

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**CITRULLINÁLT PROTEINEK/PEPTIDEK ELLENI
AUTOANTITESTEK (ACPA) RHEUMATOID
ARTHRTISBEN**

Dr. Soós Lilla

Témavezető: Dr. Lakos Gabriella, Prof. Dr. Szekanecz Zoltán



DEBRECENI EGYETEM
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2009

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Klinikai Vizsgálatok doktori program

A Szigorlati Bizottság elnöke:

Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora

A Szigorlati Bizottság tagjai:

Prof. Dr. Czirják László, az MTA doktora

Prof. Dr. Kappelmayer János, az MTA doktora

A Védési Bizottság elnöke:

Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora

Opponensek:

Dr. Nagy György, Ph.D.

Dr. Surányi Péter, Ph.D.

A Védési Bizottság tagjai:

Prof. Dr. Czirják László, az MTA doktora

Prof. Dr. Kappelmayer János, az MTA doktora

Az értekezés védésének időpontja és helye:

2010. január 25. 13:00h: I. sz. Belgyógyászati Klinika tanterme

1. Bevezetés

1.1. A reumatoid arthritisről és diagnosztikájáról röviden

A reumatoid arthritis (RA) autoimmun patogenezisű krónikus gyulladással sokízületi megbetegedés, amely földrajzi hovatartozástól függően, a populáció 0,3-2%-át, átlagosan 1%-át érinti. A klinikailag klasszikusan szimmetrikus polyarthritissel járó, időnként szisztémás tüneteket is mutató kórkép háttérében genetikai, környezeti és autoimmun mechanizmusok állnak. Ezek következtében krónikus, nem specifikus synovitis alakul ki, mely a gyulladással sejtek és mediátorok révén, megfelelő kezelés hiányában, előbb-utóbb az ízületek tönkremeneteléhez, funkcionális károsodáshoz, esetenként rokkantsághoz vezethet. A modern diagnosztikus lehetőségek és a hatékony terápiás arzenál bevezetésével a betegség prognózisa az utóbbi években jelentősen javult.

Korábban sem megbízható és specifikus laboratóriumi módszerrel, sem az ízületi károsodást korán kimutató képalkotó eljárással nem rendelkeztünk. Ami a laboratóriumi diagnosztikát illeti, az 1960-as évekig csupán a reumatoid faktor (RF) állt rendelkezésre. Az IgM izotípusú RF igen szenzitív, de alacsony specificitású markernek bizonyult, mely az RA mellett más reumatológiai kórképekben, tuberkulózisban, egyéb krónikus fertőzésekben, sőt az egészséges, idős populáció 5-10%-ában is pozitívnak bizonyult. Nyilvánvalóvá vált, hogy egyéb, specifikusabb biomarkerre van szükség, ez azonban csupán egy évtizede áll rendelkezésünkre.

1.2. A citrullinált protein/peptid antitestek (ACPA) története

Az igazi nagy áttörést a szöveti citrullináció és a citrullinált fehérjék és peptidok elleni autoantitestek (anti-citrullinált protein/peptid antitestek, ACPA) megismerése jelentette. Bebizonyosodott, hogy az ACPA a genetikai tényezőkkel és a környezeti faktorokkal (elsősorban a dohányzással) együttműködve közvetlenül részt vesz az RA kialakulásában. Emellett azonban az ACPA igen specifikus laboratóriumi diagnosztikai, valamint fontos prognosztikai marker is. A RA lényegében két alcsoportra osztható ACPA pozitivitás illetve negativitás alapján. Úgy tűnik, a klinikai lefolyás, prognózis tekintetében ennek van a legnagyobb szerepe.

Az ACPA-elődök közül először az anti-perinukleáris faktort (APF), majd az anti-keratin antitestet (AKA) fedezték fel. Ezek, az RA korai, specifikus markerei, azonban kimutatásuk technikailag igen nehéz.

Ezután 1994-ben egy új RA-specifikus autoantitestet azonosítottak, amelyet a beteg neve után anti-Savoie (anti-Sa) antitestnek neveztek el. Az anti-Sa volt az első autoantitest, amely nemcsak magas diagnosztikus értékű volt, hanem már prognosztikai jelentőséget is tulajdonítottak neki, ugyanis a szeropozitív betegekben súlyosabb lefolyású betegség alakult ki. Később, a citrullinált antigének jelentőségének felismerése után, az anti-Sa antigénjeként a citrullinált vimentint (CV) azonosították 2004-ben, s ennek révén ezen antitest bekerült az ACPA-k családjába.

Mindezek mellett az ACPA-k családjába tartoznak az alpha-enoláz, a fibrinogén, a kollagén és bizonyos virális peptidek citrullinált formái elleni antitestek is.

1.3. A szöveti citrullináció és anti-citrullin autoimmunitás lényege

A citrullin az arginin poszt-transzlációsan módosított, deiminált változata. Az argininből a peptidilarginin-deimináz (PAD vagy PADI) enzim hatására képződik citrullin.

A szöveti citrullináció élettani folyamat, mely az epitheliális sejtek keratinizációja, gyulladás és apoptózis során figyelhető meg. A normál synovialis membrán kevés citrullinált fehérjét tartalmaz. Ezzel szemben a synovitist fokozott citrullináció jellemzi. Rheumatoid arthritisben a synovialis membrán mellett a synovialis folyadékban is intenzív autoantigén citrullináció zajlik. Bár a legtöbb vizsgálat arra utal, hogy a synoviumban a citrullinált fehérjék expressziója RA-specifikus, a szöveti citrullináció valószínűleg egyéb eredetű arthritisekben, ha kisebb mértékben is, ugyancsak előfordul.

Az ACPA-t lokális synovialis plazmasejtek termelik, és az autoantitestek megjelennek a synovialis folyadékban is. Az ACPA-k nemcsak passzív szemlélői ("innocent bystander") az RA-t kísérő autoimmun folyamatnak, hanem maguk is közvetlenül részt vesznek a betegség pathogenezisében. A lokálisan termelődő autoantitestekből immunkomplexek képződnek, amelyek monocita és neutrophil aktivációt illetve TNF- α termelést indukálnak és ezáltal részt vesznek a synovitis beindításában és fenntartásában.

1.4. Az ACPA-k komplex pathogenetikai szerepe

1.4.1. MHC és non-MHC gének összefüggései az ACPA termeléssel

Régóta ismert, hogy az RA iránti fogékonyság, valamint a progresszivitás szempontjából genetikai tényezőknek nagy szerepe van. Ezen belül alapvető a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) II. osztályába tartozó humán leukocita antigének (HLA) szerepe. Bizonyos HLA-DR típusok (HLA-DR1, -DR4), illetve ezen belül a HLA-DRB1 allélek harmadik hipervariábilis szakaszának egy rövid szekvenciája, az ún. „shared epitope” (SE) jelenléte szignifikánsan társul RA-hez. Az SE jelenléte szignifikánsan társul az ACPA termeléssel. Mint kiderült, a citrullinált epitopokat tartalmazó peptidok jobban illeszkednek és erősebb kötést alakítanak ki SE-t tartalmazó HLA-DRB1 allélek által kódolt fehérjékkel, mint az ugyanazon a helyen arginint hordozó peptidok. Mind az SE jelenléte, mind a magas ACPA szérumkoncentráció fontos prognosztikai tényező, amelynek segítségével a várhatóan progresszívebb lefolyást mutató eseteket nagy valószínűséggel kiválaszthatjuk. Ami talán még fontosabb, nemcsak az anti-CCP jelenléte, hanem annak abszolút koncentrációja is korrelál a HLA-DRB1-gyel.

Az utóbbi évek kutatásai szerint a SE, valószínűleg egyéb MHC gének (HLA-DBP1, HLA-DRB1*13, HLA-DRB1*15) és non-MHC (PTPN22, IRF5, Fc γ RIIIA-158V/F) gének szoros összefüggésben állnak az ACPA pozitivitással. Ezek a gének valószínűleg nem direkt módon befolyásolják az RA iránti fogékonyságot és a betegség kimenetelét, hanem döntően az ACPA termelésen keresztül. A genetikai vizsgálatokban tapasztalt különbségek azt sugallják, hogy ezek az összefüggések különböző (kaukázusi, ázsiai) népcsoportokban eltérően jelenhetnek meg.

1.4.2. Összefüggés környezeti, életmódi tényezőkkel

Számos, elsősorban skandináv tanulmány eredményei alapján elmondható, hogy a dohányzás serkenti a szöveti citrullinációt és ezáltal az ACPA termelést. A dohányzás kumulatív mennyisége arányos az anti-CCP pozitivitással illetve az ACPA titerrel is. A dohányzás tehát az RA egyik fő rizikófaktora, mely egyrészt fokozza a betegség iránti fogékonyságot, másrészt fennálló RA esetén a betegség progresszióját. A háttérben részben a szöveti necrosis és ennek talaján a szöveti citrullináció fokozódása, valamint a citrullinált epitópok szóródása (epitope spreading) állhat. Más életmódi, környezeti tényezők

vonatkozásában azt találták, hogy amíg a születéskor magasabb testsúly és orális antikoncepciensek szedése fokozza az RA rizikóját, a vörös hús nagymértékű fogyasztása nem befolyásolja az RA iránti fogékonyságot, az alkohol, különösen a bor, valószínűleg védő hatású. A betegség rizikó szempontjából a D vitamin és az ösztrogénbevitel neutrális volt.

1.5. Az ACPA betegségsspecifitása

Az ACPA elsősorban RA-ban és RA overlap szindrómákban termelődik, spondylarthropathiákban vagy primer kötőszöveti betegségekben csak igen kevés betegben. Bár a pontos magyarázatot nem ismerjük, a specificitás egyik oka az epitóp szóródás („epitope spreading”) lehet, melynek során a citrullinált antigének olyan kombinációja (filaggrin+fibrinogén+enoláz) jelenik meg az RA synoviumban, amely más arthritisekben nem. Másrészt, a SE és PTPN22 által meghatározott genetikai hajlam és a dohányzás ACPA termeléssel való összefüggéseit is csak RA-ban sikerült igazolni, így a genetikai és életmódi faktorok is hozzájárulhatnak az ACPA termelés RA-specificitásához.

1.6. Az ACPA prediktív és prognosztikai jelentősége

A reumatológiai rendeléseken számos beteg korai, nem differenciált polyarthritisszel (NDP) jelentkezik. Azokban az egyéneknél, akiknél később RA alakul ki, az esetek nagy részében már évekkel korábban jelen lehet az anti-CCP (25% ill. 52% a másfél éven túl, ill. másfél éven belül kialakuló RA esetében). Az ACPA jelezheti definitív RA kialakulását NDP-ben.

Az ACPA-knak igen fontos prognosztikai jelentősége van, mivel már korai RA-ban is nagyobb arányban fordulnak elő azokban a betegekben, akiknél súlyosabb lefolyású, több ízületi erózióval és destrukcióval járó kórkép fejlődik ki. Úgy tűnik, a kimenetel szempontjából az ACPA a legjobb marker, prediktív értéke jobbnak bizonyult, mint az SE vagy PTPN22 polimorfizmusé és a 10 év utáni radiológiai progresszió jelzése tekintetében is az ACPA bizonyult az egyik legjobb markernek.

Valószínű tehát, hogy az ACPA pozitivitás illetve negativitás alapján az RA két jól elkülöníthető altípusa definiálható. Bár talán a betegség kezdetén az ACPA alapján a kétféle fenotípus nem különböztethető meg, a későbbi betegség lefolyás során az általában SE-és PTPN22 1858T allélt hordozó, dohányzó betegek magasabb ízületi erózióval és rosszabb

prognózist mutatnak szemben a HLA-DR3 illetve PTPN22 1858C pozitív, nem dohányzó betegekkel. A nem differenciált polyarthritisből definitív RA-vá válás predikciójában valószínűleg több prediktív markert (ACPA, SE, PTPN22, MRI) együttesen kell használnunk.

1.7. Autoantitest-szintek változása a betegségfolyás során és a terápia hatására

1.7.1. ACPA termelés korai arthritisben és a betegség előrehaladtával

Ismeretes, hogy az ACPA-k megjelenése, legalább a betegek felében, akár évekkel megelőzheti a klinikailag manifesztálódó betegség megjelenését. Igen korai arthritis (<3 hónap betegségfennállás) esetén a pozitív ACPA teszt aránya valamivel kisebb, mint a már kialakult betegségben, de a definitív, diagnosztikai kritériumoknak megfelelő RA-ban az ACPA státusz csak igen ritkán (kb. 5%) változik. Az ACPA szint az évek előrehaladtával kismértékű csökkenést mutathat, de az ellenanyag szint változása nem követi az aktuális állapot, az ízületi gyulladás súlyosságának ingadozását, vagyis nem aktivitási marker.

1.7.2. A biológiai terápia és az ACPA termelés összefüggései

Számos vizsgálat adatai alapján elmondható, hogy biológiai terápia hatására az ACPA termelés csökkenése összességében nem egyértelmű, anti-TNF kezelés hatására stabil is maradhat. A RF-ral ellentétben azonban ACPA szeronegatívvá válás alig fordul elő. Az adatok egyrészt azt mutatják, hogy a biológiai szerek jelentősen befolyásolják az immunrendszer működését, ezen belül az autoantitestek termelődését, másrészt a szeropozitív és szeronegatív betegek esetleg eltérően reagálhatnak a terápiára. Legjelentősebb változásra az autoantitestek szintjében az anti-CD20 antitest (rituximab) kezelés következtében számíthatunk.

2. Célkitűzések

Az RA és az ACPA-k összefüggéseinek vizsgálata kapcsán az alábbi célkitűzéseim voltak:

1. A világon az elsők között alkalmaztuk az új anti-MCV tesztet. Össze kívántuk vetni ezen ELISA diagnosztikus teljesítményét a standard második generációs anti-CCP2 teszttel.

2. Miután az anti-CCP IgG izotípusával kapcsolatban számos kutatás jelent meg, de gyakorlatilag nem állt rendelkezésünkre információ az IgA és IgM izotípusokkal kapcsolatban, célul tűztük ki az IgA és IgM anti-CCP kimutatására alkalmas módszer kidolgozását. Elemezni kívántuk ezen antitestek diagnosztikus értékét és a betegségfolyással párhuzamos változását.

3. A harmadik generációs anti-CCP3 és anti-CCP3.1 ELISA alkalmazása során arra kívántunk választ kapni, hogy az anti-CCP teszt továbbfejlesztése jelent-e diagnosztikus előnyt a második generációs teszttel szemben.

3. Betegek és módszerek

3.1. Betegek

A vizsgálatokhoz 119, a Reumatológiai Tanszéken gondozott RA-s betegtől nyertünk szérummintát. Minden beteg megfelelt az ACR klasszifikációs betegségkritériumainak. A 119 RA-s beteg közül 100 nő és 19 férfi volt, átlagéletkoruk (\pm SD) $52,7 \pm 12,5$ év (tartomány: 19-77 év) volt. Ez a koreloszlás statisztikailag nem különbözött a kontrolloktól. Az RA átlagos betegségfennállási ideje $10,2 \pm 9,1$ év volt. Összehasonlításként 118 kontroll személy szérumát vizsgáltuk meg. Ezek közül 74 kontroll egyéb reumatológiai betegségben szenvedett: 37 primer Sjögren szindrómában (pSS), 30 poly-/dermatomyositisben (PM/DM) és 7 osteoarthritisben (OA). A betegkontroll személyek demográfiai adatai a következőképpen alakultak: pSS (35 nő és 2 férfi; átlagéletkor: $55,9 \pm 15,2$ év), PM/DM (24 nő és 6 férfi; átlagéletkor: $47,8 \pm 14,5$ év), OA (5 nő és 2 férfi; átlagéletkoruk: $56,6 \pm 16,6$ év). A maradék 44 személy egészséges önkéntes volt (29 nő és 13 férfi; átlagéletkoruk: $45,8 \pm 10,6$ év). A szérummintákat felhasználásig -80°C -n tároltuk.

3.2. ACPA és RF meghatározás

Az anti-CCP2 IgG szintek meghatározása második generációs ELISA (QUANTA Lite™ CCP IgG ELISA; INOVA Diagnostics Inc., San Diego, CA, USA) használatával történt. Ebben a tesztben antigénként a mikrotiter lemez felszínéhez kötött szintetikus citrullinált peptideket alkalmaznak. A tesztet 20 IU/ml fölötti értékeket tekintettünk pozitívnak.

Az anti-CCP2 IgA és IgM szintek meghatározása során a citrullinált peptidekkel fedett lemezek, a mintahígító oldat, a mosófolyadék, a TMB szubsztrát és a színreakciót leállító stop oldat a fentiekben leírt QUANTA Lite™ CCP ELISA-ból származott. A szérummintákat 1:100 arányban hígítottuk, és 60 percig inkubáltuk a lemezeken. A megkötött antitesteket tormaperoxidázzal (HRP) konjugált nyúl anti-human IgA és IgM antitestek segítségével detektáltuk (DAKO A/S, Glostrup, Dánia). Az eredményeket optikai denzitás (OD)

formájában fejeztük ki. Az optimális cutoff értékeket (IgA anti-CCP2: 0,198; IgM anti-CCP2: 0,513) "receiver operating characteristic" (ROC) görbe analízis révén határoztuk meg.

A harmadik generációs anti-CCP antitestek kimutatása az INOVA Diagnostics új fejlesztésű anti-CCP3 és anti-CCP3.1 IgA/IgG ELISA tesztjeinek használatával történt. Az anti-CCP3 teszt az alkalmazott citrullinált antigén(ek) tekintetében tér el a második generációs tesztekétől, míg az anti-CCP3.1 teszt emellett a kimutatott antitest izotípusában is különbözik; IgG és IgA izotípusú antitestek együttesét méri.

Az anti-MCV IgG antitestek meghatározása is ELISA-val történt (Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Németország). Ez a teszt kit antigénként rekombináns MCV-t tartalmaz. A cutoff érték 20 U/ml volt.

Az IgM, IgA, és IgG izotípusú RF meghatározása standard ELISA-val történt (ImmuLisa RF IgM, IgA, és IgG, Immco Diagnostics, Buffalo, NY). A referencia tartomány felső határa RF IgM esetén 9 IU/ml, RF IgA esetén 25 EU/ml, és RF IgG esetén 25 EU/ml volt.

3.3. HLA-DRB1 genotipizálás

A genomikus DNS izolálása 85 RA-s beteg perifériás véréből, a gyártó ajánlásainak megfelelően, QIAamp Blood Mini Kit (QIA-GEN GmbH, Germany) használatával történt. A HLA-DRB1 tipizálás és szubtipizálás polimeráz láncreakcióval (PCR), szekvenciaspecifikus primerek (Olerup SSP™, GenoVision Inc., PA, USA) segítségével történt. Az alábbi shared epitop allélek jelenlétét vizsgáltuk: HLA-DRB1*0101, HLA-DRB1*0102, HLA-DRB1*0401, HLA-DRB1*0404, HLA-DRB1*0405 és HLA-DRB1*0408.

3.4. Statisztikai analízis

Az RF, anti-CCP és anti-MCV-re vonatkozó diagnosztikus szenzitivitás és specificitás, valamint a pozitív (PPV) és negatív prediktív (NPV) értékeket definíció szerint kiszámoltuk. Az antitest tesztek diagnosztikus hatékonyságát ROC görbe analízis segítségével vizsgáltuk, grafikusán ábrázolva a szenzitivitást az 1-specificitás függvényében különböző cutoff értékeknél. Az optimális cutoff értékek anti-MCV és anti-CCP2 tesztekre vonatkozó értékeinek meghatározása a ROC görbék alapján történt. A különböző csoportok közti antitest szinteket a non-parametrikus Mann-Whitney-féle U-teszttel hasonlítottuk össze. A különböző vizsgálati csoportokban az autoantitestek mennyisége nem Gaussi megoszlást mutatott. Az

anti-MCV, anti-CCP és RF szintek közti kapcsolat illetve az anti-CCP2 izotípusok közti összefüggések meghatározására a Spearman-féle korrelációt használtuk. Az anti-CCP2 antitestek és a RF-k különböző izotípusainak előfordulása közti asszociáció, valamint az anti-CCP2 egyes izotípusai, a betegség tartam illetve a HLA-DRB1 SE közti összefüggések vizsgálatára a Fisher-féle exact tesztet alkalmaztuk. Minden esetben a $p < 0,05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak. Minden statisztikai analízis elvégzéséhez az SPSS Windows (v11.0) statisztikai csomagot használtuk.

4. Eredmények

4.1. Anti-MCV autoantitestek vizsgálata

4.1.1. Anti-MCV termelés az egyes beteg- és kontrollcsoportokban

Az RA-s betegek szérum anti-MCV koncentrációja szignifikánsan magasabbnak bizonyult (középérték: 60,8 U/ml, interquartilis tartomány [IQR]: 21,2-348,4 U/ml), mint az egészséges kontrolloké (átlag: 8,9 U/ml, IQR: 5,4-13,3 U/ml; $p < 0,0001$) vagy az egyéb reumatológiai betegségben szenvedőké (átlag: 9,8 U/ml; IQR: 3,7-14,7 U/ml; $p < 0,0001$).

4.1.2. Az anti-MCV, anti-CCP2 és RF tesztek diagnosztikus teljesítménye, a gyártó által ajánlott cutoff értékeket használva

Amikor mindegyik tesztnél a gyártók által ajánlott cutoff értékeket használtuk, az RA-s betegekben az anti-MCV volt a leggyakrabban pozitív, ami 75,6%-os diagnosztikus szenzitivitást eredményezett. Ez 4%-kal illetve 9%-kal meghaladta az IgM RF illetve az anti-CCP2 szenzitivitását. Az IgA és IgG izotípusú RF egyaránt viszonylag ritkán volt pozitív, ezen tesztek szenzitivitása 36,9% illetve 37,8% volt. Amikor az RA-s betegeket csak az egészséges egyénekhez hasonlítottuk, az összes vizsgált autoantitest assay specificitása kiváló (95,5-100%) volt

Ami a reumatológiai betegkontollokat illeti, anti-MCV pozitívítás a pSS-s betegek közt 4 esetben, PM/DM-sek közt 3 esetben és az OA-s betegek közül egy esetben volt megfigyelhető. Mindez összességében 91,1%-os specificitást eredményezett.

Ugyanakkor anti-CCP2 pozitívítás a pSS-s és a PM/DM-es betegek közt is 1-1 esetben fordult elő, ami az RA-t tekintve 98,3%-os specificitást eredményezett.

A RF mindhárom izotípusa magas prevalenciát mutatott pSS-s és PM/DM-es betegekben. Az IgM RF a pSS csoport betegeinek 40,5%-ában, a PM/DM csoport betegeinek 16,6%-ában volt jelen. Ennek következtében a különböző izotípusú RF-k diagnosztikai specificitása alacsonynak bizonyult (IgM: 82,2%, IgA: 88,9%, IgG: 87,3%).

A tesztek diagnosztikai teljesítményének vizsgálata céljából ROC görbe analízist végeztünk. A számítások alapján a görbe alatti terület (area under curve, AUC) az anti-MCV esetén 0,853 (95% CI: 0,801-0,905), míg az anti-CCP2 esetén 0,910 (95% CI: 0,873-0,946) volt (p= nem szignifikáns).

Az AUC értékek mind az anti-MCV, mind az anti-CCP2 esetében meghaladták az IgM RF esetén kalkulált értéket (0,788; 95% CI: 0,728–0,847).

4.1.3. Az anti-MCV és anti-CCP2 tesztek diagnosztikus teljesítménye optimalizált cutoff értékeket használva

A ROC görbe analízis ugyancsak lehetővé teszi az optimális cutoff érték meghatározását. Optimálisnak tekinthető az a cutoff érték, amely alkalmazásával a maximális diagnosztikus szenzitivitás és specificitás érhető el. Az anti-MCV és az IgM RF esetén az optimális cutoff értékek (20,3 U/ml illetve 8,3 IU/ml) hasonlóan bizonyultak a gyártók által ajánlott értékekhez, így nem változtatta meg a szenzitivitás és specificitás értékeket. Az anti-CCP2 esetén azonban az optimális cutoff érték 12 U/ml volt, ami a specificitás kismértékű csökkenése mellett (95,8%) a szenzitivitás mintegy 8%-os növekedéséhez vezetett (74,8%).

Ugyancsak a ROC analízis eredményeinek felhasználásával, lehetséges az egyes tesztek specificitását egységesíteni, ezáltal szenzitivitásuk egyértelműen összevethető. Autoantitestek esetében a 95%-os specificitás általánosan elfogadott, mint diagnosztikailag optimális érték. Az általunk vizsgált diagnosztikai tesztek esetében a 95%-os specificitás az anti-MCV esetében 26,3 U/ml, az anti-CCP2 esetében 11,7 U/ml, míg az IgM RF esetében 50,3 IU/ml cutoff értéknél valósult meg. Ez az anti-MCV teszt esetében 69,7%, az anti-CCP2 esetén pedig 74,8% szenzitivitást eredményezett, miközben az IgM RF teszt szenzitivitása 33,6%-ra csökkent.

4.1.4. Az anti-MCV, anti-CCP2 és IgM RF pozitivitás közti összefüggés

Mindhárom teszt esetében az optimalizált cutoff értékeket használva, az anti-MCV, anti-CCP2 és IgM RF együttes pozitivitása 70 RA-s betegben (58,8%) volt megfigyelhető. Ezzel szemben 18 beteg (15,3%) mindhárom autoantitestre negatív volt.

Az RA-s csoportban az anti-MCV és IgM RF közti egyezési ráta 81,5%, míg az anti-MCV és anti-CCP2 tesztek közt 88,2% volt. Az anti-MCV és anti-CCP2 kombinációt

használva, ezen antitestek egyikének vagy mindkettőnek a pozitivitása, 78,2% / 66,4% szenzitivitást illetve 91,5% / 98,3% specificitást eredményezett. A kettős pozitívitás pozitív prediktív értéke (PPV) RA-ban 97,5% volt.

Fontos hangsúlyozni, hogy RA-ban az IgM RF⁻ esetek 41,2%-a (14 beteg) és az anti-CCP2⁻ esetek 30%-a (9 beteg) anti-MCV⁺ volt. Ugyanakkor az anti-MCV⁻ RA-s betegek 27,6%-a (8 beteg) anti-CCP2⁺-nak bizonyult.

Mind az anti-MCV, mind az anti-CCP2 az ACPA családba tartozik. A kettőjük közti összefüggésekkel foglalkozó további vizsgálatok során korrelációt kerestünk a szérum anti-MCV és anti-CCP2 koncentrációk közt, mely RA-ban szignifikánsnak bizonyult (Spearman $R=0.783$; $p<0.0001$).

Az anti-MCV pozitívitás illetve negativitás mellett vizsgáltuk az anti-MCV abszolút szérumkoncentrációit is. Az anti-MCV átlagos szérumszintje magasabbnak bizonyult az anti-MCV⁺/anti-CCP2⁺ RA-s betegekben ($n=79$; medián antitest szint: 206,5 U/ml, IQR: 59,3-826,3 U/ml), mint az anti-MCV⁺/anti-CCP2⁻ betegekben ($n=4$; medián antitest szint: 49,5 U/ml, IQR: 38,3-112,7 U/ml; $p<0.0001$).

Az átlagos anti-CCP2 szintek szintén szignifikánsan magasabbak voltak az anti-MCV⁺/anti-CCP2⁺ RA-s betegekben (296,6 U/ml, IQR: 120,3-490,2 U/ml), mint azokban, akik csak anti-CCP2⁺-ak voltak (20,4 U/ml; IQR: 16,4-68,7 U/ml; $p<0.0001$).

Ezek az adatok, a 88,2%-os egyezési rátával és az antitest-szintek közötti szignifikáns korelációval együtt azt sugallják, hogy az anti-MCV és anti-CCP2 antitestek hasonló epitopokhoz kötődnek. Ugyanakkor az egyedi antitest-pozitívítások arra utalnak, hogy mindkét teszt tartalmaz olyan egyedi citrullinált epitopokat, amelyeket kizárólagosan vagy csak egyik vagy csak a másik antitest ismeri fel.

Annak ellenére, hogy a RF nem áll kapcsolatban az ACPA-kkal, statisztikailag szignifikáns korelációt találtunk az IgM RF szérumszintek és az anti-MCV ($R=0,25$; $p=0,01$) illetve az anti-CCP2 ($R= 0,269$; $p= 0,007$) szérumszintek közt.

4.1.5. Összefüggés az anti-MCV és a HLA-DRB1 hordozás között

RA-ban az IgG anti-CCP2 termelés összefügg a SE hordozással. Ezért megvizsgáltuk annak lehetőségét, vajon ez az összefüggés kiterjedhet-e az anti-MCV antitestre is. A HLA-DRB1 tipizálást és szubtipizálást 85 RA-s beteg esetében végeztük el és 54,1%-ukban heterozigóta vagy homozigóta SE hordozást mutattunk ki. Vizsgálatunkban az MCV elleni antitest jelenléte szignifikánsan társult a SE jelenlétével ($p=0,02$). Az anti-MCV pozitívitás

gyakorisága 86,6% volt a SE-t hordozó RA-s betegek körében, míg 64,1% a SE negatív betegekben. A kópiaszám kismértékben, de nem szignifikánsan befolyásolta az antitest gyakoriságot: az egy (heterozigóta) illetve két (homozigóta) SE-t hordozók között az anti-MCV pozitivitás aránya 82,3% illetve 91,6% volt. Ugyancsak megerősítettük a szignifikáns asszociációt az anti-CCP2 és a SE jelenléte között ($p=0,01$). Ugyanakkor a SE és az IgM RF vonatkozásában ilyen összefüggés nem volt kimutatható.

4.2. Anti-CCP2 izotípusok vizsgálata RA-ban

4.2.1. IgA és IgM anti-CCP2 izotípusok termelése

Az RA-s betegek szérum IgA anti-CCP2 antitest szintje szignifikánsan magasabb volt (medián OD: 0,211; IQR: 0,090-0,630), mint az egészséges egyéneké (medián OD: 0,085; IQR: 0,077-0,096; $p<0,0001$) illetve a reumatológiai betegkontrolloké (medián OD: 0,096; IQR: 0,076-0,125; $p<0,0001$). RA-ban az IgM izotípusú anti-CCP2 termelése is szignifikánsan kifejezettebb volt (medián OD: 0,404; IQR: 0,245-1,221) akár az egészséges kontrollokhoz (medián OD: 0,278; IQR: 0,246-0,309; $p<0,0001$), akár a betegkontrollokhoz képest (medián OD: 0,244; IQR: 0,185-0,411; $p<0,0001$).

4.2.2. Az IgA és IgM és IgG anti-CCP2 antitestek gyakorisága RA-ban

Az anti-CCP2 különböző izotípusai diagnosztikai hatékonyságát ROC analízissel vizsgáltuk. Az AUC értékek a következők voltak: IgG anti-CCP2: AUC=0,910 (95% CI: 0,873-0,946); IgA anti-CCP2: AUC=0,744 (95% CI: 0,678-0,809); IgM anti-CCP2: AUC=0,704 (95% CI: 0,636-0,772).

Az IgA és IgM anti-CCP2 közti különbség nem volt szignifikáns. Az eredményeket az optimalizált cutoff értékek szerint osztályozva, IgG, IgA és IgM anti-CCP2 antitest pozitivitás sorrendben az RA-s betegek 74,8, 52,9 illetve 44,6%-ában volt megfigyelhető. Bár az IgA és IgM izotípusú anti-CCP2 antitestek leggyakrabban az IgG anti-CCP2⁺ RA-s betegekben jelentek meg; két betegben csak IgM, egy betegben pedig csak IgA izotípusú anti-CCP2 pozitivitás jelentkezett. Az egészséges kontrollokban az anti-CCP2 antitestek egyik izotípusa sem volt kimutatható. A betegkontroll csoportban az IgG, IgA és IgM anti-CCP2 antitestek

sorrendben 5, 5 illetve 9 betegben voltak jelen. Összesen 4 olyan betegkontroll volt, akiknél a különböző izotípusú anti-CCP2 antitestekből egyidejűleg 2 vagy 3 egyszerre jelen volt.

Az IgA és IgM anti-CCP2 tesztek teljes diagnosztikus specificitása 95,8%-nak illetve 91,6%-nak adódott. Amikor ezeket a különböző RF izotípusok diagnosztikai teljesítményével vettük össze, az anti-CCP2 IgA és IgM antitestek specificitása szignifikánsan magasabbnak bizonyult, mint a RF bármelyik izotípusáé, és szenzitivitásuk meghaladta az IgA vagy IgG RF-k diagnosztikai szenzitivitását. Az RA-s csoporton belül az anti-CCP2 bármely két izotípusának együttes pozitivitása 96,6%-os, míg mindhárom izotípus együttes pozitivitása 99,2%-os specificitást eredményezett.

4.2.3. Az anti-CCP2 antitestek és RF-k különféle izotípusai közti asszociáció

Az IgM, IgA és IgG RF pozitív és negatív RA-s betegekben megvizsgáltuk, hogy az anti-CCP2 ugyanezen izotípusaira nézve pozitívak vagy negatívak-e. Szignifikánsan több RA-s betegnek volt IgM anti-CCP2 antitestje az IgM RF⁺-ak közt, mint az IgM RF⁻ szubpopulációban (56,8% illetve 14,7%; $p < 0,0001$). Az IgA anti-CCP2 antitestek gyakorisága szintén magasabb volt az IgA RF⁺ RA betegek közt, az IgA RF⁻ csoporthoz képest (70,5% illetve 42,6%; $p = 0,004$). Azonban annak ellenére, hogy az IgG anti-CCP2 pozitívitás szintén gyakoribb volt az IgG RF⁺ betegek esetében (82,3% illetve 70,2%), ez az összefüggés nem bizonyult szignifikánsnak.

4.2.4. Az anti-CCP2 izotípusok összefüggései a HLA-DRB1 SE hordozással

Ugyancsak megvizsgáltuk annak lehetőségét, hogy az ismert SE - IgG anti-CCP2 kapcsolat kiterjedhet-e az anti-CCP2 antitestek IgA vagy IgM izotípusaira is. Amikor az IgA és IgM anti-CCP2 izotípusokat külön-külön vizsgáltuk, akkor csak kissé, de nem szignifikánsan gyakoribb antitest pozitívitás volt megfigyelhető a SE⁺ betegekben az SE⁻-akhoz képest (IgA: 54,3% illetve 43,6%; IgM: 45,7% illetve 33,3%). Azonban amikor az anti-CCP2 antitestek izotípusait együttesen vettük figyelembe, szignifikáns összefüggést sikerült kimutatni az anti-CCP2 antitestek és a SE jelenléte között ($p = 0,03$). Ez az összefüggés erősebbnek bizonyult, mint a SE allélek és a csak IgG anti-CCP2 izotípus asszociációja ($p = 0,04$).

4.2.5. Az anti-CCP2 izotípusok és a betegségfennállási idő összefüggései

Az anti-CCP2 antitest pozitivitás gyakoriságát és az abszolút szérumszinteket külön is vizsgáltuk mindhárom izotípus esetén korai (betegségtartam <3 év) és késői (betegségtartam >10 év) RA-ban. Korai RA-ban mindhárom antitest izotípus esetén magasabb arányú pozitívítási tendencia volt megfigyelhető, mint hosszabb betegségfennállás esetén (8. táblázat). A különbség egyedül az IgM anti-CCP2 esetében volt statisztikailag szignifikáns (korai: 71,4%; késői: 37,5%; $p=0,03$). Hasonló eredményt kaptunk akkor is, amikor a korai RA-t vetettük össze az RA-s betegek fennmaradó hányadával ($p=0,04$).

Az anti-CCP2 antitestek átlagos abszolút szérum koncentrációi (csak a pozitív eseteket figyelembe véve) hasonlóak voltak korai illetve késői betegség esetén.

4.3. A harmadik generációs anti-CCP3 és anti-CCP3.1 ELISA vizsgálata

4.3.1. Az anti-CCP3.1 pozitívítási gyakorisága RA-ban és kontrollokban

Az anti-CCP3 és az anti-CCP3.1 teszt eredménye a 119 RA-s beteg közül 92-ben illetve 102-ben (77,3% és 85,7%), a 118 összes kontroll közül 4-ben illetve 12-ben (3,4% és 10,2%), utóbbin belül a 74 betegkontrollból 3 illetve 6 (4,1% és 8,1%), a 44 egészséges kontrollból 1 illetve 6 esetben (2,3% és 13,6%) volt pozitív. Ennek megfelelően RA-ban a pozitívítási szignifikánsan gyakoribb volt, mint bármelyik kontrollcsoportban ($p<0,0001$).

Az anti-CCP2 teszt az RA-s betegek 66,4%-ában, az összes kontroll 1,7%-ában (mind betegkontroll) volt pozitív.

4.3.2. Az anti-CCP3.1 teszt diagnosztikus hatékonysága a gyártó által megadott cutoff értékek szerint

Az anti-CCP3 és anti-CCP3.1 tesztek diagnosztikai szenzitivitása/specificitása 77,3/96,6%-nak illetve 85,7/89,9%-nak adódott. A ROC görbe alatti területek (AUC) értéke ezen tesztek vonatkozásában 0,911 (95% CI 0,868-0,953) illetve 0,945 (95% CI: 0,916-0,974) volt. Összehasonlításképpen, az anti-CCP2 ELISA hasonló adatai 0,910 (95% CI: 0,873-0,946) voltak.

4.3.3. A z anti-CCP3 és az anti-CCP3.1 teszt diagnosztikus teljesítménye optimalizált cutoff értékek szerint

A magasabb AUC érték a CCP3.1 vonatkozásában arra utal, hogy diagnosztikus hatékonysága jobb, mint a CCP3 vagy a CCP2 teszté. Ezért megvizsgáltuk, hogy a cutoff optimális megválasztásával tudjuk-e növelni a CCP3.1 teszt specificitását, a szenzitivitás jelentős megváltoztatása nélkül. Az optimális cutoff szintek meghatározása a ROC görbék analízisén alapult, és az anti-CCP2 esetében 12 U/ml; az anti-CCP3 esetében 15,6 U/ml, míg az anti-CCP3.1 esetében 23.7 U/ml volt. A diagnosztikus teljesítményre vonatkozó eredményeket ezután újraszámoltuk, a fentiekben említett, optimalizált cutoff értékeket használva. Ez 74,8/95,7%, 78,8/96,6% illetve 83,0/98,3% szenzitivitást/specificitást eredményezett az anti-CCP2, anti-CCP3 illetve anti-CCP3.1 teszt esetében.

4.3.4. Az anti-CCP3.1 és anti-CCP2 termelés összefüggései

Az RA-s populációban az anti-CCP3.1 és anti-CCP2 antitestek szérumszintje szorosan korrelált egymással ($R=0,845$; $p<0,0001$).

Ugyancsak szoros összefüggést sikerült kimutatni az anti-CCP3.1 és anti-CCP2 pozitívítás illetve negatívítás között ($p=0,004$). A vizsgált betegek 72,2%-a anti-CCP3.1⁺/anti-CCP2⁺ volt, 15,1%-uk dupla negatívnak bizonyult. Összesen 12 (10,1%) anti-CCP2⁻ betegben anti-CCP3.1-et lehetett kimutatni, míg mindössze 3 olyan beteg volt (2,5%), akikben az anti-CCP2 pozitívítást nem kísérte anti-CCP3.1 pozitívítás is.

5. Megbeszélés

5.1. Anti-MCV autoantitest vizsgálata

Az ACPA-család legújabb tagját, az anti-Sa-t, mint CV elleni autoantitestet azonosították 2004-ben. Ezt követően fejlesztették ki az anti-MCV ELISA-t, amely antigénként mutáns citrullinált vimentint alkalmaz. Munkánk ezen részének célja az anti-MCV teszt diagnosztikus értékének meghatározása volt. Emellett az anti-MCV ELISA-t összevetettük az anti-CCP2 illetve RF tesztek diagnosztikai teljesítményével.

A gyártók által ajánlott cutoff értékeket használva, az anti-MCV 9%-kal nagyobb szenzitivitás értéket mutatott, mint az anti-CCP2, és 4%-kal nagyobb szenzitivitást, mint az IgM RF; habár diagnosztikus specificitása alacsonyabb volt, mint az anti-CCP2 teszté (91.5% ill 98.8%). A ROC görbe analízis szerint azonban az RA diagnosztikájában az anti-MCV és anti-CCP2 ELISA diagnosztikai teljesítménye között nem volt szignifikáns a különbség.

Amennyiben, a jobb összehasonlíthatóság kedvéért, a cutoff értékeket egységesítettük, és ezáltal a specificitást minden teszt esetében 95%-ra állítottuk be, az anti-MCV ELISA szenzitivitása lecsökkent (69,7%), miközben az anti-CCP2 teszté emelkedett (74,8%). Fontos megemlíteni, hogy ezen cutoff értékeknél az IgM RF⁻ esetek 41,2%-a (14 beteg) és az anti-CCP2⁻ esetek 30%-a (9 beteg) anti-MCV⁺ volt. Összességében, az anti-MCV és anti-CCP2 együttes pozitivitása 98,3%-os diagnosztikus specificitást eredményezett, 97,6%-os PPV mellett.

Miután az anti-CCP2⁻ illetve RF⁻ betegek között is jelentős számban találtunk anti-MCV⁺ egyéneket, többféle teszt kombinálása növelheti a szenzitivitást, és hasznos lehet a diagnosztikában. Ami a prognosztikai értéket illeti, az eddigi tanulmányok adatai szerint az anti-MCV szenzitívebben jelezte előre a tartós aktivitást, a klinikai változásokat és a súlyosabb radiológiai progressziót, mint az anti-CCP2 vagy anti-CCP3.

Ismeretes, hogy a HLA-DRB1 SE hordozás összefüggést mutat az anti-CCP2 termeléssel. Jelen eredményeink szerint az anti-MCV pozitívítás is szignifikáns korrelációt mutat a SE hordozással RA-ben.

5.2. Anti-CCP2 izotípusok vizsgálata

A második generációs ELISA tesztek magas szenzitivitással és specificitással az RA-s betegek megközelítőleg 70-75%-ában képesek kimutatni az IgG izotípusú anti-CCP2 autoantitesteket. Az IgA és IgM anti-CCP izotípusokról azonban jóval kevesebb információval rendelkezünk. Bár a különféle autoimmun betegségek megítélésében általában az IgG izotípusú autoantitestek tekinthetők leginkább relevánsnak, bizonyos esetekben az IgA és IgM izotípusok specifikus jelentőséggel bírnak.

RA-ban egy betegben az RF mindhárom izotípusa megjelenhet. Általában az IgG és IgA RF előfordulása ritkább, mint az IgM RF-é, de az IgG és IgA izotípusok specificitása magasabb lehet.

Eredményeink azt mutatják, hogy az IgA és IgM anti-CCP2 antitestek szintje az RA-s betegek szérumában emelkedett a kontrollokhöz képest. Bár ezen antitest izotípusokat a vizsgált RA-s populációnak csak megközelítőleg a felében találtuk pozitívnak, diagnosztikai specificitásuk meghaladta a RF bármely izotípusának specificitását, így hasznosabb diagnosztikai tesztnek bizonyultak, mint az IgA vagy IgG RF. Az IgA vagy IgM anti-CCP2 antitestek jelenléte jelentősen megerősíti az RA diagnózist, és a hármas pozitívitás az anti-CCP2 teszt specificitását 99,2%-ra emeli. Ezen adatok megerősítik eredményeinket, miszerint amellet, hogy a régóta fennálló RA-ban szignifikánsan alacsonyabb az IgM anti-CCP2 pozitívitás gyakorisága, világosan megfigyelhető volt az a tendencia, hogy az IgG és/vagy IgA anti-CCP pozitívitás frekvenciája is lecsökkent. A tripla antitest pozitív betegek esetén, hosszan tartó betegségfennállás után, ez még kifejezettebb volt. Egyelőre nem tisztázott, hogy az egyes anti-CCP izotípusok változása a betegség természetes lefolyásával állt-e összefüggésben vagy a gyógyszeres kezelés hatására következett be.

Az RA diagnózisa számos vizsgálat szerint gyakran az első tünetek megjelenéséhez képest késve kerül megállapításra. Azonban az IgG anti-CCP antitestek az RA-s betegek felénél a tünetek kialakulását megelőzően megjelenhetnek, ami értékes prediktív markerré teszi az IgG anti-CCP antitesteket. Az IgM és IgA anti-CCP antitestek prediktív értéke még nem ismert. Ugyanakkor az IgM anti-CCP2 antitestek magas prevalenciája korai RA-ban kimondottan arra utal, hogy ezek az antitestek vagy egyszerre, vagy korábban jelenhetnek meg, mint az IgG anti-CCP2 antitestek.

Az RA elkülönítése egyéb reumatológiai betegségektől, különösen a Sjögren syndromához társuló polyarthritisektől, bonyolult diagnosztikai problémát jelent. A többszörös anti-CCP pozitívitás magas diagnosztikus specificitása arra utal, hogy az általunk vizsgált

betegek közül a kettős vagy hármas izotípus pozitivitást mutató pSS-ban vagy PM esetekben nem vehető el társuló RA későbbi kialakulása, ezért ezen betegeket klinikailag, laboratóriumi markerekkel és képalkotókkal is követni érdemes.

Összességében elmondható, hogy az RA-s betegekben IgA és IgM anti-CCP2 antitestek vannak jelen, és hasonlóan specifikusak a betegségre, mint az IgG anti-CCP2 izotípusú antitestek. Az IgA és IgM anti-CCP2 antitestek termelődése ugyanolyan szorosan összefügg a HLA-DRB1 SE allélek jelenlétével, mint az IgG anti-CCP2 antitesteké. Az IgM és IgA anti-CCP2 pozitívitas az RA diagnózisát megerősíti, a tripla pozitívitas pedig 99,2%-os diagnosztikus specifikitást jelent. Az IgM anti-CCP2 antitestek sokkal gyakoribbak korai RA-ban, mint a régóta fennálló RA esetén, ami azt sugallja, hogy ezek az antitestek leginkább a citrullinált antigének elleni immunválasz első fázisában termelődnek. Adataink azt sugallják, hogy az antitest válasz az RA-s betegek némelyikében csökken, míg másokban változatlan marad a betegség lefolyása során.

5.3. Anti-CCP3 és -CCP3.1 teszt vizsgálata

Az anti-CCP ELISA tesztek újabb generációinak diagnosztikai teljesítményében fokozatos fejlődés észlelhető. Ennek megfelelően a korábbi anti-CCP1 és anti-CCP2 ELISA-k után harmadik generációs assay-k jelentek meg a piacon.

Vizsgálatunkban az anti-CCP3 ELISA teljesítménye hasonlóan, az anti-CCP3.1 ELISA diagnosztikus teljesítménye pedig jobbnak bizonyult, mint a második generációs teszté. A CCP3 teszt más citrullinált peptid antigéneket alkalmaz, mint a CCP2 tesztek. Az anti-CCP3.1 ELISA emellett IgG+IgA antitestek összességét detektálja. A CCP3.1 teszt magasabb szenzitivitása valószínűleg részben annak tulajdonítható, hogy IgA és IgG izotípusú antitesteket is detektál, habár saját eredményeink szerint az izolált IgA anti-CCP pozitívitas extrém ritka RA-ban. A magasabb szenzitivitas másik forrása a CCP2-től különböző antigén lehet, bár eredményeink azt mutatják, hogy kevés olyan RA-s minta van, amelyik kizárólag a CCP2 peptiddel reagál és a CCP3 peptiddel nem.

A tesztek diagnosztikai teljesítményét mindegyik vizsgálatban növelni tudtuk a ROC analízisen alapuló optimalizált cutoff értékek bevezetésével. Ez alátámasztja a laboratóriumok felelősségét az újonnan bevezetett tesztek értékelésében és optimalizálásában, a betegpopuláció helyi jellegzetességeinek és a laboratóriumok technikai felkészültségének megfelelően.

6. Összefoglalás - Új eredmények

Amíg számos autoimmun-reumatológiai betegségben az adott betegségre jellemző autoantitest-profil megkönnyíti a diagnózist, addig rheumatoid arthritisben (RA) sokáig csak a szenzitív, de nem specifikus rheumatoid faktor meghatározása volt elérhető. Mindez az utóbbi évtizedben, az anti-citrullinált protein/peptid antitestek (ACPA) megjelenésével drámai fordulatot vett. Az ACPA tesztek igen érzékenyek és specifikusak, és lehetővé teszik az RA korai laboratóriumi diagnosztikáját.

Jelen munkánkban újabb adatokat igyekeztünk szolgáltatni az ACPA-k diagnosztikus értékével kapcsolatban. Munkánk új eredményei az alábbiakban foglalhatók össze:

1. A világon az elsők között alkalmaztuk az új anti-MCV tesztet. Kimutattuk, hogy bár az anti-MCV és a korábban alkalmazott második generációs anti-CCP assay diagnosztikus teljesítménye hasonló, a betegek egy része anti-CCP negativitás mellett anti-MCV pozitivitást mutat. Ezért a két teszt kombinált alkalmazása révén a betegek nagyobb hányadát ismerhetjük fel.

2. Vizsgálatainkban a harmadik generációs anti-CCP3, és még inkább a továbbfejlesztett anti-CCP3.1 assay diagnosztikus teljesítménye jobb a második generációs anti-CCP2 teszténél.

3. Elsőként vizsgáltuk az anti-CCP izotípusok esetleges differenciált diagnosztikai szerepét. A széles körben mért IgG izotípus mellett az IgA és IgM izotípusok meghatározásának is jelentősége lehet RA-ban. Az IgM izotípus megjelenése a betegség korai szakában arra utal, hogy ezen izotípus vizsgálata megkönnyítheti a korai RA felismerését.

7. Publikációs jegyzék

7.1. Az értekezést megalapozó közlemények:

1. Lakos G., **Soós L.**, Fekete A, Végvári A, Szabó Z, Szekanecz Z.: A rheumatoid arthritis laboratóriumi diagnosztikája. *Magyar Reumatol*, 47: 86-96, 2006.

2. **Soós L.**, Szekanecz Z., Szabó Z., Fekete A., Zeher M., Horváth IF., Dankó K., Kapitány A., Végvári A., Sipka S., Szegedi G., Lakos G.: Clinical evaluation of anti-mutated citrullinated vimentin by ELISA in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 34: 1658-1663, 2007.

IF 3.151

3. Szekanecz Z.* , **Soós L.*** , Szabó Z., Fekete A., Kapitány A., Végvári, A., Sipka, S., Szűcs G., Szántó S., Lakos, G.: Anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: as good as it gets? *Clin Rev Allergy Immunol*, 34: 26-31, 2008. (*Co-first authors with equal contribution.)

IF 3.533

4. Lakos G., **Soós L.**, Fekete A., Szabó Z., Zeher M., Horváth IF, Dankó K., Kapitány A., Gyetvai Á., Szegedi G., Szekanecz, Z.: Anti-cyclic citrullinated peptide antibody isotypes in rheumatoid arthritis: association with disease duration, rheumatoid factor production and the presence of shared epitope. *Clin Exp Rheumatol*, 26: 253-260, 2008.

IF 2.364

5. **Soós L.**, Lakos G, Kapitány A, Fekete A, Gyetvai Á, Gergely P jr, Pazár B, Szabó Z, Vánca A, Poór Gy, Szekanecz Z. A citrullinált fehérje elleni antitestek (ACPA) patogenetikai, diagnosztikus és prognosztikai jelentősége. *Immunológiai Szemle*, 1: 4-12, 2009.

7.2. Egyéb közlemények:

1. Szekanecz, Z, Kerekes G, Dér, H., Sándor Z., Szabó Z., Végvári A., Simkovics E., **Soós L.**, Szentpétery Á., Besenyei T., Szűcs G., Szántó S., Tamási L., Szegedi G., Shoenfeld Y., Soltész P.: Accelerated atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Ann NY Acad Sci*, 1108: 349-358, 2007.

IF 1.731

2. Szekanecz É, Sándor Z, Antal-Szalmás P., **Soós L.**, Lakos G., Besenyei T., Szentpétery Á., Simkovics E., Szántó J., Kiss E., Koch AE., Szekanecz Z.: Increased production of the soluble tumor-associated antigens CA19-9, CA125 and CA15-3 in rheumatoid arthritis: potential adhesion molecules in synovial inflammation ? *Ann NY Acad Sci*, 1108: 349-358, 2007.

IF 1.731

3. Fekete A., **Soós L.**, Szekanecz Z., Szabó Z., Szodoray P., Baráth S., Lakos G.: Disturbances in B and T cell homeostasis in rheumatoid arthritis: suggested relationships with antigen-driven immune responses. J Autoimmun. 29: 154-163, 2007.

IF 3.391

4. Kapitány A., Szabó Z., Lakos G., Aleksza M., Végvári A., **Soós L.**, Karányi Z., Sipka S., Szegedi G., Szekanecz Z.: Associations between serum anti-CCP antibody, rheumatoid factor levels and HLA-DR4 expression in Hungarian patients with rheumatoid arthritis. Isr Med Assoc J (IMAJ), 10: 32-36, 2008.

IF 0,626

5. Gyetvai Á, Szekanecz Z, **Soós L**, Szabó Z, Fekete A, Kapitány A, Teodorescu M, Sipka S, Lakos G. New classification of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis: Different association patterns for rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. Rheumatology (Oxford), Epub 17 November 2009 (doi: 10.1093/rheumatology/kep338)

IF 4.136

7.3. Kongresszusi abstractok:

1. **Soós L.**, Végvári, A., Pákozdi, A., Szekanecz, Z.: Lőfgren szindróma: a reumatológia és pulmonológia határterületi kérdései. Magyar Reumatológusok Egyesülete (MRE) 2003 évi vándorgyűlése, Szeged. Magyar Reumatol. 44: 174, 2003.

2. **Soós, L.**, Végvári, A., Pákozdi, A., Szekanecz, Z.: Lőfgren szindróma: a reumatológia és a pulmonológia határterületi kérdései. A Magyar Belgyógyász Társaság Észak-Kelet Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülése, Debrecen. Magyar Belorv Arch., 56 Suppl 4: 24, 2003.

3. Szekanecz, Z., Végvári, A., Szabó, Z., Szántó, S., Csépany, T., Szűcs, G., Surányi, P., Veres, K., **Soós, L.**, Simon, Z., Vánca, A., Pákozdi, A., Gáspár, L., Soltész, P.: Central nervous system demyelination in rheumatoid arthritis: common pathogenetic pathways ? 4th International Congress of Autoimmunity, Budapest. Autoimmun Rev., 3 Suppl 2: 131, 2004.

4. **Soós, L.**, Szántó, S., Szűcs, G., Szekanecz, Z.: A Felty szindrómáról két eset kapcsán. Magyar Reumatológusok Egyesülete (MRE) 2005. évi vándorgyűlése, Sopron. Magyar Reumatol. 46: 169, 2005.

5. Kapitány, A., Szabó, Z., Lakos, G., Aleksza, M., Végvári, A., **Soós, L.**, Karányi, Z., Sipka, S., Szegedi, G., Szekanecz, Z.: Associations between serum anti-CCP antibody, rheumatoid factor levels and HLA-DR4 expression in patients with rheumatoid arthritis. 7th Annual European Congress of Rheumatology, Amsterdam, Ann Rheum Dis 65 Suppl II, 299, 2006.

6. **Soós, L.**, Szabó, Z., Fekete, A., Zsicher, M., Horváth, I.F., Dankó, K., Sipka, S., Szegedi, Gy., Szekanecz, Z., Lakos, G.: A mutáns citrullinált vimentin elleni antitest a rheumatoid arthritis új, szenzitív laboratóriumi markere. Magyar Reumatológusok Egyesülete (MRE) 2006. évi vándorgyűlése, Debrecen. Magyar Reumatol. 47: 168, 2006.

7. Szabó, Z., Kapitány, A., Lakos, G., Aleksza, M., Végvári, A., **Soós, L.**, Karányi, Zs., Szekanecz, Z.: Összefüggés a szérumban anti-CCP antitest és rheumatoid faktor koncentrációk, valamint a HLA-DR4 hordozás között rheumatoid arthritises betegekben. Magyar Reumatológusok Egyesülete (MRE) 2006. évi vándorgyűlése, Debrecen. Magyar Reumatol. 47: 181, 2006.
8. **Soós, L.**, Szántó, S., Szűcs, G., Szekanecz, Z.: Hátfájalmat okozó myeloma multiplex két eset kapcsán. Magyar Reumatológusok Egyesülete (MRE) 2006. évi vándorgyűlése, Debrecen. Magyar Reumatol. 47: 187, 2006.
9. Lakos, G., **Soos, L.**, Szabo, Z., Fekete, A., Zeher, M., Horváth, I., Dankó, K., Kapitány, A., Szegedi, G., Sipka, S., Szekanecz, Z.: Antibodies directed against mutated citrullinated vimentin (anti-MCV) are more sensitive serological markers of rheumatoid arthritis than anti-CCP. 7th Annual European Congress of Rheumatology, Amsterdam, Ann Rheum Dis 65 Suppl II, 151, 2006.
10. Lakos G, **Soós L**, Szabó Z, Fekete A, Zeher M, Horváth IF, Dankó K, Kapitány A, Szegedi G, Szekanecz Z.: Anti-citrullinated vimentin is a more sensitive marker of rheumatoid arthritis than anti-CCP. 5th International Congress on Autoimmunity, Sorrento, Italy. Autoimmun Rev, Suppl:209, 2006.
11. Szekanecz É, Antal-Szalmás P, Sándor Z, **Soós L**, Lakos G, Szántó J, Kiss E, Koch AE, Szekanecz Z.: Increased production of the soluble tumor-associated antigens CA-19-9, CA125 and CA15.3 with adhesive properties in rheumatoid arthritis. 5th International Congress on Autoimmunity, Sorrento, Italy. Autoimmun Rev, Suppl: 211, 2006.
12. Szekanecz Z., Fekete A, **Soós L.**, Szodoray P., Szabó Z., Végvári A., Gyetvai Á., Szegedi G., Lakos G.: CD27+ memory B cell and CD8+ terminally differentiated memory T cell populations expand during the progression of rheumatoid arthritis. 8th Annual European Congress of Rheumatology, Barcelona, Ann Rheum Dis 66 Suppl: 637, 2007.
13. Szabó Z., Lakos G., **Soós L.**, Fekete A., Zeher M., Horváth IF, Dankó K., Kapitány A., Gyetvai Á., Szegedi Gy., Szekanecz Z.: Ciklikus citrullinált peptid elleni antitestek izotípus megoszlása rheumatoid arthritises betegekben. Magyar Reumatológusok Egyesülete (MRE) 2007. évi vándorgyűlése, Szeged. Magyar Reumatol. 48: 173-174, 2007.
14. Szekanecz, Z., Fekete A., **Soós L.**, Szabó Z., Szodoray P., Baráth S., Lakos G.: Disturbances in T and B cell homeostasis are associated with disease duration and disease-specific autoantibody levels in rheumatoid arthritis. 71st Congress of the American College of Rheumatology, Boston, MA, USA. Arthritis Rheum., 56 (9 Suppl): S760, 2007.
15. Lakos G., **Soós L.**, Fekete A., Szabó Z., Zeher M., Horváth IF, Dankó K., Kapitány A., Gyetvai Á., Szegedi G., Szekanecz, Z.: Anti-cyclic citrullinated peptide antibody isotypes in rheumatoid arthritis: association with disease duration, rheumatoid factor production and the presence of the shared epitope. 71st Congress of the American College of Rheumatology, Boston, MA, USA. Arthritis Rheum., 56 (9 Suppl): S438, 2007.
16. Szekanecz, Z., Tumpek J, Szabó Z, **Soós L**, Zeher M, Horváth IF, Dankó K, Sipka S, Lakos G.: The Inova CCP3.1 IgA/IgG ELISA represents significant improvement in the

laboratory diagnosis of rheumatoid arthritis. 71st Congress of the American College of Rheumatology, Boston, MA, USA. Arthritis Rheum., 56 (9 Suppl): S716, 2007.

17. **Soós L**, Szűcs G, Szekanecz Z: Granulomatous gyulladás TNF gátló kezelés mellett. Magyar Reumatológusok Egyesülete Ifjúsági Fóruma, Noszvaj. Magyar Reumatol 49: 37, 2008.

18. Szekanecz Z., Tumpek J, Szabó Z, **Soós L**, Zeher M, Horváth IF, Dankó K, Sipka S, Lakos G. The Inova CCP3.1 IgA/IgG ELISA represents significant improvement in the laboratory diagnosis of rheumatoid arthritis. 9th Annual European Congress of Rheumatology, Paris, Ann Rheum Dis 67 Suppl II:568, 2008.

19. Szekanecz Z., **Soós L**, Fekete A, Szabó Z, Horváth IF, Zeher M, Dankó K, Kapitány A, Gyetvai Á, Szegedi G, Lakos G. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody isotype in rheumatoid arthritis: association with disease duration, rheumatoid factor production and the presence of shared epitope. 9th Annual European Congress of Rheumatology, Paris, Ann Rheum Dis 67 Suppl II: 569, 2008.

20. Szántó S, Bodnár N, Szabó Z, Pethő Zs, **Soós L**, Kurkó J, Szűcs G, Szekanecz Z.: Spondylarthritis ankylopoeticás betegeink keresztmetszeti vizsgálata: a betegség aktivitásának, a betegek életminőségének, funkcionális állapotának és az alkalmazott kezelés hatásának összefüggése. Magyar Reumatológusok Egyesülete (MRE) 2008. évi vándorgyűlése, Budapest. Magyar Reumatol. 49:140-141, 2008.

21. **Soós L**, Balogh I, Bakó Gy, Szabó Z, Szűcs G, Szántó S, Szekanecz Z.: A biológiai terápia szemészeti hatásai reumatológiai betegségtársulásokban – három eset kapcsán. Magyar Reumatológusok Egyesülete (MRE) 2008. évi vándorgyűlése, Budapest. Magyar Reumatol. 49:161, 2008.

22. Szabó Z, Szekanecz Z, Tumpek J, **Soós L**, Sipka S, Lakos G. Anti-citrullinált protein antitestek előfordulása és diagnosztikai jellemzői rheumatoid arthritisben és szisztémás autoimmun kórképekben. Magyar Reumatológusok Egyesülete Ifjúsági Fóruma, Hajdúszoboszló. Magyar Reumatol 50: 29, 2009.

23. Gyetvai Á, Szekanecz Z, **Soós L**, Szabó Z, Fekete A, Kapitány A, Sipka S, Lakos G. New classification of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis: different association patterns for rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. 10th Annual European Congress of Rheumatology, Copenhagen, Ann Rheum Dis 68 Suppl 3: 727, 2009.

24. **Soós L**, Szekanecz Z: Juvenilis arthritisből szisztémás lupus erythematosus – és egy kis közhaté. Magyar Reumatológusok Egyesülete (MRE) 2009. évi vándorgyűlése, Kecskemét. Magyar Reumatol. 50:159-160, 2009.

Összes impakt faktor: 20,663