

PŮVODNÁ PRÁCA

SLEDOVÁNÍ PROGNOSTICKÝCH UKAZATELŮ EROZIVNÍCH ZMĚN U ČASNÉ REVMATOIDNÍ ARTRITIDY

L. ŠEDOVÁ, S. MACHÁČEK, J. KAFKOVÁ, J. GATTEROVÁ, V. PEŠÁKOVÁ, Z. CIMBUREK, Š. RŮŽIČKOVÁ¹, J. VENCOVSKÝ

MONITORING OF PROGNOSTIC INDICATORS OF EROSIIVE CHANGES IN EARLY RHEUMATOID ARTHRITIS

Revmatologický ústav, Praha

Ředitel: doc. MUDr. K. Pavelka, CSc.

¹Laboratoř genové exprese 3. lékařské fakulty Karlovy univerzity, Praha

Souhrn

Cíl: Zjistit přínos vyšetření autoprotilátek a některých klinických parametrů jako prognostických ukazatelů vývoje erozivních změn u časně revmatoidní artritidy (RA).

Pacienti a metody: Bylo sledováno 114 nemocných s RA trvajících méně než 2 roky. Aktivita nemoci byla hodnocena pomocí DAS (Disease Activity Score) a funkční postižení dotazníkem HAQ (Health Assessment Questionnaire). Protilátky proti cyklickému peptidu obsahujícímu modifikovaný arginin (citrulin) (anti-CCP) a revmatoidní faktory izotypů IgM, IgA a IgG byly vyšetřeny metodou ELISA, antikeratinové protilátky (AKA) a antiperinukleární faktory (APF) nepřímou imunofluorescencí a konečně přítomnost HLA „sdíleného epitopu“ pomocí polymerázové řetězové reakce. Na konci 24měsíčního sledování byli pacienti rozděleni do 2 skupin, s erozemi a bez erozí, na základě hodnocení podle Larsena.

Výsledky: Dvě třetiny pacientů byly zařazeny do skupiny s erozemi a jedna třetina do skupiny bez erozí. Signifikantní rozdíly mezi těmito skupinami byly zjištěny pro stanovení anti-CCP (50 % u erozivní skupiny vs. 19,4 % u neerozivní), AKA (45,8 % vs. 14,3 %), IgM RF (54 % vs. 30 %) a IgA RF (47 % vs. 27 %). Rovněž byly zjištěny významné rozdíly v hladinách protilátek pro všechny izotypy RF (IgM 3,1±2,8 vs. 1,9±2,0; IgA 2,8±2,6 vs. 1,8±2,6; IgG 2,8±2,6 vs. 2,1±2,8) a pro anti-CCP hladiny (159,1±224,0 vs. 85,8±164,8 jednotek). Rozdíly v ukazatelích klinické aktivity, funkčního postižení a výskytu „sdíleného epitopu“ nebyly mezi souborem destruktivních a nedestruktivních pacientů prokázány.

Summary

Objective: Checking of the benefit of the examination of autoantibodies and some clinical parameters as prognostic indicators of erosive changes development in early rheumatoid arthritis (RA).

Patients and methods: 114 RA patients in whom the disease was present for less than 2 years were followed. RA activity was assessed by Disease Activity Score (DAS); functional affection by Health Assessment Questionnaire (HAQ). Antibodies to cyclical peptide containing modified arginine (citruline) (anti-CCP) and rheumatoid factors of IgM, IgA and IgG isotypes were examined by ELISA method, antikeratine antibodies (AKA) and antiperinuclear factors (APF) by indirect immunofluorescence and the presence of HLA “shared epitope” by polymerase chain reaction. At the end of 24-month monitoring the patients were divided into two groups, with and without erosions (according to Larsen’s evaluation method).

Results: Two thirds of patients were assigned to erosion group and one third to the no erosion group. There were significant differences detected between the groups: anti-CCP (50 % in erosion group vs. 19.4 in no erosion group), AKA (45.8 % vs 14.3 %), IgM RF (54 % vs 30 %) and IgA RF (47 % vs 27 %). Significant differences were observed in the antibody levels for all RF isotypes (IgM 3.1±2.8 vs 1.9±2.0; IgA 2.8±2.6 vs 1.8±2.6; IgG 2.8±2.6 vs 2.1±2.8) and anti-CCP levels (159.1±224.0 vs 85.8±164.8 units). No differences were found in clinical activity indicators, functional affection and occurrence of “shared epitope” between the group of destructive and non-destructive patients.

Závěr: Stanovení jednotlivých izotypů revmatoidních faktorů, anti-CCP a AKA může být užitečné pro odhad prognózy onemocnění a napomoci tak ve výběru terapeutického postupu.

Klíčová slova: časná revmatoidní artritida, prognostické faktory, HLA, antikeratinové protilátky, izotypy revmatoidních faktorů, citrulin.

ÚVOD

Revmatoidní artritida (RA) patří mezi systémová onemocnění pojiva a jejím charakteristickým projevem je destruktivní postižení diartrodiálních kloubů. Jedná se o onemocnění s heterogenním průběhem, od forem mírných, s tendencí k remisím a dobře odpovídajících na terapii, k formám agresivním a rezistentním na klasickou terapii. U řady nemocných může dojít poměrně rychle k těžkému strukturnímu postižení kloubů a k mimokloubním projevům, které mohou zkracovat život pacienta (1). Destruktivní změny a deformity se mohou vyvinout již na počátku choroby a takové změny jsou ireverzibilní (2). V současné době se začínají používat účinné biologické léky, od kterých je očekávána nejen možnost kontroly klinické a laboratorní aktivity choroby, ale nově i zastavení rozvoje kloubního poškození. Tyto látky, ale i doposud užívané léky modifikující průběh choroby, by proto měly být nasazeny včas a v dostatečné dávce. Vzhledem k rizikovosti, ale také i nákladnosti těchto léků, je jasná potřeba objektivních prognostických ukazatelů erozivního vývoje.

Při hledání prognostických ukazatelů se v současnosti odklání pozornost od klasických klinických projevů a jejich kombinací a zaměřuje se spíše na identifikaci specifických imunologických parametrů, podobně jako je tomu u některých jiných systémových onemocnění pojiva. Vedle revmatoidních faktorů byly v posledních letech s RA asociovány i další autoprotilátky, jako např. antikeratinové protilátky (AKA) (3, 4), antiperinukleární faktory (APF) (5), anti-RA33 protilátky, anti-Sa protilátky (6) a řidčeji i další. V některých případech byla asociována jejich přítomnost s aktivnějším průběhem RA (7) či těžším onemocněním (8), ale toto spojení se závažností nemoci nebylo prokázáno jednoznačně (9). AKA či APF byly rovněž detekovány v sérech jedinců ještě před vlastní manifestací onemocnění (10, 11), což by mohlo naznačovat jejich roli v patogenezi onemocnění.

AKA a APF rozeznávají stejný cíl, jehož povaha byla neznámá až do roku 1993, kdy byl jako antigen identifikován lidský epidermální protein filagrin (filament-aggregating protein) (12, 13, 14). Ukázalo se však, že AKA sice korelují s protilátkami proti filagrinu, ale nemají identickou reaktivitu. Vysvětlení přinesl průkaz vysoké antigenicity filagrinu, ve kterém došlo enzymaticky ke změně argininu na citrulin, k čemuž dochází především ve stárnoucích povrchových buňkách (15). Nedávno bylo ukázáno, že protilátky

Conclusion: Examination of isotypes of rheumatoid factors, anti-CCP and AKA can be useful for prognosis evaluation of the disease and contribute to the choice of adequate therapeutical process.

Key words: early rheumatoid arthritis, prognostic factors, HLA, antikeratine antibodies, isotypes of rheumatoid factors, citruline.

proti cyklickému peptidu s citrulinem (anti-CCP) byly vysoce specifické pro RA, včetně jejich časných forem, a že s určitou pravděpodobností mohou přispívat k predikci závažnějšího onemocnění, buď samostatně, nebo v kombinaci s revmatoidními faktory (16, 17).

RA se projevuje častěji u nemocných, kteří jsou nositeli některých alel HLA systému, pro které je společný „sdílený epitop“ (SE) ve třetí hypervariabilní oblasti. Zdá se však, že spíše než vnímavost k chorobě určuje jejich přítomnost závažnost nemoci (18).

V této práci jsme se pokusili identifikovat prediktivní význam některých laboratorních vyšetření k průběhu a závažnosti revmatoidní artritidy. U skupiny nemocných s časnou RA byla proto stanovena přítomnost AKA, APF, izotypů revmatoidních faktorů, protilátek proti cyklickému peptidu s citrulinem (anti-CCP) a typizovány HLA DR molekuly, především vzhledem k zastoupení sdíleného epitopu.

PACIENTI A METODY

Pacienti

Do studie bylo zařazeno 133 pacientů s polyartritidou trvající nejdéle 2 roky od objevení se prvních příznaků a tyto pacienti byli sledováni v půlročních intervalech po dobu dvou let. U 4 nemocných byla v průběhu sledování diagnóza přehodnocena — u 2 případů na psoriatickou artritidu (kožní projevy vznikly po manifestaci artritidy) a další 2 pacienti splnili kriteria systémového lupus erythematoses. Jedenáct nemocných bylo vyřazeno z důvodu špatné spolupráce. Čtyři pacienti v průběhu sledování zemřeli. Hodnocení bylo tedy provedeno u 114 pacientů s potvrzenou diagnózou RA, diagnostikovanou podle platných kritérií (19).

Aktivita nemoci byla sledována pomocí kloubního indexu zahrnujícího 28 kloubů a sedimentací erytrocytů souhrnně zpracovaných do indexu aktivity DAS (20, 21).

Jako ukazatel funkčního postižení byl použit Health Assessment Questionnaire (HAQ) (22).

Hodnocení rentgenového nálezu bylo provedeno podle Larsena (23) na snímcích rukou a nohou zhotovených na začátku sledování a dále každých 12 měsíců. Na podkladě rentgenových nálezů byli pacienti na konci sledování rozděleni na skupinu s výskytem a bez výskytu erozí. K zařazení pacienta do erozivní skupiny vedla přítomnost alespoň jedné eroze na zhotovených snímcích.

Laboratorní metody

Antikeratinové protilátky (AKA) byly vyšetřovány na substrátu z kryších jícnu pomocí nepřímé imunofluorescence (24). K vyšetření byla použita séra ředěná v PBS 1:10 a výsledky odečítány 2 pozorovateli. Jako pozitivní byla hodnocena pouze intenzivní laminární fluorescence stratum corneum a nikoliv fluorescence dalších epiteliálních vrstev, tj. stratum basale a stratum spinosum.

Antiperinukleární protilátky (APF) byly prokazovány pomocí nepřímé imunofluorescence na buňkách buklální sliznice od „pozitivního“ dárce podle publikovaného postupu (25).

Rvmatoidní faktory izotypů IgG, IgA a IgM byly stanoveny metodou ELISA (26) v naší modifikaci (27). Metoda uvedena ve zkratce. Jako antigen byl použit králičí IgG (Sigma, St. Louis, USA) v koncentraci 30 µg/ml; vyšetřovaná séra byla ředěna pro detekci IgG RF 1:100, pro IgA RF 1:75 a pro IgM RF 1:150. Séra pro stanovení protilátek IgG byla štěpena 0,06 % pepsinem (Sigma) v octanovém pufru (pH 4,4) přes noc ve 37 °C. IgG RF byly detekovány pomocí prasečí protilátky proti Fab fragmentu lidského IgG (Sevac, Praha, ČR) a následně pomocí králičí protilátky proti prasečímu imunoglobulinu (Sevac). IgA RF a IgM amRF byly detekovány pomocí protilátek proti lidským či řetězcům. Hodnocení bylo provedeno pomocí indexu, stanoveného jako poměr hodnoty optické denzity vyšetřovaného séra (každé sérum vyšetřováno v dubletu) a průměrné hodnoty optické denzity 5 stejných kontrolních sér. Za zvýšenou hladinu byly považovány hodnoty indexů vyšší o 2 směrodatné odchylky než jsou průměrné hodnoty indexů získaných u 50 zdravých kontrol (pro IgM RF 2,2, pro IgA RF 2,0, a pro IgG RF 2,1).

Antinukleární protilátky byly vyšetřovány pomocí komerční soupravy ANA Test System (Immunoconcepts, Sacramento, USA). Jako pozitivní byl považován titer 1:80 nebo vyšší.

Anti-CCP protilátky byly stanoveny pomocí komerční soupravy ELISA (Immunoscan RA, Euro-Diagnostica, Holandsko), která využívá jako antigen cyklický peptid s nahrazeným argininem aminokyselinou citrulinem (15, 16, 17). Séra byla vyšetřována v titru 1:50 nebo ve vyšším ředění v případě vysoké hladiny, přesahující v ředění 1:50 standardní křivku. Za pozitivní byly považovány hodnoty vyšší než průměr získaný u 62 zdravých kontrol (17,0±0,84 jednotek) zvětšený o 5 směrodatných odchylek (21,4 jednotek).

DNA byla izolována z leukocytů periferní krve pomocí chloroformové vysolovací metody. HLA-DRB1 typizace byla provedena pomocí PCR se sekvenčně-specifickými sondami (British Society for Histocompatibility, Bristol, UK) na základě publikovaného postupu (28). Takto bylo možné detekovat alelické varianty DR1 - DR18. Podobný postup byl použit i pro subtypizaci HLA-DRB1*04 pozitivních jedinců (Dynal, Oslo, Norsko). Mezi alely nesoucí „sdílený epitop“ (SE) byly počítány HLA-DRB1*0101, *0102, *0401, *0404, *0405, *0408, *0409, *0410, *1402 a *1001.

Statistika

Pro kvalitativní znaky bylo použito hodnocení na základě kontingenčních tabulek (Fischerův přesný test, nebo 2). Pro porovnání rozdílů dvou nepárových souborů byl použit Studentův t-test nebo neparametrický test (Mann-Whitney).

V případě významného vztahu či významného rozdílu je uvedena hladina významnosti, v případě nevýznamnosti uvedeno NS.

Statistická analýza byla provedena pomocí programu GraphPad Prism 3.0 (GraphPad Software, San Diego, California, USA).

VÝSLEDKY

Ze 114 sledovaných pacientů byly eroze přítomny u 76 (66,7 %) a nepřítomny u 38 (33,3 %) nemocných. Oba tyto podsoubory se významně nelišily z hlediska věkového průměru, zastoupení mužů a žen a ani v délce trvání symptomů do začátku sledování (tab. 1).

Nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v podsouborech destruktivních a nedestruktivních pacientů vzhledem k polyartikulárnímu nebo oligoartikulárnímu postižení na začátku nemoci, vzhledem k charakteru počátku choroby (akutní či chronický) a ani vzhledem k přítomnosti či nepřítomnosti celkových příznaků (únava, febrilie, slabost, váhový úbytek). Klinická aktivita na počátku sledování vyjádřená pomocí indexu DAS se nelišila mezi pacienty, kteří vyvinuli či nevyvinuli destruktivní postižení během sledování. Nebyl zaznamenán ani rozdíl mezi podsoubory vzhledem k funkčnímu postižení hodnocenému pomocí HAQ (tab. 2).

Pacientů, kteří nesli sdílený epitop, bylo 66,4 %. To je významně více, než je četnost alel SE v normální populaci v České republice (32,5 %) (25). Jeho distribuce mezi erozivní a neerozivní skupinou byla však prakticky identická (tab. 3).

Hladiny izotypů revmatoidních faktorů IgA RF a IgM RF se významně lišily u erozivní a neerozivní skupiny v procentu pozitivity (IgA RF: 47 % vs. 27 %, p=0,04; IgM RF: 54 % vs. 30 %, p=0,02), i v průměrných hodnotách, v tomto případě včetně IgG RF (tab. 3).

Tab. 1. Základní charakteristika souboru nemocných s RA.

	Erozivní časná RA	Neerozivní časná RA	Významnost
Počet pacientů (114)	76 (66,7 %)	38 (33,3 %)	–
Průměrná délka trvání choroby do začátku sledování (měsíce)	12,4±7,8	13,6±8,1	NS
Průměrný věk (roky)	52,6±16,2	49,3±14,6	NS
Zastoupení žen (%)	71	79	NS

Tab. 2. Klinické známky ve skupinách nemocných s časnou revmatoidní artritidou rozdělených podle přítomnosti erozí.

	Erozivní časná RA (n=76)	Neerozivní časná RA (n=38)	Významnost
polyartikulární začátek (%)	61,8	57,9	NS
oligoartikulární začátek (%)	38,2	42,1	NS
akutní začátek (%)	39,5	36,8	NS
pozvolný začátek (%)	60,5	63,2	NS
přítomnost celkových příznaků na počátku choroby (%)	75,0	73,7	NS
DAS na počátku sledování	5,85±1,2	5,45±1,5	NS
HAQ na počátku sledování	12,9±15,0	12,9±13,3	NS

Tab. 3. Hodnoty laboratorních ukazatelů ve skupinách nemocných s časnou revmatoidní artritidou rozdělených podle přítomnosti erozí.

	Časná RA (n=114)	Erozivní časná RA (n=76)	Neerozivní časná RA (n=38)	Významnost
HLA SE+ (%)	66,4	67,1	64,9	NS
ANA+ (%)	28,5	32,4	21,1	NS
APF+ (%)	35,4	30 (42,3%)	8 (22,2%)	NS (p=0,054)
AKA+ (%)	35,5	33 (45,8%)	5 (14,3%)	p<0,001
anti-CCP+ (%)	39,8	36 (50%)	7 (19,4%)	p=0,003
IgM RF+ (%)	45,9	54	30	p=0,02
IgA RF+ (%)	50,5	47	27	p=0,04
IgG RF+ (%)	36,9	43	24	NS
IgM RF (index)	2,70±2,6	3,12±2,8	1,88±2,0	p=0,006
IgA RF (index)	2,42±2,6	2,75±2,6	1,79±2,6	p=0,002
IgG RF (index)	2,56±2,7	2,79±2,6	2,11±2,8	p=0,018
anti-CCP (jednotky)	135,2±208,6	159,1±224,0	85,8±164,8	p=0,015

Antiperinukleární protilátky byly častěji nalezeny ve skupině erozivních RA (42,3 %) proti skupině s neerozivní RA (22,2 %); tento rozdíl byl na hranici statistické významnosti.

V celém souboru pacientů s časnou RA byla pozitivita AKA ve 35,5 %, což ukazuje na poměrně nízkou senzitivitu tohoto vyšetření pro RA. AKA jsou však významně častější ve skupině nemocných s časným vývojem erozí (45,8 %), zatímco u neerozivních nemocných jen ve 14,3 % (p=0,001). V předcházející práci (25) jsme identifikovali vysokou specifitu tohoto vyšetření, když v souboru zdravých kontrol nebyla nalezena ani jedna pozitivita AKA a v souboru 110 nemocných se systémovým lupus erythematoses, dermatomyozitidou, polymyozitidou a systémovou sklerodermií byl pozitivní nález pouze 1x (specifita 99,1 %).

V souboru pacientů s časnou RA byly anti-CCP protilátky nalezeny ve 39,8 %, což připomíná senzitivitu stanovenou pomocí imunofluorescenčního testu na AKA. Podob-

ně jako u AKA byl nalezen signifikantní rozdíl mezi výskytem pozitivitu anti-CCP u pacientů s časnou erozivní a neerozivní formou (50,0 % resp. 19,4 %; p=0,003). Výrazně se také lišily hladiny anti-CCP protilátek mezi oběma skupinami časné RA (159,1±224,0 vs. 85,8±164,8 jednotek; p<0,05) (tab. 3). Za pozitivní jsme považovali hladinu anti-CCP protilátek vyšší než průměr kontrol s přidáním 5 směrodatnými odchylkami tak, abychom zdůraznili jednoznačnost stanovené hraniční hodnoty. Ani v jednom případě mezi kontrolními séry nepřesáhla hladina anti-CCP protilátek tuto hraniční hodnotu, což svědčí o významné diferenciační schopnosti vyšetření, alespoň vzhledem ke kontrolní zdravé skupině. Navíc u všech nemocných s RA, kteří měli zvýšené hodnoty anti-CCP protilátek, byla jejich hladina výrazně odlišná od normálních kontrol — nejnižší hodnota u pozitivního pacienta s RA byla 48,3 jednotek, což je více než dvojnásobek hladiny získané u kontrolní populace. To ukazuje na snadnou diskriminační schopnost testu.

DISKUSE

Potřeba prediktivních parametrů u revmatoidní artritidy je zřejmá. V současné době se odhad dalšího vývoje stává mimořádně významným, protože se prokázalo, že nové formy biologické terapie pomocí blokády TNF monoklonální protilátkou dokáží zastavit destruktivní vývoj nemoci. Jednou ze základních indikací takovéto léčby by proto měly být především případy, u kterých je riziko progresivního onemocnění největší.

Existuje celá řada prací týkajících se prognostických faktorů vývoje revmatoidní artritidy (29). Všeobecně se uvádí, že vysoké sérové hladiny revmatoidních faktorů a některé klinické parametry přítomné na počátku choroby předpovídají závažnější průběh. V některých případech se ukázala lepší prediktivní kapacita při užití kombinace ukazatelů, např. IgM RF, počet oteklých kloubů a počet erozí (29). Nevýhodou řady těchto studií je, že užívají parametry, které jsou již známkou pokročilejšího onemocnění samy o sobě a v raných fázích onemocnění je nelze použít.

V oblasti laboratorních parametrů se zdá, že přítomnost HLA molekul nesoucích sdílený epitop, zejména v homozygotní formě, je asociována s těžším onemocněním (18). Při analýze předpovědi erozivního onemocnění a možnosti užití rutinního stanovení HLA molekul však nepanuje jednoznačná shoda (30, 31) a spíše se zdá, že v běžné praxi se tento typ vyšetření nerozšíří.

Nedostatečnou prediktivní schopnost izolovaných parametrů, zejména klinických, dokumentují i výsledky naší studie. Počáteční stupeň aktivity choroby, který byl hodnocen kompozitním skóre DAS, neměl žádnou předpovědní hodnotu a byl v zásadě prakticky shodný mezi pacienty, kteří během dvou let sledování vyvinuli či nevyvinuli erozivní

postižení kloubních struktur. Otázkou zůstává, zda opakované hodnocení aktivity v určitém časovém období nebude mít větší výpovědní hodnotu ve smyslu rychlejšího vývoje při setrvalé vysoké aktivitě. Podobně jako aktivita, ani stupeň funkčního postižení hodnocený pomocí dotazníku HAQ nekoreloval s destruktivním vývojem revmatoidní artritidy a nelze tedy z úvodního funkčního omezení předpovědět další vývoj ve smyslu rozvoje erozivní artritidy. Zcela recentně byla pozorována předpovědní schopnost nízké funkční schopnosti v HAQ a vysoké aktivity na funkční osud nemocných s časnou RA po 1 roce sledování (32). Nejsou však známy předpovědní vlastnosti těchto parametrů v dlouhodobém průběhu RA a předpokládáme, že nejdůležitější pro osud pacienta je rychlý vývoj destrukcí na kloubech, který je v konečném důsledku také spojen se závažnějším funkčním dopadem.

Obě sledované skupiny se též výrazně nelišily zastoupením alel sdíleného epitopu. Četnost výskytu alespoň jedné alely nesoucí SE je v naší skupině časných RA nižší, než ve většině sestav pacientů se závažnějšími formami RA, ale je v soulase s frekvencí pozorovanou na jiném souboru českých pacientů (33) a je také statisticky významně rozdílná v porovnání s kontrolním souborem. Lze tedy konstatovat význam typizace HLA lokusu II. třídy z hlediska vnímavosti k chorobě, ale nelze potvrdit rozlišovací schopnost mezi erozivním a neerozivním průběhem choroby v časném stadiu.

Statisticky významné rozdíly se objevily v porovnání hladin revmatoidních faktorů a to zejména u izotypů IgM a IgA, v menší míře u IgG. Nemocní s pozitivními a také vyššími hladinami RF mají častější erozivní průběh RA. Tento fakt byl opakovaně pozorován a zejména v případě IgA RF je asociace zřejmá (34, 35). Měření IgA RF by mělo být tedy zařazeno mezi pomocné parametry, které bude možno použít v prognostické rozvaze vývoje RA.

Velmi slibným ukazatelem se nejnoveji ukazuje detekce protilátek rozeznávající filagrin, resp. jeho modifikovanou molekulu se změněným argininem na citrulin. Tyto protilátky jsou v současné době pravděpodobně měřeny 3 testy, mezi něž patří APF, AKA a protilátky proti cyklickým peptidům s citrulinem (15, 16, 17). Testy na antiperinukleární faktory se rutinně příliš neujaly pro problematické a variabilní získávání substrátu; test na antikeratinové protilátky nepřímou imunofluorescencí nedoznal také širšího rutinního uplatnění, především pro nejednoduché hodnocení. ELISA test se syntetickým peptidem by měl být rychlejší a jednodušší na provedení.

APF v našich souborech byly častěji nalezeny u nemocných s erozivním průběhem a tento rozdíl byl na hranici sta-

tistické významnosti. V nedávné době byl popsán prognostický význam stanovení APF i s určitou korelací s rtg průběhem (8). V našem souboru však poskytuje lepší diskriminační schopnost imunofluorescenční vyšetření na AKA protilátky. Rozdíl mezi oběma testy není příliš velký, nicméně podle našich vyšetření by AKA byly lepším parametrem předpovědi destruktivního onemocnění.

O něco senzitivnější v obou skupinách bylo stanovení anti-CCP protilátek. Zachovává podobný rozdíl mezi destruktivními a nedestruktivními pacienty jako u AKA, ale je pozitivní u více nemocných. Průměrná hladina anti-CCP protilátek byla také značně vyšší u destruktivních nemocných, zatím však nelze říci, zda i koncentrace autoprottilátky koreluje s agresivitou průběhu RA. Schopnost odhadnout vývoj revmatoidní artritidy pomocí detekce anti-CCP protilátek byla popsána nedávno, včetně průkazu významné specifity pro RA (16, 17). Dvouletý vývoj u našich nemocných s RA ve smyslu vývoje časných erozivních změn v asociaci s anti-CCP protilátkami ukázal, že jde o test, který má oprávněně předpoklady stát se důležitým parametrem s diagnostickým a především prediktivním charakterem. Výhodou se také ukazuje poměrně snadná rozlišovací schopnost daná tím, že nejnižší hladiny anti-CCP protilátek jsou v případě jejich elevace zvýšené minimálně na dvojnásobnou hladinu oproti normě. Poměrně silná asociace anti-CCP protilátek s onemocněním a jeho závažnějším průběhem by také měla být stimulem pro hledání možné role těchto protilátek v patogenezi revmatoidní artritidy.*

LITERATURA

1. Corbet, M., Dalton, S., Young, A., Silman, A., Shipley, M.: Factors predicting death, survival and functional outcome in a prospective study of early rheumatoid disease over fifteen years. *Brit J Rheumatol*, 32, 1993, s. 717—723.
2. Van der Heijde, D.M.F.M., van Leeuwen, M.A., van Riel, P.L. et al.: Biannual radiographic assessments of hands and feet in a three-year prospective follow-up of patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 35, 1992, s. 26—34.
3. Youinou, P., Le Goff, P., Colaco, C.B. et al.: Antikeratin antibodies in serum and synovial fluid show specificity for rheumatoid arthritis in a study of connective tissue diseases. *Ann Rheum Dis*, 44, 1985, s. 450—454.
4. Vincent, C., Serre, G., Lapeyre, F. et al.: High diagnostic value in rheumatoid arthritis of antibodies to the stratum corneum of rat oesophagus epithelium, so called 'antikeratin antibodies'. *Ann Rheum Dis*, 48, 1989, s. 712—722.
5. Janssens, X., Veys, E.M., Verbruggen, G., Declercq, L.: The diagnostic significance of the antiperinuclear factor for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 31, s. 315—324.
6. Hayem, G., Chazerian, P., Combe, B. et al.: Anti-Sa antibody is an accurate diagnostic and prognostic marker in adult rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 26, 1999, s. 7—13.
7. Meyer, O., Combe, B., Elias, A. et al.: Autoantibodies predicting the outcome of rheumatoid arthritis: evaluation in two subsets of patients ac-

*Práce byla podporována granty IGA MZ ČR IZ/4354-3 a MŠMT VS96129.

Děkujeme kolegům MUDr. B. Pudlákové, MUDr. V. Šindelkovi a MUDr. R. Záhorovi, bez jejichž pomoci by sledovaný soubor nevznikl.

- cording to severity of radiographic damage. *Ann Rheum Dis*, 56, 1997, s. 682—685.
- 8. Muñoz-Fernández, S., Alvarez-Doforno, R., González-Tarrio, J.M. et al.:** Antiperinuclear factor as a prognostic marker in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 26, 1999, s. 2572—2577.
- 9. Kurki, P., von Essen, R., Kaarela, K., Isomäki, H., Palosuo, T., Aho, K.:** Antibody to stratum corneum (antikeratin antibody) and antiperinuclear factor: markers for progressive rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 26, 1997, s. 346—349.
- 10. Kurki, P., Aho, K., Palosuo, T., Heliovaara, M.:** Immunopathology of rheumatoid arthritis. Antikeratin antibodies precede clinical disease. *Arthritis Rheum*, 35, s. 914—917.
- 11. Berthelot, J.M., Maugars, Y., Castagné, A., Audrain, M., Prost, A.:** Antiperinuclear factors are present in polyarthritis before ACR criteria for rheumatoid arthritis are fulfilled. *Ann Rheum Dis*, 56, 1997, s. 123—125.
- 12. Sebbag, M., Simon, M., Vincent, C. et al.:** The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis - specific autoantibodies. *J Clin Invest*, 95, 1995, s. 2672—2679.
- 13. Simon, M., Girbal, E., Sebbag, M. et al.:** The cytokeratin filament-aggregating protein filaggrin is the target of the so-called “antikeratin antibodies”, autoantibodies specific for rheumatoid arthritis. *J Clin Invest*, 92, 1993, s. 1387—1393.
- 14. Girbal, E., Sebbag, M., Gomés-Daudrix, V., Simon, M., Vincent, C., Serre, G.:** Characterization of the rat oesophagus epithelium antigens defined by the so-called “antikeratin antibodies”, specific for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 52, 1993, s. 749—757.
- 15. Schellekens, G.A., de Jong, B.A.W., van den Hoogen, F.H.J., van de Putte, L.B.A.:** Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest*, 101, 1998, s. 273—281.
- 16. van Jaarseveld, C.H.M., ter Borg, E.J., Jacobs, J.W.G. et al.:** The prognostic value of the antiperinuclear factor, anti-citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, 17, 1999, s. 689—697.
- 17. Schellekens, G.A., Visser, H., de Jong, B.A.W. et al.:** The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum*, 43, 2000, s. 155—163.
- 18. Weyand, C.M., McCarthy, T.G., Goronzy, J.J.:** Correlation between disease phenotype and genetic heterogeneity in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest*, 95, 1995, s. 2120—2126.
- 19. Arnett, F.C., Edworthy, S.M., Bloch, D.A. et al.:** The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 31, 1988, s. 315—324.
- 20. Prevoo, M.L.L., van Riel, P.L.C.M., van't Hof, M.A. et al.:** Validity and reliability of joint indices. A longitudinal study in patients with recent onset rheumatoid arthritis. *Brit J Rheumatol*, 32, 1993, s. 589—594.
- 21. Prevoo, M.L.L., van't Hof, M.A., Kuper, H.H., van Leeuwen, M.A., van de Putte, L.B.A., van Riel, P.L.C.M.:** Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. *Arthritis Rheum*, 38, 1995, s. 44—48.
- 22. Fries, J.F., Spitz, P., Kraines, R.G., Holan, H.R.:** Measurement of patient outcome in arthritis. *Arthritis Rheum*, 23, 1980, s. 137—145.
- 23. Larsen, A., Dale, K., Eek, M.:** Radiographic evaluation of rheumatoid arthritis and related conditions by standard reference films. *Acta Radiol Diagn*, 18, 1977, s. 481—491.
- 24. Hoet, R.M.A.:** Detection of antiperinuclear factor and antikeratin antibodies. S. A10/1—A10/8. In: Van Venrooij, W.J., Maini, R.N. (Eds.): *Manual of Biological Markers*. Dordrecht—Boston—London, Kluwer Academic Publishers 1993.
- 25. Vencovský, J., Pešáková, V., Kafková, J. et al.:** Přínos některých laboratorních vyšetření k diagnostice a hodnocení aktivity revmatoidní artritidy. *Čes Revmatol*, 4, 1999, s. 155—165.
- 26. Bampton, J.L., Cawston, T.E., Kyle, M.V., Hazleman, B.L.:** Measurement of rheumatoid factors by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and comparison with other methods. *Ann Rheum Dis*, 44, 1985, s. 13—19.
- 27. Vencovský, J.:** Revmatoidní faktory u revmatoidní artritidy ve vyšším věku. *Čas Lék Čes*, 130, 1991, s. 108—111.
- 28. Olerup, O., Zetterquist, H.:** HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens*, 39, 1992, s. 225—235.
- 29. van Zeben, D., Breedveld, F.C.:** Prognostic factors in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 23, 1996, Suppl. 44, s. 31—33.
- 30. Symmons, D.P.M., Ollier, W.E.R., Brennan, P., Silman, A.J.:** Should patients with recent onset rheumatoid arthritis be offered genetic screening? *Ann Rheum Dis*, 55, 1996, s. 407—410.
- 31. Gough, A., Faint, J., Salmon, M. et al.:** Genetic typing of patients with inflammatory arthritis at presentation can be used to predict outcome. *Arthritis Rheum*, 37, 1994, s. 1166—1170.
- 32. Jansen, L.M., van Schaardenburg, D., van Der Horst-Bruinsma, I.E., Bezemer, P.D., Dijkman, B.A.:** Predictors of functional status in patients with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 59, 2000, s. 223—226.
- 33. Vencovský, J., Žďárský, E., Moyes, S.P. et al.:** Polymorphism of the immunoglobulin heavy chain variable region V_H1-69 gene contributes to rheumatoid arthritis susceptibility in HLA-DRB1 shared epitope negative Czech patients. *Rheumatol* (zadáno do tisku).
- 34. Teitsson, I., Withrington, R.H., Seifert, M.H., Valdimarsson, H.:** Prospective study of early rheumatoid arthritis. I. Prognostic value of IgA rheumatoid factor. *Ann Rheum Dis*, 43, 1984, s. 673—678.
- 35. Jorgensen, C., Legouffe, M.C., Bologna, C., Brochier, J., Sany, J.:** IgA isotype rheumatoid factor in rheumatoid arthritis: clinical implications. *Clin Exp Rheumatol*, 14, 1996, s. 301—304.

Do redakcie došlo 22.3.2000.

Adresa autorky: MUDr. L. Šedová, Revmatologický ústav, Na Slupi 4, 128 50 Praha 2, Česká republika.