

Anticuerpos Anti-Péptido Citrulinado Cíclico

Verónica Mezzano R., Sergio Iacobelli G.
Depto. de Inmunología Clínica y Reumatología,
Hospital Clínico, Pontificia Universidad Católica de Chile

Summary

The determination of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) is an extremely useful laboratory test in the differential diagnosis of patients in which Rheumatoid Arthritis (RA) is suspected. Citrullination is an unspecific protein modification associated to inflammation. The production of antibodies directed against citrullinated antigens in the synovial membrane is, on the contrary, specific for RA, for which important associations between these and the pathogen of the disease have been described. This review focuses on the different characteristics that make this test routinely asked for in clinical practice: high specificity; high positive predictive value in undifferentiated arthritis; early manifestation, development prior to clinical disease, and its association with a more aggressive course of the disease.

Key words: anti-CCP, rheumatoid arthritis.

RELACIÓN CON LA PATOGENIA DE LA ARTRITIS REUMATOIDE

La citrulina es un aminoácido ubicuo no tradicional que no se incorpora a las proteínas durante la traducción. La citrulinación constituye un cambio postraduccional producido por la peptidilarginina deaminasa (PAD) sobre residuos de arginina. Los anticuerpos antiproteínas citrulinadas fueron inicialmente descritos como antifactor perinuclear (APF) y posteriormente como anticuerpos antiqueratina (AKA) y anti-filagrina (AFA),⁽²⁾ hasta la identificación del antígeno común, la citrulina. Las proteínas que se han identificado como blancos citrulinados para los anticuerpos son diversas, entre las cuales la principal es la filagrina, incluyéndose también la vimentina y fibrina (Figura 1).

INTRODUCCIÓN

Actualmente el uso del laboratorio constituye un pilar indispensable en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades reumatológicas. Existe una búsqueda permanente de marcadores sensibles, específicos, de aparición precoz y ojalá con capacidad pronóstica. Esto es especialmente importante en la Artritis Reumatoide (AR), en la que se han producido avances significativos en el tratamiento, con mejores resultados dependiendo de la precocidad del diagnóstico. El descubrimiento de los anticuerpos anti-péptido citrulinado cíclico o anti-CCP ha marcado un gran avance en este sentido. Éstos son, a la fecha, los anticuerpos más específicos identificados para AR⁽¹⁾ y la precocidad de su aparición en los enfermos hace hoy en día su uso casi rutinario.

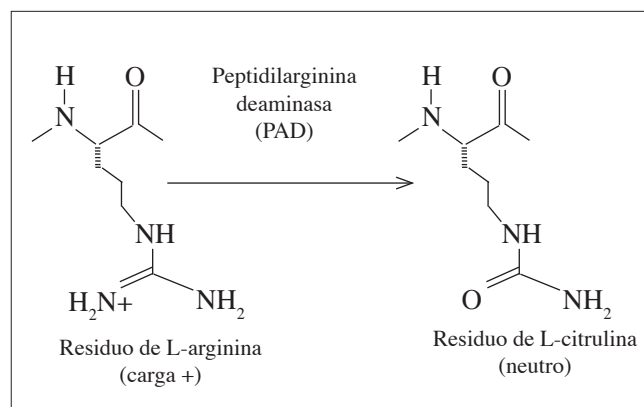


Figura 1. Cambio postraduccional de arginina a citrulina. Adaptado de "Citrullinated Proteins, Peptidylarginine Deiminase (PAD), and Rheumatoid Arthritis", Gordon Lam, MD, Division of Rheumatology, Johns Hopkins University School of Medicine.

La citrulinación no es un evento específico de la membrana sinovial, sino que se puede ver en diversos tejidos asociada a inflamación, como en músculos de pacientes con polimiositis, tejido colónico en pacientes con enfermedades inflamatorias intestinales y amígdalas en pacientes con tonsilitis crónica.⁽³⁾ En cambio, es específica la respuesta humoral a la citrulinación, con producción de autoanticuerpos sólo en AR. Estos anticuerpos serían producidos localmente por células plasmáticas contra proteínas citrulinadas de la sinovial inflamada. Estos anticuerpos se pueden encontrar tanto en líquido sinovial como en la sangre; los valores en ambos fluidos se correlacionarían.^(4,5)

Se le ha atribuido a la citrulinación un papel patogénico, vinculándola al epítipo compartido del HLA. En la presentación antigénica a las células T la presencia de alelos HLA-DRB1 *0401 confiere especial susceptibilidad para el desarrollo de la AR. Si bien no se ha identificado con precisión un antígeno gatillante de la respuesta inmune correspondiente, el grupo de aminoácidos que conforman el epítipo compartido forman un bolsillo, P4, en el cual el encaje de la citrulina sería específico y mantenido por la neutralidad de la molécula, en comparación con la carga positiva de la arginina.^(6,7)

Recientemente también se han descrito una asociación entre isoformas de la PAD, específicamente PAD4, y la propensión al desarrollo de la AR en algunas poblaciones.^(8,9)

Se ha descrito también una mayor susceptibilidad para el desarrollo de anticuerpos anti-CCP en individuos portadores de alelos del epítipo compartido HLA-DRB1 gatillado por el estímulo ambiental del tabaquismo. Esta asociación tabaco-desarrollo de anti-CCP no se evidenció en pacientes no portadores de epítipo compartido. Estas observaciones sugieren caminos patogénicos distintos en la AR con y sin anti-CCP. Éste es un tema aún en discusión, ya que la relación genético-ambiental descrita se ha demostrado en pacientes suecos,⁽¹⁰⁾ no confirmándose en estudios de pacientes norteamericanos.⁽¹¹⁾

CARACTERÍSTICAS DE LABORATORIO

Para el uso clínico de los anticuerpos anti-CCP se desarrolló un péptido sintético de forma cíclica que contiene numerosos residuos de citrulina que son expuestos de tal manera que facilita su detección por los anticuerpos.

La técnica usada para la búsqueda de anti-CCP es el ELISA, cuyos kits de uso comercial están ampliamente disponibles. Desde su descubrimiento, la calidad de estos kits ha ido mejorando en cuanto a sensibilidad y especificidad, por lo que en la literatura aparecen descritos como

de primera, segunda o tercera generación (CCP1, CCP2 y CCP3, respectivamente). Desde su desarrollo en 2002 se usan los de segunda generación principalmente.

Los resultados se expresan en unidades/mililitro (U/mL), y los valores de corte dependen del kit usado. En aquellos de mayor uso en nuestro país, se considera positivo sobre 25 U/mL y definitivamente positivo sobre 50 U/mL, por lo que el rango entre 25 y 50 U/mL debe ser interpretado por el médico en el contexto clínico del paciente.

Si bien la detección automatizada hace fácil y confiable su detección, éste sigue siendo un examen caro.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Para el análisis de las ventajas del uso de anti-CCP se separará el análisis según las distintas características que han sido descritas desde su aparición. La mayor parte de éstas se han comparado con el Factor Reumatoide, o FR, el cual ha sido tradicionalmente el único marcador de AR de uso rutinario en clínica y que está presente tanto como uno de los Criterios de Clasificación del Colegio Americano de Reumatología de 1987 para la AR⁽¹²⁾ como marcador pronóstico.

SENSIBILIDAD

Tiene sensibilidades descritas de entre 70% a 80%.⁽¹³⁾ Esta sensibilidad no sobrepasa la del tradicional FR. Aun así, el hecho de buscar anti-CCP en pacientes FR negativos se justifica ante la sospecha diagnóstica, ya que hasta un 40% de los pacientes con AR con FR negativos son positivos para anti-CCP.⁽¹⁴⁾

ESPECIFICIDAD

Como se describió en la introducción, los anti-CCP (CCP2) tienen una alta especificidad para AR. En comparación, los valores de especificidad del FR, sin diferenciar por isotipos, si bien varían según el estudio, son considerablemente más bajos y no prestan mayor utilidad diagnóstica.

Se ha demostrado la especificidad del anti-CCP para AR comparando su valor con los valores obtenidos tanto en pacientes con otras enfermedades autoinmunes que cursan con artritis, como en enfermedades no autoinmunes que se caracterizan por la presencia de títulos elevados de FR.⁽¹³⁾ Éstos son algunos de los casos en que la determinación de anti-CCP presta una gran utilidad.

En pacientes con AR de inicio después de los 60 años (EORA, o “Elderly Onset Rheumatoid Arthritis”), el diagnóstico diferencial con Polimialgia Reumática puede ser especialmente difícil. Un trabajo reciente que compara pacientes con EORA y PMR (con pacientes con AR tradicional y sujetos sanos como controles) mostró una sensibilidad de 61,4% y especificidad de 100%, y valor predictivo negativo y positivo de 69% y 100%, respectivamente.⁽¹⁵⁾

En Artritis Idiopática Juvenil se pueden encontrar anticuerpos anti-CCP en porcentajes variables, dependiendo de la técnica usada.⁽¹⁶⁾ Se describen valores de 2%⁽¹⁷⁾ hasta 14%.⁽¹⁸⁾ Cuando están presentes se asocian casi exclusivamente al subtipo de poliartritis FR positiva.^(16, 19)

En relación a la Artritis Psoriática, la presencia de anti-CCP se ha descrito entre 7,8% (para un valor de corte del anticuerpo 42 U/mL)⁽²⁰⁾ hasta 15,6%.⁽²¹⁾ Su presencia se ha asociado a poliartritis y compromiso erosivo con OR (odds ratio) de 17,99 y 9,8, respectivamente.⁽²⁰⁻²²⁾

En la Tabla 1 se resumen los resultados de un metaanálisis reciente⁽²³⁾ realizado para determinar si la presencia de anti-CCP versus el FR (tanto IgM, IgA e IgG) permite identificar mejor a pacientes con AR y predecir con mayor certeza la progresión radiográfica. Los resultados fueron obtenidos de 37 estudios de anti-CCP y 50 de FR. Llamamos la atención los bajos valores de sensibilidad del FR; esto puede deberse a la gran heterogeneidad de los resultados entre los estudios, ya que las técnicas usadas para su medición son diversas (látex, nefelometría y ELISA), así como la calidad de los kits que influyen en su confiabilidad.

APARICIÓN TEMPRANA

Al igual que la mayoría de los autoanticuerpos en enfermedades autoinmunes, los anticuerpos anti-CCP apa-

recen y son detectables en el suero años antes del inicio de las manifestaciones y diagnóstico de AR. Se ha reportado detección de éstos hasta 18 años antes⁽²⁴⁾ del diagnóstico de la enfermedad, y en promedio, aproximadamente preceden el desarrollo de enfermedad clínica por cinco años.

En pacientes con artritis de aparición reciente, con cuadros que no permiten un diagnóstico preciso (“artritis indiferenciadas precoces”), un 75% de los positivos (CCP2) evoluciona a una AR a un año plazo. Este valor aumenta a 93% a los tres años de seguimiento.⁽²⁵⁾

En estudios de donantes de sangre “sanos”, en muestras tomadas previo al comienzo de síntomas de AR, la sensibilidad del CCP2 es de 25% en las que precedían el inicio de manifestaciones por más de 1,5 año y de 52% en aquellas de menos de 1,5 año. La especificidad en ambos casos es de 98%.⁽¹³⁾

CAPACIDAD PRONÓSTICA

Para la AR existen factores de mal pronóstico, principalmente clínicos, y tradicionalmente el FR como marcador de laboratorio. Asimismo, el anti-CCP ha demostrado también esta característica, ya que el curso de la enfermedad en pacientes positivos ha demostrado ser más agresivo en términos de actividad y en cuanto al desarrollo de erosiones.⁽²⁶⁾

SEGUIMIENTO CLÍNICO

Queda aún por determinar si estos anticuerpos juegan algún papel en el seguimiento de la enfermedad y respuesta al tratamiento. En este sentido los hallazgos son poco consistentes, no demostrándose aún una correlación

TABLA 1.
CARACTERÍSTICAS DEL anti-CCP VERSUS IgM FR

| Examen | Anti-CCP | IgM FR |
|---------------|------------------------------|----------------------------|
| Sensibilidad | 67% (95% CI, 62% a 72%) | 69% (CI 95%, 65% a 73%) |
| Especificidad | 95% (95% CI, 94% a 97%) | 85% (CI 95%, 82% a 88%) |
| LR positivo | 12,46 (95% CI, 9,72 a 15,98) | 4,86 (95% CI, 3,95 a 5,97) |
| LR negativo | 0,36 (95% CI, 0,31 a 0,42) | 0,38 (95% CI, 0,33 a 0,44) |

Datos obtenidos de ref. (23)

LR = likelihood ratio

LR positivo = cuánto aumenta la probabilidad de tener la enfermedad cuando la prueba es positiva

LR negativo = cuánto disminuye la probabilidad de tener la enfermedad cuando la prueba es negativa.

clara entre títulos de anti-CCP y marcadores clásicos de inflamación o respuesta clínica a tratamiento.⁽²⁷⁻³⁰⁾

En un trabajo de nuestro Centro realizado en 2003 con 85 sueros de pacientes chilenos con AR establecida (n = 38), controles sanos (n = 32) y pacientes con enfermedades del tejido conectivo (n = 47), obtenidos de una seroteca, confirmamos lo descrito en cuanto a sensibilidad y especificidad. En AR con un promedio de 8,8 años de evolución la sensibilidad del anti-CCP obtenida fue de 90%, con una especificidad de 98,6%, versus 75% y 94% obtenidos, respectivamente, para el FR. Sólo en 4 controles (5,1%) se obtuvieron falsos positivos (2 LES, 1 Esclerodermia limitada, 1 sujeto sano). No se encontró en el grupo estudiado correlación entre HAQ y compromiso extraarticular con los valores del anti-CCP. (Póster presentado en el Congreso Chileno de Medicina Interna, 2003.)

DISCUSIÓN

Los anticuerpos antipeptido citrulinado cíclico son anticuerpos de gran valor en el diagnóstico diferencial de pacientes con artritis en los que se sospecha Artritis Reumatoide. Para esta enfermedad los valores de especificidad superan el 95%, y si bien la sensibilidad es de aproximadamente 70%, son un complemento necesario para el tradicional FR.

El hecho de preceder en años el inicio de síntomas o el desarrollo de un cuadro clínico clásico (por ejemplo, al cumplir con los cuatro criterios de clasificación ACR), con valores predictivos positivos altos, permite adelantar el tratamiento en pacientes con artritis indiferenciada y, por ende, obtener una mejor respuesta terapéutica en los destinados a desarrollar AR.

De gran utilidad sería el poder contar con un examen que permita el seguimiento, como otra herramienta además de los tradicionales marcadores de inflamación, así como existen para enfermedades como el Lupus Eritematoso Sistémico (componentes del sistema del complemento y anti-DNA por Farr) y las Vasculitis ANCA positivas (determinación de ANCA por ELISA).

Queda por ver si el hecho de ser anti-CCP positivo es un factor de mal pronóstico tan significativo que eventualmente justifique el uso de tratamiento con drogas de segunda elección, como anticuerpos anti-TNF desde un comienzo.

Por lo mencionado, indicaciones para pedir anticuerpos anti-CCP serían: en caso de duda diagnóstica para el diagnóstico diferencial; en artritis indiferenciadas precoces, y como evaluación pronóstica en AR ya diagnosticada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. van Venrooij WJ, Zendman AJ, Pruijn GJ. Autoantibodies to citrullinated antigens in (early) rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2006; 6(1):37-41.
2. 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):2672-9.
3. Makrygiannakis D, et al. Citrullination is an inflammation-dependent process. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(9):1219-22.
4. Caspi D, et al. Synovial fluid levels of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and IgA rheumatoid factor in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 55(1):53-6.
5. Vossenaar ER, et al. The presence of citrullinated proteins is not specific for rheumatoid synovial tissue. *Arthritis Rheum* 2004; 50(11):3485-94.
6. Hill JA, 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):538-41.
7. Ireland J, Herzog J, Unanue ER. Cutting edge: unique T cells that recognize citrullinated peptides are a feature of protein immunization. *J Immunol* 2006; 177(3):1421-5.
8. Suzuki A, et al. Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2003; 34(4):395-402.
9. Cantaert T, et al. Functional haplotypes of PADI4: relevance for rheumatoid arthritis specific synovial intracellular citrullinated proteins and anti-citrullinated protein antibodies. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(9):1316-20.
10. Linn-Rasker SP, et al. Smoking is a risk factor for anti-CCP antibodies only in rheumatoid arthritis patients who carry HLA-DRB1 shared epitope alleles. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(3):366-71.
11. Lee HS, et al. Interaction between smoking, the shared epitope, and anti-cyclic citrullinated peptide: a mixed picture in three large North American rheumatoid arthritis cohorts. *Arthritis Rheum* 2007; 56(6):1745-53.
12. Arnett FC, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31(3):315-24.
13. Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(7):845-51.
14. Vallbracht I, et al. Diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63(9):1079-84.
15. Lopez-Hoyos M, et al. Clinical utility of anti-CCP antibodies in the differential diagnosis of elderly-onset rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(5):655-7.
16. Low JM, et al. Determination of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in the sera of patients with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2004; 31(9):1829-33.
17. Avcin T, et al. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(7):608-11.
18. van Rossum M, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies in children with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30(4):825-8.
19. Brunner J, Sitzmann FC. The diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibodies in children with Juvenile Idiopathic Arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24(4):449-51.
20. Vander Cruyssen B, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies may occur in patients with psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(8):1145-9.
21. Bogliolo L, et al. Antibodies to cyclic citrullinated peptides in psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32(3):511-5.
22. Inanc N, et al. Anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Clin Rheumatol* 2007; 26(1):17-23.
23. Nishimura K, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrul-

- linated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 2007; 146(11):797-808.
24. Jorgensen KT, et al. Cytokines, autoantibodies, and viral antibodies in pre-morbid and postdiagnostic sera from patients with rheumatoid arthritis - Case-control study nested in a cohort of Norwegian blood donors. *Ann Rheum Dis* 2007. jul 20; [Epub ahead of print].
 25. van Gaalen FA, 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):709-15.
 26. Syversen SW, et al. High anti-CCP levels and an algorithm of four variables predict radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis: results from a 10-year longitudinal study. *Ann Rheum Dis* 2007. May 25; [Epub ahead of print].
 27. Chen HA, et al. The effect of etanercept on anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(1):35-9.
 28. Ahmed MM, et al. Impact of treatment with infliximab on anticyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor in patients with rheumatoid arthritis. *South Med J* 2006; 99(11):1209-15.
 29. Greiner A, et al. Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-citrullin antibodies, and IgM and IgA rheumatoid factors with serological parameters of disease activity in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050:295-303.
 30. Mikuls TR, 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):3776-82.
-