüller.

- 6- **Romatoid faktör;** Herhangi bir metod ile anormal miktarda romatoid faktör pozitifliği
- 7- **Radyolojik değişiklikler;** Ön-arka el ve bilek radyografilerinde erezyonlar ve /veya periartiküler osteopeni.

Bir hastayı RA olarak klasifiye etmek için sayılan kriterlerden en az 4 tanesinin bulunması gerekir. İlk 4 kriterin en az 6 haftadır devam ediyor olması gerekir. Bu kriterlerin kullanılması ile romatoid artrit tanısında % 90 oranında sensitivite, % 89 oranına spesifite sağlanabilmektedir (17,18).

RA hastalığın aktivitesine göre erken, ilerleyici ve geç hastalık olarak sınıflandırılır.

**Erken hastalık;** Klinik olarak eklem harabiyeti henüz yoktur, radyolojik olarak kemik ve kıkırdak yıkımı görülmez. Hastalığı bu evrede yakalamak çok önemlidir. Çünkü erken evrede inflamasyon yoğundur. Kemik erezyonu oluşum hızı fazladır, daha sonra platoya ulaşır. Yine bu dönemde remisyon daha çok oluşur. Hastaların bir kısmı bu evrede kalır, diğerlerinde ise ilerlemeye devam eder. Bu evrede bazı parametrelerin varlığı prognozun iyi olmadığını gösterir. Bunlar;

- Kontrol edilemeyen inatçı poliartrit
- Yüksek titrede RF pozitifliği
- İmmün kompleks varlığı
- Yüksek riskli HLA alellerinin varlığı
- Ekstraartiküler bulguların varlığı (5,8,9).

**İlerleyici hastalık;** Tedaviye rağmen hastalık aktivitesi devam eder. İnatçı poliartrite ilaveten radyolojik olarak yaygın kemik erezyonları vardır. Sonuçta destrüktif, sakatlık gelişen tablodur (5,8).

**Geç hastalık;** Kesin eklem hasarının olduğu ve bazı komplikasyonların eşlik ettiği evreyi tanımlar. Olguların çoğunda hastalık süresi uzundur. Hasar oranı hastalığın şiddetini yansıtır (5,8).

RA'da değişik başlangıç şekilleri içinde klinik açıdan en önemli olanı sinsi, yavaş başlayan tipidir. Çünkü tablo netleşmediği için tanı koymak güçtür.

RA'da eklemler simetrik bir şekilde tutulurlar. Başlangıçta eklemlerde hafif ağrı, şişlik ve hassasiyet olur. En çok korkulan eklemlerin başında; metakarpofalangial (MKF) eklemler, proksimal interfalangial (PIF) eklemler ve el bilekleri gelir (% 70-90). Dizler, dirsekler ve metatarsofalangial (MTF) eklemler de % 60'ların üzerinde bir oranla olaya katılırlar. Kalça, omuzlar, ayak bilekleri ve servikal bölgede de özellikle C<sub>1</sub> ve C<sub>2</sub> daha az tutulan eklemlerdir (ancak oran yine de % 40-50'lerde seyrederek) (8,9).

RA'da dorsal ve lomber vertebraların, sakroiliak eklemlerin ve distal interfalangial (DİF) eklemlerin tutulması olağan değildir.

RA en zengin ve karakteristik özelliğini el ve el bileği eklemlerinde gösterir. Bilek eklemının sinoviti RA'nın değişmez bir özelliğidir. Hareket kısıtlılığına, deformiteye ve medyan sinir sıkışmasına (karpal tünel sendromu) neden olabilir. MKF ve PIF eklemleri, DİF eklemlere göre daha sık tutulur. Kıkırdak ve kemik dokudaki inflamasyona sekonder yıkım, tendonlardaki gevşeme ve yırtılmalar el deformitelerinin gelişmesine katkıda bulunur. Ulnar deviasyon, çekiç parmak, pençe parmak, düğme iliği deformitesi, kuğu boynu deformitesi meydana gelen deformitelerdir. Dirsekler, sık tutulan ve romatoid nodüllerin en sık görüldüğü eklemlerdir. Diz eklemi, hastaların % 15 kadarında ilk tutulan eklemdir. Sinovyal sıvının popliteal fossaya doğru ilerlemesi sonucu Baker kisti oluşur. Ayak eklemlerinin tutulumu, yük taşımaları nedeniyle üst ekstremit eklemlerine göre daha ağırlı olur. Ayakta MTF eklemler sıklıkla hastalığa katılır. Hastalığın ilerlemesiyle ciddi deformiteler gelişebilir.



Vertebra tutulumu servikal bölge ile sınırlıdır ve daha çok hastalığın ileri evrelerinde görülür (19).

## **RA'da Eklem Dışı Bulgular**

**Deri tutulumu;** Romatoid nodüller, palmar eritem, vaskülitik deri lezyonları

**Solunum Sistemi;** Plörezi, interstisyel akciğer fibrozu, nodüller, bronşiolit, pulmoner hipertansiyona yol açan arterit

**Dolaşım Sistemi;** Perikardit, mitral valvülopati, iletim bozuklukları, miyokardit, koroner vaskülit

**Göz tutulumu;** Keratokonjonktivitis sikka, sklerit, episklerit, skleromalasi perforans.

**Nörolojik tutulum;** Bası nöropatileri, periferik nöropati, mononöritis multipleks

**Muskuler tutulum;** Güçsüzlük ve atrofi

**Hematolojik tutulum;** Anemi, trombositoz

**Diğerleri;** Amiloidoz, psikosomatik yakınmalar

RA'nın eklem dışı bulguları, genellikle şiddetli aktif eklem hastalığı olan ve RF (+) olan olgularda daha sık görülür (20).

Romatoid nodüller; RA'lı bireylerin % 20-30'unda, genellikle basınca maruz kalan yerlerde ve eklemlerin ekstansör yüzeylerinde görülürler (21). Hastalığın hem aktivitesini hem de şiddetini gösteren bir bulgudur. Genelde RF (+) ve ağır seyreden olgularda ortaya çıkarlar. Hastalığın aktif olduğu dönemlerde daha çok görülen bu nodüller, hastalık remisyona girerse kaybolabilirler. Dirsek ekstansör yüzeyi, el sırtı, oksipital bölge, sakrum, aşil tendonu romatoid nodüllerin sık görüldüğü yerlerdir. Romatoid nodüller, başta

akciğer, skleralar ve kalp olmak üzere birçok organda görülebilirler. Santralde fibrinoid nekroz alanını çevreleyen fibroblastlardan oluşurlar (22,23).

Larenkste görülen romatoid nodüller ses kısıklığına, miyokardiyal nodüller ise ritim bozukluğuna sebep olabilirler. RA kalpte serozit, vaskülit sonucu çeşitli belirti ve bulgulara yol açabilir. En sık perikardit görülür. Perikardit sıvısı genellikle hemorajiktir, lökosit sayısı yüksek, glukozu düşüktür. Küçük doz steroid tedavisine iyi yanıt verir. Nadir olarak kalp tamponadı ve konstriktif perikardit gelişebilir (24).

RA'da böbrekler genelde korunur. Böbrek tutulumu olmuşsa da genelde direk etkisiyle değil, daha çok kronik RA'nın bir komplikasyonu olan amiloidoz veya tedavide kullanılan D-Penisilamin, siklosporin A, NSAİD'lara bağlıdır (9).

## **Romatoid Artritin Ayırıcı Tanısı**

RA tüm artrit yapan romatolojik hastalıklarla karıştırılabilir. Hastalığın erken döneminde RA tanısı koymak zordur. Doğru tanıya ulaşmada geç kalınmasının nedenleri; az sayıda eklem tutulumu, asimmetrik tutulum, intermittan artralji yakınmaları, sadece konstitüsyonel yakınmaların bulunması ve RF negatifliği gibi RA için tipik olmayan bulgularla başlayabilmesidir. Kliniklere poliartrit semptomları ile gelen hastaların az bir kısmı RA'dır. RA ayırıcı tanısında en sık karşılaşılan hastalıklar;

- 1- Bağ dokusu hastalıkları (özellikle SLE başta olmak üzere, skleroderma, polimiyozit, vaskülitler, mikst bağ dokusu hastalığı, polimyalgia rheumatica)
- 2- Seronegatif spondiloartritler (Ankilozan spondilit, reaktif artrit, reiter sendromu, psöriatik artrit),
- 3- Osteoartroz

- 4- Erişkin still hastalığı
  - 5- Kalsiyum pirofosfat birikimi hastalığı (CPPD)
  - 6- Gut
  - 7- Viral artritler (Hepatit B, rubella gibi).
- 
- 8- Ayrıca fibromyalji, kronik yorgunluk sendromu, hipertrofik pulmoner osteoartropati, miksödem, akut romatizmal ateş, sarkoidoz, FMF, multisentrik retikülohistiositoz, hemoglobinopatiler, hemofilik artropati, hemokromatozis, hiperlipoproteinemiler, glukokortikoid kesilme sendromu, oral kontraseptif kullanımına bağlı artrit, paraneoplastik sendromlar da göz önüne alınmalıdır (8,12,13).

## **Laboratuvar Bulguları**

Eritrosit sedimentasyon hızı, CRP ve fibrinojen hastalığın aktivitesiyle korelasyon gösterir. CRP, aktiviteyi eritrosit sedimentasyon hızından daha iyi gösterir. Fibrinojen, akut faz proteinleri içinde sedimentasyonu en fazla etkileyen proteindir (25).

***Hematolojik bulgular;*** Anemi aktif RA'lı hastalarda yaygın bir bulgudur. Normokrom veya hipokrom normositerdir. Kronik hastalık anemisi. İnflamatuvar sitokinlerin (IL-1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) kemik iliği üzerine supresif etkisi nedeniyle ortaya çıkar. RA'lı hastalarda Fe eksikliği anemisi de görülebilir.

**Lökositler;** Aktif RA'lı hastalarda ve steroid ile tedavi gören hastalarda beyaz küre sayısı sıklıkla yüksektir.

**Trombositler;** RA'lı hastalarda trombositler sıklıkla artmıştır ve genellikle anemi, lökositoz ve RF pozitifliği ile koreledir .

***Serum proteinleri;*** Serum albumin düzeyleri, akut faz cevabı olarak azalmış üretim nedeniyle düşük bulunur. Hastalık aktivitesi nedeniyle metabolizması da artmıştır (8).

Alfa-2 globulin, fibrinojen, gama globulinler (Ig G, M ve A) artar. Bu değişiklikler RA'ya özgü değildir. Bütün inflamatuvar ve enfeksiyöz durumlarda görülürler. Ancak hepsi hastalık aktivitesi ile uyumludur (11).

***KC ve Böbrek fonksiyon Testleri;*** Aktif RA'da özellikle ALT ve ALP yüksektir. İnflamasyonun kontrol altına alınması ile KC enzimleri normale döner.

## **Romatoid Artritte Otoantikorlar**

RA hastalarının serumları hastanın kendi proteinlerine yönelen geniş bir antikor repertuarı içerir. Ancak, bu antikorların çoğu başka (otoimmün) hastalıklarda da saptanabilir ve bu nedenle RA'ya spesifik değildir. IgG moleküllerinin Fc (kristalize olabilen) bölgesini hedef alan (27), ARA kriterlerinden olan (26) romatoid faktör (RF) antikorları bile RA için orta derecede spesifiktir. Diğer otoimmün hastalıklarda (Örn: sjögren sendromu), enfeksiyöz hastalıklarda (örn: hepatit, tüberküloz) ve sağlıklı popülasyonun % 3-5'inde (yaşlı bireylerde % 10-30) de tespit edilebilir (28, 29).

### ***RA ile ilişkili non-spesifik otoantikorlar***

- Romatoid faktör
- Anti – RA33 (anti- hn RNP-A2)
- Anti – calpastatin
- Anti nötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA)
- Anti – nükleer antikorlar (ANA)

- Anti – kollagen tip II
- Anti – fibronektin
- Anti – GPI (glukoz – 6 fosfat izomeraz)

Bu antikorların çoğu sistemik lupus eritematozus (SLE) ve mikst konektif doku hastalığı (MKDH) gibi diğer otoimmün hastalıklar ve bir dereceye kadar sağlıklı bireylerde de saptanabilir.

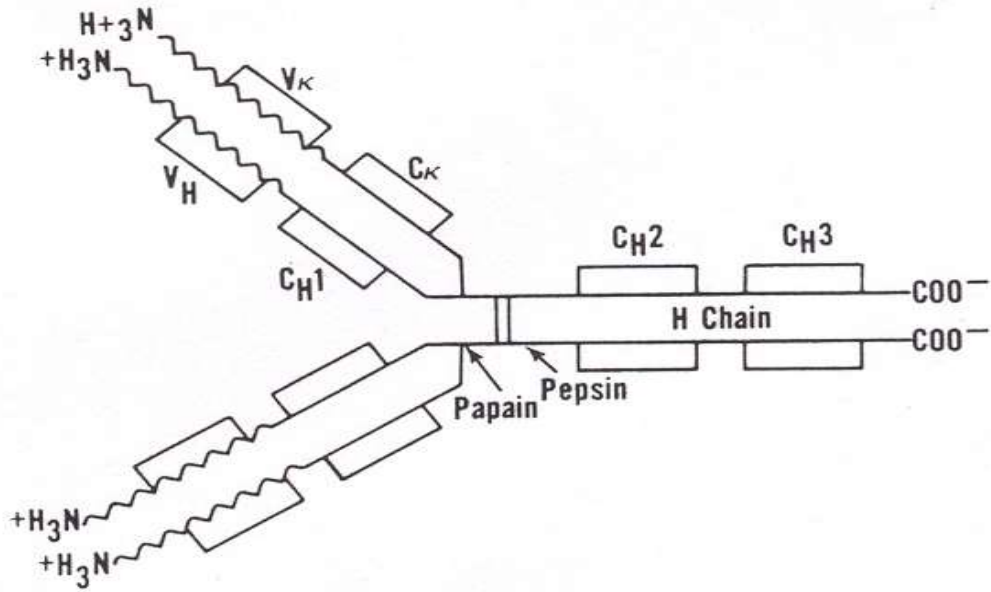
### ***Spesifik otoantikolar***

- Heavy Chain Binding Protein; Anti BİP ( p68)
- Anti – Sa
- Anti – sitruline protein antikorları
  - Anti – perinükleer faktör
  - Anti – keratin antikor
  - Anti – filagrin
  - Anti – CCP (Cyclic citrullinated peptide)

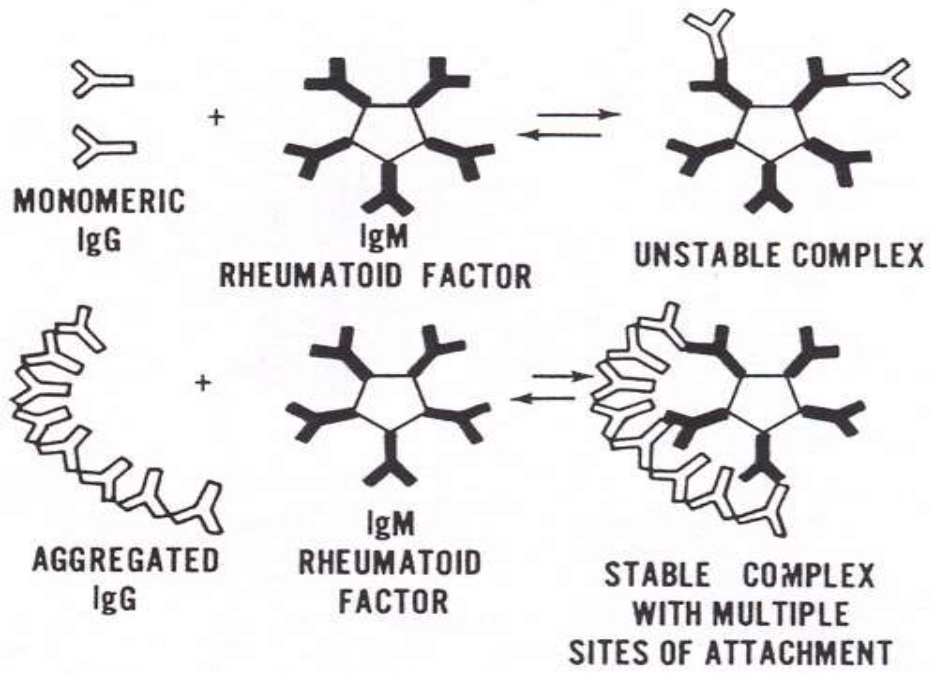
### **Romatoid Faktör (RF)**

İlk kez 1940 yılında Waaler, romatoid artritli hastaların serumlarında IgG antikorları ile duyarlılaştırılmış kırmızı kan hücrelerini aglutine eden bir faktör gözlemiştir (30). Bunu takiben bu faktör romatoid faktör (RF) olarak isimlendirilmiştir. Romatoid faktör, insan IgG moleküllerinin (Şekil 1) Fc bölgesi (CH2, CH3 bölümleri)'ne karşı gelişen antikorlardır (31).

Bu antikorlar, ekstrevasküler bir immun kompleks hastalığı olan romatoid artrit belirleyici antikorlarıdır (31, 32, 33).



*Fab* *Fc*  
 Şekil 1: IgG molekülünün yapısı



Şekil 2: IgG IgM Romatoid faktör IgG veIgM kompleksi

Romatoid artritli hastaların sinovyal sıvıları, çok sayıda immunglobulin agregatları ve azalmış kompleman düzeyleri içerir. Bu bulgular RF'lerin romatoid eklem ve sinovyal dokuda immün kompleks formasyonuna (Şekil 2), kompleman tüketimine ve kronik doku hasarına yol açabileceğini düşündürmektedir (31, 34, 35).

RF, 1987 yılında Amerikan Romatizma Birliği tarafından RA'nın laboratuvar kriterlerine dahil edilmiştir (27). RF'ler IgE, IgM, IgA ve IgG sınıfından olabilirler. En sık görüleni IgM'dir ve RA hastalarının % 60–80'inde bulunur. IgG RF'nin kendiliğinden bağlanma kapasitesi vardır; bu kapasite immün sistemi aktive edebilen çok büyük komplekslerin oluşumuna yol açar (36). Agresif eklem inflamasyonu olan olgularda anlamlı derecede daha sık görülmesine rağmen RF'nin RA semptomları ile doğrudan ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir. Klinik olarak aşikar RA'sı olan hastaların % 20'sinde RF negatif olabilir (32, 33). Ancak RF, RA'ya spesifik değildir ve sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi sistemik romatik hastalıklar, çeşitli bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, kriyoglobulinemi, parazitik hastalıklar ve hatta sağlıklı kişilerde de sıkça bulunur (31, 32, 33). SLE'li hastaların yaklaşık üçte biri RF pozitifdir (32).

RF için duyarlı kantitatif immunassaylere dayanarak bir çok sağlıklı kişide düşük seviyede RF bulunduğuna inanılmaktadır. Bazı RA hastalarında RF, RA'nın belirti ve bulgularının ortaya çıkmasından 6 ay kadar sonra pozitifleşebilir. RF halen RA hastalarını RF pozitif (seropozitif) ve RF negatif (seronegatif) olarak ayırmak için temel testlerden biridir. Bir RA hastasında RF'nin yokluğu reiter sendromu, SLE, enfeksiyonlar ve metabolik hastalıklar gibi diğer artrit nedenlerini araştırmayı gerektirir. RF'nin juvenil romatoid artritte sıklıkla negatif olduğu unutulmamalıdır.

RF negatif erişkin RA'lerin bazıları, juvenil romatoid artritinin yetişkin yaşta başlayan formunu temsil edebilir (31, 32, 33).

Monoklonal ve poliklonal RF çalışmalarında, bazı nükleer bileşenler gibi IgG'den başka maddelere karşı polireaktif RF bağlanma spesifitesi gösterilmiştir (32). Polireaktif RF genellikle düşük afinitelidir ve sıklıkla IgM yapısındadır. Çapraz reaktivite özelliklerinin klinik ve genetik önemi iyi bilinmemektedir (33, 37).

RF, romatoid artritli hastaların % 70-80'inde pozitiftir. Pozitif ve yüksek titreye sahip hastalarda hastalık daha ağır seyreder, romatoid nodüller ve vaskülit daha sık görülür. Ancak RA için spesifik değildir.

### ***Romatoid Faktörün pozitif olduğu hastalıklar***

**- Romatizmal hastalıklar;** RA, SLE, skleroderma, mikst konektif bağ dokusu hastalıkları (MBDH), sjögren sendromu, juvenil romatoid artrit, psöriatik artrit, gut

**-Viral enfeksiyonlar;** AIDS, enfeksiyöz mononükleaz, hepatit, influenza, aşılama

**-Paraziter enfeksiyonlar;** Tripanozomiazis, malarya, şistozomiazis, filariazis

**-Kronik bakteriyel enfeksiyonlar;** Tüberküloz, lepra, sifiliz, brusella, subakut bakteriyel endokardit, salmonella

**-Kanserler;** Lenfoma, lösemi, myelom, kemoterapi ve radyoterapi sonrası

**-Diğer hiperglobulinemik durumlar;** Kriyoglobulinemi, karaciğer hastalığı, sarkoidoz vs. (8, 12,13).

RA'ya spesifik olmamasına rağmen RF pozitifliği RA'nın prognozunun belirlenmesinde önemli bir belirteçtir. RF varlığı daha aktif hastalıkla ve kemik erezyonlarının gelişmesi ile ilişkilidir (32, 33 ,38).



## ***RF'nin IgA ve IgM izotipleri***

Geleneksel aglutinasyon yöntemleri genellikle IgM-RF'yi ölçer. IgG ve IgA gibi izotipler enzim bağlı immunosorban incelemeler (ELISA) veya radyoimmunoassaylerle tespit edilebilirler (39). Jonsson ve arkadaşları, IgM ve IgA izotiplerinin kombine yükselmesinin RA için yüksek spesifitede olduğuna ve RA dışı hastalıklarda nadir görüldüğüne dair bulgular elde etmişlerdir. Bu çalışmada, RA hastalarında diğer RF pozitif hastalarla karşılaştırıldığında iki veya daha fazla RF izotipinde yükselme tespit edilmiştir. IgM ve IgA RF'nin kombine yükselmesi RF pozitif RA hastalarında % 52 oranında bulunurken diğer RF pozitif hastaların yalnızca 2'sinde (% 4) bulunmuştur (40,41). Jonsson ve arkadaşları, RA spesifik RF izotipi paterninin tespitinin hastalığın kliniği tamamen farklılaşmadan, RA'nın erken döneminde özellikle yardımcı olabileceği sonucuna varmışlardır (41,42).

Çalışmaların bir çoğu, IgA RF pozitifliğinin daha aktif RA, artmış eklem hasarı ve daha yüksek eklem dışı tutulum sıklığı ile ilişkili olduğunu ileri sürmektedirler (42). Ancak, diğer çalışmalar IgA RF pozitifliğinin daha agresif RA ve artmış eklem hasarı ile ilişkili olmadığını bildirmektedirler (39).

Houssien ve arkadaşları, RF'yi ölçmek için farklı antijenlerin kullanımının RF izotipleri ve klinik değişkenlik arasındaki ilişkileri değiştirip değiştirmediğini araştırdılar. IgM ve IgA RF izotipleri tavşan IgG ve at IgG antijenleri ile ölçüldü. Tavşan IgG'sine karşı IgA RF ve IgM RF'leri pozitif olan RA hastalarında, negatif hastalara göre hastalık aktivitesi ve radyolojik hasar oranı daha yüksekti. At IgG'sinin antijen olduğu ölçümlerde bu farklılıklar benzerdi veya yoktu. Yalnızca IgM RF'si pozitif olan hastalarda hastalık, IgA RF pozitif (IgM RF (+) veya (-)) hastalardan daha hafif seyrediyordu (39).

Jonsson ve arkadaşları (43), IgA RF subklaslarının klinik etkilerini araştırdılar. IgA RF'si yüksek olan RA hastalarının neredeyse tümünde (39,40) her iki IgA RF subklasında artış gözlediler, diğer grupta bu oran % 67 idi ( IgA RF'si yüksek olan bireyler için romatik olmayan semptomların 20/30'u). Eklem dışı tutulumu olan RA hastalarında, IgA RF ve her iki subklasın konsantrasyonlarının yüksek olmasına eklem dışı lezyonları olmayan hastalara göre daha sık rastlanır. Her iki IgA RF subklasının konsantrasyonlarındaki yüksekliğin RA için IgA RF yüksekliğinden daha spesifik olabileceğini bulmuşlardır.

IgG RF, şiddetli RA'sı olan hastaların bir çoğunun serum ve sinovyumunda bulunur (44). IgG RF için rutin ölçüm yöntemlerinde bazı zorluklar mevcuttur: IgG RF'nin kolayca ölçülebilmesi için ortamda sıklıkla mevcut olan polivalan IgM RF'nin jel filtrasyonu veya diğer yöntemlerle ortadan kaldırılması gerekir.

IgG RF soğukta çökebilir, sıklıkla monoklonaldır ve kriyoglobulinemi veya RA dışı hastalıklarda da tespit edilebilir (45). Romatoid vaskülit veya hiperviskozite sendromu olan hastalarda IgG RF seviyeleri tedaviye yanıtın izleminde yardımcı olabilir (46).

### ***Anti- sitruline protein antikorları***

- Antiperinükleer faktör (APF)
- Antikeratin antikorları (AKA)
- Antifilagrin
- Anti- CCP

RA hastalarının çok yüksek bir oranında sitruline peptidlere karşı gelişmiş IgG antikorlarının bulunduğu gözlemine son zamanlarda büyük ilgi gösterilmektedir. Bu anti-sitrulin antikorları RA'da nispeten daha erken ortaya

çıkarlar (47) ve hastalık için yüksek oranda özgündürler (% 98) (4). Birçok farklı laboratuvar tarafından yapılan bir seri çalışmada bu antikörlerin hedefinin, memeli deri ve özefagus epitel hücrelerinin terminal diferansiyasyonunun ileri safhalarında eksprese edilen bir protein olan filagrin olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu antikörlerin posttranslasyonel olarak değiştirilmiş veya sitruline edilmiş filagrini hedef aldıkları da bulunmuştur (1,48).

Posttranslasyonel sitrulinasyon işlemi belirli polipeptidlerdeki argininlerin deiminasyonunu içerir ve  $Ca^{++}$  bağımlı peptidilarginin deiminaz (PAD) enzimi tarafından katalize edilir (49). Bu biyokimyasal işlem sonucu, pozitif yüklü argininler polar ama yüksüz sitrulinlere dönüşür. Sitruline edilmiş peptidlerin yapılarındaki bu değişimler bunları RA'daki IgG antikörlerinin hedefi haline getirir. Arginin içeren bu peptidler değişen özellikleri sayesinde, paylaşılan epitopu (SE) eksprese eden MHC Klas II moleküllerindeki P4 olarak bilinen pozitif yüklü peptid-bağlayıcı pakete 100 kat fazla afinite ile bağlanabilirler (ör; HLA- DRB1\* 0101, 0401 ve 0404) (50). RA için koruyucu olan HLA-DRB1\*0402 aleli, arginin (51) ve muhtemelen sitruline bağlanabilen negatif yüklü bir P4 bağlayıcı pakete sahiptir. Bu kompleks için yüksek afinitesi olan T hücreleri bu nedenle periferik lenfoid dokularda eksprese edilmezler. Bu da HLA-DRB1\*0402 aleli olan hastaların neden RA kliniği geliştiremeyeceğini açıklayabilir. DR4-IE transgenik fareler, sitruline edilmiş peptidlerle duyarlılaştırıldığında, RA'daki bağışık yanıtın önemli bir bölümünü teşkil ettiği düşünülen CD4 Th1 yanıtları üretmişlerdir. Bu gözlemler, sitruline edilmiş peptidlere karşı oluşan bağışık yanıtın SE'yi kodlayan MHC Klas II genleri tarafından yönlendirildiğini vurgulamaktadır. Bu bulgular, RA'lı hastalarda yapılan ve anti-sitrulin antikörleri ile SE arasında güçlü bir ilişki olduğunu gösteren diğer çalışmalarla uyumludur (52). Bu deneysel gözlemler RA'da sık gözlenen iki özellik ile bağlantılıdır: SE'nin

yüksek eksprese edilme oranı ve anti-sitrulin antikorların sık ve oldukça spesifik olarak bulunması.

Bu bulguların RA patogenezi ile bağlantısı nedir sorusu gündeme gelebilir. Birçok deneysel gözlem, sitruline karşı oluşan bağışık yanıtın RA inflamasyonunun patogenezinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. Öncelikle, RA'lı hastaların sinovyal dokusunda sitruline edilmiş proteinlerin (fibrinojenin sitruline edilmiş alfa ve beta zincirleri ve sitruline edilmiş vimentin) bulunduğu gösterilmiştir (53,54). Sitruline edilmiş proteinlerin, RA hastalarının derin sinovyal dokularındaki interstisyel birikimlerde ve sinovyaldaki monosit/makrofaj benzeri hücrelerin sitoplazmalarında bulunduğu düşünülmektedir (53,55). Benzer şekilde bazı deneysel artrit modellerinde sitruline edilmiş proteinler sinovyal dokuda bulunabilir (56) ki bu durum inflamasyonun bu işlemi belki de PAD (peptidilarginin deiminaz) aktivitesini artırarak düzenlediğini düşündürmektedir. Uygun bir konakta (ör; SE eksprese eden bir kişi) bu sitruline edilmiş proteinler, eklemdaki yerel immün yanıtın hedefi olabilirler. SE için transgenik olan farelere sitruline edilmiş fibrinojenin verilmesi ile RA'ya benzeyen artrit indüklenebileceği gösterilmiştir. Transgenik olmayan farelerde veya sitruline edilmemiş ve değiştirilmemiş fibrinojen verilen farelerde ise artrit indüklenememiştir (57).

Devam eden çalışmalar, PAD ekspresyonunu etkileyen genetik faktörlerin RA hastalarında bulunabileceğini düşündürmektedir. Bu PAD haplotipindeki RA hastaları sitruline edilmiş peptidleri daha yüksek oranda üretebilirler, bu da MHC Klas II SE'si olan genetik olarak yatkın kişilerde Th hücrelerinin ve IgG anti-sitrulin antikorlarının aktivasyonu ile sonuçlanabilir. Sitruline edilmiş proteinler inflamasyonlu sinovyal dokuda üretildiklerinden (56), bu antijenler immün sistem tarafından hedef görülerek kronik inatçı sinovite neden olabilecek inflamatuvar işlemi başlatabilirler. Eğer sitruline karşı gelişen bağışık yanıt RA'nın başlamasında ve devam etmesinde önemli bir rol oynuyorsa, bu

yolakları hedef alan yeni tedavi şekilleri geliştirilebilir. En belirli hedeflerden biri, sinovyumdaki sitruline edilmiş peptidlerin üretiminden sorumlu olan bir veya daha fazla PAD izoenzimi aktivitesinin baskılanması veya bloke edilmesidir. Diğer yaklaşımlar, IgG anti-sitrulin antikörlerinin üretimine yol açan CD4 Th yanıtlarının manipüle edilmesi olabilir. Hayvan modellerindeki artritlerde yapılmakta olan bu çalışmalar, RA patogenezinin kavranmasında yeni bir sayfa açmakta ve tedavisi için yeni stratejilerin geliştirilmesini öngörmektedir.

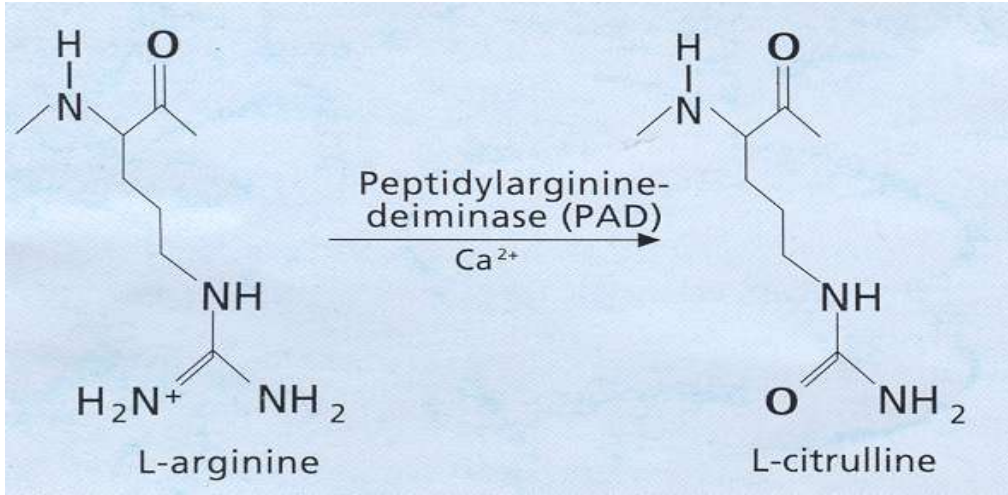
1964 yılında diferansiye olan bukkal mukoza hücrelerinin sitoplazmasındaki keratohiyalin granüllerde bulunan bir protein bileşenine karşı gelişen yüksek derecede spesifik bir RA antikör sistemi tanımlanmıştır. Antijen, perinükleer faktör antikörün aktivitesi de antiperinükleer faktör (APF) olarak isimlendirilmiştir (59). APF antikörleri nispeten yüksek bir sensitivite (çalışılan hasta grubunda RA hastalarının %49-91'inde bulunuyorlardı) ile güçlü bir spesifiteyi (%73-99) göstermekteydi (60).

APF testi çeşitli uygulama elverişsizlikleri nedeniyle popüler hale gelememiştir. Perinükleer faktör içerecek kadar diferansiye olabilmiş bukkal mukoza hücresi elde edilebilmesi güçlüğü ve antikör aktivitesinin yalnızca indirekt immunfloresan tekniği ile ölçülebilmesi zorlukları oluşturur (60).

1979 yılında stratum korneumun keratinize epiteline yönelen RA'ya spesifik antikörler tanımlanmıştır (61). Bu antikörler, antijenik substrat olarak sıçan ve insan özefagusunu kullanan indirekt immunfloresan yöntemi ile RA serumlarının % 36-59'unda % 88-99 spesifite ile tespit edilebilir (60, 61). Birçok çalışma APF ve AKA antikörlerinin aynı antijeni hedeflediğini göstermiştir, epitelyal protein filagrin (62). AKA'nın sensitivitesi APF'den düşük olmakla birlikte, her iki antikörün varlığı ve titreleri birbiri ile, RF'nin varlığı ile ve hastalığın şiddeti ile koreledir (63).

APF ve AKA'nın ortak antijeni olan filagrin, epitelyal hücrelerin sitoskeletal yapılarının organizasyonunda yer alır (çok rijit sitoskeletal yapıları oluşturmak üzere keratin filamanlarını çapraz bağlar). 10-12 filagrin alt ünitesi içeren büyük, yoğun bir şekilde fosforile edilmiş öncü protein profilagrinden sentezlenir (64). Epitelyal hücrelerin diferansiyasyonu sırasında profilagrinden defosforilasyon, sitrulinasyon ve proteolitik olarak 10-12 filagrin alt birimine yıkılmayı içeren çok basamaklı bir süreçten geçer (65,66). Son olarak oluşan filagrin alt üniteleri, keratinleri proteolitik degradasyondan koruyan yoğun makrofibriller oluşturmak üzere keratin filamanlarına bağlanırlar (67,68). Sonunda, arginin rezidülerinin %20 kadarı enzimatik olarak sitrulin rezidülerine deimine edilir (64). Temel aminoasit argininin nötral rezidü sitruline dönüşümü peptidilargininin deiminaz tarafından katalize edilir (Şekil 3).

Filagrinin otoantijenitesinde son derece önemli olduğu gösterilen modifikasyonu budur (1,48).



**Şekil 3: Peptidil-argininin, peptidil-sitruline enzimatik dönüşümü**

### **Sitruline Spesifik Aktivite**

Olgun filagrinin APF ve AKA antikollarının hedefi olduğu bilgisine dayanarak (69, 70, 71), sentetik sitrulin içeren peptidler geliştirilmiş ve RA serumu ile etkileşimleri test edilmiştir (1). Sitrulin, protein translasyonu sırasında protein yapısına katılmadığından standart olmayan bir aminoasittir. Ancak, peptidilarginin deiminaz enziminin (PAD; EC 3.5.3.15) katalize ettiği arginin rezidülerinin post-translasyonel modifikasyonu ile üretilebilirler (49). Enzim bağlı immunosorban tekniği (ELISA) ile filagrin dizilerinden elde edilen sitrulin içeren bir peptid kullanılarak, RA'lı hasta serumlarının yaklaşık % 48'inde % 98 spesifite ile antikollar saptanmıştır. Yalnızca sitrulin içeren peptidler reaktif olup sitrulinin başka bir aminoasit ile değiştirildiği peptidler pek aktif bulunmamıştır; bu durum sitrulin grubunun APF ve AKA tarafından tanınan antijenik determinant olduğuna işaret etmektedir (1).

Bu veriler, sıçan özefagusundan veya insan epidermisinden saflaştırılan filagrinin hem RA serumu hem de spesifik anti sitruline protein antikolları ile etkileştiğini gösteren gözlemlerle desteklenmiştir (48).

RA serumu, sitrulin içeren farklı peptidlere karşı belirgin şekilde çeşitli reaktivite modelleri göstermektedir; bu da sitrulin rezidülerini içeren aminoasitlerin epitop antijenitesindeki önemine ve APF , AKA gibi anti-sitruline protein aktivitelerinin şiddetli poliklonal yanıtlar olduğuna dikkati çekmektedir (1). Bu antikolların RA'lı hastaların sinovyumlarında lokal olarak üretildikleri belirtilmiştir. Bu durum RA hastalarının sinovyumlarında anti-sitruline proteinlere spesifik B hücrelerinin antijenle indüklenen maturasyonuna yol açan sitruline proteinlerin varlığını dūřündürmektedir. Ancak filagrin sinovyumda değil epitelyal hücrelerin diferansiyasyonunda salınmaktadır (72). RA serumunda filagrin benzeri olmayan çođu sitrulin içeren (sitruline edilmiş) protein/peptidin, RA serumundaki antikollar tarafından tanınacağı ve hepsinin farklı sensitivite ve spesifitede olacağı ileri sürülmüştür. Filagrin eklemde bulunmadığından sitrulin içeren başka proteinlerin RA sinovyumunda

bulduğunu ileri sürmek mantıklı olur. Bu nedenle anti-filagrin antikorlarının (AFA) bir veya daha fazla sinovyal sitruline proteine karşı gelişen bir yanıtın köken aldığı ve sitruline filagrin ile reaksiyonlarının çapraz etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir. Filagrin, alt üniteleri arasında yoğun dizilim varyasyonu gösteren (~ % 40) oldukça heterojen bir proteindir (64). Ayrıca, değişken fosforilasyon (filagrin alt ünitesi başına ortalama 22 potansiyel fosforilasyon bölgesi) (64) ve değişken sitrulinasyon (73) aşırı yük heterojenitesine yol açar. Bu özellikler nedeniyle filagrin, sitruline epitoplara doğal bir kütüphanesi olarak tanımlanabilir. Bu özelliği onu sinovyal sitruline proteinlerin bir taklidi yapar. RA yağ dokusunda, AFA'lar yerel plazma hücreleri tarafından üretilirler ve serumdan daha yüksek düzeyde bulunurlar (74). Bundan başka, anti-CCP pozitif RA hastalarının sinovyumundaki B hücreleri spontan olarak anti-CCP antikorları üretirken, periferik kan B hücreleri veya anti-CCP negatif RA hastalarının B hücreleri üretmezler (75). Bu durum, RA inflamasyon bölgesinde CCP-spesifik B hücrelerinin antijenle yönetilen bir maturasyona uğradığını düşündürmektedir. Bu muhtemel antijenlerden biri, sitruline edilmiş fibrin yeni tanımlanmıştır (53). Sitruline edilmiş fibrinin ve diğer sitruline edilmiş antijenlerin RA patofizyolojisindeki muhtemel rolü henüz açıklığa kavuşmamıştır (76).

### **Diagnostik Potansiyel**

APF ve AKA testleri, elverişsiz olmaları ve çaba gerektiren immunfloresan test formatları nedeniyle rutin diagnostik testler olmaya aday değildirler. Bu problemin üstesinden gelmek amacıyla filagrini antijenik substrat olarak kullanan teknikler geliştirmek için birçok atılımda bulunulmuştur. Antijen olarak insan derisinden saflaştırılan filagrini antijenik substrat olarak kullanan immunoblot ve ELİSA (enzim bağlı immunosorban assay) teknikleri antifilagrin antikorlarının (AFA) tespit edilmesi için



geliştirilmiştir. Bu tekniklerle AFA'lar RA serumlarında % 41 oranında % 99 spesifite ile tayin edilmiştir (77, 78).

AFA immunblot tekniği ile AKA testi birleştirildiğinde spesifite kaybına neden olmaksızın daha yüksek bir sensitivite (% 64) elde edilebilmiştir (77). Ancak, yöntemin sensitivitesi filagrinin saflaştırılması metoduna bağlı gibi görünmektedir. Slack ve arkadaşları, iki farklı filagrin preparatı için % 12 ve % 16'lık sensitivite hesaplamıştır; beş pozitif serumdan yalnızca bir tanesi her iki preparatla da reaksiyon göstermiştir (79). Bu durum tekniklerin major dezavantajlarını yansıtmaktadır; saf olan ve çoğaltılabilir bir sitrulin içeriği olan antijen preparatı hazırlamak güçtür. Nogueire ve arkadaşları, klasik AKA immunfloresan, filagrin immunblot, insan derisinden saflaştırılan filagrinle yapılan ELİSA ve PAD ile in vitro sitruline edilen rekombinan insan flagrinini kullanan ELİSA için sırasıyla % 40, % 37, % 22 ve % 31 sensitivitesi olan (% 99 spesifitede) dört farklı AFA tekniğini karşılaştırdılar. Teknikler arasındaki uyumluluğu orta derecede buldular (korelasyon katsayısı 0,50-0,86 arasında) (80). İn vitro sitruline edilen rekombinan sıçan filagrinini kullanan daha sofistike bir ELİSA tekniği yakın zamanda tanımlandı, bu tekniğin sensitivitesi % 62, spesifitesi % 99 idi (81). AFA teknikleri için rekombinan filagrinin in vitro sitrulinasyonu ile nitelikli bir substrat elde edilebilir. Buna rağmen, saflaştırılmış rekombinan filagrinin yeterli miktarlarının hazırlanması çok çaba gerektiren ve özel bir iştir ve in vitro sitruline edilmiş proteinlerle bile yeterli sitrulin içeriği olan laboratuvarlar arası standardizasyonun bozulması ile sonuçlanabilir. Sentetik sitruline edilen peptidler kullanıldığında bu problemler oluşmaz çünkü bu durumlarda doğru epitoplara bilinmektedir (1, 4).

### **CCP-1 ve CCP-2 sistemleri**

Sitrulin içeren peptid ELİSA'nın sensitivitesini arttırmak amacıyla (1), sitrulin grubunun antikor bağlanması için optimal olduğu bir yapının sağlanması

için peptidler modifiye edilmiştir. Sitruline edilmiş siklik bir peptid (CCP) ile antikorlar RA serumlarının % 68'inde çok yüksek bir spesifite (% 98) ile tespit edilmiştir (4). Bu filagrinden türetilmiş siklik peptid CCP-1 testinde antijenik substrat olarak kullanılmıştır.

CCP-1 tekniğinin sensitivitesi klasik APF ve AKA tekniklerinden ve çoğu AFA tekniğinden daha yüksek olmakla birlikte, IgM-RF'ninki kadar yüksek değildir (3). Yukarda açıklandığı üzere, CCP-1 peptidi filagrin dizilerinden elde edilmiştir ve filagrin sinovyumda üretilmediğinden anti-sitruline protein antikorlar için doğal antijen olması olası değildir. Filagrinle ilişkisi olmayan diğer peptidler bu nedenle antikorların tespit edilmesi için daha iyi epitoplar sağlarlar. Böyle yeni peptidlerin elde edilmesi için RA serumunda sitrulin içeren peptid grupları taranmıştır (82,83,84). Bu gruplardan yeni sitruline peptidler elde edilmiş ve ikinci kuşak bir CCP testi içine katılmıştır (CCP-2). CCP-2 testi içerisindeki siklik peptid(ler) filagrin veya bilinen başka proteinlerle herhangi bir homolojiye sahip değildir. Bu testin IgM-RF'ye benzer bir sensitivitesi vardır (kronik RA hastalarında oluşan bir grupta % 98,5 spesifite ile % 82 sensitivite, RF'nin sensitivitesi % 80) (85). CCP-2 ELİSA ticari olarak piyasada mevcuttur (Euro-Diagnostika, Arnhem, Hollanda; Axis-Shield, Dundee, İskoçya; İnova, San Diego, ABD) ve bütün şirketler aynı tip CCP-2 peptidini kullandığından standardizasyona kolay ulaşılır. Anti-CCP antikorları daha düşük bir sensitivite (% 40- 60) ile de olsa RA'da çok erken tespit edilebilirler (47,86,87). Anti-CCP iyi bir prognostik belirteç gibi görünmektedir ve eroziv ve noneroziv RA arasında güçlü bir ayırıcı özelliğe sahiptir (88). Anti-CCP antikorları pozitif olan RA hastalarında, anti-CCP negatif hastalardan anlamlı derecede daha fazla radyolojik hasar geliştiği bildirilmektedir. Anti-CCP ve RF birlikte daha iyi bir prognostik belirteç gibi görünmektedir (4,88,89,90).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Romatoloji polikliniğinde izlenen, yaşları 35-65 arasında değişen Romatoid Artritli 60 hastadan; romatoid faktör pozitif (seropozitif) ve romatoid faktör negatif (seronegatif) iki grup, ayrıca sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu çalışma kapsamına alındı. Seropozitif RA'lı hastaların sayısı 30 olup 22'si ( % 73.3) kadın, 8'i (% 26.7) erkekti. Seronegatif RA'lı hastaların sayısı 30 olup 23'ü (% 76.7) kadın, 7'si (% 23.3) erkekti. Hastaların tümü en az 5 yıldır romatoid artrit tanısıyla izlenen hastalardı.

Olgular seçilirken yaş, cinsiyet, tanı zamanı, tedavi süresi, sigara içimi, başka bir sistemik hastalığı olup olmadığı, kullandığı ilaçlar yönünden sorgulandı.

Ortalama 12-16 saatlik açlık sonrasında oturur vaziyette venöz kan örnekleri alındı. ESR ve hemogram için EDTA'lı tüpe; Anti-CCP, RF, ASO, CRP için ayrı ayrı kuru tüplere paylaştırıldı.

Anti-CCP için alınan kan örnekleri oda ısısında 30 dakika bekletildikten sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Anti-CCP serum örnekleri analiz gününe kadar (yaklaşık 1 ay) -20°C'de saklandı.

ASO, CRP ve RF düzeyleri; Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Merkez Bakteriyoloji Laboratuar'ında bulunan Immage 4700 Immunochemistry System Beckman Coulter cihazında nefelometrik yöntemle ölçüldü. ESR, hemoglobin ve lökosit düzeyleri Sysmex SE-9000 cihazıyla ölçüldü.

### **Anti-Cyclic Citrullinated Peptide (Anti-CCP) Ölçümü**

Analiz için serum örnekleri ve kitlerin oda ısısına gelmesi beklendi. Euroimmun firmasının anti-CCP ELİSA kiti ile TECAN ( Columbus) ELİSA cihazında çalışıldı.

### **Test Prensipleri**

Üç aşamalı ELİSA yöntemiyle çalışıldı.

### **Kullanılan Materyaller**

- 1- Antijenle kaplı mikrotest çubukları
- 2- Kalibratörler 1-5 (5x1 ml) (0, 2, 8, 30, 100 RU/ml)
- 3- Referans kontrol (1.5 ml)
- 4- Pozitif kontrol (0.2 ml)
- 5- Negatif kontrol (0.1 ml)
- 6- Enzim konjugatı (Alkalen fosfataz işaretli anti human IgG) (15 ml)
- 7- Numune buffer'i (25 ml)
- 8- Yıkama buffer'i (2x25 ml)
- 9- Substrat (p-Nitrophenylphosphate) (15 ml)
- 10-Reaksiyonu durdurma solüsyonu (1 M NaOH) (15 ml)

**Solüsyonların hazırlanması:** Çalışmaya başlamadan önce tüm solüsyonların oda sıcaklığına gelmesi sağlandı.

***Pozitif ve negatif kontroller:*** Dilüe numune buffer'i ile 1:100 oranında sulandırıldı.

***Numune buffer'i:*** 25 ml'lik numune buffer'i konsantresi 100 ml distile su ile sulandırıldı.

***Yıkama buffer'i:*** 25 ml'lik yıkama buffer'i konsantresi 375 ml distile su ile sulandırıldı.

***Diğer test solüsyonları*** kullanıma hazır.

**Numunelerin hazırlanması:** Serum örnekleri  $1/100$  oranında, dilüe edilmiş numune buffer'i ile sulandırıldı.

**Çalışma Prosedürü:** Kalibratörler, referans kontrolü, sulandırılmış pozitif/negatif kontroller ve dilüe edilmiş hasta örneklerinin her birinden 100 µl kuyucuklara pipetlendi. Oda ısısında (+18°C - +25°C'de) 60 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra kuyucuklar 400 µl yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Yıkama işleminin ardından her bir mikropak kuyusuna 100 µl enzim konjugatı pipetlendi. 30 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra kuyucuklar tekrar 400 µl yıkama solüsyonuyla 3 defa yıkandı. Her mikropak kuyusuna substrat solüsyonundan 100 µl pipetlenip oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. Aynı sırayla her mikropak kuyusuna 100 µl reaksiyonu durdurma solüsyonu pipetlendi. Renk yoğunluğunun fotometrik ölçümü, reaksiyonu durdurma solüsyonu eklendikten sonraki 60 dakika içinde 450 nm'de yapıldı.

**Referans aralığı:** Erişkin kadın ve erkekte anti-CCP'nin ortalama konsantrasyonu, ilgili kitin prospektüsünde  $0.63 \pm 0.42$  RU/ml (relatif unite/ml) olarak bildirilmektedir

< 5 RU/ml=negatif      >5 RU/ml= pozitif

**Spesifite:** Diğer otoantikolarla çapraz reaksiyon gözlenmemiştir. Spesifitesi RA için % 97'dir.

**Sensitivite:** Romatoid artrit için sensitivitesi % 80'dir.

## **İstatistiksel İncelemeler**

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Tukey HDS 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. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p<0,05$  düzeyinde değerlendirildi.

## BULGULAR

Çalışma, Ekim-Kasım 2004 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Romatoloji polikliniğinde görülen, yaşları 35 ile 65 arasında değişen, 45'i kadın (% 73.8) ve 15'i erkek (% 26.2) olmak üzere toplam 60 olgu üzerinde yapıldı. Olgular, seropozitif romatoid artrit grubu (n=30) ve seronegatif romatoid artrit grubu (n=30) olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Kontrol grubu (n=20) sağlıklı bireylerden oluşturuldu.

Çalışmamızın sonuçları tablo VI, tablo VII ve tablo VIII'de toplu halde gösterilmektedir.

1-) Gruplara göre olguların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ) (Tablo I).

2-) Seropozitif olgular ile seronegatif olguların hastalık süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ) (Tablo I).

3-) Gruplara göre cinsiyet dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ) (Tablo I).

4-) ESR düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0,01$ ). Kontrol grubu olgularının ESR düzeyleri, seropozitif ve seronegatif olguların ESR düzeylerinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı düşükken ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ); seropozitif ve seronegatif olguların ESR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p=0,903$ ;  $p>0,05$ ) (Tablo II, Şekil 4).

5-) CRP düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0,01$ ). Kontrol grubu olgularının CRP düzeyleri, seropozitif olguların CRP düzeylerinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı düşükken ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ); seronegatif olguların CRP düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür ( $p=0,017$ ;  $p<0,05$ ).

Seropozitif ve seronegatif olguların CRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p=0,096$ ;  $p>0,05$ ) (Tablo II, Şekil 5).

**6-)** ASO düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Anlamlı bir farklılık bulunmamakla birlikte seropozitif olguların ASO düzeylerinin, seronegatif ve kontrol grubu olgularının ASO düzeylerinden daha düşük olması dikkat çekicidir (Tablo II, Şekil 6).

**7-)** Hemoglobin düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0,05$ ). Kontrol grubu olgularının hemoglobin düzeyleri, seronegatif olgulara göre anlamlı düzeyde yüksekken ( $p=0,033$ ;  $p<0,05$ ); seropozitif olgular ile seronegatif ( $p=0,456$ ;  $p>0,05$ ) ve kontrol grubu ( $p=0,303$ ;  $p>0,05$ ) olgularının hemoglobin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo II, Şekil 7).

**8-)** Lökosit düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ) (Tablo II, Şekil 8).

**9-)** Seropozitif olgulardaki Anti-CCP pozitifliği oranı (% 96.7), seronegatif olgularda anti-CCP pozitifliği oranından (% 26.7) istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir ( $p<0,01$ ). Kontrol grubunda anti-CCP pozitif olgu bulunmamaktadır (Tablo III, Şekil 9).

**10-)** Romatoid faktörün;

Duyarlılığı % 50; özgüllüğü % 100; pozitif prediktif değeri % 100 ve negatif prediktif değeri % 40 olarak saptandı (Tablo IV).

Duyarlılık (Sensitivity): Gerçek hastalar içerisinde testin hastaları belirleyebilme özelliğidir.

Özgüllük (Specificity): Gerçek sağlamlar içinde testin sağlamları belirleyebilme özelliğidir.

Pozitif prediktif değeri: Test pozitif (hasta) sonucu verdiği zaman, olgunun gerçekten hasta olması durumunun koşullu olasılığıdır.

Negatif prediktif değeri : Test negatif (sağlam) sonucu verdiği zaman, olgunun gerçekten sağlıklı olması olasılığıdır.



### 11-) Anti-CCP'nin;

Duyarlılığı % 61,67; özgüllüğü %100; pozitif prediktif değeri %100 ve negatif prediktif değeri % 46,51 olarak saptandı (Tablo V).

Tablo I: Gruplara göre demografik özelliklerin karşılaştırılması

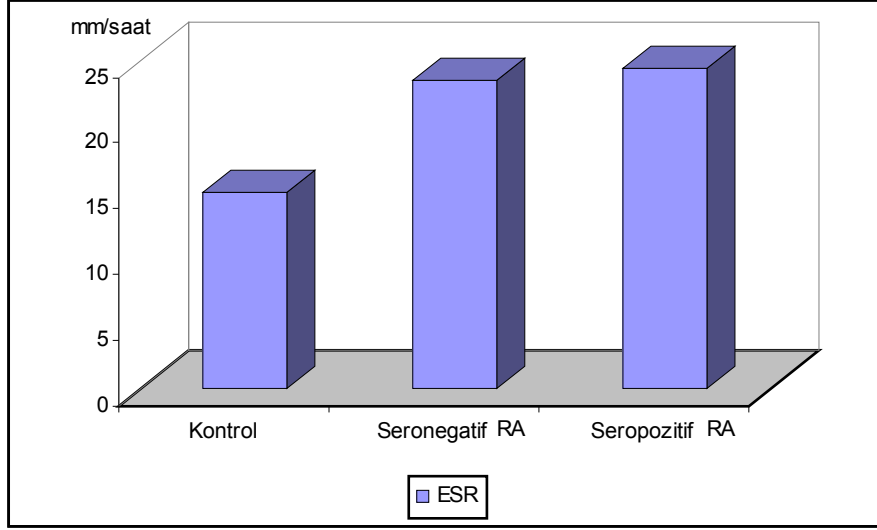
	Kontrol (n=20)		Seronegatif RA (n=30)		Seropozitif RA (n=30)		p
	Ort.	SD	Ort.	SD	Ort.	SD	
Yaş	46,95	8,62	46,90	9,88	51,70	8,81	<b>0,085</b>
Hastalık süresi(yıl)	-	-	8,26	3,84	9,36	3,80	<b>0,175</b>
Cinsiyet	n	%	n	%	n	%	
Kadın	14	70,0	23	76,7	22	73,3	<b>0,869</b>
Erkek	6	30,0	7	23,3	8	26,7	

Tablo II: Gruplara göre karşılaştırmalar

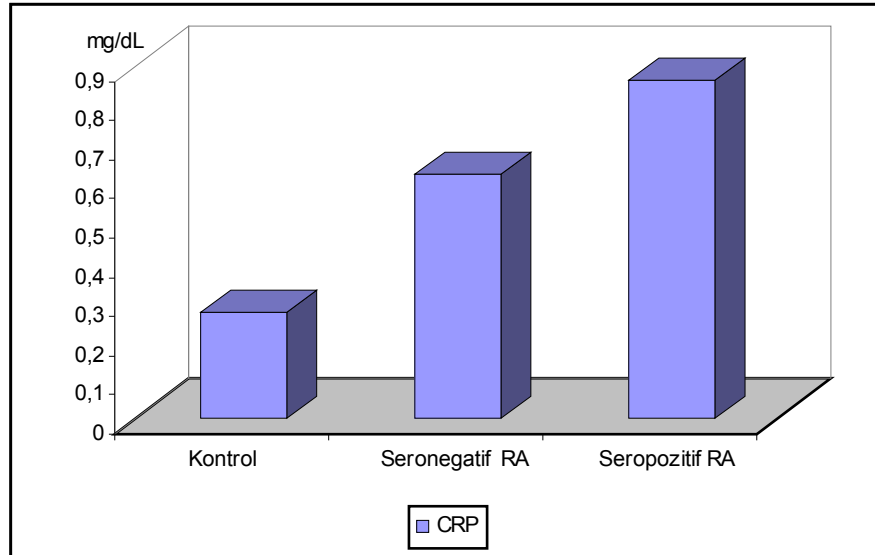
	Kontrol (n=20)		Seronegatif RA (n=30)		Seropozitif RA (n=30)		p
	Ort.	SD	Ort.	SD	Ort.	SD	
ESR	15,00	7,91	23,56	10,94	24,53	6,35	<b>0,001*</b> *
CRP	0,27	0,19	0,62	0,42	0,86	0,55	<b>0,001*</b> *
ASO	103,19	64,91	94,17	73,62	65,42	40,83	<b>0,058</b>
Hemoglobin	13,23	1,39	12,13	1,55	12,59	1,47	<b>0,043*</b>
Lökosit	6279,0	1512,8	7181,6	1942,7	7501,6	1905,3	<b>0,070</b>
	0	9	7	1	7	2	

\*  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı

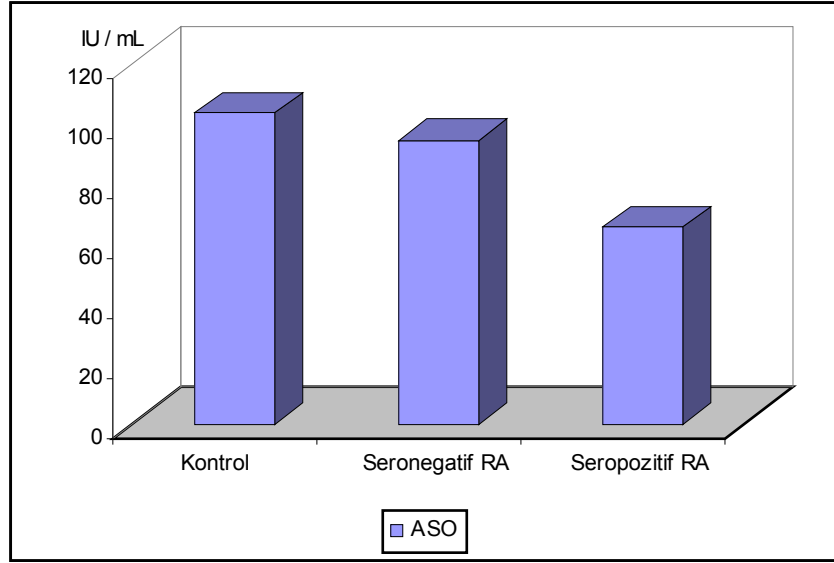
\*\*  $p < 0,01$  ileri düzeyde anlamlı



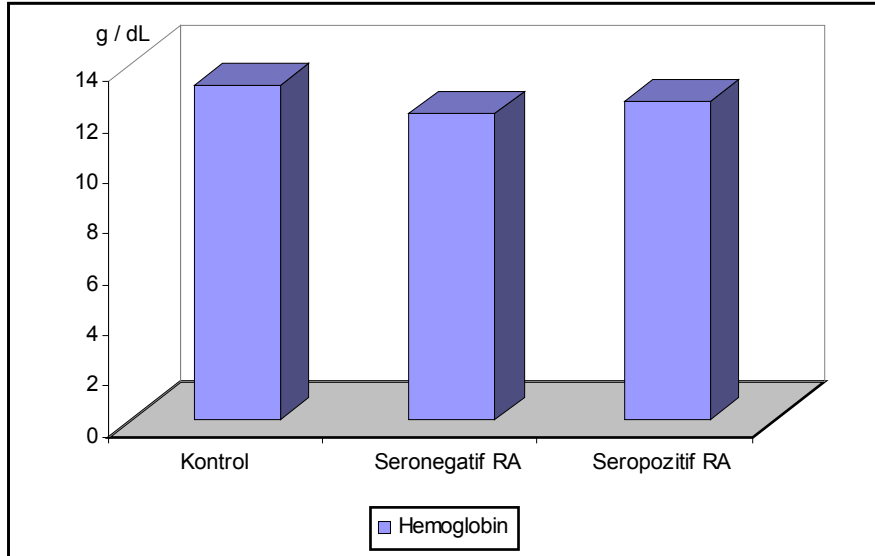
Şekil 4: Gruplara göre ESR düzeyi dağılımı



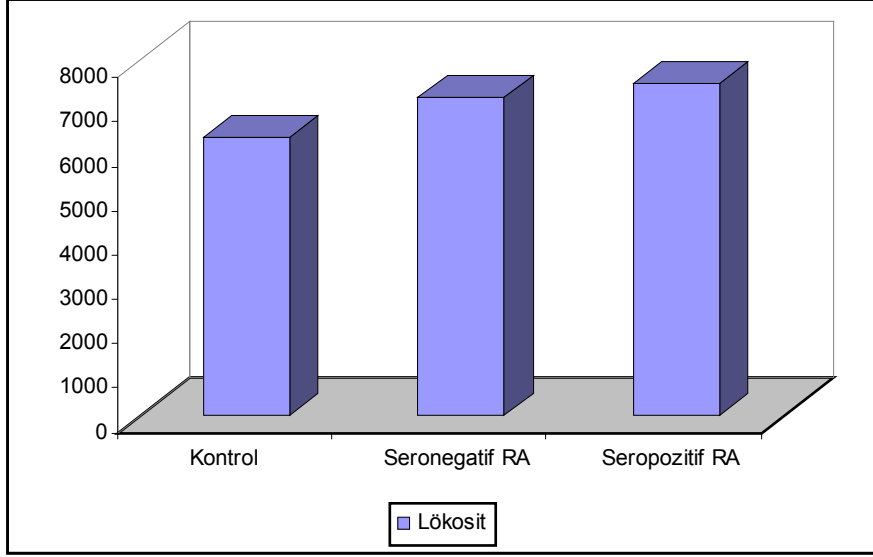
Şekil 5: Gruplara göre CRP düzeyi dağılımı



Şekil 6: Gruplara göre ASO düzeyi dağılımı



Şekil 7: Gruplara göre hemoglobin düzeyi dağılımı

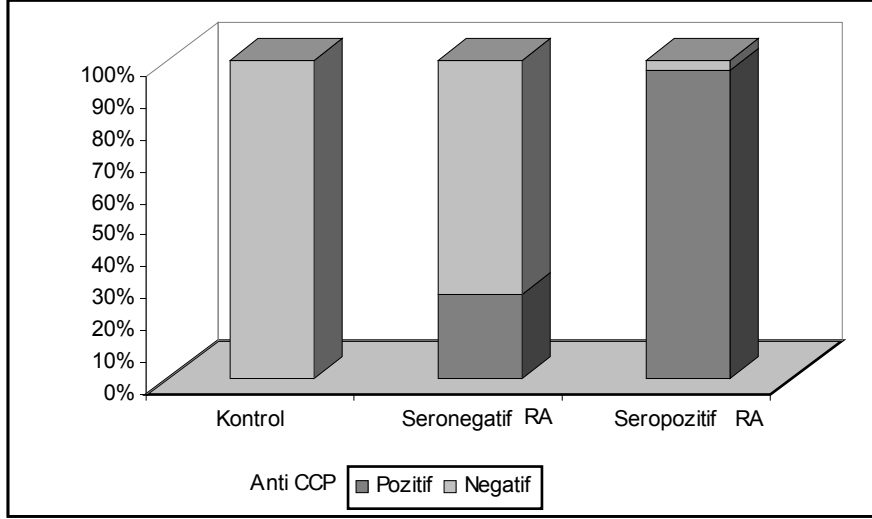


Şekil 8: Gruplara göre lökosit düzeyi dağılımı

Tablo III: Gruplara göre Anti-CCP dağılımı

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

\*\*  $p < 0,01$  ileri düzeyde anlamlı



Şekil 9: Gruplara göre Anti-CCP dağılımı

Tablo IV: Gruplara göre RF değerlendirmesi

		Gruplar		Toplam
		Kontrol	Romatoid Artrit	
Romatoid Faktor	Pozitif	-	30	30
	Negatif	20	30	50
<b>Duyarlılık</b>		50,0		
<b>Özgüllük</b>		100,0		
<b>Pozitif prediktif değeri</b>		100,0		
<b>Negatif prediktif değeri</b>		40,0		

Tablo V: Gruplara göre Anti-CCP değerlendirmesi

		Gruplar		Toplam
		Kontrol	Romatoid Artrit	
Anti-CCP	Pozitif	-	37	37
	Negatif	20	23	43
Duyarlılık		61,67		
Özgüllük		100,0		
Pozitif prediktif değeri		100,0		
Negatif prediktif değeri		46,51		

Tablo VI: Kontrol grubu sonuçları

Adı Soyadı	E/K	Yaş	RF (IU/mL)	Anti-CCP (RU/mL)	ESR (mm/sa)	CRP (mg/dL)	ASO (IU/mL)	Hb (g/dL)	Lökosit
İ.A	K	35	<20(-)	0,04	28	0,333	188	10,8	7400
K.G	K	55	"	0,01	20	0,39	109	11,7	4740
F.Y	K	65	"	0,02	25	0,571	174	14,2	7400
S.Y	K	55	"	0,375	15	0,18	166	12,2	8040
S.Y	K	45	"	0,075	10	0,4	284	13,4	7620
B.D	K	38	"	0,225	8	0,1	38,6	11,5	5670
G.Ç	K	40	"	0,04	13	0,17	76	12,3	6020
N.S	E	45	"	0,1	8	0,1	101	14	4650
S.K	K	50	"	0,05	9	0,1	25	14,1	6590
C.Ö	E	63	"	0,375	10	0,451	69,8	15,6	7860
S.G	K	38	"	0,25	14	0,1	30,4	13,1	7400
T.K	K	45	"	0,1	20	0,797	144	14,9	8300
M.K	K	49	"	0,125	13	0,181	55,3	12,3	3840
Y.K	K	52	"	0,15	9	0,1	57,2	14,3	8120
B.Ç	E	44	"	0,01	10	0,2	70	15,1	5620
M.C	E	52	"	0,025	12	0,162	85	14,2	4890
E.Y	E	35	"	0	14	0,306	69	14,7	6440
A.Y	K	37	"	0,2	3	0,175	163	11,6	3920
N.K	K	45	"	0,375	25	0,475	66,5	12,1	6990
M.D	E	51	"	0,025	34	0,164	92	12,5	4070

Tablo VII: Seronegatif RA'lı hasta grubu sonuçları

Adı Soyadı	E/K	Yaş	Hastalık Süresi (Yıl)	RF (IU/mL)	Anti-CCP (RU/mL)	ESR (mm/sa)	CRP (mg/dL)	ASO (IU/mL)	Hb (g/dL)	Lökosit
N.K	K	54	15	<20(-)	3,557	32	1,64	58,1	11,8	7060
B.T	K	60	5	"	0,8	18	0,518	196	12	6240
S.U	K	50	5	"	0,425	40	0,983	29,5	12,3	6450
M.Ü	K	60	6	"	0,5	8	0,137	75,9	13,3	3100
N.Ş	E	35	5	"	0,125	22	0,56	78,6	11,8	6510
A.Ç	K	50	5	"	82,701	31	0,452	51,6	11,2	7360
K.S	K	55	10	"	15,355	9	0,1	97,1	13,2	6930
N.K	K	43	13	"	0,65	26	0,254	58,5	10,3	6600
S.D	K	48	15	"	9,921	29	0,81	25	12,9	9900
A.A	K	43	9	"	7,696	40	0,661	45	13,6	7380
H.C	K	55	6	"	0,1	28	0,759	93,1	9,5	4580
Y.Y	K	41	5	"	1,525	14	0,649	25	12,2	9390
A.K	E	65	5	"	0,5	22	0,387	27,1	12,6	6220
Ö.G	K	35	5	"	0,55	17	0,277	169	13,1	11070
N.T	K	35	5	"	0,525	7	0,208	109	8,5	6550
Ş.D	K	58	15	"	0,3	23	1,48	79,3	13,1	7190
S.Y	K	48	5	"	14,591	32	1,1	54,8	12	5880
E.Ç	E	64	15	"	1,575	35	1,05	40,5	10,5	6200
C.E	E	65	11	"	110	30	1,39	25	11,7	9800
T.D	K	38	5	"	0,05	32	1,13	115	11,5	11180
C.S	E	35	5	"	22,929	11	0,593	80,4	15,8	6720
S.G	K	42	10	"	0,3	35	0,156	109	12,6	8830
G.Ş	K	36	12	"	0,275	4	0,234	65,5	12,5	5580
H.B	E	35	6	"	0,225	4	0,374	313	15,2	7220
D.A	K	43	6	"	1,8	32	0,65	29,2	11,7	6690
A.D	K	42	5	"	0,04	20	0,33	70,9	12,3	5900
A.Z	K	40	7	"	0,04	10	0,1	117	12,7	6250
S.K	E	42	15	"	0,075	31	0,491	112	10,1	10980
A.T	K	38	9	"	5,911	33	0,376	168	10,2	7110
Ş.T	K	52	8	"	0	33	0,891	307	13,8	4580

*Tablo VIII: Seropozitif RA'lı hasta grubu sonuçları*

Adı Soyadı	E/K	Yaş	Hastalık Süresi (Yıl)	RF (IU/mL)	Anti-CCP (RU/mL)	ESR (mm/sa)	CRP (mg/dL)	ASO (IU/mL)	Hb (g/dL)	Lökosit
H.Y	K	44	15	66,5	2,911	33	0,576	92,7	12	6450
F.H	K	61	5	69	16,577	29	0,19	25	12,3	6790
F.G	K	52	10	169	64,015	17	0,588	33,9	12,5	6030
A.K	K	60	5	36,9	7,165	12	0,403	74,8	12	6670
H.A	E	38	5	53,8	110	30	1,02	62,4	11,5	4860
A.S	K	63	8	27,3	13,325	17	1,39	142	13,8	7920
P.C	K	58	5	39,6	7,848	31	1,22	182	13,2	11410
H.A	E	61	6	28,2	96,204	30	1,6	25	13,9	9660
M.B	K	56	6	102	18,389	10	0,244	75,3	12,3	4890
İ.Ş	E	52	7	24,6	19,895	24	0,353	48,7	11,7	6270
H.T	K	40	15	151	47,299	32	1,5	44,3	10,9	10450
M.K	E	57	9	145	93,431	18	0,543	112	14	6860
T.K	K	49	5	62,6	14,7	20	0,38	69,1	8,9	8480
S.A	K	58	6	155	120	26	1,34	59,4	12,7	9470
A.Ö	K	44	10	58,8	17,8	29	1,1	103	11,3	6740
H.K	E	36	12	60,1	42,993	21	1,23	52,4	15,4	9160
Z.D	K	65	14	47,4	17,821	23	0,931	36,3	14,7	6480
D.B	K	65	14	160	125	17	0,325	25	15,5	6770
S.A	K	50	15	167	36,35	30	0,747	25	12,9	5520
D.A	K	55	8	68	24,5	29	0,346	38,7	9,9	5880
N.İ	K	38	15	177	130	28	1,39	25	10,9	6980
L.Y	K	36	6	105	110	27	0,1	50,5	13	7300
B.S	K	57	5	47,1	40,803	18	1,1	25	12,9	6740
N.A	E	60	10	69,6	108	20	0,309	38,7	13,2	4690
S.T	K	55	10	27,6	20,026	29	0,55	122	12,8	11700
M.K	E	64	15	33,7	10,183	26	1,27	138	13,3	10910
Ş.A	E	65	7	25,1	110	30	2,51	71,7	13,7	7620
G.Y	K	48	10	25,1	120	20	0,66	77,5	12	8280
N.Ş	K	58	8	21,7	100	27	0,602	59,8	13,4	6370
S.Ö	K	46	15	22,4	105	33	1,31	27,4	11,2	7700



## TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya popülasyonunun yaklaşık %1'ini etkileyen, en yaygın otoimmün hastalıklardan biri olan RA, tanı ve tedavide geç kalınması neticesi sakatlıklara yol açan bir hastalıktır. RA tanısının erken konulması, tedavi ile eklem dokusundaki hasarın önüne geçilebilmesi açısından çok önemlidir. Tipik semptomları olan hastalarda tanı, sıklıkla hastalığın ilk yılında kolaylıkla konulabilir. Fakat çoğu zaman hastalığın ilk döneminde klinik semptomlar belirgin değildir. Atipik ilerleme gösteren semptomları olan birçok hastada RA tanısı için uzun zaman geçebilir. Bu nedenle tanı için spesifik ve sensitif serolojik testlere ihtiyaç vardır.

RA şüphesi olan vakalarda bugüne kadar en yaygın kullanılan test RF'dir. RF, RA için sensitif fakat spesifik olmayan bir parametredir. RA dışında, diğer otoimmün hastalıklarda, çeşitli enfeksiyonlarda ve sağlıklı kişilerde de sıklıkla yüksek serum düzeyleri saptanmaktadır. Bu nedenle tanısız değeri düşüktür.

RA için iyi bir serolojik belirteç, hastalık için yüksek spesifitede olmalı ve RA'yı diğer artritlerden ayırabilmelidir. Schellekens ve arkadaşlarının RA'lı hasta gruplarında, başka romatizmal hastalığı olan hastalarda, enfeksiyöz hastalığı olan kişilerde ve sağlıklı bireylerde anti-CCP'yi ölçtükleri orijinal çalışmalarında anti-CCP antikörlerinin RA için çok spesifik (% 98) olduğu sonucuna vardılar (4).

Bu çalışmanın ardından Bizarro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarla bu sonuçlar doğrulandı (87). Bas ve arkadaşları 179 RA'lı hasta ve 50 kontrol grubunda RF, anti-CCP ve AKA'yı araştırdılar. Bu çalışmanın sonuçlarına göre Anti-CCP'nin spesifitesi % 96, AKA'nın % 94 ve RF'nin ise % 74 bulundu (91).

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 (92).

Anti-CCP antikor titrelerinin seviyesi göz önüne alındığında spesifitenin neredeyse mutlak olduğu görülür. Bizarro ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 232 kontrolün 7'sinde (% 3) anti-CCP testi pozitif bulunmuştur. Üçünde titrelerin yüksek olduğu görülmüştür (>1000 ünite; anti-CCP için cut-off 50 ünite). İyi bir muayeneden sonra bu üç hastanın ikisi RA olarak teşhis edilmiştir. Üçüncü hasta ölmüştür. Hafif pozitif olan hastaların hiçbirinde RA belirtisi gelişmemiştir. Bu nedenle anti-CCP yüksek titrelerinin neredeyse tamamen RA hastalarında gözlenebildiği belirtilmektedir (87).

Zeng ve arkadaşları 191 RA'lı, 132 RA dışı romatizmal hastalığı olan ve 98 non-romatizmal hastalığı olan hastalarda anti-CCP, antiperinuclear faktör (APF), anti-keratin antikor (AKA), RF ve HLA-DR4 gen kompleksini araştırdılar. RA'lı hastaların 90'unda (% 47.1), diğer romatizmal hastalığı olanların 2'sinde (% 2) anti-CCP'yi ELİSA ile pozitif buldular. Anti-CCP antikorlarının sensitivitesi % 47, spesifitesi % 97.4 idi. Anti-CCP antikorları APF, AKA, RF ve HLA-DR4 gen kompleksi ile koreleydi (93).

Tampoia ve arkadaşlarının 83 RA'lı hasta ve 140 kontrol grubunda (çeşitli otoimmün hastalıklar, viral enfeksiyonlar ve kanserli hastalardan oluşan) yaptığı çalışmada anti-CCP'nin sensitivitesini %67.5 ve spesifitesini % 99.3 buldular. RF için sensitivite % 66.3, spesifite % 82.1 idi. Her iki antikor birlikte kullanıldığında spesifite % 99.1 idi (94).

Solanki ve arkadaşları, erken RA'lı (hastalık süresi 2 yılın altında olan) ve geç RA'lı (hastalık süresi 2 yılın üstünde olan) hastalarda anti-CCP ve RF'nin 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 anti-CCP'yi RF'den % 20 daha sensitif bildirmektedirler (95).

Vallbracht ve arkadaşları, RA'lı hastalarda (n:295) ve kontrol grubunda [ dejeneratif veya diğer inflamatuvar eklem hastalığı olan (n:163), konektif doku hastalığı veya vaskülitli olan (n:103), sağlıklı bireylerden (n:154) oluşan] anti-CCP ve RF izotiplerini araştırmışlardır. Her bireyin hastalık süresi, eklem destrüksiyonu, hastalık aktivitesi gibi klinik bulguları ve diğer laboratuvar testleri değerlendirildi. Bulunan değerlere göre en yüksek sensitivite IgM-RF (% 66.4) ve anti-CCP'ye (% 64,4); en yüksek spesifite anti-CCP (% 97,1) ve IgG-RF'ye (%91) aitti. Yüksek hastalık aktivitesi ve şiddetli eklem hasarı olan romatoid artritli hastalarda, anti-CCP bütün RF izotiplerinden daha sık pozitif bulundu. ( % 81.4 ve % 83.6). Bütün RF izotipleri negatif olan RA'lı hastaların % 34.5'de anti-CCP pozitif bulundu. Bu çalışmanın sonuçlarına göre IgM-RF ve anti-CCP'nin RA için diğer RF izotiplerinden daha üstün bir tarama metodu olduğuna karar verilmiştir. Araştırmacılar anti-CCP'nin en yüksek spesifikliğı ile RA tanısını desteklediğini, özellikle RF negatif veya belirsiz (sınırdaki) olan RA'lı hastalarda tanı koyma yeteneğini belirtmişlerdir (96).

Birçok hastalık erken dönemlerinde RA ile karışabilir. Bunlar RF pozitif olabilirler ve eroziv artritli seyredebileceklerinden RA olarak yanlış teşhis edilebilir. Bir romatoloji kliniğinde rastgele seçilen bir popülasyonda hastaların yaklaşık % 2-5'inde anti-CCP testi pozitif, ancak hastalar RA'dan yakınmıyordu. Bir erken artrit popülasyonu test edildiğinde de benzer bir fenomen gözlenebilir. İki yeni çalışma gelişmekte olan RA'nın erken fazında bu tür yanlış pozitifliklere dikkat çekmektedir. Nielen ve arkadaşları, daha sonradan RA gelişen 79 kan vericisinden alınan seri kan örneklerinde anti-CCP ve RF seviyelerini ölçtüler. Bu hastalardan % 41'inde yakınmaların başlamasından ortalama 4.8 yıl önce anti-CCP pozitif hale geldi; RF'de ise % 28'i ortalama 2 yıl önce pozitifleşti. Anti-CCP antikoru RA'nın ilk semptomlarının ortaya çıkmasından 14 yıl öncesine kadar dönemde tespit edilebilmektedir, RF ise 10 yıl öncesine kadar. 2138 kontrol örneğinden %

1.1'inde RF, % 0.6'sında anti-CCP pozitif. Bu nedenle, anti-CCP RF'ye göre daha çok hastada, yakınmaların başlamasından daha uzun süre önce ve daha yüksek spesifite ile tespit edilmiştir ( 97).

Solbritt Rantapaa- Dahlquist ve arkadaşlarının yaptığı benzer tipte bir çalışmada, daha sonra RA gelişen 83 kan vericisinin erken kan örnekleri incelendi. Anti-CCP antikoru hastaların % 25'inde hastalık ilk semptomlarının başlamasından 1.5 ile 9 yıl önce tespit edilebilir düzeyde idi. İlk semptomların ortaya çıkmasından önceki 1.5 yıl içinde anti- CCP'nin sensitivitesi % 52'ye çıkmıştır. Hastaların % 70'inden fazlası klinikteki ilk ziyaretlerinde anti-CCP pozitifler. Hastalık öncesi serumda RF de tespit edilebilir. Ancak sensitivitesi daha düşüktür (IgM-RF % 15 ve % 30; IgG-RF % 12 ve % 27; IgA-RF % 29 ve % 39, sırasıyla başlamasından 1.5 yıldan fazla bir süre önce ve 1.5 yıldan daha az bir süre önce). Bu çalışmaların sonucunda anti-CCP antikoru RA'nın ortaya çıkma olasılığını önceden belirleyebilecek en iyi antikor sistemi olduğu sonucuna varıldı (98).

Kroot ve arkadaşları, yeni başlayan romatoid artritli hastalarda anti-CCP-1'in prediktif değerini araştıran ilk kişilerdi. Bu nispeten sensitif olmayan birinci kuşak CCP testinden elde ettikleri sonuçlar bu antikoru büyük potansiyelini açıkça gösterdi. Anti-CCP1'i pozitif olan hastalarda 6 yıllık takip sonrası anti-CCP1'i negatif olan hastalara göre anlamlı derecede daha şiddetli radyolojik hasar gelişmekte idi. Ancak, multipl regresyon analizinde, bu antikoru gruptaki ilave prediktif değeri yalnızca orta dereceli idi (99).

Meyer ve arkadaşları, 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, anti-CCP antikoru pozitif olan hastalarda (odds oranı 2.5 ) RF'si pozitif olan hastalara göre (odds oranı 0.7) daha yüksek olduğunu

göstermiştir. Araştırmacılar sitruline protein/peptidlere karşı gelişen antikorların radyografik eklem hasarının iyi prediktörleri olduğu sonucuna varmışlardır (100). Tüm bu çalışmalar anti- CCP antikor varlığının erozif hastalığa progresyon ile korele olduğunu göstermektedir. Bu antikorlar bu nedenle klinik uygulamada tedavi stratejisinin belirlenmesinde kullanılabilir.

Schellekens ve arkadaşlarının, yaptığı bir çalışmada 149 RA hastasından 58'i anti-CCP pozitif /RF pozitif, 14'ü anti-CCP pozitif/ RF negatif (seronegatif RA'lı hastaların % 20'si), 22 hasta anti-CCP negatif /RF pozitif ve 55 hasta anti-CCP negatif /RF negatif idi. RA dışı hastalığı olan 337 kişiden oluşan grupta RF, 25 hastada yapılmadı. ( 24'ü anti-CCP negatif ve 1'i anti-CCP pozitif). Hem anti-CCP hem de RF açısından test edilen 312 RA dışı hastanın 6'sı anti- CCP pozitif /RF pozitif, 8'i anti-CCP pozitif/ RF negatif, 22'si anti-CCP negatif /RF pozitif ve 276'sı anti-CCP negatif /RF negatif idi. "Yanlış pozitif" anti-CCP sonucu olan 14 hastanın 1 yıllık izlem sonunda teşhisleri; 10'unda sınıflandırılmayan artrit, 2'sinde palindromik romatizma, 1'inde sarkoidoz ve 1'inde psödogut şeklindeydi. 1 yıllık izlem sonunda sınıflandırılmayan artrit teşhisi olan 10 kişiden 4'ünde hastalık, 2 yıllık izlem sonucunda RA'ya dönüştü. Ayrıca sınıflandırılmayan artrit hastalarının 3'ünde erozif hastalık bulunmakta idi. Bu da anti-CCP'nin spesifitesinin aslında % 96'dan yüksek olduğu anlamına geliyordu. Sarkoidoz ve psödogutu olan hastaların anti-CCP değerleri nispeten düşüktü (4).

Elde edilen tüm veriler anti- CCP'nin RA için aslında iyi bir serolojik belirteç olduğunu göstermektedir. Anti-CCP RA'da birinci basamak diagnostik test olarak kullanılmaya uygundur. Çünkü hastalığın klinik tablosu oturmadan önce de sıklıkla tespit edilebilir. Anti-CCP prognostik potansiyeli sayesinde agresif tedavi adaylarını belirlemede de yardımcı olur. Yüksek spesifitesi nedeniyle anti-CCP RA'yı diğer erozif ve RF pozitif olabilen artrit formlarından ayırt etmede kullanılabilir. Anti-CCP seronegatif RA'lı hastalarda RA teşhisini

koymada faydalı olabilir. Çünkü RF negatif RA hastalarının bir bölümünde anti-CCP pozitif bulunmuştur.

Literatür bilgileri ile uyum gösteren çalışmamızda seronegatif RA'lı hastaların % 27'sinde, seropozitif RA'lı hastaların ise % 96.7'sinde anti-CCP'yi pozitif bulduk. Kontrol grubunda hiç anti-CCP pozitif olgu bulunmadı.

Sonuç olarak anti-CCP antikorlarının, hastalığın sınıflandırma kriterleri arasında kabul edilmesinin, bu hastalarda erken tanı ve tedavi edici yaklaşımlara ek destek sağlayacağı öngörülebilir kanısındayız.

## ÖZET

Romatoid Artrit (RA), nedeni bilinmemekle birlikte, tipik bulgularının çoğunu periferik sinovyal eklemlerde gösteren kronik, progresif, sistemik bir hastalıktır. Otoimmün hastalıklar içinde değerlendirilen RA, tüm dünyada en sık görülen inflamatuvar romatizmal hastalıklardan biridir. Bugüne kadar RA tanısında yaygın olarak kullanılan romatoid faktör, RA tanısında ne spesifik ne de tamamen sensitiftir ve hastalığın patogenezi ile ilgili tam bir fikir verememektedir.

RA tanısının erken konulması ve gelişecek artrit formunun (erozif, non-erozif) önceden tahmin edilmesi, ortaya çıkacak eklem hasarlarını önlemede çok önemlidir. Bu nedenle son zamanlarda yapılan çalışmalar, erken tanı üzerine yoğunlaşmıştır.

RA hastalarının çok yüksek bir oranında sitruline peptidlere karşı gelişmiş IgG antikorlarının bulunması gözlemine son zamanlarda büyük ilgi gösterilmektedir. Bu antikorlar, RA'da nispeten daha erken ortaya çıkar ve hastalık için yüksek oranda spesifiktirler (% 98). Anti-CCP antikorları, prognostik potansiyeli sayesinde agresif tedavi adaylarını belirlemeye de yardımcı olurlar. Yüksek spesifiteleri nedeniyle RA'yı diğer erozif ve RF pozitif olabilen artrit formlarından ayırt etmede kullanılabilirler. RF negatif hastalarda RA teşhisini koymada faydalı olabilirler. Çalışmamızda, RF negatif (n=30) ve RF pozitif (n=30) romatoid artritli hasta gruplarında anti-CCP antikor düzeylerini araştırdık. Olgular, hastalık süreleri 5 yılın üzerinde olan hastalardı. Ortalama 12-16 saatlik açlık sonrasında venöz kan örnekleri alındı. Serum anti-CCP düzeyleri ELİSA yöntemiyle saptandı. Tüm vakaların ESR, CRP ve ASO düzeyleri çalışıldı. RF negatif (seronegatif) RA'lı hasta grubunun % 26,7'sinde (bu değerler kontrol grubuna göre anlamlıydı) ( $p<0,01$ ); RF pozitif (seropozitif) RA'lı hasta grubunun % 96,7'sinde anti-CCP antikorları pozitif bulundu

(kontrol grubuna göre anlamlıydı) ( $p < 0,01$ ). RF'nin sensitivitesi % 50, spesifitesi % 100, pozitif prediktif değeri % 100, negatif prediktif değeri % 40 ; anti-CCP'nin sensitivitesi % 61,67, spesifitesi % 100, pozitif prediktif değeri % 100 ve negatif prediktif değeri % 46,51 olarak saptandı. Sonuç olarak çalışmamız, RA tanısında anti-CCP'nin RF'ye göre daha iyi bir serolojik belirteç olduğu hipotezini desteklemektedir. Anti-CCP antikoru, RA teşhisini koymada faydalı olabilirler. Birçok çalışmada, RF ve anti-CCP'nin birlikte kullanılmasının, her iki serolojik belirtecin ayrı ayrı kullanılmasından daha yüksek diagnostik ve prognostik potansiyel sağladığı; ayrıca, anti-CCP antikoru hastalığın erken dönemlerinde pozitifleştiği ve eroziv formu önceden tespit edebileceği gösterilmiştir. Anti-CCP antikoru hastalığın sınıflandırma kriterleri arasında kabul edilmesinin, bu hastalarda erken tanı ve tedavi edici yaklaşımlara ek destek sağlayacağı öngörülebilir.



## KAYNAKLAR

1. 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.
2. Nakamura R.M. Progress in the Use of Biochemical and Biological Markers for Evaluation of Rheumatoid Arthritis. J.Clin.Lab.Anal. 2002;14:305-313.
3. 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.
4. Schellekens GA, Visser H, de Jong BAW, van den Hoogen FH, Hazes JM, Bredeveld FC, van Venrooij WJ. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing anti-cyclic citrulinated peptide. Arthritis Rheum 2000;43:155-163.
5. Ergin S. Romatoid Artrit ve Sjögren Sendromu. Beyazova M, Gökçe-Kutsal Y (eds). Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Cilt 2. Güneş Kitabevi Ltd. Şti, Ankara, 2000; 1549-1576.
6. Koniçe M, Eryavuz M. Romatoid Artrit. Tüzün F. Eryavuz M. Akarırnak Ü (eds). Hareket Sistemi Hastalıkları Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul, 1997;85-98.
7. Mevorach D, Paget SA. Rheumatoid Arthritis. Paget SA, Gibofsky A, Beary JF III (eds) . Manuel of Rheumatology and Outpatient Orthopedic Disorders. Lippincott Williams & Wilkins, Fourth Edition, 2000; 192-229.
8. Ertenli İ (ed). Prospect Tıp Dergisi. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. 2003;5:3.

9. Öncel S, Peker Ö, Göğüş F. Romatoid Artritte Etiyopatogenez, Klinik ve Laboratuar Bulgular. Göksoy T (ed). Romatizmal Hastalıkların Tanı ve Tedavisi Yüce reklam/yayım/dağıtım a.ş. İstanbul, 2002;422-431,436-449.
10. Hajeer AH, Dababneh A, Makki RF, Thomson W, Poulton K, Gay MA, Garcia Porrua C, Matthey DL, Ollier WE. Different gene loci within the HLA-DR and TNF regions are independently associated with susceptibility and severity in Spanish rheumatoid arthritis patients. Tissue Antigens 2000;55:319-325.
11. Oğuz H. Romatizmal Ağrılar Atlas Tıp Kitabevi. Konya, 1992;368-421.
12. John D Issacs, Larry W Moreland (eds). Romatoid artrit 1.Baskı, AND Danışmanlık, Eğitim, Yayıncılık ve Organizasyon Ltd.Şti. İstanbul, 2003.
13. Firestein GS. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In S Ruddy et al.(eds). Kelley's Textbook of Rheumatology, 6th ed Philadelphia, W.B. Saunders 2001;921-1000.
14. Firestein GS, Zvaifler NJ. Peripheral blood and synovial fluid monocyte activation in inflammatory arthritis.II. Low levels of synovial fluid and synovial tissue interferon suggest that gama-interferon is not the primary macrophage activating factor. Arthritis Rheum 1987;30:864-871.
15. Budh M, Emery P. The Etiology and Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. Hospital Pharmacist 2002;9:5-10.
16. Sack U, Kinner R, Marx T, Heppt P, Bender S, Emmrich F. İnterleukin-6 in synovial fluid is closely associated with chronic synovitis in rheumatoid arthritis. Rheumatol İnt 1993;13:45-51.
17. Duncan AG, Hasting DE. Clinical features of early progressive and late disease in Rheumatology edited by Klippel JH, Dieppe PA, Mosby-Wolfe pp:5.3.1.14,1998.
18. Emery P, Symmons DPM. What is early Rhomatoid arthritis?:defination and diagnosis. Bailliere's Clin Rheumatol 1997;11:13-26.

19. Edward D, Harris J. Clinical features of rheumatoid arthritis. In S Ruddy et al.(eds). Kelley's Textbook of Rheumatology, 6th ed Philadelphia, W.B.Saunders 2001:970-987.
- 20.Halla JT, Schrohenloher RE, Koopman WJ:Local Immuno responses in certain extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1992;51:698-701
21. Ziff M. The rheumatoid nodule. Arthritis Rheum 1990;33:761-767.
22. Mellbye OJ,Forre O, Mollnes TE, et al. Immunopathology of subcutaneous rheumatoid nodules. Ann Rheum Dis 1991;50:909-912.
23. Wikaningrum R, Highton J,Parker A,et al: Pathogenik mechanisms in the rheumatoid nodule. Arthritis Rheum 1998;41:1783-1797.
24. Mc Rorie ER, Wright RA, Errington ML, et al. Rheumatoid constrictive pericarditis. Br J Rheumatology 1997;36:100-103.
25. Lipsky PE. Rheumatoid arthritis laboratory findings. In Braunwald E et al. Harrisons 15th Principles of Internal Medicine, New York, Mc Graw Hill 2001:1928-1937.
26. Mageed RA,The RF antigen. In:W.J. van R.N. Maini, Editors, Manuel of biological markers of disease, Kluwer Academic Publishers,Dordrecht, The Netherlands (1996), pp:1-27.
27. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al., The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1988;31:315-324.
28. Lisse JR, Does rheumatoid factor always mean arthritis?. Postgrad Med 1993;94:133-134 139.
29. Palosuo T, Tilvis R, Strandberg T and Aho K, Filaggrin related antibodies among the aged. Ann Rheum Dis 2003;62:261-263.

30. Waaler E. On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of a sheep blood corpuscles. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1940;17:122-188.
31. Chen PP, Fong S, Carson DA. Rheumatoid factor. *Rheum Dis Clin N Am* 1987;13:545-568.
32. Barland P, Lipstein E. Selection and use of laboratory tests in the rheumatic diseases. *Am J Med* 1996;24(3):525-538.
33. Aho K, Palusuo T, Kurki P. Marker antibodies of rheumatoid arthritis: diagnostic and pathogenetic implications. *Semin Arthritis Rheum* 1994;23:379-387.
34. Haris ED Jr. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: Kelly W, Haris ED Jr, Ruddy SI, Sledge CB editors. *Textbook of rheumatology*, Vol. 1, 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1993, Chap. 51, p 833-868.
35. Weyand CM, Goronzy JJ. Pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Med Clin N Am* 1997;81:29-55.
36. Smolen LS: Autoantibodies in rheumatoid arthritis. In *manuel of Biological Markers of Disease*. Edited by van Venrooij WJ & Maini RN. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1996: section C1.1, 1-18.
37. Dorner RW, Alexander RL Jr, Moore R. Rheumatoid factors. *Clin Chem Acta* 1987;167:1-21.
38. Valdimarsson H, Jonsson T. Predictive value of rheumatoid factor isotypes for radiological progression in patients with rheumatoid arthritis (letter;comment). *Scand J Rheumatol* 1996;25(3):189-190.
39. Houssien DA, Jonsson T, Davies E, Scott DL. Rheumatoid factor isotypes, disease activity and the outcome of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1998;27:46-53.
40. Jonsson T, Steinsson K, Jonsson H, Geirsson A, Thorsteinsson J, Valdimarsson H. Combined elevation of IgM and IgA rheumatoid factor

- has high diagnostic specificity for rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol* 1996;43:739.
41. Jonsson T, Steinsson K, Jonsson H, Geirsson AJ, Thorsteinsson J, Valdimarsson H. Combined elevation of IgM and IgA rheumatoid factor has high diagnostic specificity for rheumatoid arthritis. *Rheum Int* 1998;18(3):119-122.
42. Thompson PW, Carr A. What about IgA rheumatoid factor in rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis* 1998;57:63-64.
43. Jonsson T, Thorsteinsson H, Arinbjarnarson S, Thorsteinsson J, Valdimarsson H. Clinical implications of IgA rheumatoid factor subclasses. *Ann Rheum Dis* 1995;54:578-581.
44. Carson DA. Rheumatoid factor. In: Kelly W, Harris ED Jr, Ruddy SL, Sledge CB, Editors. *Textbook of rheumatology*. Vol. 1.4 th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1993, Chap. & p 155-163.
45. Meltzer M, Franklin EC, Elias K, McCluskey KJ, Cooper M. Cryoglobulinemia; a clinical and laboratory study. II. Cryoglobulins with rheumatoid factor activity. *Am J Med* 1966;40:837-856.
46. Scott DEĪ, Bacon TA, Allen C, Elson CJ, Wallington T. IgG rheumatoid factor, complement and immune complexes in rheumatoid synovitis. And vasculitis: comparative and serial studies during cytotoxic therapy. *Clin Exp Immunol* 1981;43:54-63.
47. Kroot EJJA, de jong BAW, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen FHJ, van't Hof M, van de Putte LBA, van Rijswijk MH, van Venrooij WJ, van Riel PLCM. The prognostik value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:1831-1835.
48. 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 antFLAGGRIN autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol* 1999;162:585-594.
49. Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *Bioessays* 2003;25:1106-18.
  50. Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E. Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1\*0401 MHC class II molecule. *J Immunol* 2003;171:538-41.
  51. Hammer J, Gallazi F, Bono E, et al. Peptide binding specificity of HLA-DR4 molecules: correlation with rheumatoid arthritis association. *J Exp Med* 1995;181:1847-55.
  52. Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A, et al. Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res* 2000;2:236-43.
  53. Masson-Bessiere C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, Serre G. The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antFLAGGRIN autoantibodies are deiminated forms of the  $\alpha$  and  $\beta$ -chains of fibrin. *J Immunol* 2001;166:4177-4184.
  54. Menard HA, Lapointe E, Rochdi MD, Zhou ZJ. Insights into rheumatoid arthritis derived from the Sa immune system. *Arthritis Res* 2000;2:429-32.
  55. Baeten D, Peene I, Union A, et al. Specific presence of intracellular citrullinated proteins in rheumatoid arthritis synovium relevance to antFLAGGRIN autoantibodies. *Arthritis Rheum* 2001;44:2255-62.

56. Vossenaar ER, Nijenhuis S, Helsen MM, et al. Citrullination of synovial proteins in murine models of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48:2489-500.
57. Hill JA, Wehrli B, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E. Citrullinated fibrinogen induces arthritis in HLA-DRB1\*0401 transgenic mice. *Arthritis rheum* 2003;48 Suppl:S348.
58. Suzuki A, Yamada R, Chang X, et al. Functional haplotypes of PAD14, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2003;34:395-402.
59. Nienhuis RLF, Mandena EA. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1964;23:302–305.
60. Hoet, RM.; Van Venrooij, WJ. The antiperinuclear factor and antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. In *Rheumatoid Arthritis* Edited by Smolen J, Kalden J & Maini RN Berlin: Springer Verlag; 1992.pp. 299–318.
61. Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ and Hamblin TJ, Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *BMJ* 2(1979),pp. 97-99.
62. Sebbag M, Simon M, Vincent C, Mason BC, Girbal E, Durieux JJ et al., The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1995;95:2672-2679.
63. Hoet RM and van Venrooij WJ, The antiperinuclear factor (APF) and antikeratin antibodies (AKA) in rheumatoid arthritis. In: Smolen J, Kalden JR and Maini RN, Editors, *Rheumatoid arthritis*, Springer-Verlag, Berlin (!,1992),pp. 299-318.

64. Gan SQ, McBride OW, Idler WW, Nediialka M, Steinert PM. Organization, structure, and polymorphisms of the human profilaggrin gene. *Biochemistry* 1990;29:9423-9440.
65. Pearton DJ, Dale BA and Presland RB, Functional analysis of the profilaggrin N-terminal peptide: identification of domains that regulate nuclear and cytoplasmic distribution. *J Invest Dermatol* 2002;119:661-669.
66. Resing KA, Al-Alawi N, Blomquist C, Fleckman P and Dale BA, Independent regulation of two cytoplasmic processing stages of the intermediate filament-associated protein filaggrin and role of Ca<sup>2+</sup> in the second stage. *J Biol Chem* 1993;268:25139-25145.
67. Mack JW, Steven AC and Steinert PM, The mechanism of interaction of filaggrin with intermediate filaments. The ionic zipper hypothesis. *J Mol Biol* 1993;232:50-66.
68. Manabe M, Sanchez M, Sun TT and Dale BA, Interaction of filaggrin with keratin filaments during advanced stages of normal human epidermal differentiation and in ichthyosis vulgaris. *Differentiation* 1991;48:43-50.
69. Hoet RM, Boerbooms AM, Arends M, Ruitter DJ and van Venrooij WJ, Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann Rheum Dis* 1991;50:611-618.
70. Simon M, Vincent C, Haftek M, Girbal E, Sebbag M, Gomes-Daudrix et al., The rheumatoid arthritis-associated autoantibodies to filaggrin label the fibrous matrix of the cornified cells but not the profilaggrin-containing keratohyalin granules in human epidermis. *Clin Exp Immunol* 1995;100:90-98.



71. Hoet RM, Voorsmit RA and Venrooij, The perinuclear factor, a rheumatoid arthritis-specific autoantigen, is not present in keratohyalin granules of cultured buccal mucosa cells. *Clin Exp Immunol* 1991;84:59-65.
72. Yamamoto-Ishida A, Hashimoto Y, Manabe M, O'Guin WM, Dale BA and Lizuka H, Distinctive expression of filaggrin and trichohyalin during various pathways of apithelial differentiation. *Br J Dermatol* 1997;137:9-16.
73. Tarcsa E, N.Marekov LN, Mei G, Melino G, Lee SC and Steinert PM, Protein unfolding by peptidylarginine deiminase. Substrate specificity and structural relationships of the natural substrates trichohyalin and filaggrin. *J Biol Chem* 271(1996),pp.30709-30716.
74. Masson-Bessière C, Sebbag M, Durieux JJ, Norgueira L, Vincent C, Girbal-Neuhauser E, Durroux R, Cantagrel A, Serre G. In the rheumatoid pannus, anti-filaggrin autoantibodies are produced by local plasma cells and constitute a higher proportion of IgG than in synovial fluid and serum. *Clin Exp Immunol* 2000;119:544–552.
75. Reparón-Schuijt CC, van Esch WJE, van Kooten C, Schellekens GA, de Jong BAW, van Venrooij WJ, Breedveld FC, Verweij CL. Secretion of anti-citrulline-containing peptide antibody by B lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001;44:41–47.
76. Serre G. Autoantibodies to filaggrin/deiminated fibrin (AFA) are useful for the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis, and are probably involved in the pathophysiology of the disease. *Joint Bone Spine* 2001;68:103–105.
77. Vincent C, Simon M, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Cantagrel A, Fournie B, Mazieres B, Serre G. Immunoblotting detection of autoantibodies to human epidermis filaggrin: a new diagnostic test for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1998;25:838-846.

78. Palosuo T, Lukka M, Alenius A, Kalkkinen N, Aho K, Kurki P et al., Purification of filaggrin from human epidermis and measurement of antifilaggrin autoantibodies in sera from patients with rheumatoid arthritis by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Int Arch Allergy Immunol* 1998;115:294-302.
79. Slack SL, Mannik M and Dale BA, Diagnostic value of antibodies to filaggrin in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1998;25:847-851.
80. Nogueira L, Sebbag M, Vincent C, Arnaud M, Fournie B, Cantagrel A et al., Performance of two ELISAs for antifilaggrin autoantibodies, using either affinity purified or deimmunized recombinant human filaggrin, in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001;60:882-887.
81. Vincent C, Nogueira L, Sebbag M, Chapuy-Regaud S, Arnaud M, Letourneur O et al., Detection of antibodies to deimmunized recombinant rat filaggrin by enzyme-linked immunosorbent assay: a highly effective test for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46:2051-2058.
82. Hiemstra HS, Benckhuijsen WE, Amons R, Rapp W and Drijfhout JW, A new hybrid resin for stepwise screening of peptide libraries combined with single bead Edman sequencing. *J Pept Sci* 1998;4:282-288.
83. de Koster HS, Amons R, Benckhuijsen WE, Feijlbrief M, Schellekens GA and Drijfhout JW, The use of dedicated peptide libraries permits the discovery of high affinity binding peptides. *J Immunol Methods* 1995;187:179-188.
84. van Boekel MA, de Jong BA, Drijfhout JW, de Koning PE, van Delft J and van Venrooij WJ, Selection of diagnostic marker peptides for autoimmune diseases using synthetic peptide libraries. In: K.Conrad, R.L.Humbel, M.Muerer, Y.Shoenfeld and E.M.Tan, Editors, *Autoantigens and autoantibodies: diagnostic tools and clues to understanding autoimmunity.*

- Report on the 5th Dresden symposium on autoantibodies, Pabst Science Publishers, Lengerich (2000),pp. 140-145.
85. van Venrooij WJ, Hazesand JM, Visser H, Anticitrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. *Neth J Med* 2002;60:383-388.
  86. Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A, Haxworth J, Yarboro C, Smolen JS, Steiner G, Rosen A, Zhang C, Menard HA, Zhou ZJ, Palosuo T, van Venrooij WJ, Wilder RL, Klippel JH, Schumacher Jr HR, El-Gabalawy HS: Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res* 2000;2:236-243.
  87. Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2001;47:1089–1093
  88. 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.
  89. Vencovsky J, Machacek S, Sedova L, Kafkova J, Gatterova J, Pesakova V, Ruzickova S. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2003 May; 62(5): 427-30.
  90. van Jaarsveld CHM, ter Borg EJ, Jacobs JWG, Schellekens GA, Gmelig-Meyling FHJ, van Booma-Frankfort C, de Jong BAW, van Venrooij WJ, Bijlsma JWJ. The prognostic value of the antiperi-nuclear factor, anti-citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1999;17:689–697.
  91. Bas S, Perneger TV, Seitz M, Tiercy JM, Roux-Lombard P and Guerne PA, Diagnostic tests for rheumatoid arthritis: comparison of anti-cyclic

- citrullinated peptide antibodies, anti-keratin antibodies and IgM rheumatoid factors. *Rheumatology* 2002;41:809-814.
92. Lee DM and Schur PH, Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003;62:870-874.
93. 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 jul; 30(7):1451-5.
94. 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 May;355(1-2):137-44.
95. 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 Oct 8;117(1203): U1097.
96. 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 Sep;63(9):1079-84.
97. Nielen MM, Van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma I, de Koning MH et al., Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurement in blood donors. *Arthritis Rheum.* 2004 Feb;50(29):380-6.
98. 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.

99. 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 Aug;43(8):1831-5.
100. 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.