
**Α΄ ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ - ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ
Γ.Ν.Α. «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ»**

**ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΕΙΔΙΚΩΝ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ
ΣΤΗ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΜΕ ΤΗΝ
ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΑΠΟΤΥΠΩΣΗΣ (ΝΕΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ)**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ Γ. ΤΣΙΡΟΓΙΑΝΝΗ
ΙΑΤΡΟΣ – ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΟΣ**

ΑΘΗΝΑ 2013

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ ΚΕΙΜΕΝΟ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ· ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΟΙΣ· ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ· ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΞΙΟΙΣ ΤΗΣΔΕ· ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΑΠ' ΩΦΕΛΕΙΑ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΛΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΣΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑ ΚΑΙ Σ' ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΤΙΣ ΘΕΕΣ, ΠΟΥ ΒΑΖΩ ΜΑΡΤΥΡΕΣ, ΟΤΙ ΘΑ ΕΚΠΛΗΡΩΣΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΑΥΤΟ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ ΟΤΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΕΚΕΙΝΟΝ ΠΟΥ ΜΟΥ ΔΙΔΑΞΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ. ΊΣΟΝ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΝΩ ΚΟΙΝΩΝΟ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΦΕΡΩ ΑΠΟ ΤΑ ΔΙΚΑ ΜΟΥ ΟΤΙ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ. ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΞΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ, ΑΝ ΕΠΙΘΥΜΟΥΝ ΝΑ ΜΑΘΟΥΝ ΧΩΡΙΣ ΜΙΣΘΟ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ ΣΥΜΦΩΝΙΑ, ΟΤΙ ΘΑ ΜΕΤΑΔΩΣΩ ΤΟΥΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΟΥΣ ΚΑΝΟΝΕΣ, ΤΑ ΘΕΩΡΗΤΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΙΣ ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΜΟΥ, ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΣΕ ΜΑΘΗΤΕΣ ΠΟΥ ΘΑ ΕΧΟΥΝ ΣΥΝΔΕΘΗ ΜΑΖΙ ΜΟΥ ΜΕ ΟΡΚΟ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ, ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΗΘΕΙΑ ΤΩΝ ΙΑΤΡΩΝ, ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ ΑΛΛΟ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΩ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΙΤΑ ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΩΦΕΛΕΙΑ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΟΣΟ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ, ΚΑΙ (ΥΠΟΣΧΟΜΑΙ ΟΤΙ) ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΩ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΑ.

ΔΕΝ ΘΑ ΧΟΡΗΓΗΣΩ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟ ΦΑΡΜΑΚΟ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΣΟ ΚΑΙ ΑΝ ΠΑΡΑΚΛΗΘΩ, ΟΥΤΕ ΘΑ ΥΠΟΔΕΙΞΩ ΤΕΤΟΙΑ ΣΥΜΒΟΥΛΗ. ΕΠΙΣΗΣ ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΟ ΕΚΤΡΩΤΙΚΟ. ΑΓΝΗ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΗ ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ. ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΩ ΟΠΩΣΔΗΠΟΤΕ ΑΥΤΟΥΣ ΠΟΥ ΠΑΣΧΟΥΝ ΑΠΟ ΠΕΤΡΑ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΑΦΗΣΩ ΤΗΝ ΠΡΑΞΗ ΑΥΤΗ ΣΤΟΥΣ ΕΞΑΣΚΗΜΕΝΟΥΣ. ΣΕ ΟΣΑ ΣΠΙΤΙΑ ΠΡΟΣΚΑΛΟΥΜΑΙ, ΘΑ ΜΠΑΙΝΩ ΓΙΑ ΤΟ ΚΑΛΟ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΚΡΑΤΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΕΑΥΤΟ ΜΟΥ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΘΕΛΗΜΑΤΙΚΗ ΑΔΙΚΙΑ. Η ΑΛΛΗ ΔΙΑΦΘΟΡΑ ΚΑΙ ΠΡΟ ΠΑΝΤΩΝ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΑΦΡΟΔΙΣΙΑΚΗ ΠΡΑΞΗ ΣΕ ΣΩΜΑΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ Η ΔΟΥΛΩΝ.

ΟΣΑ ΔΕ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΘΑ ΔΩ Η ΘΑ ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΠΕΡΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΣΧΟΛΙΕΣ ΜΟΥ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΖΩΗ, ΟΣΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΚΟΙΝΟΛΟΓΟΥΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΕΞΩ, ΘΑ ΤΑ ΑΠΟΣΙΩΠΩ, ΥΠΟΛΟΓΙΖΟΝΤΑΣ ΟΤΙ ΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΙΕΡΑ ΜΥΣΤΙΚΑ. ΟΣΟ ΛΟΙΠΟΝ ΘΑ ΤΗΡΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ, ΚΑΙ ΔΕΝ ΘΑ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΙΑΣΩ, ΕΙΘΕ ΝΑ ΠΕΤΥΧΑΙΝΩ ΣΤΗ ΖΩΗ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ, ΕΧΟΝΤΑΣ ΚΑΛΟ ΟΝΟΜΑ ΠΑΝΤΟΤΕ. ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΩ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ.

Διατριβή για διδακτορία

Αθήνα 2013

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ομότιμος Καθηγητής κ. Παύλος Π. Σφηκάκης

Ομότιμος Καθηγητής κ. Μύρων Μαυρικάκης

Αν. Καθηγήτρια κα Ιωάννα Οικονομίδου (Επιβλέπον Μέλος)

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Ομότιμος Καθηγητής κ. Παύλος Π. Σφηκάκης

Ομότιμος Καθηγητής κ. Μύρων Μαυρικάκης

Καθηγητής κ. Πέτρος Π. Σφηκάκης

Αν. Καθηγήτρια κα Ιωάννα Οικονομίδου

Αν. Καθηγήτρια κα Χρυσούλα Νικολάου

Αν. Καθηγητής κ. Στυλιανός Χατζηπαναγιώτου

Επ. Καθηγήτρια κα Βιολέττα Καψιμάλη

Παρουσίαση Διδακτορικής Διατριβής : 14-03-2013

Βαθμός Διδακτορικής Διατριβής : **ΑΡΙΣΤΑ**

στον Δημήτρη και στον γιό μας Ορέστη

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	8
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	18
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	21
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	23
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	24
Κεφάλαιο 1. Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	25
1.1. Ορισμός και ιστορική αναδρομή	25
1.2. Επιδημιολογία της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας	26
Κεφάλαιο 2. Αιτιοπαθογένεια της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας	28
2.1. Φύλο και Ηλικία	28
2.2. Κοινωνικοοικονομικοί και γεωγραφικοί παράγοντες	28
2.3. Ορμόνες	29
2.4. Περιβαλλοντικοί παράγοντες	29
Κεφάλαιο 3. Ανοσογενετική της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας	32
3.1. MHC και RA	32
3.2. TNF και RA	34
3.3. Άλλα γονίδια και RA	34
Κεφάλαιο 4. Παθογένεια της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας	36
Κεφάλαιο 5. Διαγνωστική προσέγγιση της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας	43
5.1. Εργαστηριακά ευρήματα	43
5.1.1. Πρωτεΐνες οξείας φάσης	44
5.1.2. Αυτοαντισώματα	50
5.1.2.1. Αυτοαντισώματα που σχετίζονται με τη RA	51
5.1.2.2. Αυτοαντισώματα ειδικά για RA	58
5.1.2.3. Αντι-CCP αυτοανοσία	61
5.2. Κλινικές εκδηλώσεις	66
5.3. Κριτήρια διάγνωσης	68
Κεφάλαιο 6. Θεραπεία της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας	75

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	77
Κεφάλαιο 7. Σκοπός	78
Κεφάλαιο 8. Ασθενείς και Μέθοδοι	80
8.1. Ασθενείς	80
8.2. Μέθοδοι προσδιορισμού	82
8.2.1. Έμμεσος ανοσοφθορισμός	82
8.2.2. Ραδιοανοσολογική μέθοδος (RIA-Farr assay)	86
8.2.3. ELISA	87
8.2.4. Κλασικές τεχνικές ανοσοαποτύπωσης	89
8.2.5. Νεφελομετρία	93
8.3. Στατιστική ανάλυση	94
Κεφάλαιο 9. Αποτελέσματα	96
9.1. Ανοσολογικοί παράμετροι σε ασθενείς με RA και μη RA νόσο	96
9.1.1. Ευαισθησία, ειδικότητα και προγνωστική αξία των δεικτών	101
9.2. Ασθενείς με Πολυαρθρικό Σύνδρομο - Εξέλιξη σε RA	103
9.3. Σύγκριση των δεικτών ασθενών με RA σε σχέση με ομάδα ελέγχου	106
9.4. Σημασία των υποτάξεων του ΡΠ στους ασθενείς με RA	111
9.5. Μεταβολή επιπέδων των ανοσολογικών δεικτών σε σχέση με DAS28	112
9.6. Μεταβολή επιπέδων των δεικτών σε σχέση με τη θεραπεία	113
Κεφάλαιο 10. Συζήτηση	115
10.1. Αντιπυρηνικά, αντι-dsDNA, αντι-ENA και αντι-RA33 αντισώματα	115
10.2. Ρευματοειδής Παράγοντας	116
10.3. Αντι-CCP αντισώματα	118
10.4. Αντι-MCV αντισώματα	123
10.5. Συμπεράσματα	124
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	126
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ (SUMMARY)	130
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	133

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	Αλεξάνδρα Τσιρογιάννη
ΠΑΤΡΩΝΥΜΟ	Γεώργιος
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ	13 Μαΐου 1959
ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ	Αθήνα
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	Έγγαμος, μητέρα ενός παιδιού
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ	Θίσβης 4, Περιστερί - Αττικής

ΤΙΤΛΟΙ ΣΠΟΥΔΩΝ

Ιούλιος 1984	Πτυχίο Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών
Μάιος 1990	Τίτλος ειδικότητας Μικροβιολογίας / Βιοπαθολογίας

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

<u>1984-1985</u>	: Αγροτικός Ιατρός στο χωριό Κρυσπηγή του Ν. Καρδίτσας.
<u>1985-1990</u>	: Ειδικευόμενη Ιατρός στα Εργαστήρια των Νοσοκομείων «Μαρίκα Ηλιάδη» και «ο Ευαγγελισμός».
<u>1990</u>	: Επιμελήτρια Β' ΕΣΥ, στο Τμήμα Ανοσολογίας - Ιστοσυμβατότητας του ΓΝΑ «ο Ευαγγελισμός».
<u>1998</u>	: Επιμελήτρια Α' ΕΣΥ, στο Τμήμα Ανοσολογίας - Ιστοσυμβατότητας του ΓΝΑ «ο Ευαγγελισμός»
<u>2006</u>	: Αναπληρώτρια Διευθύντρια, Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του ΓΝΑ «ο Ευαγγελισμός»
<u>2010</u>	: Διευθύντρια ΕΣΥ, στο Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του ΓΝΑ «ο Ευαγγελισμός»

ΆΛΛΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ

- Συμμετοχή σε Ιατρικές Επιστημονικές Εταιρείες

1. Μέλος της Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας.
2. Μέλος της Εταιρείας « Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική»

3. Μέλος της Ένωσης Επιστημονικού Προσωπικού Νοσοκομείου "ο Ευαγγελισμός"
4. Μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Ανοσολογίας.
 Εκλεγμένο μέλος Δ.Σ 2004-2010 (Ειδικός Γραμματέας 2004-2007
 Γενικός Γραμματέας 2007-2010)
5. Μέλος Επιστημονικών και Οργανωτικών Επιτροπών Συνεδρίων και Σεμιναρίων
6. Μέλος της Συντακτικής Επιτροπής του ιατρικού περιοδικού "Ανοσία"
7. Γραμματέας του Δ.Σ της Ένωσης Επιστημόνων του Ευαγγελισμού (ΕΕΠΝΕ), 2011
8. Μέλος της EFIS - European Federation of Immunological Societies

• **Συμμετοχή σε άλλες Επιτροπές / Δ.Σ**

1. Μέλος επιτροπής συντονισμού λειτουργίας των Επιστημονικών Τμημάτων του ΓΝΑ «ο Ευαγγελισμός» 1996
2. Εκλεγμένο μέλος 5μελούς Επιτροπής ΕΙΝΑΠ 2000, 2003, 2006 και 2010
3. Εκλεγμένο μέλος σε Συνέδριο της ΟΕΝΓΕ 2003, 2006 και 2010
4. Εκλεγμένο μέλος στο Δ.Σ του Σωματείου Εργαζομένων του Νοσοκομείου Ευαγγελισμός (Σ.Ε.Ν.Ε), 2010

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ-ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- Συμμετοχή στην εκτέλεση διατριβών, πτυχιακών εργασιών και ερευνητικών προγραμμάτων : 14
- Συμμετοχή σε ελληνικά συνέδρια : 82
- Συμμετοχή σε διεθνή συνέδρια : 41
- συμμετοχή με εισηγήσεις/διαλέξεις σε συμπόσια, συνέδρια, ημερίδες : 30
- συμμετοχή σε συγγραφή επιστημονικών βιβλίων : 13
- επιστημονικές ανακοινώσεις σε ελληνικά συνέδρια : 72
- επιστημονικές ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια : 34
- δημοσιεύσεις σε ξενόγλωσσα περιοδικά 33
- δημοσιεύσεις σε ελληνικά περιοδικά : 31
- συμμετοχή σε σεμινάρια, ημερίδες ως εκπαιδευόμενη : 50
- συμμετοχή σε σεμινάρια, ημερίδες ως εκπαιδευτής : 41
- συμμετοχή σε προεδρεία, επιστημονικές, οργανωτικές και συντονιστικές επιτροπές συνεδρίων και σεμιναρίων : 24

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. G. Vaiopoulos, P. Hatzinikolaou, A.Tsirogianni, S.Mavropoulos, G. Stamatelos, K. Terzoglou, A. Tzonou, I. Economidou, Ph. Kaklamanis.
Antineutrophil cytoplasmic antibodies in Adamatiadis-Behcet's Disease.
British Journal of Rheumatology, vol. 33 (4); 406-407, 1994
2. G.J. Mantzaris, M. Economou, A.Tsirogianni, Ch. Zografos, G. Triantafyllou, I. Ecomidou.
Antineutrophil cytoplasmic antibodies in Greek patients with inflammatory bowel disease, celiac disease and infectious colitis.
Gut, vol. 35 (suppl. 4); 124, 1994
3. G.J. Mantzaris, A.Tsirogianni, E. Perivolioti, E. Archavilis, P. Amperiadis, N. Koumentakis, Chr. Papasteriadi, A. Avgerinos, G. Triantafyllou, I. Economidou.
Sensitivity and specificity of serum IgA class endomysial antibody in the diagnosis of celiac disease.
Hellenic Journal of Gastroenterology, vol.8 (4);126-131, 1995
4. E. Pini, I. Constantinides, A. Tsirogianni, S. Dikeou, P. Spirou, Z. Rodousaki, P. Dantis, I. Economidou, E. Diamantopoulos.
Serum levels of neopterin in patients with adult onset Still's disease.
European Journal of Internal Medicine, vol. 6 (suppl.1); 415, 1995
5. A. Tsirogianni, M. Economou, K. Terzoglou, I. Economidou.
The spectrum of autoantibodies in HIV seropositive subjects in various stages of HIV infection.
Immunology Letters, vol. 56 (1-3); 480, 1997
6. M. Economou, A. Tsirogianni, K. Terzoglou, I. Economidou.
Frequency and specificities anti-neutrophil antibodies (ANCA) in inflammatory bowel disease.
Immunology Letters, vol. 56 (1-3); 481, 1997
7. St. Theodoropoulou, D. Chryssovergi, G. Papageorgiou, C. Motsakou, A. Tsirogianni, I. Economidou.
Immunological abnormalities and neuroleptic malignant syndrome (NMS)
Biological Psychiatry, vol.42 (15);180-181, 1997
8. Economidou I, Chryssovergi D, Pappa H, Tsiroyianni A, Terzoglou C, Tarassi C, Bekyros V.
Demografic and clinical aspects of Greek adult patients with primary antibody deficiencies.
Molecular Immunology, vol.35; 793, 1998
9. Chryssovergi D, Tsiroyianni A, Pappa H, Kapsimali V, Bakiri M, Karmiris T, Dervenoulas I, Merzanos E, Konstantinidis I, Halevelakis G, Economidou I.
Spectrum of haematological disorders in common variable immunodeficiency (CVI) and IgA deficiency (IgA-D).
Molecular Immunology, vol.35; 748, 1998

10. Chrysovergi D, Theodoropoulou S, Tsiroyianni A, Pappa H, Leotsakou C, Economidou I.
Primary or secondary immunological abnormalities related to neuroleptic malignant syndrome (NHS)
The Immunologist, Suppl. 1; 552, 1998
11. Zamanou A, Eliades P, Terzoglou C, Tsiroyianni A, Balafas A, Economidou I, Lymberi P.
Anti-smooth muscle antibodies (ASMA) comparison of classical indirect immunofluorescence, with ELISA and Western blotting.
The Immunologist, Suppl. 1; 583, 1998
12. Economidou I, Avgerinou G, Tsiroyianni A, Stavropoulos P, Varletzidis A, Katsambas A.
Endomysium and antigliadin antibodies in dermatitis herpetiformis and other bullous diseases.
JEADV, 11(2); 184-185, Sept. 1998
13. E.M. Davas, A. Tsiroyianni, I. Kappou, D. Karamitsos, I. Economidou, P.C. Dantis.
Serum IL-6, TNF- α , p55 srTNF- α , p75 srTNF- α , srIL-2 α levels and disease activity in Systemic Lupus Erythematosus.
Clinical Rheumatology, 18: 17-22;1999
14. E. Stamataki, K. Barre, A. Grigorakis, A. Tsiroyianni, E. Pappa.
Interleukins in transurethral and suprapubic prostatectomy: comparative study.
Anaesthesiology and Intensive therapy, 29 (suppl 2): 33; 1999
15. E. Stamataki, E. Novi, A. Grigorakis, A. Tsiroyianni, A. Grigoratou, M. Vezyrgiannis
Proinflammatory cytokines and acute phase response in transurethral versus suprapubic prostatectomy.
Journal of Endourology, 13(suppl 1): 18; 1999
16. A.Tsiroyianni, I. Kakkas, E. Trigoni, M. Nikolopoulou, G. Mantzaris, Ch. Papasteriades
Specificity, sensitivity and predictive value of specific autoantibodies in celiac disease.
Immunology letters, 73(2,3): 164; 2000
17. S. Xynogalos, A. Tsiroyianni, H. Pappa, S. Pavlitou, M. Zervou, P. Kirpoglou, J. Vathalitis, C. Delaki, M. Vaslamatzis, C.G. Alexopoulos.
Serum levels of soluble ICAM1 (sICAM) and VCAM1 (sVCAM1) in patients with NSCLC.
Annals of Oncoology, vol 11(suppl 4):124; 2000
18. A. Tsiroyianni, E. Trigoni, I. Kakkas, M. Nikolopoulou, L. Krikou, G. Mantzaris, Chr. Papasteriades
Specificity, sensitivity and predictive value of specific autoantibodies in coeliac disease.
EFIS 2000, MONDUZZI EDITORE, p. 127-132; 2001

19. Papadaki HA, Psyllaki M, Eliopoulos DG, Tsiroyianni A, and Eliopoulos GD
Increased frequency and specific reactivity of serum antinuclear antibodies in patients with nonimmune chronic idiopathic neutropenia of adults.
Acta Haematologica, 105 (1): 13; 2001
20. Zamanou A, Tsirogianni A, Terzoglou C, Balafas A, Economidou I, Lymberi P.
Anti-Smooth Muscle Antibodies (ASMAs) and Anti - Cytoskeleton Antibodies (ACTAs)in Liver Diseases:A Comparison of Classical Indirect Immunofluorescence with ELISA.
Journal of Clinical Laboratory Analysis, 16:194-201; 2002
21. D. Papoutsas, A. Psarra, V. Kapsimali, I. Kakkas, A. Tsiroyianni, I. Economidou, C. Papasteriades
The long-term impact of trauma splenectomy on immunological parameters
Immunology Letters 87: 92-93; 2003
22. A. Tsiroyianni, A. Antoniou, E. Patsouris, M. Psatha, I. Kappou, C. Papasteriades.
Coexistence of anti-Ro52 and anti-Jo-1 antibodies in myositis patients.
Immunology Letters 87: 203; 2003
23. A. Tsiroyianni, A. Slavounou-Andrikopoulou, M.Iakovou, X. Analiti, I. Mixelaki, A.Perissios, S. Rapanikolaou, Chr. Papasteriades
Correlation between anti-desmoglein antibody levels and clinical severity of Pemphigus Vulgaris
Turkish Journal of Immunology, supp. vol. 9-2: 222;2004
24. Mantzaris GJ, Roussos A, Petraki K, Rontogianni D, Tsirogianni A, Triantafyllou G
Prevalence of celiac disease in patients with Crohn's disease.
Inflammatory bowel diseases, 11 (11): 1029; 2005
25. Alexandra Slavounou-Andrikopoulou, Maria Iakovou, Alexandra Tsirogianni, Chara Analiti, Irene Mixelaki, Chryssa Papasteriades, Stavros Rapanikolaou, Andreas Perissios
The clinical phenotype of pemphigus vulgaris correlates to the anti-desmoglein antibody levels: the first study performed in Greece
Oral Biosci Med, 2: 21-27 ; 2005
26. A. Tsiroyianni, E. Kontou, K.Soufleros, N.Thivaivos, Chr. Papasteriades
Anti-nuclear antibodies (ANA) evaluation in 14320 consecutive blood samples. Correlation with anti-dsDNA and anti- ENA antibodies.
Autoimmunity Reviews, supp: 361; 2006
27. Tsirogianni A, Pipi E, and Soufleros K.
Relevance of anti-C1q autoantibodies to lupus nephritis
Annals of the New York Academy of Sciences, 1173: 243-51; 2009
28. Tsirogianni A, Pipi E, and Soufleros K.
Specificity of islet cell autoantibodies and coexistence with other organ specific autoantibodies in type 1 diabetes mellitus.
Autoimmunity Reviews, 8(8): 687-91; 2009

- 29.** Papamichael K, Tsirogianni A, Papasteriades C, and Mantzaris GJ
Low prevalence of antibodies to cyclic citrullinated peptide in patients with inflammatory bowel disease regardless of the presence of arthritis.
European Journal of Gastroenterology & Hepatology, 22(6):705-9; 2010
- 30.** Koutroubakis IE, Drygiannakis D, Tsirogianni A, Oustamanolakis P, Karmiris K, Papamichael K, Mantzaris GJ, Kouroumalis EA.
Antiglycan Antibodies in Greek Patients with Inflammatory Bowel Disease
Dig Dis Sci. Mar; 56(3):845-52; 2011
- 31.** Tsiveriotis K, Tsirogianni A, Papi E, Soufleros K, Papasteriades C.
Antineutrophil cytoplasmic antibodies testing in a large cohort of unselected greek patients.
Autoimmune Dis.2011; 626495. doi : 10.4061/2011/626495. May 3: 1-8; 2011
- 32.** Katerina Tarassi, Marietta Marketou, Diamanto Kouniaki, Alexandra Tsirogianni, Vasiliki Kitsiou, Theofilos Athanasiades, Konstantinos Soufleros, Panagiota Gatoutsou, Georgios Ioannidis, Chryssa Pappasteriades.
HLA DRB1*/DQB1*associations in Greek patients with latent autoimmune diabetes in adults (LADA)
Tissue Antigens June, vol 79 (6): 568; 2012
- 33.** Antony Perperas, Demetris Karagiannakis, George Anagnostopoulos, Alexandra Tsirogianni, Dimosthenis Panagiotakos, Savvas Papadopoulos, Manolis Tsagkaris, Chryssa Pappasteriades, Spilios Manolakopoulos
Pretreatment serum interleukin-12 levels in predicting sustained virological response among hepatitis C patients following Pegylated Interferon- α 2 β plus Ribavirin treatment
Annals of Gastroenterology, 26 : 1-6; 2013

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Ε. Αξιώτης, Μ. Αναγνωστοπούλου, Ε. Πανάγου, Κ. Περράκη, Α. Μεντής, Α. Τσιρογιάννη, Ο. Πανιάρα, Φλ. Σότσιου, Α. Αναγνωστίδης.
Αντισώματα του campylobacter pylori. Ευαίσθητος δείκτης λοίμωξης σε ασθενείς με δυσπεψία.
Νοσοκομειακά Χρονικά, τόμος 53 (1); 26-29, 1991
2. Ε. Κασκάνη, Δ. Πατρίκος, Ι. Κάππου-Ρηγάτου, Α.Τσιρογιάννη, Μ. Μαραγκού, Κ. Τερζόγλου, Γ. Φωστηρόπουλος, Π. Ντάντης.
Μικροσκοπικά ευρήματα τριχοειδών παρωνυχίου σε ασθενείς με φαινόμενο Raynaud. Συσχέτιση με κλινική εικόνα και ανοσολογικά ευρήματα
Ελληνική Ρευματολογία, τόμος 4 (5); 10, 1992
3. Μ. Μαραγκού, Μ. Οικονόμου, Γ. Λαϊνά, Κ. Τερζόγλου, Α.Τσιρογιάννη, Χ. Πατίκος, Ζ. Ροδουδάκη, Π. Μπάμπαλη, Ι. Οικονομίδου, Π. Ντάντης.
Αντισώματα έναντι του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων (ANCA) σε ασθενείς με ρευματικές παθήσεις.
Ελληνική Ρευματολογία, τόμος 4 (5); 12, 1992
4. Μ. Μαραγκού, Θ. Καρμίρης, Αικ. Ταράση, Σ. Λιώσης, Α.Τσιρογιάννη, Δ. Πατρίκος, Σ. Αθανασιάδου, Π. Ντάντης.
Παραπρωτεϊναιμία (ΠΠ) σε ασθενείς με Ρευματοειδή Αρθρίτιδα (ΡΑ)
Ελληνική Ρευματολογία, τόμος 4 (5); 33, 1992
5. Κ. Μποκή, Χ. Λαϊνάς, Α.Τσιρογιάννη, Ε. Παπαπαύλου, Κ. Τερζόγλου, Σ. Αθανασιάδου.
Αντιθρεοειδικά αντισώματα σε ασθενείς με Ρευματοειδή Αρθρίτιδα.
Ελληνική Ρευματολογία, τόμος 4 (5); 2, 1992
6. Ε. Κασκάνη, Δ. Πατρίκος, Ι. Κάππου-Ρηγάτου, Α.Τσιρογιάννη, Μ. Μαραγκού, Κ. Τερζόγλου, Γ. Φωστηρόπουλος, Π. Ντάντης.
Μικροσκοπικά ευρήματα τριχοειδών παρωνυχίου σε ασθενείς με φαινόμενο Raynaud. Συσχέτιση με κλινική εικόνα και ανοσολογικά ευρήματα
Ελληνική Ρευματολογία, τόμος 5 (2); 103-119, 1993
7. Α.Τσιρογιάννη
Αυτοάνοσα νοσήματα ήπατος.
Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας, τόμος 40 (5); 392-396, 1995
8. Ι. Κωνσταντινίδης, Α. Δημουλά, Σ. Πίνης, Ι. Μπαλατάδης, Α.Τσιρογιάννη, Αικ. Παντελιδάκη.
Περίπτωση ασθενούς με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (MDS-RAED) που βελτιώθηκε με τα κορτικοστεροειδή.
Νοσοκομειακά Χρονικά, τόμος 57(1); 40-44, 1995
9. Γ. Ι. Μάντζαρης, Χ. Ζωγράφος, Α.Τσιρογιάννη, Μ. Οικονόμου, Κ. Πετράκη, Ι. Οικονομίδου, Γ. Τριανταφύλλου.
Συσχέτιση της ληκυθίτιδας με το κάπνισμα στις εξωεντερικές εκδηλώσεις και τα p-ANCA σε ασθενείς με ειλείκη λήκυθο.
Ιατρική, τόμος 70(4) ; 324-328, 1996

10. Α. Κοντογιάννη, Α. Τσιρογιάννη, Μ. Μαραγκού, Γ. Ρεκούμης, Ε. Κασκάνη, Ι. Οικονομίδου, Π. Ντάντης.
Κλινικο-εργαστηριακή μελέτη και μακρά παρακολούθηση αντι-Sm (+) ασθενών.
Ελληνική Ρευματολογία, τόμος 7 ; 16, 1996
11. Τρ. Σπηλιώτης, Α. Τσιρογιάννη, Πρ. Πίπης, Αικ. Παντελιδάκη, Ε. Ντότσικα, Δ. Γκουζούλης, Μ. Αναγνωστοπούλου, Μ. Φαμέλη, Α. Τασσίδου, Δ. Αναγνώστου, Ο. Πανιάρα, Ι. Οικονομίδου, Γ. Σαρόγλου.
Αυτοάνοσα φλεγμονώδη νοσήματα του συνδετικού ιστού και χρόνια συστηματική λοιμώδης νόσος.
Ελληνική Ρευματολογία, τόμος 7 ; 36, 1996
12. Μ. Οικονόμου, Κ. Τερζόγλου, Α. Τσιρογιάννη, Ι. Οικονομίδου.
Ιδιοπαθείς συστηματικές αγγειίτιδες- Αυτοαντισώματα κατά του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων.
Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας, τόμος 45(3); 328-335, 2000
13. Α. Τσιρογιάννη
Αυτοανοσία- Αυτοάνοσα νοσήματα.
Νοσοκομειακά Χρονικά, τόμος 65; 170-178, 2003
14. Τσιρογιάννη Α., Σφουντούρης Χ., Σαρικούδης Θ., Σουφλερός Κ., Ζυγούρης Ν., Παπαστεριάδη Χρ., Κάππου- Ρηγάτου Ι.
Επίπεδα ολιγομερούς πρωτεΐνης χόνδρου (COMP) σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα (CCP +, CCP -) και δευτεροπαθή οστεοαρθρίτιδα γόνατος.
Ελληνική Ρευματολογία, συμπληρωματικό τεύχος Δεκέμβριος 2006, σελ. 100
15. Παπαζήση Δ., Μαραγκού Μ., Κουτρομπάς Α., Τσιρογιάννη Α., Σαρικούδης Θ., Παπαστεριάδη Χρ., Κάππου- Ρηγάτου Ι.
Σύνδρομο επικάλυψης συστηματικού σκληροδέρματος και ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Περιγραφή 6 περιστατικών.
Ελληνική Ρευματολογία, συμπληρωματικό τεύχος Δεκέμβριος 2006, σελ. 106
16. Σφουντούρης Χ., Τσιρογιάννη Α., Χαραλάμπους Π., Σαρικούδης Θ., Ψαρρά Α., Παπαστεριάδη Χρ., Κάππου- Ρηγάτου Ι.
Συγκριτική μελέτη επιπέδων ολιγομερούς πρωτεΐνης χόνδρου (COMP) σε ασθενείς με πρωτοπαθή και δευτεροπαθή οστεοαρθρίτιδα γόνατος (OA)
Ελληνική Ρευματολογία, συμπληρωματικό τεύχος Δεκέμβριος 2006, σελ. 110
17. Α. Σκλαβούνου, Μ. Ιακώβου, Α. Τσιρογιάννη, Χ. Αναλυτή, Ε. Μιχελάκη, Χ. Παπαστεριάδη, Σ. Παπανικολάου, Α. Περίσσιος.
Μελέτη των αντιδεσμογλεινικών αντισωμάτων στην κοινή πέμφιγα. Η πρώτη μελέτη σε Έλληνες ασθενείς.
Νοσοκομειακά Χρονικά 2007, τόμος 69, τεύχος 1: 6-12
18. Α. Τσιρογιάννη
Η σημασία και αξιολόγηση της ανευρέσεως αυτοαντισωμάτων σε ασυμπτωματικά (υγιή) άτομα και συγγενείς πασχόντων με αυτοάνοσα νοσήματα.
Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 2007, 24(1): 320-327

19. Αλεξάνδρα Τσιρογιάννη, Κωνσταντίνος Σουφλερός, Ιωάννης Δημήρης, Πωλίνα Κατσουλέρη, Γιώργος Καλογεράς, Χρύσα Παπαστεριάδη.
Έλεγχος ειδικών για το Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 (T1D) αυτοαντισωμάτων.
Συνύπαρξη με άλλα οργανοειδικά αυτοαντισώματα.
Ιατρικό Βήμα 2007, ειδική έκδοση: 48
20. Α. Τσιρογιάννη, Κ. Σουφλερός, Χ. Σφουντούρης, Σ. Μπρίκος, Ε. Πίπη, Π. Μπάμπαλη, Ι. Δημήρης, Χ. Παπαστεριάδη
Αντι-C1q αυτοαντισώματα στο Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ).
Ευαισθησία, ειδικότητα και κλινική σημασία στη νεφρίτιδα του ΣΕΛ.
Ανοσία 2007, τόμος 3: 233
21. Ι. Κάκκας, Ε. Γρηγορίου, Σ. Δελήμπαση, Α. Τσιρογιάννη, Ε. Μπεκύρος, Δ. Ζουμπούκου, Ε. Νικηφοράκης, Χρ. Παπαστεριάδη.
Συμβολή των μετρήσεων των ελεύθερων ελαφρών αλυσίδων του ορού στη διάγνωση του μη εκκριτικού πολλαπλού μυελώματος.
Ανοσία 2007, τόμος 3: 286
22. Κ. Σουφλερός, Α. Τσιρογιάννη, Χ. Σφουντούρης, Ε. Συνοδινού, Κ. Τσιβεριώτης, Σ. Καραψιάς, Π. Μπάμπαλη, Χρ. Παπαστεριάδη.
Ευαισθησία και ειδικότητα των IgA και IgG αντισωμάτων έναντι alpha-fodrin στο πρωτοπαθές σύνδρομο Sjogren.
Ανοσία 2007, τόμος 3: 309
23. Α. Τσιρογιάννη, Κ. Σουφλερός, Σ. Καλλιιά, Χρ. Μουλαρογιάννη, Β. Τσίπα, Φ. Καραδήμα, Στ. Πομώνη, Χρ. Παπαστεριάδη.
Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1: Ειδικότητα ICA αντισωμάτων. Συνύπαρξη με άλλα οργανοειδικά αυτοαντισώματα.
Ανοσία 2007, τόμος 3: 325
24. Χρ. Παπαστεριάδη, Αικ. Ταράση, Θ. Αθανασιάδης, Δ. Κουνιάκη, Α. Ξανθινάκη, Αλ. Τσιρογιάννη, Β. Κίτσιου, Αλ. Σκλαβούνου.
HLA-DR/DQ αλληλία σε Έλληνες ασθενείς με κοινή πέμφιγα. Συσχέτιση με αυτοαντισώματα έναντι δεσμογλεΐνης 1 και 3 (Dsg1, Dsg3).
Ανοσία 2007, τόμος 3: 340
25. Α Τσιρογιάννη
Κυτταροκίνες - Μέθοδοι προσδιορισμού -Κλινικές εφαρμογές
Νοσοκομειακά Χρονικά, 70; 24-28, 2008
26. Α Τσιρογιάννη
Ανοσιακή ρύθμιση - ομοιόσταση
Ανοσία 2008 τόμος 4 suppl: 22-24
27. Α Τσιρογιάννη
Ανοσιακή απάντηση στην Κάντιντα και στον Ασπέργιλλο: ελλείμματα στη φυσική ανοσία
3^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Ιατρικής Μυκητολογίας, βιβλίο διαλέξεων, σελ. 30-31; 2009

- 28.** A. Τσιρογιάννη
Δυνατότητες και προοπτικές του σύγχρονου εργαστηρίου κλινικής ανοσολογίας στη διάγνωση και παρακολούθηση νοσημάτων και καταστάσεων: Αυτοανοσία
Ανοσία 2009 τόμος 5 suppl: 112-115
- 29.** A. Τσιρογιάννη
Αιμοφαγοκυτταρικό Σύνδρομο και Αυτοανοσία
Νοσοκομειακά Χρονικά, 73; 465-469, 2011
- 30.** Αλ. Τσιρογιάννη, Ελ. Πίπη, Κ. Σουφλερός, Χ. Σφοντούρης, Χρ. Παπαστεριάδη
Αντι-C1q αντισώματα: κλινική συσχέτιση και παθογενετικός ρόλος στη νεφρίτιδα του λύκου.
Ανοσία 2011; 7, 1 : 41-49
- 31.** A. Τσιρογιάννη
Διαχείριση αποτελεσμάτων εργαστηριακών εξετάσεων
Νοσοκομειακά Χρονικά, 74; 25-29, 2012

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αισθάνομαι την ανάγκη και την ηθική υποχρέωση να ευχαριστήσω θερμά όλους εκείνους που συνέβαλαν στην ολοκλήρωση αυτής της διατριβής:

Τον κ. Παύλο Σφηκάκη, Ομότιμο Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και πρώην Διευθυντή της Α΄ Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, για την επιστημονική εποπτεία, καθοδήγηση και γόνιμη κριτική καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησής της διδακτορικής διατριβής.

Τον Ομότιμο Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και πρώην Διευθυντή της Θεραπευτικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Μύρωνα Μαυρικάκη, για το ενδιαφέρον του, την καθοδήγηση και τη συμπαράστασή του στην εκπόνηση αυτής της μελέτης.

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και τ. Διευθύντρια του Τμήματος Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, του Γ.Ν.Α. «ο Ευαγγελισμός», κα Ιωάννα Οικονομίδου, για την ανάθεση της παρούσας διατριβής, την καθοριστική συμβολή της, την ενθάρρυνση και την επιστημονική της καθοδήγηση (συμβουλές, παραινέσεις και διορθώσεις) στην ολοκλήρωση αυτής της μελέτης. Η ευρύτητα και γενναιοδωρία της σκέψης της και η αφεγάδιαστη παρουσία της στο χώρο της Ιατρικής και της Ανοσολογίας ειδικότερα, με ενέπνευσαν και μου έδωσαν όραμα όχι μόνο στην εκπόνηση της διδακτορικής μου διατριβής, αλλά και στην όλη επιστημονική και επαγγελματική μου σταδιοδρομία στα μονοπάτια της Ανοσολογίας και γι' αυτό την ευχαριστώ θερμά.

Τη Συντονίστρια Διευθύντρια του Τμήματος Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του Γ.Ν.Α. «ο Ευαγγελισμός», κα Χρύσα Παχούλα-Παπαστεριάδη για την αμέριστη εμπιστοσύνη, αγάπη και φιλική διάθεση με την οποία με περιέβαλε από την πρώτη στιγμή και την πολύπλευρη βοήθειά της χωρίς την οποία θα ήταν αδύνατο να ανταποκριθώ τόσο στις απαιτήσεις της παρούσας διατριβής, όσο και στην επιστημονική μου εξέλιξη. Ιδιαίτερα εκτιμώ την υποστήριξή της αλλά και την ενθάρρυνση που μου προσέφερε ώστε να ολοκληρωθεί η μακροχρόνια αυτή συλλογή και ανάλυση των στοιχείων της μελέτης κατά τα τελευταία κυρίως χρόνια της προσπάθειάς μου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στη συνάδελφο, φίλη αλλά και «δασκάλα» μου, τ. Διευθύντρια του Ανοσολογικού Τμήματος του Ν.Γ.Ν.Α. «Κοργιαλένιο-Μπενάκειο», του Ε.Ε.Σ, κα Κωνσταντίνα Τερζόγλου, που με δίδαξε, με εμπιστεύθηκε και μου έδειξε το δρόμο της αυτοανοσίας, το αντικείμενο αυτό της Ανοσολογίας στο οποίο με τόση εργατικότητα και εμπρίθεια, υπηρέτησε. Το ήθος, ο χαρακτήρας και η αγάπη της με ενέπνευσαν, η δε βοήθεια της όχι μόνο στην εκπόνηση της διατριβής, αλλά γενικότερα στην επαγγελματική μου σταδιοδρομία, υπήρξε καθοριστική και για αυτό της είμαι ευγνώμων.

Τους Ιατρούς του Ρευματολογικού Τμήματος του Γ.Ν.Α. «ο Ευαγγελισμός» και ιδιαίτερα τον Διευθυντή κ. Χαράλαμπο Σφουντούρη και την τ. Διευθύντρια του ίδιου Τμήματος κα Μαρία Μαραγκού, για την αμέριστη βοήθειά τους, την υπομονή και την επιμονή τους στη μακρόχρονη αυτή προσπάθεια ανεύρεσης κατάλληλου και ικανού αριθμού ασθενών καθώς και στη διάθεση όλων των κλινικών πληροφοριών.

Την Διευθύντρια του Ανοσολογικού Ερευνητικού Εργαστηρίου του Ινστιτούτου “Pasteur”, κα Παναγιώτα Λυμπέρη για τη βοήθεια της και την καθοδήγηση στην ανάπτυξη της ειδικής μεθόδου ανοσοαποτύπωσης που απαιτούσε η μελέτη αυτή.

Επιπλέον, ευχαριστώ τον Διευθυντή ΕΣΥ κ. Ιωάννη Κάκκα, τους Επιμελητές Α΄, κ. Κωνσταντίνο Σουφλερό και κα Βασιλική Κίτσιου, καθώς και τη Κλινική Χημικό κα Αικατερίνη Ψαρρά, εξάιρετους συναδέλφους του Τμήματος Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του Γ.Ν.Α. «ο Ευαγγελισμός», συνεργάτες και καλούς φίλους, για την ανεκτίμητη βοήθειά τους στην επεξεργασία των δειγμάτων, στην αξιολόγηση των ευρημάτων αλλά και στην συμβολή τους στην ολοκλήρωση της διατριβής.

Επίσης όλο το προσωπικό του Τμήματος Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, του Γ.Ν.Α. «ο Ευαγγελισμός», στο οποίο πραγματοποιήθηκε εξ΄ ολοκλήρου ο έλεγχος των ανοσολογικών παραμέτρων που μελετήθηκαν. Ιδιαίτερα όμως ευχαριστώ τους τεχνολόγους, κα Παναγιώτα Μπάμπαλη, κα Φωτεινή Καραδήμα, κα Στέλλα Πομώνη, κα Δήμητρα Ζουμπούκου, κ. Ιωάννη Δημήρη και κ. Ευάγγελο Μπεκύρο για την άψογη συνεργασία, αγάπη και φιλία όλων αυτών των χρόνων της επαγγελματικής μας συνύπαρξης στο εργαστήριο καθώς και για την πλήρη εργαστηριακή διεκπεραίωση όλων των δειγμάτων της εργασίας αυτής.

Επιπλέον, ευχαριστώ πολύ την αγαπημένη μου φίλη Βιολόγο κα Ελένη Πίπη για την βοήθειά της στην επιμέλεια και διαμόρφωση των πινάκων, των σχημάτων και των εικόνων αυτής της διατριβής καθώς και τη Βιοστατιστικό κα Χαρά Τζαβάρα για τη συμβολή της στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων αυτής της μελέτης.

Ολοκληρώνοντας, θα ήθελα να εκφράσω το μεγαλύτερο ίσως ευχαριστώ στους γονείς μου, που δυστυχώς έχουν φύγει και μου λείπουν πολύ, στην αδελφή μου αλλά και σε όλους τους φίλους μου για την αγάπη και την υποστήριξή τους σε κάθε βήμα της ζωής μου.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ACRSRA : (The American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis), επιτροπή για τη PA του Αμερικάνικου Κολεγίου Ρευματολογίας

AFA : (Anti-Filagrin Antibodies), έναντι φιλαγγρίνης αντισωμάτων

AKA : (Anti-Keratin Antibodies), αντισώματα έναντι κερατίνης

ANA : (AntiNuclear Antibodies), αντιπυρηνικά αντισώματα

ANCA : (AntiNeutrophil Cytoplasmic), έναντι κυτταροπλάσματος ουδετεροφίλων

APF : (Anti-Perinuclear Factor), αντιπεριπυρηνικός παράγοντας

BiP : (Immunoglobulin Binding Protein), πρωτεΐνη σύνδεσης της βαρείας αλυσίδας

C: (Complement), Συμπλήρωμα

CCP : (Cyclic Citrullinated Peptide), κυκλικά κιτρολλιωμένα πεπτίδια

CRP : (C-Reactive Protein), C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

DAS : (Disease Activity Score), βαθμός δραστηριότητας της νόσου

DMARDs : (Disease-Modifying Antirheumatic Drugs), νοσοτροποποιητικά φάρμακα

dsDNA : (double stranded DNA), διπλής έλικας DNA

ELISA : (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), ενζυμική ανοσοπροσροφητική δοκιμασία

ENA : (Extractable Nuclear Antigens), εκχυλιζόμενα αντιγόνα του πυρήνα

HLA : (Human Leukocytes Antigens), Αντιγόνα λευκοκυττάρων ανθρώπου

hnRNP : (heterogeneous nuclear RiboNucleoProteins), ετερογενές σύμπλοκο των πυρηνικών ριβονουκλεοπρωτεϊνών

HSP : (Heat Shock Proteins), Πρωτεΐνες θερμικής καταπληξίας

MHC : (Major Histocompatibility Complex), Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας

IB : (ImmunoBlotting), ανοσοαποτύπωση

IIF : (Indirect ImmunoFluorescence), έμμεσος ανοσοφθορισμός

IL : Ιντερλευκίνες

MAC : (Membrane Attack Complex), σύμπλεγμα προσβολής της μεμβράνης

MCV : (Mutated Citrullinated Vimentin), μεταλλαγμένη κίτρινωμένη βιμεντίνη

MPs : (MetalloProteases), μεταλλοπρωτεάσες

NEF : (Nefelometry), νεφελομετρία

OPGL : (OsteoProteGerin Ligand), συνδέτης της οστεοπροτεγερίνης

PAD : (PeptidylArginine Deiminase), πεπτιδύλ-αργινίνο απαμινάση

RANK : (Receptor Activator of NFκB) υποδοχέας ενεργοποίησης του NFκB

RIA : (RadioImmunoAssay), ραδιανοσολογική μέθοδος

SAA : (Serum Amyloid A), Αμυλοειδές Α

SDAI : (Simplified Disease Activity Index), απλοποιημένος δείκτης δραστηριότητας

SNPs : (Single Nucleotide Polymorphisms), μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί

snRNP : (small nuclear RiboNucleoroteins), μικρές πυρηνικές ριβονουκλεοπρωτεΐνες

TNF : (Tumor Necrosis Factor), παράγοντας νέκρωσης όγκων

ΜΝΣΙ : Μικτή Νόσος Συνδετικού Ιστού

ΜΣΑΦ : Μη Στεροειδή Αντιφλεγμονώδη Φάρμακα

ΡΑ : Ρευματοειδής Αρθρίτιδα

ΡΠ: Ρευματοειδής Παράγοντας

ΣΕΛ : Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος

ΤΚΕ : Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθροκυττάρων

Πρόλογος

Η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι η πιο συχνή (0.5-1.1%), χρόνια και εξελικτική, φλεγμονώδης, συστηματική αυτοάνοση νόσος, με χαρακτηριστική κλινική εκδήλωση τη συμμετρική προσβολή των μικρών αρθρώσεων. Η έναρξη της κλινικής συμπτωματολογίας αφορά συνήθως την 3^η - 5^η δεκαετία της ζωής, με τις γυναίκες να προσβάλλονται 2-3 φορές συχνότερα από τους άνδρες. Είναι μια πολυπαραγοντική νόσος, αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης ποικίλλων γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων.

Το βασικό γνώρισμα της νόσου είναι η φλεγμονή του αρθρικού υμένα (υμενίτιδα) που χωρίς την κατάλληλη θεραπεία, οδηγεί σε μη αναστρέψιμη, καταστροφή του χόνδρου και των οστικών δομών της άρθρωσης. Η διάγνωση της ΡΑ βασίζεται κυρίως στα κλινικά ευρήματα (πόνος και δυσκαμψία αρθρώσεων, συμμετρική αρθρίτιδα) σε συνδυασμό με ακτινολογικά ευρήματα, αυξημένους δείκτες φλεγμονής και παρουσία αυτοαντισωμάτων.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι, ο προσδιορισμός και η διερεύνηση των πιο σημαντικών για την νόσο αυτοαντισωμάτων-δεικτών, σε Έλληνες ασθενείς με ΡΑ και η εκτίμηση του ρόλου τους, στην διάγνωση ή/και στην πρόβλεψη εξέλιξης μιας αρθρίτιδας σε ΡΑ, στην πρόγνωση της πορείας της νόσου και στη συσχέτιση με τη δραστηριότητα καθώς και στην ανταπόκριση στα νέα θεραπευτικά σχήματα.

Στο γενικό μέρος γίνεται αναφορά στην επιδημιολογία, στην ανοσογενετική, στην αιτιοπαθογένεια, στους παθογενετικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στη νόσο, στη διαγνωστική (κλινική και εργαστηριακή) προσέγγιση της νόσου καθώς και στη θεραπεία, σύμφωνα με τα τρέχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα.

Το ειδικό μέρος περιλαμβάνει το υλικό (ασθενείς) της μελέτης και τη μεθοδολογία ελέγχου που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των ανοσολογικών παραμέτρων, τα αποτελέσματα και τη συζήτηση επί των ευρημάτων, τα συμπεράσματα, τη περίληψη (στην Ελληνική και Αγγλική γλώσσα) καθώς και την ελληνική και διεθνή βιβλιογραφία.

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

1.1. Ορισμός και ιστορική αναδρομή

Η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι μια χρόνια και εξελικτική, φλεγμονώδης, συστηματική αυτοάνοση νόσος, που έχει κύρια και χαρακτηριστική εκδήλωσή της τη συμμετρική προσβολή των μικρών αρθρώσεων. Η νόσος έχει ευρύτατο φάσμα από πλευράς βαρύτητας και η κλινική εικόνα, ακόμα και μεταξύ ασθενών με την ίδια διάρκεια νόσου, είναι ετερογενής ⁽¹⁾. Η χρόνια φλεγμονή του αρθρικού υμένα συνήθως οδηγεί προοδευτικά σε οστικές διαβρώσεις με αποτέλεσμα την καταστροφή της αρχιτεκτονικής των αρθρώσεων και τέλος την κινητική αναπηρία ⁽²⁾.

Η πρώτη περιγραφή της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας αποδίδεται συνήθως στον Al Landré-Beauvais ο οποίος, στη διδακτορική του διατριβή στο Παρίσι το 1800, περιέγραψε εννέα περιπτώσεις γυναικών που έπασχαν από μια νόσο την οποία θεώρησε ως ποικιλία ουρικής αρθρίτιδας και γι' αυτό την ονόμασε «πρωτοπαθή ασθενική ουρική αρθρίτιδα» ⁽³⁾. Αργότερα, το 1819 στο Λονδίνο, ο Benjamin C. Brodie περιέγραψε με σαφήνεια περίπτωση ρευματοειδούς αρθρίτιδας, τόνισε την τυπικά βραδεία εξέλιξη της και αναγνώρισε ότι η νόσος αρχίζει ως φλεγμονή του αρθρικού υμένα, που μπορεί να οδηγήσει δευτεροπαθώς σε βλάβη του αρθρικού χόνδρου.

Ο Jean-Martin Charcot (1825-1893) περιέγραψε σημαντικές κλινικές διαφορές μεταξύ ουρικής αρθρίτιδας, ρευματικού πυρετού, ρευματοειδούς αρθρίτιδας και οστεοαρθρίτιδας. Ωστόσο είχε τη γνώμη ότι: “είναι εντελώς αδύνατο να επιτευχθεί σαφής διάκριση μεταξύ των διαφόρων μορφών ρευματισμού, ενώ αντιθέτως είναι συχνά δυνατόν να δειχθεί ότι όλες αυτές προέρχονται από μία και την αυτή αιτία”.

Λίγο αργότερα, το 1858, ο A.B Garrod πρότεινε τον όρο «ρευματοειδής αρθρίτιδα», μια ονομασία η οποία υποκρύπτει οποιοδήποτε σφάλμα, αφού παραδέχεται τη νόσο ως πάθηση των αρθρώσεων, που έχει όμως ορισμένα εξωτερικά χαρακτηριστικά του ρευματισμού ⁽⁴⁾. Η υιοθέτηση από το Βρετανικό Υπουργείο

Υγείας του όρου ρευματοειδής αρθρίτιδα, ως επίσημου ορισμού της νόσου έγινε το 1922, ένα βήμα το οποίο έκανε η Αμερικανική Ρευματολογική Εταιρεία πολύ αργότερα, μόλις το 1941.

1.2. Επιδημιολογία της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας

Η νόσος εμφανίζεται με συχνότητα περίπου 0.5-1.1% διεθνώς, με τις γυναίκες να προσβάλλονται 2-3 φορές συχνότερα από τους άνδρες ^(5,6). Η επίπτωση της ΡΑ διακυμαίνεται ανάλογα με την γεωγραφική περιοχή, τη φυλή και τη στατιστική μεθοδολογία, υπολογίζεται δε στα 20 έως 50 περιστατικά, ετησίως, ανά 100,000 πληθυσμό στη Βόρεια Αμερική και Βόρεια Ευρώπη, ενώ χαμηλότερη αναφέρεται η επίπτωση στις αναπτυσσόμενες χώρες και στη Νότια Ευρώπη ^(7,8).

Στην Ελλάδα, μελέτες που προέρχονται συγκεκριμένα από τη βορειοδυτική περιοχή της, εκτιμούν τον επιπολασμό της ΡΑ σε χαμηλότερα επίπεδα, ενώ η ετήσια επίπτωση κυμαίνεται μεταξύ 0.15 και 0.36 ανά 1000 κατοίκους, για τους άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα ⁽⁹⁾. Αντίστοιχα δεδομένα καταγράφονται και σε πληθυσμιακές μελέτες που προέρχονται από άλλες μεσογειακές χώρες όπως τη Γαλλία, την Ισπανία και τη Συρία ⁽¹⁰⁻¹²⁾. Κοινό συμπέρασμα όλων αυτών των μελετών είναι ότι η μάλλον ηπιότερη εικόνα της ΡΑ στη Μεσόγειο πιθανά να σχετίζεται τόσο με περιβαλλοντικούς όσο και με γενετικούς παράγοντες.

Η έναρξη της κλινικής συμπτωματολογίας αφορά συνήθως την 3^η, 4^η και 5^η δεκαετία της ζωής με συχνότερη ηλικία έναρξης μεταξύ 45 και 65 ετών ⁽¹³⁾. Αν και η νόσος δεν προκαλεί απευθείας το θάνατο, οι ασθενείς με ΡΑ έχουν σημαντικά μικρότερη επιβίωση σε σύγκριση με τα υγιή άτομα. Οι κυριότεροι προγνωστικοί δείκτες επιβίωσης είναι αυτοί που συνδέονται με τις επιπλοκές της νόσου, ιδίως με εξωαρθρικές εκδηλώσεις ⁽¹⁴⁾. Πέρα όμως από τη βράχυνση της ζωής, η ΡΑ επηρεάζει σοβαρά και την ποιότητα ζωής των ασθενών κυρίως λόγω των διαβρωτικών αλλοιώσεων στις αρθρώσεις. Πράγματι, αυτές εμφανίζονται σχετικά νωρίς στην πορεία της νόσου (πρώτα 2 χρόνια), μέσα στα 5 πρώτα χρόνια το 50% των ασθενών είναι ήδη ανάπηροι, ενώ 20 χρόνια από την εκδήλωση της ΡΑ μόνιμη αναπηρία εμφανίζει το 80% των ασθενών. Ωστόσο είναι ιδιαίτερα δύσκολο να προβλέψει

κανείς την εξέλιξη της νόσου σε κάθε συγκεκριμένο ασθενή καθώς πολλοί παράγοντες κινδύνου, πτωχής όμως πρόγνωσης, φαίνεται να εμπλέκονται τόσο στην έναρξη όσο και στην κλινική πορεία της νόσου ⁽¹⁵⁾.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

Η ΡΑ είναι μια πολυπαραγοντική νόσος, αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης ποικίλων γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Πέρα από το γενετικό υπόστρωμα, οι κύριοι παράγοντες κινδύνου για την έναρξη και την εξέλιξη της νόσου είναι η ηλικία, το φύλο, το κάπνισμα, οι λοιμώξεις, διαιτητικοί, ορμονικοί, κοινωνικοοικονομικοί και ανοσολογικοί παράγοντες.

2.1. Φύλο και Ηλικία

Η νόσος, όπως ήδη αναφέρθηκε, εμφανίζεται συχνότερα στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες (αναλογία 3:1) και εκδηλώνεται στην 5^η δεκαετία της ζωής τους γεγονός που συμπίπτει χρονικά με ορμονικές διαταραχές στις γυναίκες. Η μακροχρόνια παρακολούθηση ασθενών με ΡΑ δεν έχει καταδείξει σημαντικές διαφορές, μεταξύ ανδρών και γυναικών, στην κλινική εικόνα της νόσου. Εντούτοις, πρόσφατα δεδομένα αναφέρουν ότι ασθενείς με έναρξη νόσου σε ηλικία άνω των 60 ετών έχουν μια τάση για σοβαρότερη αρθρική προσβολή από ότι ασθενείς με ηλικία προσβολής μικρότερη ⁽¹⁶⁾.

2.2. Κοινωνικοοικονομικοί και γεωγραφικοί παράγοντες

Φαίνεται ότι οι κοινωνικές και οικονομικές διαφορές μεταξύ των ασθενών επηρεάζουν την εξέλιξη όχι όμως και τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου. Επίσης σε κάποιες γεωγραφικές περιοχές η επίπτωση της ΡΑ διαφέρει μεταξύ διαφορετικών φυλετικών ομάδων. Για παράδειγμα, η συχνότητα της νόσου είναι υψηλότερη μεταξύ των Pima Ινδιάνων (κάτοικοι της κεντρικής και βόρειας Αριζόνας) και χαμηλότερη έως ανύπαρκτη σε κατοίκους αγροτικών περιοχών της Αφρικής (π.χ Νιγηρία), γεγονός που επιβεβαιώνει την εμπλοκή γενετικών αλλά και περιβαλλοντικών παραγόντων στην εμφάνιση της ΡΑ. Επιπλέον, πρόσφατη σχετικά ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας εμφανίζει την επίπτωση της νόσου σε πολύ χαμηλότερα ποσοστά στην νότια Ευρώπη και σε αναπτυσσόμενες χώρες, σε σχέση με αυτή των χωρών της βόρειας Ευρώπης και Αμερικής ⁽⁸⁾.

2.3. Ορμόνες

Η υπεροχή της νόσου στις γυναίκες καταδεικνύει το ρόλο των ορμονών του φύλου στην αιτιοπαθογένεια της νόσου. Πράγματι, τα οιστρογόνα είναι γνωστό ότι επάγουν αυτοάνοση απάντηση, ενώ χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης έχουν αναφερθεί σε άνδρες, ασθενείς με RA. Επίσης, είναι καταγεγραμμένη η ύφεση της νόσου κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης, καθώς και η μείωση του κινδύνου για RA σε γυναίκες που φέρουν ορισμένα αντιγόνα του Μείζονος Συμπλέγματος Ιστοσυμβατότητας, (Major Histocompatibility Complex-MHC) και συγκεκριμένα τα αντιγόνα (Human Leukocytes Antigens-HLA) τάξης II, HLA-DRB1*01 ή *04, μετά από ορμονική θεραπεία υποκατάστασης⁽¹⁷⁾.

2.4. Περιβαλλοντικοί παράγοντες

- **Κάπνισμα**

Μεταξύ των περιβαλλοντικών παραγόντων, αυτός του καπνίσματος φαίνεται να σχετίζεται στενά με την εμφάνιση της νόσου. Πράγματι, από παλαιά έχει παρατηρηθεί ότι η RA προσβάλλει συχνότερα άτομα καπνιστές και μάλιστα με σχετικό κίνδυνο που κυμαίνεται από 1.46 -13.54 σε σχέση με τους μη καπνιστές. Η περαιτέρω έρευνα αυτών των παρατηρήσεων έδειξε ότι το κάπνισμα συνδέεται με RA με θετικό Ρευματοειδή Παράγοντα (ΡΠ), παρά με οροαρνητική RA, ενώ ο κίνδυνος αφορά άτομα με μακρό ιστορικό καπνίσματος (>20 έτη), αυξάνεται ανάλογα με τη συνολική έκθεση στον καπνό και παραμένει για 2 δεκαετίες μετά τη διακοπή του καπνίσματος⁽¹⁸⁾.

Στη συνέχεια διαπιστώθηκε ότι το κάπνισμα αυξάνει τον κίνδυνο για οροθετική RA κυρίως σε άτομα με τον «κοινό επίτοπο» (αναφέρεται αναλυτικά στο επόμενο κεφάλαιο) του HLA-DR. Συγκεκριμένα ενώ ο σχετικός κίνδυνος σε μη καπνιστές αλλά με τον «κοινό επίτοπο» είναι 2.8, αυξάνει στο 5.5 σε καπνιστές με 1 «κοινό επίτοπο» και σε 15.7 σε καπνιστές με 2 «κοινούς επιτόπους»⁽¹⁹⁾.

Η δράση του καπνίσματος φαίνεται να σχετίζεται με την τετραχλωροδιβενζο-P-διοξίνη (TCDD) η οποία, μέσω της δέσμευσης του αρυλικού υδρογονανθρακικού

υποδοχέα (AHR) και της ενεργοποίησης του NF-κΒ μεταγραφικού παράγοντα, ρυθμίζει την έκφραση των IL-1β, IL-6, IL-8, φλεγμονωδών κυτταροκινών που εμπλέκονται στους παθογενετικούς μηχανισμούς της ΡΑ ⁽²⁰⁾. Επομένως, το κάπνισμα προδιαθέτει και επιβαρύνει τη ΡΑ, ενώ συνδυάζεται και με ανοσολογικές μεταβολές όπως, η παραγωγή του Ρευματοειδή Παράγοντα (ΡΠ) τάξης IgA, μιας τάξης που σχετίζεται με τη χυμική ανοσία των βλεννογόνιων επιφανειών.

Μια πραγματικά ικανοποιητική θεωρία είναι αυτή που προτάθηκε από τους Klareskog και συν. το 2006, σύμφωνα με την οποία το κάπνισμα προκαλεί παραγωγή κιτρουλλιωμένων πρωτεϊνών στους πνεύμονες. Έτσι, η παρουσίαση αυτών των πεπτιδίων στα Τ βοηθητικά λεμφοκύτταρα ασθενών, που φέρουν συγκεκριμένα HLA αντιγόνα, μπορεί να οδηγήσει σε ανάπτυξη αντικιτρουλλινικής ανοσίας. Αν ένα δεύτερο αίτιο επιδράσει στις αρθρώσεις και προκαλέσει φλεγμονή, μπορεί να ακολουθήσει κιτρουλλίωση και στον αρθρικό υμένα και ενίσχυση της υμενίτιδας με εγκατάσταση της ΡΑ.

Ωστόσο, η θεωρία αυτή καλύπτει την ΡΑ με θετικά αντισώματα έναντι κυκλικών κιτρουλλιωμένων πρωτεϊνών (αντι-CCP), η οποία έτσι μπορεί να χαρακτηριστεί ως διαφορετικό και συνήθως βαρύτερο σύνδρομο από την αντι-CCP αρνητική ΡΑ ⁽²¹⁾.

- **Λοιμώξεις**

Αν και ο ρόλος των μικροοργανισμών, ως εκλυτικών παραγόντων της ΡΑ, αμφισβητείται, υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις για εμπλοκή των όπως, ο παρβοϊός B19, ο Epstein-Barr, ο ιός ηπατίτιδας Β και μικροβίων όπως, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Porphyromonas gingivalis*, στην ανάπτυξη της νόσου ⁽²²⁾.

- **Διατροφή**

Ένα στοιχείο που φαίνεται να διαφοροποιεί τη βαρύτητα της νόσου στους διάφορους πληθυσμούς, είναι η διατροφική συνήθεια των λαών. Πράγματι, μελέτες τόσο σε Έλληνες και σε άλλους μεσογειακούς λαούς, όσο και σε Βορειοευρωπαίους έχουν συσχετίσει την κατανάλωση ελαιολάδου ή ψαριών πλούσιων σε ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά, με προστασία από τη ΡΑ. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι η

κατανάλωση αυτών των ουσιών συνδυάζεται με υποκειμενική βελτίωση του πόνου και μείωση της κατανάλωσης μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων ⁽²³⁾.

Επιπλέον, η αστικοποίηση, η ατμοσφαιρική ρύπανση, το υψηλό σωματικό βάρος γέννησης αλλά και η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας έχουν χαρακτηριστεί ως δυνητικοί παράγοντες κινδύνου για τη νόσο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΑΝΟΣΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

3.1. ΜHC και PA

Η ύπαρξη ανοσογενετικών προδιαθεσικών παραγόντων στη παθογένεια αλλά και στην εξέλιξη της PA έχει αποτελέσει αντικείμενο συστηματικής έρευνας κατά την τελευταία εικοσαετία. Είναι πλέον γνωστό ότι στην εμφάνιση της νόσου εμπλέκονται περισσότερες από μία γονιδιακές περιοχές, με σημαντικότερη αυτή της HLA-DRB1 υποπεριοχής των HLA τάξης II του χρωμοσώματος 6.

Ο γονιδιακός αυτός τόπος χαρακτηρίζεται από μεγάλο πολυμορφισμό, με περισσότερες από 150 διαφορετικές μορφές αλληλίων, ενώ όπως έχει διαπιστωθεί, αρκετές από αυτές σχετίζονται με διάφορες μορφές και κλινικές εκδηλώσεις της νόσου ^(24,25).

Τα προδιαθεσικά αυτά αλληλία χαρακτηρίζονται από ένα κοινό σταθερό δομικό στοιχείο, ο ονομαζόμενος «κοινός επίτοπος» (Shared or Rheumatic epitope), που αποτελείται από μία σειρά αμινοξέων στις θέσεις 67-74 της DRβ1 αλυσίδας που κωδικοποιείται από το HLA-DRB1. Συγκεκριμένα η αλληλουχία LLEQKRAA και LLEQRRAA έχει δειχθεί ότι προσδίδει στο αλληλίο υψηλό βαθμό συσχέτισης με τη νόσο ⁽²⁶⁾.

Η παρουσία του «κοινού επίτοπου» φαίνεται να ευθύνεται για τη συσχέτιση πέντε διαφορετικών HLA-DRB1 αλληλίων με την PA, σε διάφορους πληθυσμούς. Έτσι τα αλληλία HLA-DRB1*0401, DRB1*0404 και DRB1*0101 σχετίζονται με την εκδήλωση PA στους Καυκάσιους, το DRB1*0405 στους Ασιάτες και το DRB1*1402 σε Ινδιάνους της Αμερικής. Επίσης, έχουν αναφερθεί συσχετίσεις και για το HLA-DRB1*0408, DRB1*0102, DRB1*1001.

Οι πρώτες μελέτες στον Ελληνικό πληθυσμό σχετικά με την γενετική επιδεκτικότητα στη PA, άρχισαν την δεκαετία του '80. Συγκεκριμένα, από την ομάδα των Παπαστεριάδη Χρύσα και συν. αρχικά δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση της PA με τα έως τότε γνωστά, ορολογικώς προσδιοριζόμενα, HLA αντιγόνα. Στη συνέχεια και

μετά τη χρησιμοποίηση μοριακών (DNA) τεχνικών, αναδείχθηκε συσχέτιση της νόσου με συγκεκριμένα HLA αλληλία (DR4, DR1, DRw10, DRw14) καθώς επίσης και με τον «ρευματικό επίτοπο», σε χαμηλότερο όμως ποσοστό από αυτόν που καταγράφεται σε ασθενείς της Βορείου Ευρώπης.

Σε άλλη μελέτη που αφορούσε πάλι Έλληνες ασθενείς, με όψιμης έναρξης ΡΑ (ηλικία >60 ετών), διαπιστώθηκε αυξημένη συχνότητα των HLA A1, B8 και DR4 αντιγόνων⁽²⁷⁾. Οι συγκεκριμένοι όμως πολυμορφισμοί στον «κοινό επίτοπο», που επιφέρουν προδιάθεση για ΡΑ σε άλλους πληθυσμούς, απουσιάζουν σε πάνω από τους μισούς (57%) Έλληνες ασθενείς, η παρουσία δε του απλότυπου HLA-DR4 ή του «κοινού επίτοπου» δεν φαίνεται να σχετίζεται με τη βαρύτητα της νόσου⁽²⁸⁾. Αργότερα, σε μια μετα-ανάλυση δεδομένων από μεσογειακούς πληθυσμούς τα οποία αφορούσαν τη σχέση της γενετικής σύστασης με την προδιάθεση αλλά και τη βαρύτητα της νόσου, βρέθηκε ότι ο «κοινός επίτοπος» μεταφέρει προδιάθεση για ανάπτυξη ΡΑ με ένα λόγο πιθανοτήτων ίσο με 3.7 και 3.4. Ειδικότερα δε για τους Έλληνες, αποτελεί παράγοντα κινδύνου για νόσο με βαριές ακτινολογικές βλάβες, αλλά δεν φαίνεται να προβλέπει τις εξωαρθρικές εκδηλώσεις⁽²⁹⁾.

Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι, η αντικατάσταση ακόμα και ενός μόνο κωδικονίου στον παραπάνω «κοινό επίτοπο», μειώνει στα συνήθη επίπεδα τον σχετικό κίνδυνο, η δε παρουσία των DRB1*0402 ή DRB1*0403, τα οποία δεν διαθέτουν ακριβώς τον συγκεκριμένο «κοινό επίτοπο», θεωρείται ότι προστατεύουν από την εκδήλωση της νόσου. Είναι ενδιαφέρον ότι, σε πληθυσμούς στους οποίους τα HLA-DRB1*0401 και DRB1*0404 είναι σπάνια, έχει καταγραφεί συσχέτιση της ΡΑ με άλλα HLA, όπως DRB1*0405 και DRB1*1402⁽²⁵⁾.

Γενικά, η ύπαρξη ακόμα και ενός μόνο προδιαθεσικού γονιδίου αρκεί για την εκδήλωση σχεδόν κάθε μορφής και κλινικής βαρύτητας ΡΑ. Πολύ σημαντική παρατήρηση, με βάση μελέτες σε ασθενείς με βαριά μορφή ΡΑ, αποτελεί η συχνότερη ανεύρεση ασθενών που έχουν κληρονομήσει δύο από τα προδιαθεσικά γονίδια. Φαίνεται ότι οι ομοζυγωτικοί φορείς αυτών των γονιδίων παρουσιάζουν μεγαλύτερο σχετικό κίνδυνο εμφάνισης βαρύτερης μορφής της νόσου,

ερμηνεύοντας έτσι το φαινόμενο της «αθροιστικής δράσης των γονιδίων» (gene dosage effect) ⁽³⁰⁾.

Μεγάλος αριθμός μελετών, όπου η ομαδοποίηση των ασθενών έγινε με βάση τη βαρύτητα της νόσου, κατέδειξε τη συσχέτιση των HLA-DRB1*0401, DRB1*0404 και DRB1*0405 με σχετικά βαρύτερες και διαβρωτικές μορφές της ΡΑ, ενώ οι ηπιότερες κλινικά μορφές συσχετίστηκαν με το DRB1*0101. Επίσης, σε σχέση με την παρουσία του ρευματοειδούς παράγοντα, το DRB1*01 σχετίζεται κατά κανόνα με οροαρνητικούς ασθενείς και βραδεία εξέλιξη νόσου, ενώ το DRB1*0401 κυριαρχεί σε οροθετικούς ασθενείς ⁽³¹⁾.

3.2. TNF και ΡΑ

Η έρευνα του ρόλου των γονιδίων του παράγοντα νέκρωσης όγκων (Tumor Necrosis Factor-TNF) έχει προσφέρει μέχρι σήμερα ενδιαφέροντα ευρήματα. Μελέτες συσχέτισης του με τη νόσο, έδειξαν σημαντική υπεροχή σε ασθενείς με ΡΑ του αλληλίου TNF2 (γενότυπος G/A) του γονιδίου TNF-α στη θέση -3081. Επίσης, σύμφωνα με βρετανική μελέτη, φαίνεται ότι σε ασθενείς με ΡΑ που φέρουν το αλληλίο DRB1*0401, η επίπτωση του απλότυπου TNF2 είναι σημαντικά μειωμένη, ενώ σε ασθενείς με DRB1*0404 αντίθετα διαπιστώθηκε αυξημένη συχνότητα του ίδιου απλοτύπου ⁽³²⁾.

Ο ρόλος όμως του πολυμορφισμού των γονιδίων του TNF-α φαίνεται να προκαθορίζει και τις ομάδες ασθενών με διαφορετική ανοσοαπάντηση στη θεραπεία με βιολογικούς παράγοντες καθώς, ασθενείς με γενότυπο G/A του γονιδίου TNF-α στη θέση -308, παρουσιάζουν κλινική βελτίωση με παράλληλη αύξηση του TNF-α της κυκλοφορίας ύστερα από χορήγηση infliximab (μονοκλωνικό αντι-TNF αντίσωμα), ενώ ασθενείς με D6S273, 4/BAT2 πολυμορφισμό έχουν την μέγιστη πιθανότητα κλινικού οφέλους από την παραπάνω θεραπεία ^(33,34).

3.3. Άλλα γονίδια και ΡΑ

Νεότερα δεδομένα αποκαλύπτουν την ύπαρξη πολυμορφισμών και άλλων γονιδίων όπως του RPTN22 (πρωτεϊνική τυροσινική φωσφατάση), ο οποίος ανιχνεύεται κυρίως σε Ευρωπαίους ασθενείς και σπάνια σε Ασιάτες και συσχετίζεται

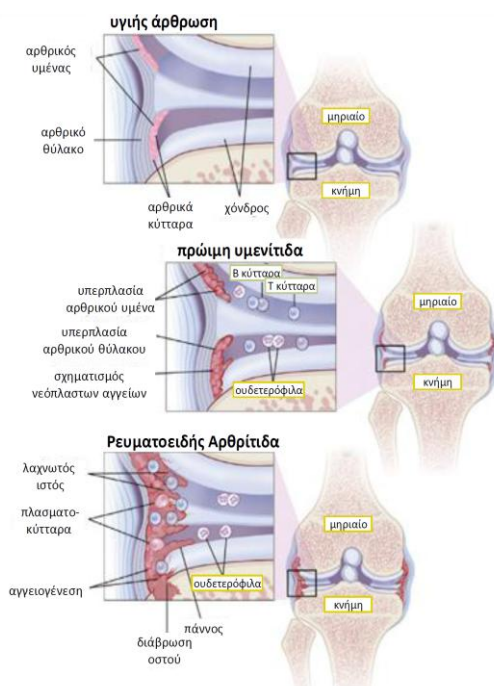
αποκλειστικά με τον τύπο της RA που χαρακτηρίζεται από την παρουσία αντι-CCP αντισωμάτων, ρευματοειδούς παράγοντα, ή και των δύο. Επίσης, πολυμορφισμοί των γονιδίων : TRAF1-C5, TNFAIP3, STAT4, CTLA-4, IL2/IL21, PADI4 έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με RA ^(35,36).

Η μελέτη των ανοσογενετικών προδιαθεσικών παραγόντων στους ασθενείς με RA έχει ιδιαίτερη αξία κυρίως όταν πραγματοποιείται στα αρχικά στάδια της νόσου, πριν την εκδήλωση διαβρωτικών, μη αναστρέψιμων βλαβών. Ο προσδιορισμός τους ενδέχεται να αποκαλύψει ασθενείς με «αθροιστική δράση γονιδίων», οι οποίοι θεωρούνται υψηλού κινδύνου για εμφάνιση βαρύτερων μορφών της RA και χρήζουν άμεσης και επιθετικής θεραπευτικής αντιμετώπισης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

Το βασικό γνώρισμα της νόσου που χαρακτηρίζει και την παθογένειά της είναι η φλεγμονή του αρθρικού υμένα (υμενίτιδα). Στη ΡΑ η καταστροφή του χόνδρου και του οστού είναι αποτέλεσμα της πρωτοπαθούς υμενίτιδας, σε αντιδιαστολή με τις οροαρνητικές σπονδυλοαρθροπάθειες στις οποίες η φλεγμονή είναι δευτεροπαθής, απότοκος της ενθεσίτιδας ^(37,38).

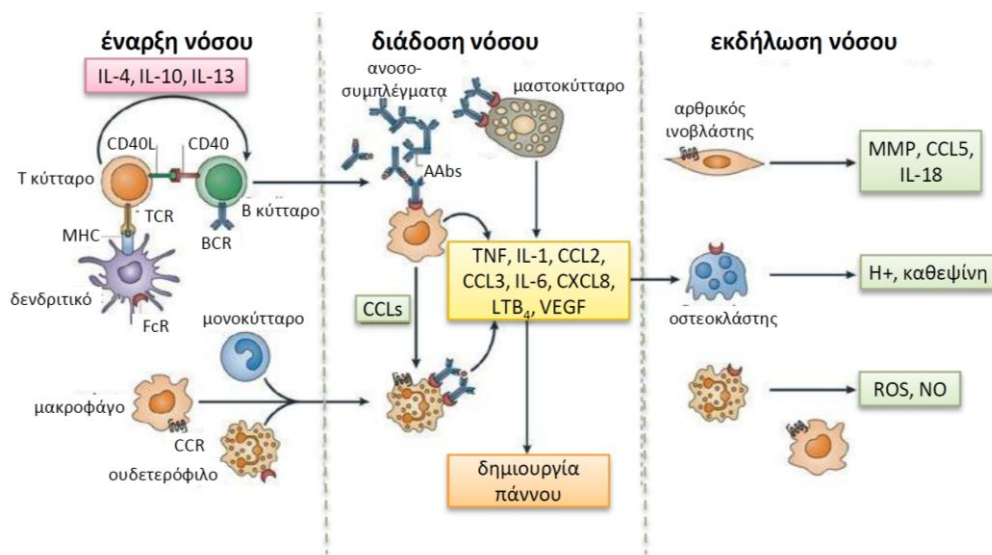


Εικόνα 1. Η μεταβολή της αρχιτεκτονικής της άρθρωσης στη ΡΑ

Ο αρθρικός υμένας των ασθενών με ΡΑ υφίσταται τις παρακάτω τρεις μεταβολές (Εικόνα 1.) : κυτταρική υπερπλασία, εκσεσημασμένη αγγειοβρίθεια (αγγειογένεση) και σημαντικού βαθμού διήθηση από φλεγμονώδη λευκοκύτταρα (κυρίως CD4+ T-λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα). Το μέγεθος της φλεγμονής και των επακόλουθων ανατομικών μεταβολών του αρθρικού υμένα ποικίλει ανάλογα με την πρόοδο της νόσου. Χωρίς την κατάλληλη πρώιμη θεραπευτική παρέμβαση, τελικό αποτέλεσμα αποτελεί η μη αναστρέψιμη, καταστροφή του χόνδρου και των οστικών δομών της άρθρωσης ^(37,39).

Η υμενίτιδα της ΡΑ θεωρείται Τ-κυτταρική διαμεσολαβούμενη αυτοάνοση βλάβη. Επιπρόσθετα, γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες συμβάλλουν στην εκδήλωση της και σχετίζονται με την βαρύτητα της. Νεότερες απόψεις υποστηρίζουν ότι η ιδιαίτερη ιστική οργάνωση του αρθρικού υμένα στην ΡΑ διαμορφώνει τις κατάλληλες λειτουργικές συνθήκες που θα οδηγήσουν στην διάσπαση της ανοσιακής ανοχής, επάγοντας έτσι την μετατροπή των ήπιων αυτοπεριοριζόμενων ανοσιακών αποκρίσεων σε διαρκώς τροφοδοτούμενες αυτοάνοσες απαντήσεις ⁽⁴⁰⁾.

Συγκεκριμένα, στην ΡΑ ο αρθρικός υμένας διηθείται από κύτταρα (Τ-λεμφοκύτταρα, Β-λεμφοκύτταρα, δενδριτικά, μακροφάγα, μαστοκύτταρα, πολυμορφοπύρρηνα) που σε φυσιολογικές συνθήκες δεν ανευρίσκονται σε αυτόν. Οι κυτταρικοί πληθυσμοί αθροιζόμενοι σχηματίζουν έκτοπες λεμφικές θέσεις οι οποίες πολλές φορές εμφανίζουν αρχιτεκτονικά χαρακτηριστικά οργανωμένου λεμφαδενικού ιστού όπως βλαστικά κέντρα και σαφώς αφοριζόμενα λεμφοζίδια. Παράλληλα, στην παραπάνω διαδικασία συμμετέχουν μια πληθώρα φλεγμονωδών διαμεσολαβητών, όπως κυτταροκίνες, χημειοκίνες, διάφορες πρωτεΐνες, προσταγλανδίνες, τοξικές ρίζες O₂/αζώτου (ROIs, RNIs) καθώς και τροφικοί παράγοντες ⁽⁴¹⁾. (Εικόνα 2)



Εικόνα 2. Η φλεγμονώδης ανοσιακή απάντηση στη ΡΑ

Η παρουσίαση του αυτοαντιγόνου, μέσω του HLA τάξης II, από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα του υμένα (μακροφάγα, δενδριτικά και υμενοκύτταρα τύπου A) στον TCR του CD4+ T-λεμφοκυττάρου, αποτελεί το πρώτο στοιχείο στην έναρξη της φλεγμονώδους διαδικασίας στην ΡΑ (πρώτη φάση) ^(39,42).

Οι περισσότερες απόψεις μέχρι σήμερα, συγκλίνουν στο γεγονός ότι τα T-λ ενεργοποιούνται από εξωγενή αντιγόνα στη περιφέρεια, διέρχονται το ενδοθήλιο των αγγείων και μεταναστεύουν στον αρθρικό υμένα. Εκεί, η επανεργοποίησή τους από ενδογενή αντιγόνα έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό παθολογικού αυτοάνοσου T-λ κλώνου που διευθύνει και συντηρεί περαιτέρω την ειδική φλεγμονώδη διαδικασία. Εξωγενή αντιγόνα αποτελούν οι μυκοβακτηριακές πρωτεΐνες θερμικής καταπληξίας 65/70 (Heat Shock Proteins-HSP 65/70), συστατικά του μικροβίου *Escherichia coli*, η gp-110 πρωτεΐνη του ιού Epstein-Barr και πρωτεΐνες ρετροϊών.

Επίσης, υπεραντιγόνα μικροβίων (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Mycoplasma*, *Clostridium*, *Yersinia*, *Mycobacterium*) είναι δυνατόν να ενεργοποιήσουν, μη ειδικά, ένα μεγάλο ποσοστό T-λ. Τα εξωγενή αντιγόνα φαίνεται να μοιράζονται κοινούς αντιγονικούς επιτόπους με ενδογενή συστατικά της άρθρωσης (αυτοαντιγόνα), που παράγονται υπό συνθήκες φλεγμονής, όπως είναι το κολλαγόνο τύπου II, διάφορες πρωτεογλυκάνες και η γλυκοπρωτεΐνη-39 του χόνδρου. Τα αρχικά ευαίσθητοποιημένα στο περιφερικό αίμα CD4+ T-λ, μέσα από μια διαδικασία που είναι ευρύτερα γνωστή ως μοριακή μίμηση (molecular mimicry), ενεργοποιούνται εκ νέου σε επίπεδο συνοβιακού ιστού από ενδογενή αντιγόνα γεγονός που επάγει την αυτοάνοση φλεγμονή, σε άτομα με γενετική προδιάθεση, υποβοηθούμενη από εκλυτικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες (π.χ λοιμώξεις, stress, συνθήκες διαβίωσης) ^(37, 39, 41, 43).

Τα T-λεμφοκύτταρα στην ΡΑ αποτελούν το 30-50% όλων των κυττάρων του υμένα, εμφανίζουν κυρίως CD4+/CD45RO+ φαινότυπο (μνημονικά, προευαίσθητοποιημένα κύτταρα) και παρουσιάζουν υψηλή έκφραση υποδοχέα της IL-2 (IL-2r, CD25), CD40L, HLA-DR και μορίων προσκόλλησης (VLA-4, LFA-1). Παράγουν υψηλές ποσότητες

IFN γ και IL-2 επάγοντας Th1 τύπου αποκρίσεις στην δεύτερη (πρώιμη) φάση υμενίτιδας, στη PA.

Σημαντικός επίσης στην έναρξη της υμενίτιδας είναι ο ρόλος των δενδριτικών κυττάρων (ΔΚ). Τα ΔΚ υπερτερούν κατά πολύ των άλλων αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων του υμένα στην ενεργοποίηση των T-κυτταρικών αποκρίσεων. Τα ανώριμα ΔΚ επιστρατεύονται στον αρθρικό υμένα μέσω χημειοκινών, όπως η CCL20 (MIP-3 α) και η CX₃CL1 (fractalkine). Σταδιακά, με τη δράση του TNF α και του GM-CSF, ωριμάζουν και προσλαμβάνουν διαρκώς αυτοαντιγόνα του υμένα ή του αρθρικού υγρού παρουσιάζοντας τα σε CD4⁺ ή CD8⁺ T-λ. Ενώ τα ανώριμα ΔΚ, στερούμενα δυνατότητας πρόσληψης και επεξεργασίας αυτοαντιγόνου, διατηρούν τη μη απαντητικότητα των T-κυττάρων (ανοσιακή ανοχή), τα ώριμα ΔΚ επάγουν την αυτοανοσία στο αρθρικό υμένα ^(40,43).

Στην πρώιμη φλεγμονή (δεύτερη φάση) της υμενίτιδας στη PA, τα ενεργοποιημένα CD4⁺ T-λ διαπερνώντας το ενδοθηλιακό τοίχωμα των αγγείων συναθροίζονται στον αρθρικό υμένα και παράγουν μεγάλες ποσότητες IFN γ , IL-2, και IL-17, που ακολούθως διεγείρουν την συνάθροιση μακροφάγων, υμενοκυττάρων τύπου B (ινοβλάστες) και B-λεμφοκυττάρων στην εσωτερική στιβάδα (lining layer) του υμένα.

Τα μακροφάγα του υμένα διεγείρομενα από την IFN γ και την IL-17 παράγουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως TNF α , IL-1, IL-6, TGF β , IL-18 και IL-15 ^(42,44). Επιπρόσθετα, τα CD4⁺ T-λ ενεργοποιούν μέσω άμεσης κυτταρικής σύνδεσης, τους οστεοκλάστες, τους ινοβλάστες και τα χονδροκύτταρα ⁽⁴⁵⁾. Συγκεκριμένα, τα CD4⁺ λεμφοκύτταρα εκφράζουν RANK συνδέτη (RANKL) ή όπως αλλιώς ονομάζεται συνδέτης οστεοπροτεγερίνης (osteoprotegerin ligand-OPGL) και συνδέονται με το RANK (Receptor Activator of NF κ B) μόριο που εκφράζεται και στην επιφάνεια των οστεοκλαστών. Η σύνδεση αυτή πυροδοτεί διάφορες ενδοκυττάρειες οδούς στους οστεοκλάστες, ενεργοποιώντας την ωρίμανση τους και επάγοντας τη δράση τους.

Από την άλλη μεριά, η οστεοπροτεγερίνη (OPG) είναι διαλυτός παράγοντας των οστεοβλαστών, που συνδεόμενος με το RANKL αναστέλλει την παραπάνω διαδικασία. Έτσι, μέσω των CD4⁺ T-λ παράγονται σήματα που σχετίζονται με την

ρύθμιση του αριθμού και της δράσης των οστεοκλαστών. Η μοριακή τριάδα RANKL/RANK/OPG ανήκει στην TNF οικογένεια και συνολικά συμμετέχει στη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ οστεογένεσης και οστικής απορρόφησης. Στη PA οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1, IL-6, TNF α), η PGE2 και ο CD40L επάγουν την έκφραση του RANKL στα CD4+ T-λεμφοκύτταρα του υμένα, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της οστικής απορρόφησης του οστού και την περιαρθρική οστεοπόρωση που χαρακτηρίζει τη νόσο ^(41,46).

Πρόσφατες μελέτες αναδεικνύουν ένα σημαντικό ρόλο των αντισωμάτων έναντι κιτρουλλιωμένης βιμεντίνης στη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών σε κύτταρα που επάγουν οστική απώλεια με αποτέλεσμα τη διάβρωση και τη λειτουργική απόκλιση της άρθρωσης ⁽⁴⁷⁾.

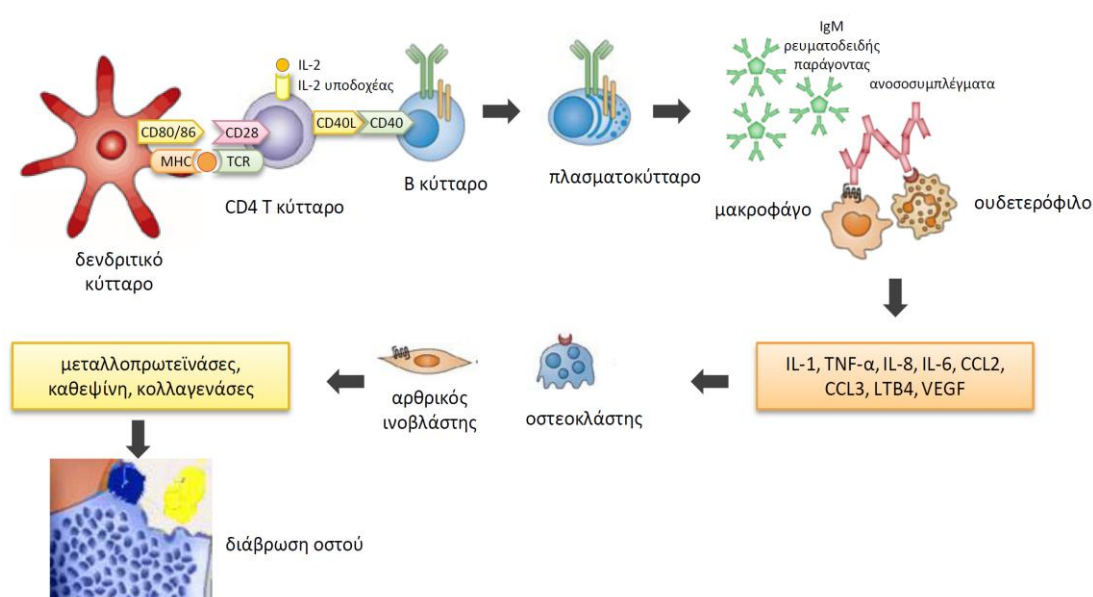
Επίσης, η σύνδεση (μέσω CD69 και CD11) των CD4+ κυττάρων με τους ινοβλάστες και τα χονδροκύτταρα έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση και την παραγωγή από αυτά μιας οικογένειας ενζύμων, των μεταλλοπρωτεασών (MPs) ⁽⁴⁸⁾. Οι MPs σχετίζονται με την καταστροφή και την αναδιαμόρφωση της θεμέλιας ουσίας του χόνδρου. Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες στη PA ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό και την περαιτέρω παραγωγή MPs (στρομελυσίνης, κολλαγενάσης) και προσταγλανδινών από τους ινοβλάστες και τα χονδροκύτταρα. Η δράση των MPs ρυθμίζεται από τους ιστικούς αναστολείς των MPs, τους αναστολείς της πρωτεΐνάσης της σερίνης και την α 2 μακροσφαιρίνη ^(42,48).

Επίσης, τα ενεργοποιημένα CD4+ T-λ συνδέονται με B-λεμφοκύτταρα μέσω LFA-1, CD40L και CD28 και επάγουν την ωρίμανση τους σε πλασματοκύτταρα. Τα τελευταία παράγουν και εκκρίνουν ανοσοσφαιρίνες, συμπεριλαμβανομένων των ρευματοειδών παραγόντων και άλλων αυτοαντισωμάτων (έναντι κιτρουλλιωμένων πεπτιδίων) ⁽⁴⁹⁾.

Αξίζει να σημειωθεί ότι στη PA οι ινοβλάστες και τα άλλα φλεγμονώδη κύτταρα είναι ιδιαίτερος ανθεκτικά στην Fas επαγόμενη απόπτωση και το εύρημα αυτό έχει συσχετισθεί στενά με την προοδευτική καταστροφή του αρθρικού χόνδρου. Επιπλέον, έχει βρεθεί αυξημένη έκφραση αντι-αποπτωτικών μορίων (bcl-2) στους

ινοβλάστες των ασθενών με PA, η δε μετάλλαξη της αποπτωτικής πρωτεΐνης p53 έχει συνδεθεί με την εξέλιξη της PA. Τέλος, νεότερα δεδομένα προτείνουν τους ινοβλάστες ως επαγωγείς αντι-αποπτωτικών σημάτων στα λεμφοκύτταρα του υμένα των ασθενών με PA ⁽⁵⁰⁾.

Η διαρκής, από πολυάριθμα κύτταρα, ενίσχυση της φλεγμονής, έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό νεόπλαστων αγγείων στον υμένα διαδικασία που σηματοδοτείται και ολοκληρώνεται από αγγειογενετικούς παράγοντες (VEGF, HGF, TNFα, IL-8, CSF). Η μεταμόρφωση των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων του υμένα σε φλεβίδια υψηλού ενδοθηλίου (HEV) και η αγγειογένεση συμβαίνουν πρώιμα στην PA υμενίτιδα. Τα νεόπλαστα αγγεία εκφράζουν υψηλό ποσοστό μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο τους και διευκολύνουν έτσι την μετανάστευση περισσότερων φλεγμονωδών κυττάρων διαμέσου των HEV της εξωτερικής στιβάδας του υμένα ενώ παράλληλα, καλύπτουν και τις τροφικές ανάγκες του ταχέως αναπτυσσόμενου υπερπλαστικού ιστού ⁽³⁷⁾. (Εικόνα 3)



Εικόνα 3. Η διαδικασία της μη αναστρέψιμης καταστροφής της άρθρωσης

Τελικά, η αέναη αυτή φλεγμονώδης διαδικασία οδηγεί στην κυτταρική υπερπλασία του αρθρικού υμένα και στον σχηματισμό του πάννου (pannus), που αποτελεί κοκκιωματώδη συνοβιακό λαχνωτό ιστό, χαρακτηριστικό της ΡΑ. Ο πάννος διηθεί τοπικά τον αρθρικό χόνδρο και σε συνεργασία με τους φλεγμονώδεις παράγοντες οδηγεί στη μη αναστρέψιμη καταστροφή της άρθρωσης (τρίτη φάση). Η καταστροφή του χόνδρου και ακολούθως του οστού της άρθρωσης έχει ως αποτέλεσμα τη συνεχή απελευθέρωση αρθριτιδικών αντιγόνων και την ενεργοποίηση νέων αυτοαντιδραστικών Τ-κυτταρικών κλώνων, που συντηρούν τη χρόνια φλεγμονώδη καταστροφική υμενίτιδα ^(39,42,45).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

5.1. Εργαστηριακά ευρήματα

Η διάγνωση της ΡΑ είναι κυρίως κλινική και καμία, μέχρι σήμερα, μεμονωμένη εργαστηριακή ή απεικονιστική παράμετρος δεν είναι ικανή να οδηγήσει στην οριστική διάγνωση της νόσου. Ωστόσο, αρκετές δοκιμασίες παρέχουν αντικειμενικά δεδομένα που αυξάνουν την διαγνωστική βεβαιότητα και επιτρέπουν την παρακολούθηση της εξέλιξης της ΡΑ. Έτσι, η επιτροπή για τη μελέτη της ΡΑ του Αμερικάνικου Κολεγίου Ρευματολογίας (ACRSRA)⁽⁵¹⁾, προτείνει ένα σύνολο εργαστηριακών εξετάσεων στα πλαίσια της αρχικής προσέγγισης της νόσου. (Πίνακας 1)

Πίνακας 1. Εργαστηριακά ευρήματα στην προσέγγιση της ΡΑ σύμφωνα με ACRSRA

Εργαστηριακές δοκιμασίες	Συνοδά ευρήματα
CRP	αυξημένα επίπεδα
ΤΚΕ	αυξημένα επίπεδα
Hb/Ht	μικρή μείωση
αριθμός λευκών	ίσως αυξημένος
αριθμός αιμοπεταλίων	ίσως αυξημένος
ηπατική λειτουργία	αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης
ανάλυση ούρων	αιματουρία ή πρωτεϊνουρία
ρευματοειδής παράγοντας	θετικός (30% αρνητικός)
επίπεδα συμπληρώματος	φυσιολογικά ή αυξημένα
ανοσοσφαιρίνες	αύξηση α1 και α2 σφαιρινών
αντιπυρηνικά αντισώματα	αρνητικά ή θετικά
αντι-CCP αντισώματα	θετικά (90% ειδικότητα)
ανάλυση αρθρικού υγρού	χαμηλή γλυκόζη, όχι κρύσταλλοι
ακτινολογικός έλεγχος	φυσιολογικός ή οστεοπενία

Η τελική διάγνωση βασίζεται στα κλινικά ευρήματα (πόνος και δυσκαμψία αρθρώσεων, συμμετρική αρθρίτιδα) σε συνδυασμό με ακτινολογικά ευρήματα, αυξημένους δείκτες φλεγμονής και παρουσία αυτοαντισωμάτων ⁽⁵²⁾.

5.1.1. Πρωτεΐνες οξείας φάσης

Αντίδραση οξείας φάσης ονομάζεται η ταχεία, φυσιολογική, μη ειδική συστηματική αντίδραση του οργανισμού, ως απάντηση σε ιστική βλάβη και σε λοίμωξη. Τα αίτια που οδηγούν σε αντίδραση οξείας φάσης είναι φυσικά, χημικά, λοιμώδη και γενικότερα φλεγμονώδεις εξεργασίες και τελεολογικά θεωρείται ότι έχει σκοπό προστατευτικό που στοχεύει στην απομάκρυνση του γενεσιουργού αιτίου και στην επανόρθωση της ιστικής βλάβης ⁽⁵³⁾.

Το σημαντικότερο ρόλο στην έναρξη της αντίδρασης οξείας φάσης τον κατέχει το σύστημα μονοκυττάρων/μακροφάγων, τα οποία ενεργοποιούμενα από την ιστική βλάβη παράγουν ένα πλήθος διαλυτών μεσολαβητών, κυρίως των IL-6, IL-1 και TNFα κυτταροκινών. Οι κυτταροκίνες αυτές μέσα από μια πολύπλοκη διαδικασία (αλληλεπίδραση τόσο μεταξύ τους όσο και με άλλες κυτταροκίνες ή αναστολείς τους), δρουν απ' ευθείας στη γονιδιακή μεταγραφή των πρωτεϊνών οξείας φάσης.

Οι πρωτεΐνες οξείας φάσης αποτελούν μια ομάδα τριάντα και πλέον πρωτεϊνών, οι περισσότερες των οποίων συντίθενται στο ήπαρ και συμβάλλουν στην άμυνα του οργανισμού. Διακρίνονται στις: **1.** Θετικές πρωτεΐνες οξείας φάσης, αυτές που αυξάνονται τουλάχιστον κατά 25% στην πορεία της οξείας αντίδρασης. Στην ομάδα αυτή ανήκουν η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-Reactive Protein –CRP), το ινωδογόνο, το αμυλοειδές A (Serum Amyloid A -SAA), πολλοί παράγοντες του συμπληρώματος, η σερουλοπλασμίνη, η απτοσφαιρίνη και **2.** Αρνητικές πρωτεΐνες οξείας φάσης, αυτές των οποίων η συγκέντρωση ελαττώνεται τουλάχιστον κατά 25% στην πορεία της οξείας φάσης όπως η λευκωματίνη, η τρανσφερίνη και ο ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας (IGF). Οι αλλαγές αυτές στις συγκεντρώσεις τους, οφείλονται κατά κύριο λόγο σε αλλαγές του ρυθμού σύνθεσής τους από τα ηπατοκύτταρα. Το εύρος της αύξησης ποικίλει μεταξύ 50% στις περιπτώσεις της σερουλοπλασμίνης και των παραγόντων του συμπληρώματος και χλιαπλάσιου στις περιπτώσεις της CRP και του SAA ⁽⁵⁴⁾.

- **C- αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)**

Από τις πρωτεΐνες οξείας φάσης αυτή που ανακαλύφθηκε πρώτη, έχει μελετηθεί καλύτερα και χρησιμοποιείται στην καθημέρα κλινική πρακτική, είναι η CRP. Το 1930, πρώτοι οι Tillet και Francis διαπίστωσαν ότι ο ορός ασθενούς με πνευμονοκοκκική πνευμονία καθιζάνει παρουσία διαλυτού εκχυλίσματος του μικροβίου (κλάσμα C). Το 1941 διαπιστώθηκε ότι υπεύθυνη για την αντίδραση αυτή ήταν μια πρωτεΐνη, που ονομάστηκε C- αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-Reactive Protein), και αναγνωρίστηκε ότι η παρουσία Ca^{++} ήταν απαραίτητη για την ολοκλήρωση της αντίδρασης⁽⁵⁵⁾.

Η CRP είναι πρωτεΐνη (β-σφαιρίνη) που ανήκει στην οικογένεια των πεντραξινών. Διακρίνεται για τη φυλογενετική σταθερότητά της, καθώς και για το ότι εμφανίζει ελάχιστες διαφορές μεταξύ των διαφόρων ζωικών ειδών⁽⁵⁶⁾. Αποτελείται από πέντε υπομονάδες (πολυπεπτίδια) των 206 αμινοξέων που διατάσσονται συμμετρικά γύρω από ένα κεντρικό άξονα. Κάθε υπομονάδα πολυπεπτιδίων συνδέεται με ιόντα ασβεστίου (Ca^{++}) τα οποία βοηθούν στην ένωση του μορίου με τη φωσφορυλοχολίνη και τα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης που έχει ως αποτέλεσμα, την ενεργοποίηση του συμπληρώματος και τη φαγοκυττάρωση των συνδεδεμένων με τη CRP υποστρωμάτων. Με παρόμοια διαδικασία συμμετέχει στην οψωνιοποίηση και στην καταστροφή των μικροβίων. Η CRP έχει ακόμη τη δυνατότητα σύνδεσης με το πυρηνικό υλικό (χρωματίνη, ιστόνες, RNA) που προκύπτει από την ιστική καταστροφή, διευκολύνοντας με τον τρόπο αυτό την κάθαρσή του. Τέλος, η CRP μπορεί να συνδεθεί απουσία ιόντων Ca^{++} με τον C1q υποδοχέα, τους Fc υποδοχείς των ουδετεροφίλων και των μακροφάγων και κυρίως με κατιονικά πολυμερή, όπως οι πρωτεΐνες⁽⁵⁷⁾.

Εκτός όμως από την επαγωγική δράση της CRP στη φλεγμονώδη διαδικασία, προκαλεί και κατασταλτική επίδραση ελατώνοντας την παραγωγή υπεροξειδίου από τα ουδετερόφιλα, μειώνοντας την έκφραση της L-σελεκτίνης, άρα και την ικανότητα προσκόλλησης των ουδετεροφίλων στο ενδοθήλιο των αγγείων, αλλά και διεγείροντας τη σύνθεση του ανταγωνιστή του υποδοχέα της ιντερλευκίνης-1 (IL-1Ra) από τα μονοκύτταρα⁽⁵⁸⁾.

Σήμερα, η CRP αποτελεί ένα χρήσιμο εργαστηριακό δείκτη που αντικατοπτρίζει την παρούσα φλεγμονή ή/και την ιστική καταστροφή ακριβέστερα σε σχέση με άλλους εργαστηριακούς δείκτες οξείας φάσης. Έτσι, η CRP αποτελεί έναν κλασικό μη ειδικό όμως διαγνωστικό εργαλείο, στον έλεγχο για την παρουσία οργανικής νόσου, στην παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία φλεγμονωδών νοσημάτων όπως, οι φλεγμονώδεις πολυαρθρίτιδες, οι αγγειίτιδες, η νόσος του Crohn, ο ρευματικός πυρετός. Επίσης, στη διάγνωση και παρακολούθηση πιθανών λοιμώξεων σε ασθενείς με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ), λευχαιμία ή σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, στη διαφορική διάγνωση μεταξύ ΣΕΛ και ΡΑ, ή μεταξύ ελκώδους κολίτιδας και νόσου Crohn, στη διευκρίνιση μιας αυξημένης τιμής της ΤΚΕ μη φλεγμονώδους αιτιολογίας, όπως στην κύηση, στην αναιμία, σε μυέλωμα, στην πρόγνωση της καρδιαγγειακής νόσου κ.ά. ⁽⁵⁹⁾.

Στη ΡΑ συγκεκριμένα, οι υψηλές τιμές κατά την έναρξη της νόσου προδικάζουν επιθετικότερη μορφή, τάση για συχνότερη εμφάνιση οστικών διαβρώσεων στον απεικονιστικό έλεγχο και ανάγκη για εντατικότερη θεραπεία, ενώ φαίνεται ότι η αύξηση των τιμών της CRP προηγείται τουλάχιστον κατά δύο χρόνια της έναρξης των κλινικών συμπτωμάτων της νόσου. Πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι αποτελεί ένα αξιόπιστο δείκτη παρακολούθησης της νόσου αλλά και απάντησης στη θεραπεία και ειδικότερα στην αντι-TNFα αγωγή ⁽⁶⁰⁾.

Σε αντίθεση με τη ΡΑ, στο ΣΕΛ η CRP δεν αποτελεί αξιόπιστο δείκτη. Στην έξαρση της νόσου με πυρετό και σημαντικά αυξημένη τιμή της ΤΚΕ, η CRP μπορεί να είναι φυσιολογική ή ελαφρώς αυξημένη, ενώ υψηλές τιμές CRP παρατηρούνται σε περιπτώσεις ορογονίτιδας, υμενίτιδας ή συνύπαρξης της νόσου με λοίμωξη. Παρόμοια αναντιστοιχία μεταξύ των τιμών της ΤΚΕ και της CRP παρατηρείται επίσης και στην ελκώδη κολίτιδα. Στη ρευματική πολυμυαλγία και στην κροταφική αρτηρίτιδα η CRP παραμένει πολύτιμος δείκτης παρακολούθησης της θεραπευτικής ανταπόκρισης ενώ στη δερματομυοσίτιδα και στη συστηματική σκληροδερμία δεν έχει κλινική χρησιμότητα. Επίσης στη Νεανική Ιδιοπαθή Αρθρίτιδα, η ΤΚΕ αποτελεί καλύτερο διαγνωστικό δείκτη από τη CRP, μια όμως υψηλή αρχική τιμή της CRP, προδικάζει αποτυχία στη θεραπεία ⁽⁶¹⁾.

Ο προσδιορισμός της CRP αποτελεί μια εύκολη, γρήγορη και σχετικά φθηνή διαδικασία. Μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σήμερα για την ποιοτική αναζήτηση της CRP είναι η συγκολλητινοαντίδραση, με τη χρήση αδρανών σφαιρικών σωματιδίων από πολυστυρένιο, επικαλυμμένων με μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για την CRP (latex agglutination test). Για τον ποσοτικό προσδιορισμό και τη μέτρηση της «υψηλής» ειδικότητας CRP, η ανοσοθολοσιμετρία αλλά κυρίως η νεφελομετρία χρησιμοποιείται σήμερα από τα περισσότερα εργαστήρια.

- **Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθροκυττάρων (ΤΚΕ)**

Η καθίζηση των ερυθροκυττάρων, που περιγράφηκε για πρώτη φορά πριν 70 χρόνια περίπου,⁽⁶²⁾ αποτελεί φυσικοχημικό φαινόμενο που οφείλεται στη συγκόλληση και την επακόλουθη κατακρήμνιση των ερυθρών αιμοσφαιρίων λόγω βαρύτητας. Η ταχύτητα με την οποία καθιζάνουν τα ερυθρά αιμοσφαίρια ορίζεται ως ΤΚΕ. Η μέτρηση της ΤΚΕ που πλέον εύστοχα αναφέρεται ως “length of sedimentation reaction in blood” (LSRB), παραμένει η συχνότερα χρησιμοποιούμενη εργαστηριακή εξέταση για την παρακολούθηση της πορείας λοιμώξεων, φλεγμονωδών και αυτοάνοσων νοσημάτων και κακοηθειών.

Έτσι, αποτελεί μη ειδικό δείκτη νόσου, θεωρείται όμως η διαγνωστική εξέταση εκλογής για την παρακολούθηση νοσημάτων του συνδετικού ιστού όπως, η ρευματική πολυμυαλγία και η ρευματοειδής αρθρίτιδα⁽⁶³⁾. Αν και ερευνητές όπως οι Combe και συνεργάτες⁽⁶⁴⁾ κατέδειξαν τον προγνωστικό ρόλο της ΤΚΕ στην εξέλιξη της βλάβης των αρθρώσεων στην πρώιμη ρευματοειδή αρθρίτιδα, άλλοι συγγραφείς αμφισβητούν την κλινική της χρησιμότητα καθώς υποστηρίζουν ότι είναι μια πολύ ευαίσθητη και μη ειδική δοκιμασία, η δε τιμή της επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως, ο αριθμός και το σχήμα των ερυθρών, η παρουσία ινωδογόνου και κρυσταλλίνης, η αιμόλυση ή υπερλιπιδαιμία, η θερμοκρασία περιβάλλοντος κ.α.

Αυξημένη τιμή της ΤΚΕ ανευρίσκεται σε διάφορα νοσήματα όπως λοιμώξεις, κακοήθειες, ορθόχρωμη αναιμία, παραπρωτεϊναιμίες, νεφρική ανεπάρκεια, υπερχοληστερολαιμία, παχυσαρκία αλλά και σε φυσιολογικές καταστάσεις όπως

κύηση, έμμηνος ρύση, γυναίκες και ηλικιωμένα άτομα. Επίσης, μειωμένη τιμή ΤΚΕ καταγράφεται σε μορφολογικές ανωμαλίες των ερυθρών, πολυκυτταραιμία, έντονη λευκοκυττάρωση, διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, δυσινωδογοναιμία, αυξημένη χολερυθρίνη, καρδιακή ανεπάρκεια και καχεξία ⁽⁶⁵⁾.

Για την μέτρηση της ΤΚΕ χρησιμοποιούνται ειδικά χιλιοστομετρικά επιμήκη σωληνάρια, παλαιά με αντιπηκτικό EDTA (μέθοδος Wintrobe) ή αργότερα με κιτρικό νάτριο (μέθοδος Westergreen). Η μέθοδος Westergren, έχει παραμείνει ουσιαστικά αμετάβλητη από την παρουσίασή της μέχρι σήμερα και συστήνεται ως μέθοδος εκλογής αλλά και αναφοράς για την αξιολόγηση άλλων μεθόδων από το International Council for Standardization in Hematology (ICSH) ⁽⁶⁶⁾.

Τα τελευταία χρόνια, οι τεχνολογικές εξελίξεις οδήγησαν στην εμφάνιση αρκετών ημιαυτοματοποιημένων ή πλήρως αυτοματοποιημένων συστημάτων, η συμφωνία όμως των αποτελεσμάτων, σε σύγκριση με τη μέθοδο Westergren, δεν είναι τόσο ικανοποιητική ⁽⁶⁷⁾.

- **Σύστημα του Συμπληρώματος (Complement-C)**

Το συμπλήρωμα αποτελεί ένα βασικό κομμάτι της φυσικής ανοσίας, διαδραματίζει όμως και ένα σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της επίκτητης ανοσιακής απάντησης. Το σύστημα του C περιλαμβάνει περισσότερες από 30 πρωτεΐνες, διαλυτές στο πλάσμα ή συνδεδεμένες σε κυτταρικές επιφάνειες. Ενεργοποιείται μέσα από τρεις οδούς, την κλασική, την εναλλακτική και την οδό της λεκτίνης, η ενεργοποίηση δε αυτή εμπλέκεται σε παθογενετικούς μηχανισμούς τόσο φλεγμονωδών όσο και αυτοάνοσων νοσημάτων ⁽⁶⁸⁾.

Στη ΡΑ, το C θεωρείται ότι ενεργοποιείται κυρίως μέσω ανοσοσυμπλεγμάτων. Έτσι, συμπλέγματα μεταξύ CRP και προϊόντων ενεργοποίησης του C, C3d και C4d, επάγουν περαιτέρω ενεργοποίηση του C με αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα C3 και C4 στον ορό ασθενών με ΡΑ κυρίως στην ενεργό φάση της νόσου ⁽⁶⁹⁾.

Μέχρι σήμερα υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις, τόσο από ασθενείς με ΡΑ όσο και από πειραματικά μοντέλα, για την εμπλοκή της κλασικής και της εναλλακτικής οδού του C στην παθογένεια της ΡΑ. Η κλασική οδός ενεργοποιείται αρχικά από αντιγόνα της

άρθρωσης, δομές των αποπτωτικών κυττάρων και πρωτεΐνες του κολλαγόνου όπως fibromodulin, ενώ η ενεργοποίηση των Β κυττάρων, η παραγωγή αυτοαντισωμάτων και ο σχηματισμός ανοσοσυμπλεγμάτων επιτείνει αυτή την ενεργοποίηση. Η αναφυλατοξίνη C5a είναι ο κυριότερος παράγοντας της ενεργοποίησης του C, υπεύθυνος για την ιστική βλάβη του αρθρικού υμένα αν και η εναπόθεση του συμπλέγματος προσβολής της μεμβράνης (membrane attack complex- MAC) καθώς και η οψωνινοποίηση μέσω του παράγοντα C3b έχουν σημαντικό ρόλο στην προσβολή της άρθρωσης ⁽⁷⁰⁾.

Γενικά τα επίπεδα των παραγόντων του C στον ορό των ασθενών με ΡΑ καταγράφονται φυσιολογικά ή και αυξημένα (δρουν ως πρωτεΐνες οξείας φάσης). Συγκεκριμένα, η παρουσία υψηλών επιπέδων του παράγοντα C3 ή/και μικρή μείωσή τους μετά την αντι-TNF αγωγή, πιθανά να αντανακλά μια προφλεγμονώδη κατάσταση και να αντιπροσωπεύει έναν αρνητικό προγνωστικό παράγοντα για την αποτελεσματικότητα της θεραπείας ⁽⁷¹⁾. Το γεγονός όμως, ότι στο αρθρικό υγρό τα αντίστοιχα επίπεδα είναι ελαττωμένα, τα δε προϊόντα ενεργοποίησης αυξημένα, υποδηλώνει την εμπλοκή του C στην παθογένεια της νόσου.

Μελέτες σε διαγονιδιακά ποντίκια με ανεπάρκεια παραγόντων του C, απέδειξαν την προστασία τους από την ανάπτυξη πειραματικής αρθρίτιδας (collagen-induced arthritis), ενώ η χορήγηση αντι-C5 μονοκλωνικού αντισώματος ανέστειλε την έναρξη της νόσου. Επιπλέον, το θεραπευτικό αποτέλεσμα στη ΡΑ μετά τη χορήγηση αντι-TNF παράγοντα επιβεβαιώνει την υπόθεση για αλληλεπίδραση του TNFα με το σύστημα του C στα πλαίσια της παθογένειας της ΡΑ. Έτσι, η μείωση της ενεργοποίησης του C μπορεί να είναι ένας από τους μηχανισμούς δράσης των αναστολέων του TNFα στη θεραπευτική αντιμετώπιση της νόσου ⁽⁷²⁾.

Νεώτερα δεδομένα, που φέρνουν στο προσκήνιο το ρόλο των αντι-CCP αντισωμάτων στην παθογένεια της ΡΑ, εκτιμούν ότι η δράση τους μεσολαβείται από την ενεργοποίηση της κλασικής και εναλλακτικής οδού ενώ η οδός της λεκτίνης δεν φαίνεται να συμμετέχει ⁽⁷³⁾. Επιπλέον, πολύ πρόσφατα έχει καταγραφεί θετική συσχέτιση των επιπέδων του C3 παράγοντα του C με την συγκέντρωση των αντι-CCP αντισωμάτων στους αντι-CCP θετικούς ασθενείς με ΡΑ ⁽⁷⁴⁾.

Η ποσοτική μέτρηση των παραγόντων του C και των προϊόντων ενεργοποίησής του, γίνεται με τεχνικές ανοσοδιάχυσης, ELISA, ανοσοθολοσιμετρίας αλλά συνηθέστερα σήμερα, σε ανοσολογικά κυρίως εργαστήρια, με τη μέθοδο της νεφελομετρίας. Πρόκειται για μια αυτοματοποιημένη μέθοδο, που δίνει την δυνατότητα προσδιορισμού της CRP, του ΡΠ ταυτόχρονα με τους κυριότερους παράγοντες του C, τον C4 παράγοντα της κλασικής οδού, τον C3 της κλασικής και της εναλλακτικής και τον παράγοντα Β της εναλλακτικής οδού.

5.1.2. Αυτοαντισώματα

Η ΡΑ, όπως έχει ήδη αναφερθεί, αποτελεί το πιο συχνό αυτοάνοσο φλεγμονώδες νόσημα κυρίως των αρθρώσεων, προσβάλλοντας 1% περίπου του γενικού πληθυσμού. Παρά την αυξημένη επίπτωση της νόσου και σε αντίθεση με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, όπου η πρόγνωση και διάγνωση βασίζονται σε μεγάλο βαθμό στην παρουσία αυτοαντισωμάτων έναντι συγκεκριμένων αυτοαντιγόνων, στη ΡΑ δεν έχει απόλυτα ενοχοποιηθεί κάποιος παράγοντας που να σχετίζεται ισχυρά με την παθοφυσιολογία και την εξέλιξη της νόσου.

Στην προσπάθεια διερεύνησης της παθοφυσιολογίας της ΡΑ αποκαλύφθηκε η ύπαρξη αντιγόνων που συνδέονται σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό με την παθογένεια της. Τα αντιγόνα αυτά ταξινομούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, σε *αυτοαντιγόνα του αρθρικού υμένα και σε μη ειδικά του υμένα, αντιγόνα* ⁽⁷⁵⁾. Στην πρώτη κατηγορία υπάγονται, το κολλαγόνο τύπου II, οι πρωτεογλυκάνες, gr 39, p205 κ.ά. ενώ στη δεύτερη: **1.** ξένα αντιγόνα, όπως η βακτηριακή HSP60 (heat shock protein 60), που φαίνεται ότι επάγουν αυτοανοσία με μηχανισμό μοριακής μίμησης, **2.** κοινά αυτοαντιγόνα (καλπασατίνη, πρωτεΐνη σύνδεσης της βαρειάς αλυσίδας) και **3.** πρωτεΐνες του πυρήνα (RA33/A2hnRNP), μετουσιωμένες πρωτεΐνες (αυτόλογη IgG κατά της οποίας στρέφεται ο ρευματοειδής παράγοντας) και κιτρολλιωμένες πρωτεΐνες (φιλαγγρίνη, βιμεντίνη, α-enolase, Cyclic Citrullinated Proteins-CCPs) ⁽⁷⁶⁾.

Τα τελευταία 40 περίπου χρόνια αρκετά αυτοαντισώματα έχουν περιγραφεί στη ΡΑ με άλλοτε άλλη συχνότητα, ειδικότητα, διαγνωστική ή/και προγνωστική αξία. Η διάκρισή τους σε αυτοαντισώματα που σχετίζονται με τη νόσο (εμφανίζονται και σε

άλλα νοσήματα) και σε αυτά που είναι ειδικά για τη νόσο (αποκλειστικά στη PA) βοηθάει αφενός μεν στη μελέτη και κατανόηση του ρόλου τους στη παθογένεια της PA, αφετέρου δε στη χρήση τους, ως ειδικό εργαλείο διάγνωσης και πρόγνωσης, στη καθημέρα κλινική πρακτική ⁽⁷⁷⁾.

5.1.2.1. Αυτοαντισώματα που σχετίζονται με τη PA

- **Αντιπυρηνικά αντισώματα**

Ο όρος αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA) περιλαμβάνει μία ετερογενή ομάδα αυτοαντισωμάτων που στρέφονται εναντίον πυρηνικών συστατικών, όπως το DNA, οι ιστόνες, μη ιστονικές πρωτεΐνες, συμπλέγματα RNA-πρωτεΐνης, αντιγόνα των πυρηνιδίων κ.α. Τα ANA αναγνωρίστηκαν στην προσπάθεια να προσδιοριστούν οι παράγοντες που ευθύνονται για το φαινόμενο των κυττάρων του λύκου (LE cells), τα οποία είχαν παρατηρηθεί από το 1948. Η παρουσία μη φυσιολογικών επιπέδων αυτοαντισωμάτων έναντι ενδοκυτταρικών αντιγόνων είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα των συστηματικών νόσων του συνδετικού ιστού και γι' αυτό αποτελούν μία εξέταση αναφοράς (screening test) ⁽⁷⁸⁾.

Η τεχνική του έμμεσου ανοσοφθορισμού με υπόστρωμα επιθηλιακών κυττάρων καρκίνου ρινοφάρυγγα ανθρώπου (Herp-2) αποτελεί το βασικό εργαλείο για τον έλεγχο των ANA. Όμως, τα ANA ανιχνεύονται αφενός μεν σε ένα πλήθος ανομοιογενών κλινικών καταστάσεων, χωρίς να συμβάλλουν εξίσου στη διάγνωση όλων αυτών, αφετέρου δε και σε ένα σημαντικό ποσοστό υγιών ατόμων.

Είναι πλέον ευρέως γνωστό ότι θετικά ANA μπορεί να εμφανίζονται και σε περιπτώσεις εκτός των συστηματικών ρευματικών νόσων, όπως σε περιπτώσεις οργανοειδικών αυτοάνοσων νόσων, χρόνια νοσήματα του ήπατος, διάφορες κακοήθειες καθώς και σε ιογενείς λοιμώξεις. Ακόμη και στον υγιή πληθυσμό έχουν σημειωθεί θετικά ANA ⁽⁷⁹⁾. Η επίπτωση των ANA στα φυσιολογικά άτομα εξαρτάται από το φύλο και την ηλικία. Συγκεκριμένα, ο Forslid και οι συνεργάτες του αναφέρουν μία αυξημένη συχνότητα αντιπυρηνικών αντισωμάτων σε παιδιά ηλικίας 6-10 ετών, καθώς και σε ηλικιωμένους, άνω των 60 ετών ⁽⁸⁰⁾. Όσον αφορά το φύλο, τα ANA είναι συχνότερα στις γυναίκες.

Η διαγνωστική αξία τους εξαρτάται από την κλινική εικόνα του ασθενούς και με βάση αυτή ο κλινικός γιατρός θα πρέπει να τα αξιολογεί. Στη ΡΑ, τα ANA ανευρίσκονται θετικά στο 30-50% των περιπτώσεων. Η παρουσία δε αντισωμάτων έναντι εκχυλιζομένων αντιγόνων του πυρήνα (extractable nuclear antigens -ENA) και συγκεκριμένα με ειδικότητα έναντι του Ro/SSA αντιγόνου, ανιχνεύονται σε ποσοστό που κυμαίνεται από 6-12%, ανάλογα με την επιλογή του πληθυσμού μελέτης, εμφανίζονται κυρίως σε γυναίκες ασθενείς, έχουν δε συσχετισθεί με εξωαρθρικές εκδηλώσεις και με τη συνύπαρξη με άλλα αυτοαντισώματα (dsDNA, AMA) μη ειδικά για τη ΡΑ ⁽⁸¹⁾. Η παρουσία της ειδικότητας των ANA δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την αντι-TNF αγωγή, ενώ βρέθηκε να συσχετίζεται με κλινικές εκδηλώσεις που χαρακτηρίζουν όμως παρενέργειες της θεραπείας με D-πενικιλλαμίνη ή άλατα χρυσού ^(82,83).

Νεώτερα δεδομένα και μετά τη χρήση της αντι-TNF θεραπείας, καταγράφουν μια αύξηση της επίπτωσης των ANA στη ΡΑ, επακόλουθο της επαγόμενης, από την βιολογική αγωγή, δραστηριότητας της αυτοάνοσης απάντησης χωρίς όμως να επηρεάζεται η συχνότητα ανεύρεσης των αντι-Ro ή άλλης ειδικότητας αυτοαντισωμάτων ^(84,85). Γενικότερα όμως, μετά την αντι-TNF θεραπεία, περιγράφεται μια αυξημένη επίπτωση παθολογικών τιμών των αντι-dsDNA αντισωμάτων, που επανέρχονται όμως σε φυσιολογικά επίπεδα μετά τη διακοπή της αγωγής.

- **Ρευματοειδής Παράγοντας**

Το 1939 ο Waaler αναγνωρίζει έναν παράγοντα στον ορό ενός ασθενούς με ΡΑ που προκαλεί συγκόλληση ευαισθητοποιημένων ερυθρών αιμοσφαιρίων προβάτου ⁽⁸⁶⁾. Μια δεκαετία αργότερα, η επιστημονική ομάδα του Coggeshall θα ονομάσει αυτόν τον παράγοντα, Ρευματοειδή Παράγοντα (ΡΠ), λόγω της στενής συσχέτισής του με τη ΡΑ ⁽⁸⁷⁾. Εντούτοις, η αυτοαντισωματική φύση του ΡΠ παραμένει άγνωστη μέχρι το 1957, όπου οι μελέτες των Franklin και συνεργατών φέρνουν στο φως τις πρώτες ενδείξεις πώς ο ΡΠ πρόκειται για αντίσωμα που στρέφεται έναντι του Fc τμήματος των ανοσοσφαιρινών ⁽⁸⁸⁾.

Ο δυνητικά παθογενετικός ρόλος του ΡΠ στη ΡΑ αρχίζει να γίνεται γνωστός τη δεκαετία του 60, ενώ το 1973 περιγράφεται λεπτομερώς σε μία ανασκόπηση του Zvaifler ⁽⁸⁹⁾. Από τότε, ένας μεγάλος αριθμός μελετών για το ΡΠ έχουν δώσει απαντήσεις σε πολλά ερωτήματα. Συγκεκριμένα, σήμερα είναι πλέον γνωστό ότι ο ΡΠ στοχεύει αντιγονικούς καθοριστές των περιοχών CH2 και CH3 των ανοσοσφαιρινών, ανήκει σε όλες τις τάξεις, με επικρατέστερη αυτή της IgM ανοσοσφαιρίνης και επιπλέον απαντάται και σε άλλα ρευματικά νοσήματα πέραν της ΡΑ, σε διάφορες λοιμώξεις καθώς και σε φυσιολογικές καταστάσεις.

Μεταξύ των ρευματικών παθήσεων, ο ΡΠ έχει μελετηθεί πιο εντατικά και περιελήφθη στα διαγνωστικά κριτήρια της ΡΑ με ευαισθησία 70 έως 90%. Άλλες καταστάσεις που κατά κανόνα συνδέονται με τους ΡΠ είναι το σύνδρομο Sjögren (60-80%), καθώς και η μικτή κρουσφαιριναιμία (τύπου II και III), η οποία συνήθως σχετίζεται με ηπατίτιδα C. Οι ασθενείς με ΡΑ και οι περισσότεροι ασθενείς με σύνδρομο Sjögren έχουν αυξημένα επίπεδα πολυκλωνικών ΡΠ, ενώ οι ασθενείς με μικτή κρουσφαιριναιμία (τύπου II) και ένα μικρό ποσοστό ασθενών με σύνδρομο Sjögren και λεμφοϋπερπλαστική νόσο μπορεί να έχουν μονοκλωνικό ΡΠ ⁽⁹⁰⁾.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι συνδυασμένη αύξηση των IgM και IgA ΡΠ παρατηρείται σχεδόν αποκλειστικά σε ασθενείς με ΡΑ. Θετικός IgM ΡΠ σε συνδυασμό με τα αντι-CCPs αντισώματα μπορούν να διαφοροποιήσουν μία πρώιμη ΡΑ ⁽⁹¹⁾. Όσον αφορά την προγνωστική αξία τους, μια σουηδική μελέτη κατέδειξε τα αντι-CCPs αντισώματα και τον IgA ΡΠ ως τους καλύτερους προγνωστικούς δείκτες, με ειδικότητα 99% και ευαισθησία 60% ⁽⁹²⁾. Επιπλέον, αυξημένοι τίτλοι ΡΠ σχετίζονται με κλινική εικόνα βαριάς ΡΑ, με οστικές κυρίως διαβρώσεις ⁽⁹³⁾, ενώ ασθενείς που ανταποκρίνονται στη θεραπεία φαίνεται να παρουσιάζουν μείωση των επιπέδων του ΡΠ ⁽⁹⁴⁾.

Επιπλέον, ο ΡΠ μπορεί να αυξηθεί κατά τη διάρκεια αρκετών βακτηριακών (Subacute bacterial endocarditis, tuberculosis, syphilis, *Chlamydia pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* και *Borreliosis*), ιικών (hepatitis, Epstein-Barr, cytomegalovirus, Coxsackie B, Herpes, Dengue, HIV, Measles, Parvovirus και Rubella) αλλά και παρασιτικών (Chagas, Malaria, Onchocerciasis και Toxoplasmosis)

λοιμώξεων, αλλά η ακριβής συχνότητα του στις περισσότερες από αυτές τις ασθένειες δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά ⁽⁹⁰⁾. Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι η συχνότητα του ΡΠ στις διάφορες φλεγμονώδεις νόσους εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το αν η λοίμωξη είναι πρωτογενής ή δευτερογενής καθώς και τη διάρκεια της νόσου. Για παράδειγμα, σε μια μελέτη ασθενών με σύφιλη, μόνο το 8% με πρωτογενή λοίμωξη ήταν θετικό για ΡΠ, ενώ έφτανε σε ποσοστό 23% στη δευτερογενή λοίμωξη ⁽⁹⁵⁾.

Η παρουσία του ΡΠ στις παραπάνω λοιμώδεις νόσους είναι παροδική, δεν συνδέεται με οξεία αρθρίτιδα, και σπανίως είναι επιβαρυντική της νόσου. Πιστεύεται δε ότι ο ΡΠ κατά τη διάρκεια μιας λοίμωξης συμβάλει στην άμυνα του οργανισμού καθώς λειτουργεί ως πρωτεΐνη οξείας φάσης.

Σε ότι αφορά τον υγιή γενικό πληθυσμό, στους Καυκάσιους η συχνότητα του ΡΠ κυμαίνεται από 1.3 έως 4% ^(96,97). Εντούτοις, αξίζει να σημειωθεί ότι σε ορισμένες φυλές των Ινδιάνων της Βόρειας Αμερικής η συχνότητα αυτή αγγίζει το 30% σχετίζεται δε με την παρουσία αντισωμάτων έναντι προϊόντων γλυκοζυλίωσης της IgG (advanced glycation end-product -AGE) και τη βαρύτητα της νόσου ^(98,99). Όσον αφορά την επίδραση της ηλικίας στην εμφάνιση παθολογικού ΡΠ, έχει καταγραφεί μείωση της τάξης IgG και αύξηση της τάξης IgM ΡΠ, στο 10-30% των ηλικιωμένων ατόμων ⁽⁹⁷⁾.

Οι κυριότερες κλινικές δοκιμασίες ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού του ΡΠ, αφορούν ποιοτικές μεθόδους όπως η μέθοδος συγκόλλησης σωματιδίων πολυστυρενίου (latex) και η μέθοδος συγκόλλησης ερυθρών κυττάρων επεξεργασμένων με IgG κουνελιού, ημιποσοτικές όπως η ELISA και ποσοτικές όπως η θολοσιμετρία και η νεφελομετρία, με την τελευταία να είναι η μέθοδος ρουτίνας στην καθημέρα κλινική πρακτική.

- **Αντι-RA33 αντισώματα**

Οι Hassfeld και συν. το 1989 περιέγραψαν ένα αντιγόνο 33kDa, από διαλυτά πυρηνικά εκχυλίσματα HeLa κυττάρων που αναγνωρίζεται με τη μέθοδο της ανοσοαποτύπωσης (Immunoblotting-IB), από ορούς ασθενών με RA ⁽¹⁰⁰⁾. Το

αντιγόνο, αναφερόμενο ως RA33 αναγνωρίσθηκε από το 36% των ασθενών με ΡΑ και μόνο από το 1% υγιών ατόμων, γεγονός για το οποίο και θεωρήθηκε ειδικός δείκτης για τη νόσο.

Γενικά, τα αντιγόνα-στόχοι των αντιπυρηνικών αντισωμάτων που χαρακτηρίζουν τα ρευματικά νοσήματα, είναι καλά διατηρημένες κατά την εξέλιξη δομές, που έχουν την ικανότητα να συνδέουν DNA ή RNA, όπως ιστόνες, τοποϊσομεράση, ή μικρά πυρηνικά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά μόρια (snRNP) που εμπλέκονται στη μετα-μεταγραφική διαδικασία του pre-mRNA. Σε αντίθεση με τα snRNPs, συστατικά του ετερογενούς συμπλόκου των ριβονουκλεοπρωτεϊνών του πυρήνα (hnRNP) σπάνια έχουν περιγραφεί ως στόχοι αυτοαντισωμάτων. Οι ετερογενείς αυτές ριβονουκλεοπρωτεΐνες είναι μεγάλες πυρηνικές δομές, υπάρχουν σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα και αποτελούνται από επιμήκεις λωρίδες ετερογενούς πυρηνικού RNA συνδυασμένο με περίπου 30 διαφορετικές πρωτεΐνες μοριακού βάρους 34-120 kD. Το μεγαλύτερο μέρος αυτών των πρωτεϊνών απαρτίζουν τις καλούμενες πρωτεΐνες του «πυρήνα» (core) του συμπλόκου και ονομάζονται A1, A2, B1, B2, C1 και C2.

Η απομόνωση του RA33, από εκχύλισμα HeLa κυττάρων με χρωματογραφία, αλλά και η μελέτη της αλληλουχίας του, αποκάλυψαν ότι είναι ταυτόσημο με την πρωτεΐνη A2 του ετερογενούς συμπλόκου των ριβονουκλεοπρωτεϊνών του πυρήνα (RA33/A2hnRNP)⁽¹⁰¹⁾. Η αυξημένη έκφραση του αντιγόνου αυτού στον φλεγμονώδη αρθρικό υμένα των ασθενών με ΡΑ, η κυτταροπλασματική του εντόπιση, η συχνή παρουσία Th1 αυτοαντιδρώντων λεμφοκυττάρων με έκκριση IFN- γ στον ορό και στο αρθρικό υγρό των ασθενών, καθώς και η παραγωγή αντι-RA33/A2hnRNP αντισωμάτων, επιβεβαιώνουν την υπόθεση ότι αυτή η πρωτεΐνη είναι ένα πολύ σημαντικό αυτοαντιγόνο στη ΡΑ⁽¹⁰²⁾.

Αρκετές μελέτες στη δεκαετία του '90 υποστηρίζουν ότι τα αντι-RA33 αντισώματα αποτελούν πρώιμο δείκτη αρθρίτιδας. Εντούτοις, ανιχνεύονται και σε ορούς ασθενών με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (20%) ή Μικτή Νόσο Συνδετικού Ιστού-ΜΝΣΙ (40%) που εμφανίζουν και αντι-U1snRNPs αντισώματα, γεγονός που υποδηλώνει την παρουσία πιθανής διασταυρούμενης αντίδρασης αυτών των

επιτόπων. Η διαγνωστική όμως αξία των αντι-RA33 αντισωμάτων, για την PA, δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά καθώς στη PA δεν ανιχνεύονται αντισώματα ειδικά για τη ΜΝΣΙ (αντι-U1snRNPs) ή για τον ΣΕΛ (αντι-DNA, αντι-Sm). Έτσι τα αντισώματα αυτά είναι εξαιρετικά χρήσιμα για την διαφορική διάγνωση της PA από τις άλλες αρθρίτιδες (οστεοαρθρίτιδα, αντιδραστική και ψωριασική αρθροπάθεια), ιδιαίτερα στα πρώιμα στάδια της νόσου, ακόμα και επί απουσίας του ΡΠ ⁽¹⁰³⁾.

- **Αντισώματα έναντι καλπαστατίνης (anticapastatin)**

Οι καλπαΐνες είναι ουδέτερες πρωτεΐνες κυστεΐνης εξαρτώμενες από ιόντα ασβεστίου. Εμφανίζονται με δύο μορφές: τη μ-καλπαΐνη (καλπαΐνη I, που απαιτεί για τη δραστηριότητά της μικρομοριακές ποσότητες Ca^{++}) και τη m-καλπαΐνη (που απαιτεί για τη δραστηριότητά τους millimοριακές ποσότητες Ca^{++}). Τα υποστρώματα αυτών των ενζύμων παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία και συμπεριλαμβάνουν πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού, πυρηνικές πρωτεΐνες, κυτταροκίνες και πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας συμπεριλαμβανομένων των πρωτεογλυκανών. Έχουν αναφερθεί αυξημένα επίπεδα εξωκυττάριας καλπαΐνης στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα, πράγμα που υποδεικνύει ότι οι καλπαΐνες μπορεί να εκκρίνονται από τα αρθρικά κύτταρα και θα μπορούσαν να παίζουν ρόλο στην αποικοδόμηση του χόνδρου στην PA ⁽¹⁰⁴⁾.

Η καλπαστατίνη είναι ο φυσικός αναστολέας των καλπαϊνών. Με τη χρήση τεχνικής ανοσοαποτύπωσης και αντιγόνο ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη, ανιχνεύονται αντισώματα έναντι της καλπαστατίνης στο 45% περίπου των ορών με PA, αλλά επίσης και σε ορούς ασθενών με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο, μυοσίτιδα, και συστηματική σκλήρυνση. Τα αντισώματα αυτά, δεσμεύοντας τον φυσικό αναστολέα των καλπαϊνών, αυξάνουν τη δραστηριότητα τους, οδηγούν σε αυξημένη καταστροφή του χόνδρου και συμβάλλουν έτσι στην εμφάνιση βαρύτερης μορφής της νόσου ⁽¹⁰⁵⁾.

- **Έναντι κολλαγόνου**

Αν και έχουν περιγραφεί αυτοαντισώματα έναντι ποικίλων τύπων κολλαγόνου, η αυτοάνοση αντίδραση έναντι του κολλαγόνου τύπου II (αντι-CII) φαίνεται να

επικρατεί. Τα αντισώματα αυτά ανιχνεύονται στο 30% περίπου των PA ασθενών και μόνο στους HLA-DR4 θετικούς. Αν και η συχνότητα των αντι-CII αντισωμάτων στον ορό των ασθενών είναι χαμηλή, τόσο τα αντισώματα αυτά όσο και τα B κύτταρα που τα παράγουν ανιχνεύονται στο αρθρικό υγρό της πλειονότητας αυτών των ασθενών ⁽¹⁰⁶⁾.

Δεν έχει βέβαια ακόμα διευκρινισθεί αν η παρουσία των αντισωμάτων αυτών παίζει κάποιο ρόλο στην παθογένεια της PA ή είναι το αποτέλεσμα της νόσου. Η ειδικότητα των αντι-CII αντισωμάτων είναι ιδιαίτερα χαμηλή καθώς εμφανίζονται και σε άλλες αυτοάνοσες κλινικές οντότητες, όπως ΣΕΛ (20%), συστηματική σκλήρυνση (15%), υποτροπιάζουσα πολυχονδρίτιδα (50%) ακόμα και σε λοιμώδη νοσήματα (λέπρα 50%).

Τα επίπεδα των αντι-CII τάξης IgG στον ορό και στο αρθρικό υγρό των ασθενών με PA φαίνεται να συσχετίζονται άμεσα με τις τιμές των πρωτεϊνών οξείας φάσης και των κυτταροκινών όπως, ο TNFα και η IL-6 ⁽¹⁰⁷⁾. Μια πιθανή εξήγηση αυτών των ευρημάτων αποτελεί η διασταυρούμενη αντίδραση με το πρώτο συστατικό του συμπληρώματος, το C1q που έχει μια ουρά όμοια με αυτή του κολλαγόνου ⁽¹⁰⁸⁾ και που ενεργοποιείται κατά τη διαδικασία της φλεγμονής.

- **Έναντι ινωδονεκτίνης**

Η ινωδονεκτίνη (fibronectin) είναι μια διμερής γλυκοπρωτεΐνη που αντιδρά με κολλαγόνο, ινωδογόνο, ηπαρίνη και ποικίλα μόρια προσκόλλησης της κυτταρικής επιφάνειας. Αποτελεί στοιχείο της μεσοκυττάριας ουσίας του συνδετικού ιστού, υπάρχει στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων αλλά και σε διαλυτή μορφή στο πλάσμα και σε άλλα σωματικά υγρά. Αυτοαντισώματα έναντι της ινωδονεκτίνης ανιχνεύονται σε περίπου 14% των ασθενών με PA, έχουν όμως χαμηλή ειδικότητα καθώς εμφανίζονται και στο ΣΕΛ σε ποσοστό 34% ⁽¹⁰⁹⁾.

- **Έναντι κυτταροπλάσματος ουδετεροφίλων (ANCA)**

Τα ANCA ανιχνεύονται στο 1/3 περίπου των ασθενών με PA, δεν αποτελούν ειδικό όμως εύρημα καθώς εμφανίζονται και σε άλλες αυτοάνοσες καταστάσεις όπως και σε ποικίλα λοιμώδη νοσήματα ⁽¹¹⁰⁾.

Τέλος, αυτοαντισώματα έναντι των μη ιστονικών, χρωμοσωμιακών πρωτεϊνών, όπως HMG1 και HMG2 ανιχνεύονται σε ποσοστό περίπου 25-40% στη ΡΑ, αλλά παρόμοιες συχνότητες έχουν αναφερθεί στο ΣΕΛ, στο σύνδρομο Sjogren, και στο συστηματικό σκληρόδερμα⁽¹¹¹⁾.

5.1.2.2. Αυτοαντισώματα ειδικά για ΡΑ

- **Έναντι Sa πρωτεΐνης**

Το αντιγόνο Sa είναι μια πρωτεΐνη 48-50kD, που υπάρχει κυρίως σε εκχύλισμα ανθρώπινου πλακούντα, σπληνός και στον αρθρικό πάνο, όχι όμως σε καλλιεργημένα κύτταρα. Όπως εξηγήθηκε από τους Menard και συν.⁽¹¹²⁾ το Sa είναι πιθανά μια κιτρουλλιωμένη μορφή της ενδιάμεσης μορφής των ινιδίων της βιμεντίνης (στα καλλιεργημένα κύτταρα η βιμεντίνη φυσιολογικά δεν είναι κιτρουλλιωμένη), ενώ κατά άλλους ερευνητές η δραστικότητα του μπορεί να είναι ταυτόσημη με την ανθρώπινη α-ενολάση. Αν η Sa πρωτεΐνη είναι πράγματι κιτρουλλιωμένη, το αντιγόνο μπορεί να καταταχθεί στην οικογένεια φιλαγγρίνης/κυκλικών κιτρουλλιωμένων πεπτιδίων (CCP). Τα αντι-Sa αντισώματα περιγράφηκαν το 1994 και ανιχνεύονται σε ποσοστό περίπου 40% στους ασθενείς με εγκατεστημένη νόσο, στο 23% στα πρώιμα στάδια, αλλά με πολύ υψηλή ειδικότητα, 92-98%, σχετίζεται δε με τη πρόγνωση και τη βαρύτητα της κλινικής εικόνας της νόσου^(113,114).

- **Έναντι της πρωτεΐνης σύνδεσης βαρειάς αλυσίδας (BiP)**

Αυτοαντισώματα που κατευθύνονται έναντι της πρωτεΐνης p68, που ταυτοποιήθηκε ως πρωτεΐνη σύνδεσης της βαρειάς αλυσίδας (Immunoglobulin binding protein-BiP), απαντώνται σε περίπου 68% των ΡΑ ασθενών με ειδικότητα 96% για τη νόσο⁽¹¹⁵⁾. Η BiP είναι μια πρωτεΐνη μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνών της θερμικής καταπληξίας (heat shock protein 70), που εκφράζεται παντού και εντοπίζεται κύρια στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Ανιχνεύεται στο κυτταρόπλασμα και το ενδοπλασματικό δίκτυο καλλιεργημένων κυττάρων, αλλά επίσης σε χαμηλή ποσότητα και στην κυτταρική επιφάνεια. Ο βιολογικός της ρόλος φαίνεται να είναι η ρύθμιση της απόπτωσης καθώς εμποδίζει την ενεργοποίηση του μονοπατιού των

κασπασών, αναστέλλοντας έτσι τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Σε καταστάσεις stress (θερμική καταπληξία) το αντιγόνο μπορεί να επανέλθει στον πυρήνα. Αυτή η μη φυσιολογική εντόπιση του, που συνοδεύεται με τροποποίηση του σχήματος γλυκοζυλίωσης, θα μπορούσε να πυροδοτήσει αύξηση της αντιγονικότητας της BiP.

Το αντιγόνο BiP αποτελεί επίσης στόχο των ειδικών για την PA ανοσιακών απαντήσεων των T και B κυττάρων και υπερεκφράζεται στον αρθρικό υμένα των ασθενών με PA ⁽¹¹⁶⁾. Ο μείζων επίτοπος αυτού του αντιγόνου για τα B κύτταρα φαίνεται να είναι η υδατανθρακική ομάδα της N-ακετυλογλυκοζαμίνης, πιθανά σημαντικός για την κυτταρική του εντόπιση ⁽¹¹⁷⁾. Αξίζει να σημειωθεί η παρουσία των αντι-BiP αντισωμάτων τόσο στα πρώιμα στάδια όσο και 2.5 χρόνια πριν την κλινική εμφάνιση της νόσου με συχνότητα 65% και 45%, αντίστοιχα ⁽¹¹⁸⁾. Πρόσφατα, περιγράφηκε η κιτρουλλιωμένη μορφή της BiP (citBiP), ο μείζων αντιγονικός επίτοπος της οποίας είναι σαφώς διαφορετικός από αυτόν της φυσικής BiP. Αντισώματα έναντι της citBiP ανιχνεύονται στον ορό ασθενών με PA σε συχνότητα 72%, και σε υψηλότερα επίπεδα τιμών από αυτά των αντι-BiP αντισωμάτων ⁽¹¹⁹⁾.

- **Έναντι της ισομεράσης της 6-φωσφορικής-γλυκόζης (G6PI)**

Το ένζυμο ισομεράση της 6-φωσφορικής-γλυκόζης (GPI) περιγράφηκε το 2001, ως αυτοαντιγόνο της PA ⁽¹²⁰⁾. Τα αντι-GPI αντισώματα ανιχνεύονται στο 64% των ασθενών με PA αλλά όχι στα υγιή άτομα. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι ανευρίσκονται και σε TCR-διαγονιδιακά ποντίκια, όπου η GPI μπορεί να λειτουργήσει ως αυτοαντιγόνο και για τα T και για τα B κύτταρα, η δε παθητική μεταφορά των αντι-GPI σε φυσιολογικά υγιή ζώα επάγει αρθρίτιδα ⁽¹²¹⁾.

Τα αντι-GPI αντισώματα στον άνθρωπο φαίνεται να παράγονται τοπικά, καθώς τα επίπεδα των τιμών τους καταγράφηκαν υψηλότερα στο αρθρικό υγρό σε σύγκριση με αυτά του ορού. Επίσης, η ανοσοϊστοχημεία του αρθρικού υμένα ασθενών με PA έδειξε υψηλές συγκεντρώσεις GPI στην επιφάνεια του καθώς και στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων των αρτηριολίων ⁽¹²⁰⁾.

- **Αντιπεριπυρηνικός παράγοντας / έναντι κερατίνης / φιλαγγρίνης**

Ήδη από το 1964 περιγράφηκαν για πρώτη φορά, ειδικά για τη νόσο αντισώματα, ως αντιπεριπυρηνικός παράγοντας (Anti-Perinuclear Factor-APF) ⁽¹²²⁾. Πρόκειται για αντισώματα που στρέφονται έναντι των κοκκίων της κερατοϋαλίνης (πρόδρομη ουσία της κερατίνης) των επιθηλιακών κυττάρων του στοματικού βλεννογόνου και ανευρίσκονται στο 50% περίπου των ασθενών με υψηλή όμως ειδικότητα (73-99%) για την ΡΑ. Ο προσδιορισμός του APF δεν έγινε ποτέ δημοφιλής και δεν εφαρμόστηκε στην κλινική πρακτική λόγω διαφόρων πρακτικών προβλημάτων. Μικρό μόνο ποσοστό πληθυσμού μπορεί να δωρίσει κύτταρα στοματικού βλεννογόνου επαρκώς διαφοροποιημένα, ώστε να περιέχουν τον περιπυρηνικό παράγοντα. Επίσης, καθώς η ανίχνευσή τους γίνεται με την τεχνική του εμμέσου ανοσοσφθορισμού, όπου εμφανίζεται χαρακτηριστική δακτυλιοειδή περιπυρηνική χρώση των κυττάρων του στοματικού βλεννογόνου, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων είναι υποκειμενική και απαιτεί εμπειρία.

Μια σχετική ομάδα αυτοαντισωμάτων, ειδικών για την ΡΑ, τα ονομαζόμενα αντισώματα έναντι κερατίνης (Anti-Keratin Antibodies-AKA), περιγράφηκαν για πρώτη φορά το 1979 ⁽¹²³⁾. Αν και τα αντισώματα αυτά συσχετίστηκαν με τη νόσο, δεν βρήκαν εφαρμογή στην καθημέρα κλινική πρακτική καθώς δεν ήταν γνωστά τα μόρια έναντι των οποίων στρέφονται. Μεσολάβησαν τουλάχιστον δύο δεκαετίες για να διαπιστωθεί ότι τα μόρια αυτά είναι κιτρουλλιωμένες πρωτεΐνες ⁽¹²⁴⁾.

Τα ΑΚΑ αναγνωρίζουν δομές που μοιάζουν με κερατίνη, στην κερατινοποιημένη στοιβάδα τομών του οισοφάγου, αλλά δεν αναγνωρίζουν κυτταροκερατίνες, όπως υποδεικνύεται από το όνομα τους. Ανιχνεύονται με έμμεσο ανοσοσφθορισμό στο 36-59% των ορών ασθενών με ΡΑ και με ειδικότητα 88-99%. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα APF και τα ΑΚΑ αντισώματα στοχεύουν το ίδιο αντιγόνο, την επιθηλιακή πρωτεΐνη φιλαγγρίνη ⁽¹²⁵⁾.

Η φιλαγγρίνη (filament aggregating protein-πρωτεΐνη που συσσωρεύει τα νημάτια) συμμετέχει στην οργάνωση των κυτταροσκελετικών δομών στα επιθηλιακά κύτταρα και συντίθεται ως μεγάλη βαρειά φωσφορυλιωμένη πρόδρομη πρωτεΐνη, τη

προφλαγγρίνη. Στη διάρκεια της διαφοροποίησης των επιθηλιακών κυττάρων η προφλαγγρίνη αποφωσφορυλιώνεται εν μέρει και διασπάται πρωτεολυτικά σε 10-12 υπομονάδες φλαγγρίνης. Τελικά περίπου το 20% των καταλοίπων αργινίνης μετατρέπονται με απαμίνωση σε κατάλοιπα κιτρουλίνης ⁽¹²⁶⁾. Η μετατροπή αυτή καταλύεται από το ένζυμο απαμινάση της πεπτιδυλοαργινίνης και θεωρείται απαραίτητη για την αυτοαντιγονικότητα της φλαγγρίνης ⁽¹²⁴⁾.

Τεχνικές ανοσοαποτύπωσης και ELISA με χρήση κεκαθαρμένης φλαγγρίνης ως αντιγόνο, έχουν αναπτυχθεί για την ανίχνευση των έναντι φλαγγρίνης αντισωμάτων (AFA). Οι Vincent και συν. κατάφεραν να ανιχνεύσουν AFA στο 41% των ορών με RA και με ειδικότητα 99%. Με την ταυτόχρονη όμως ανίχνευση AFA και AKA επιτυγχάνεται πολύ υψηλότερη ευαισθησία (64%) χωρίς να επηρεάζεται η ειδικότητα. Η ευαισθησία όμως της τεχνικής φαίνεται να εξαρτάται από τη μέθοδο κάθαρσης της φλαγγρίνης ^(1227,128). Η ELISA είναι κάπως πιο ευαίσθητη (47-54%) από τη τεχνική της ανοσοαποτύπωσης αλλά τα αποτελέσματα είναι σε καλή συμφωνία με αυτά του APF ⁽¹²⁹⁾. Τα AFA εμφανίζονται νωρίς στη νόσο, τα δε επίπεδα τους σχετίζονται με τη βαρύτητα της RA. Υπάρχει όμως συζήτηση αν η δραστηριότητα της νόσου και η ακτινολογική διαβρωτική βλάβη μπορούν να προβλεφθούν από τα επίπεδα των AFA ⁽¹³⁰⁾.

5.1.2.3. Αντι-CCP αυτοανοσία

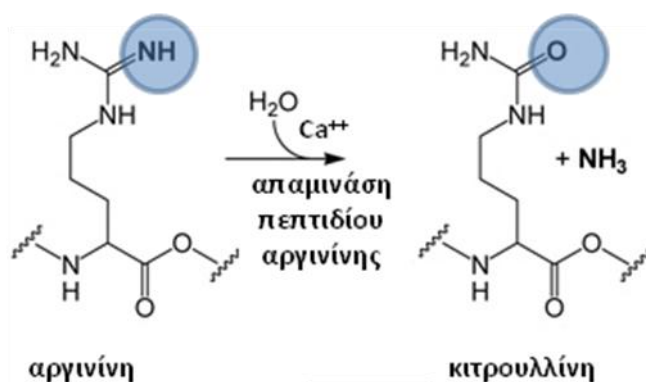
- **Παθοφυσιολογική προσέγγιση και κλινική εφαρμογή στη RA**

Μέχρι και σήμερα, ο ΡΠ χρησιμοποιείται συστηματικά για τη πρόγνωση και διάγνωση της νόσου, καθώς σχετίζεται με τη RA περισσότερο από κάθε άλλο ορολογικό δείκτη. Παρόλα αυτά, η αυξημένη συχνότητα ανεύρεσης παθολογικών τιμών του ΡΠ σε ποικίλα αυτοάνοσα και μη νοσήματα (σ. Sjögren, βακτηριακές και ιογενείς λοιμώξεις, ηπατοπάθεια, κ.ά) τον καθιστούν μη ειδικό δείκτη, αφήνοντας κενά στη διαγνωστική προσέγγιση της νόσου. Αυτά τα κενά φαίνεται πως ήρθαν να καλύψουν σε μεγάλο μέρος τα αντι-CCPs αντισώματα.

Τα αντισώματα έναντι κυκλικών κιτρουλλιωμένων πρωτεϊνών (αντι-CCPs) αποτελούν την τελευταία δεκαετία αντικείμενο πολλών ερευνών καθώς μελετάται η ρόλος τους στην παθογένεια, πρόγνωση, διάγνωση και παρακολούθηση της νόσου.

- **Κιτρουλλίωση**

Με την ανακάλυψη των αντι-CCPs ανέκυψε ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τις βιοχημικές αντιδράσεις που οδηγούν στην κιτρουλλίωση. Διευκρινίστηκε ο τρόπος με τον οποίο επάγεται αλλά και τι συνέπειες επιφέρει στις ίδιες τις πρωτεΐνες και στο μικροπεριβάλλον του κυττάρου. Με τον όρο κιτρουλλίωση εννοείται η μετατροπή του αμινοξέος αργινίνη σε κιτρουλλίνη. Η κιτρουλλίνη είναι αμινοξύ για το οποίο δεν υπάρχει αντίστοιχο mRNA, συνεπώς προκύπτει μέσα από μεταμεταγραφικές μεταβολές. Κατά την κιτρουλλίωση, μια αμινομάδα της πλάγιας αλυσού της αργινίνης αντικαθίσταται από οξυγόνο με ταυτόχρονη απελευθέρωση κατιόντος υδρογόνου και αμμωνίας. Η όλη αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο πεπτιδύλ-αργινίνο απαμινάση (PeptidylArginine Deiminase-PAD) και έχει σαν αποτέλεσμα τη μετατροπή ενός θετικά φορτισμένου αμινοξέος (αργινίνη) σε άλλο με ουδέτερο φορτίο (κιτρουλλίνη). (Εικόνα 4)



Εικόνα 4. Η μετατροπή του αμινοξέος αργινίνη σε κιτρουλλίνη

Η διαδικασία αυτή οδηγεί σε μεταβολές που έχουν σαν αποτέλεσμα αλλαγές στην τριτοταγή δομή της πρωτεΐνης. Το μόριο «ξεδιπλώνεται» με συνέπεια αφενός μεν την έκθεση ενδότερων δομών σε ενζυμικές διεργασίες (τροποποιούν και καθιστούν αντιγονική την πρωτεΐνη) αφετέρου δε την ανάδειξη πιθανών κρυπτών αντιγόνων.

Αυτές οι στερεοδομικές μεταβολές του μορίου της πρωτεΐνης ερμηνεύουν και την εμπλοκή της κιτρουλλίωσης στην επαγωγή αυτοανοσίας στη ΡΑ ⁽¹³¹⁾.

Ο μηχανισμός της κιτρουλλίωσης δεν είναι παθολογική διαδικασία και συμβαίνει σε πολλούς ιστούς του οργανισμού. Αποτελεί ένδειξη αυξημένης διαφοροποίησης και απόπτωσης των κυττάρων ενώ, η μετουσίωση των νουκλεοπρωτεϊνών της χρωματίνης σηματοδοτεί την έναρξη εκφυλισμού του DNA των κυττάρων ⁽¹³²⁾. Τα PAD ένζυμα που καταλύουν την κιτρουλλίωση έχουν μελετηθεί τόσο στον άνθρωπο όσο και σε πειραματόζωα, εμφανίζουν δε δραστηριότητα ακόμα και σε μονοκύτταρους οργανισμούς. Πρόκειται για ένζυμα που χρησιμοποιούν ιόντα ασβεστίου ως συνένζυμο και μέχρι σήμερα έχουν καταγραφεί 6 ισομορφές του στον άνθρωπο οι οποίες διαφέρουν κυρίως ως προς την κατανομή τους στους ιστούς.

Η PAD1 βρίσκεται στην επιδερμίδα και στη μήτρα, ενώ το υπόστρωμά της είναι η φιλαγγρίνη, πρωτεΐνη που σχετίζεται με τον πολυμερισμό των ενδιάμεσων ινιδίων. Η PAD2 είναι ο πιο συχνός τύπος του ενζύμου και απαντάται σε σκελετικούς μυς, στον εγκέφαλο, στον σπλήνα και σε διάφορους αδένες. Ευθύνεται για την κιτρουλλίωση της βασικής πρωτεΐνης της μυελίνης (MBP) και της βιμεντίνης. Η PAD3 ανευρίσκεται στους θύλακες της επιδερμίδας, η PAD4 περιγράφηκε αρχικά σε επίμυες, η αντίστοιχη δε ανθρώπινη ισομορφή της ανακαλύφθηκε αργότερα και ονομάστηκε PAD5. Σήμερα και οι δύο αυτές μορφές περιγράφονται ως PAD4, ανευρίσκεται στα πολυμορφοπύρρηνα και στα μονοπύρρηνα και σε αντίθεση με τις άλλες ισομορφές που δραστηριοποιούνται στο κυτταρόπλασμα, εδράζει στον πυρήνα και έχει για υπόστρωμα της νουκλεοπρωτεΐνες. Πρόσφατα περιγράφηκε και η PAD6 ισομορφή που ανευρίσκεται στο έμβρυο με πιθανό ρόλο στην οργανογένεση. Από όλες αυτές τις ισομορφές, η PAD2 και η PAD4 ενέχονται στην παθοφυσιολογία της ΡΑ.

- **Ο ρόλος των αντι-CCPs στην παθοφυσιολογία της ΡΑ**

Το ερώτημα που προέκυψε από τη μελέτη των αντι-CCPs αντισωμάτων είναι γιατί ενώ η κιτρουλλίωση αποτελεί κοινό φαινόμενο, εντούτοις μόνο στη ΡΑ αναπτύσσεται αντι-CCPs αυτοανοσία και μάλιστα με μεγάλη ειδικότητα για τη νόσο. Η απάντηση αναζητήθηκε τόσο σε γενετικό επίπεδο όσο και σε επίπεδο

περιβαλλοντικών επιδράσεων. Η θεωρία της γενετικά αυξημένης κιτρουλλίωσης των πρωτεϊνών επιβεβαιώθηκε, με την ανεύρεση μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (Single Nucleotide Polymorphisms-SNPs) στο ένζυμο PAD4 και πειραματικά. Συνολικά προέκυψαν 17 SNPs, οι 4 αφορούν εξόνια και 2 από αυτούς σχετίζονται ισχυρά με τη PA. Παράλληλα τα συγκεκριμένα SNPs των PAD προσδίδουν στα ένζυμα μεγαλύτερη ειδικότητα για το υπόστρωμά τους και τα καθιστούν συνολικά και σε διάφορα επίπεδα περισσότερο ενεργά ⁽¹³³⁾.

Παρόλα αυτά, η γενετική προσέγγιση δεν μπόρεσε να ερμηνεύσει την εξειδίκευση των αντι-CCPs στη PA καθώς η κιτρουλλίωση καταδείχθηκε και σε άλλες αρθροπάθειες όπως, οστεοαρθρίτιδα και αντιδραστική αρθροπάθεια. Το μοντέλο της εμπλοκής της κιτρουλλίωσης στην παθογένεια της PA προβλέπει πως ευκαιριακοί παράγοντες (λοίμωξη, τραυματισμός) οδηγούν σε φλεγμονή, προκαλούν διαταραχές οξυγόνωσης και τοπικό οξειδωτικό στρες στον υμένα, με αποτέλεσμα τη λύση μακροφάγων και κοκκιοκυττάρων. Η λύση αυτή εκθέτει τα PAD ένζυμα σε υψηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου οδηγώντας σε ενεργοποίηση τους. Η διαδικασία αυτή οδηγεί σε κιτρουλλίωση ενδοκυττάρων και εξωκυττάρων πρωτεϊνών, την παραγωγή αντι-CCPs αντισωμάτων και τον σχηματισμό ανοσοσυμπλεγμάτων, τα οποία και συντηρούν τη χρόνια φλεγμονή στη PA ⁽¹³¹⁾.

Επίσης, η διαδικασία παραγωγής των αντι-CCPs αντισωμάτων φαίνεται να είναι MHC-εξαρτώμενη. Πράγματι τα κιτρουλλιωμένα παράγωγα, που έχουν χάσει το θετικό τους φορτίο, έχουν μεγαλύτερη συγγένεια με την ενεργό θέση των MHC τάξης II μορίων. Είναι γνωστό ότι η P4 θήκη του MHC II μορίου (θέση σύνδεσης πρωτεϊνικών αντιγόνων) λόγω στερεοδομής, συνδέεται ισχυρά με ουδέτερα ή αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα, διασύνδεση που επάγει κλωνική T λεμφοκυτταρική απόκριση Th1 τύπου ⁽¹³⁴⁾. Περαιτέρω ένδειξη για Th1 τύπου απόκριση στην επαγωγή αντι-CCPs αποτελεί το γεγονός ότι οι IgG ανοσοσφαιρίνες που παράγονται είναι κυρίως IgG1 υποτάξεως και λιγότερο IgG4 (χαρακτηριστική Th2 απόκρισης) ⁽¹³⁵⁾.

Επιπλέον, μη συσχετιζόμενα με τη PA MHC II μόρια (HLA-DRB1*0301) λόγω μεγέθους αλλά και φορτίου, δεν μπορούν να συνδεθούν με αντιγονικά πεπτίδια ακόμα και όταν αυτά είναι σε κιτρουλλιωμένη μορφή. Τέλος, άλλα MHC II μόρια που

θεωρείται ότι προστατεύουν από τη νόσο (HLA-DRB1*0402), πιθανά να αλληλεπιδρούν με κιτρολλιωμένα παράγωγα που επάγουν αρνητική επιλογή ή και έκπτυξη CD4+CD25+ ρυθμιστικών κυττάρων που επάγουν με τον τρόπο αυτό ανοσιακή ανοχή⁽¹³⁴⁾.

- **Ο ρόλος των αντι-CCPs στη διάγνωση και πρόγνωση της PA**

Η ευαισθησία των αντι-CCPs αντισωμάτων στη διάγνωση της PA κυμαίνεται στο 80% περίπου (ποσοστό ανάλογο με την ευαισθησία του ΡΠ) ενώ η ειδικότητα τους ανέρχεται μέχρι το 99%⁽⁷⁷⁾. Ενώ ο ΡΠ εμφανίζεται θετικός σε πληθώρα τόσο αυτοάνοσων όσο και άλλων κλινικών καταστάσεων, τα αντι-CCPs παρέχουν υψηλή ειδικότητα για τη νόσο, πλεονέκτημα το οποίο έχει αξιολογηθεί στη διαφορική διάγνωση ρευματικών κυρίως νοσημάτων που ενέχουν στην κλινική τους εικόνα αρθρική συμμετοχή όμοια με της PA (π.χ σ. Sjögren, ΣΕΛ)⁽¹³⁶⁾.

Από αναδρομικές μελέτες προκύπτει ότι περίπου το 50% των ασθενών με PA εμφανίζουν θετικά αντι-CCPs αντισώματα ακόμα και 14 χρόνια πριν την κλινική έκφραση της νόσου, η δε πιθανότητα εξέλιξης σε PA μιας αδιαφοροποίητης αρθρίτιδας στους ασθενείς με θετικά αντι-CCP αντισώματα είναι 16,7 φορές μεγαλύτερη από τους αντι-CCP αρνητικούς⁽¹³⁷⁾. Επίσης, η ανεύρεση θετικών αντι-CCP αντισωμάτων σχετίζεται με βαρύτερη κλινική πορεία της νόσου, με διαβρωτικές αλλοιώσεις και με αυξημένη επίπτωση εξωαρθρικών εκδηλώσεων^(138,139).

Τέλος, με τη χρήση βιολογικών θεραπειών τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί, σύμφωνα με κάποιες μελέτες, μείωση των επιπέδων των αντι-CCP αντισωμάτων στο πρώτο εξάμηνο της χορήγησης τους^(140,141). Η μείωση όμως αυτή φαίνεται να είναι παροδική καθώς τα αντισώματα επανέρχονται στα αρχικά επίπεδα παρά την κλινική βελτίωση της νόσου. Σε αντίθεση με αυτά τα δεδομένα, άλλες μελέτες εκτιμούν ότι η χορήγηση αντι-TNF μονοκλωνικού αντισώματος δεν επηρεάζει τα επίπεδα των αντι-CCP αντισωμάτων, μετά από 30 εβδομάδες παρακολούθησης, μειώνονται όμως σημαντικά οι τιμές του ΡΠ⁽¹³¹⁾. Έτσι, το γεγονός αυτό δεν επιτρέπει προς το παρόν τουλάχιστον τον ασφαλή συσχετισμό των επιπέδων των αντι-CCPs αντισωμάτων με την ενεργότητα της νόσου, ανοίγει όμως το δρόμο για μελέτη της

επίδρασης της αναστολής του TNF στην έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στην παραγωγή αυτών των αντισωμάτων.

5.2. Κλινικές εκδηλώσεις

Η RA χαρακτηρίζεται από συμμετρική πολυαρθρίτιδα που με το χρόνο οδηγεί σε καταστροφή του αρθρικού χόνδρου και του οστού και παραμόρφωση της άρθρωσης που καταλήγει σε κινητική αναπηρία⁽¹⁴⁴⁾.

Τα κλινικά χαρακτηριστικά της RA ποικίλουν όχι μόνο μεταξύ των ασθενών, αλλά και στον ίδιο ασθενή κατά την πορεία της νόσου. Ο πλέον συνήθης τρόπος εμφάνισης είναι η βραδεία εμφάνιση των συμπτωμάτων σε χρονική διάρκεια αρκετών εβδομάδων. Επίσης, μπορεί να εμφανιστεί ως εκρηκτική, οξεία πολυαρθρίτιδα που αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια αρκετών ημερών. Συχνά όμως η αρχική εμφάνιση δεν έχει τη χαρακτηριστική συμμετρία, η οποία προκύπτει καθώς η νόσος εξελίσσεται σε χρόνια κατάσταση⁽¹⁴⁵⁾.

Πρόκειται για μια φλεγμονώδη διαταραχή του αρθρικού υμένα, των θυλάκων αλλά και των ελύτρων των τενόντων που κλινικά εκδηλώνεται με πόνο και οίδημα των αρθρώσεων, πρωινή δυσκαμψία και ανάπτυξη υποδόριων οζιδίων. Η κλινική πορεία της RA μπορεί να διαιρεθεί σε πρώιμη, όψιμη και συστηματική μορφή, ενώ περιγράφεται και η σχετικά σπάνια μορφή του «παλίνδρομου ρευματισμού» (*palindromic rheumatism*)⁽¹⁴⁶⁾. Στην περίπτωση αυτή, ποικίλα επεισόδια αρθρίτιδας προσβάλλουν αιφνίδια μια ή περισσότερες, μεγάλες ή και μικρές αρθρώσεις, η προσβολή διαρκεί λίγες ώρες ή ημέρες και υποχωρεί αυτόματα, υποτροπιάζει όμως εβδομάδες ή μήνες αργότερα. Τα βραχύβια αυτά επεισόδια συχνά αυξάνουν σε συχνότητα και κλινική βαρύτητα και υπολογίζεται ότι το 1/3 αυτών των ασθενών εξελίσσεται σε τυπική RA.

Οι κλινικές εκδηλώσεις του πρώιμου σταδίου της RA περιλαμβάνουν τη συμμετρική πολυαρθρίτιδα που τυπικά αρχίζει από τον καρπό, τις μετακαρποφαλλαγγικές (ΜΚΦ), τις εγγύς μεσοφαλλαγγικές (ΜΦ) και τις μεταταρσοφαλλαγγικές (ΜΤΦ) αρθρώσεις των άκρων. Η πρωινή δυσκαμψία που διαρκεί περισσότερο της μιας ώρας καθώς και η εμφάνιση υποδόριων οζιδίων συμπληρώνουν την κλινική εικόνα

αυτού του σταδίου. Επίσης, από τα εργαστηριακά δεδομένα, στις ακτινογραφίες απεικονίζεται μια ήπια καταστροφή του χόνδρου ή του οστού, ενώ στις εργαστηριακές μετρήσεις αποκαλύπτεται ήπια αναιμία, αύξηση των ΤΚΕ και CRP, καθώς και θετικός ΡΠ. Η ύψιμου σταδίου ΡΑ χαρακτηρίζεται από αρθρική καταστροφή και λειτουργική προσβολή των αρθρώσεων ή/και των περιαρθρικών δομών, που εκδηλώνονται με κερκιδική απόκλιση του καρπού και ωλένια απόκλιση των ΜΚΦ αρθρώσεων, αστάθεια της αυχενικής μοίρας της σπονδυλικής στήλης, ρήξη τενόντων και υπεξάρθρωμα των μεταταρσίων κεφαλών. Οι συστηματικές εκδηλώσεις (εξωαρθρικές) της ΡΑ τυπικά ανευρίσκονται σε περιπτώσεις σοβαρής οροθετικής οζώδους ΡΑ και περιλαμβάνουν, το σύνδρομο Felty (σπληνομεγαλία, λευκοπενία, λοιμώξεις και δερματικά έλκη), συστηματική αγγειίτιδα (περιφερική νευροπάθεια, μονονευρίτιδα), πνευμονική (οζίδια, ίνωση, πλευριτική συλλογή) και καρδιακή προσβολή (περικαρδίτιδα, δυσλειτουργία μυοκαρδίου και βαλβίδων) νευρολογικές και νεφρικές διαταραχές και συχνότερα (35%) το σύνδρομο Sjögren με ξηρά κερατοεπιπεφυκίτιδα και ξηροστομία⁽¹⁴⁷⁾.

Η έναρξη της νόσου μπορεί να είναι οξεία ή προοδευτική και ύπουλη. Παρά το γεγονός ότι η νόσος πρωταρχικά εμφανίζεται με αρθρική προσβολή, στους περισσότερους ασθενείς καταγράφεται αδυναμία, ανορεξία, απώλεια βάρους ή πυρετός ακόμα και εξωαρθρικές εκδηλώσεις. Η αρθρίτιδα συνήθως αφορά πολλές αρθρώσεις, είναι δηλ. πολυαρθρίτιδα και είναι συμμετρική. Λιγότερο συχνά η ΡΑ μπορεί να αρχίσει με ασύμμετρη προσβολή λίγων αρθρώσεων, μέχρι τεσσάρων (ολιγοαρθρίτιδα), ή σπανιότερα με προσβολή μιας άρθρωσης (μονοαρθρίτιδα). Στην πλειονότητα των ασθενών με ολιγοαρθρίτιδα ή μονοαρθρίτιδα η νόσος εξελίσσεται τελικά σε συμμετρική πολυαρθρίτιδα, αλλά σε ένα μικρό ποσοστό παραμένει περιορισμένη σε 1-2 αρθρώσεις, συνήθως στα γόνατα ή στις πηχεοκαρπικές, για πολλούς μήνες ή χρόνια.

Ανεξάρτητα από τον τύπο έναρξης της ΡΑ, η πορεία της νόσου ακολουθεί ή το μονοκυκλικό πρότυπο (ένας μόνο κύκλος με ύφεση για 1 τουλάχιστον χρόνο που παρατηρείται στο 20% των ασθενών), ή το πολυκυκλικό πρότυπο (στο 70% των ασθενών, όπου τα συμπτώματα εμφανίζονται συνεχώς ή με μικρά διαστήματα

ύφεσης) ή το προοδευτικό πρότυπο (συνεχώς αυξανόμενη αρθρική προσβολή, στο 10% των ασθενών με κακοήθη και συστηματική ΡΑ) ⁽¹⁴⁴⁾.

5.3. Κριτήρια διάγνωσης

Η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα στα αρχικά της στάδια ενδεχομένως διαγιγνώσκεται δύσκολα. Αυτό οφείλεται σε ποικίλους λόγους καθώς η διάγνωση συχνά δεν είναι δυνατόν να τεθεί με μια μόνο εξέταση. Επιπλέον, το είδος και η βαρύτητα των κλινικών συμπτωμάτων διαφέρουν από ασθενή σε ασθενή. Επίσης, είναι ενδεχόμενο να χρειάζεται χρόνος προκειμένου να αποκλεισθούν άλλες πιθανές διαγνώσεις, δεδομένου ότι τα συμπτώματα μπορεί να ομοιάζουν σε αυτά άλλων τύπων αρθρίτιδας. Τέλος, μερικές φορές η συνολική κλινική εικόνα αναπτύσσεται με την πάροδο του χρόνου και λίγα μόνο συμπτώματα εμφανίζονται από τα αρχικά στάδια. Σύμφωνα με τους Arnett και συνεργάτες, το 1987 καθορίστηκαν από την Αμερικανική Εταιρεία Ρευματολογίας (American Rheumatism Association, ARA), τα αναθεωρημένα κριτήρια για την ταξινόμηση της ΡΑ ⁽¹⁴⁸⁾, τα οποία παρουσιάζουν 91-94% ευαισθησία και 89% ειδικότητα (Πίνακας 2)

Πίνακας 2. *ARA κριτήρια ταξινόμησης της ΡΑ (Arnett και συνεργάτες, 1987)*

1. Πρωινή δυσκαμψία, διάρκειας τουλάχιστον 1 ώρας
2. Οίδημα των μαλακών ιστών ή προσβολή ταυτόχρονα τουλάχιστον τριών αρθρώσεων
3. Αρθρίτιδα των αρθρώσεων των άνω άκρων: <ul style="list-style-type: none">• διόγκωση του καρπού, των ΜΚΦ, ή των ΜΦ αρθρώσεων
4. Συμμετρική αρθρίτιδα: <ul style="list-style-type: none">• ταυτόχρονη συμμετρική προσβολή των ίδιων αρθρώσεων
5. Ρευματοειδή οζίδια
6. Θετικός Ρευματοειδής Παράγοντας του ορού
7. Ακτινογραφικά ευρήματα: <ul style="list-style-type: none">• διαβρώσεις ή ανομοιογενείς απασβεστώσεις οστών σε ένα ή περισσότερα οστά δίπλα στις προσβεβλημένες αρθρώσεις

Για τη διάγνωση της ΡΑ τουλάχιστον 4 κριτήρια πρέπει να είναι παρόντα για τουλάχιστον 6 εβδομάδες

Σε πολύ πρώιμα στάδια της νόσου, τα κλινικά συμπτώματα μπορεί να είναι είτε ήπια, είτε να μην έχουν πλήρως εκδηλωθεί, οπότε η χρήση αυτών των κριτηρίων φαίνεται να μην επαρκούν για τη διάγνωση της ΡΑ ⁽¹⁴⁹⁾.

Επιπλέον, στα κριτήρια συμπεριλαμβάνονται και τυπικές ακτινογραφικές αλλοιώσεις που δεν αποτελούν πρώιμο εύρημα της ΡΑ. Είναι δηλαδή κριτήρια για προχωρημένη ΡΑ και χρησιμεύουν στη διαφοροδιάγνωση της μακροχρόνιας νόσου από άλλες αρθρίτιδες.

Έτσι, μετά από πολλά χρόνια το 2010 δημοσιεύθηκαν τα νέα κριτήρια ταξινόμησης της ΡΑ ⁽¹⁵⁰⁾, που σκοπό έχουν να χρησιμοποιηθούν τόσο τα πρώιμα συμπτώματα όσο και νέα, ειδικά εργαστηριακά ευρήματα για όσο το δυνατό πιο πρώιμη διαγνωστική προσέγγιση και άμεση έναρξη θεραπείας, με αποτέλεσμα τη βελτίωση της έκβασης της νόσου.

Τα νέα κριτήρια εφαρμόζονται σε ασθενή με διόγκωση μιας άρθρωσης (με εξαίρεση τις άνω φαλαγγικές, την 1^η καρπομετακάρπια και 1^η μετατάρσια άρθρωση) και αφορούν 4 θεματικά πεδία: προσβολή αρθρώσεων (Α), αυτοαντισώματα (Β), πρωτεΐνες οξείας φάσης (Γ) και διάρκεια συμπτωμάτων (Δ), σε κάθε δε πεδίο αποδίδεται βαθμολογία με ειδική βαρύτητα (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Νέα κριτήρια ταξινόμησης της ΡΑ (ACR/EULAR, 2010)

<i>πεδία</i>	<i>είδος</i>	<i>βαθμολογία</i>
Α. Προσβολή άρθρωσης	1 μεγάλη	0
	2-10 μεγάλες	1
	1-3 μικρές	2
	4-10 μικρές	3
Β. Αυτοαντισώματα	(-) ΡΠ και (-) CCP	0
	(+) υψηλό τίτλο ΡΠ ή CCP	2
Γ. Πρωτεΐνες οξείας φάσης	φυσιολογική ΤΚΕ και CRP	0
	υψηλή ΤΚΕ ή CRP	1
Δ. Διάρκεια συμπτωμάτων	<6 εβδομάδες 6 εβ	0
	>6 εβδομάδες	1

- Οριστική διάγνωση της RA όταν υπάρχει βαθμολογία 6/10 στα θεματικά πεδία A-Δ
 - Προσβολή άρθρωσης : διόγκωση ή ευαισθησία στην πίεση
 - Μεγάλη άρθρωση : ώμος, αγκώνας, ισχίο, γόνατο, ποδοκνημική
 - Μικρή άρθρωση : καρπός, μετακάρποφαλλαγγική, εγγύς φαλαγγική, μετατάρσοφαλλαγγική
 - Ρευματοειδής παράγοντας ή αντι-CCP θετικά σε χαμηλό τίτλο: <3x ανώτερο φυσιολογικό όριο
 - Ρευματοειδής παράγοντας ή αντι-CCP θετικά σε υψηλό τίτλο: >3x ανώτερο φυσιολογικό όριο
 - Ο ποιοτικός προσδιορισμός του ΡΠ βαθμολογείται ως θετικός με χαμηλό τίτλο
-

Τα νέα κριτήρια έχουν θεσπιστεί για την πρόωμη διάγνωση της RA και δεν περιλαμβάνουν ακτινογραφικές αλλοιώσεις. Φυσικά η παρουσία τυπικών διαβρώσεων στην ακτινογραφία των άνω άκρων επιβεβαιώνει την παρουσία της RA και δεν χρήζει βαθμολόγησης ⁽¹⁵¹⁾.

- **Εκτίμηση δραστηριότητας της RA**

Η συχνή παρακολούθηση της δραστηριότητας της RA και η ανάλογη τροποποίηση της θεραπείας βελτιώνει πολύ την πρόγνωση της νόσου. Για το λόγο αυτό, από το Αμερικάνικο Κολέγιο Ρευματολογίας, καθορίστηκαν δείκτες δραστηριότητας και απάντησης στη θεραπεία, που βασίζονται στη φλεγμονή των αρθρώσεων και μπορεί να εφαρμοσθούν στην καθημερινή πρακτική, καθώς και κριτήρια ύφεσης της νόσου που επιτρέπουν τη διακοπή της θεραπείας ή την τροποποίησή της σε πιο ήπια ή λιγότερο ακριβή θεραπεία. Ωστόσο, τα διάφορα κριτήρια ύφεσης προσδιορίζουν διαφορετικούς βαθμούς δραστηριότητας νόσου, αφού επιτρέπουν διαφορετικά ποσοστά ασθενών (5-13%) με υπολειπόμενη διόγκωση αρθρώσεων.

Αφού η RA είναι φλεγμονή κυρίως των αρθρώσεων, η δραστηριότητα της νόσου καθορίζεται με κλινικούς και εργαστηριακούς δείκτες ⁽¹⁵²⁾. Οι κλινικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της δραστηριότητας της νόσου περιλαμβάνουν τα εξής στοιχεία : (Πίνακας 4)

Πίνακας 4. Κλινικοί δείκτες δραστηριότητας της PA

- αριθμός διογκωμένων αρθρώσεων (*swollen joint count-SJC*)
 - αριθμός ευαίσθητων στην πίεση αρθρώσεων (*tender joint count-TJC*)
 - διάρκεια πρωινής δυσκαμψίας σε λεπτά
 - σφαιρική εκτίμηση δραστηριότητας νόσου από τον ασθενή σε οπτική αναλογική κλίμακα
 - σφαιρική εκτίμηση δραστηριότητας νόσου από τον ιατρό σε οπτική αναλογική κλίμακα
 - εκτίμηση της έντασης του πόνου από τον ασθενή σε οπτική αναλογική κλίμακα
 - εκτίμηση λειτουργικής ικανότητας ασθενή (*Health Assessment Questionnaire-HAQ*)
-

Οι εργαστηριακοί δείκτες φλεγμονής περιλαμβάνουν την ΤΚΕ και τις πρωτεΐνες οξείας φάσης (CRP και αμυλοειδές Α ορού). Έχουν επίσης θεσπισθεί σύνθετοι δείκτες δραστηριότητας της PA και ανταπόκρισης στη θεραπεία, που περιλαμβάνουν συνδυασμό διαφόρων παραμέτρων. Αυτοί είναι οι ACR20, ACR50, ACR70, (American College of Rheumatology, 20, 50, 70 - αριθμός προσβεβλημένων αρθρώσεων-), οι DAS (Disease Activity Score- σκορ δραστηριότητας της νόσου), DAS28 και SDAI (Simplified Disease Activity Index-απλοποιημένος δείκτης δραστηριότητας της νόσου). Οι δείκτες ACR20/50/70, αναλύονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5. Οι δείκτες ACR20 ACR50 ACR70 υποδηλώνουν αντίστοιχα

- αριθμό διογκωμένων αρθρώσεων, και
 - αριθμό ευαίσθητων στην πίεση αρθρώσεων, και
 - τουλάχιστον 3 από τις ακόλουθες 5 παραμέτρους:
 - σφαιρική εκτίμηση της δραστηριότητας της νόσου από τον ασθενή σε οπτική κλίμακα 0-100
 - σφαιρική εκτίμηση της δραστηριότητας της νόσου από το γιατρό σε οπτική κλίμακα 0-100
 - εκτίμηση της έντασης του πόνου από τον ασθενή σε οπτική κλίμακα 0-100
 - δείκτη οξείας φάσης (ΤΚΕ, CRP)
 - ανικανότητα (*Health Assessment Questionnaire, HAQ*)
-

Επίσης, οι DAS / DAS28 δείκτες περιλαμβάνουν τα ακόλουθα στοιχεία (Πίνακας 6):

Πίνακας 6. Οι DAS / DAS28 δείκτες υποδηλώνουν αντίστοιχα

• αριθμός ευαίσθητων στην πίεση αρθρώσεων (Ritchie Articular Index-RAI), (44/28)

• αριθμός διογκωμένων αρθρώσεων (swollen-SW), (44/28)

• ΤΚΕ (ESR, mm/h)

• γενική κατάσταση της υγείας (General Health status-GH) σε οπτική κλίμακα 0-100

Ο DAS υπολογίζεται με τον τύπο: $DAS = 0,54 \sqrt{RAI} + 0,065 \sqrt{SW} + 0,33 \ln(ESR) + 0,0072 GH$. Η δραστηριότητα της PA σύμφωνα με το δείκτη DAS είναι υψηλή εάν $DAS > 3,7$, μέτρια εάν $2,4 < DAS \leq 3,7$ και χαμηλή εάν $DAS \leq 2,4$. Για να εκτιμηθεί η καλή ανταπόκριση, σύμφωνα με το δείκτη DAS, πρέπει να έχει σημαντική βελτίωση στο δείκτη DAS και χαμηλή δραστηριότητα DAS στην τελευταία εκτίμηση ⁽¹⁵³⁾.

Ο DAS28 υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο ^(154,155): $DAS28 = 0,56 \sqrt{t28} + 0,28 \sqrt{sw28} + 0,70 \ln(ESR) + 0,014 GH$. Η δραστηριότητα της PA, σύμφωνα με το δείκτη DAS28 είναι υψηλή εάν ο $DAS28 > 5,1$, μέτρια εάν $3,2 < DAS28 \leq 5,1$ και χαμηλή εάν $DAS28 \leq 3,2$. Για να έχει κάποιος ασθενής ανταπόκριση, σύμφωνα με το δείκτη DAS28, πρέπει να έχει σημαντική βελτίωση στο δείκτη DAS28 ($> 1,2$) και χαμηλή δραστηριότητα DAS στην τελευταία εκτίμηση ⁽¹⁵⁵⁾.

Ο δείκτης SDAI υπολογίζεται σύμφωνα με τις παρακάτω παραμέτρους (Πίνακας 7) :

Πίνακας 7. Ο δείκτης SDAI υποδηλώνει

• αριθμό ευαίσθητων στην πίεση αρθρώσεων από 28 (TJC)

• αριθμό διογκωμένων αρθρώσεων από 28 (SJC)

• σφαιρική εκτίμηση δραστηριότητας νόσου από τον ασθενή σε οπτική κλίμακα 0-10 (patient global assessment-PGA)

• σφαιρική εκτίμηση δραστηριότητας νόσου από το γιατρό σε οπτική κλίμακα 0-10 (medicin global assessment-MDGA)

• CRP(mg/dL)

Ο SDAI υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο: $SDAI = TJC + SJC + PGA + MDGA + CRP$. Η δραστηριότητα της PA σύμφωνα με το δείκτη αυτό είναι υψηλή εάν $SDAI > 40$, μέτρια εάν $SDAI = 20-40$ και χαμηλή εάν $SDAI < 20$. Για να έχει κάποιος ασθενής μεγάλη ανταπόκριση, σύμφωνα με το δείκτη SDAI, πρέπει να έχει μείωση του SDAI > 22 , και μικρή βελτίωση όταν ο SDAI μειώνεται κατά 10-21 ⁽¹⁵⁶⁾.

- **Κριτήρια ύφεσης της PA**

Σήμερα, με τη χρήση των νοσοτροποποιητικών φαρμάκων αλλά και της βιολογικής θεραπείας, επιτυγχάνεται αρκετά υψηλό ποσοστό ύφεσης της νόσου ⁽¹⁵⁷⁾. Αλλά πως ορίζεται η ύφεση της PA; Τα κριτήρια που έχουν θεσπιστεί για να την ορίσουν καταγράφονται στον Πίνακα 8 ⁽¹⁵⁸⁾.

Πίνακας 8. *Τροποποιημένα κριτήρια ύφεσης της PA κατά το ACR

- *όχι πόνο άρθρωσης στο ιστορικό*
- *όχι ευαισθησία άρθρωσης στην πίεση ή πόνο στην κίνηση*
- *όχι διόγκωση μαλακών μορίων σε άρθρωση ή έλυτρο τένοντα*
- *όχι πρωινή δυσκαμψία*
- *TKE < 30 mm/h*

*Για να ορισθεί η ύφεση πρέπει να υπάρχουν 4/5 κριτήρια για τουλάχιστον 2 μήνες.

Αργότερα η Διοίκηση Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration-FDA) θέσπισε κριτήρια πλήρους κλινικής απάντησης ⁽¹⁵⁹⁾. Αυτά περιλαμβάνουν τα κριτήρια ύφεσης του ACR συμπεριλαμβανομένης και της αναστολής ακτινογραφικών αλλοιώσεων των αρθρώσεων και διατήρησή τους επί 6 μήνες υπό θεραπεία. Όταν αυτό επιτυγχάνεται χωρίς θεραπεία επί 6 μήνες χαρακτηρίζεται από το FDA ως πλήρης ύφεση. Επίσης, σύμφωνα με άλλα κριτήρια, κλινική ύφεση υπάρχει όταν οι δείκτες $DAS < 1.6$ ή $DAS28 < 2.6$, ή $SDAI \leq 3.3$.

Ωστόσο, ύφεση δεν σημαίνει το ίδιο πράγμα όταν εφαρμόζει κάποιος διαφορετικά κριτήρια. Σε μια συγκριτική μελέτη των διαφόρων κριτηρίων ύφεσης, διογκωμένες

αρθρώσεις είχαν το 13% των ασθενών με ύφεση σύμφωνα με το DAS28, το 7% των ασθενών με ύφεση κατά ACR και το 5% των ασθενών με ύφεση κατά το SDAI ⁽¹⁶⁰⁾. Φαίνεται δηλαδή από τη μελέτη αυτή ότι τα κριτήρια ύφεσης, με φθίνουσα σειρά αυστηρότητας, είναι έτσι όπως καθορίζονται από τους δείκτες SDAI, ACR και DAS28.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

Η θεραπεία της ΡΑ έχει αλλάξει σημαντικά κατά τα τελευταία χρόνια. Περιλαμβάνει, σύμφωνα με τις πρόσφατες (2008) οδηγίες του ACR, τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ), τα γλυκοκορτικοειδή, και τα τροποποιητικά της νόσου φάρμακα (disease-modifying antirheumatic drugs,DMARDs). Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται τα κλασικά νοσοτροποποιητικά φάρμακα, όπως η μεθοτρεξάτη, η λεφλουνομίδα, τα άλατα χρυσού, η υδροξυχλωροκίνη, η σουλφασαλαζίνη και η κυκλοσπορίνη και τα νεότερα βιολογικά νοσοτροποποιητικά φάρμακα, όπως οι αναστολείς του TNFα (infliximab, etanercept και adalimumab), ο ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-1 (anakinra), το μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD20 μορίου του Β-λεμφοκυττάρου (rituximab), ο αναστολέας του συνδεδεγμένου μορίου CTLA-4 του Τ λεμφοκυττάρου (abatacept) και τελευταία το μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του υποδοχέα της IL-6 (tocilizumab). Οι βιολογικοί παράγοντες Rituximab και Tocilizumab πρόσφατα εγκρίθηκαν για χορήγηση στους ασθενείς με ΡΑ όταν έχει αποτύχει η θεραπεία με τουλάχιστον έναν αναστολέα του TNF⁽¹⁶¹⁾.

Οι κλινικοί παράγοντες, που θα πρέπει να συνεκτιμούνται για την έναρξη ή την αλλαγή της θεραπευτικής αγωγής στη ΡΑ καθώς και για την επιλογή του θεραπευτικού σχήματος, είναι η διάρκεια της νόσου, η εκτίμηση της δραστηριότητας της καθώς και η παρουσία αρνητικών προγνωστικών δεικτών. Έτσι, η διάρκεια της νόσου διακρίνεται σε μικρότερη των 6 μηνών, 6-24 μήνες και περισσότερο των 24 μηνών, ενώ η δραστηριότητα σε υψηλή, μέτρια ή χαμηλή, σύμφωνα με τους επικυρωμένους δείκτες εκτίμησης της (DAS, SDAI). Τέλος, ο λειτουργικός περιορισμός της άρθρωσης, οι εξωαρθρικές εκδηλώσεις, η παρουσία ΡΠ ή αντι-CCP αντισωμάτων ή/και οστικών διαβρώσεων, αποτελούν τους αρνητικούς για την έκβαση της θεραπείας, παράγοντες⁽⁵²⁾.

Υπάρχει ένα σχετικά στενό χρονικό πλαίσιο από την έναρξη της νόσου μέσα στο οποίο μπορεί να ανακοπεί η εξέλιξη της πριν επέλθουν οι διαβρωτικές, μη

αναστρέψιμες, οστικές αλλοιώσεις. Υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα που υποστηρίζουν την ύπαρξη σημαντικών ακτινολογικών αλλοιώσεων κατά τα πρώτα 2 χρόνια της νόσου⁽¹⁶²⁾. Καθυστέρηση στην έναρξη της θεραπείας για διάστημα περισσότερο των 4 μηνών μπορεί να έχει ως συνέπεια σημαντική ακτινολογική βλάβη, ενώ όταν η θεραπεία εφαρμόζεται άμεσα μπορεί να αναστείλει την ακτινολογική εξέλιξη της νόσου⁽¹⁶³⁾.

Ο στόχος λοιπόν πρέπει να είναι η χορήγηση θεραπείας εντός 12 εβδομάδων από την έναρξη των συμπτωμάτων⁽¹⁶⁴⁾. Η εισαγωγή νέων φαρμάκων πρόσφερε θεραπευτικές επιλογές και στους ασθενείς με ανθεκτική νόσο που, μέχρι πρότινος, αποτελούσαν μία δύσκολη ομάδα. Η θεραπεία με DMARDs όμως πρέπει να εφαρμόζεται έγκαιρα, ο δε συνδυασμός τους φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικός από τη μονοθεραπεία⁽¹⁶⁵⁾. Επίσης, η υψηλή αποτελεσματικότητα των αντι-TNFα παραγόντων συνέβαλε στην αναθεώρηση των θεραπευτικών στόχων στη ΡΑ. Η αναγνώριση ότι οι ακτινολογικές βλάβες συμβαίνουν νωρίς κατά τη φυσική πορεία της ΡΑ μετέβαλε τα τελευταία χρόνια και τη θεραπευτική στρατηγική. Τέλος, η στενή παρακολούθηση της δραστηριότητας της νόσου με σύνθετους δείκτες, είναι απαραίτητη ενώ και η τροποποίηση της θεραπείας σύμφωνα με αυτούς, είναι πιο αποτελεσματική. Σήμερα, στόχος της θεραπείας της ΡΑ είναι η επίτευξη παρατεταμένης ύφεσης, η αποτροπή των ακτινολογικών διαβρώσεων, η διατήρηση ικανοποιητικής λειτουργικότητας των αρθρώσεων και η βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών. Το θεραπευτικό οπλοστάσιο των κλασικών και των βιολογικών DMARDs κάνει σήμερα αυτό το στόχο περισσότερο εφικτό⁽¹⁶⁶⁾.

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΣΚΟΠΟΣ

Η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι η πιο κοινή φλεγμονώδης αυτοάνοση διαταραχή, που χαρακτηρίζεται από προοδευτική καταστροφή των αρθρώσεων, ως αποτέλεσμα της χρόνιας υμενίτιδας. Σε πολλές περιπτώσεις, η συστηματική αυτή νόσος οδηγεί σε σοβαρή ανικανότητα και μια σημαντική υποβάθμιση της ποιότητας της ζωής των ασθενών. Οι διάφορες οικονομικές, κοινωνικές και ψυχολογικές συνέπειες της νόσου υποδεικνύουν ότι η πρόληψη ή τουλάχιστον η καθυστέρηση εμφάνισης της μη αναστρέψιμης βλάβης των αρθρώσεων, θα πρέπει να είναι ο κύριος θεραπευτικός στόχος για τη ΡΑ^(167,168).

Η επιτυχία όμως αυτού του στόχου απαιτεί την πολύ πρώιμη εφαρμογή μιας επιθετικής θεραπείας με δυνητικά τοξικά και ακριβά φάρμακα. Η βέλτιστη θεραπευτική στρατηγική, η οποία θα πρέπει να ξεκινά όσο το δυνατόν νωρίτερα και να είναι προσαρμοσμένη στις ανάγκες του ασθενούς, ανάλογα με τη βαρύτητα της νόσου, προϋποθέτει την πρόσβαση σε κατάλληλα διαγνωστικά και προγνωστικά εργαλεία^(169,170).

Το 1987, το Αμερικάνικο Κολέγιο Ρευματολογίας (ACR) θέσπισε κριτήρια για την ταξινόμηση της ΡΑ, κυρίως με βάση τις κλινικές εκδηλώσεις της νόσου και συμπεριέλαβε ως μοναδικό ορολογικό δείκτη, τον Ρευματοειδή Παράγοντα (ΡΠ), η παρουσία του οποίου στερείται ειδικότητας και έχει χαμηλή ευαισθησία κυρίως στα πρώιμα στάδια της νόσου^(148,171).

Λαμβάνοντας υπόψη τα ανωτέρω, πολλές ερευνητικές ομάδες έστρεψαν το ενδιαφέρον τους στην αναζήτηση και άλλων διαγνωστικών δεικτών για τη ΡΑ, που να χαρακτηρίζονται από υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα και να είναι πιο κατάλληλοι τόσο για τη διάγνωση όσο και για την παρακολούθηση της πορείας της νόσου.

Μεταξύ των πολλών νέων αυτοαντισωμάτων που έχουν περιγραφεί τα τελευταία χρόνια σε ασθενείς με RA, αυτά που στρέφονται έναντι των κιτρουλλιωμένων πρωτεϊνών/πεπτιδίων (αντι-CCPs) φαίνεται να εκπληρώνουν αυτές τις απαιτήσεις. Μάλιστα πρόσφατα, το 2010 και σύμφωνα και με τις οδηγίες των ACR / EULAR, τα αντι-CCPs αντισώματα έχουν συμπεριληφθεί στα κριτήρια ταξινόμησης της RA, όπου αποτελούν το δεύτερο ορολογικό δείκτη μαζί με τον ΡΠ. Η εφαρμογή των νέων αυτών κριτηρίων στην κλινική πρακτική, αποτελεί μια πρόοδο στην διαγνωστική προσέγγιση της νόσου από τα αρχικά στάδια και ως εκ τούτου επιτρέπει την άμεση και πρώιμη θεραπευτική παρέμβαση ^(52,172).

Σχετικά πρόσφατα επίσης, αναδείχτηκε και ο ρόλος των αντισωμάτων έναντι της μεταλλαγμένης κιτρουλλιωμένης βιμεντίνης (anti-mutated citrullinated vimentin-MCV) στη διάγνωση της RA ⁽¹⁷³⁾. Τα αντι-MCV αντισώματα έχουν ειδικότητα περίπου 92% και ευαισθησία 59% για τη RA ⁽¹⁷⁴⁾, εμφανίζονται δε σε σημαντικό αριθμό σε αντι-CCP (-) ασθενείς. Η παρουσία τους έχει συσχετιστεί με βαρύτερη ακτινολογική εικόνα ⁽¹⁷⁵⁾, δεν έχει όμως ακόμα διευκρινιστεί η συσχέτισή των επιπέδων τους με την ενεργότητα της νόσου καθώς και η προγνωστική τους αξία στην εξέλιξη του πρώιμου πολυαρθρικού συνδρόμου, σε RA.

Σκοπός λοιπόν της παρούσας μελέτης είναι, ο προσδιορισμός και η διερεύνηση των πιο σημαντικών για την νόσο αυτοαντισωμάτων-δεικτών, σε Έλληνες ασθενείς με RA, η εκτίμηση του ρόλου τους στην διάγνωση ή/και στην πρόβλεψη εξέλιξης μιας αρθρίτιδας, σε RA, στην πρόγνωση της πορείας της νόσου και στη συσχέτιση με τη βαρύτητα ή/και την ύφεση των κλινικών εκδηλώσεων καθώς και στην ανταπόκριση στα νέα θεραπευτικά σχήματα (βιολογικούς ή μη παράγοντες). Επίσης, στόχος μας είναι ο καθορισμός αλγορίθμου στη αναζήτηση αυτών των παραμέτρων, με εφαρμογή στην καθημερινή κλινική πρακτική, τόσο από την πλευρά του εργαστηρίου όσο και από τον θεράποντα γιατρό.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

8.1. Ασθενείς

Το δείγμα της μελέτης αυτής αποτέλεσαν ασθενείς Ελληνικής καταγωγής που παρακολουθούνται στο Ρευματολογικό εξωτερικό ιατρείο ή/ και νοσηλεύτηκαν στο Ρευματολογικό Τμήμα (ασθενείς με ρευματικά νοσήματα) και σε άλλες κλινικές του Γ.Ν.Α «ο Ευαγγελισμός». Ο προσδιορισμός όλων των εργαστηριακών παραμέτρων έγινε στο Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του ίδιου Νοσοκομείου.

Συγκεκριμένα, η μελέτη συμπεριλαμβάνει δείγματα από 426 ασθενείς, οι οποίοι ανάλογα με τη νόσο τους χωρίστηκαν σε 2 ομάδες. Την ομάδα Α, με διάγνωση ΡΑ, που αφορά το 64,4% των ασθενών (N=278) και την ομάδα Β, δηλαδή το 34,6% (N=148) με διάγνωση άλλου, εκτός ΡΑ, αυτοάνοσου ή φλεγμονώδους νοσήματος. Επιπλέον, 32 δείγματα από υγιή άτομα (αιμοδότες), Ελληνικής καταγωγής αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου (φυσιολογικοί μάρτυρες-ΦΜ).

Η πλειοψηφία των ασθενών και στις 3 ομάδες ήταν γυναίκες σε ποσοστά 77,3% (γυναίκες/ άνδρες, 215/63) για την ομάδα Α, 66,9% (99/49) για τους ασθενείς της ομάδας Β και 65,6% (21/11) για την ομάδα ελέγχου (ΦΜ). Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν τα 53,6 έτη ($\pm 12,6$ έτη) για την ομάδα Α, τα 48,0 έτη ($\pm 14,7$ έτη) για την ομάδα Β, ενώ για την ομάδα ελέγχου τα 40,1 έτη ($\pm 10,1$ έτη).

Την ομάδα Α αποτέλεσαν 278 ασθενείς με ΡΑ, η διάγνωση των οποίων έγινε σύμφωνα με τα αναθεωρημένα διαγνωστικά κριτήρια της ACR⁽¹⁴⁸⁾, με μέση διάρκεια νόσου τα 4,6 \pm 3,4 έτη. Η ομάδα Β συμπεριλαμβάνει 148 ασθενείς εκ των οποίων, 31 (20,9%) ασθενείς με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) η διάγνωση των οποίων έγινε σύμφωνα με τα ACR κριτήρια κατάταξης της νόσου⁽¹⁷⁶⁾, 4 (2,7%) με Μικτή Νόσο του Συνδετικού Ιστού (ΜΝΣΙ)⁽¹⁷⁷⁾, 47 (31,8%) με Πολυαρθρικό Σύνδρομο (ΠΣ), αδιαφοροποίητη δηλαδή αρθρίτιδα που δεν πληρεί τα κριτήρια της νόσου, 36

(24,3%) με Οροαρνητικές Σπονδυλοαρθροπάθειες (ΟΣ)⁽¹⁷⁸⁾ -12 με Ψωριασική Αρθρίτιδα (ΨΑ) και 24 με Αγκυλοποιητική Σπονδυλοαρθρίτιδα (ΑΣ)- καθώς και 30 (20,3%) ασθενείς με Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νοσήματα του Εντέρου (ΙΦΝΕ)⁽¹⁷⁹⁾ -13 με Ελκώδη Κολίτιδα (ΕΚ) και 17 με Νόσο του Crohn (NC).

Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι σε προοπτική μελέτη 47 ασθενών με αρχική διάγνωση Πολυαρθρικού Συνδρόμου, οι 17 (36,2%) ανέπτυξαν ΡΑ σε χρονικό διάστημα 6 μηνών από την πρώτη επίσκεψη στον κλινικό γιατρό, αποτέλεσαν δε μια ξεχωριστή κατηγορία ασθενών στη μελέτη μας. Συγκεντρωτικά τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών και των 2 ομάδων καταγράφονται στον παρακάτω πίνακα. (Πίνακας 9)

Πίνακας 9. Δημογραφικά στοιχεία των ασθενών των ομάδων Α και Β

		Ομάδα Α		Ομάδα Β	
		N	%	N	%
Νόσος	ΕΚ (Ελκώδης Κολίτιδα)	0	0,0	13	8,8
	NC (Νόσος Crohn)	0	0,0	17	11,5
	ΜΝΣΙ	0	0,0	4	2,7
	Σπονδυλοαρθρίτιδες (ΨΑ, ΑΣ)	0	0,0	36	24,3
	Πολυαρθρικό Σύνδρομο	0	0,0	47	31,8
	Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	278	100	0	0,0
	ΣΕΛ	0	0,0	31	20,9
ΡΑ σε 6 μήνες*	Όχι	0	0,0	30	63,8
	Ναι	0	0,0	17	36,2
Φύλο	Γυναίκες	215	77,3	99	66,9
	Άντρες	63	22,7	49	33,1
Ηλικία, μέση τιμή±SD (έτη)		53,6±12,6		48,0±14,7	
Διάρκεια νόσου, μέση τιμή±SD (έτη)		4,6±3,4		1,2±1,3	

*αφορά στους ασθενείς με πολυαρθρικό σύνδρομο

Οι εργαστηριακοί παράμετροι που αναζητήθηκαν στα δείγματα των ασθενών αφορούσαν τα επίπεδα του Ρευματοειδούς Παράγοντα (ΡΠ), και των τάξεων IgG, IgA και IgM του ΡΠ, της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και των C3, C4 παραγόντων του συμπληρώματος, ενώ προσδιορίστηκαν τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), τα έναντι διπλής έλικας DNA αντισώματα (αντι-dsDNA), τα αντισώματα έναντι εκχυλιζόμενων αντιγόνων του πυρήνα (αντι-ENA), καθώς και οι τιμές των αντι-RA33, αντι-CCP2, αντι-CCP3.1 και αντι-MCV αντισωμάτων.

Ο αριθμός των δειγμάτων στα οποία αναζητήθηκαν αυτοί οι παράμετροι εμφανίζει κάποια απόκλιση που οφείλεται κυρίως στο χρόνο πραγματοποίησης της εξέτασης. Ο ΡΠ, η CRP, οι παράγοντες C3 και C4 όπως και τα ANA προσδιορίστηκαν άμεσα στα πλαίσια της ρουτίνας του εργαστηρίου. Όμως τα αντι-RA33, αντι-CCP3.1 και αντι-MCV αναζητήθηκαν πρόσφατα καθώς η εμπορική παραγωγή αντιδραστηρίων για την ανίχνευσή τους εμφανίστηκε μόλις τα τελευταία χρόνια, για δε τα αντι-CCP2 λίγα χρόνια νωρίτερα, αντικαθιστώντας τα αντι-CCP1. Έτσι, για την αναζήτηση αυτών των αντισωμάτων χρησιμοποιήθηκαν δείγματα ορών ασθενών που είχαν συντηρηθεί σε βαθιά κατάψυξη (-80%).

Συγκεκριμένα, σε 426 δείγματα προσδιορίστηκαν ο ΡΠ και η CRP, τα ANA, τα αντι-dsDNA και τα αντι-CCP2 αντισώματα, ενώ τα αντι-CCP3.1, αντι-MCV και αντι-RA33 σε 335 δείγματα. Επίσης, σε 171 ασθενείς μετρήθηκαν τα επίπεδα των C3 και C4 παραγόντων του συμπληρώματος ενώ οι τιμές των IgG, IgA, και IgM τάξεων του ΡΠ προσδιορίστηκαν σε 122 δείγματα.

8.2. Μέθοδοι προσδιορισμού

8.2.1. Έμμεσος ανοσοφθορισμός

Το 1954, πρώτοι οι Weller και Coons χρησιμοποίησαν την τεχνική του έμμεσου ανοσοφθορισμού (*indirect immunofluorescence-IIF*) σε μονό στρώμα κυττάρων μονιμοποιημένων ⁽¹⁸⁰⁾. Αυτή η τεχνική άρχισε να εφαρμόζεται από το 1957 για τη διερεύνηση των αυτοάνοσων νοσημάτων, αποτελεί μία απλή και ευαίσθητη

μέθοδος και χρησιμοποιείται μέχρι σήμερα για τον εντοπισμό ενός μεγάλου φάσματος ANA καθώς και αντι-dsDNA αντισωμάτων⁽¹⁸¹⁾.

Εκτός από τον τύπο του υποστρώματος, τρεις ακόμη παράγοντες είναι σημαντικοί στην πραγματοποίηση του IIF: 1) η στερεωτική ουσία που χρησιμοποιείται στην προετοιμασία της τομής, 2) η αναλογία φθορίζουσας ουσίας/πρωτεΐνης (F/P) και 3) η ειδικότητα της τάξης της ανοσοσφαιρίνης που θα συζευχθεί. Ορισμένες στερεωτικές ουσίες ή συνδυασμοί αυτών είναι γνωστό ότι καταστρέφουν κάποια αντιγόνα και η χρήση τους θα πρέπει να αποφεύγεται.

Η ευαισθησία και η μη ειδική σύνδεση του υποστρώματος με την ανοσοσφαιρίνη που θα συζευχθεί, καθορίζεται από την αναλογία F/P, ενώ η ειδικότητα της συζευγμένης ανοσοσφαιρίνης καθορίζεται από την ενεργοποίηση εκ νέου της τάξης της ανοσοσφαιρίνης.

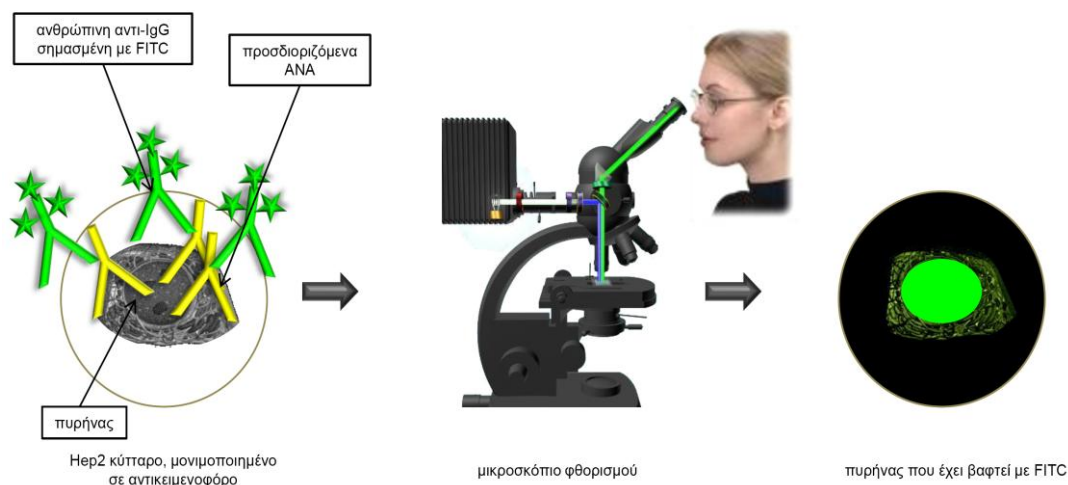
Σχεδόν όλα τα αυτοαντισώματα με κλινική σημασία παρουσιάζουν ειδικότητα IgG τάξης και λιγότερο IgM και/ ή IgA. Η επιλογή της συζευγμένης αντι-IgG ανοσοσφαιρίνης μειώνει τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω των χαμηλών τίτλων αυτοαντισωμάτων IgM, που βρίσκονται συχνά σε ηλικιωμένους, αλλά και σε υγιή άτομα.

- **Προσδιορισμός ANA με IIF**

Η μέθοδος του έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIF) για την ανίχνευση των ANA χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα καρκίνου ρινοφάρυγγα (HEp-2). Το πλεονέκτημα αυτών των κυττάρων είναι ο μεγάλος πυρήνας και ο αριθμός των πυρηνιδίων που διαθέτουν, οπότε είναι δυνατό να παρατηρηθούν τα διαφορετικά πρότυπα «ανοσοφθορισμού».

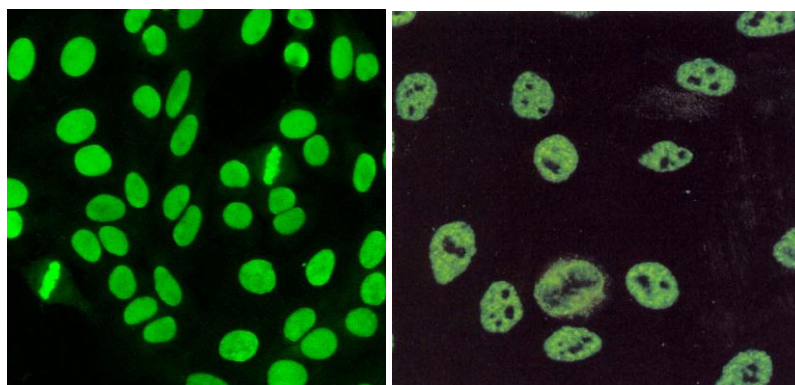
Το υπόστρωμα αυτό των Hep-2 κυττάρων επιτρέπει την ανίχνευση διαφόρων αντισωμάτων, πυρηνικών (εξ' ορισμού) αλλά και κυτταροπλασματικών. Τα δείγματα επωάζονται με το υπόστρωμα που δρα ως αντιγόνο και ακολούθως τα ασύνδετα αντισώματα ξεπλένονται. Το υπόστρωμα κατόπιν επωάζεται με αντι-ανθρώπινη σφαιρίνη IgG, σημασμένη με φθοριόχρωμα (FITC, *Fluorescein isothiocyanate*) και το ασύνδετο αντιδραστήριο ξεπλένεται. Στο μικροσκόπιο φθορισμού τα θετικά

δείγματα εμφανίζουν φθορισμό σε εκείνες τις περιοχές όπου το αντίσωμα έχει συνδεθεί (Σχήμα1).



Σχήμα 1. Η διαδικασία του έμμεσου ανοσοφθορισμού σε Hep-2 κύτταρα

Ένα δείγμα θεωρείται αρνητικό όταν ο φθορισμός του πυρήνα είναι ανάλογος ή λιγότερο φωτεινός από τον αρνητικό μάρτυρα ενώ χαρακτηρίζεται σαν θετικό αν η συγκεκριμένη χρώση του πυρήνα είναι εντονότερη από τον αρνητικό μάρτυρα. Επιπλέον προσδιορίζεται ο τύπος του ανοσοφθορισμού (διάχυτος, στικτός, πυρηνιδίου) (Σχήμα 2).



Σχήμα 2. ANA με IIF (Αριστερά: ομοιογενής φθορισμός Δεξιά: στικτό ρφθορισμός)

Με την τεχνική IIF, προσδιορίστηκαν στο εργαστήριό μας τα ANA και τα αντι-dsDNA αντισώματα. Για τον προσδιορισμό των ANA χρησιμοποιήθηκε υπόστρωμα Hep-2

κυτταρικής σειράς NOVA Lite, HEP-2 ANA kits/ Substrate slides και η διαδικασία έγινε σύμφωνα με τις οδηγίες του οίκου INOVA Diagnostics Inc. San Diego, USA.

Θετικά χαρακτηρίστηκαν τα δείγματα με τίτλο $\geq 1:160$, ενώ καταγράφηκε και ο τύπος φθορισμού. Στα θετικά δείγματα ακολούθησαν, σε δεύτερο χρόνο, αραιώσεις του ορού μέχρι 1:640 και καθορίστηκε έτσι ο τίτλος των ANA θετικών δειγμάτων.

- **Προσδιορισμός αντι-dsDNA με IIF**

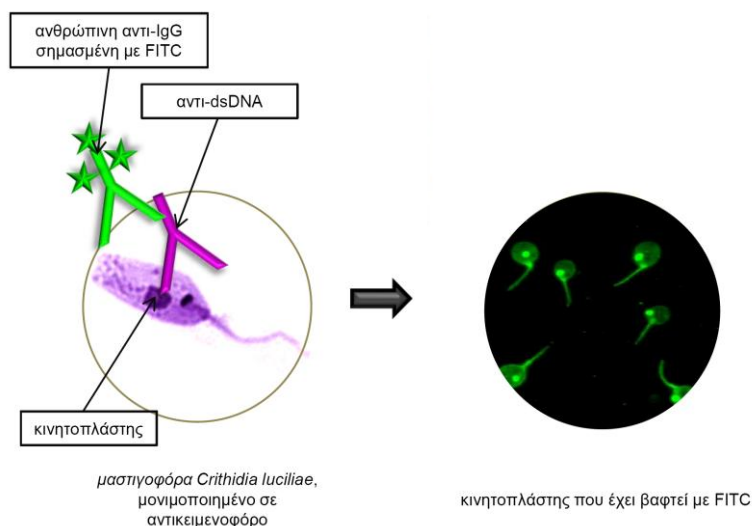
Για την ανίχνευση των αντι-dsDNA αντισωμάτων ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε το μαστιγοφόρο πρωτόζωο *Crithidia luciliae*. Ο μονοκυττάριος αυτός οργανισμός περιέχει ένα γιγάντιο μιτοχόνδριο με συμπυκνωμένη μάζα κυκλικού dsDNA, γνωστή και ως κινητοπλάστης, (ζωτικής σημασίας οργανίδιο για το πρωτόζωο) που φαίνεται ότι δεν περιέχει ιστόνες ή και άλλα πυρηνικά αντιγόνα.

Ο κινητοπλάστης βρίσκεται λίγο πάνω από τη βάση της ουράς του πρωτόζωου και προς την περιφέρεια της κεφαλής του, απέχει δηλαδή από τον πυρήνα που βρίσκεται περίπου στο κέντρο της κεφαλής του μαστιγοφόρου αυτού μικροοργανισμού.

Το πρωτόζωο *Crithidia luciliae* είναι μη παθογόνος οργανισμός για τον άνθρωπο, αναπτύσσεται εύκολα στα ερευνητικά εργαστήρια και χρησιμοποιείται ως ευαίσθητο και ειδικό υπόστρωμα για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι της διπλής έλικας του DNA (dsDNA) (Σχήμα 3).

Το κύριο πλεονέκτημα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι η ειδικότητά της εξαιτίας της φύσης του υποστρώματος και της μάζας του DNA. Στα δείγματά μας η αναζήτηση των αντι-dsDNA αντισωμάτων πραγματοποιήθηκε με αντιδραστήρια και σύμφωνα με τις εσωκλειστες οδηγίες του οίκου MeDiCa, Medical Diagnostics California, Encinitas, USA.

Θετικά χαρακτηρίστηκαν τα δείγματα με τίτλο $\geq 1:10$ και σε αυτά ακολούθησε ποσοτικός προσδιορισμός με τεχνική RIA.



Σχήμα 3. Αρχή μεθόδου προσδιορισμού αντι-dsDNA με IIF

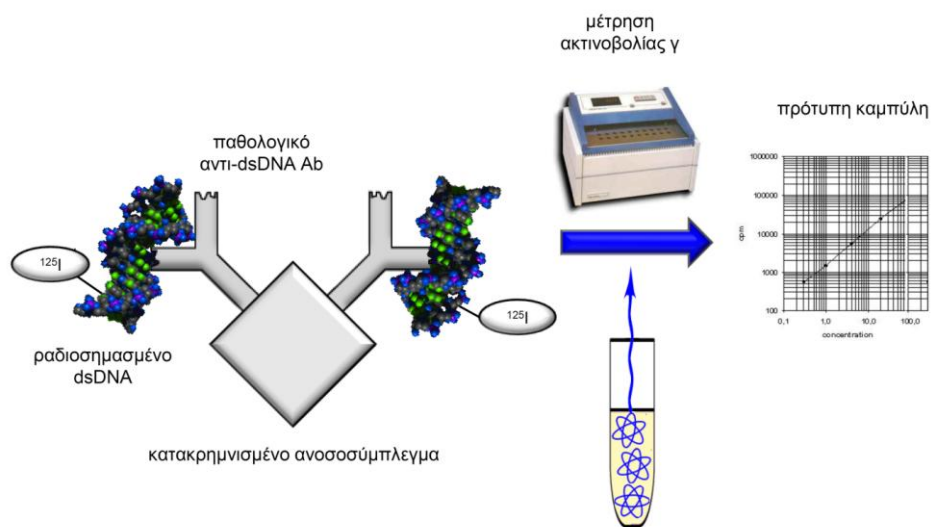
8.2.2. Ραδιοανοσολογική μέθοδος (RIA-Farr assay)

Στη τεχνική αυτή, το υπό εξέταση δείγμα επώάζεται με ραδιοσημασμένο με ^{125}I dsDNA. Μετά την επώαση, η προσθήκη $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ κατακρημνίζει τα ανοσοσυμπλέγματα που έχουν σχηματισθεί εφόσον το δείγμα περιέχει αντι-dsDNA αντισώματα. Κατόπιν το δείγμα φυγοκεντρείται και απορρίπτεται το υπερκείμενο.

Στη συνέχεια μετράται η ραδιενέργεια (σε ειδικό αυτοματοποιημένο σύστημα μέτρησης ακτινοβολίας γ) και καταγράφεται η εκπομπή του ^{125}I η οποία βέβαια είναι ανάλογη της δεσμευτικής ικανότητας των αντι-dsDNA αντισωμάτων του δείγματος.

Για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων χαράσσεται ημι-λογαριθμική γραφική παράσταση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση των αντι-dsDNA αντισωμάτων, ο δε υπολογισμός των τιμών γίνεται αυτοματοποιημένα και σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη (Σχήμα 4).

Η Farr δοκιμασία, για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αντι-dsDNA αντισωμάτων, χρησιμοποιήθηκε στα δείγματα ορών με θετικό τίτλο αντι-dsDNA αντισώματα στη μέθοδο IIF ή αρνητικό στην IIF αλλά με θετικά ANA σε τίτλο $\geq 1:320$.



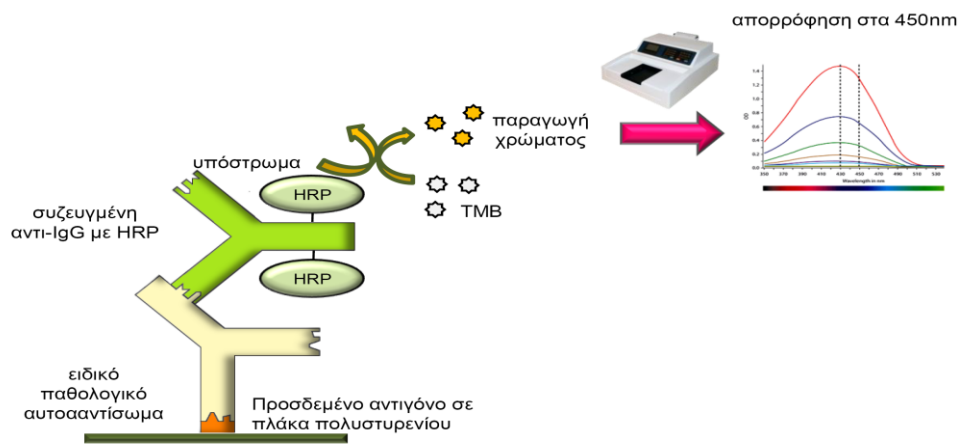
Σχήμα 4. Αρχή μεθόδου Farr assay

Η Farr δοκιμασία εμφανίζει την υψηλότερη ευαισθησία ενώ την καλύτερη ειδικότητα παρουσιάζει η IIF. Όμως την καλύτερη συσχέτιση με την ενεργότητα της νόσου, όπως αυτή μετρήθηκε με βάση το ECLAM, εμφανίζει η Farr δοκιμασία καθώς συνδυάζει καλή ειδικότητα και υψηλή ευαισθησία ⁽¹⁸²⁾.

Η μέτρηση των τιμών των αντι-dsDNA αντισωμάτων έγινε με αντιδραστήρια του οίκου IBL International GmbH, Hamburg, Germany, η δε διαδικασία ακολούθησε τις εσωκλειστες οδηγίες για τη διενέργεια της εξέτασης. Θετικά ορίζονται τα δείγματα η τιμή των οποίων είναι μεγαλύτερη από 7 IU/ml.

8.2.3. ELISA

Η μέθοδος συνίσταται στην επώαση του υπό εξέταση ορού με αντιγόνο που είναι ακινητοποιημένο στη βάση ειδικών φρεατίων από πολυστυρένιο. Στη συνέχεια επωάζεται το σύμπλεγμα αντιγόνου - αντισώματος με αντιορό σημασμένο με ένζυμο. Τέλος, προστίθεται το ειδικό υπόστρωμα του ενζύμου και ακολουθεί η ενζυμική αντίδραση. Η αντίδραση αυτή αποτελεί μέρος της ποσότητας ειδικού αντισώματος κατά του αντιγόνου και μετρείται υπολογίζοντας την τιμή απορρόφησης ακτινοβολίας ορισμένου μήκους κύματος (Σχήμα 5).



Σχήμα 5. Αρχή μεθόδου ELISA για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων

Η χρήση των εμπορικά διαθέσιμων αντιδραστηρίων ELISA για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων έχει πλέον καθιερωθεί στα ανοσολογικά εργαστήρια. Η ευρύτατη χρήση τους οφείλεται στην απλότητά τους, την αντικειμενικότητα στην αξιολόγηση του αποτελέσματος, στην ταχύτητά τους και την δυνατότητα αυτοματοποίησης ⁽¹⁸³⁾.

Η ELISA είναι μία μέθοδος με πολύ μεγάλη ευαισθησία. Εντούτοις, το βασικό μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η χαμηλή ειδικότητά της που αποδίδεται εν μέρει στη μικρή καθαρότητα των αντιγόνων. Αύξηση της καθαρότητας του αντιγόνου απαιτεί ακραίες συνθήκες, γεγονός που οδηγεί σε αποδιάταξη της φυσικής πρωτεΐνης και ενδεχόμενη απώλεια των διαμορφωτικών αντιγονικών επιτόπων.

Η ανάπτυξη βελτιωμένων τεχνικών ELISA βασίστηκε στη δυνατότητα παραγωγής ανασυνδυασμένων αυτοαντιγόνων με τη χρήση της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA για την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων καθαρών αντιγόνων. Ως φορέας έκφρασης χρησιμοποιείται κυρίως η *Escherichia coli* ή ευκαρυωτικά συστήματα. Μία άλλη πιθανή πηγή καθαρών αντιγόνων αποτελούν τα συνθετικά πεπτίδια, πρόκειται όμως αποκλειστικά για γραμμικούς επιτόπους.

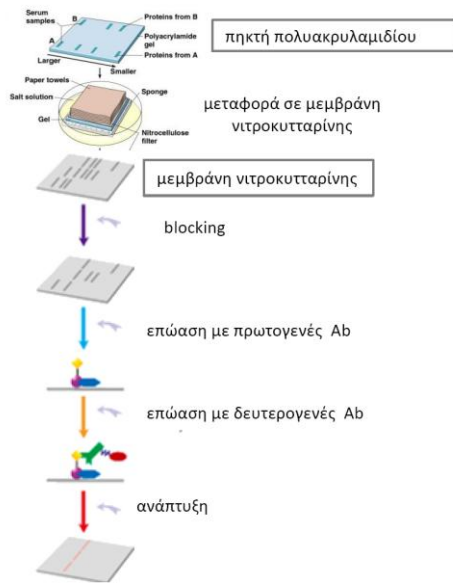
Με την τεχνική της ELISA και σύμφωνα με τις εσώκλειστες οδηγίες του οίκου παραγωγής του αντιδραστηρίου, προσδιορίστηκαν οι ΡΠ IgG, IgM, και IgA τάξης καθώς και τα αντι-CCP2 και αντι-CCP3.1 αντισώματα, IgG και IgG+IgA αντίστοιχα.

Για τα αντι-CCP χρησιμοποιήθηκαν QUANTA Lite συνθετικά πεπτίδια με CCP αντιγόνο, του οίκου INOVA Diagnostics Inc. San Diego, CA 92131, USA. Θετικά χαρακτηρίστηκαν τα δείγματα με τιμή >25 IU/ml. Με την ίδια τεχνική και πάντα σύμφωνα με τις οδηγίες του οίκου παραγωγής του αντιδραστηρίου, προσδιορίστηκαν επίσης τα αντι-RA33 και τα αντι-MCV αντισώματα των οίκων HUMAN, Magdeburg, Germany και ORGENTEC, Mainz, Germany, αντίστοιχα. Θετικά θεωρήθηκαν τα δείγματα με τιμές >25 IU/ml και >20 IU/ml για τα αντι-RA33 και τα αντι-MCV αντισώματα, αντίστοιχα.

Επίσης, ο ποιοτικός προσδιορισμός των αντι-ENA αντισωμάτων (screening) καθώς και η αναζήτηση της ειδικότητάς τους, έγινε με την τεχνική ELISA όπου χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια του οίκου INOVA Diagnostics Inc. San Diego, USA και σύμφωνα με τις εσωκλειστες οδηγίες για τη διαδικασία της εξέτασης. Η περαιτέρω αναζήτηση αντισωμάτων έναντι ειδικών αντιγονικών επιτόπων των ENA έγινε με την τεχνική της ανοσοαποτύπωσης.

8.2.4. Κλασικές τεχνικές ανοσοαποτύπωσης

Η τεχνική της ανοσοαποτύπωσης (*Western immunoblotting-WB*) παρουσιάστηκε τη δεκαετία του '80. Πρωτεΐνες από εκχύλισμα καλλιεργημένων κυττάρων (HeLa) διαχωρίζονται με ηλεκτροφόρηση σε πολυακρυλαμίδη κάτω από αποδιατακτικές συνθήκες με SDS-PAGE (*sodium dodecylsulphate-polyacrylamide gel electrophoresis*). Στη συνέχεια οι πρωτεΐνες ηλεκτρομεταφέρονται σε ταινία νιτροκυτταρίνης που αποτελεί υγρή υποστήριξη για τα αντιγόνα. Μετά τη μεταφορά τους στην ταινία νιτροκυτταρίνης, τα αντιγόνα επάζονται με τους υπό εξέταση ορούς και αν υπάρχουν ειδικά αντισώματα, αυτά προσκολλώνται στα τμήματα της ταινίας που μεταφέρουν αντιγονικά πεπτίδια. Στη συνέχεια αυτά αναγνωρίζονται από αντι-ανθρώπινες ανοσοσφαιρίνες σεσημασμένες με ένζυμο. Τέλος οι ταινίες επάζονται με το κατάλληλο υπόστρωμα ενζύμου και αν η αντίδραση είναι θετική, τότε κάποιες ζώνες που αντιστοιχούν σε πεπτιδικά αντιγόνα και αναγνωρίστηκαν από ειδικά αυτοαντισώματα, θα απεικονισθούν με ειδικό χρώμα (Σχήμα 6).



Σχήμα 6. Αρχή μεθόδου WB

Το πλεονέκτημα των τεχνικών ανοσοαποτύπωσης (Immunoblotting-IB) έναντι των ELISA είναι το γεγονός ότι δεν απαιτείται καθαρισμός του αντιγόνου, από τη στιγμή που τα κυτταρικά εκχυλίσματα διαχωρίζονται με ηλεκτροφόρηση σε αποδιατακτικό πήκτωμα πολυακρυλαμίδης. Επιπλέον, αυτές οι τεχνικές επιτρέπουν την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι συγκεκριμένου μοριακού βάρους αντιγόνων όπως των αντι-RA33 και των έναντι ειδικών αντιγονικών επιτόπων των ENA. Έτσι, προσδιορίζονται οι ειδικοί στόχοι των αντι-RA33 (A2hnRNP), των αντι-U1RNPs (RNP-A, C, και 70 kD), των αντι-Sm (SmB/B' και SmD), και των αντι-Ro/SSA (Ro52 και Ro60) αντισωμάτων. Εντούτοις, με αυτές τις τεχνικές ανιχνεύονται μόνο γραμμικοί επίτοποι και όχι αντισώματα που στρέφονται έναντι διαμορφωτικών επιτόπων, καθώς τα αυτοαντιγόνα αποδιατάσσονται κατά την SDS-PAGE ⁽¹⁸⁴⁾.

Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα της ανοσοαποτύπωσης Western σε σχέση με τις στερεές τεχνικές είναι η ικανότητά του να ανιχνεύει αντισώματα έναντι αδιάλυτων αντιγόνων ενώ η ειδικότητα της μεθόδου δεν φαίνεται να είναι άριστη καθώς ανιχνεύει χαμηλούς τίτλους αντισωμάτων και σε υγιή άτομα.

Αρχικά στη μελέτη μας έγινε προσπάθεια ανίχνευσης των αντι- RA33 αντισωμάτων με τεχνική Western immunoblotting, χρησιμοποιώντας ως αντιγόνο εκχύλισμα HeLa

κυττάρων και ακολουθώντας τη διαδικασία επεξεργασίας, ηλεκτροφόρησης και αποτύπωσης σύμφωνα με τις οδηγίες των Hassfeld W. και συν. που πρώτοι περιέγραψαν τη μεθοδολογία αυτή αλλά και τη φύση του αντιγόνου-στόχου των αντι-RA33 αντισωμάτων. Η μέθοδος όμως αυτή, παρά τις επίμονες προσπάθειές μας δεν έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα και έτσι ο προσδιορισμός αυτών των αντισωμάτων έγινε αργότερα, μόνο με την τεχνική ELISA.

- **Νέες μέθοδοι ανοσοαποτύπωσης**

Πρόσφατα έχουν εισαχθεί στην κλινική πρακτική νέες εμπορικά διαθέσιμες μέθοδοι ανοσοαποτύπωσης. Μία παραλλαγή της κλασικής ανοσοαποτύπωσης είναι η line-blot (line-blot immunoassay, LIA), όπου σε λωρίδες νιτροκυτταρίνης τοποθετούνται υπό μορφή «γραμμών», τα ειδικά αντιγόνα.

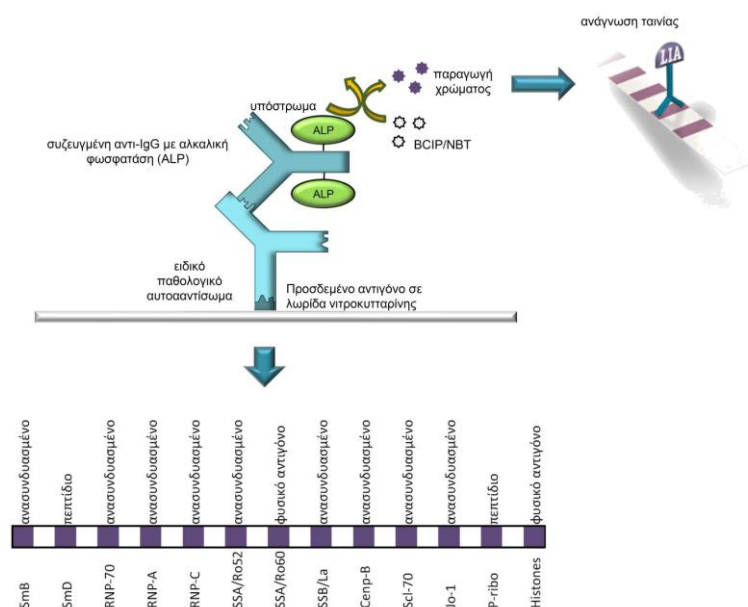
Σε μία παραλλαγή, τα Ro/SSA, La/SSB, RNP προέρχονται από ανασυνδυασμένα αντιγόνα, ενώ στην περίπτωση των Sm και DNA, αυτά προέρχονται από φυσιολογικούς κυτταρικούς ιστούς. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της μεθόδου χαρακτηρίζονται ικανοποιητικές. Η μικρότερη ευαισθησία παρατηρήθηκε για τα αντι-Sm αντισώματα (~86%), ενώ η μικρότερη ειδικότητα για τα αντι-La/SSB αντισώματα (~86%). Είναι αξιοσημείωτο ότι ανιχνεύθηκαν ~98% των αντι-Ro/SSA αντισωμάτων, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η χρήση ανασυνδυασμένων αντιγόνων βελτιώνει την ευαισθησία της IB για την ανίχνευση των αντι-Ro/SSA αντισωμάτων.

Άλλη LIA χρησιμοποιεί ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη στην περίπτωση των Sm-B/B', RNP-70, RNP-A, RNP-C, 52 kD Ro/SS-A, La/SS-B, Scl-70 και Jo-1 αντιγόνων⁽¹⁸⁵⁾. Τα Sm-D και P-ριβωσωμιακά αντιγόνα προέρχονται από συνθετικά πεπτίδια, ενώ το Ro/SS-A 60 kD αντιγόνο, προέρχεται από κεκαθαρμένη φυσική πρωτεΐνη. Σε αυτή την περίπτωση, η LIA φαίνεται να υπερισχύει των άλλων μεθόδων ως προς την ανίχνευση των αντι-Sm, αντι-Ro/SS-A και αντι-La/SSB. Όσον αφορά την ανίχνευση των αντι-RNP, αντι-Scl-70 και αντι-Jo-1, τα αποτελέσματά της είναι συγκρίσιμα με αυτά των άλλων τεχνικών. Τα φυσικά αντιγόνα είναι δυνατό να περιέχουν αντιγονικούς επιτόπους που δεν εμφανίζονται στην ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη. Έτσι, η χρήση ανασυνδυασμένου Ro52 και φυσικού Ro60 αντιγόνου βελτιώνει την

απόδοση της μεθόδου, δεδομένου ότι τα αντι-Ro52 αναγνωρίζουν γραμμικούς επιτόπους στην αναδιατεταγμένη πρωτεΐνη, ενώ τα αντι-Ro60 αντισώματα αναγνωρίζουν διαμορφωτικούς επιτόπους στη φυσική πρωτεΐνη.

Σε άλλη παραλλαγή, όλα τα αντιγόνα είναι ανασυνδυασμένα (RNP-70, RNP-A, RNP-C, SmB/B', SmD, Ro-60, Ro-52, La/SSB, P-ribo, Scl-70, Jo-1). Σε αυτή την περίπτωση, η ευαισθησία της μεθόδου ήταν συγκρίσιμη με αυτή της ELISA. Ειδικότερα, ως προς την ανίχνευση των SmB και Ro52 αντιγόνων, η LIA παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία. Είναι αξιοσημείωτο, ότι τα αντι-Ro52 αντισώματα που ανιχνεύονται με τη LIA, δεν μπορούν να αναγνωρισθούν, ως αντι-Ro/SSA ειδικότητα, από την ELISA περίπου στους μισούς ασθενείς.

Για την εκτέλεση της μεθόδου, το εξεταζόμενο δείγμα επωάζεται μαζί με την ταινία εξέτασης πολλαπλών αντιγόνων. Εάν είναι παρόντα στο δείγμα ειδικά αυτοαντισώματα θα προσδεθούν στις ζώνες των αυτοαντιγόνων στην ταινία. Έπειτα προστίθεται σημασμένη αντι-ανθρώπινη IgG, η οποία προσδένεται στο σύμπλοκο αυτοαντισώματος-αντιγόνου που έχει ήδη σχηματισθεί. Η ακόλουθη επώαση με το υπόστρωμα παράγει χρώμα ανάλογο με το ποσό του ειδικού αντισώματος που υπάρχει στο δείγμα. Η ανάπτυξη του χρώματος σταματά με οξίνιση (Σχήμα 7).



Σχήμα 7. Αρχή μεθόδου LIA

Η ανάλυση και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων γίνεται με τη σύγκριση της έντασης όλων των ζωνών στην εξεταζόμενη ταινία με αυτές των αντίστοιχων ζωνών στην ταινία αναφοράς (cut-off). Ένα δείγμα είναι αρνητικό για όλους τους δείκτες όταν οι εντάσεις όλων των ζωνών είναι πιο χαμηλές από αυτές των ζωνών της ταινίας αναφοράς, αλλά όχι ισοδύναμες και είναι θετικό για ένα συγκεκριμένο δείκτη εάν η ένταση της αντίστοιχης ζώνης είναι μεγαλύτερη από ότι η ένταση της ζώνης στην ταινία αναφοράς ⁽¹⁸⁵⁾.

Στα δείγματα της μελέτης μας που ανιχνεύθηκαν αντι-ENA αντισώματα θετικά με ELISA, ακολούθησε προσδιορισμός της ειδικότητάς τους με τεχνική LIA (INNO-LIA ANA Update) του οίκου INNOGENETICS N.V. Gent, Belgium και σύμφωνα με τις εσωκλειστές οδηγίες για τη διαδικασία της εξέτασης.

8.2.5. Νεφελομετρία

Η νεφελομετρία είναι μέθοδος προσδιορισμού της συγκέντρωσης πρωτεϊνών κυρίως, η οποία βασίζεται στη μέτρηση της σκέδασης που δημιουργείται όταν φωτεινή δέσμη, κατάλληλου μήκους κύματος, προσπίπτει πάνω σε σωματίδια που αιωρούνται σε διάλυμα ή εναιώρημα. Τα σωματίδια μπορεί να είναι συμπλέγματα μορίων ή συμπλέγματα μορίων και σωματιδίων. Η μέθοδος αξιοποιεί τη γραμμική σχέση μεταξύ της έντασης της σκέδασης και της συγκέντρωσης των σωματιδίων σύμφωνα με την εξίσωση του Rayleigh ⁽¹⁸⁶⁾.

Απαραίτητες προϋποθέσεις για τον ποσοτικό προσδιορισμό μιας πρωτεΐνης, είναι η συγκέντρωσή της να βρίσκεται σε επίπεδα εφικτά για τη μέθοδο και να υπάρχει διαθέσιμο ειδικό αντίσωμα έναντι αυτής. Από την σύνδεση του αντισώματος με την πρωτεΐνη θα προκύψει διαλυτό ανοσοσύμπλεγμα, το οποίο προκαλεί σκέδαση της προσπίπτουσας φωτεινής δέσμης. Η ένταση της σκέδασης εξαρτάται από την ποσότητα των ανοσοσυμπλεγμάτων, η οποία είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης. Μια νεφελομετρική μέθοδος, ανάλογα με τη φάση της αντίδρασης κατά την οποία μετρείται η σκέδαση, χαρακτηρίζεται ως τελικού σημείου και ως κινητική νεφελομετρία.

Οι σύγχρονοι νεφελομετρικοί αναλυτές είναι κλειστά συστήματα που διαθέτουν πηγή Laser και που το σκεδαζόμενο φως κατευθύνεται σε φωτοπολλαπλασιαστή, μετατρέπεται σε ηλεκτρικό σήμα και διοχετεύεται σε μικροϋπολογιστή. Εκεί, η μέγιστη ταχύτητα μεταβολής της σκέδασης μετατρέπεται στην αντίστοιχη συγκέντρωση του αντιγόνου σε ελάχιστο χρόνο. Με τη νεφελομετρία προσδιορίζονται συγκεντρώσεις πρωτεϊνών της τάξης 10^{-3} - 10^{-6} g/l. Είναι μέθοδος λιγότερο ευαίσθητη από την ELISA, τις ραδιοανοσολογικές και τη χημειοφωταύγεια, αλλά αναντικατάστατη ως μέθοδος προσδιορισμού πρωτεϊνών ορού, πλάσματος και βιολογικών υγρών. όπως ανοσοσφαιρίνες, ΡΠ, CRP, παράγοντες του συμπληρώματος κ.α.

Με νεφελομετρία έγινε ο προσδιορισμός του ΡΠ (ΡΠ NEF), της CRP, των C3 και C4 παραγόντων του συμπληρώματος, σε νεφελόμετρο τελικού σημείου (IMMAGE Immunochemistry system), όπου χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια του οίκου BECMAN COULTER, USA. Οι φυσιολογικές τιμές, σύμφωνα με το εργαστήριο, για τον ΡΠ NEF είναι <20 IU/ml, για τη CRP <0.5 mg/dL και για τους C3 και C4 παράγοντες, 63-158 mg/dL και 14-33 mg/dL, αντίστοιχα.

8.3. Στατιστική ανάλυση

Οι μέσες τιμές (mean), οι τυπικές αποκλίσεις (Standard Deviation=SD), οι διάμεσοι (median) και τα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (interquartile range) χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποσοτικών μεταβλητών. Οι απόλυτες (N) και οι σχετικές (%) συχνότητες χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποιοτικών μεταβλητών. Για τη σύγκριση αναλογιών χρησιμοποιήθηκε το Pearson's χ^2 test ή το Fisher's exact test, όπου ήταν απαραίτητο. Για τη σύγκριση ποσοτικών μεταβλητών μεταξύ δυο ομάδων χρησιμοποιήθηκε το μη παραμετρικό κριτήριο Mann-Whitney. Για την εκτίμηση της προγνωστικής αξίας των αντισωμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι καμπύλες λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (Receiver Operating Curves-ROC) από τις οποίες υπολογίστηκε η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (Area Under Curve-AUC) με το 95% διάστημα εμπιστοσύνης της (95% Confidence Interval-CI). Η προγνωστική

ικανότητα ενός δείκτη κρίνεται σημαντική εάν μέσα στο 95% διάστημα εμπιστοσύνης δεν περιλαμβάνεται το 0,5.

Επίσης, μέσω της ROC ανάλυσης βρέθηκε για τα αντισώματα το βέλτιστο σημείο (optimal cut-off) για την πρόγνωση της εμφάνισης της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας. Για αυτό το σημείο υπολογίστηκε η ευαισθησία (Se), η ειδικότητα (Sp), η αρνητική (Negative Predictive Value-NPV) και θετική προγνωστική αξία (Positive Predictive Value-PPV) καθώς και τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης τους (95%CI). Επιπλέον, προκειμένου να διερευνηθεί εάν η προγνωστική αξία κάποιου αντισώματος βελτιώνεται προσθέτοντας σε αυτό κάποιο άλλο αντίσωμα ή κάποιο συνδυασμό αντισωμάτων, χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα λογαριθμικής παλινδρόμησης και σύγκριση της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη, μέσω των προβλεπόμενων τιμών που προέκυπταν από τα μοντέλα. Τα επίπεδα σημαντικότητας είναι αμφίπλευρα και η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο 0,05. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα στατιστικά προγράμματα SPSS 18.0 και STATA 8.0.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στα 426 δείγματα ορών που αφορούσαν 278 ασθενείς με διάγνωση PA (Ομάδα Α) και 148 ασθενείς με άλλη μη PA αυτοάνοση ή φλεγμονώδη νόσο (Ομάδα Β) προσδιορίστηκαν τα ANA, αντι-dsDNA και αντι-CCP2 αντισώματα και μετρήθηκαν τα επίπεδα του ΡΠ και της CRP.

Επίσης, σε 335 από τα δείγματα αυτά αναζητήθηκαν τα αντι-CCP3.1 και αντι-MCV αντισώματα, σε 244 τα αντι-RA33 ενώ σε 279 δείγματα προσδιορίστηκαν τα αντι-ENA αντισώματα.

9.1. Ανοσολογικοί παράμετροι σε ασθενείς με PA και μη PA φλεγμονώδη νόσο

Αντιπυρηνικά θετικά σε τίτλο $\geq 1:160$ ανιχνεύθηκαν σε 162 (58,7%) και 81 (55,9%) δείγματα ασθενών των ομάδων Α και Β, αντίστοιχα ενώ θετικά αντι-dsDNA αντισώματα σε 4 (1,4%) και 24 (16,4%) δείγματα, αντίστοιχα.

Αντι-CCP2 και αντι-CCP3.1 θετικά αντισώματα προσδιορίστηκαν σε 244 (88,1%) και 71 (79,8%) δείγματα της ομάδας Α ενώ από την ομάδα Β σε 27 (18,5%) και 26 (19,4%), αντίστοιχα. Θετικά αντι-RA33 και αντι-MCV ανιχνεύθηκαν σε 28 (23,9%) και 122 (83%) της ομάδας Α και σε 17 (13,4%) και 20 (13,7%) της ομάδας Β, αντίστοιχα.

Παθολογικές τιμές για το ΡΠ και τη CRP βρέθηκαν σε 224 (81,8%) και 157 (57,3%) της ομάδας Α ενώ από την ομάδα Β σε 36 (25,9%) και σε 76 (54,3%), αντίστοιχα.

Τα ποσοστά των ασθενών με PA (Ομάδα Α) που εμφάνισαν θετικά αντι-CCP2, αντι-CCP3.1, αντι-MCV και παθολογικές τιμές ΡΠ ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα ποσοστά της ομάδας Β ($p < 0,001$). Επίσης οι ασθενείς με PA είχαν σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό αρνητικά αντι-dsDNA αντισώματα σε σύγκριση με τους ασθενείς της ομάδας Β ($p < 0,001$).

Η παρουσία θετικών ANA και αντι-RA33 αντισωμάτων καθώς και παθολογικών τιμών CRP δεν φαίνεται να διαφέρει σημαντικά μεταξύ των ασθενών των 2 ομάδων, $p = 0,536$, $0,410$ και $0,559$, αντίστοιχα.

Αναλυτικά όλα τα αποτελέσματα που αφορούν τόσο στη συχνότητα όσο και στη σύγκριση των ανοσολογικών παραμέτρων μεταξύ των δύο ομάδων παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 10. Συχνότητα και σύγκριση των ανοσολογικών παραμέτρων σε PA και μη PA

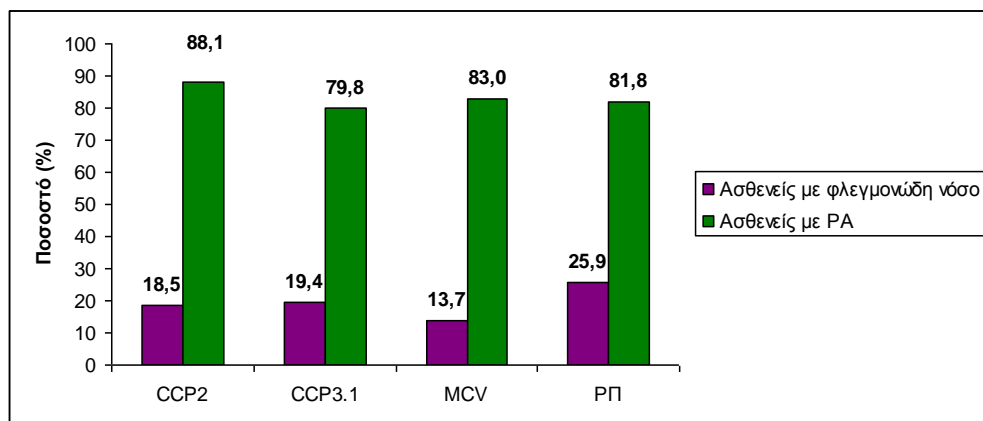
		ομάδα A		ομάδα B		P Pearson's χ^2 test
		ασθενείς με PA		ασθενείς με μη PA		
		N	%	N	%	
ANA	αρνητικά	114	41,3	64	44,1	0,536
	θετικά	162	58,7	81	55,9	
αντι- dsDNA	αρνητικά	274	98,6	122	83,6	<0,001
	θετικά	4	1,4	24	16,4	
αντι- CCP2	αρνητικά	33	11,9	119	81,5	<0,001
	θετικά	244	88,1	27	18,5	
αντι- CCP3.1	αρνητικά	18	20,2	108	80,6	<0,001
	θετικά	71	79,8	26	19,4	
αντι- MCV	αρνητικά	25	17,0	126	86,3	<0,001
	θετικά	122	83,0	20	13,7	
ΡΠ	φυσιολογικές τιμές	50	18,2	103	74,1	<0,001
	παθολογικές τιμές	224	81,8	36	25,9	
CRP	φυσιολογικές τιμές	117	42,7	64	45,7	0,559
	παθολογικές τιμές	157	57,3	76	54,3	
αντι- RA33	αρνητικά	89	76,1	110	86,6	0,410
	θετικά	28	23,9	17	13,4	

Τα αποτελέσματα για κάθε μη PA, αυτοάνοση ή φλεγμονώδη νόσο ξεχωριστά της ομάδας B παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11. Αναλυτικά οι ανοσολογικές παράμετροι στα μη RA νοσήματα (Ομάδα Β)

		ΕΚ	NC	ΟΣ	ΠΣ	ΣΕΛ+ΜΝΣΙ
		N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
ANA	αρνητικά	10 (76,9)	9 (52,9)	17 (51,5)	26 (55,3)	2 (6,5)
	θετικά	3 (23,1)	8 (47,1)	16 (48,5)	21 (44,7)	29 (93,5)
αντι-dsDNA	αρνητικά	13 (100)	16 (94,1)	32 (94,1)	47 (100)	10 (32,3)
	θετικά	0 (0)	1 (5,9)	2 (5,9)	0 (0)	21 (67,7)
αντι-CCP2	αρνητικά	13 (100)	16 (94,1)	33 (97,1)	25 (53,2)	28 (90,3)
	θετικά	0 (0)	1 (5,9)	1 (2,9)	22 (46,8)	3 (9,7)
αντι-CCP3.1	αρνητικά	13 (100)	16 (94,1)	26 (89,7)	21 (52,5)	28 (90,3)
	θετικά	0 (0)	1 (5,9)	3 (10,3)	19 (47,5)	3 (9,7)
αντι-MCV	αρνητικά	13 (100)	17 (100)	35 (97,2)	28 (62,2)	29 (93,5)
	θετικά	0 (0)	0 (0)	1 (2,8)	17 (37,8)	2 (6,5)
ΡΠ	φυσιολογικά	13 (100)	16 (94,1)	24 (85,7)	24 (52,2)	26 (82,8)
	παθολογικά	0 (0)	1 (5,9)	4 (14,3)	22 (47,8)	9 (17,2)
CRP	φυσιολογικά	9 (69,2)	9 (52,9)	11 (37,9)	11 (23,9)	24 (68,5)
	παθολογικά	4 (30,8)	8 (47,1)	18 (62,1)	35 (76,1)	11 (31,5)
αντι-RA33	αρνητικά	13 (100)	17 (100)	24 (85,7)	26 (76,5)	30 (85,7)
	θετικά	0 (0)	0 (0)	4 (14,3)	8 (23,5)	5 (14,3)

Στο γράφημα που ακολουθεί απεικονίζονται τα ποσοστά (η συχνότητα) των ασθενών που εμφάνισαν θετικά τουλάχιστον ένα από τα αντι-CCP2, αντι-CCP3.1, αντι-MCV αντισώματα και παθολογικές τιμές ΡΠ ανάλογα με τη νόσο. (Εικόνα 5)



Εικόνα 5. Ποσοστά ασθενών με θετικά αντισώματα, ανάλογα με τη νόσο

Τα αντι-ENA αντισώματα αναζητήθηκαν σε 279 δείγματα, εκ των οποίων τα 162 αφορούσαν ασθενείς της ομάδας Α και 117 της ομάδας Β.

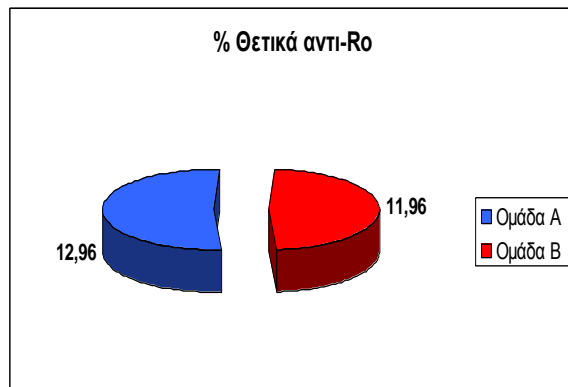
Θετικά αντι-ENA ανιχνεύτηκαν σε 47 (16,8%) από τα 279 δείγματα. Αναζητώντας την ειδικότητα των αντι-ENA αντισωμάτων, 35 δείγματα βρέθηκαν θετικά για αντι-Ro (SSA) αντισώματα και συγκεκριμένα 21 (12,96%) για την ομάδα Α και 14 (11,96) για την ομάδα Β.

Από τα αποτελέσματα αυτά δεν φαίνεται να υπάρχει κάποια σημαντική διαφορά στα ποσοστά των θετικών αντι-Ro (SSA) αντισωμάτων στις 2 ομάδες μελέτης ($p=0.804$).

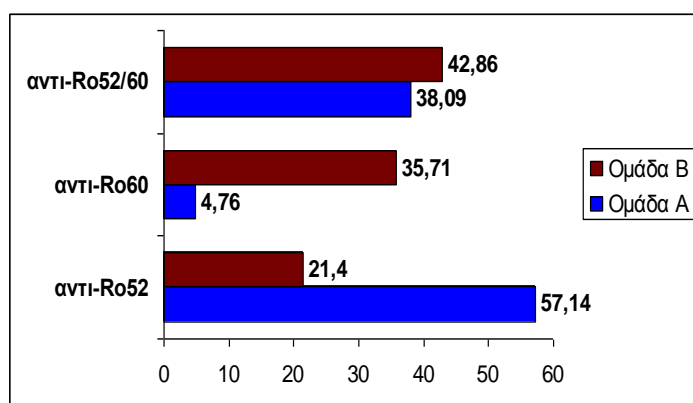
Η περαιτέρω αναζήτηση της ειδικότητας των αντιγονικών επιτόπων για τα αντι-Ro (SSA), για την ομάδα Α κατέγραψε αντι-Ro52 σε 12 δείγματα, ενώ αντι-Ro60 και αντι-Ro52/60 σε 1 και 8 δείγματα, αντίστοιχα. Στην ομάδα Β αντι-Ro52, αντι-Ro60 και αντι-Ro52/60 ανιχνεύτηκαν σε 3, 5 και 6 δείγματα, αντίστοιχα.

Από αυτά τα αποτελέσματα φαίνεται ότι το ποσοστό των αντι-Ro52 αντισωμάτων στα θετικά αντι-Ro δείγματα της ομάδας Α ήταν σημαντικά μεγαλύτερο συγκριτικά με το αντίστοιχο ποσοστό των αντι-Ro52 στα θετικά αντι-Ro δείγματα της ομάδας Β (57,14% vs. 21,4%, $p=0.025$).

Η συχνότητα των αντι-Ro αντισωμάτων και στις δύο ομάδες απεικονίζεται στην Εικόνα 6, ενώ η συχνότητα της αντι-Ro (Ro52, Ro60) ειδικότητας στην Εικόνα 7.



Εικόνα 6. Αντι- Ro στη PA vs μη PA

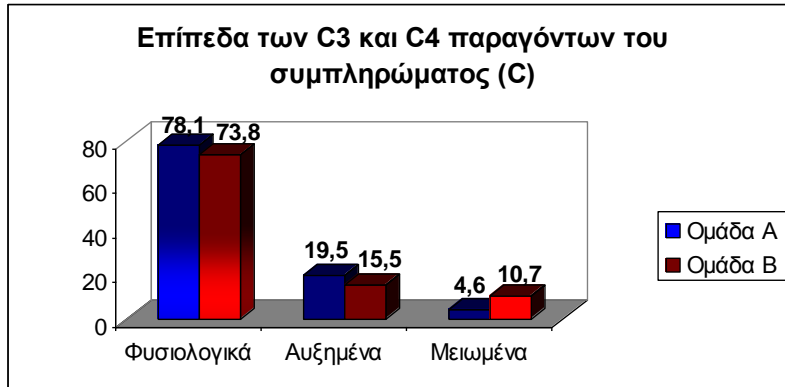


Εικόνα 7. Αντι-Ro ειδικότητα στη PA vs μη PA

Επίσης, σε 171 ασθενείς εκ των οποίων οι 87 (50,9%) ήταν της ομάδας A και οι 84 (49,1%) της ομάδας B, μετρήθηκαν τα επίπεδα των C3 και C4 παραγόντων του συμπληρώματος (C).

Φυσιολογικά επίπεδα ανιχνεύτηκαν σε 68 (78,1%) και σε 62 (73,8%) ασθενείς της ομάδας A και ομάδας B αντίστοιχα, αυξημένα επίπεδα μετρήθηκαν σε 15 (19,5%) και σε 13 (15,5%) ασθενείς της ομάδας A και ομάδας B αντίστοιχα, ενώ μειωμένα επίπεδα σε 4 (4,6%) και σε 9 (10,7%) ασθενείς της ομάδας A και ομάδας B, αντίστοιχα. Σύμφωνα λοιπόν με αυτά τα αποτελέσματα δεν καταγράφεται σημαντική διαφορά των επιπέδων των C3 και C4 παραγόντων του συμπληρώματος μεταξύ των 2 ομάδων ($p=0.318$).

Το γράφημα της Εικόνας 8 απεικονίζει τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα των συγκεντρώσεων των παραγόντων του C στις 2 ομάδες.



Εικόνα 8. Επίπεδα C3, C4 παραγόντων στη PA vs μη PA

9.1.1. Ευαισθησία , ειδικότητα και προγνωστική αξία των ανοσολογικών δεικτών

Αναφορικά με την ευαισθησία και την ειδικότητα των αντισωμάτων στους ασθενείς της ομάδας A, σε σύγκριση με την ομάδα B, τα αντι-CCP2 εμφανίζουν την υψηλότερη ευαισθησία (88,1%) και ακολουθούν τα αντι-MCV (83%), ο ΡΠ (81,8%), τα αντι-CCP3.1 (79,8%), και με πολύ χαμηλά ποσοστά τα αντι-RA33 (23,9%).

Την υψηλότερη ειδικότητα εμφανίζουν τα αντι-MCV (86,3%) και ακολουθούν τα αντι-CCP2 (81,5%), τα αντι-CCP3.1 (80,6%), τα αντι-RA33 (76,6%) και ο ΡΠ (74,1%).

Στα πλαίσια της αναζήτησης του καλύτερου προγνωστικού δείκτη για τη PA, σε σχέση με άλλα αυτοάνοσα ή φλεγμονώδη νοσήματα, έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων και βρέθηκε ότι, τα αντι-CCP2 αντισώματα εμφανίζουν την υψηλότερη θετική προγνωστική αξία (90,4%) σε σύγκριση με αυτή των αντι-CCP3.1, αντι-MCV, αντι-RA33 και ΡΠ, (73,2%), (85,9%), (58,1%) και (86,2), αντίστοιχα.

Επιπλέον, η παρουσία θετικών ANA και αντι-RA33 καθώς και παθολογικών τιμών CRP δεν φαίνεται να αποτελούν ισχυρό προγνωστικό δείκτη για τη PA καθώς μέσα στο 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% ΔΕ) συμπεριλαμβάνεται το 0,5.

Η ευαισθησία, η ειδικότητα, η PPV, η NPV και η προγνωστική ικανότητα των ανοσολογικών παραμέτρων που αφορούν στην πρόγνωση της PA σε σχέση με άλλα

μη PA, αυτοάνοσα ή φλεγμονώδη νοσήματα, παρουσιάζονται αναλυτικά στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 12).

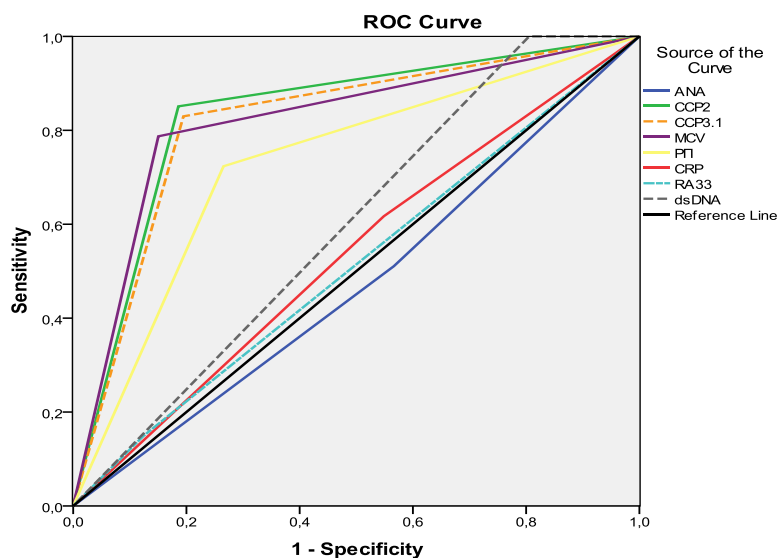
Πίνακας 12. Σύγκριση των ανοσολογικών παραμέτρων στην πρόγνωση της PA vs μη PA

	Ευαισθησία (95% ΔΕ)	Ειδικότητα (95% ΔΕ)	PPV (95% ΔΕ)	NPV (95% ΔΕ)	AUC (95% ΔΕ)
ANA	58,7 (52,6 - 64,6)	44,1 (35,9 - 52,6)	67,0 (60,4 - 72,6)	36,0 (28,9 - 43,5)	0,51 (0,46 - 0,56)
CCP2	88,1 (83,7 - 91,7)	81,5 (74,3 - 87,4)	90,4 (86,2 - 93,6)	78,3 (70,9 - 84,6)	0,85 (0,81 - 0,89)
CCP3.1	79,8 (70,0 - 87,6)	80,6 (72,9 - 86,9)	73,2 (63,2 - 81,7)	85,7 (78,4 - 91,3)	0,80 (0,75 - 0,86)
MCV	83,0 (75,9 - 88,7)	86,3 (79,6 - 91,4)	85,9 (79,1 - 91,2)	83,4 (76,5 - 89,0)	0,85 (0,81 - 0,89)
ΡΠ	81,8 (76,7 - 86,1)	74,1 (66,0 - 81,2)	86,2 (81,4 - 90,1)	67,3 (59,3 - 74,7)	0,78 (0,74 - 0,82)
CRP	57,3 (51,2 - 63,2)	45,7 (37,3 - 54,3)	67,4 (61,0 - 73,4)	35,4 (28,4 - 42,8)	0,52 (0,46 - 0,57)
RA33	23,9 (12,8 - 27,2)	76,6 (72,4 - 82,0)	58,1 (36,9 - 70,5)	59,1 (46,1 - 64,1)	0,59 (0,47 - 0,61)

Σημαντική προγνωστική αξία για την PA, σε σχέση με τα άλλα αυτοάνοσα ή φλεγμονώδη νοσήματα, είχαν τα αντι-CCP2, αντι-CCP3.1, αντι-MCV και ο ΡΠ.

Συγκεντρωτικά, οι προγνωστικές ικανότητες των αντι-CCP2, αντι-CCP3.1 και αντι-MCV, έτσι όπως υπολογίστηκαν από την στατιστική ανάλυση (AUC), (0,85), (0,80) και (0,85) αντίστοιχα, ήταν οι υψηλότερες και δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Μετά ακολουθεί η προγνωστική ικανότητα του ΡΠ που ήταν σημαντικά μικρότερη σε σύγκριση τόσο με αυτή των αντι-CCP2 και αντι-CCP3.1 ($p=0,004$), όσο και με την προγνωστική αξία των αντι-MCV ($p=0,001$).

Στο γράφημα που ακολουθεί δίνονται οι ROC καμπύλες όλων των παραμέτρων που αφορούν στην προγνωστική ικανότητά τους για τη PA (Εικόνα 9).



Εικόνα 9. ROC καμπύλες στην πρόγνωση της PA vs μη PA

9.2. Ασθενείς με Πολυαρθρικό Σύνδρομο - Εξέλιξη σε PA

Μεταξύ των 47 ασθενών με αρχική διάγνωση Πολυαρθρικού Συνδρόμου (ΠΣ), οι 17 ασθενείς (Ομάδα I) ανέπτυξαν PA (σύμφωνα με τα αναθεωρημένα το 1987 ACR κριτήρια) σε χρονικό διάστημα 6 μηνών από την πρώτη κλινική εκδήλωση της νόσου και την επίσκεψη στο Ρευματολογικό Ιατρείο.

Οι υπόλοιποι 30 ασθενείς (Ομάδα II) δεν εξελίχθηκαν σε PA (δεν πληρούσαν όλα τα απαραίτητα κριτήρια για την ταξινόμηση της νόσου), στο ίδιο χρονικό διάστημα. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι δεν μελετήθηκε η εξέλιξη της νόσου στους 30 αυτούς ασθενείς με ΠΣ, για μεγαλύτερο από 6 μήνες χρονικό διάστημα.

Από την μελέτη και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων, καταγράφεται ένα σημαντικά υψηλότερο ποσοστό θετικών αντι-CCP2, αντι-CCP3.1, αντι-MCV αντισωμάτων αλλά και παθολογικών τιμών ΡΠ και CRP στην Ομάδα I, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα ποσοστά των ασθενών της ομάδας II.

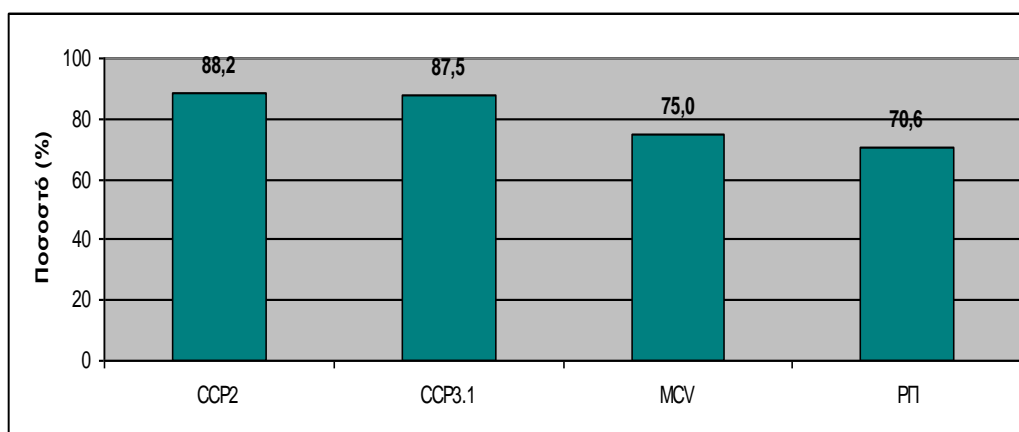
Όλα τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 13).

Πίνακας 13. Συχνότητα ανοσολογικών παραμέτρων σε ασθενείς με ΠΣ

		Πολυαρθρικό Σύνδρομο (ΠΣ)				P Pearson's χ^2 test
		Ομάδα I		Ομάδα II		
		N	%	N	%	
ANA	αρνητικά	9	52,9	17	56,7	0,805
	θετικά	8	47,1	13	43,3	
αντι-CCP2	αρνητικά	2	11,8	23	76,7	<0,001
	θετικά	15	88,2	7	23,3	
αντι-CCP3.1	αρνητικά	2	12,5	19	79,2	<0,001
	θετικά	14	87,5	5	20,8	
αντι-MCV	αρνητικά	4	25,0	24	82,8	<0,001
	θετικά	12	75,0	5	17,2	
ΡΠ	φυσιολογικές τιμές	5	29,4	19	65,5	0,018
	παθολογικές τιμές	12	70,6	10	34,5	
CRP	φυσιολογικές τιμές	0	0,0	11	37,9	0,003*
	παθολογικές τιμές	17	100,0	18	62,1	
αντι-RA33	αρνητικά	12	85,7	14	70,0	0,422*
	θετικά	2	14,3	6	30,0	

*Fisher's exact test

Συγκεντρωτικά τα ποσοστά των ασθενών με ΠΣ και θετικά αντι-CCP2, αντι-CCP3.1, αντι-MCV και παθολογικές τιμές ΡΠ, που ανέπτυξαν πρώιμη ΡΑ, παρουσιάζονται στην Εικόνα 10.



Εικόνα 10. Ποσοστά ασθενών με ΠΣ και εξέλιξη σε ΡΑ, με παθολογικά επίπεδα αντισωμάτων

Αναλύοντας την ευαισθησία και την ειδικότητα των αντισωμάτων στους ασθενείς με ΠΣ της ομάδας I σε σύγκριση με την ομάδα II, τα αντι-CCP2 εμφανίζουν την υψηλότερη ευαισθησία (88,2%) και ακολουθούν τα αντι-CCP3.1 (87,5%), τα αντι-MCV 75,0%), ο ΡΠ (70,6%), και με πολύ χαμηλά ποσοστά τα αντι-RA33 (14,3%). Την υψηλότερη ειδικότητα εμφανίζουν τα αντι-MCV (82,8%) και ακολουθούν τα αντι-CCP3.1 (79,2%), τα αντι-CCP2 (76,7%), τα αντι-RA33 (70,0%) και έπεται ο ΡΠ (65,2%).

Τα στατιστικά μεγέθη και η σύγκριση των ανοσολογικών παραμέτρων των δύο ομάδων παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 14).

Πίνακας 14. Σύγκριση ανοσολογικών παραμέτρων σε ασθενείς με ΠΣ (Ομάδα I/Ομάδα II)

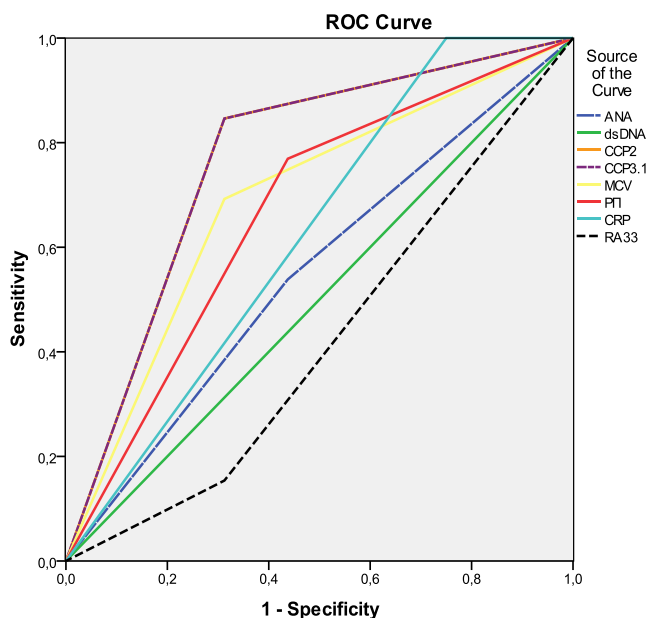
	Ευαισθησία (95% ΔΕ)	Ειδικότητα (95% ΔΕ)	PPV (95% ΔΕ)	NPV (95% ΔΕ)	AUC (95% ΔΕ)
ANA	47,1 (23,0 -72,2)	56,7 (37,4 -74,5)	38,1 (18,1 -61,6)	65,4 (44,3 -82,8)	0,52 (0,37 -0,67)
CCP2	88,2 (63,6 -98,5)	76,7 (57,7 -90,1)	68,2 (45,1 -86,1)	92,0 (74,0 - 99,0)	0,82 (0,71 -0,93)
CCP3.1	87,5 (61,6 -98,5)	79,2 (57,9 -92,9)	73,7 (48,8 -90,9)	90,5 (69,6 -98,8)	0,83 (0,72 -0,95)
MCV	75,0 (47,6 -92,7)	82,8 (64,2 -94,2)	70,6 (44,0 -89,7)	85,7 (67,3 -96,0)	0,79 (0,66- 0,92)
ΡΠ	70,6 (44,0 -89,7)	65,2 (45,7-82,1)	54,6 (32,2 -75,6)	79,2 (57,9 -92,9)	0,68 (0,54 -0,82)
CRP	100 (80,5 -100)	37,9 (20,7 -57,7)	48,6 (31,4 -66,0)	100 (71,5-100)	0,69 (0,60 -0,78)
RA33	14,3 (1,8 -42,8)	70,0 (45,7 -88,1)	25,0 (3,2 -65,1)	53,9 (33,4 -73,4)	0,42 (0,28 -0,56)

Η PPV των αντισωμάτων για την εξέλιξη του ΠΣ σε ΡΑ, τους πρώτους 6 μήνες μετά την αρχική διάγνωση, εμφανίζεται περίπου στα ίδια επίπεδα για τα αντι-CCP3.1, αντι-MCV, αντι-CCP2 και μικρότερη για τον ΡΠ (73,7%, 70,6%, 68,2% και 54,6%, αντίστοιχα). Σημαντική προγνωστική ικανότητα για την εξέλιξη του ΠΣ σε ΡΑ μέσα στους πρώτους 6 μήνες από την αρχική διάγνωση εμφανίζουν τα αντι-CCP2, αντι-CCP3.1, αντι-MCV, ο ΡΠ και η CRP.

Συγκεκριμένα, η CRP έχει σημαντικά χαμηλότερη προγνωστική ικανότητα σε σύγκριση με τα CCP2 ($p=0,016$) και CCP3.1 ($p=0,029$), ενώ δεν βρέθηκε διαφορά στη σύγκριση της προγνωστικής αξίας μεταξύ των υπολοίπων αντισωμάτων. Τα ANA και τα αντι-RA33 αντισώματα δεν φαίνεται να αποτελούν ισχυρό προγνωστικό δείκτη

για την εξέλιξη της νόσου, καθώς μέσα στο 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% ΔΕ) συμπεριλαμβάνεται το 0,5.

Στο γράφημα που ακολουθεί δίνονται οι ROC καμπύλες των αντισωμάτων που αφορούν την προγνωστική ικανότητά τους στην εξέλιξη του ΠΣ σε ΡΑ (Εικόνα 11).



Εικόνα 11. ROC καμπύλες στην πρόγνωση εξέλιξης του ΠΣ σε ΡΑ

9.3. Σύγκριση των δεικτών σε ασθενείς με ΡΑ σε σχέση με ομάδα ελέγχου (ΦΜ)

Σε 90 ασθενείς με διάγνωση ΡΑ και παθολογική τιμή ΡΠ με τη μέθοδο της νεφελομετρίας (ΡΠ ΝΕΦ), μετρήθηκαν τα επίπεδα των τάξεων IgG, IgM και IgA του ΡΠ με μέθοδο ELISA και αξιολογήθηκαν σε σχέση με τα αντι-CCP2 αντισώματα.

Όλες οι παράμετροι συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα από τη μέτρηση των ίδιων παραμέτρων, σε 32 δείγματα από αιμοδότες, που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου, (φυσιολογικοί μάρτυρες-ΦΜ) στα πλαίσια της αναζήτησης του βέλτιστου προγνωστικού δείκτη για τη ΡΑ σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό.

Σε 28 (31,1%) ασθενείς η διάγνωση της ΡΑ ήταν πρόσφατη (<2 έτη) ενώ στους υπόλοιπους 62 (68,9%) η διάρκεια της νόσου ήταν > 2 έτη. Τα δημογραφικά στοιχεία όλων των ασθενών αλλά και των υγιών καταγράφονται στον Πίνακα 15.

Πίνακας 15. Δημογραφικά στοιχεία των ασθενών με PA και των υγιών ατόμων

		ομάδα			
		ομάδα ελέγχου (N=32)		ασθενείς με PA (N=90)	
		N	%	N	%
Διάγνωση <2 έτη	όχι	-		62	68,9
	ναι	-		28	31,1
Φύλο	γυναίκες	21	65,6	71	78,9
	άντρες	11	34,4	19	21,1
Ηλικία, μέση τιμή±SD		40,1±10,1		51,2±11,5	

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι το 3,1% των ατόμων της ομάδας ελέγχου και το 64,4% των ασθενών με PA είχαν θετικά ANA ενώ όλοι είχαν αρνητικά αντι-dsDNA αντισώματα.

Η μέση τιμή±SD και η διάμεσος (Ενδ. Εύρος) των αντι-CCP2, των τάξεων IgG, IgM και IgA του ΡΠ, του ΡΠ NEF και της CRP, υπολογίστηκαν και στις δύο ομάδες. Αναλυτικά τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 16).

Πίνακας 16. Μέση και διάμεσος τιμή των δεικτών στην PA σε σύγκριση με ομάδα ελέγχου

	ομάδα			
	ομάδα ελέγχου (N=32)		ασθενείς με PA (N=90)	
CCP2 μέση τιμή±SD, διάμεσος (Ενδ. εύρος)	11,9±7,0	13,7(4,5-16,7)	348,27±231,25	396 (104-550)
IgG ΡΠ μέση τιμή±SD, διάμεσος (Ενδ. εύρος)	6,3±1,6	6,4 (5,4-8)	29,7±35	11 (6,7-38)
IgA ΡΠ μέση τιμή±SD, διάμεσος (Ενδ. εύρος)	4±0,9	3,9 (3,2-4,9)	37,4±33,6	25,1(9,9-54,8)
IgM ΡΠ μέση τιμή±SD, διάμεσος (Ενδ.εύρος)	4,6±2,7	3,6 (3,2-4,8)	55,2±40,5	55,3 (11-100)
ΡΠ NEF μέση τιμή±SD, διάμεσος (Ενδ.εύρος)	19,5±5,5	18 (17-19)	214,7±417	85,7 (20-254)
CRP μέση τιμή±SD, διάμεσος (Ενδ. εύρος)	0,3±0,2	0,2 (0,1-0,4)	1±1,1	0,5 (0,2-1,5)

Σύμφωνα λοιπόν με τις μετρήσεις, η ευαισθησία για τα αντι-CCP2 ήταν 96,7% (90,6 - 99,3) με βέλτιστο όριο το 29,5. Για τον IgG ΡΠ, η ευαισθησία ήταν 71,1% (60,6 -80,2)

με βέλτιστο όριο το 7,25, για τον IgA ΡΠ, 86,7% (77,9 -92,9) με βέλτιστο όριο το 6,5 ενώ για τον IgM ΡΠ, 88,9% (80,5 - 94,5) με βέλτιστο όριο το 6,85.

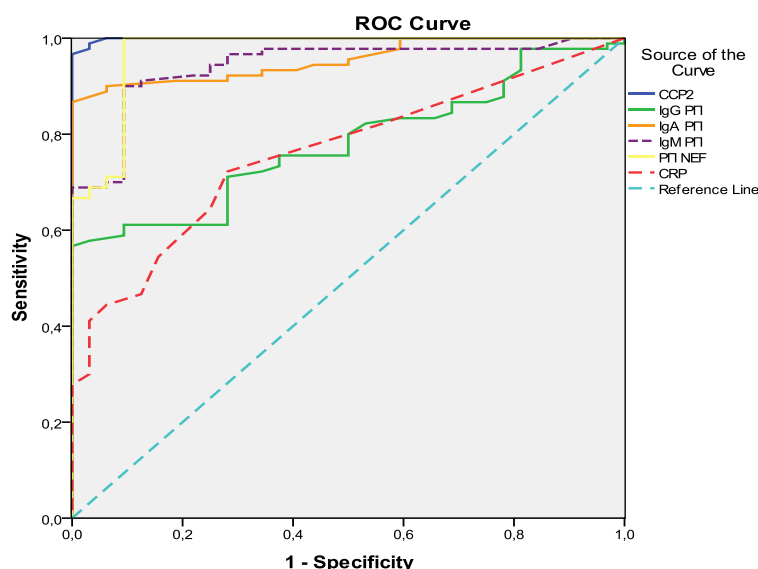
Για τον ΡΠ NEF η ευαισθησία ήταν 100% (96,0-100) με βέλτιστο όριο το 19,5. Ακόμα, για τη CRP η ευαισθησία ήταν 44,4% (34,0 - 55,3) με βέλτιστο όριο το 0,65. Τα αντι-CCP2, IgG ΡΠ, IgA ΡΠ, IgM ΡΠ, ΡΠ NEF και CRP έχουν σημαντική προγνωστική ικανότητα για την PA σε σύγκριση με τους υγιείς. Στον Πίνακα 17 εμφανίζονται αναλυτικά όλα τα αποτελέσματα που αφορούν τα στατιστικά δεδομένα για τη PA σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (υγιή άτομα).

Πίνακας 17. Σύγκριση των παραμέτρων στη PA σε σχέση με την ομάδα ελέγχου

	Βέλτιστο όριο	Ευαισθησία (95% ΔΕ)	Ειδικότητα (95% ΔΕ)	PPV (95% ΔΕ)	NPV (95% ΔΕ)	AUC (95% ΔΕ)
CCP2	29,5	96,7 (90,6-99,3)	100 (89,1-100)	100 (95,9-100)	91,4 (76,9-98,2)	0,99 (0,99-1,00)
IgG ΡΠ	7,25	71,1 (60,6-80,2)	71,9 (53,-86,3)	87,7 (77,9-94,2)	46,9 (32,5-61,7)	0,78 (0,70-0,86)
IgA ΡΠ	6,5	86,7 (77,9-92,9)	100 (89,1-100)	100 (95,4-100)	72,7 (57,2-85,0)	0,96 (0,92-0,99)
IgM ΡΠ	6,85	88,9 (80,5-94,5)	90,6 (75,0-98)	96,4 (89,8-99,3)	74,4 (57,9-87,0)	0,94 (0,90-0,98)
ΡΠ NEF	19,5	100 (96,0-100)	90,6 (75,0-98)	96,8 (90,9-99,3)	100 (88,1-100)	0,97 (0,93-1,00)
CRP	0,65	44,4 (34,0-55,3)	93,8 (79,2-99,2)	95,2 (83,8-99,4)	37,5 (26,9-49,0)	0,76 (0,67-0,85)

Η προγνωστική ικανότητα του ΡΠ NEF ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με αυτή του IgG ΡΠ και της CRP ($p < 0,001$) και ισάξια με την αντίστοιχη προγνωστική ικανότητα των υπολοίπων τάξεων του ΡΠ. Επίσης, η προγνωστική ικανότητα των αντι-CCP2, IgA και IgM ΡΠ ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση από αυτή του IgG ΡΠ και της CRP ($p < 0,05$).

Ελέγχθηκαν οι συσχετίσεις του ΡΠ NEF με τις άλλες παραμέτρους και δεν βρέθηκε να προσφέρουν σημαντική βελτίωση στην προγνωστική ικανότητα του ΡΠ NEF ($p > 0,05$ για όλες τις συγκρίσεις). Στο γράφημα (Εικόνα 12) που ακολουθεί δίνονται οι ROC καμπύλες των παραμέτρων για την πρόγνωση της PA σε σχέση με τους υγιείς.



Εικόνα 12. ROC καμπύλες στην πρόγνωση της PA σε σχέση με τους υγιείς

Η σύγκριση των μέσων τιμών \pm SD των παραμέτρων μεταξύ των ασθενών με πρόσφατη PA (<2 έτη) και αυτών με διάγνωση νόσου > 2 έτη δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά για καμία παράμετρο. Επίσης δεν υπήρξε σημαντική διαφορά στην προγνωστική ικανότητα των παραμέτρων για την πρόσφατη νόσο, όπως φαίνεται από την επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (στα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης περιλαμβάνεται το 0,5). Τα στατιστικά δεδομένα από την σύγκριση αυτών των 2 ομάδων καταγράφονται στον Πίνακα 18.

Πίνακας 18. Στατιστικά δεδομένα των παραμέτρων σε πρόσφατη < 2 έτη PA vs >2 έτη PA

	πρόσφατη νόσος				P Mann- Whitney	AUC (95% ΔΕ)
	όχι		ναι			
	μέση τιμή \pm SD	διάμεσος (Ενδ. εύρος)	μέση τιμή \pm SD	διάμεσος (Ενδ. εύρος)		
CCP2	359,6 \pm 229,2	454,5 (134 -550)	323,1 \pm 238	227,5 (94 -575)	0,688	0,53 (0,39 - 0,66)
IgG PPI	31,1 \pm 35,9	11,7 (7,3 -38,3)	26,5 \pm 33,4	8 (6,1 -30,2)	0,241	0,58 (0,45 - 0,71)
IgA PPI	35,8 \pm 32,2	25,1 (9,9 -53,3)	40,8 \pm 36,8	25 (9,7 -72,7)	0,634	0,47 (0,34 - 0,60)
IgM PPI	59 \pm 39,6	60,4 (12,5 - 100)	46,7 \pm 42	29 (7,1 - 100)	0,160	0,59 (0,46 - 0,73)
PPI NEF	176,3 \pm 201,1	98 (22 - 256)	299,9 \pm 686,3	54,3 (20 - 233)	0,644	0,53 (0,40 - 0,67)
CRP	0,8 \pm 0,9	0,5 (0,2 - 1,2)	1,2 \pm 1,4	0,8 (0,3 - 1,6)	0,274	0,43 (0,30 - 0,56)

Επίσης, ελέγχθηκε η προγνωστική αξία της παρουσίας παθολογικής τιμής σε μια τουλάχιστον από τις τάξεις του ΡΠ, σε σύγκριση με το βέλτιστο όριο 19,5 IU/ml για τον ΡΠ NEF, όπως αυτό προέκυψε από τις μετρήσεις, καθώς και με το εργαστηριακό cut-off των 20 IU/ml.

Στον κάτωθι πίνακα (Πίνακας 19) που ακολουθεί δίνεται η ευαισθησία, η ειδικότητα, η θετική και αρνητική προγνωστική αξία για την ύπαρξη παθολογικής τιμής τουλάχιστον σε μια από τις τάξεις του ΡΠ και αφορούν στην προγνωστική ικανότητά τους για την ΡΑ σε σύγκριση με τους υγιείς.

Πίνακας 19. Σύγκριση του ΡΠ (IgG, IgA, IgM) με ΡΠ NEF (cut-off 19,5 vs 20 IU/ml)

	Ευαισθησία (95% ΔΕ)	Ειδικότητα (95% ΔΕ)	PPV (95% ΔΕ)	NPV (95% ΔΕ)	AUC (95% CI)
παθολογική τιμή IgG, IgA, IgM ΡΠ	96,7 (90,6-99,3)	71,9 (53,3-86,3)	90,6 (83,0-95,6)	88,5 (69,9-97,6)	0,84 (0,76-0,92)
ΡΠ NEF (cut-off : 19,5)	100 (96,0-100)	90,6 (75,0-98,0)	96,8 (90,9-99,3)	100 (88,1-100)	0,97 (0,93-1,00)
ΡΠ NEF (cut-off : 20)	74,4 (64,2-83,1)	90,6 (75,0-98,0)	95,7 (88,0-99,1)	55,8 (41,3-69,5)	0,83 (0,76-0,89)

Η μέτρηση του ΡΠ NEF με cut-off 19,5 IU/ml έχει σημαντικά υψηλότερη προγνωστική αξία σε σύγκριση τόσο με την ύπαρξη παθολογικής τιμής μιας τουλάχιστον τάξεως IgG, IgA ή IgM ΡΠ (p=0,002) όσο και με ΡΠ NEF με cut-off 20 IU/ml (p=0,002).

Με βάση τα cut-off που υπολογίστηκαν από τη ROC ανάλυση, βρέθηκε ότι οι ασθενείς με ΡΑ σε σύγκριση με τους υγιείς, είχαν σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό θετικά αντι-CCP2 αντισώματα και παθολογικές τιμές της CRP καθώς και των τάξεων του ΡΠ.

Τα αποτελέσματα από τη σύγκριση των τιμών των τάξεων IgG, IgA και IgM του ΡΠ στη ΡΑ αλλά και στην ομάδα ελέγχου παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 20).

Πίνακας 20. Συχνότητα και σύγκριση των τάξεων του ΡΠ σε ΡΑ και ομάδα ελέγχου

		ομάδα				P Pearson's χ^2 test
		ελέγχου		ασθενείς ΡΑ		
		N	%	N	%	
αντι-CCP2	αρνητικά	31	96,8	3	3,3	<0,001
	θετικά	1	3,2	87	96,7	
IgG ΡΠ	φυσιολογικές τιμές	23	71,9	26	28,9	<0,001
	παθολογικές τιμές	9	28,1	64	71,1	
IgA ΡΠ	φυσιολογικές τιμές	32	100,0	12	13,3	<0,001
	παθολογικές τιμές	0	0,0	78	86,7	
IgM ΡΠ	φυσιολογικές τιμές	29	90,6	10	11,1	<0,001
	παθολογικές τιμές	3	9,4	80	88,9	
ΡΠ NEF	φυσιολογικές τιμές	29	90,6	0	0,0	<0,001
	παθολογικές τιμές	3	9,4	90	100,0	
CRP	φυσιολογικές τιμές	30	93,8	50	55,6	<0,001
	παθολογικές τιμές	2	6,3	40	44,4	

9.4. Σημασία των τάξεων του ΡΠ στους ασθενείς με ΡΑ

Η σύγκριση των τιμών στους συνδυασμούς των υποτάξεων IgG, IgA, IgM ΡΠ και του ΡΠ NEF (με τα όρια που προέκυψαν από τη ROC ανάλυση) κατέγραψε την παρουσία παθολογικών τιμών και των τεσσάρων δεικτών σε 60 (66,7%) ασθενείς με ΡΑ. Σε όλες όμως τις περιπτώσεις ο ΡΠ NEF ήταν θετικός.

Σε 12 (13,3%) ασθενείς με ΡΑ, ο ΡΠ NEF συνδυαζόταν με παθολογικές τιμές των IgA και IgM ΡΠ, ενώ παθολογική τιμή μόνο στον IgA ΡΠ μετρήθηκε σε 5 (5,6%) ασθενείς. Αναλυτικά τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 21.

Πίνακας 21. Συνδυασμός παθολογικών τιμών του ΡΠ στη ΡΑ

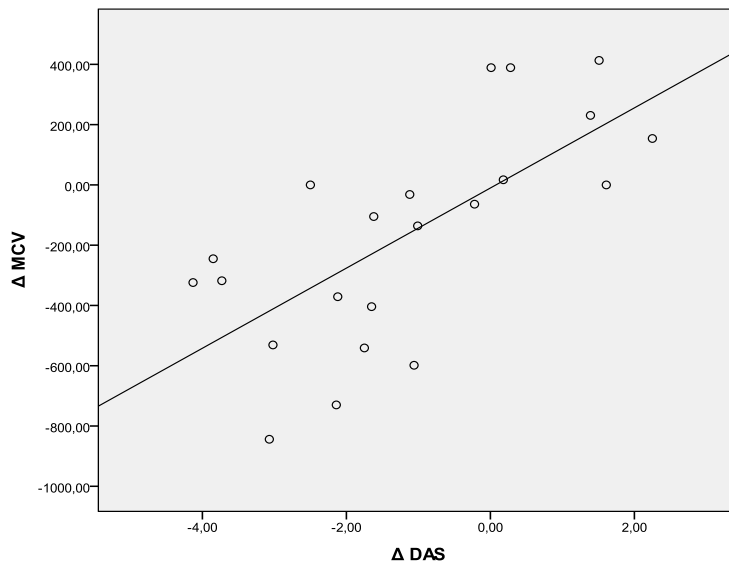
	N	%
ΡΠ ΝΕΦ	3	3,3
IgM+ ΡΠ ΝΕΦ	6	6,7
IgA + ΡΠ ΝΕΦ	5	5,6
IgG + ΡΠ ΝΕΦ	1	1,1
IgA + IgM + ΡΠ ΝΕΦ	12	13,3
IgG + IgM + ΡΠ ΝΕΦ	2	2,2
IgG + IgA + ΡΠ ΝΕΦ	1	1,1
IgA + IgG + IgM + ΡΠ ΝΕΦ	60	66,7

9.5. Μεταβολή επιπέδων των ανοσολογικών δεικτών σε σχέση με DAS28

Στους ασθενείς με ΡΑ ελέγχθηκε επίσης η μεταβολή του DAS28, όπως αυτή καταγράφηκε από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις στους ασθενείς (N=42), και συσχετίστηκε με τις αντίστοιχες μεταβολές στα επίπεδα των αντισωμάτων, του ΡΠ και της CRP.

Η μεταβολή του DAS28 δεν βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με τα επίπεδα των αντι-CCP2, του ΡΠ και της CRP.

Αντίθετα, βρέθηκε σημαντική θετική συσχέτιση της μεταβολής του DAS28 με τη μεταβολή του επιπέδου των αντι-MCV αντισωμάτων ($r=0,69$, $p<0,001$). Έτσι, όσο μεγαλύτερη ήταν η μεταβολή των αντι-MCV τόσο μεγαλύτερη ήταν και η μεταβολή του DAS28, δηλαδή όσο μεγαλύτερη ήταν η μείωση των αντι-MCV, τόσο μεγαλύτερη είναι και η μείωση του DAS28. Το εύρημα αυτό δηλώνει ότι τα επίπεδα των αντι-MCV αντισωμάτων ακολουθούν την ενεργότητα της ΡΑ. Η συσχέτιση αυτή απεικονίζεται στο ακόλουθο γράφημα (Εικόνα 13).



Εικόνα 13. Συσχέτιση μεταβολής των αντι-MCV και DAS28

9.6. Μεταβολή επιπέδων των ανοσολογικών δεικτών σε σχέση με τη θεραπεία

Σε 30 ασθενείς με RA μελετήσαμε την μεταβολή των επιπέδων των αντι-CCP2, των αντι-MCV αντισωμάτων, του ΡΠ και της CRP, σε επαναλαμβανόμενες μετρήσεις και για χρονικό διάστημα 2 ετών. Οι μεταβολές αυτές συγκρίθηκαν με τη θεραπευτική αγωγή που ελάμβαναν οι ασθενείς αυτοί, για το ίδιο χρονικό διάστημα.

Συγκεκριμένα, η θεραπεία όλων των ασθενών (30) που μελετήθηκαν περιελάμβανε νοσοτροποποιητικά φάρμακα (DMARDs). Από αυτούς, οι 18 ελάμβαναν κλασικά DMARDs, μονοθεραπεία με μεθοτρεξάτη (MTX), ενώ οι άλλοι 12 ακολουθούσαν αγωγή με βιολογικό παράγοντα αντι-TNF, σε μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με MTX.

Η μέση μεταβολή των αντι-CCP2, των αντι-MCV, της CRP και του ΡΠ στο χρόνο παρακολούθησης (2 έτη), ανάλογα με τη θεραπεία καταγράφεται στον Πίνακα 22.

Πίνακας 22. Μέση μεταβολή των παραμέτρων με τη θεραπεία

DMARDs	MTX		αντι-TNF/MTX		
N=30	N=18		N=12		
<i>Μεταβολή</i>	<i>Mean</i>	<i>SE</i>	<i>Mean</i>	<i>SE</i>	<i>P</i>
αντι-CCP2	-32,6	45,9	-14,7	57,3	0,092
αντι-MCV	-167,1	109,9	-88,9	101,6	0,608
CRP	0,7	2,6	2,7	3,3	0,635
ΡΠ	50,7	54,8	24,4	64,0	0,764

Ο βαθμός μεταβολής των επιπέδων των αντι-CCP2 και των αντι-MCV αντισωμάτων, της CRP και του ΡΠ, δεν φαίνεται να επηρεάζεται από το θεραπευτικό σχήμα που ακολουθούσαν οι ασθενείς για το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα που μελετήθηκε.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα, η πιο συχνή συστηματική φλεγμονώδης αυτοάνοση νόσος, εμφανίζεται συχνά ως χρόνια διαβρωτική πολυαρθρίτιδα, αποτέλεσμα της διαταραχής ρύθμισης της ανοσιακής απάντησης. Χαρακτηρίζεται από την παρουσία αντισωμάτων, στον ορό και στο αρθρικό υγρό των ασθενών, που στρέφονται έναντι διαφόρων αντιγόνων όπως, συστατικά του χόνδρου, ένζυμα, πρωτεΐνες του πυρήνα και κιτρολλιωμένες πρωτεΐνες. Η σημασία αυτών των αυτοαντισωμάτων σε σχέση με τη διάγνωση, την πρόγνωση και την ενεργότητα της νόσου θα συζητηθούν με βάση τα ευρήματα αυτής της μελέτης και τα δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας.

10.1. Αντιπυρηνικά, αντι-dsDNA, αντι-ENA και αντι-RA33 αντισώματα

Η PA, ως συστηματική αυτοάνοση νόσος, χαρακτηρίζεται από την παρουσία αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA) με μια συχνότητα που κυμαίνεται από 40% έως 60%, δεν αποτελεί όμως κριτήριο κατάταξης της νόσου. Τα τελευταία χρόνια με τη χρήση της αντι-TNFα θεραπευτικής αγωγής παρατηρείται είτε μια ορομετατροπή, από ANA (-) σε ANA (+), των ασθενών με PA είτε αύξηση του τίτλου των ANA, στα πλαίσια του lupus like συνδρόμου που αναπτύσσεται ⁽¹⁴²⁾.

Στη μελέτη μας το ποσοστό των θετικών ANA είναι 58,7%, παρατηρήθηκε δε σε 3 ασθενείς που λαμβάνουν αντι-TNF αγωγή, μεταστροφή από ANA (-) σε ANA (+). Τα αντι-dsDNA αντισώματα βρέθηκαν θετικά σε 4 ασθενείς εκ των οποίων οι 3 λαμβάνουν επίσης αντι-TNF αγωγή. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι τα επίπεδα των αντι-dsDNA αντισωμάτων δεν ήταν υψηλά και δεν υπήρξε περαιτέρω αύξησή τους σε επανειλημμένες μετρήσεις για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 2 ετών από την αγωγή.

Τα αντισώματα έναντι εκχυλιζόμενων αντιγόνων του πυρήνα (αντι-ENA) και συγκεκριμένα τα αντι-Ro (SSA), με ειδικότητα έναντι των Ro52 και Ro60 αντιγονικών επιτόπων, ανιχνεύονται στο 6-12% των ασθενών με PA, συχνότητα που εξαρτάται από τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε και τον πληθυσμό που μελετήθηκε. Κλινικές

μελέτες υποστηρίζουν ότι η παρουσία αυτών των αντισωμάτων πιθανόν να σχετίζεται με εξωαρθρικές εκδηλώσεις, δεν φαίνεται όμως να επηρεάζει την πορεία εξέλιξης της νόσου ούτε την ανταπόκριση στη θεραπευτική αγωγή με βιολογικούς παράγοντες ^(81,187). Τα δικά μας αποτελέσματα συμφωνούν με τη διεθνή βιβλιογραφία καθώς το ποσοστό των αντι-Ro αντισωμάτων ανιχνεύτηκε στο 12,9% των ασθενών με PA. Η παρουσία της Ro52 ειδικότητας στην πλειοψηφία αυτών των ασθενών, φαίνεται να συνοδεύει την ενεργότητα της νόσου όπως αυτή εκφράστηκε με το DAS28, ο μικρός όμως αριθμός αυτών των δειγμάτων δεν μας επιτρέπει ασφαλή στατιστικά αποτελέσματα.

Τα αντι-RA33 αντισώματα στα μέσα της δεκαετίας του '90 ανιχνεύτηκαν σε ποσοστά 30% περίπου στους ασθενείς με PA, με τη μέθοδο της WB. Αν και η παρουσία τους σε υψηλά ποσοστά στον ΣΕΛ και στη ΜΝΣΙ (20% και 50% αντίστοιχα) μειώνει την διαγνωστική τους αξία για τη PA, εντούτοις μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμη παράμετρος κυρίως στα πρώιμα στάδια της νόσου ^(92,103).

Στη δική μας μελέτη τα αντι- RA33 αντισώματα ανιχνεύτηκαν σε ποσοστό 23,9% και με ειδικότητα 76.6% με μέθοδο ELISA, δεν αποτελούν όμως, σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση, ισχυρό διαγνωστικό και προγνωστικό δείκτη για τη PA.

10.2. Ρευματοειδής Παράγοντας

Αν και ο ρευματοειδής παράγοντας περιγράφηκε πρώτος ως ειδικός δείκτης της νόσου, μια σειρά από άλλα αυτοαντισώματα έχουν προσδιοριστεί σε ασθενείς με PA, η κλινική σημασία και ο παθογενετικός ρόλος των οποίων παραμένουν σε μεγάλο βαθμό άγνωστοι. Έτσι, μέχρι σήμερα στην καθημερινή πρακτική εφαρμόζεται ο προσδιορισμός του ΡΠ και των αντι-CCP2, καθώς έχει αναγνωριστεί η κλινική χρησιμότητα τους λόγω της υψηλής ευαισθησίας, ειδικότητας και προγνωστικής αξίας τους για τη PA ⁽⁷⁶⁾. Οι δύο αυτοί ορολογικοί δείκτες έχουν σημαντικό ρόλο τόσο στην πρώιμη διαγνωστική προσέγγιση της PA, όσο και στη διαφοροδιάγνωση από άλλες αρθρίτιδες αποτελούν δε αντικείμενο αναζήτησης και μελέτης στην καθημερινή κλινικο-εργαστηριακή πρακτική ⁽¹⁸⁸⁾.

Ο ΡΠ ανήκει στην οικογένεια των αυτοαντισωμάτων που στρέφονται κατά του Fc τμήματος της IgG ανοσοσφαιρίνης. Εμφανίζεται σε αυξημένα επίπεδα σε αυτοάνοσα (80%) ⁽¹⁸⁹⁾ αλλά και σε μη αυτοάνοσα νοσήματα, όπως χρόνιες λοιμώξεις, σε υγιή νεαρά άτομα (1-4%) ακόμα και υπερήλικα άτομα (30%) χωρίς ΡΑ, με πολυδραστικότητα και χαμηλή όμως χημική συγγένεια ⁽¹⁹⁰⁾. Στη ΡΑ παράγεται τοπικά από τα Β κύτταρα που αναπτύσσονται σε δομές όμοιες των βλαστικών κέντρων και στα λεμφοζύδια του φλεγμαίνοντα αρθρικού υμένα ^(191,192).

Η συχνότητα ανίχνευσης του IgM ΡΠ κυμαίνεται από 60-80% σε ασθενείς με εγκατεστημένη ΡΑ, αλλά σε λιγότερο από 50% στα πρώιμα στάδια της νόσου, ⁽¹⁹³⁾ η δε ειδικότητα, ανάλογα με τον πληθυσμό που μελετήθηκε και τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του, ανέρχεται στο 50-95% ^(194,195). Οι Nishimura και συν. σε μια μετα-αναλυτική μελέτη τους καταγράφουν παρόμοια στατιστικά δεδομένα (ευαισθησία, ειδικότητα, likelihood ratio) για όλες τις μεθόδους (latex, ELISA, νεφελομετρία) που χρησιμοποιήθηκαν στον προσδιορισμό όλων των τάξεων (IgM, IgG, IgA) του ΡΠ ⁽¹⁹⁶⁾.

Ο ΡΠ NEF στη μελέτη μας εμφανίζει ειδικότητα 74,1% σε σχέση με άλλα μη ΡΑ αυτοάνοσα ή φλεγμονώδη νοσήματα, 90,6% όταν συγκρίθηκε με υγιή πληθυσμό ενώ η PPV είναι 86,2% και 96,8%, αντίστοιχα. Η προγνωστική ικανότητα του ΡΠ καταγράφεται σημαντική τόσο για τη ΡΑ σε σύγκριση με άλλα μη ΡΑ νοσήματα, όσο και για την εξέλιξη του Πολυαρθρικού Συνδρόμου σε ΡΑ, μέσα στους πρώτους 6 μήνες από την αρχική διάγνωση, υπολείπεται όμως της προγνωστικής ικανότητας των αντι-CCP2. Αντίθετα, η προγνωστική αξία του ΡΠ NEF είναι ισάξια των αντι-CCP2 όταν συγκρίθηκε με τα υγιή άτομα, γεγονός που επιβεβαιώνει την χρησιμότητά του ως εξέταση βασικού ελέγχου στην προσέγγιση της ΡΑ καθώς έχει λιγότερο κόστος, εκτελείται άμεσα και σε αυτόματο αναλυτή που σήμερα διαθέτουν όλα τα μεγάλα εργαστήρια.

Ο προσδιορισμός των τάξεων IgM, IgA και IgG του ΡΠ με ELISA και η σύγκριση των μέσων τιμών \pm SD, μεταξύ των ασθενών με πρόσφατη ΡΑ (<2 έτη) και αυτών με

διάγνωση νόσου > 2έτη δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά για καμία παράμετρο. Παρ' όλα αυτά, αξίζει να σημειωθεί η παρουσία σε 5,6% των ασθενών (αφορά ασθενείς με πρόσφατη νόσο), μόνο του IgA ΡΠ εύρημα που συμφωνεί με τη βιβλιογραφία όπου αναφέρεται η παρουσία κυρίως του IgA ΡΠ από τα πρώιμα στάδια της νόσου. Επίσης υψηλοί τίτλοι IgM αλλά κυρίως IgA ΡΠ έχουν συσχετιστεί με την παρουσία υποδόριων οζιδίων, διαβρωτικών οστικών βλαβών, εξωαρθρικών εκδηλώσεων και πτωχή πρόγνωση, αποτελούν δε ένδειξη συμμετοχής του ΡΠ στην παθογένεια της νόσου ⁽¹⁹⁷⁾. Σύμφωνα λοιπόν με την European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT), ο ΡΠ σημειώνεται και ως σημαντικός προγνωστικός δείκτης για την ταυτοποίηση της βαριάς ΡΑ ⁽¹⁹⁸⁾.

Ένα επιπλέον στοιχείο που προκύπτει από τη μελέτη μας αυτή είναι ότι η μέτρηση με νεφελομετρία του ΡΠ ΝΕΦ με cut-off 19,5 IU/ml έχει σημαντικά υψηλότερη προγνωστική αξία σε σύγκριση τόσο με την ύπαρξη παθολογικής τιμής μιας τουλάχιστον τάξεως IgG, IgA ή IgM ΡΠ, όσο και με ΡΠ ΝΕΦ με cut-off 20 IU/ml.

Τα τελευταία χρόνια με τη χρήση των βιολογικών θεραπειών σε ασθενείς με ΡΑ που δεν ανταποκρίνονται στα νοσοτροποποιητικά αντιρευματικά φάρμακα, γίνεται προσπάθεια να εκτιμηθεί η ανταπόκριση στην αγωγή και η ύφεση της νόσου με τις μεταβολές των επιπέδων του ΡΠ. Έτσι οι Bruns και συν. σε πρόσφατη μελέτη τους, που περιελάμβανε 36 ασθενείς με μακροχρόνια ΡΑ και αντι-TNF (infliximab) θεραπεία, καταγράφουν μείωση των επιπέδων του IgM ΡΠ, η αλλαγή όμως αυτή δεν συσχετίζεται με τη θεραπευτική ανταπόκριση, σύμφωνα με τα κριτήρια EULAR (DAS28), μετά από αγωγή 48 εβδομάδων ⁽¹⁴²⁾. Οι μεταβολές των επιπέδων του ΡΠ ΝΕΦ και στη δική μας μελέτη, δεν φαίνεται να επηρεάζονται από το θεραπευτικό σχήμα που ακολουθούν οι ασθενείς όπως επίσης δεν ακολουθούν και τις μεταβολές του DAS28.

10.3. Αντι-CCP αντισώματα

Η παρουσία των αντι-CCPs αντισωμάτων αποτελεί σήμερα ένα σημαντικό εργαλείο για τους κλινικούς γιατρούς αναφορικά με τη διάγνωση της ΡΑ αλλά και την απόφαση για άμεση θεραπευτική παρέμβαση από τα πρώιμα ακόμα στάδια της νόσου, για τους εξής κυρίως λόγους:

Πρώτον, τα αντι-CCP αντισώματα έχουν υψηλή ειδικότητα για τη PA, παράγονται σε σημαντικά υψηλά επίπεδα από την αρχή της νόσου, παρατηρούνται δε και αρκετά χρόνια πριν την εκδήλωση των κλινικών συμπτωμάτων ^(92,137).

Δεύτερον, ένας μεγάλος αριθμός ασθενών με πρώιμη αρθρίτιδα δεν μπορεί να διαγνωστεί με ακρίβεια κατά την πρώτη επίσκεψη στον κλινικό γιατρό και ως εκ τούτου, συχνά αναφέρεται ως «αδιαφοροποίητη» (undifferentiated) αρθρίτιδα. Από αυτούς τους ασθενείς, περίπου το 90% όσων είναι αντι-CCP (+) αναπτύσσουν PA σε διάστημα 3 χρόνων ενώ αυτό συμβαίνει μόνο στο 30% των αντι-CCP (-). Έτσι, γίνεται φανερό ότι η παρουσία των αντι-CCP σε «αδιαφοροποίητη» αρθρίτιδα προβλέπει σχεδόν με ακρίβεια την εξέλιξη μιας αδιαφοροποίητης αρθρίτιδας σε PA ⁽¹⁹⁹⁾.

Τρίτον, η παρουσία των αντι-CCP, από τα πρώιμα στάδια της νόσου, προβλέπει την ακτινολογική εξέλιξη όπως αποδεικνύεται από πολλές μελέτες, που έχουν δείξει ισχυρή συσχέτιση των αντι-CCP με την ανάπτυξη οστικών διαβρώσεων ⁽²⁰⁰⁾.

Τέταρτον, μεγαλύτερη διήθηση του αρθρικού υμένα από λεμφοκύτταρα αλλά και περισσότερα βλαστικά κέντρα ανευρίσκονται σε αντι-CCP (+) ασθενείς, ενώ ίνωση του αρθρικού υμένα με πάχυνση του αρθρικού στρώματος παρατηρείται στους αντι-CCP (-) ασθενείς με PA. Το γεγονός αυτό αναδεικνύει τον ιδιαίτερο ρόλο των αντι-CCP στην παθογένεια της νόσου ⁽²⁰¹⁾.

Παράλληλα, προωθείται η άποψη ότι ο ΡΠ και τα αντι-CCP αντισώματα αποτελούν τμήματα δύο ξεχωριστών συστημάτων αντισωμάτων, εκπροσωπώντας διαφορετικές αλλά αλληλεπικαλυπτόμενες φυσιολογικές διεργασίες, όπου τα επίπεδα του ΡΠ μειώνονται με την χρήση αντι-TNF θεραπείας, ενώ αυτά των αντι-CCP παραμένουν ανεπηρέαστα ^(202,203).

Εν κατακλείδι, αν και κατά την έναρξη της νόσου και στις δύο υποομάδες της PA τα κλινικά χαρακτηριστικά μπορεί να είναι παρόμοια, η αντι-CCP (+) PA συνδέεται σημαντικά με χειρότερη πρόγνωση από αυτή της αντι-CCP (-) PA. Τα δεδομένα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η παρουσία αντι-CCP έχει σημαντική επίδραση και στην επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής αγωγής καθώς αναφέρεται η ευεργετική

δράση της έγκαιρης θεραπείας ακόμα και όταν οι ασθενείς δεν πληρούν όλα τα άλλα, κατά ACR, κριτήρια της νόσου ⁽²⁰⁴⁾.

Τα αντι-CCP αντισώματα, γνωστά ως αντι-περιπυρηνικός παράγοντας αρχικά ή αντι-κερατίνης αντισώματα αργότερα, στρέφονται έναντι κυκλικών κιτρουλλιωμένων πρωτεϊνών όπως η φιλαγγρίνη, το ινωδογόνο και η βιμεντίνη ⁽²⁰⁵⁾. Η φιλαγγρίνη, εκχυλισμένη από ανθρώπινη επιδερμίδα ή ανασυνδιασμένη in vitro, ήταν η πρώτη πρωτεΐνη που χρησιμοποιήθηκε στις αρχές του 20^{ου} αιώνα ως αντιγόνο για την ανάπτυξη μιας ELISA, που όμως δεν βρήκε εφαρμογή στην καθημερινή πρακτική, λόγω της ετερογένειάς της και της έλλειψης προτυποποίησης.

Λίγο αργότερα όμως, ο σχεδιασμός από τους Schellekens και συν. ενός συνθετικού κυκλικού πεπτιδίου άνοιξε το δρόμο στους Van Venrooij και συν. να αναπτύξουν την αντι-CCP2 ELISA, που είναι ακόμα και σήμερα η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέχρι σήμερα τεχνική στην κλινική πρακτική ^(206,207). Η πρώτης γενιάς ELISA ανιχνεύει τα αντισώματα με ευαισθησία 60-70% και ειδικότητα περίπου 85% για τη PA ενώ η δεύτερης γενιάς, που χρησιμοποιεί συνθετικό πεπτίδιο με δακτυλιοειδή δομή, αύξησε την ειδικότητα σε 95-98% χωρίς να επηρεάζει την ευαισθησία. Η εμφάνιση τρίτης γενιάς ELISA, αντι-CCP3 καθώς και αντι-CCP3.1 (ανιχνεύει και τάξεως IgA αντισώματα) δεν φαίνεται να διαφοροποιεί σημαντικά τα στατιστικά μεγέθη δηλαδή την ειδικότητα, ευαισθησία και προγνωστική αξία των αντι-CCP2 αντισωμάτων, όπως φάνηκε τόσο από τα δικά μας αποτελέσματα όσο και από τα δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας.

Σε αντίθεση με το ΡΠ, τα αντι-CCP2 εμφανίζουν μια καλά αποδεδειγμένη, υψηλή ειδικότητα για τη PA. Στη δική μας μελέτη η ειδικότητα τους καταγράφεται στο 100% σε σύγκριση με υγιείς και στο 81,5% σε σύγκριση με μη PA ασθενείς. Σε μετα-ανάλυση 144 ανεξάρτητων μελετών, σχετικών με τη PA και τα αντι-CCP2, ο Van Venrooij και συν. ανασκοπεί τη διαγνωστική αξία τους. Η ειδικότητα των αντι-CCP2 σε σύγκριση με φυσιολογικούς μάρτυρες, αγγίζει το 99%, ενώ σε σύγκριση με μη PA ασθενείς είναι 94.2%. Η ευαισθησία για εγκατεστημένη PA ανέρχεται στο 75.2% ενώ είναι χαμηλότερη, περίπου στο 61% όταν πρόκειται για πρόσφατη νόσο ⁽²⁰⁸⁾.

Εκτός από την πρόσφατη αναγνώρισή τους ως διαγνωστικό κριτήριο στη ΡΑ, παρέχουν μια χρήσιμη κλινική πληροφορία για τη διαφορική διάγνωση της ΡΑ από άλλα νοσήματα του συνδετικού ιστού που εκδηλώνουν παρόμοια συμπτώματα όπως, ο (ΣΕΛ), οι ΟΣ (ψωριασική, αγκυλοποιητική), τα ΙΦΝΕ. Πράγματι, οι ROC καμπύλες των μετρήσεων της μελέτης μας, αποδίδουν την υψηλότερη προγνωστική ικανότητα στα αντι-CCP2 αντισώματα, για τη ΡΑ σε σχέση με τα ανωτέρω νοσήματα, αλλά και σε σχέση με τους υγιείς.

Τα αντι-CCP2 ανιχνεύονται στον ορό ασθενών με ΡΑ σε όλα τα στάδια της νόσου, στην προκλινική φάση, στην πρώιμη αλλά και στην εγκατεστημένη μορφή της. Όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα, η παρουσία των αντι-CCP σε ΠΣ συνδυάζεται με υψηλή προγνωστική ικανότητα για εξέλιξη σε ΡΑ. Επίσης και ενώ σε ασθενείς με αδιαφοροποίητη αρθρίτιδα μπορεί να υποδεικνύει τον κίνδυνο ανάπτυξης ΡΑ με ένα λόγο πιθανοτήτων (odds ratio-OR) στο 25, όπως καταγράφεται σε μελέτη των Raptopoulou και συν.,⁽²⁰⁹⁾ η μη ανεύρεσή τους σε ασθενείς με αρθρίτιδα που εμμένει για περισσότερο από 4 εβδομάδες, δεν αποκλείει την εξέλιξη σε ΡΑ.

Αξίζει να σημειωθεί ότι στους ΡΠ (-) ασθενείς τα αντι-CCP2 εμφανίζουν ευαισθησία 35%-80% και ειδικότητα πάνω από 90% συγκριτικά με μη ΡΑ ασθενείς. Επίσης, συσχετίζονται με πτωχή πρόγνωση αναφορικά με τις ακτινογραφικές αλλοιώσεις των αρθρώσεων και τη λειτουργική εξέλιξη αυτών των ασθενών. Επιπλέον, υπάρχουν μελέτες που καταγράφουν την προγνωστική τους αξία στην εξέλιξη μιας «αδιαφοροποίητης αρθρίτιδας» σε ΡΑ⁽²¹⁰⁾ ενώ ο Chibnick και συν. υποστηρίζουν ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση των υψηλών συγκεντρώσεων των αντι-CCP2 με την μείωση του χρονικού διαστήματος για τη διάγνωση της νόσου⁽²¹¹⁾.

Όπως προκύπτει από πρόσφατες κλινικές μελέτες, ο προσδιορισμός των αντι-CCP2 αποτελεί σημαντικό δείκτη επιλεκτικής αναγνώρισης ασθενών με ΡΑ, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις με ΡΠ σε φυσιολογικά επίπεδα⁽²¹²⁾. Επιπρόσθετα, υποστηρίζεται η υπόθεση ότι οι ασθενείς με ΡΑ που είναι θετικοί ή αρνητικοί για αντι-CCP αποτελούν στην ουσία υποσύνολα του συνδρόμου με διαφορετικό όμως γενετικό

υπόβαθρο, διαφορετική συμπεριφορά και κλινική εκδήλωση κατά την εξέλιξη της νόσου. Υπάρχει δε περαιτέρω διαφοροποίηση των αντι-CCP (+) σύμφωνα με τα επίπεδα αλλά και τον ισότυπο των αντισωμάτων στον ορό ⁽²¹³⁾.

Παράλληλα, η μέτρηση των επιπέδων των αντι-CCP χρησιμοποιείται ως προγνωστικός δείκτης της πορείας της νόσου και του βαθμού της επικείμενης οστικής διάβρωσης. Οι υψηλοί τίτλοι τους στον ορό, κυρίως των ασθενών που φέρουν τον «κοινό επίτοπο», σε συνδυασμό με άλλα κλινικά κριτήρια που σχετίζονται με αυξημένη δραστηριότητα της νόσου (DAS), διαχωρίζουν επαρκώς τη διαβρωτική από τη μη διαβρωτική μορφή της ΡΑ, τεκμηριώνοντας έτσι το σημαντικό ρόλο τους στην πρώιμη διάγνωση της νόσου ⁽²¹⁴⁾. Το γεγονός ότι στα δικά μας αποτελέσματα δεν καταγράφεται σημαντική συσχέτιση της μεταβολής του DAS28 με τα επίπεδα των αντι-CCP2 πιθανόν να οφείλεται στη μη διάκριση των ασθενών μας σύμφωνα με την παρουσία ή όχι του «κοινού επιτόπου ή του βαθμού της οστικής διάβρωσης.

Παρά τον μεγάλο αριθμό δημοσιευμένων εργασιών αναφορικά με το ρόλο των αντι-CCP στην παρακολούθηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης στη ΡΑ, τα στοιχεία που προκύπτουν από τη μέτρηση των επιπέδων των αντι-CCP και του ΡΠ, παραμένουν αντιφατικά. Οι περισσότερες μελέτες υποστηρίζουν ότι, αξιοσημείωτες μειώσεις των επιπέδων των αντι-CCP παρατηρούνται μετά από θεραπεία με αντι-TNF με ή χωρίς MTX μόνο σε ασθενείς με πρόσφατη νόσο (<1χρόνο). Σε ασθενείς με χρόνια εγκατεστημένη ΡΑ παρατηρείται σταδιακή μείωση των επιπέδων του ΡΠ που σχετίζεται και με την κλινική βελτίωση, ενώ στα επίπεδα των αντι-CCP δεν σημειώνεται μείωση ή μερική μόνο, σε βαθμό όμως που να μην σχετίζεται ούτε με την θεραπευτική αγωγή ούτε με την εξέλιξη της νόσου ⁽²¹⁵⁾. Πράγματι, σύμφωνα και με τα δικά μας αποτελέσματα, ο βαθμός μεταβολής των αντι-CCP2 δεν φαίνεται να επηρεάζεται από το θεραπευτικό σχήμα (MTX ή αντι-TNF/MTX) που ακολουθούσαν οι ασθενείς για το χρονικό διάστημα 2 ετών που μελετήθηκε.

Συγκρίνοντας τους δύο αυτούς δείκτες και βασιζόμενοι στο πλήθος των μετα-αναλύσεων που έχουν πραγματοποιηθεί, προκύπτει η υπεροχή των αντι-CCP σε σχέση με τον ΡΠ ως προς την χρήση τους στην πρόβλεψη της νόσου και την πρόγνωση της πορείας της. Τα πρώτα εμφανίζονται να έχουν μεγαλύτερη

ευαισθησία και ειδικότητα σε καμία όμως περίπτωση δεν πρέπει να υποτιμηθεί η χρησιμότητα του ΡΠ. Η παρουσία και των δύο αποτελεί ισχυρή ένδειξη για τη ΡΑ αφού αυξάνουν την PPV κοντά στο 100% ενώ η PPV για τον κάθε δείκτη μεμονωμένα είναι σαφώς μικρότερη ⁽²¹⁶⁾.

10.4. Αντι-MCV αντισώματα

Η κιτρουλλιωμένη βιμεντίνη έχει περιγραφεί ως το σημαντικότερο αυτοαντιγόνο που εκφράζεται στον αρθρικό υμένα, ταυτόσημο με το ήδη γνωστό αντιγόνο Sa, από το όνομα του Savoie του πρώτου ασθενούς στον οποίο προσδιορίστηκε. Τα αντι-Sa αντισώματα εμφανίζουν υψηλή ειδικότητα >98%, περιορισμένη ευαισθησία 22-40%, αλλά υψηλή προγνωστική αξία 84-99% για την ΡΑ. Πρόσφατα σχεδιάστηκε και κυκλοφόρησε μια νέα ELISA που χρησιμοποιεί σαν αντιγόνο μεταλλαγμένη κιτρουλλιωμένη βιμεντίνη (mutated citrullinated vimentin-MCV), με σχεδόν την ίδια διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα με τα αντι-CCP2 ⁽²¹⁷⁾.

Πράγματι, οι Bang και συν. ⁽¹⁷³⁾ σε μελέτη των αντι-MCV αντισωμάτων σε 1151 ασθενείς με ΡΑ, καταγράφουν περίπου ίδια ποσοστά, με τα αντι-CCP2, ειδικότητας (98%), ευαισθησίας 82%, αλλά και σημαντική συσχέτιση των επιπέδων τους με τη δραστηριότητα και τη βαρύτητα της νόσου. Επιπλέον, σε πρόσφατη μελέτη των Usum και συν. ⁽¹⁷⁴⁾ αναφέρονται σημαντικά ποσοστά ευαισθησίας (59%), ειδικότητας (92%) αλλά και θετικής προγνωστικής αξίας (96%) των αντι-MCV αντισωμάτων στα πρώιμα στάδια της νόσου. Επίσης, οι Mathsson και συν. ⁽¹⁷⁵⁾ προσδιορίζοντας τα επίπεδα των αντι-CCP και αντι-MCV αντισωμάτων σε 273 ασθενείς με ΡΑ, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι, σε αντίθεση με τα αντι-CCP, τα αντι-MCV σχετίζονται και με ενεργότητα της νόσου αλλά και με οστικές διαβρώσεις στον ακτινολογικό έλεγχο.

Τα αποτελέσματα της δικής μας μελέτης, σε ότι αφορά τα αντι-MCV αντισώματα, καταδεικνύουν ευαισθησία 83%, την υψηλότερη ειδικότητα 83,3%, και ισάξια προγνωστική ικανότητα των αντι-MCV αντισωμάτων με αυτή των αντι-CCP2 για τη ΡΑ σε σχέση με τα μη ΡΑ νοσήματα. Επιπλέον, η μεταβολή των επιπέδων τους δεν φαίνεται να επηρεάζεται από το θεραπευτικό σχήμα, βρέθηκε όμως σημαντική

θετική συσχέτιση της μεταβολής του DAS28 με τη μεταβολή του επιπέδου των αντι-MCV αντισωμάτων ($r=0,69$, $p<0,001$). Έτσι, μέχρι σήμερα ίσως είναι και ο μοναδικός αξιόπιστος δείκτης για την παρακολούθηση της δραστηριότητας της νόσου, απαραίτητο εργαλείο για τον κλινικό γιατρό στη λήψη αποφάσεων αναφορικά με τη διατήρηση ή τροποποίηση του θεραπευτικού σχήματος για τον ασθενή με RA.

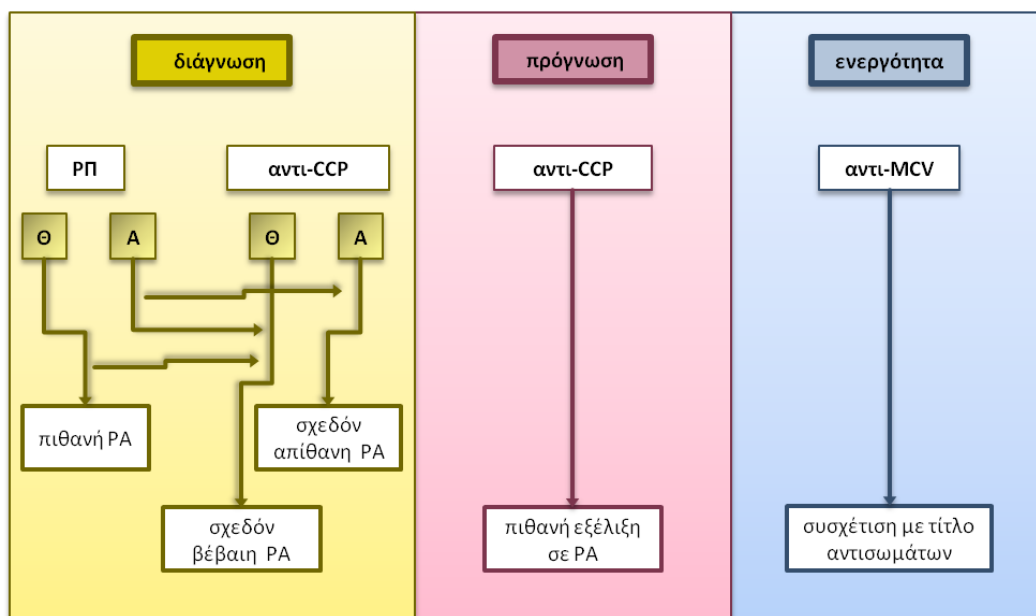
10.5. Συμπεράσματα

Την τελευταία δεκαετία οι θεραπευτικές επιλογές για τη RA εξελίχθηκαν θεαματικά. Εστιάζουν στην πρώιμη παρέμβαση με επιθετική αγωγή που σκοπό έχει τον περιορισμό της φλεγμονώδους αντίδρασης και την αποτροπή έτσι της μη αναστρέψιμης αρθρικής βλάβης ⁽²¹⁸⁾. Η κλινική εξέταση, οι ανοσολογικοί δείκτες και τα απεικονιστικά ευρήματα, συνεκτιμούνται για την τελική διάγνωση της RA. Πολύ συχνά όμως οι κλινικές εκδηλώσεις δεν επαρκούν για την προσέγγιση της πρώιμης κυρίως RA εξαιτίας της ετερογένειάς της. Πράγματι τα κλινικά ευρήματα, σύμφωνα με τα ACR κριτήρια, εμφανίζουν ευαισθησία 77-80% και ειδικότητα 33-77% για τη διάγνωση αλλά και την εξέλιξη της νόσου ⁽²¹⁹⁾.

Εντούτοις, η έναρξη της θεραπείας χωρίς σαφώς καθορισμένη τη διάγνωση της RA, αντενδείκνυται στο 1/2 περίπου των ασθενών με «αδιαφοροποίητη αρθρίτιδα», καθώς είναι αρκετά τοξική και δαπανηρή ⁽²²⁰⁾. Για τους λόγους αυτούς, η επιστημονική κοινότητα εστιάζει το ενδιαφέρον της στην αναζήτηση ειδικών και ευαίσθητων για τη νόσο παραμέτρων, ο προσδιορισμός των οποίων μπορεί εύκολα να πραγματοποιείται στα κλινικά εργαστήρια. Τα δικά μας ευρήματα σε Έλληνες ασθενείς με RA, κινούνται προς αυτή την κατεύθυνση και επιβεβαίωσαν τα δεδομένα που καταγράφονται μέχρι σήμερα στη διεθνή βιβλιογραφία. Σύμφωνα λοιπόν με αυτά, τα αντι-CCP2 αντισώματα εμφανίζουν την υψηλότερη προγνωστική ικανότητα για τη RA τόσο σε σχέση με άλλα μη RA νοσήματα, όσο και σε σχέση με τους υγιείς. Σημαντική επίσης καταγράφεται η προγνωστική ικανότητα του ΡΠ τόσο για τη RA σε σύγκριση με άλλα μη RA νοσήματα, όσο και για την εξέλιξη του Πολυαρθρικού Συνδρόμου σε RA, μέσα στους πρώτους 6 μήνες. Έτσι και οι δύο παράμετροι φαίνεται να αποτελούν αξιόλογους δείκτες για την πρόγνωση, τη διάγνωση αλλά και την πρόβλεψη της εξέλιξης της νόσου.

Επιπλέον, η υψηλότερη ειδικότητα (83,3%) των αντι-MCV αντισωμάτων για τη PA σε σχέση με τα μη PA νοσήματα, καθώς και η θετική συσχέτιση της μεταβολής του DAS28 με τη μεταβολή του επιπέδου των αντι-MCV αντισωμάτων, τα αναδεικνύει, σύμφωνα με τα μέχρι σήμερα δεδομένα, ως μοναδικό αξιόπιστο δείκτη για την παρακολούθηση της ενεργότητας της νόσου.

Η πορεία της PA ποικίλει σημαντικά καθώς σε άλλους ασθενείς διαδράμει ήπια και αργά, συχνά δε αποτελεί ένα τοπικό φαινόμενο, σε άλλους όμως εξελίσσεται ραγδαία με αρθρική και εξωαρθρική εντόπιση. Έτσι, σήμερα οι προσπάθειες που έχουν επικεντρωθεί στην ανάδειξη ειδικών βιοδεικτών για τη διάγνωση και τη πρόγνωση της νόσου, οδηγούν και στη κατάρτιση αλγορίθμων για τη βέλτιστη διαχείριση (μεγαλύτερο όφελος με το μικρότερο κόστος) όλων αυτών των κλινικών, ανοσολογικών, γενετικών και απεικονιστικών πληροφοριών. Έτσι, προτείνεται ο κάτωθι αλγόριθμος, την αποτελεσματικότητα του οποίου καλούμαστε να εκτιμήσουμε μετά από την εφαρμογή του σε καλά μελετημένες πληθυσμιακές ομάδες ασθενών με PA, πάντα στα πλαίσια της συνεργασίας των κλινικών και των εργαστηριακών γιατρών, με απώτερο στόχο το βέλτιστο αποτέλεσμα για τον ασθενή (Εικόνα 14).



Εικόνα 14. Αλγόριθμος για την αναζήτηση και αξιολόγηση των ανοσολογικών δεικτών στη PA

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ), η πιο κοινή φλεγμονώδης αυτοάνοση διαταραχή, χαρακτηρίζεται από προοδευτική καταστροφή των αρθρώσεων, ως αποτέλεσμα της χρόνιας υμενίτιδας. Η σοβαρή ανικανότητα και η σημαντική υποβάθμιση της ποιότητας της ζωής των ασθενών, αποτελούν συχνές συνέπειες της νόσου, υποδεικνύουν δε ότι η πρόληψη της μη αναστρέψιμης βλάβης των αρθρώσεων, θα πρέπει να είναι ο κύριος θεραπευτικός στόχος. Η βέλτιστη όμως θεραπευτική στρατηγική, η οποία θα πρέπει να ξεκινά όσο το δυνατόν νωρίτερα, προϋποθέτει την πρόσβαση σε κατάλληλα διαγνωστικά και προγνωστικά εργαλεία.

Το 1987, το Αμερικάνικο Κολέγιο Ρευματολογίας (ACR) θέσπισε κριτήρια για την ταξινόμηση της ΡΑ και συμπεριέλαβε ως μοναδικό ορολογικό δείκτη, τον Ρευματοειδή Παράγοντα (ΡΠ), η παρουσία του οποίου όμως στερείται ειδικότητας και έχει χαμηλή ευαισθησία κυρίως στα πρώιμα στάδια της νόσου.

Έτσι το ενδιαφέρον στράφηκε στην αναζήτηση και άλλων δεικτών με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, κατάλληλων τόσο για τη διάγνωση όσο και για την παρακολούθηση της πορείας της νόσου. Τα αντισώματα που στρέφονται έναντι των κιτρουλλιωμένων πρωτεϊνών/πεπτιδίων (αντι-CCPs) φαίνεται να εκπληρώνουν αυτές τις απαιτήσεις και από το 2010, σύμφωνα και με τις οδηγίες των ACR / EULAR, έχουν συμπεριληφθεί στα κριτήρια ταξινόμησης της ΡΑ.

Σκοπός

Σκοπός λοιπόν της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός και η αξιολόγηση ορολογικών και ανοσολογικών παραμέτρων σε Έλληνες ασθενείς με ΡΑ και η εκτίμηση του ρόλου τους στη διάγνωση της ΡΑ ή/και στη πρόβλεψη εξέλιξης μιας αρθρίτιδας, σε ΡΑ. Επιπλέον, η διερεύνηση της αξίας τους στην πρόγνωση της πορείας της νόσου καθώς και στην ανταπόκριση στα νέα θεραπευτικά σχήματα (βιολογικούς ή μη παράγοντες). Επίσης, στόχο μας αποτελεί ο σχεδιασμός ενός αλγορίθμου στη αναζήτηση αλλά και αξιολόγηση αυτών των παραμέτρων, με δυνατότητα εφαρμογής στην καθημερινή κλινική πρακτική.

Ασθενείς και Μέθοδοι

Η μελέτη συμπεριλαμβάνει δείγματα από 426 ασθενείς, εκ των οποίων οι 278 (64,4%) με διάγνωση ΡΑ (Ομάδα Α) και οι 148 (34,6%) με διάγνωση άλλου, εκτός ΡΑ, αυτοάνοσου ή ανοσολογικής φύσεως νόσημα (Ομάδα Β) και συγκεκριμένα, 31 με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ), 4 με Μικτή Νόσο του Συνδετικού Ιστού (ΜΝΣΙ), 47 με Πολυαρθρικό Σύνδρομο (ΠΣ), 36 με Οροαρνητικές Σπονδυλοαρθροπάθειες (ΟΣ) καθώς και 30 ασθενείς με Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νοσήματα του Εντέρου (ΙΦΝΕ). Επιπλέον, 32 δείγματα υγιών ατόμων (αιμοδότες), αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου.

Επίσης, μια ξεχωριστή κατηγορία μελέτης αποτέλεσαν 47 ασθενείς με αρχική διάγνωση Πολυαρθρικού Συνδρόμου, 17 (36,2%) εκ των οποίων ανέπτυξαν ΡΑ σε χρονικό διάστημα 6 μηνών από την πρώτη επίσκεψη στον κλινικό γιατρό.

Οι εργαστηριακοί παράμετροι που αναζητήθηκαν στα δείγματα των ασθενών αφορούσαν τα επίπεδα του Ρευματοειδούς Παράγοντα (ΡΠ), της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και των C3, C4 παραγόντων του συμπληρώματος, με νεφελομετρία, ενώ προσδιορίστηκαν οι τίτλοι των αντιπυρηνικών (ANA) και των έναντι διπλής έλικας DNA αντισωμάτων (αντι-dsDNA) με έμμεσο ανοσοφθορισμό, τα επίπεδα των αντι-dsDNA με ραδιοανοσολογική μέθοδο-RIA, τα αντισώματα έναντι εκχυλιζόμενων αντιγόνων του πυρήνα (αντι-ENA) με ELISA και ανοσοαποτύπωση, ενώ τα αντι-RA33, αντι-CCP2, αντι-CCP3.1 και αντι-MCV αντισώματα καθώς και τα επίπεδα των τάξεων IgG, IgA και IgM του ΡΠ, με ELISA.

Οι μέσες τιμές (mean), οι τυπικές αποκλίσεις (Standard Deviation=SD), οι διάμεσοι (median) και τα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (interquartile range) χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποσοτικών μεταβλητών, οι απόλυτες (N) και οι σχετικές (%) για την περιγραφή των ποιοτικών μεταβλητών, ενώ για τη σύγκριση αναλογιών χρησιμοποιήθηκε το Pearson's χ^2 test ή το Fisher's exact test. Για τη σύγκριση ποσοτικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε το μη παραμετρικό κριτήριο Mann-Whitney και για την εκτίμηση της προγνωστικής αξίας των αντισωμάτων χρησιμοποιήθηκε ROC καμπύλη από την οποία υπολογίστηκε η επιφάνεια (AUC) με

το 95% διάστημα εμπιστοσύνης της (95%CI). Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα στατιστικά προγράμματα SPSS 18.0 και STATA 8.0.

Αποτελέσματα

1. Η σύγκριση των ευρημάτων μεταξύ των ασθενών των ομάδων A και B έδωσε τα κάτωθι αποτελέσματα:

α. Η παρουσία θετικών ANA και αντι-RA33 αντισωμάτων καθώς και παθολογικών τιμών CRP δεν φαίνεται να διαφέρει σημαντικά μεταξύ των ασθενών των 2 ομάδων, $p=0,536$, $0,410$ και $0,559$, αντίστοιχα.

β. Θετικά αντι-ENA ανιχνεύτηκαν σε 47 (16,8%) από τα 279 δείγματα που μελετήθηκαν. Δεν βρέθηκε όμως κάποια σημαντική διαφορά στα ποσοστά των θετικών αντι-Ro (SSA) αντισωμάτων στις 2 ομάδες μελέτης ($p=0.804$). Η αναζήτηση όμως της ειδικότητας των αντι-Ro (SSA) αντισωμάτων, έναντι των δύο αντιγονικών επιτόπων (Ro52, Ro60) της πρωτεΐνης, ανέδειξε σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό των αντι-Ro52 αντισωμάτων στα δείγματα της ομάδας A συγκριτικά με το αντίστοιχο ποσοστό των αντι-Ro52 στα δείγματα της ομάδας B (57,14% vs. 21,4%, $p=0.025$).

γ. Τα ποσοστά των ασθενών με PA που εμφάνισαν θετικά αντι-CCP2, αντι-CCP3.1, αντι-MCV και παθολογικές τιμές ΡΠ ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα ποσοστά της ομάδας B ($p<0,001$).

2. Αναφορικά με την ευαισθησία και την ειδικότητα των αντισωμάτων, τα αντι-CCP2 εμφανίζουν την υψηλότερη ευαισθησία (88,1%), ενώ την υψηλότερη ειδικότητα τα αντι-MCV (86,3%) σε σύγκριση με τους λοιπούς δείκτες. Επίσης, στα πλαίσια της αναζήτησης του καλύτερου προγνωστικού δείκτη για τη PA, τα αντι-CCP2 αντισώματα εμφανίζουν την υψηλότερη θετική προγνωστική αξία (90,4%).

3. Σημαντική προγνωστική ικανότητα όμως και για την εξέλιξη του ΠΣ σε PA, μέσα στους πρώτους 6 μήνες από την αρχική διάγνωση, εμφανίζουν όλες οι παράμετροι. Συγκεκριμένα, η CRP έχει σημαντικά χαμηλότερη προγνωστική ικανότητα σε σύγκριση με τα CCP2 ($p=0,016$) και CCP3.1 ($p=0,029$), ενώ δεν βρέθηκε διαφορά στη σύγκριση της προγνωστικής αξίας μεταξύ των υπολοίπων αντισωμάτων.

4. Συγκρίνοντας τα επίπεδα των τάξεων του ΡΠ, της CRP και των αντι-CCP2 μεταξύ ασθενών με PA και υγιείς, βρέθηκε ότι η προγνωστική ικανότητα των αντι-CCP2, καθώς και των IgA και IgM ΡΠ ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση από αυτή του IgG ΡΠ και της CRP ($p < 0.05$). Επίσης, η σύγκριση των μέσων τιμών $\pm SD$ των παραμέτρων μεταξύ των ασθενών με πρόσφατη PA (<2 έτη) και αυτών με διάγνωση νόσου > 2 έτη δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά για καμία παράμετρο.

5. Η μεταβολή του δείκτη ενεργότητας της νόσου (DAS28) δεν βρέθηκε να συσχετίζεται σημαντικά με τα επίπεδα των αντι-CCP2, του ΡΠ και της CRP ενώ βρέθηκε σημαντική θετική συσχέτιση με τα επίπεδα των αντι-MCV αντισωμάτων ($r = 0,69$, $p < 0,001$). Επίσης, ο βαθμός μεταβολής των επιπέδων όλων των παραμέτρων δεν φαίνεται να επηρεάζεται από το θεραπευτικό σχήμα που ακολουθούσαν οι ασθενείς για το χρονικό διάστημα 2 ετών που μελετήθηκε.

Συμπεράσματα

Τα αντι-CCP2 αντισώματα εμφανίζουν την υψηλότερη προγνωστική ικανότητα για τη PA τόσο σε σχέση με άλλα μη PA νοσήματα, όσο και σε σχέση με τους υγιείς. Σημαντική καταγράφεται η προγνωστική ικανότητα του ΡΠ τόσο για τη PA σε σύγκριση με άλλα μη PA νοσήματα, όσο και για την εξέλιξη του Πολυαρθρικού Συνδρόμου σε PA μέσα στους πρώτους 6 μήνες από την αρχική διάγνωση, υπολείπεται όμως της προγνωστικής ικανότητας των αντι-CCP2. Έτσι και οι δύο παράμετροι φαίνεται να αποτελούν αξιόλογους δείκτες για την πρόγνωση, τη διάγνωση αλλά και την πρόβλεψη της εξέλιξης της νόσου.

Επιπλέον, η υψηλότερη ειδικότητα (83,3%) των αντι-MCV αντισωμάτων για τη PA σε σχέση με τα μη PA νοσήματα καθώς και η θετική συσχέτιση της μεταβολής του DAS28 με τη μεταβολή του επιπέδου των αντι-MCV αντισωμάτων, τα αναδεικνύει ως μοναδικό αξιόπιστο δείκτη για την παρακολούθηση της δραστηριότητας της νόσου, απαραίτητο εργαλείο για τον κλινικό γιατρό στη λήψη αποφάσεων αναφορικά με τη διατήρηση ή τροποποίηση του θεραπευτικού σχήματος για τον ασθενή με PA.

SUMMARY

Detection of specific autoantibodies in Rheumatoid Arthritis using immunoblotting technique (new methods)

Rheumatoid Arthritis (RA), the most commonly occurring autoimmune disorder, if untreated leads progressively to permanent joint damage and disability. Early therapeutic intervention may prevent progression of joint destruction, however for the initiation of an aggressive treatment more sensitive and specific diagnostic tests are required.

In 1987 the American College of Rheumatology (ACR) in addition to clinical criteria, proposed the Rheumatoid Factor (RF) as the only serological diagnostic marker. This marker lacks specificity and has very low sensitivity in the early stages of the disease. In order to meet the need for improved diagnostic and prognostic tests various biomarkers and autoantibodies have been assessed. Among them, only the anti-Cyclic Citrullinated Peptide (anti-CCP) has gained wide acceptance and was included in 2010, in the ACR/EULAR classification criteria for RA.

Aim of the study

The aim of this study is the detection and measurement of several biomarkers and autoantibodies in Greek patients with RA, the evaluation of their role in the diagnosis of RA and the prediction of the evolution of an inflammatory arthritis to RA. In addition we have investigated their importance in the prognosis of the course of the disease, the response to therapeutic protocols and their use in routine clinical practice, with the formation of an algorithm.

Patients and Methods

A total of 426 patients were included in the study. Of those 278 (64.4%) were diagnosed as having RA (group A) and 148 (34.6%) suffered from other autoimmune or inflammatory diseases (group B) such as Systemic Lupus Erythematosus (N=31), Mixed Connective Tissue Disease (N=4), Polyarthriti Syndrome (N=47), Seronegative Spondylarthritis (N=36) and Idiopathic Inflammatory Bowel Disease (N=30). Moreover, 32 blood donors were included as healthy controls. As a special category

the 47 patients with Polyarthritis Syndrome, 17 (36.2%) of whom developed RA during a six months' follow up, were studied.

The laboratory tests applied in the serum samples of the patients and controls included: 1) the measurement of RF, of C-Reactive Protein (CRP) and of complement factors C3, C4 by nephelometry, 2) the titration of antinuclear (ANA) and anti-double stranded DNA (anti-dsDNA) using indirect immunofluorescence, 3) the detection of autoantibodies to extractable nuclear antigens (anti-ENA) using the method of ELISA and Immunoblotting, and 4) the anti-RA33, anti-CCP2, anti-CCP3.1, anti-MCV antibodies as well as and the RF IgG, IgM and IgA classes, using ELISA.

For the statistical analysis of the results the program SPSS 18.0 and STATA 8.0, were used.

Results

1. The comparison of group A patients with RA versus group B showed the following results :
 - a) The presence of positive ANA and anti-RA33 antibodies or of abnormal CRP values does not differ significantly between the two groups of patients.
 - b) Anti-ENA antibodies were detected in 47 (16.8%) of 279 samples studied. There was no significant difference in the percentages of positive anti-Ro (SSA) antibodies between the two groups. However the investigation of the specificity of the anti-Ro antibodies for the antigenic epitopes (Ro52, Ro60) showed a higher percentage of anti-Ro52 antibodies in the group A samples in comparison with group B (57.14% vs 21.4%, $p= 0.025$).
 - c) The percentage of RA patients with positive anti-CCP2, anti-CCP3.1, anti-MCV antibodies and abnormal RF values was significantly higher in group A in comparison to group B patients ($p< 0.001$).
2. Concerning the criteria of sensitivity and specificity it was shown that anti-CCP2 antibodies have a higher sensitivity (88.1%), whereas anti-MCV antibodies presented a higher specificity (86.3%) compared to the other markers. As a prognostic tool for RA, anti-CCP2 antibodies are a more powerful predictor of disease course (90.4%).

3. In assessing the predictive significance of the various diagnostic tests regarding the evolution of the prospective cohort of patients with polyarthritis syndrome which evolved into RA (within a six months period) it was shown that all parameters tested had a prognostic value. However CRP had a significantly lower predictive capacity in comparison to anti-CCP2 ($p=0.016$) and anti-CCP3.1 ($p=0.029$), whereas there was no difference in the predictive power of other antibodies.
4. Comparing the values of RF Ig classes, CRP and anti-CCP2 between patients with RA and healthy controls it was shown that anti-CCP2, IgA and IgM RF had a higher prognostic capacity than IgG RF or CRP ($p<0.05$). Another finding was that the comparison of parameters studied between patients with early RA diagnosis (<2 years) and those with a delayed diagnosis (>2 years), showed no significant difference regarding any of those parameters.
5. The index for disease activity (DAS28) was not shown to be significantly correlated with CRP, RF or anti-CCP2 levels whereas a positive correlation was found with the levels of anti-MCV antibodies ($r=0.69$, $p<0.001$). The investigation of the effect of treatment in patients with RA and follow up for a 2 years period showed no significant change in the levels of any of the parameters studied following treatment interventions.

Conclusions

The anti-CCP2 antibodies have a higher prognostic value for RA patients in comparison to patients with other non RA diseases or healthy subjects. The RF has also a significant predictive power for RA in comparison to non RA diseases and for the progression of polyarthritis syndrome to RA within a six months' period following diagnosis. Its prognostic capacity is however lower than that of anti-CCP2. Thus it appears that the combination of both markers is of great importance for the diagnosis, prognosis and prediction of the course of RA. Moreover the higher specificity of anti-MCV antibodies for RA compared to non RA diseases and the positive correlation of the levels of the anti-MCV with the changes of DAS28 suggests that they represent the most important marker for assessing disease activity and a useful tool for patient management and treatment decisions.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Tehlirian C.V, et al. *Rheumatoid Arthritis, clinical and laboratory manifestations*, in *Primer on the Rheumatic diseases*, S.J. Klippel JH, Crofford LI, White PH Editor. 2007, Springer. p. 114-121.
2. Βαϊόπουλος Γ., Μαυρικάκης Μ., Σφηκάκης Π.Π. *Ρευματοειδής Αρθρίτιδα, Παθολογία*, Σ.Ι. Χατζηγιάννης, Editor. 2002, Π.Χ. Πασχαλίδης. p. 700-710.
3. Landre-Beauvais, et al. *The first description of rheumatoid arthritis. Unabridged text of the doctoral dissertation presented in 1800.* *Joint Bone Spine*, 2001. **68**(2): p. 130-43.
4. Lagier R. *Nosology versus pathology, two approaches to rheumatic diseases illustrated by Alfred Baring Garrod and Jean-Martin Charcot.* *Rheumatology (Oxford)*, 2001. **40**(4): p. 467-71.
5. Feldmann M., F.M. Brennan and R.N. Maini. *Rheumatoid arthritis.* *Cell*, 1996. **85**(3): p. 307-10.
6. Waldburger JM, et al. *Rheumatoid Arthritis, epidemiology, pathology, and pathogenesis*, in *Primer on the Rheumatic diseases*, S.J. Klippel JH, Crofford LI, White PH, Editor. 2007, Springer. p. 122-131.
7. Tobón GJ, et al. *Rheumatoid arthritis.*, in *The environment, geo-epidemiology, and autoimmune diseases.*, Y.P. Shoenfeld Y, Gershwin ME Editor. 2010, Elsevier: UK. p. A288-A292.
8. Alamanos Y., P.V. Voulgari, and A.A. Drosos. *Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis, based on the 1987 American College of Rheumatology criteria: a systematic review.* *Semin Arthritis Rheum*, 2006. **36**(3): p. 182-8.
9. Drosos A.A., et al. *Epidemiology of adult rheumatoid arthritis in northwest Greece 1987-1995.* *J Rheumatol*, 1997. **24**(11): p. 2129-33.
10. Guillemin F., et al. *Low incidence of rheumatoid arthritis in France.* *Scand J Rheumatol*, 1994. **23**(5): p. 264-8.
11. Carmona L., et al. *The prevalence of rheumatoid arthritis in the general population of Spain.* *Rheumatology (Oxford)*, 2002. **41**(1): p. 88-95.
12. Kazkaz L., et al. *Rheumatoid arthritis and genetic markers in Syrian and French populations: different effect of the shared epitope.* *Ann Rheum Dis*, 2007. **66**(2): p. 195-201.

13. Sangha O. *Epidemiology of rheumatic diseases*. Rheumatology (Oxford), 2000. **39 Suppl 2**: p. 3-12.
14. Gabriel S.E., et al. *Survival in rheumatoid arthritis: a population-based analysis of trends over 40 years*. Arthritis Rheum, 2003. **48**(1): p. 54-8.
15. Scott D.L., et al. *Long-term outcome of treating rheumatoid arthritis: results after 20 years*. Lancet, 1987. **1**(8542): p. 1108-11.
16. Papadopoulos I.A., et al. *Early rheumatoid arthritis patients: relationship of age*. Rheumatol Int, 2003. **23**(2): p. 70-4.
17. Salliot C., et al. *Hormonal replacement therapy may reduce the risk for RA in women with early arthritis who carry HLA-DRB1 *01 and/or *04 alleles by protecting against the production of anti-CCP: results from the ESPOIR cohort*. Ann Rheum Dis, 2010. **69**(9): p. 1683-6.
18. Stolt P., et al. *Quantification of the influence of cigarette smoking on rheumatoid arthritis: results from a population based case-control study, using incident cases*. Ann Rheum Dis, 2003. **62**(9): p. 835-41.
19. Padyukov L., et al. *A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2004. **50**(10): p. 3085-92.
20. Kobayashi S., et al. *A role for the aryl hydrocarbon receptor and the dioxin TCDD in rheumatoid arthritis*. Rheumatology (Oxford), 2008. **47**(9): p. 1317-22.
21. Klareskog L., et al. *A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination*. Arthritis Rheum, 2006. **54**(1): p. 38-46.
22. Meron M.K., et al. *Infectious aspects and the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis*. Clin Rev Allergy Immunol, 2010. **38**(2-3): p. 287-91.
23. Goldberg R.J. and J. Katz. *A meta-analysis of the analgesic effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for inflammatory joint pain*. Pain, 2007. **129**(1-2): p. 210-23.
24. Nepom G.T. *Determinants of genetic susceptibility in HLA-associated autoimmune disease*. Clin Immunol Immunopathol, 1989. **53**(2 Pt 2): p. S53-62.

25. Ollier W. and W. Thomson. *Population genetics of rheumatoid arthritis*. *Rheum Dis Clin North Am*, 1992. **18**(4): p. 741-59.
26. Winchester R. *The molecular basis of susceptibility to rheumatoid arthritis*. *Adv Immunol*, 1994. **56**: p. 389-466.
27. Pappas H., et al. *HLA associations in patients with late onset rheumatoid arthritis*. *Human Immunology*, 1996: p. 47 1-2:77.
28. Boki K.A., et al. *Examination of HLA-DR4 as a severity marker for rheumatoid arthritis in Greek patients*. *Ann Rheum Dis*, 1993. **52**(7): p. 517-9.
29. Ioannidis J.P., et al. *Shared epitopes and rheumatoid arthritis: disease associations in Greece and meta-analysis of Mediterranean European populations*. *Semin Arthritis Rheum*, 2002. **31**(6): p. 361-70.
30. Wordsworth P. *Rheumatoid arthritis*. *Curr Opin Immunol*, 1992. **4**(6): p. 766-9.
31. Weyand C.M. and J.J. Goronzy. *Association of MHC and rheumatoid arthritis. HLA polymorphisms in phenotypic variants of rheumatoid arthritis*. *Arthritis Res*, 2000. **2**(3): p. 212-6.
32. Newton J., et al. *The effect of HLA-DR on susceptibility to rheumatoid arthritis is influenced by the associated lymphotoxin alpha-tumor necrosis factor haplotype*. *Arthritis Rheum*, 2003. **48**(1): p. 90-6.
33. Cuchacovich M., et al. *Tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) levels and influence of -308 TNF-alpha promoter polymorphism on the responsiveness to infliximab in patients with rheumatoid arthritis*. *Scand J Rheumatol*, 2004. **33**(4): p. 228-32.
34. Martinez A., et al. *Association of the major histocompatibility complex with response to infliximab therapy in rheumatoid arthritis patients*. *Arthritis Rheum*, 2004. **50**(4): p. 1077-82.
35. Plenge R.M., et al. *TRAF1-C5 as a risk locus for rheumatoid arthritis--a genomewide study*. *N Engl J Med*, 2007. **357**(12): p. 1199-209.
36. Daha N.A., et al. *Confirmation of STAT4, IL2/IL21, and CTLA4 polymorphisms in rheumatoid arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2009. **60**(5): p. 1255-60.
37. Lee D.M. and M.E. Weinblatt. *Rheumatoid arthritis*. *Lancet*, 2001. **358**(9285): p. 903-11.

38. McGonagle D., W. Gibbon, and P. Emery. *Classification of inflammatory arthritis by enthesitis*. Lancet, 1998. **352**(9134): p. 1137-40.
39. Smith J.B. and M.K. Haynes. *Rheumatoid arthritis--a molecular understanding*. Ann Intern Med, 2002. **136**(12): p. 908-22.
40. Weyand C.M., et al. *The power of the third dimension: tissue architecture and autoimmunity in rheumatoid arthritis*. Curr Opin Rheumatol, 2003. **15**(3): p. 259-66.
41. Choy E.H. and G.S. Panayi. *Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis*. N Engl J Med, 2001. **344**(12): p. 907-16.
42. Jenkins J.K., K.J. Hardy, and R.W. McMurray. *The pathogenesis of rheumatoid arthritis: a guide to therapy*. Am J Med Sci, 2002. **323**(4): p. 171-80.
43. Vander Borgh A., et al. *The autoimmune pathogenesis of rheumatoid arthritis: role of autoreactive T cells and new immunotherapies*. Semin Arthritis Rheum, 2001. **31**(3): p. 160-75.
44. van den Berg W.B. *Uncoupling of inflammatory and destructive mechanisms in arthritis*. Semin Arthritis Rheum, 2001. **30**(5 Suppl 2): p. 7-16.
45. Dayer J.M. and D. Burger. *Cell-cell interactions and tissue damage in rheumatoid arthritis*. Autoimmun Rev, 2004. **3 Suppl 1**: p. S14-6.
46. Theoleyre S., et al. *The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling*. Cytokine Growth Factor Rev, 2004. **15**(6): p. 457-75.
47. Harre U., et al. *Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin*. J Clin Invest, 2012. **122**(5): p. 1791-802.
48. Murphy G., et al. *Matrix metalloproteinases in arthritic disease*. Arthritis Res, 2002. **4 Suppl 3**: p. S39-49.
49. Dorner T. and G.R. Burmester. *The role of B cells in rheumatoid arthritis: mechanisms and therapeutic targets*. Curr Opin Rheumatol, 2003. **15**(3): p. 246-52.

50. Murai T. and C. Tomizawa. *Chemical transformation of S-benzyl O-ethyl phenylphosphonothiolate (Inezin) by ultraviolet light.*
J Environ Sci Health B, 1976. **11**(2): p. 185-97.
51. *Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: 2002 Update.*
Arthritis Rheum, 2002. **46**(2): p. 328-46.
52. Agarwal S.K. *Core management principles in rheumatoid arthritis to help guide managed care professionals.*
J Manag Care Pharm, 2011. **17**(9 Suppl B): p. S03-8.
53. Γερμενής Α.Ε. *Πρωτεΐνες οξείας φάσης. Διαγνωστική Ανοσολογία.* 2002. p. 1-7.
54. Πάγκαλου-Θούα Ε. *Πρωτεΐνες οξείας φάσης. Σεμινάριο Ανοσολογίας 20ος κύκλος.* 2002. Αθήνα.
55. Black, S., I. Kushner and D. Samols. *C-reactive Protein.*
J Biol Chem, 2004. **279**(47): p. 48487-90.
56. Volanakis J.E. *Human C-reactive protein: expression, structure, and function.*
Mol Immunol, 2001. **38**(2-3): p. 189-97.
57. Mold C., H. Gewurz, and T.W. Du Clos. *Regulation of complement activation by C-reactive protein.*
Immunopharmacology, 1999. **42**(1-3): p. 23-30.
58. Α. Γουλές, Θ. Σαρικούδης, Γ. Βαϊόπουλος. *Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη στην κλινική πράξη*
Ελληνική Ρευματολογία. Vol. 17. 2006.
59. Βαϊόπουλος Γ, Κακλαμάνης Φ. *Ερειστικό Σύστημα: Πρωτεΐνες Οξείας Φάσης. Αξιολόγηση Εργαστηριακών Εξετάσεων,* Δ. Λουκόπουλος, Editor. 1999, Πασχαλίδης: Αθήνα.
60. Emery P., et al. *Evidence-based review of biologic markers as indicators of disease progression and remission in rheumatoid arthritis.*
Rheumatol Int, 2007. **27**(9): p. 793-806.
61. Wu J.F., et al. *Comparative usefulness of C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in juvenile rheumatoid arthritis.*
Clin Exp Rheumatol, 2007. **25**(5): p. 782-5.
62. Fahraeus R. *The suspension-stability of the blood.*
Acta Med Scand, 1921. **55**: p. 1-228.
63. Cantini F., et al. *Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in the evaluation of disease activity and severity in polymyalgia rheumatica: a prospective follow-up study.*
Semin Arthritis Rheum, 2000. **30**(1): p. 17-24.

64. Combe B., et al. *Prognostic factors for radiographic damage in early rheumatoid arthritis: a multiparameter prospective study.* Arthritis Rheum, 2001. **44**(8): p. 1736-43.
65. Jurado R.L. *Why shouldn't we determine the erythrocyte sedimentation rate?* Clin Infect Dis, 2001. **33**(4): p. 548-9.
66. *Reference method for the erythrocyte sedimentation rate (ESR) test on human blood.* Br J Haematol, 1973. **24**(5): p. 671-3.
67. Ε. Παπακωνσταντίνου, Ε. Υφαντής, Π. Γεωργούτσου. *Σύγκριση μεθόδων μέτρησης ταχύτητας καθίζησης ερυθρών σε παιδιά. Μέθοδος Westergren και αναλυτής Test-1.* Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής. 2010. p. 72-77.
68. Seelen M.A., A. Roos, and M.R. Daha. *Role of complement in innate and autoimmunity.* J Nephrol, 2005. **18**(6): p. 642-53.
69. Molenaar E.T., et al. *Complement activation in patients with rheumatoid arthritis mediated in part by C-reactive protein.* Arthritis Rheum, 2001. **44**(5): p. 997-1002.
70. Okroj M., et al. *Rheumatoid arthritis and the complement system.* Ann Med, 2007. **39**(7): p. 517-30.
71. Di Muzio G., et al. *Complement system and rheumatoid arthritis: relationships with autoantibodies, serological, clinical features, and anti-TNF treatment.* Int J Immunopathol Pharmacol, 2011. **24**(2): p. 357-66.
72. Ballanti E., et al. *Role of the complement system in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis: relationship with anti-TNF inhibitors.* Autoimmun Rev, 2011. **10**(10): p. 617-23.
73. Trouw L.A., et al. *Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies from rheumatoid arthritis patients activate complement via both the classical and alternative pathways.* Arthritis Rheum, 2009. **60**(7): p. 1923-31.
74. Xun C. and Y. Zhao. *Comparison of serological markers between ACPA(+) and ACPA(-) of RA patients.* Rheumatol Int, 2012. **32**(5): p. 1143-6.
75. Corrigall V.M. and G.S. Panayi. *Autoantigens and immune pathways in rheumatoid arthritis.* Crit Rev Immunol, 2002. **22**(4): p. 281-93.

76. Song Y.W. and E.H. Kang. *Autoantibodies in rheumatoid arthritis: rheumatoid factors and anticitrullinated protein antibodies.* QJM, 2010. **103**(3): p. 139-46.
77. van Boekel M.A., et al. *Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value.* Arthritis Res, 2002. **4**(2): p. 87-93.
78. Tan E.M. *Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology.* Adv Immunol, 1989. **44**: p. 93-151.
79. Tan E.M., et al. *Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals.* Arthritis Rheum, 1997. **40**(9): p. 1601-11.
80. Forslid J., et al. *The prevalence of antinuclear antibodies in healthy young persons and adults, comparing rat liver tissue sections with HEp-2 cells as antigen substrate.* Clin Exp Rheumatol, 1994. **12**(2): p. 137-41.
81. Cavazzana I., et al. *Anti-Ro/SSA antibodies in rheumatoid arthritis: clinical and immunologic associations.* Clin Exp Rheumatol, 2006. **24**(1): p. 59-64.
82. Vlachoyiannopoulos P.G., et al. *D-penicillamine toxicity in Greek patients with rheumatoid arthritis: anti-Ro(SSA) antibodies and cryoglobulinemia are predictive factors.* J Rheumatol, 1991. **18**(1): p. 44-9.
83. Tishler M., et al. *Anti-Ro (SSA) antibodies in rheumatoid arthritis patients with gold-induced side effects.* Rheumatol Int, 1997. **17**(4): p. 133-5.
84. De Rycke L., et al. *Antinuclear antibodies following infliximab treatment in patients with rheumatoid arthritis or spondylarthropathy.* Arthritis Rheum, 2003. **48**(4): p. 1015-23.
85. Hoxha A., et al. *Antinuclear, anti-dsDNA and anti-ENA antibodies in patients affected with rheumatoid arthritis or ankylosing spondylitis during treatment with infliximab.* Reumatismo, 2006. **58**(2): p. 121-6.
86. Waaler E. *On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. 1939.* APMIS, 2007. **115**(5): p. 422-38; discussion 439.

87. Pike R.M., S.E. Sulkin and H.C. Coggeshall. *Concerning the nature of the factor in rheumatoid-arthritis serum responsible for increased agglutination of sensitized sheep erythrocytes.*
J Immunol, 1949. **63**(4): p. 447-63.
88. Franklin E.C., et al. *An unusual protein component of high molecular weight in the serum of certain patients with rheumatoid arthritis.*
J Exp Med, 1957. **105**(5): p. 425-38.
89. Zvaifler N.J. *The immunopathology of joint inflammation in rheumatoid arthritis.*
Adv Immunol, 1973. **16**(0): p. 265-336.
90. Dorner T., et al. *Rheumatoid factor revisited.*
Curr Opin Rheumatol, 2004. **16**(3): p. 246-53.
91. Jansen A.L., et al. *Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated Peptide differentiate rheumatoid arthritis from undifferentiated polyarthritis in patients with early arthritis.*
J Rheumatol, 2002. **29**(10): p. 2074-6.
92. Rantapaa-Dahlqvist S., et al. *Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis.*
Arthritis Rheum, 2003. **48**(10): p. 2741-9.
93. Agrawal S., R. Misra and A. Aggarwal. *Autoantibodies in rheumatoid arthritis: association with severity of disease in established RA.*
Clin Rheumatol, 2007. **26**(2): p. 201-4.
94. Alarcon G.S., et al. *Suppression of rheumatoid factor production by methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. Evidence for differential influences of therapy and clinical status on IgM and IgA rheumatoid factor expression.*
Arthritis Rheum, 1990. **33**(8): p. 1156-61.
95. Cerny E.H., et al. *Rheumatoid factor in syphilis.*
J Clin Microbiol, 1985. **22**(1): p. 89-94.
96. Husby G., J.T. Gran and A. Johannessen. *Epidemiological and genetic aspects of IgM rheumatoid factors.*
Scand J Rheumatol Suppl, 1988. **75**: p. 213-8.
97. van Schaardenburg D., et al. *The relation between class-specific serum rheumatoid factors and age in the general population.*
Br J Rheumatol, 1993. **32**(7): p. 546-9.

98. Jacobsson, L.T., et al. *Rheumatoid arthritis and mortality. A longitudinal study in Pima Indians.*
Arthritis Rheum, 1993. **36**(8): p. 1045-53.
99. Newkirk M.M., et al. *Advanced glycation endproducts (AGE) on IgG, a target for circulating antibodies in North American Indians with rheumatoid arthritis (RA).*
Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 1998. **44**(7): p. 1129-38.
100. Hassfeld W., et al. *Demonstration of a new antinuclear antibody (anti-RA33) that is highly specific for rheumatoid arthritis.*
Arthritis Rheum, 1989. **32**(12): p. 1515-20.
101. Steiner G., et al. *Purification and partial sequencing of the nuclear autoantigen RA33 shows that it is indistinguishable from the A2 protein of the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein complex.*
J Clin Invest, 1992. **90**(3): p. 1061-6.
102. Fritsch R., et al. *Characterization of autoreactive T cells to the autoantigens heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2 (RA33) and filaggrin in patients with rheumatoid arthritis.*
J Immunol, 2002. **169**(2): p. 1068-76.
103. Steiner G. and J. Smolen. *Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance.*
Arthritis Res, 2002. **4 Suppl 2**: p. S1-5.
104. Menard H.A. and M. el-Amine. *The calpain-calpastatin system in rheumatoid arthritis.*
Immunol Today, 1996. **17**(12): p. 545-7.
105. Lackner K.J., et al. *Autoantibodies against human calpastatin in rheumatoid arthritis: epitope mapping and analysis of patient sera.*
Br J Rheumatol, 1998. **37**(11): p. 1164-71.
106. Tarkowski A., et al. *Secretion of antibodies to types I and II collagen by synovial tissue cells in patients with rheumatoid arthritis.*
Arthritis Rheum, 1989. **32**(9): p. 1087-92.
107. Kim W.U., et al. *IgG antibodies to type II collagen reflect inflammatory activity in patients with rheumatoid arthritis.*
J Rheumatol, 2000. **27**(3): p. 575-81.
108. Reid K.B. *Complete amino acid sequences of the three collagen-like regions present in subcomponent C1q of the first component of human complement.*
Biochem J, 1979. **179**(2): p. 367-71.
109. Atta M.S., et al. *Investigation of the prevalence and clinical associations of antibodies to human fibronectin in systemic lupus erythematosus.*
Ann Rheum Dis, 1995. **54**(2): p. 117-24.

110. Mulder A.H., et al. *Antineutrophil cytoplasmic antibodies in rheumatoid arthritis. Characterization and clinical correlations.* Arthritis Rheum, 1993. **36**(8): p. 1054-60.
111. Uesugi H., et al. *Prevalence and characterization of novel pANCA, antibodies to the high mobility group non-histone chromosomal proteins HMG1 and HMG2, in systemic rheumatic diseases.* J Rheumatol, 1998. **25**(4): p. 703-9.
112. Menard, H.A., et al. *Insights into rheumatoid arthritis derived from the Sa immune system.* Arthritis Res, 2000. **2**(6): p. 429-32.
113. Hueber W., et al. *Sensitivity and specificity of anti-Sa autoantibodies for rheumatoid arthritis.* Rheumatology (Oxford), 1999. **38**(2): p. 155-9.
114. Hayem G., et al. *Anti-Sa antibody is an accurate diagnostic and prognostic marker in adult rheumatoid arthritis.* J Rheumatol, 1999. **26**(1): p. 7-13.
115. Blass S., et al. *Rheumatoid arthritis: autoreactive T cells recognising a novel 68k autoantigen.* Ann Rheum Dis, 1997. **56**(5): p. 317-22.
116. Blass S., et al. *The stress protein BiP is overexpressed and is a major B and T cell target in rheumatoid arthritis.* Arthritis Rheum, 2001. **44**(4): p. 761-71.
117. Blass S., et al. *The p68 autoantigen characteristic of rheumatoid arthritis is reactive with carbohydrate epitope specific autoantibodies.* Ann Rheum Dis, 1998. **57**(4): p. 220-5.
118. Bodman-Smith, et al. *Antibody response to the human stress protein BiP in rheumatoid arthritis.* Rheumatology (Oxford), 2004. **43**(10): p. 1283-7.
119. Shoda H., et al. *Detection of autoantibodies to citrullinated BiP in rheumatoid arthritis patients and pro-inflammatory role of citrullinated BiP in collagen-induced arthritis.* Arthritis Res Ther, 2011. **13**(6): p. R191.
120. Schaller M., D.R. Burton and H.J. Ditzel. *Autoantibodies to GPI in rheumatoid arthritis: linkage between an animal model and human disease.* Nat Immunol, 2001. **2**(8): p. 746-53.
121. Kamradt T. and D. Schubert. *The role and clinical implications of G6PI in experimental models of rheumatoid arthritis.* Arthritis Res Ther, 2005. **7**(1): p. 20-8.

122. Nienhuis R.L. and E. Mandema. *A New Serum Factor in Patients with Rheumatoid Arthritis; the Antiperinuclear Factor.*
Ann Rheum Dis, 1964. **23**: p. 302-5.
123. Young B.J., et al. *Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis.*
Br Med J, 1979. **2**(6182): p. 97-9.
124. Girbal-Neuhauser E., et al. *The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues.*
J Immunol, 1999. **162**(1): p. 585-94.
125. Sebbag M., et al. *The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies.*
J Clin Invest, 1995. **95**(6): p. 2672-9.
126. Gan, S.Q., et al. *Organization, structure, and polymorphisms of the human profilaggrin gene.*
Biochemistry, 1990. **29**(40): p. 9432-40.
127. Vincent C., et al. *Immunoblotting detection of autoantibodies to human epidermis filaggrin: a new diagnostic test for rheumatoid arthritis.*
J Rheumatol, 1998. **25**(5): p. 838-46.
128. Slack S.L., M. Mannik and B.A. Dale. *Diagnostic value of antibodies to filaggrin in rheumatoid arthritis.*
J Rheumatol, 1998. **25**(5): p. 847-51.
129. Paimela L., et al. *Association of autoantibodies to filaggrin with an active disease in early rheumatoid arthritis.*
Ann Rheum Dis, 2001. **60**(1): p. 32-5.
130. Forslind K., et al. *Antifilaggrin autoantibodies in early rheumatoid arthritis.*
Scand J Rheumatol, 2000. **29**(5): p. 320-2.
131. Vossenaar E.R., et al. *PAD a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease.*
Bioessays, 2003. **25**(11): p. 1106-18.
132. Vossenaar E.R. and W.J. van Venrooij. *Citrullinated proteins: sparks that may ignite the fire in rheumatoid arthritis.*
Arthritis Res Ther, 2004. **6**(3): p. 107-11.
133. Utz P.J., M.C. Genovese and W.H. Robinson. *Unlocking the "PAD" lock on rheumatoid arthritis.*
Ann Rheum Dis, 2004. **63**(4): p. 330-2.
134. Hill J.A., et al. *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**(2): p. 538-41.

135. Chapuy-Regaud S., et al. *IgG subclass distribution of the rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated fibrin.*
Clin Exp Immunol, 2005. **139**(3): p. 542-50.
136. Lee D.M. and P.H. Schur. *Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases.*
Ann Rheum Dis, 2003. **62**(9): p. 870-4.
137. Nielen M.M., et al. *Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors.*
Arthritis Rheum, 2004. **50**(2): p. 380-6.
138. Alexiou I., et al. *Anti-cyclic citrullinated peptide-2 (CCP2) autoantibodies and extra-articular manifestations in Greek patients with rheumatoid arthritis.*
Clin Rheumatol, 2008. **27**(4): p. 511-3.
139. Turesson C., et al. *Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptides are associated with severe extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis.*
Ann Rheum Dis, 2007. **66**(1): p. 59-64.
140. Braun-Moscovici Y., et al. *Anti-cyclic citrullinated protein antibodies as a predictor of response to anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in patients with rheumatoid arthritis.*
J Rheumatol, 2006. **33**(3): p. 497-500.
141. Alessandri C., et al. *Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti-TNFalpha therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement.*
Ann Rheum Dis, 2004. **63**(10): p. 1218-21.
142. Bruns A., et al. *Prospective cohort study of effects of infliximab on rheumatoid factor, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and antinuclear antibodies in patients with long-standing rheumatoid arthritis.*
Joint Bone Spine, 2009. **76**(3): p. 248-53.
143. Kolarz B., et al. *Antibodies against cyclic citrullinated peptide don't decrease after 6 months of infliximab treatment in refractory rheumatoid arthritis.*
Rheumatol Int, 2011. **31**(11): p. 1439-43.
144. J.H. Klippel. *Ρευματοειδής αρθρίτιδα, Βασική Κλινική Ρευματολογία, Πασχαλίδης, Editor. 2005. p. 143-154.*
145. Klippel J.H. *Ρευματοειδής αρθρίτιδα, in Primer on the Rheumatic Diseases. 2008, Π.Χ. Πασχαλίδης. p. 289-298.*
146. Tehlirian CV. *Rheumatoid Arthritis, clinical and laboratory manifestations., in Primer on the Rheumatic diseases., S.J. Klippel JH , Crofford LI, White PH, Editor. 2007, Springer. p. 114-121.*

147. Turesson C., et al. *Extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis: incidence trends and risk factors over 46 years.*
Ann Rheum Dis, 2003. **62**(8): p. 722-7.
148. Arnett F.C., et al. *The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis.*
Arthritis Rheum, 1988. **31**(3): p. 315-24.
149. Saraux A., et al. *Ability of the American College of Rheumatology 1987 criteria to predict rheumatoid arthritis in patients with early arthritis and classification of these patients two years later.*
Arthritis Rheum, 2001. **44**(11): p. 2485-91.
150. Aletaha D., et al. *2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative.*
Ann Rheum Dis, 2010. **69**(9): p. 1580-8.
151. Σακκάς Λ. *Τα νέα κριτήρια ταξινόμησης της ρευματοειδούς αρθρίτιδας.*
Ελληνική Ρευματολογία 2010; 21(3): 165-6)
152. Κοντογιάννη Α. *Εκτίμηση της δραστηριότητας της ρευματοειδούς αρθρίτιδας στην καθημερινή πράξη.*
Ελληνική Ρευματολογία 2007: p. 18(2): 151-156.
153. van Gestel A.M., et al. *Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization/International League Against Rheumatism Criteria.*
Arthritis Rheum, 1996. **39**(1): p. 34-40.
154. van der Heijde, et al. *Judging disease activity in clinical practice in rheumatoid arthritis: first step in the development of a disease activity score.*
Ann Rheum Dis, 1990. **49**(11): p. 916-20.
155. Prevoo M.L., et al. *Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis.*
Arthritis Rheum, 1995. **38**(1): p. 44-8.
156. Smolen J.S., et al. *A simplified disease activity index for rheumatoid arthritis for use in clinical practice.*
Rheumatology (Oxford), 2003. **42**(2): p. 244-57.
157. Breedveld F.C., et al. *The PREMIER study: A multicenter, randomized, double-blind clinical trial of combination therapy with adalimumab plus methotrexate versus methotrexate alone or adalimumab alone in patients with early, aggressive rheumatoid arthritis who had not had previous methotrexate treatment.*
Arthritis Rheum, 2006. **54**(1): p. 26-37.

158. Prevoo M.L., et al. *Remission in a prospective study of patients with rheumatoid arthritis. American Rheumatism Association preliminary remission criteria in relation to the disease activity score.*
Br J Rheumatol, 1996. **35**(11): p. 1101-5.
159. *Food and Drug Administration. Clinical development programs for drugs, devices and biological products for the treatment of rheumatoid arthritis. US Department of Health and Human Services, Feb 1999. At www.fda.gov/cber/gdlns/rheumcln.pdf.*
160. Mierau M., et al. *Assessing remission in clinical practice.*
Rheumatology (Oxford), 2007. **46**(6): p. 975-9.
161. Saag K.G., et al. *American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis.*
Arthritis Rheum, 2008. **59**(6): p. 762-84.
162. Fuchs H.A., et al. *Evidence of significant radiographic damage in rheumatoid arthritis within the first 2 years of disease.*
J Rheumatol, 1989. **16**(5): p. 585-91.
163. Lard L.R., et al. *Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies.*
Am J Med, 2001. **111**(6): p. 446-51.
164. Luqmani R., et al. *British Society for Rheumatology and british health professionals in Rheumatology guideline for the management of rheumatoid arthritis (the first two years).*
Rheumatology (Oxford), 2006. **45**(9): p. 1167-9.
165. O'Dell J.R., et al. *Treatment of rheumatoid arthritis with methotrexate and hydroxychloroquine, methotrexate and sulfasalazine, or a combination of the three medications: results of a two-year, randomized, double-blind, placebo-controlled trial.*
Arthritis Rheum, 2002. **46**(5): p. 1164-70.
166. Κουτρούμπας Α. *Σύγχρονες απόψεις στη θεραπεία της Ρευματοειδούς αρθρίτιδας.*
Ελληνική Ρευματολογία 2007: p. 18(3):218-234.
167. Whalley D., et al. *Quality of life in rheumatoid arthritis.*
Br J Rheumatol, 1997. **36**(8): p. 884-8.
168. Eberhardt K., et al. *Work disability in rheumatoid arthritis--development over 15 years and evaluation of predictive factors over time.*
J Rheumatol, 2007. **34**(3): p. 481-7.

169. Korpela M., et al. *Retardation of joint damage in patients with early rheumatoid arthritis by initial aggressive treatment with disease-modifying antirheumatic drugs: five-year experience from the FIN-RACo study.* Arthritis Rheum, 2004. **50**(7): p. 2072-81.
170. Landewe R. *Predictive markers in rapidly progressing rheumatoid arthritis.* J Rheumatol Suppl, 2007. **80**: p. 8-15.
171. van Zeben D., et al. *Clinical significance of rheumatoid factors in early rheumatoid arthritis: results of a follow up study.* Ann Rheum Dis, 1992. **51**(9): p. 1029-35.
172. Aletaha D., et al. *2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative.* Arthritis Rheum, 2010. **62**(9): p. 2569-81.
173. Bang H., et al. *Mutation and citrullination modifies vimentin to a novel autoantigen for rheumatoid arthritis.* Arthritis Rheum, 2007. **56**(8): p. 2503-11.
174. Ursum J., et al. *Antibodies to mutated citrullinated vimentin and disease activity score in early arthritis: a cohort study.* Arthritis Res Ther, 2008. **10**(1): p. R12.
175. Mathsson L., et al. *Antibodies against citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis: higher sensitivity and extended prognostic value concerning future radiographic progression as compared with antibodies against cyclic citrullinated peptides.* Arthritis Rheum, 2008. **58**(1): p. 36-45.
176. Hochberg M.C. *Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.* Arthritis Rheum, 1997. **40**(9): p. 1725.
177. Alarcon-Segovia D. and M.H. Cardiel. *Comparison between 3 diagnostic criteria for mixed connective tissue disease. Study of 593 patients.* J Rheumatol, 1989. **16**(3): p. 328-34.
178. Rudwaleit M., et al. *The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection.* Ann Rheum Dis, 2009. **68**(6): p. 777-83.
179. Silverberg M.S., et al. *Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology.* Can J Gastroenterol, 2005. **19** Suppl A: p. 5-36.

180. Weller T.H. and A.H. Coons. *Fluorescent antibody studies with agents of varicella and herpes zoster propagated in vitro.*
Proc Soc Exp Biol Med, 1954. **86**(4): p. 789-94.
181. Friou G.J. *Clinical application of a test for lupus globulin-nucleohistone interaction using fluorescent antibody.*
Yale J Biol Med, 1958. **31**(1): p. 40-7.
182. Riboldi P., et al. *Anti-DNA antibodies: a diagnostic and prognostic tool for systemic lupus erythematosus?*
Autoimmunity, 2005. **38**(1): p. 39-45.
183. Charles P.J., W.J. van Venrooij and R.N. Maini. *The Consensus Workshops for the Detection of Autoantibodies to Intracellular Antigens in Rheumatic Diseases: 1989-1992.*
Clin Exp Rheumatol, 1992. **10**(5): p. 507-11.
184. Van Dam A.P., H.G. Van den Brink and R.J. Smeenk. *Technical problems concerning the use of immunoblots for the detection of antinuclear antibodies.*
J Immunol Methods, 1990. **129**(1): p. 63-70.
185. Lopez-Longo F.J., et al. *Simultaneous identification of various antinuclear antibodies using an automated multiparameter line immunoassay system.*
Lupus, 2003. **12**(8): p. 623-9.
186. Stites D. *Clinical Laboratory Methods for detection of antigen and antibodies,* in *Basic and Clinical Immunology*, T.A. Stites D, Editor. 1994, Appleton & Lange.
187. Schneeberger E., et al. *Clinical significance of anti-Ro antibodies in rheumatoid arthritis.*
Clin Rheumatol, 2008. **27**(4): p. 517-9.
188. Egerer K., E. Feist and G.R. Burmester. *The serological diagnosis of rheumatoid arthritis: antibodies to citrullinated antigens.*
Dtsch Arztebl Int, 2009. **106**(10): p. 159-63.
189. Wolfe F., M.A. Cathey and F.K. Roberts. *The latex test revisited. Rheumatoid factor testing in 8,287 rheumatic disease patients.*
Arthritis Rheum, 1991. **34**(8): p. 951-60.
190. Borretzen M., et al. *Differences in mutational patterns between rheumatoid factors in health and disease are related to variable heavy chain family and germ-line gene usage.*
Eur J Immunol, 1997. **27**(3): p. 735-41.
191. Wernick R.M., et al. *IgG and IgM rheumatoid factor synthesis in rheumatoid synovial membrane cell cultures.*
Arthritis Rheum, 1985. **28**(7): p. 742-52.

192. Jones V., et al. *Synovial synthesis of rheumatoid factors and immune complex constituents in early arthritis.*
Ann Rheum Dis, 1984. **43**(2): p. 235-9.
193. Steiner G. *Auto-antibodies and autoreactive T-cells in rheumatoid arthritis: pathogenetic players and diagnostic tools.*
Clin Rev Allergy Immunol, 2007. **32**(1): p. 23-36.
194. Prentice A.G., et al. *Prospective comparison of laser nephelometry with standard agglutination techniques for detection of rheumatoid factor.*
J Clin Pathol, 1987. **40**(2): p. 216-20.
195. Shmerling R.H. and T.L. Delbanco. *How useful is the rheumatoid factor? An analysis of sensitivity, specificity, and predictive value.*
Arch Intern Med, 1992. **152**(12): p. 2417-20.
196. Nishimura K., et al. *Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis.*
Ann Intern Med, 2007. **146**(11): p. 797-808.
197. Pai S., L. Pai and R. Birkenfeldt. *Correlation of serum IgA rheumatoid factor levels with disease severity in rheumatoid arthritis.*
Scand J Rheumatol, 1998. **27**(4): p. 252-6.
198. Combe B., et al. *EULAR recommendations for the management of early arthritis: report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT).*
Ann Rheum Dis, 2007. **66**(1): p. 34-45.
199. van Gaalen F.A., et al. *Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study.*
Arthritis Rheum, 2004. **50**(3): p. 709-15.
200. Machold K.P., et al. *Very recent onset rheumatoid arthritis: clinical and serological patient characteristics associated with radiographic progression over the first years of disease.*
Rheumatology (Oxford), 2007. **46**(2): p. 342-9.
201. van Oosterhout M., et al. *Differences in synovial tissue infiltrates between anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis and anti-cyclic citrullinated peptide-negative rheumatoid arthritis.*
Arthritis Rheum, 2008. **58**(1): p. 53-60.
202. De Rycke L., et al. *Rheumatoid factor, but not anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, is modulated by infliximab treatment in rheumatoid arthritis.*
Ann Rheum Dis, 2005. **64**(2): p. 299-302.

203. Taylor P., et al. *A systematic review of serum biomarkers anti-cyclic citrullinated Peptide and rheumatoid factor as tests for rheumatoid arthritis.* Autoimmune Dis, 2011. **2011**: p. 815038.
204. Visser K., et al. *Pretreatment serum levels of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies are associated with the response to methotrexate in recent-onset arthritis.* Ann Rheum Dis, 2008. **67**(8): p. 1194-5.
205. Schellekens G.A., et al. *Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies.* J Clin Invest, 1998. **101**(1): p. 273-81.
206. Schellekens G.A., et al. *The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide.* Arthritis Rheum, 2000. **43**(1): p. 155-63.
207. van Venrooij W.J. and A.J. Zendman. *Anti-CCP2 antibodies: an overview and perspective of the diagnostic abilities of this serological marker for early rheumatoid arthritis.* Clin Rev Allergy Immunol, 2008. **34**(1): p. 36-9.
208. van Venrooij W.J., et al. *Anti-CCP Antibody, a Marker for the Early Detection of Rheumatoid Arthritis.* Ann N Y Acad Sci, 2008. **1143**: p. 268-85.
209. Raptopoulou A., et al. *Anti-citrulline antibodies in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis: evolving concepts.* Crit Rev Clin Lab Sci, 2007. **44**(4): p. 339-63.
210. Rivera R. *Postoperative chylothorax after the complete correction of a tetralogy of Fallot.* Rev Clin Esp, 1972. **124**(4): p. 421-6.
211. Chibnik L.B., et al. *Comparison of threshold cutpoints and continuous measures of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in predicting future rheumatoid arthritis.* J Rheumatol, 2009. **36**(4): p. 706-11.
212. Quinn M.A., et al. *Anti-CCP antibodies measured at disease onset help identify seronegative rheumatoid arthritis and predict radiological and functional outcome.* Rheumatology (Oxford), 2006. **45**(4): p. 478-80.
213. Svard A., et al. *Presence and utility of IgA-class antibodies to cyclic citrullinated peptides in early rheumatoid arthritis: the Swedish TIRA project.* Arthritis Res Ther, 2008. **10**(4): p. R75.

214. Alexiou, I., et al. *Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in Greek patients with rheumatoid arthritis.* BMC Musculoskelet Disord, 2007. **8**: p. 37.
215. Mikuls T.R., et al. *Association of rheumatoid arthritis treatment response and disease duration with declines in serum levels of IgM rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody.* Arthritis Rheum, 2004. **50**(12): p. 3776-82.
216. Bizzaro N. *Antibodies to citrullinated peptides: a significant step forward in the early diagnosis of rheumatoid arthritis.* Clin Chem Lab Med, 2007. **45**(2): p. 150-7.
217. Dejaco C., et al. *Diagnostic value of antibodies against a modified citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis.* Arthritis Res Ther, 2006. **8**(4): p. R119.
218. Cannella A.C. and J.R. O'Dell. *Early rheumatoid arthritis: pitfalls in diagnosis and review of recent clinical trials.* Drugs, 2006. **66**(10): p. 1319-37.
219. Banal F., et al. *Sensitivity and specificity of the American College of Rheumatology 1987 criteria for the diagnosis of rheumatoid arthritis according to disease duration: a systematic literature review and meta-analysis.* Ann Rheum Dis, 2009. **68**(7): p. 1184-91.
220. Chatfield S.M., et al. *Anti-citrullinated peptide antibody: death of the rheumatoid factor?* Med J Aust, 2009. **190**(12): p. 693-5.