

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ: ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

ΡΕΥΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΤΜΗΜΑ  
ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ: ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΛΑΖΑΡΟΣ Ι. ΣΑΚΚΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ ΓΕΡΜΕΝΗΣ

# **ΑΥΤΟ-ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΩΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

ΤΟΥ

ΙΩΑΝΝΗ ΑΛΕΞΙΟΥ

Ιατρού Ρευματολόγου

Λάρισα 2007

## ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ – ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

## ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	2
SUMMARY	4
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
1.1. Γενική εισαγωγή	6
1.2. Αιτιοπαθογένεια της ρευματοειδούς αρθρίτιδας	7
1.3. Διάγνωση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας	11
1.4. Δείκτες ενεργότητας της ρευματοειδούς αρθρίτιδας	15
1.5. Εκτίμηση των συνεπειών της ΡΑ στον ασθενή	21
1.6. Αυτοαντισώματα στη ρευματοειδή αρθρίτιδα	36
1.7. Αυτοαντισώματα έναντι κιτρουλλινιωμένων πρωτεϊνών	38
1.8. Αυτοαντισώματα ως διαγνωστική εξέταση	52
1.9. Σκοποί της διατριβής	60
2. ΜΕΘΟΔΟΙ	
2.1. Ασθενείς	61
2.2. Τεχνικές	62
2.3. Στατιστική ανάλυση	70

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
3.1. Συχνότητα των αντι-CCP2 αντισωμάτων	71
3.2. Διαγνωστική αξία των αντι-CCP2 αντισωμάτων στη ρευματοειδή αρθρίτιδα	72
3.3. Αντι-CCP2 αντισώματα και δείκτες ενεργότητας της ρευματοειδούς αρθρίτιδας	72
3.4. Αντι-CCP2 αντισώματα και ακτινογραφικό σκορ αρθρώσεων στη ρευματοειδή αρθρίτιδα	73
3.5 Αντι-CCP2 αντισώματα και εξωαρθρικές εκδηλώσεις	74
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	87
5. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΑΠΟ ΤΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ	94
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	95
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	123
 ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	 Σελίδα
Πίνακας 1.1.1 Εξωαρθρικές εκδηλώσεις της RA	7
Πίνακας 1.3.1 Κριτήρια ταξινόμησης RA	12
Πίνακας 1.3.2 Καταστάσεις που απαντά ο ρευματοειδής παράγων	13
Πίνακας 1.4.1 Κλινικοί δείκτες ενεργότητας της RA	15
Πίνακας 1.4.2 Μέτρηση του ACR 20/50/70	16
Πίνακας 1.4.3 Αρθρώσεις που αξιολογούνται στον δείκτη ACR 20/50/70	17

Πίνακας 1.4.4 Βελτίωση ενεργότητας της PA σύμφωνα με τα κριτήρια DAS της EULAR	18
Πίνακας 1.4.5 Οι 28 αρθρώσεις που περιλαμβάνονται στον δείκτη DAS28	19
Πίνακας 1.5.1 Δείκτες λειτουργικότητας	22
Πίνακας 1.5.2 HAQ	22
Πίνακας 1.5.3 Πολυεπίπεδο HAQ	24
Πίνακας 1.5.4 Ταξινόμηση της λειτουργικής ικανότητας της PA κατά Steinbroker	24
Πίνακας 1.5.5 Σφαιρική λειτουργική κατάσταση κατά ARA	25
Πίνακας 3.1.1 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με PA	76
Πίνακας 3.1.2 Αντι-CCP2 αντισώματα και RF σε ασθενείς με και χωρίς PA και φυσιολογικούς	77
Πίνακας 3.2.1 Διαγνωστικά χαρακτηριστικά των αντι-CCP αντισωμάτων και του RF στη PA	79
Πίνακας 3.5.1 Αντι-CCP2 αντισώματα σε ασθενείς με PA και εξωαρθρικές εκδηλώσεις και σε ασθενείς με PA αλλά χωρίς ποτέ καμία εξωαρθρική εκδήλωση	85
<b>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ</b>	<b>Σελίδα</b>
Εικόνα 1.4.1 Σφαιρική εκτίμηση της ενεργότητας της PA από τον ασθενή σε οπτική αναλογική κλίμακα	17

Εικόνα 1.4.2 Βελτίωση της ενεργότητας σύμφωνα με τα κριτήρια DAS28 της EULAR	19
Εικόνα 1.5.1.1 Περιοχές βαθμολόγησης στην τροποποιημένη μέθοδο Larsen	32
Εικόνα 1.5.1.2 Βασικές οδηγίες για την βαθμολόγηση στο τροποποιημένο σύστημα Larsen	33
Εικόνα 1.5.1.3 Μέθοδος Sharp - στένωση μεσάρθριου διαστήματος	35
Εικόνα 1.5.1.4 Μέθοδος Sharp – οστικές διαβρώσεις	36
Εικόνα 1.7.1 Ενζυμική μετατροπή αργινίνης σε κιτρουλλίνη	43
Εικόνα 1.7.2 Πεπτίδια από το μόριο της φιλαγγρίνης με αντικατάσταση αργινίνης από κιτρουλλίνη	45
Εικόνα 1.7.3 Το αρχικό κυκλικό κιτρουλλινωμένο πεπτίδιο	47
Εικόνα 2.2.1 Κλινική εξέταση των PIPs των χεριών	64
Εικόνα 2.2.2 Κλινική εξέταση των MCPs – Τεχνική Α	64
Εικόνα 2.2.3 Κλινική εξέταση των MCPs – Τεχνική Β	65
Εικόνα 2.2.4 Κλινική εξέταση του καρπού	66
Εικόνα 2.2.5 Κλινική εξέταση του αγκώνα	66
Εικόνα 2.2.6 Κλινική εξέταση του ώμου	67
Εικόνα 2.2.7 Κλινική εξέταση του γόνατος	68
Εικόνα 3.1.1 Τα αντι-CCP σε RF θετικούς και RF αρνητικούς ασθενείς με ΡΑ	78

Εικόνα 3.2.1 Η ROC καμπύλη για τα αντι-CCP2 αντισώματα και τον RF	80
Εικόνα 3.3.1 Επίπεδα της CRP σε αντι-CCP θετικούς και αντι-CCP αρνητικούς ασθενείς με PA	81
Εικόνα 3.3.2 Γραφική απεικόνιση της συσχέτισης του δείκτη ενεργότητας DAS28 με τον RF	82
Εικόνα 3.4.1 Απεικόνιση της συσχέτισης των αντι-CCP2 και του ακτινολογικού δείκτη Larsen	83
Εικόνα 3.4.2 Γραφική απεικόνιση συσχέτισης του RF με τον ακτινολογικό δείκτη Larsen	84
Εικόνα 3.5.1 Επίπεδα αντι-CCP2 αντισωμάτων σε ασθενείς με εξωαρθρικές εκδηλώσεις και χωρίς	86

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. ΣΑΚΚΑΣ ΛΑΖΑΡΟΣ M.D, PhD (Λονδίνο)  
Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας – Ρευματολογίας
2. ΓΕΡΜΕΝΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ  
Αναπληρωτής Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας
3. ΚΟΥΚΟΥΛΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ  
Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας – Ενδοκρινολογίας

### **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. ΣΤΑΘΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ  
Καθηγητής Παθολογίας
2. ΜΑΝΙΑΤΗΣ ΑΝΤΩΝΙΟΣ  
Καθηγητής Μικροβιολογίας
3. ΧΑΤΖΟΥΛΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ  
Καθηγητής Οφθαλμολογίας
4. ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ  
Καθηγητής Πνευμονολογίας
5. ΣΑΚΚΑΣ ΛΑΖΑΡΟΣ  
Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας – Ρευματολογίας
6. ΓΕΡΜΕΝΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ  
Αναπληρωτής Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας
7. ΚΟΥΚΟΥΛΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ  
Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας - Ενδοκρινολογίας

## ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ACR = American College of Rheumatology = Αμερικανικό Κολέγιο Ρευματολογίας

AFA = antifilaggrin antibodies = αντισώματα έναντι φιλαγγρίνης

AKA = antikeratin antibodies = αντισώματα έναντι κερατίνης

Αντι-CCP = αντισώματα έναντι κυκλικού κιτρουλλινιωμένου πεπτιδίου

APF = antiperinuclear factor = αντισώματα έναντι περιπυρηνικού παράγοντα

ARA = American Rheumatism Association = Αμερικανικός Σύλλογος Ρευματολογίας

A.Y = αρθρικός υμένας

AUC = area under the curve = περιοχή κάτω από την καμπύλη

CCP = cyclic citrullinated peptide = κυκλικό κιτρουλλινιωμένο πεπτιδίο

CD = σύστημα ονοματολογίας για επιφανειακά μόρια λευκοκυττάρων

CMV = κυτταρομεγαλοϊός

CRP = C – αντιδρώσα πρωτεΐνη

DAS = disease activity score = σκορ ενεργότητας της ΡΑ

DAS28 = σκορ ενεργότητας 28

DMARDs = disease modifying anti-rheumatic drugs = τροποποιητικά της νόσου φάρμακα

EBV = ιός Epstein-Barr

ESR = TKE = ταχύτητα καθίζησης ερυθρών αιμοσφαιρίων

EULAR = European league against rheumatism = ευρωπαϊκή λίγκα κατά του ρευματισμού

HAQ = health assessment questionnaire = ερωτηματολόγιο εκτίμησης της υγείας

HCV = ιός ηπατίτιδας C

HIV = ιός του AIDS

HLA = μείζων σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας

IIF = indirect immunofluorescence = έμμεσος ανοσοφθορισμός

IL = ιντερλευκίνη



ILAR = international league against rheumatism = παγκόσμια λίγκα κατά του ρευματισμού

IP = interphalageal = μεσοφαλαγγική (1<sup>ου</sup> δακτύλου)

kDa = kilodaltons

MCP = metacarpophalangeal = μετακαρποφαλαγγική

MTP = metatarsophalangeal = μεταταρσοφαλαγγική

OMERACT = outcome measures in rheumatoid arthritis clinical trials = ονομασία για το σύνολο συστάσεων σχετικά με ένα “βασικό πυρήνα (core set)” παραμέτρων αξιολόγησης της νόσου που πρέπει να εφαρμόζεται σε κλινικές μελέτες για την ρευματοειδή αρθρίτιδα

OPG = osteoprotegerin = οστεοπροτεγερίνη

OPGL = συνδέτης της οστεοπροτεγερίνης

PAD = peptidylarginine deiminase = πεπτιδυλαργινίνη απο-ιμινάση

PIP = proximal interphalageal = εγγύς μεσοφαλαγγική

PA = ρευματοειδής αρθρίτιδα

RANKL = receptor activator of nuclear factor κB ligand = ενεργοποιητής του υποδοχέα του πυρηνικού παράγοντα κB

RF = rheumatoid factor = ρευματοειδής παράγοντας

SDAI = απλοποιημένος δείκτης ενεργότητας νόσου

TH1= T helper 1 = T βοηθητικά λεμφοκύτταρα τύπου 1

TNFα = tumor necrosis factor α = παράγοντας νέκρωσης των όγκων άλφα

WHO = παγκόσμια οργάνωση υγείας

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Υπάρχει η εντύπωση ότι η ρευματοειδής αρθρίτιδα στην Ελλάδα είναι ελαφρύτερη από ότι η ρευματοειδής αρθρίτιδα στις Βορειο-Ευρωπαϊκές χώρες, και σε μια ανάλυση HLA αλληλίων σε Έλληνες ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα, ο κοινός επίτοπος HLADRB1, που ανιχνεύεται σε υψηλό επίπεδο των ασθενών στις Βορειο-Ευρωπαϊκές χώρες, εδώ βρέθηκε σε χαμηλό ποσοστό των ασθενών. Τα τελευταία χρόνια σε Βορειο-Ευρωπαϊκούς λαούς τα αντι-CCP αντισώματα βρέθηκε να έχουν υψηλή ειδικότητα στην ρευματοειδή αρθρίτιδα. Για τον λόγο αυτό έγινε η εκτίμηση της διαγνωστικής αξίας των αντι-CCP αντισωμάτων σε Έλληνες ασθενείς με ΡΑ.

Στην προσπάθεια μου αυτή, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Λάζαρο Ι. Σακκά Διευθυντή του Ρευματολογικού Τμήματος, για την καθοδήγηση και επίβλεψη της έρευνας μου, και τη καθοδήγηση του στη συγγραφή της παρούσας διατριβής. Θέλω επίσης να ευχαριστήσω τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Αναστάσιο Γερμενή, Διευθυντή του Εργαστηρίου Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας, για την καθοδήγησή του και τη βοήθεια του, τον επίκουρο καθηγητή κ. Γεώργιο Κουκούλη για την υποστήριξη και την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή και τον επίκουρο καθηγητή κ. Ηλία Ζιντζαρά, Διευθυντή του Τμήματος Βιομαθηματικών για την υποστήριξη και βοήθεια του στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συναδέλφους μου κ.κ Α. Ζιώγα, Κ. Θεοδωρίδου, Ν. Πατσόπουλο, για τη βοήθεια τους και παραγωγικές συζητήσεις.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

**Φόντο.** Τα αντισώματα έναντι κυκλικού κίτρουλλινιωμένου πεπτιδίου (αντι-CCP) έχει βρεθεί ότι έχουν διαγνωστική αξία σε Βορειο-Ευρωπαίους Καυκάσιους ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ). Στους πληθυσμούς αυτούς, η παραγωγή των αντι-CCP αντισωμάτων συσχετίζεται με τον κοινό επίτοπο HLA-DRB1. Μελετήσαμε τη διαγνωστική αξία των αντι-CCP αντισωμάτων σε Έλληνες ασθενείς με ΡΑ όπου ο κοινός επίτοπος HLA-DRB1 απαντά στη μειοψηφία των ασθενών με ΡΑ.

**Μέθοδοι.** Χρησιμοποιώντας ενζυμο-ανοσοδοκιμασία(ELISA) και το εμπορικό τεστ CCP2, αναλύσαμε για αντι-CCP2 αντισώματα ορούς από 155 Έλληνες ασθενείς με ΡΑ, 178 Έλληνες ασθενείς με άλλα ρευματικά νοσήματα, και 100 υγιείς αιμοδότες. Στους ασθενείς με ΡΑ αξιολογήσαμε την ενεργότητα της νόσου με δείκτη DAS28, αριθμό διογκωμένων αρθρώσεων και μέτρηση C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP), και μετρήσαμε το βαθμό των ακτινολογικών αλλοιώσεων των αρθρώσεων. Προσδιορίσαμε επίσης ρευματοειδή παράγοντα (RF) και τον συγκρίναμε με αντι-CCP2 αντισώματα για επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (area under the curve [AUC]), ευαισθησία, ειδικότητα, και αναλογίες πιθανότητας (likelihood ratios). Εξωαρθρικές εκδηλώσεις μελετήθηκαν σε 220 ασθενείς με ΡΑ.

**Αποτελέσματα.** Η ευαισθησία των αντι-CCP2 αντισωμάτων και του RF για τη ΡΑ ήταν 63,2% και 59,1%, και η ειδικότητα ήταν 95,0% και 91,2%, αντίστοιχα. Όταν θεωρήθηκαν ταυτόχρονα, η AUC για τα αντι-CCP2 αντισώματα ήταν 0,90 με 95% ζώνη αξιοπιστίας (CI) από 0,87 έως 0,93 και η AUC για τον RF ήταν 0,71 με 95% CI από 0,64 έως 0,77. Η παρουσία και των δυο

αντισωμάτων αύξησε την ειδικότητα για PA σε 98,2%. Αντι-CCP2 αντισώματα ανιχνεύθηκαν σε 34,9% των RF(-) ασθενών με PA. Τα αντι-CCP2 αντισώματα έδειξαν στατιστική συσχέτιση με ακτινολογική βλάβη των αρθρώσεων στη PA. Ασθενείς με PA και αντι-CCP2 αντισώματα είχαν αύξηση του αριθμού των διογκωμένων αρθρώσεων και των επιπέδων CRP ορού σε σύγκριση με τους ασθενείς με PA χωρίς αντι-CCP2 αντισώματα (Mann-Whitney U test,  $p=0,01$ , και  $p<0,001$ , αντίστοιχα). Ωστόσο, δεν βρέθηκε στατιστική συσχέτιση μεταξύ αντι-CCP2 αντισωμάτων και του σκορ DAS28 ( $r = 0,13$ ,  $p = 0,12$ ). Ασθενείς με PA και υψηλά επίπεδα αντι-CCP2 αντισωμάτων συσχετίζονταν με εξωαρθρικές εκδηλώσεις, κυρίως ορογονίτιδα και πνευμονική ίνωση.

**Συμπεράσματα.** Σε Έλληνες ασθενείς με PA, τα αντι-CCP2 αντισώματα είχαν καλύτερη διαγνωστική αξία από τον ρευματοειδή παράγοντα και είχαν στατιστική συσχέτιση με ακτινολογική βλάβη των αρθρώσεων. Υψηλά επίπεδα αντι-CCP2 αντισωμάτων συσχετίζονταν με εξωαρθρικές εκδηλώσεις. Γι αυτό, αντι-CCP2 αντισώματα θα ήταν χρήσιμα στην καθημερινή ρευματολογική πρακτική.

## SUMMARY

**Background:** Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies have been of diagnostic value in Northern European Caucasian patients with rheumatoid arthritis (RA). In these populations, anti-CCP antibodies are associated with the HLA-DRB1 shared epitope. We assessed the diagnostic value of anti-CCP antibodies in Greek patients with RA where the HLA shared epitope was reported in a minority of patients.

**Methods:** Using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (CCP2) kit, we tested anti-CCP2 antibodies in serum samples from 155 Greek patients with RA, 178 patients with other rheumatic diseases, and 100 blood donors. We also determined rheumatoid factor (RF) and compared it to anti-CCP2 antibodies for area under the curve (AUC), sensitivity, specificity and likelihood ratios. Extra-articular manifestations were assessed in 220 RA patients.

**Results:** Sensitivity of anti-CCP2 antibodies and RF for RA was 63.2% and 59.1%, and specificity was 95.0% and 91.2%, respectively. When considered simultaneously, the AUC for anti-CCP2 antibodies was 0.90 with 95% CI of 0.87 to 0.93 and the AUC for RF was 0.71 with 95% CI of 0.64 to 0.77. The presence of both antibodies increased specificity to 98.2%. Anti-CCP2 antibodies were positive in 34.9% of RF-negative RA patients. Anti-CCP2 antibodies showed a correlation with the radiographic joint damage. Anti-CCP2-positive RA patients had increased the swollen joint count and serum CRP concentration compared to anti-CCP2-negative RA patients (Mann-Whitney U test,  $p=0.01$ , and  $p<0.001$ , respectively). However, no correlation was found between anti-CCP2 antibodies and DAS28 score ( $r = 0.13$ ,  $p =$

0.12). RA patients with high levels of anti-CCP2 antibodies correlated with extra-articular manifestations, especially serositis and pulmonary fibrosis.

**Conclusions:** In Greek patients with RA, anti-CCP2 antibodies exhibit a better diagnostic value than RF and a correlation with radiological joint damage. High levels of anti-CCP2 antibodies correlated with extra-articular manifestations. Therefore, anti-CCP2 antibodies would be useful in everyday rheumatology practice.

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1.Γενική εισαγωγή

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι χρόνια φλεγμονώδης πολυσυστηματική νόσος που προσβάλλει κυρίως τις αρθρώσεις. Είναι σχετικά συχνή νόσος, με επιπολασμό ~1% και προσβάλλει πιο συχνά τις γυναίκες (αναλογία προς άνδρες 2,5-3 : 1) με μέγιστη συχνότητα τις ηλικίες 35-50 ετών (Gabriel et al 1999, Lee and Weinblatt 2001). Η νόσος αρχίζει ως συμμετρική πολυαρθρίτιδα, αλλά μπορεί να εισβάλλει ως μονοαρθρίτιδα ή ολιγοαρθρίτιδα που στη συνέχεια εξελίσσεται σε πολυαρθρίτιδα. Εξωαρθρικές εκδηλώσεις περιλαμβάνουν πυρετό, λεμφαδενοπάθεια, πλευριτική συλλογή, αγγειίτιδα, και ρευματοειδή οζίδια (Πίνακας 1.1.1) που αυξάνουν τη νοσηρότητα. Η νόσος ακολουθεί χρόνια πορεία. Σε ασθενείς με ΡΑ που παρακολουθούνται σε νοσοκομείο, μόνο 15% πετυχαίνει ύφεση μετά από 10 έτη νόσου (Wolfe and Hawley 1985, Hochberg et al 1992).

Η χρόνια και ανεξέλεγκτη φλεγμονή των αρθρώσεων οδηγεί σε καταστροφή του χόνδρου και των οστών των αρθρώσεων που προκαλεί δυσλειτουργία των αρθρώσεων και αναπηρία. Επίσης φαίνεται να συντελεί στην αύξηση της αθηρωματογένεσης που παρατηρείται στη ΡΑ (Chung et al 2005, del Rincon et al 2005). Η πρόγνωση της νόσου, σε εποχές που δεν υπήρχαν αποτελεσματικά φάρμακα της νόσου, είναι σοβαρή: ένα τέταρτο των ασθενών είναι ανίκανοι για εργασία μετά από 6,4 έτη νόσου και 50-80% των ασθενών έχουν αναπηρία μετά από 20 έτη νόσου (Scot et al 1987, Wolfe and Hawley 1998) ενώ μειώνεται το προσδόκιμο επιβίωσης κατά 3-18 έτη (Pincus et al 1986). Αυξημένη θνητότητα παρουσιάζεται και στα πρώτα 7 έτη της

νόσου και οφείλεται σε καρδιαγγειακή νόσο, πνευμονική υπέρταση και λέμφωμα (Young et al 2007).

#### Πίνακας 1.1.1 Εξωαρθρικές εκδηλώσεις της RA

<u>Εκδήλωση</u>	<u>Σχόλια</u>
Ρευματοειδή οζίδια	20-30% των ασθενών. Υποδόρια συνήθως στην εκτατική επιφάνεια αρθρώσεων
Πνευμονική	Πλευρίτιδα(40-70%), πνευμονική ίνωση (10-47% με CT θώρακος) Ρευματοειδή οζίδια
Αγγειίτιδα	Συνήθως δερματικά έμφρακτα στα δάκτυλα, σπανιότερα νευρίτιδα, έμφρακτα σπλάχνων
Οφθαλμική	Σύνδρομο Sjogren(15-20%) Επισκληρίτιδα, σκληρίτιδα Μαλάκυνση κερατοειδούς
Διόγκωση λεμφαδένων	
Νευροπάθεια	Συμπιεστική σε καρπούς και ΑΜΣΣ ή αγγειίτιδας
Σύνδρομο Felty	

#### 1.2.Αιτιοπαθογένεια της ρευματοειδούς αρθρίτιδας

Η αιτιολογία της RA δεν είναι γνωστή. Η σύμπτωση της νόσου (concordance rate) και στους δυο μονο-ωογενείς διδύμους 12-15% σε σχέση με 4% των δι-ωογενών διδύμων (Silman et al 1993) υποδηλώνει ότι γενετικοί



παράγοντες συμμετέχουν στην ανάπτυξη της νόσου. Το γεγονός ότι η σύμπτωση της νόσου στους μονο-ωογενείς διδύμους είναι χαμηλή (12-15%) υποδηλώνει ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της νόσου.

Η γενετική συμμετοχή στην ανάπτυξη της PA εντοπίσθηκε στη γονιδιακή περιοχή του βραχέως σκέλους του χρωμοσώματος 6 στη δεκαετία του 1970, όταν βρέθηκε συσχέτιση της PA με το HLA-τάξης II αντιγόνο DR4 (Stastny 1978). Στη συνέχεια βρέθηκε συσχέτιση της PA σε διαφορετικούς λαούς με διαφορετικά αλληλία HLA, όπως DR4, DR1, DR6, DR10 (Nichol and Woodrow 1981, Sanchez et al 1990). Τα μόρια HLA-τάξης II αποτελούνται από μια α αλυσίδα, που δεν είναι πολυμορφική, και μια β αλυσίδα που είναι έντονα πολυμορφική. Συγκρίνοντας την αλληλουχία αμινοξέων της DRβ αλυσίδας των αλληλίων HLA-DRB1 που συσχετίζονται με τη PA με εκείνη των αλληλίων που δεν συσχετίζονται με τη PA βρέθηκε ότι οι β αλυσίδες των αλληλίων που συσχετίζονται με τη PA έχουν κοινή αλληλουχία στη θέση 70-74. Ειδικότερα, τα αλληλία

HLA-DR4 (DRB1\*0401, DRB1\*0404, DRB1\*0405, DRB1\*0408)

HLA-DR1 (DRB1\*0101),

HLA-DR6 (DRB1\*1402),

HLA-DR10 (DRB1\*1001)

που συσχετίζονται με τη PA έχουν κοινή την αλληλουχία αμινοξέων Gln(Q)-Lys(K)[Arg(R)]-Arg(R)-Ala(A)-Ala(A) στη θέση 70-74 της 3<sup>ης</sup> υπερμεταβλητής περιοχής της αλυσίδας DRβ (Wordsworth et al 1989). Η αλληλουχία αυτή διαφέρει από την αλληλουχία αλληλίων που δεν συσχετίζονται με τη PA στο μέγεθος των αμινοξέων και το ηλεκτρικό τους φορτίο και ονομάσθηκε κοινός

επίτοπος (shared epitope) (Gregersen et al 1987). Με τον τρόπο αυτό εξηγείται η συσχέτιση της PA με διαφορετικά αλλήλια HLA σε διάφορες εθνότητες. Ο κοινός επίτοπος βρέθηκε σε 83% των ασθενών με PA και σε 46% των υγιών μαρτύρων ( Wordsworth et al 1989).

Στον κύριο τόπο της φλεγμονής, τον αρθρικό υμένα, υπάρχει υπερπλασία των συνοβιακών κυττάρων επιφανείας, και φλεγμονώδης διήθηση. Η διήθηση αποτελείται από μακροφάγα, T λεμφοκύτταρα, και B λεμφοκύτταρα που πολύ συχνά σχηματίζουν οζίδια (Sakkas et al 1998), σαν λεμφοζίδια, τόπους ανοσιακής απάντησης. Η συσχέτιση της PA με αλλήλια HLA-τάξης II αποτελεί ισχυρή ένδειξη ότι τα T λεμφοκύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της PA, αφού η κύρια λειτουργία του μορίου HLA-τάξης II είναι να παρουσιάζει πεπτιδικά αντιγόνα σε CD4+ T λεμφοκύτταρα. Τα T λεμφοκύτταρα αναγνωρίζοντας άγνωστο μέχρι στιγμής αρθριτιδογόνο πεπτίδιο ενεργοποιούνται, πολλαπλασιάζονται, και παράγουν TH1 κυτταροκίνες, όπως IL-2, IL-15, IL-17, IFN $\gamma$  (Simon et al 1994; Klimiuk et al 1997; Sakkas et al 1998). Η ανεύρεση υψηλού ποσοστού πανομοιότυπων αλυσίδων  $\beta$  του υποδοχέα αντιγόνου T λεμφοκυττάρων (T cell receptor, TCR) στον αρθρικό υμένα υποδηλώνει ότι τα T λεμφοκύτταρα έχουν πολλαπλασιασθεί από αντιγονικό πεπτίδιο και όχι μη ειδικά από κυτταροκίνες (Sakkas et al 1994). Μακροφάγα του αρθρικού υμένα παράγουν IL-12 (Sakkas et al 1999) που προάγει τη διαφοροποίηση των T λεμφοκυττάρων προς την TH1 κατεύθυνση (Paul and Seder 1994). Ενεργοποιημένα TH1 κύτταρα, με άμεση επαφή μέσω CD69 και CD11, ή με IFN $\gamma$ , ενεργοποιούν άλλα κύτταρα, όπως μακροφάγα, και ινοβλάστες να παράγουν τις κυτταροκίνες IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , και μεταλλοπρωτεάσες (Sakkas et al 1998,

Choy and Panayi 2001). Οι κυτταροκίνες IL-1, IL-6, και TNFα είναι οι πιο άφθονες κυτταροκίνες στον αρθρικό υμένα της PA και είναι ουσιώδεις για τη διατήρηση της φλεγμονής στον αρθρικό υμένα. Ο TNFα επάγει την παραγωγή IL-1, και IL-6 από μακροφάγα και την παραγωγή προσκολλητικών μορίων, όπως το διακυτταρικό προσκολλητικό μόριο-1 (intercellular adhesion molecule-1), από τους ινοβλάστες (Chin et al 1990). Οι IL-1 και TNFα επάγουν την ανάπτυξη οστεοκλαστών, που προκαλούν διαβρώσεις οστού, και την παραγωγή μεταλλοπρωτεασών από ινοβλάστες, οστεοκλάστες και χονδροκύτταρα (Shingu et al 1993). Οι μεταλλοπρωτεάσες εκφράζονται στον αρθρικό υμένα ασθενών πολύ ενωρίς μετά την έναρξη της PA και προκαλούν καταστροφή του χόνδρου (Cunnane et al 2001). Η σημασία του TNFα επιβεβαιώνεται σε πειραματόζωα. Διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν ανθρώπειο TNFα εμφανίζουν καταστροφική πολυαρθρίτιδα που μοιάζει με τη PA, ενώ αδρανοποίηση αυτού του TNFα με μονοκλωνικό αντίσωμα προλαμβάνει την αρθρίτιδα (Keffer et al 1991). Β λεμφοκύτταρα φαίνεται να παρουσιάζουν αντιγόνα στα Τ λεμφοκύτταρα και αλληλεπιδρούν με Τ λεμφοκύτταρα για την παραγωγή ανοσοσφαιρινών, όπως του ρευματοειδούς παράγοντα. Ο ρευματοειδής παράγοντας φαίνεται ότι συμβάλλει στην παθογένεια της νόσου, πιθανώς με την ενεργοποίηση του συμπληρώματος, και την επακόλουθη χημειοταξία πολυμορφοκυττάρων, και την παραγωγή IL-1 και TNFα από μακροφάγα (Choy and Panayi 2001). Η σημασία του ρευματοειδούς παράγοντα στη PA υποδηλώνεται από το εύρημα ότι είναι κύριος προγνωστικός παράγοντας ακτινολογικών διαβρώσεων των αρθρώσεων στη PA (Bukhari et al 2002).

Ενεργοποιημένα Τ λεμφοκύτταρα μέσω της σύνδεσης του συνδέτη της οστεοπροτεγερίνης (OPGL) (ή ενεργοποιητή του υποδοχέα του πυρηνικού παράγοντα κΒ, RANKL) με το RANK, που εκφράζεται στην επιφάνεια της οστεοκλάστης, προκαλούν διαφοροποίηση και ενεργοποίηση των οστεοκλαστών που οδηγεί στις οστικές διαβρώσεις (Kong et al 1999, Bolon et al 2002). Σύνδεση του RANKL (OPGL) με τον διαλυτό υποδοχέα οστεοπροτεγερίνη OPG, που παράγεται από οστεοβλάστη και μεσεγχυματικά κύτταρα (stromal cells) του μυελού των οστών, αναστέλλει στην οστική απορρόφηση. Χορήγηση ανασυνδυασμένης οστεοπροτεγερίνης σε αρουραίους Lewis με adjuvant αρθρίτιδα ανέστειλε πλήρως την οστική απορρόφηση χωρίς να επηρεάσει τη φλεγμονή των αρθρώσεων (Kong et al 1999, Campagnuolo et al 2002).

Ενδοθηλιακά κύτταρα και ινοβλάστες εκφράζουν προσκολλητικά μόρια (adhesion molecules) και συντηρούν έτσι τις φλεγμονώδεις διηθήσεις του αρθρικού υμένα (Choy and Panayi 2001).

Ωστόσο, το αρθριτιδογόνο αντιγόνο που θέτει σε κίνηση και διατηρεί τους ανοσιακούς μηχανισμούς στη ΡΑ δεν είναι γνωστό.

### **1.3. Διάγνωση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας**

Η διάγνωση της ΡΑ συνήθως γίνεται με τα κριτήρια ταξινόμησης της Αμερικανικού Συλλόγου Ρευματολογίας (American Rheumatism Association [ARA], τώρα American College of Rheumatology [ACR]) του 1987 (Arnett et al 1988), μολονότι τα κριτήρια αυτά είναι ταξινόμησης και όχι διάγνωσης.

**Πίνακας 1.3.1. Κριτήρια ταξινόμησης της ΡΑ – Αμερικανικός Σύλλογος Ρευματολογίας (σήμερα Αμερικανικό Κολλέγιο Ρευματολογίας) 1987**

<u>Κριτήριο</u>	<u>Επεξήγηση</u>
1. πρωινή δυσκαμψία	Γύρω από άρθρωση διάρκειας μέχρι τη μέγιστη βελτίωση > 1 ώρα
2. αρθρίτιδα σε 3 ή περισσότερες αρθρώσεις για τουλάχιστον 6 εβδομάδες	Αρθρώσεις: MCP, PIP, καρπός, αγκώνας, γόνατο, ποδοκνημική, MTP
3. αρθρίτιδα άκρων χειρών για τουλάχιστον 6 εβδομάδες	Τουλάχιστον σε μία: καρπός, MCP, PIP
4. συμμετρική αρθρίτιδα για τουλάχιστον 6 εβδομάδες	Ταυτόχρονα στην ίδια άρθρωση αμφοτερόπλευρα
5. ρευματοειδή οζίδια	Συνήθως στις εκτατικές επιφάνειες κοντά σε αρθρώσεις
6. ρευματοειδής παράγοντας στον ορό	
7. ακτινογραφικές αλλοιώσεις άκρων χειρών	Διαβρώσεις ή περιαρθρική οστεοπενία

Για τη διάγνωση της ΡΑ απαιτούνται 4 από τα 7 κριτήρια. Τα κριτήρια 1-4 πρέπει να είναι παρόντα για τουλάχιστον 6 εβδομάδες. Ασθενείς με δυο κλινικές διαγνώσεις δεν αποκλείονται.

MCP = μετακαρπιοφαλαγγική, PIP= εγγύς μεσοφαλαγγική, MTP = μεταταρσοφαλαγγική

Ο ρευματοειδής παράγοντας, που περιλαμβάνεται στα κριτήρια ταξινόμησης, έχει καλή ευαισθησία αλλά χαμηλή ειδικότητα για τη ΡΑ αφού απαντά και σε άλλες ρευματικές νόσους, σε χρόνιες λοιμώξεις, αλλά και σε υγιή άτομα (Steiner and Smolen 2002) (Πίνακας 1.3.2).

### **Πίνακας 1.3.2. Καταστάσεις που απαντά ρευματοειδής παράγοντας**

#### **1. Ρευματικά νοσήματα**

- Ρευματοειδής αρθρίτιδα, σύνδρομο Sjogren,
- συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, Ιδιοπαθείς μυοσίτιδες

#### **2. Χρόνιες βακτηριακές λοιμώξεις**

- Φυματίωση, υποξεία βακτηριακή ενδοκαρδίτιδα,
- λέπρα, νόσος Lyme

#### **3.Ιογενείς λοιμώξεις**

- EBV, HIV, HCV, CMV

#### **4.Άλλα νοσήματα**

- Σαρκοείδωση

#### **5.Υγιείς**

~2% σε ηλικία < 30 ετών, 4% σε ηλικία 30-60 ετών και 24% σε ηλικία >60 ετών

Τα κριτήρια της ARA του 1987 έχουν μικρή διαγνωστική χρησιμότητα σε ασθενείς με αρθρίτιδα πρόσφατης έναρξης (Visser et al 2002). Η PA πρόσφατης έναρξης συγκέντρωσε μεγάλη προσοχή τα τελευταία έτη επειδή οι οστικές διαβρώσεις των αρθρώσεων, που έχουν ισχυρή συσχέτιση με μακροχρόνια λειτουργική δυσλειτουργία και αναπηρία (Welsing et al 2001), μπορεί να παρουσιάζουν τον ταχύτερο ρυθμό εμφάνισης τα πρώτα 3 έτη της νόσου (Heijde et al 1995, Hulsman et al 2000). Σημαντικό ποσοστό ασθενών με PA αναπτύσσει διαβρώσεις και σοβαρή αναπηρία ενωρίς στην πορεία της νόσου (Bukhari et al 2001). Επιπρόσθετα, μελέτες με μαγνητική τομογραφία έχουν δείξει οστικές διαβρώσεις των αρθρώσεων ακόμα και όταν γίνεται η διάγνωση της νόσου (McQueen et al 2001, Backhaus et al 2002).

Σήμερα έχει γίνει φανερό ότι όσο πιο νωρίς γίνεται η διάγνωση της PA και εφαρμόζεται νοσο-τροποποιητική θεραπεία τόσο πιο καλή γίνεται η πρόγνωση της νόσου (O'Dell 2002). Η νοσοτροποποιητική θεραπεία περιλαμβάνει μεθοτρεξάτη, λεφλουνομίδη, σουλφασαλαζίνη, κυκλοσπορίνη-A, πρεδνιζολόνη, ενέσιμο χρυσό, και τα βιολογικά φάρμακα αντι-TNFα (Remicade, Enbrel, Humira), anti-B cell (Mabthera), IL-1RA (Kineret), και μπορεί να έχει σοβαρές παρενέργειες.

Η εφαρμογή θεραπείας με νοσο-τροποποιητικά φάρμακα ενωρίς οδηγεί σε καταστολή της φλεγμονής και καθυστερεί τη βλάβη των αρθρώσεων (Egsmose et al 1995). Σε μια μετα-ανάλυση 14 τυχαιοποιημένων μελετών, 53% των ασθενών στους οποίους έγινε η διάγνωση της PA και πήραν θεραπεία εντός ενός έτους από την έναρξη της νόσου είχαν καλή ανταπόκριση στη θεραπεία σε σχέση με το 35% των ασθενών στους οποίους η διάγνωση και θεραπεία καθυστέρησε 10 ή περισσότερα έτη (Anderson et al 2000). Μάλιστα συνδυασμός νοσο-τροποποιητικών φαρμάκων ενωρίς μετά την έναρξη της νόσου είναι πιο αποτελεσματικός σε σχέση με τη μονοθεραπεία στην καθυστέρηση των ακτινολογικών αλλοιώσεων τα επόμενα έτη (Mottonen et al 1999, Landewe et al 2002, Korpela et al 2004). Ακόμα πιο σημαντικό είναι το εύρημα ότι πρώιμη θεραπεία με αντι-TNFα παράγοντα αναστέλλει τις ακτινολογικές αλλοιώσεις της PA (Genovese et al 2002, Breedveld et al 2004).

Επειδή η θεραπεία είναι δυνητικά τοξική, αλλά από το άλλο μέρος πρέπει να εφαρμοσθεί όσο πιο γρήγορα, είναι επιτακτική ανάγκη να υπάρχουν ασφαλή διαγνωστικά κριτήρια της PA πρόσφατης έναρξης και δείκτες προγνωστικοί της βαρύτητας της νόσου. Εμφάνιση της PA σε μικρή

ηλικία, αύξηση δεικτών φλεγμονής, υψηλός τίτλος ρευματοειδούς παράγοντα, και διόγκωση 20 ή περισσότερων αρθρώσεων συσχετίζονται με δυσμενή πρόγνωση της νόσου (ACR 2002) και ίσως να απαιτούν επιθετική αγωγή. Ωστόσο, οι δυσμενείς αυτοί προγνωστικοί δείκτες ίσως χρειαστούν έτη να εμφανισθούν.

#### **1.4.Δείκτες ενεργότητας της ρευματοειδούς αρθρίτιδας**

Η εμφάνιση νέων αρκετά αποτελεσματικών αλλά και ακριβών φαρμάκων για τη θεραπεία της ΡΑ έκανε φανερή την ανάγκη για την καθιέρωση δεικτών ενεργότητας της νόσου. Οι δείκτες αυτοί χρησιμοποιούνται ολοένα και πιο ευρέως στην καθημερινή κλινική πρακτική, για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας.

Η εκτίμηση της ενεργότητας της ΡΑ γίνεται με εργαστηριακούς δείκτες φλεγμονής (ΤΚΕ, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη [CRP]) και κλινικούς δείκτες (Πίνακας 1.4.1)

##### **Πίνακας 1.4.1. Κλινικοί δείκτες ενεργότητας της ΡΑ**

1. αριθμός διογκωμένων αρθρώσεων
2. αριθμός ευαίσθητων στην πίεση αρθρώσεων
3. διάρκεια πρωινής δυσκαμψίας
4. ένταση άλγους από τον ασθενή σε οπτική αναλογική κλίμακα
5. σφαιρική εκτίμηση της κατάστασης από τον ασθενή σε οπτική αναλογική κλίμακα
6. σφαιρική εκτίμηση της κατάστασης από τον Ιατρό σε οπτική αναλογική κλίμακα

Έχουν διαμορφωθεί σύνθετοι δείκτες ενεργότητας της ΡΑ με κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους με σκοπό την αξιολόγηση των μεταβολών ενεργότητας της ΡΑ και την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας.



Αυτοί οι δείκτες είναι:

- 1. Αμερικανικό Κολέγιο Ρευματολογίας (ACR) 20 / 50 / 70 (ACR20 / ACR50 / ACR70)
- 2. σκορ ενεργότητας της νόσου (Disease activity score, DAS)
- 3. σκορ ενεργότητας της νόσου 28 (DAS28)
- 4. απλοποιημένος δείκτης ενεργότητας της νόσου (simplified disease activity index, SDAI)

Ο δείκτης ACR 20, 50, 70 υπολογίζεται σύμφωνα με τον Πίνακα 1.4.2 (Felson et al 1995). Οι αρθρώσεις που αξιολογούνται στον δείκτη αυτό φαίνονται στον Πίνακα 1.4.3. Η σφαιρική εκτίμηση της ενεργότητας της νόσου από τον ασθενή φαίνεται στην Εικόνα 1.4.1. Παρόμοιες είναι και άλλες οπτικές αναλογικές κλίμακες που χρησιμοποιούνται στην εκτίμηση έντασης άλγους ή γενικής κατάστασης από ασθενείς και ιατρούς.

#### **Πίνακας 1.4.2. Μέτρηση ACR20 / 50 / 70**

Βελτίωση κατά 20%/50%/70%, αντίστοιχα, σε:

1. αριθμό διογκωμένων αρθρώσεων ΣΥΝ
2. αριθμό ευαίσθητων στην πίεση αρθρώσεων ΣΥΝ
3. τουλάχιστον 3 από τις ακόλουθες 5 μετρήσεις:
  - α. σφαιρική εκτίμηση της ενεργότητας της νόσου από τον ασθενή σε οπτική αναλογική κλίμακα
  - β. σφαιρική εκτίμηση της ενεργότητας της νόσου από τον Ιατρό σε οπτική αναλογική κλίμακα
  - γ. εκτίμηση του άλγους από τον ασθενή σε οπτική αναλογική κλίμακα
  - δ. πρωτεΐνη οξείας φάσης (CRP)
  - ε. ανικανότητα (ερωτηματολόγιο εκτίμησης της υγείας, HAQ)

### Πίνακας 1.4.3. Αρθρώσεις που αξιολογούνται στο δείκτη ACR20/50/70

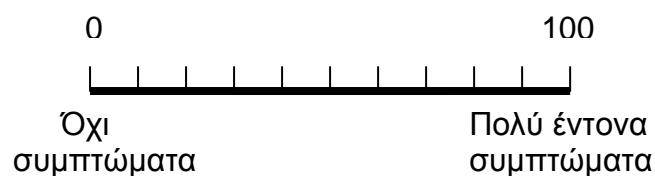
1. κροταφογναθική	2. στερνοκλειδική
3. ακρωμιοκλειδική	4. ώμος
5. αγκώνας	6. καρπός
7-11. MCP I, II, III, IV, V	12-16. PIP I, II, III, IV, V
17-20. DIP II, III, IV, V	
21. ισχίο	22. γόνατο
23. ποδοκνημική	24. τارسός
25-29. MTP I, II, III, IV, V	30-34. IP I, II, III, IV, V

MCP: μετακαρποφαλαγγική, PIP: εγγύς μεσοφαλαγγική, DIP: άπω μεσοφαλαγγική,

IP: μεσοφαλαγγική

### Εικόνα 1.4.1

Σφαιρική εκτίμηση της ενεργότητας της RA από τον ασθενή σε οπτική αναλογική κλίμακα



Ο δείκτης DAS υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο (van der Heijde et al 1990, Prevoo et al 1995):

$$DAS = 0,54 \times \sqrt{RAI} + 0,065 \times \sqrt{SW} + 0,33 \times \ln(ESR) + 0,0072 \times GH$$

Όπου:

RAI=Ritchie articular index-αριθμός ευαίσθητων στην πίεση αρθρώσεων

SW= αριθμός διογκωμένων αρθρώσεων (από 44)

ESR= TKE

GH= γενική κατάσταση υγείας (σε 100 mm οπτική αναλογική κλίμακα, VAS)

Στο DAS, η ενεργότητα της PA ταξινομείται ως:

- Υψηλή, όταν το DAS είναι  $> 3,5$
- Χαμηλή, όταν το DAS είναι  $\leq 2,4$
- Ύφεση, όταν το DAS είναι  $< 1,6$

Σύμφωνα με τα κριτήρια της EULAR, για να έχει ένας ασθενής σημαντική βελτίωση πρέπει να έχει σημαντική μείωση του DAS αλλά και χαμηλό τωρινό DAS (van Gestel et al 1996) (Πίνακας 1.4.4)

#### **Πίνακας 1.4.4. Βελτίωση ενεργότητας της PA σύμφωνα με τα κριτήρια DAS της EULAR.**

Καλή: μείωση DAS  $>1,2$  και τωρινό DAS  $\leq 2,4$

Μέτρια: μείωση DAS  $>0,6$  έως  $\leq 1,2$  και τωρινό DAS  $\leq 3,7$  ή μείωση DAS  $>1,2$  και τωρινό DAS  $>3,7$

Καμία: μείωση DAS  $\leq 0,6$  και τωρινό DAS  $>2,4$  ή μείωση DAS  $\leq 1,2$  και τωρινό DAS  $>3,7$

	Μείωση του DAS28		
<u>Τωρινό DAS28</u>	>1,2	>0,6 έως ≤1,2	≤0,6
DAS28 ≤3,2	καλή	μέτρια	καμία
3,2<DAS28 ≤5,1			
DAS28>5,1			

**Εικόνα 1.4.2. Βελτίωση της ενεργότητας σύμφωνα με τα κριτήρια DAS28 της EULAR**

Ο DAS28 υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο (van der Heijde et al 1990, Prevoo et al 1995):

$$\text{DAS28} = 0,56 \times \sqrt{(t28)} + 0,28 \times \sqrt{(sw28)} + 0,70 \times \text{Ln}(\text{ESR}) + 0,014 \times \text{GH}$$

Όπου

T28= αριθμός ευαίσθητων στην πίεση αρθρώσεων από 28 αρθρώσεις

SW28= αριθμός διογκωμένων αρθρώσεων από 28 αρθρώσεις

GH= γενική κατάσταση υγείας σε 0-100 mm οπτική κλίμακα (VAS)

Οι αρθρώσεις που αξιολογούνται για τον υπολογισμό του DAS28 φαίνονται στον Πίνακα 1.4.5.

**Πίνακας 1.4.5. Οι 28 (14 x 2) αρθρώσεις που αξιολογούνται στο DAS28**

- |                            |                             |           |
|----------------------------|-----------------------------|-----------|
| 1. Ώμος                    | 2. Αγκώνας                  | 3. Καρπός |
| 4-8. MCP I, II, III, IV, V | 9-13. PIP I, II, III, IV, V |           |
| 14. γόνατο                 |                             |           |

Η ενεργότητα της PA σύμφωνα με το DAS28 ορίζεται ως:

- Υψηλή, όταν το DAS28 είναι  $> 5,1$
- Μέτρια, όταν το DAS28 είναι 3,2-5,1
- Χαμηλή, όταν το DAS28 είναι  $< 3,2$

Ως βελτίωση της ενεργότητας της PA ορίζεται η μείωση του DAS28 κατά 1,2 με χαμηλό τωρινό DAS28 (van Gestel et al 1996), όπως δείχνει η εικόνα 1.4.2. Κάποιος μπορεί να υπολογίσει τον DAS28 από τον DAS σύμφωνα με τον τύπο:  $DAS28 = (1,072 \times DAS) + 0,938$  (van Riel and van Gestel 2000)

Ο απλοποιημένος δείκτης ενεργότητας νόσου (SDAI) υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο (Smolen et al 2003):

$$SDAI = TJC + SJC + PGA + MDGA + CRP$$

Όπου:

TJC= αριθμός ευαίσθητων στην πίεση αρθρώσεων από 28 αρθρώσεις

SJC= αριθμός διογκωμένων αρθρώσεων από 28 αρθρώσεις

PGA= σφαιρική εκτίμηση της ενεργότητας της νόσου από τον ασθενή σε 0-10 cm οπτική αναλογική κλίμακα

MDGA= σφαιρική εκτίμηση της ενεργότητας της νόσου από τον Ιατρό σε 0-10 cm οπτική αναλογική κλίμακα

CRP σε mg/dL

Η ενεργότητα της PA, σύμφωνα με το SDAI ορίζεται ως:

- Υψηλή, όταν το SDAI είναι  $> 40$
- Μέτρια, όταν το SDAI είναι 20-40
- χαμηλή, όταν το SDAI είναι  $< 20$
- ύφεση, όταν το SDAI είναι  $< 5$

Σύμφωνα με το SDAI, μεγάλη βελτίωση ορίζεται ως μείωση του SDAI > 22 και μικρή βελτίωση ως μείωση του SDAI κατά 10-21 (Smolen et al 2003).

### **1.5. Εκτίμηση των συνεπειών της ρευματοειδούς αρθρίτιδας στον ασθενή**

Οι συνέπειες της μακροχρόνιας φλεγμονής των αρθρώσεων είναι μείωση της λειτουργίας των αρθρώσεων και ανατομικές βλάβες των αρθρώσεων. Η μείωση της λειτουργικότητας μπορεί να οφείλεται σε φλεγμονή των αρθρώσεων, οπότε μπορεί να είναι παροδική, ή να οφείλεται σε ανατομική βλάβη των αρθρώσεων, οπότε είναι μόνιμη. Έτσι, η εκτίμηση των συνεπειών της ΡΑ στον ασθενή περιλαμβάνει εκτίμηση της λειτουργικότητας και εκτίμηση της δομικής βλάβης της άρθρωσης. Η εκτίμηση της λειτουργικότητας, δηλαδή της ικανότητας του ασθενούς να διεκπεραιώσει καθημερινές ασχολίες γίνεται με ερωτηματολόγια (Πίνακας 1.5.1). (Fries et al 1980, Liang et al 1985, Hochberg et al 1992). Ο δείκτης HAQ για να συμπληρωθεί από τον ασθενή απαιτεί 5-10 λεπτά. Πολλές φορές χρειάζεται βοήθεια από νοσοκόμο ή γιατρό. Εύκολη και ταχεία στη χρήση είναι η ταξινόμηση της λειτουργικότητας κατά Steinbroker (Πίνακας 1.5.2) (Steinbroker et al 1949) και κατά ARA (Πίνακας 1.5.3). Ωστόσο, οι ταξινομήσεις αυτές δεν είναι πολύ ευαίσθητες, επειδή έχουν μόνο 5 κλίμακες και ανιχνεύουν μόνο μεγάλες αλλαγές.

### Πίνακας 1.5.1. Δείκτες λειτουργικότητας

1. Ερωτηματολόγιο εκτίμησης της Υγείας (Heath assessment questionnaire, HAQ)
2. Πολυδιάστατο HAQ
3. Κλίμακα μέτρησης των συνεπειών της αρθρίτιδας (arthritis impact measurement scales 2, AIMS2)
4. Λειτουργική τάξη κατά Steinbroker
5. Βραχύ δελτίο-36 επισκόπησης της Υγείας (short form-36 health survey, SF-36)
6. Σφαιρική λειτουργική κατάσταση κατά την ARA

### Πίνακας 1.5.2. HAQ

Παρακαλώ σημειώσε μια απάντηση που ταιριάζει στη συνήθη ικανότητα την περασμένη εβδομάδα

	Χωρίς Δυσκολία	με αρκετή Δυσκολία	με μεγάλη δυσκολία	δεν μπορώ να το κάνω
Ντύσιμο και περιποίηση Μπορείς να: -Ντυθείς μόνος σου -Να κουμπωθείς και να δέσεις τα παπούτσια				
Έγερση Μπορείς να: -Σηκωθείς από καρέκλα -Σηκωθείς από το κρεβάτι				
Φαγητό Μπορείς να: -κόβεις το κρέας σου -σηκώνεις γεμάτο ποτήρι στο στόμα -ανοίξεις καινούργιο μπουκάλι γάλα				
Βάδιση Μπορείς να: -περπατάς έξω από το σπίτι σε επίπεδο έδαφος -ανεβείς 5 σκαλιά				
Υγιεινή Μπορείς να: -πλύνεις το σώμα σου και να σκουπισθείς -κάνεις ντους -καθίσεις και σηκωθείς από την τουαλέτα				

Προσέγγιση  
Μπορείς να:  
-πλησιάσεις και να σηκώσεις  
ένα πράγμα 2,5 κιλών  
-σκύψεις και να πιάσεις  
ρούχο από το πάτωμα

### Πίνακας 1.5.2. HAQ (συνέχεια)

Παρακαλώ σημείωσε μια απάντηση που ταιριάζει στη συνήθη ικανότητα την περασμένη εβδομάδα

Χωρίς Δυσκολία	με αρκετή Δυσκολία	με μεγάλη δυσκολία	δεν μπορώ να το κάνω
-------------------	-----------------------	-----------------------	-------------------------

Πιάσιμο  
Μπορείς να:  
-ανοίξεις πόρτα αυτοκινήτου  
-ανοίξεις βάζο που  
είχε πριν ανοιχθεί  
-ανοίξεις και κλείσεις βρύσες

Δραστηριότητες  
Μπορείς να:  
-Ανοίξεις βήμα και να ψωνίσεις  
-Μπεις και βγεις από αυτοκίνητο  
-Κάνεις ηλεκτρική σκούπα  
και δουλειά στον κήπο

Παρακαλώ σημείωσε αν χρησιμοποιείς βοήθημα στις ακόλουθες δραστηριότητες  
Να σηκωθείς από την τουαλέτα: -----  
Να καθίσεις στο ντους: -----  
Να ανοίξεις βάζο που είχε πριν ανοιχθεί: -----  
Στήριγμα στο ντους: -----  
Άλλο(σημείωσε ποιο): -----

Παρακαλώ σημείωσε για ποια κατηγορία χρειάζεσαι βοήθεια από άλλο άτομο  
Υγιεινή: -----  
Πιάσιμο και άνοιγμα βάζου(μπουκαλιού): -----  
Προσέγγιση να πιάσεις: -----  
Βιαστικό περπάτημα: -----

Η βαθμολογία είναι 0 = χωρίς δυσκολία, 1 = με αρκετή δυσκολία, 2 = με μεγάλη  
δυσκολία, 3 = δεν μπορώ να το κάνω.

Στις κατηγορίες βοηθημάτων ή βοήθειας από άλλο άτομο, κάθε κατηγορία  
βαθμολογείται με 0 όταν δεν χρησιμοποιείται βοήθημα ή βοήθεια και 1 όταν  
χρησιμοποιείται βοήθημα ή βοήθεια.



### Πίνακας 1.5.3. Πολυεπίπεδο ΗΑQ

	Χωρίς Δυσκολία	με αρκετή δυσκολία	με πολύ δυσκολία	δεν μπορώ να το κάνω
<b>Αυτή τη στιγμή μπορείς να:</b>				
-ντυθείς, κουμπωθείς και να δέσεις τα παπούτσια				
-ανεβείς και να κατεβείς από το κρεβάτι				
-φέρεις γεμάτο ποτήρι στο στόμα				
-περπατήσει έξω σε επίπεδο έδαφος				
-πλύνεις και στεγνώσεις το σώμα σου				
-σκύψεις και σηκώσεις ρούχο από το πάτωμα				
-ανοίξεις και κλείσεις βρύση				
-ανεβείς και κατεβείς από αυτοκίνητο, τραίνο, λεωφορείο				
-περπατήσεις 3 χιλιόμετρα				
-συμμετάσχεις σε σπορ όπως θα ήθελες				

### Την περασμένη εβδομάδα

Ένταση άλγους (όχι άλγος) 0-----100 (ανυπόφορο άλγος)  
Σφαιρικά πώς είσαι(πολύ καλά) 0----- 100 (πολύ άσχημα)

### Πίνακας 1.5.4. Ταξινόμηση της λειτουργικής ικανότητας της ΡΑ κατά Steinbroker

**Τάξη I.** φυσιολογική λειτουργία, χωρίς ή παρά τα συμπτώματα

**Τάξη II.** Αρκετή ανικανότητα, αλλά αρκετή για φυσιολογική δραστηριότητα χωρίς βοήθεια ή ειδικά βοηθήματα

**Τάξη III.** Δραστηριότητες περιορισμένες, χρειάζεται ειδικά βοηθήματα ή βοήθεια ατόμου

**Τάξη IV.** Πλήρως εξαρτημένος

### **Πίνακας 1.5.5. Σφαιρική λειτουργική κατάσταση κατά ARA**

**Τάξη I.** Ικανός να κάνει συνήθεις δραστηριότητες

**Τάξη II.** Ικανός για συνήθεις δραστηριότητες αυτοεξυπηρέτησης και επαγγελματικές, αλλά περιορισμός σε μη επαγγελματικές δραστηριότητες

**Τάξη III.** Ικανός για συνήθεις δραστηριότητες αυτοεξυπηρέτησης, αλλά περιορίζει τις επαγγελματικές και μη επαγγελματικές δραστηριότητες

**Τάξη IV.** Περιορισμένες δραστηριότητες αυτοεξυπηρέτησης, επαγγελματικές και μη επαγγελματικές

#### **1.5.1 Δείκτες ακτινολογικών αλλοιώσεων στη ρευματοειδή αρθρίτιδα**

Οι ακτινογραφίες, σαν μέσο εκτίμησης της δομικής βλάβης της άρθρωσης στην ΡΑ, έχουν σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλες μετρήσεις (π.χ επώδυνες ή διογκωμένες αρθρώσεις). Επειδή η αρθρική βλάβη στην ΡΑ συνήθως είναι μη αναστρέψιμη γι' αυτό η ακτινογραφία αναπαριστά την αθροιστική επίπτωση της φλεγμονής στην άρθρωση, στην διάρκεια του χρόνου. Δεύτερον, η ακτινογραφία αποτελεί μόνιμο στοιχείο της αξιολόγησης της νόσου που δεν αλλοιώνεται με τον χρόνο, μπορεί να αποθηκευθεί και να χρησιμοποιηθεί για σύγκριση όποτε χρειαστεί. Παρά την είσοδο στην καθημερινή πρακτική νέων τεχνικών (π.χ ψηφιακές ακτινογραφίες), μπορούν άνετα να συγκριθούν με τις ήδη υπάρχουσες. Σε μελέτες, οι ακτινογραφίες μπορούν να εξετάζονται τυχαιοποιημένα και τυφλά ως προς τα άλλα δεδομένα. Μπορούν να καθορίσουν την βαρύτητα της νόσου σε συγκεκριμένο χρόνο και μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην εκτίμηση της προόδου της νόσου στον χρόνο. Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας μιας θεραπείας. Για τους λόγους αυτούς οι ακτινογραφίες περιλαμβάνονται στα OMERACT / ILAR / WHO βασικά

κριτήρια για μελέτες αξιολόγησης φαρμάκων διάρκειας πάνω από 1 χρόνο (Tugweel and Boers 1993).

#### Ακτινολογικές τεχνικές και συνήθη προβλήματα

Η σωστή θέση των χεριών στην ακτινογραφία είναι θεμελιώδες στοιχείο μιας καλής λήψης. Οι περισσότερες μελέτες χρησιμοποιούν την συνήθη ραχιοπαλαμιαία λήψη για τα άκρα χέρια. Άλλοι τρόποι είναι η λήψη Norgaard (45° υπτιασμός με πήχη, καρπό, δάκτυλα σε έκταση) και η λήψη Brewerton (MCP σε κάμψη 65° και παλαμιαία ακτίνα 15°). Συγκρίσεις των τριών αυτών λήψεων δεν έδειξαν σημαντικά πλεονεκτήματα των Norgaard και Brewerton λήψεων σε σχέση με την κλασσική ραχιοπαλαμιαία λήψη (Mewa et al 1983, Moreland et al 1990). Η έκθεση του φιλμ στην ακτινοβολία είναι επίσης πρωταρχικής σημασίας, γιατί οστικές διαβρώσεις χάνονται σε υπερ- ή υποεκτεθειμένα φιλμ. Τα προβλήματα αυτά οφείλονται κυρίως στο γεγονός ότι η ακτινογραφία είναι μια δυο διαστάσεων απεικόνιση ενός τρισδιάστατου αντικειμένου (Brower 1990).

#### Τύποι βλαβών

Οι αρθρικές βλάβες που συνήθως ανιχνεύονται στην PA σε μια ακτινογραφία είναι: οίδημα μαλακών μορίων, περιαρθρική και διάχυτη οστεοπόρωση, οστικές διαβρώσεις, υποχόνδριες κύστες, απώλεια χόνδρου (φαίνεται σαν στένωση του μεσάρθριου διαστήματος), υπεξάρθρωμα και απόκλιση, αγκύλωση, αντιδραστική σκλήρυνση περί των επουλούμενων διαβρώσεων και οστεόφυτα σε βαριά προσβεβλημένες αρθρώσεις (Martel 1968). Οι οστικές διαβρώσεις και η στένωση του μεσάρθριου είναι τα πιο χαρακτηριστικά στοιχεία της αρθρικής βλάβης στην PA και θα πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε σύστημα βαθμολόγησης (Fries et al 1986).

Αρθρώσεις που πρέπει να περιλαμβάνονται

Στη ΡΑ όλες οι συνοβιακές αρθρώσεις μπορούν να προσβληθούν, αλλά δεν είναι δυνατό να συμπεριληφθούν όλες αυτές οι αρθρώσεις σε ένα σύστημα ταξινόμησης. Οι μικρές αρθρώσεις προσβάλλονται στην πλειονότητα των ασθενών και περιλαμβάνονται στα ACR κριτήρια ταξινόμησης της ΡΑ. Επίσης δείχθηκε ότι η έκταση της αρθρικής βλάβης στα χέρια και τους καρπούς αποτελεί καλή ένδειξη τόσο για την έκταση της συνολικής αρθρικής βλάβης όσο και για τον ρυθμό εξέλιξης της (Scott et al 1986). Τα περισσότερα συστήματα βαθμολόγησης περιλαμβάνουν ακτινογραφίες άκρων χειρών και κυρίως MCPs, PIPs, και καρπούς. Οι ακτινογραφίες των άκρων ποδών δίνουν πρόσθετες πληροφορίες κυρίως σε πρωίμη νόσο (οι MTPs διαβρώνονται και εμφανίζουν μεγαλύτερη βλάβη πρωιμότερα [van der Heijde 1995 b]). Η ΡΑ είναι μια αμφοτερόπλευρη πολυαρθρίτιδα και η βαθμολόγηση του ενός μόνο χεριού (ή ποδιού) δεν πρέπει να θεωρείται σωστή. Έχειδειχθεί υψηλή αναλογία μερικώς συμμετρικής νόσου (Papavasanas et al 1986).

Αριθμός βαθμολογητών

Ο αριθμός των βαθμολογητών σε διάφορες μελέτες ποικίλλει από έναν έως αρκετούς. Η απασχόληση περισσότερων του ενός, μειώνει το λάθος της μέτρησης και δίνει πιο ακριβή αποτελέσματα. Τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη μελέτη έδειξε ότι η απασχόληση δυο βαθμολογητών είναι η προτιμότερη (Fries et al 1986). Συγκρίσεις μεταξύ εκπαιδευμένων στο σύστημα βαθμολόγησης και μη εκπαιδευμένων βαθμολογητών, δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, αν και η σύμπτωση βαθμολογιών στους εκπαιδευμένους ήταν μεγαλύτερη (Nance et al 1986). Άλλες διαφορές των

βαθμολογητών (ακτινολόγοι ή ρευματολόγοι) δεν είχαν επίδραση στο αποτέλεσμα (Fries et al 1986).

#### Μέθοδοι ανάγνωσης των ακτινογραφιών

Οι ακτινογραφίες μπορούν να διαβαστούν με τυχαία σειρά (λέγεται και single order, οι ακτινογραφίες ελέγχονται τυχαία, ανεξάρτητα από ασθενή και χρονολογική σειρά), σε ζεύγη χωρίς χρονολογική σειρά (λέγεται και paired order, ακτινογραφίες του ίδιου ασθενή χωρίς γνώση της χρονικής σειράς τους) και σε ζεύγη με γνώση της χρονολογικής σειράς (λέγεται και chronological order, ακτινογραφίες του ίδιου ασθενή με γνώση της χρονικής σειράς τους). Ανεξάρτητα από τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της κάθε μεθόδου, η ανάγνωση σε chronological order φαίνεται να είναι η καλύτερη (van der Heijde et al 1999) και χρησιμοποιείται στις περισσότερες μελέτες. Η ταυτόχρονη ανάγνωση και βαθμολόγηση μιας ακτινογραφίας από ζεύγος βαθμολογητών (paired reading) είναι η προτεινόμενη (Fries et al 1986, Ferrara et al 1997).

#### Τύποι των μεθόδων βαθμολόγησης ακτινογραφιών

Οι μέθοδοι βαθμολόγησης μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής:

- (α). Σφαιρική εκτίμηση της ακτινογραφίας του ασθενή (π.χ Steinbroker)
- (β). Σφαιρική εκτίμηση ανά άρθρωση (π.χ Larsen)
- (γ). Χωριστή εκτίμηση διαβρώσεων και στένωσης μεσάρθριου (π.χ Sharp)
- (δ). Μέθοδοι για την μέτρηση σειριακών αλλαγών (π.χ κάρπο/μετακάρπιος δείκτης).

Οι μέθοδοι (α) – (γ) χρησιμεύουν αφενός στη βαθμολόγηση της αρθρικής βλάβης σε συγκεκριμένο χρόνο και αφετέρου στην εκτίμηση του ρυθμού προόδου της σε βάθος χρόνου, και γι' αυτό χρησιμοποιούνται τόσο σε μελέτες εγκάρσιας διατομής (cross-sectional studies), όσο και σε μελέτες σε βάθος

χρόνου (sequential studies). Μέθοδοι της κατηγορίας (δ) χρησιμεύουν μόνο για την εκτίμηση του ρυθμού προόδου της αρθρικής βλάβης με τον χρόνο. Οι πλέον χρησιμοποιούμενες μέθοδοι βαθμολόγησης ακτινογραφιών είναι οι Larsen και Sharp και οι τροποποιήσεις τους και αυτές θα περιγράψουμε. Η EULAR προτείνει την μέθοδο Larsen για μελέτες με περισσότερους από έναν βαθμολογητές ακτινογραφιών (EULAR handbook of clinical assessments in rheumatoid arthritis, 2004).

### Μέθοδος Larsen (ακτινολογικός δείκτης Larsen)

Το 1974 πρωτοπεριγράφηκε από τον Larsen και το 1977 βελτιώθηκε από τους Larsen, Dale και Eek μια μέθοδος βαθμολόγησης ακτινογραφιών βασισμένη στη σύγκριση ακτινογραφιών άκρων χειρών και ποδιών του αρρώστου με ακτινογραφίες αναφοράς (Larsen et al 1977). Η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε από πολλούς ερευνητές για την μελέτη της πορείας και την αξιολόγηση της πρόγνωσης της ΡΑ. Κάθε άρθρωση βαθμολογείται ξεχωριστά, από το 0 (φυσιολογικό) έως το 5, μετρώντας έτσι την σταδιακή καταστροφή της άρθρωσης. Οι βαθμοί είναι:

0 = φυσιολογικά ευρήματα

1 = παρουσία ενός ή περισσότερων από τα παρακάτω: περιαρθρικό οίδημα μαλακών μορίων, παρα-αρθρική οστεοπόρωση και ελαφρά στένωση του μεσάρθριου διαστήματος

2 = παρουσία μικρών διαβρώσεων με ή χωρίς στένωση του μεσάρθριου διαστήματος

3 = παρουσία οστικών διαβρώσεων και στένωση του διαστήματος

4 = μερική μόνο διατήρηση της ακεραιότητας των αρθρικών επιφανειών

5 = εξάλειψη της ακεραιότητας των αρθρικών επιφανειών, παρουσία παραμορφώσεων.

Στα χέρια βαθμολογούνται: 10 MCPs, 8 PIPs, 2 IPs των αντιχείρων και οι δύο καρποί. Ολόκληρος ο καρπός θεωρείται σαν μια άρθρωση και η βαθμολογία του πολλαπλασιάζεται επί πέντε. Στα πόδια βαθμολογούνται οι 10 MTPs. Το μέγιστο σκορ είναι 200 (χέρια 150, πόδια 50).

Η μέθοδος δέχτηκε πολλές τροποποιήσεις (Larsen et al 1984, Larsen and Thoen 1987, Larsen 1995). Οι λόγοι της τελευταίας τροποποίησης ήταν αρκετοί. Πρώτον, λόγω της μεγάλης ποικιλίας στην ποιότητα των ακτινογραφιών σε πολυκεντρικές μελέτες, η βαθμολόγηση της παρα-αρθρικής οστεοπόρωσης και του οιδήματος των μαλακών μορίων ήταν δύσκολη και η απεικόνιση των διαβρώσεων ποικίλη. Δεύτερο, το οίδημα των μαλακών μορίων μειώνεται με τον χρόνο. Τρίτο, οι διαβρώσεις φαίνεται να είναι η σημαντικότερη μεταβλητή σε βάθος χρόνου.

Έτσι έγιναν μεταβολές τόσο στον αριθμό των αρθρώσεων που βαθμολογούνται όσο και στον τρόπο βαθμολόγησης. Από τις βαθμολογούμενες αρθρώσεις εξαιρέθηκαν οι αντίχειρες και οι 1<sup>ες</sup> MTPs και οι καρποί διαιρέθηκαν σε τέσσερις περιοχές. Από το σύστημα βαθμολόγησης εξαιρέθηκαν το οίδημα των μαλακών μορίων και η παρα-αρθρική οστεοπόρωση και οι διαβρώσεις διαχωρίστηκαν σε >1 mm και <1 mm διάμετρο.

Η μέθοδος βαθμολόγησης τροποποιήθηκε ως εξής:

Βαθμολογούμενες αρθρώσεις:

Χέρια: MCPs 2η-5η άμφω, PIPs 2η-5η άμφω, δύο καρποί διαιρούμενοι σε 4 περιοχές ο καθένας.

Πόδια: MTPs 2η-5η άμφω (Εικόνα 1.5.1.1).

Βαθμολόγηση:

Βαθμοί 0 – 5 ως εξής:

0 = ακέραιες αρθρικές επιφάνειες και φυσιολογικό αρθρικό διάστημα

1 = διάβρωση < 1 mm σε διάμετρο ή στένωση μεσάρθριου διαστήματος

2 = μια ή περισσότερες μικρές διαβρώσεις (> 1 mm διάμετρος)

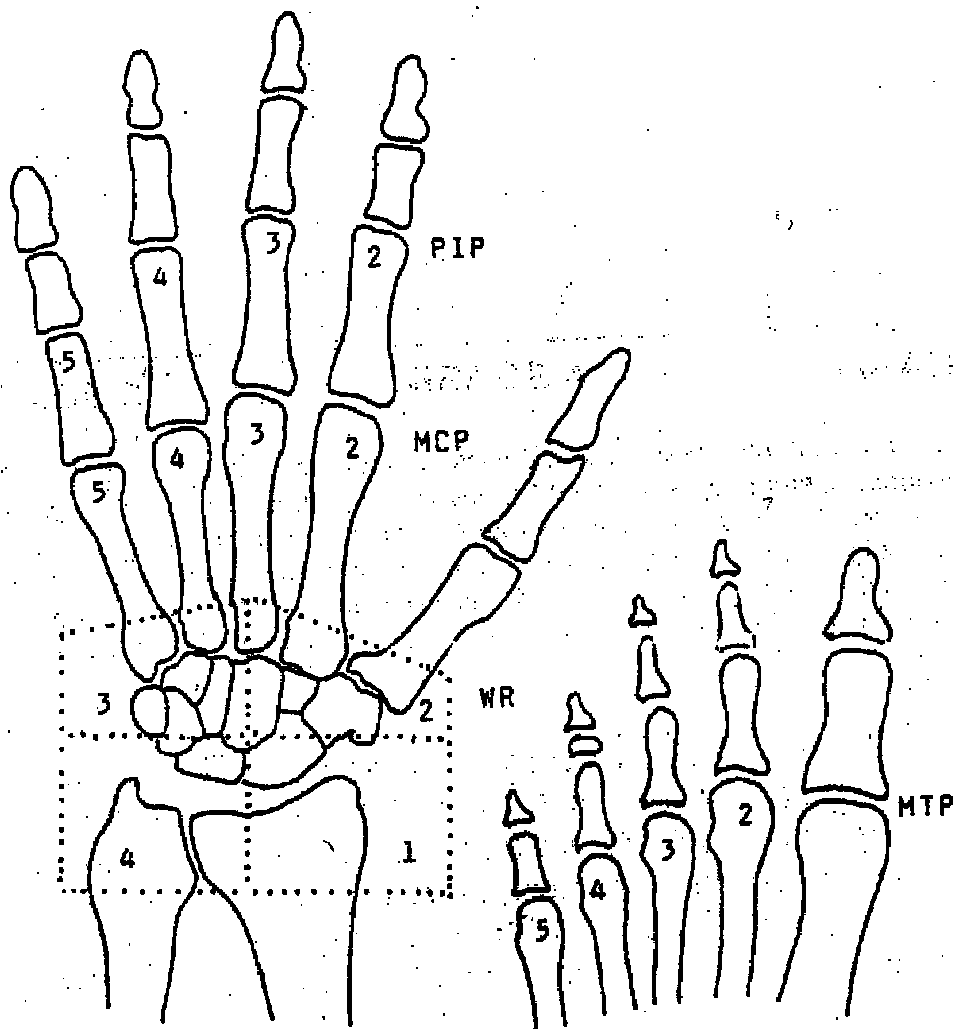
3 = σημαντικές διαβρώσεις

4 = έντονες διαβρώσεις, συνήθως εξαφάνιση του μεσάρθριου διαστήματος, τα αρχικά οστικά όρια των αρθρικών επιφανειών διατηρούνται μερικώς

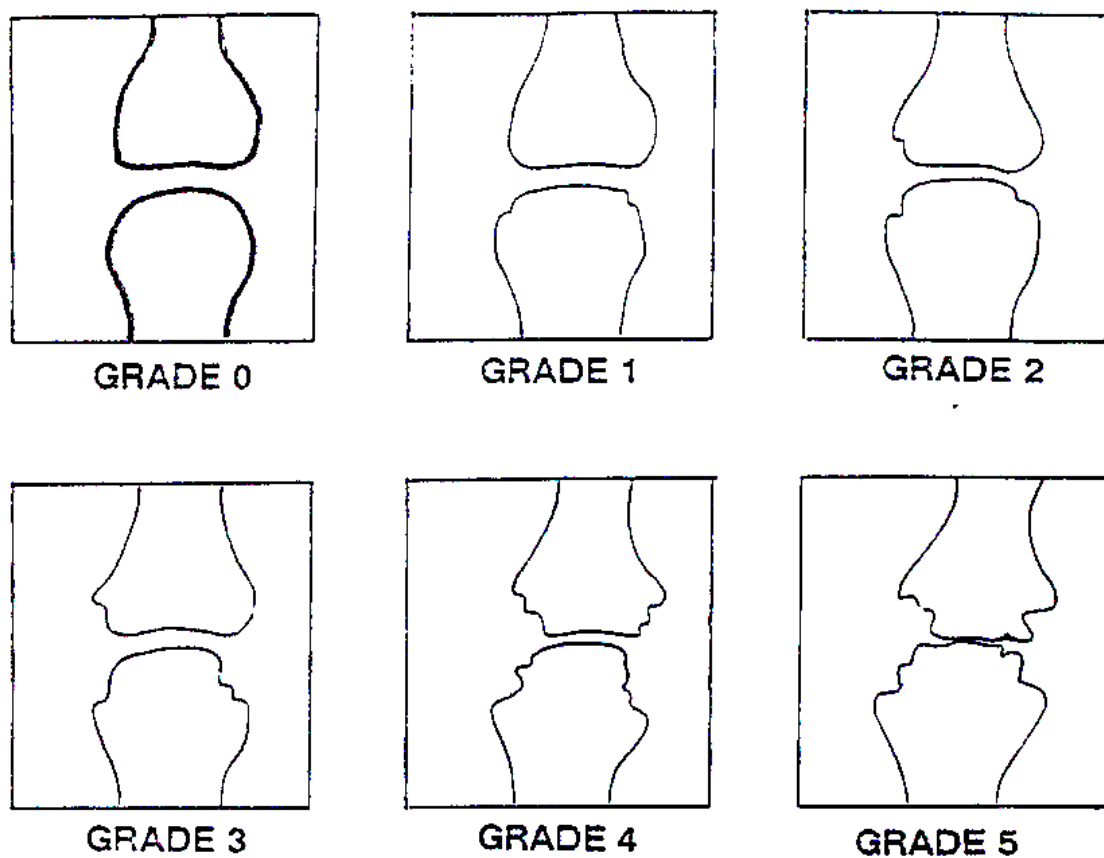
5 = καταστροφικές (mutilating) αλλοιώσεις, τα αρχικά οστικά όρια των αρθρικών επιφανειών έχουν καταστραφεί (Εικόνα 1.5.1.2).

Μέγιστη βαθμολογία: 160 (120 χέρια + 40 πόδια) (Larsen 1995).





**Εικόνα 1.5.1.1: Περιοχές βαθμολόγησης στην τροποποιημένη μέθοδο Larsen (Larsen 1995)**



**Εικόνα 1.5.1.2: Βασικές οδηγίες (guidelines) για την βαθμολόγηση στο τροποποιημένο σύστημα Larsen (Larsen 1995)**

## Μέθοδος Sharp

Το 1971 ο Sharp και συν ανέπτυξαν μια μέθοδο ξεχωριστής βαθμολόγησης διαβρώσεων και στένωσης μεσάρθριου διαστήματος σε ακτινογραφίες χεριών και καρπών. Είκοσι εννέα περιοχές σε κάθε χέρι και καρπό βαθμολογούνταν για διαβρώσεις και 27 για στένωση μεσάρθριου. Οι διαβρώσεις βαθμολογούνταν από 0 έως 5, δίνοντας συνολικό σκορ 0 – 290, και η στένωση από 0 έως 4, δίνοντας σκορ 0 έως 216 (Sharp et al 1971).

Το 1985 τροποποιήθηκε από τον Sharp και συν, και η τροποποίηση αυτή θεωρείται η βασική μέθοδος Sharp. Βαθμολογεί 17 αρθρώσεις σε κάθε χέρι και καρπό για διαβρώσεις και 18 για στένωση του μεσάρθριου. Ξανά, οι διαβρώσεις βαθμολογούνται από 0 – 5 (μέγιστο 170) και η στένωση από 0 – 4 (μέγιστο 144) (Sharp et al 1985). Στη συνέχεια ακολούθησαν και άλλες τροποποιήσεις (Fries et al 1986, Kaye et al 1987).

Ευρέως χρησιμοποιούμενη σήμερα στις διάφορες μελέτες είναι η τροποποίηση της μεθόδου Sharp κατά van der Heijde (μέθοδος Sharp/van der Heijde). Οι διαβρώσεις βαθμολογούνται σε 16 αρθρώσεις για κάθε χέρι και καρπό και σε έξι για κάθε πόδι, ενώ η στένωση σε 15 και έξι αντίστοιχα. Η στένωση του μεσάρθριου βαθμολογείται από 0 – 4 (τελικό σκορ 0 – 120 για τα χέρια και 0 – 48 για τα πόδια). Οι διαβρώσεις βαθμολογούνται από 0 – 5 στα χέρια (τελικό σκορ 0 – 160) και 0 – 10 στα πόδια (0 – 5 από την κάθε πλευρά της άρθρωσης, τελικό σκορ 0 – 120). Περιοχές βαθμολόγησης:

Για στένωση:

Σε κάθε χέρι και καρπό: πέντε MCPs, τέσσερις PIPs, οι βάσεις των 3<sup>ου</sup> έως 5<sup>ου</sup> μετακαρπίων, πολύγωνο (μείζων + έλασσον μια μονάδα) – σκαφοειδές – κεφαλωτό (δυο αρθρώσεις), κερκιδοκαρπική (=15 αρθρώσεις).

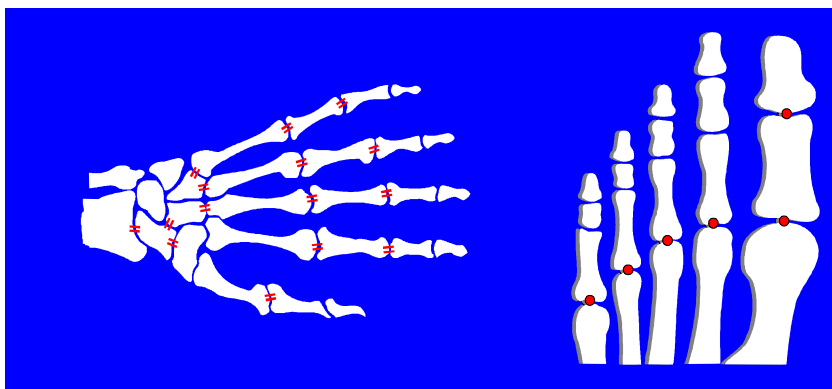
Σε κάθε πόδι: πέντε MTPs και η IP του πρώτου δακτύλου (Εικόνα 1.5.1.3)

Για διαβρώσεις:

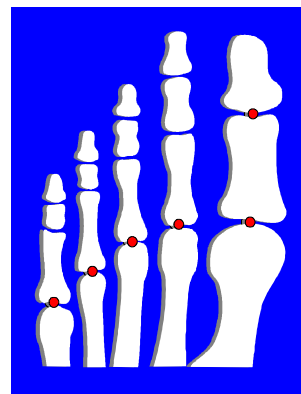
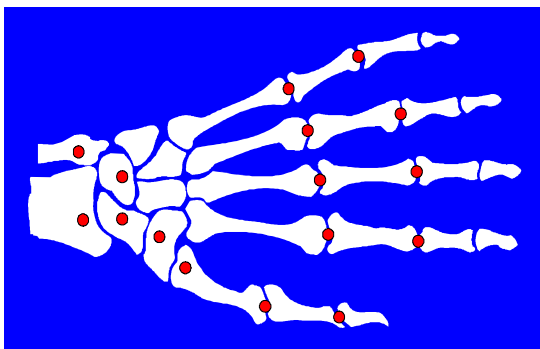
Σε κάθε χέρι και καρπό: πέντε MCPs, τέσσερις PIPs, IP του αντίχειρα, η βάση του 1<sup>ου</sup> μετακαρπίου, κερκίδα, ωλένη, μείζων και έλασσον πολύγωνο σαν μια μονάδα, σκαφοειδές, μηννοειδές (=16 αρθρώσεις).

Σε κάθε πόδι: πέντε MTPs και η IP του πρώτου δακτύλου (Εικόνα 1.5.1.4).

Ο τρόπος βαθμολόγησης περιγράφεται στις αντίστοιχες εικόνες (van der Heijde 1989, 1992, 1999).



**Εικόνα 1.5.1.3:** Στένωση μεσάρθριου διαστήματος: Απεικονίζονται οι περιοχές βαθμολόγησης σε χέρια και πόδια. Βαθμοί: 0 = φυσιολογικό, 1 = εστιακή ή αμφίβολη, 2 = γενικευμένη, < 50% του αρχικού διαστήματος, 3 = γενικευμένη, > 50% του αρχικού διαστήματος ή υπεξάρθρημα, 4 = οστική αγκύλωση ή πλήρες εξάρθρημα



**Εικόνα 1.5.1.4:** Οστικές διαβρώσεις: Απεικονίζονται οι περιοχές βαθμολόγησης σε χέρια και πόδια. Βαθμοί: 0 = χωρίς διάβρωση, 1 = διακριτή διακοπή της συνέχειας της αρθρικής επιφάνειας, 2 – 4 = περισσότερα ή μεγαλύτερα ελλείμματα της αρθρικής επιφάνειας (ανάλογα με την διαβρωμένη αρθρική επιφάνεια), 5 = πλήρης καταστροφή

## 1.6. Αυτοαντισώματα στη ρευματοειδή αρθρίτιδα

Ο ρευματοειδής παράγοντας είναι ως γνωστόν αντίσωμα έναντι της Fc περιοχής της IgG. Στη ΡΑ ανιχνεύεται ρευματοειδής παράγοντας IgM, αλλά και IgA και IgG τάξης. Οι ρευματοειδείς παράγοντες όπως και άλλα αυτοαντισώματα ανιχνεύονται πριν τις εκδηλώσεις της νόσου. Η συχνότητα των διαφόρων τάξεων ρευματοειδούς παράγοντα 1,5 έτος πριν την εμφάνιση της νόσου είναι 30% για IgM, 27% IgG, 39% IgA (Rantapaa-Dahlqvist et al 2003).

Τα αντι-RA33 αυτοαντισώματα αναγνωρίζουν την ετερογενή πυρηνική ριβονουκλεοπρωτεΐνη (hnRNP) A2 (Skriner et al 1997). Τα RA33 απαντούν περίπου στο 30% των ασθενών με ΡΑ.

Αντι-Sa αντισώματα αναγνωρίζουν μια πρωτεΐνη 50 kDa άγνωστης λειτουργίας που ανιχνεύεται στον αρθρικό υμένα αλλά και σε άλλους ιστούς. Τα αντισώματα αυτά απαντούν έως 40% των ασθενών με PA (Steiner and Smolen 2002)

Αντι-BiP αντισώματα αναγνωρίζουν μια συνοδό (chaperone) ή πρωτεΐνη στρες που συνδέεται με την βαριά αλυσίδα της ανοσοσφαιρίνης (stress protein immunoglobulin heavy-chain binding protein), και είναι μέλος της πρωτεΐνης θερμικού στρες (heat shock protein) 70 kDa (Blass et al 2001). Τα αντισώματα αυτά ανιχνεύονται στο 60% των ασθενών με PA (Steiner and Smolen 2002).

Τα τελευταία έτη αναγνωρίστηκαν αυτοαντισώματα έναντι μορίων που περιέχουν κιτρουλλίνη. Η κιτρουλλίνη σχηματίζεται από μετα-μεταφραστική ενζυματική μετατροπή των κατάλοιπων αργινίνης. Η αντίδραση καταλύεται με το ένζυμο απο-ιμινάση πεπτιδυλαργινίνης. Κιτρουλλινωμένα μόρια, ο στόχος αυτών των αντισωμάτων, περιλαμβάνουν φιλαγγρίνη, κερατίνη, ινική, και βιμεντίνη (van Boekel and van Venrooij 2003). Τα αντισώματα αυτά ανιχνεύονται με ELISA, όπου ένα συνθετικό κυκλικό κιτρουλλινωμένο πεπτίδιο χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα. Μετά το αντι-CCP τεστ πρώτης γενιάς (CCP1)(Schellekens et al 2000, Visser et al 2002), έχει μπει στο εμπόριο το αντι-CPP τεστ δεύτερης γενιάς (αντι-CCP2). Τα αντισώματα αυτά αναπτύσσονται με το ιστορικό τους παρακάτω.

## 1.7 Αυτοαντισώματα έναντι κιτρουλλινιωμένων πρωτεϊνών

### Πρώτη εμφάνιση (το πρώτο αντίσωμα)

Το 1964 σε έλεγχο ύπαρξης ιδιαίτερου τύπου αντιπυρηνικών αντισωμάτων για τη PA, περιγράφονται για πρώτη φορά αυτοαντισώματα του ορού και του αρθρικού υγρού ασθενών με PA έναντι πρωτεΐνης που βρίσκεται στα διαμέτρου 0.5-7  $\mu\text{m}$  περιπυρηνικά σφαιρικά κοκκία κερατοϋαλίνης του κυτταροπλάσματος των επιφανειακών κυττάρων του βλεννογόνου παρειάς ανθρώπου. Η μέθοδος είναι ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (indirect immunofluorescence, IIF) και τα αντισώματα είναι IgG τάξης κυρίως. Η πρωτεΐνη αυτή των κοκκίων ονομάστηκε περιπυρηνικός παράγοντας (perinuclear factor) και το νέο αυτό αντίσωμα “the antiperinuclear Factor” (APF). Το αντιγόνο δεν ταυτοποιήθηκε τότε. (Nienhuis and Mandema 1964). Η ευαισθησία του αντισώματος αυτού στη PA, γενικά, βρέθηκε να είναι 49-91% και η ειδικότητα του 73-99% (Schellekens et al 1998). Στη συνέχειαδείχθηκε ότι ο APF σχετίζεται με την βαρύτητα της νόσου και ότι αυτό αναδεικνύεται εντονότερα σε ασθενείς χωρίς RF (Westgeest et al 1987). Η παρουσία του αντισώματος αυτού ήταν ανεξάρτητη από την ηλικία, το φύλο του ασθενούς και την διάρκεια της νόσου (Nienhuis and Mandema 1964, Boerbooms et al 1990). Αυξημένη συχνότητα του APF περιγράφηκε και σε συγκεκριμένα άλλα σύνδρομα (σύνδρομο Sjogren, καρκίνος πνεύμονα, αυτοάνοση νόσος θυρεοειδή, λοιμώδη μονοπυρήνωση) (Youinou et al, 1984a, 1984b, Scherbaum et al 1984, Kataaha et al 1985).

Η δυσκολία ανεύρεσης δοτών και η χρήση του IIF ήταν οι λόγοι που δεν χρησιμοποιήθηκε στην κλινική πράξη το αντίσωμα αυτό. Οι περισσότεροι

ερευνητές ανέφεραν ότι μόνο ένα μικρό ποσοστό δοτών βλεννογόνου παρειάς είχαν αντιγόνο σε ικανοποιητική συγκέντρωση (Janssens et al 1988).

### Το δεύτερο αντίσωμα

Το 1979 πρωτοπεριγράφηκαν αντισώματα του ορού ασθενών με PA που αντιδρούσαν με στοιχεία της κερατινοποιημένης στοιβάδας του επιθηλίου του οισοφάγου ποντικού (75 από 129 PA ορούς, κανένας από 105 ορούς υγιών). Η μέθοδος ήταν ο έμμεσος ανοσοφθορισμός και το αντίσωμα ήταν IgG τάξης. Παρά την έλλειψη στοιχείων για τον στόχο τους, τα αντισώματα αυτά ονομάστηκαν «antikeratin antibodies» (AKA) (Young et al 1979), πιθανώς επειδή οι κυτοκερατίνες αποτελούν το κυριότερο πρωτεϊνικό στοιχείο του ιστού αυτού και επειδή τα αντισώματα προκαλούσαν μια γραμμοειδή επισήμανση περιοριζόμενη μόνο στην επιφανειακή στοιβάδα του ιστού αυτού.

Αργότερα βρέθηκε ότι ανιχνεύονται και στο αρθρικό υγρό ασθενών με PA και μάλιστα σε υψηλότερους τίτλους από ότι στους αντίστοιχους ορούς, στοιχείο που υπαινίσσεται τοπική παραγωγή των AKA στην άρθρωση (Youinou et al 1985, Kirstein et al 1989). Τα αντισώματα αυτά, γενικά, εμφάνιζαν ευαισθησία 36-59% και ειδικότητα 88-99% στην PA (Schellekens et al 1998). Ομοίως με το προηγούμενο αντίσωμα, η παρουσία και των αντισωμάτων αυτών στον ορό ασθενών με PA βρέθηκε να είναι ανεξάρτητη από την ηλικία, το φύλο του ασθενούς και την διάρκεια της νόσου, και ότι σχετίζεται με την βαρύτητα και την ενεργότητα της πάθησης (Vincent et al 1989). Επιπλέον τα αντισώματα αυτά ήταν παρόντα σε πρώιμη PA και επίσης ανιχνεύθηκαν σε ορούς ασθενών πριν από την εκδήλωση των συμπτωμάτων της νόσου (Paimela et al 1992, Kurki et al 1992).



Το άβολο αντιγονικό υπόστρωμα και ο IIF ήταν οι λόγοι που δεν οδήγησαν τα ΑΚΑ στην καθημερινή πράξη.

## Η αναγνώριση του αντιγόνου

Τα ΑΚΑ αντιδρούν επίσης και με στοιχεία της κερατινοποιημένης στοιβάδας της ανθρώπινης επιδερμίδας, στοιχείο που δείχνει ότι επίσης πρόκειται για αυτοαντισώματα (Vincent et al 1991).

Χωρίς στοιχεία για το αντιγόνο των ΑΚΑ, αρχικά πίστεψαν ότι επειδή οι κυτοκερατίνες είναι οι κυριότερες πρωτεΐνες των ιστών αυτών, αυτές θεωρήθηκαν και το πιθανό αντιγόνο. Αλλά, προαπορρόφηση ΡΑ ορών σε κεκαθαρμένες ανθρώπινες κυτοκερατίνες δεν αφαιρούσε την αντιδραστικότητα των ορών έναντι του οισοφάγου ποντικού (Quismorio et al 1983) και με ELISA δείχθηκε ότι τα ΑΚΑ δεν αναγνώριζαν κυτοκερατίνες ούτε της ανθρώπινης επιδερμίδας, ούτε του οισοφάγου ποντικού (Vincent et al 1991). Παρόμοια, ναι μεν σε ορούς ΡΑ ασθενών βρέθηκαν αντισώματα έναντι ενδιάμεσων ινιδίων επιθηλιακών κυττάρων από κυτταροκαλλιέργειες, με στόχους τις πρωτεΐνες βιμεντίνη και κυτοκερατίνη, αλλά διέφεραν γιατί ήταν IgM τάξης κυρίως, και δεν είχαν υψηλή ειδικότητα για την ΡΑ, αφού απαντούσαν συχνά και σε άλλες νόσους και είχαν επίσης βρεθεί στο 14-63% υγιών ανθρώπων (Kurki et al 1983, Kataaha et al 1985).

Το 1991 βρέθηκε ότι το αντιγόνο του APF, ο «perinuclear factor», συγκατοικεί με μόρια που αντιδρούν με το ΑΚΗ1, ένα (προ)φιλαγγρίνη-ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα (Hoet et al 1991).

Το 1993 χαρακτηρίζονται τα αντιγόνα των ΑΚΑ του οισοφάγου ποντικού. Πρόκειται για τρεις πρωτεΐνες διαλυτές, ευαίσθητες στην πρωτεΐνάση Κ, με

μοριακό βάρος 210, 90-120 και 60-130 kDa. Ανοσοαπορρόφηση των PA ορών σε κυτοκερατίνες που εξήχθησαν από οισοφάγο ποντικού δεν άλλαξε την ανοσοδραστικότητα των ορών έναντι των πρωτεϊνών αυτών. Εκτεταμένη απογλυκοζυλίωση και αποφωσφοριλίωση των πρωτεϊνών δεν άλλαξε την ηλεκτροφορητική κινητικότητα τους, ούτε την ανοσοδραστικότητα τους αντίστοιχα, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι οι πρωτεΐνες αυτές μπορεί να σχετίζονται με την (προ)φιλαγγρίνη (Girbal et al 1993).

Το 1993 επίσης αναγνωρίζεται το αντιγόνο των ΑΚΑ και στην ανθρώπινη επιδερμίδα. Πρόκειται για μια 40 kDa πρωτεΐνη που ταυτοποιήθηκε σαν μια ουδέτερη/όξινη ισομορφή βασικής φιλαγγρίνης με μελέτες χαρτογράφησης πεπτιδίου και με τα ακόλουθα ευρήματα: (α) μονοκλωνικά αντισώματα ειδικά για φιλαγγρίνη αντιδρούν με την 40 kDa πρωτεΐνη, (β) τα αυτοαντισώματα κατά της πρωτεΐνης 40 kDa του ορού των ασθενών αντιδρούν με κεκαθαρμένη φιλαγγρίνη, (γ) η αντιδραστικότητα των PA ορών στην 40 kDa πρωτεΐνη χάνεται με την προσρόφηση των ορών με φιλαγγρίνη, και (δ) η φιλαγγρίνη και η 40 kDa πρωτεΐνη έχουν παρόμοια σύνθεση αμινοξέων. Επιπλέον, τα αυτοαντισώματα κατά της 40 kDa πρωτεΐνης και τα ΑΚΑ είναι κατά μεγάλο μέρος ταυτόσημα, όπως φάνηκε σε αντιδράσεις ανοσοαπορρόφησης (Simon et al 1993).

Το 1995 ταυτοποιήθηκε και το αντιγόνο του APF στο βλεννογόνο ανθρώπινης παρειάς. Πρόκειται για μια διάχυτη πρωτεϊνική μπάντα 200-400 kDa, η οποία φάνηκε να σχετίζεται στενά με την (προ)φιλαγγρίνη ανθρώπινης επιδερμίδας, επειδή: (α) αναγνωριζόταν από τέσσερα αντισώματα έναντι φιλαγγρίνης, ειδικά για διαφορετικούς επίτοπους, (β) ανοσοαπορρόφηση PA ορών σε κεκαθαρμένη φιλαγγρίνη αφαιρεί την αντιδραστικότητα τους στην

200-400 kDa πρωτεΐνη και στα κοκκία των επιθηλιακών κυττάρων βλεννογόνου παρειάς, (γ) ΑΚΑ από ορούς ΡΑ ανοσοανιχνεύουν την 200-400 kDa πρωτεΐνη και χρωματίζουν τα κοκκία των επιθηλιακών αυτών κυττάρων.

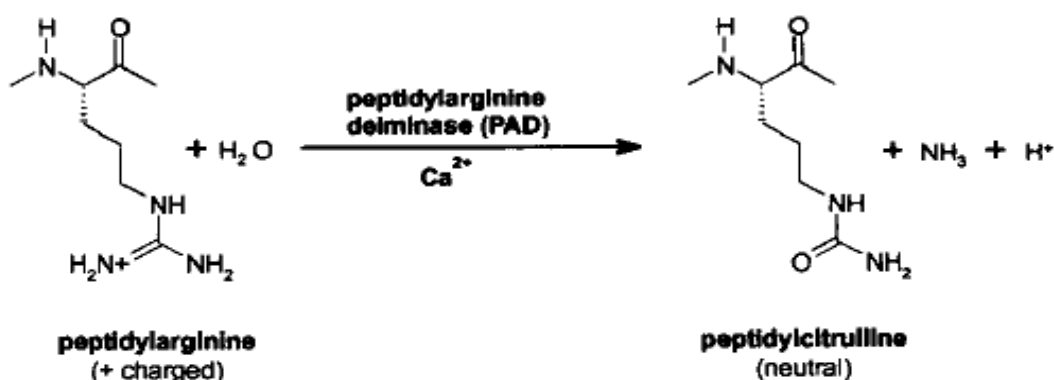
Τα στοιχεία αυτά έδειξαν ότι τα APF και ΑΚΑ είναι κατά μεγάλο μέρος τα ίδια αυτοαντισώματα, τα οποία αναγνωρίζουν την φιλαγγρίνη της ανθρώπινης επιδερμίδας, και (προ)φιλαγγρίνη σχετιζόμενες πρωτεΐνες των επιθηλιακών κυττάρων του βλεννογόνου παρειάς. Έτσι, προτάθηκε να μετονομαστούν τα APF και ΑΚΑ σε «antifilaggrin autoantibodies» (ΑFA) (Sebbag et al 1995).

## Η φιλαγγρίνη

Η φιλαγγρίνη (filament – aggregating protein) σχετίζεται με την συσσωμάτωση των ινιδίων κυτοκερατίνης στα τελευταία στάδια της τελικής διαφοροποίησης της επιδερμίδας στα θηλαστικά, έχει αντίδραση βασική και παράγεται στα τελευταία στάδια της τελικής διαφοροποίησης επιθηλιακών κυττάρων. Συντίθεται σαν βαρέως φωσφορυλιωμένη όξινη αρχική πρωτεΐνη ((προ)φιλαγγρίνη), η οποία αποθηκεύεται σε κοκκία, και αποτελείται από 10 – 12 επαναλήψεις, ομόλογης αλλά όχι πανομοιότυπης, φιλαγγρίνης και συνδετικά πεπτίδια. Κατά τα τελικά στάδια της φυσιολογικής διαφοροποίησης, αυτός ο προγεννήτορας αποφωσφορυλιώνεται και με πρωτεολυτική διάσπαση ελευθερώνεται φιλαγγρίνη. Στη συνέχεια της φάσης αυτής το 20% της αργινίνης μετατρέπεται σε κιτρουλλίνη με τη δράση του ενζύμου peptidylarginine deiminase (πεπτιδυλαργινίνη απιμινάση - PAD) (εικόνα 1.7.1).

Το αποτέλεσμα της μετατροπής αυτής είναι μια πολύ μικρή αλλαγή στη μάζα του μορίου (κάτω του 1 Dalton) και απώλεια θετικού φορτίου.

Γενικά, η φιλαγγρίνη εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια φορτίου λόγω της μερικής κιτρουλλινίωσης της και της μεγάλης ετερογένειας στην αλληλουχία αμινοξέων (30 -40%) (van Venrooij and Pruijij 2000).



**Εικόνα 1.7.1: Ενζυματική μετατροπή της πεπτιδυλ-αργινίνης σε πεπτιδυλ-κιτρουλλίνη από το ένζυμο PAD με την παρουσία Ca<sup>++</sup>**

## Η κιτρουλλίνη σαν αντιγόνο

Αν και η σημασία των προαναφερθέντων αυτοαντισωμάτων στην διάγνωση της PA είχε επιβεβαιωθεί, ο ρόλος και κυρίως η προέλευση αυτών των antifilaggrin autoantibodies παρέμεναν σκοτεινά. Τα αντισώματα αυτά αντιδρούν με όξινες/ουδέτερες ισομορφές φιλαγγρίνης. Η κιτρουλλινίωση σχετίζεται με το φορτίο του μορίου. Διερευνήθηκε λοιπόν η πιθανότητα, η κιτρουλλίνη να βρίσκεται στον επίτοπο που αναγνωρίζουν τα αντισώματα αυτά. Από τη μελέτη της δομής του μορίου της φιλαγγρίνης, βρέθηκε ότι η περιοχή με τον υψηλότερο δείκτη αντιγονικότητας ήταν το καρβοξυτελικό άκρο (-COOH) του μορίου της. Από το -COOH άκρο της φιλαγγρίνης (περιοχή 306-324) συντέθηκαν πεπτίδια υψηλής καθαρότητας στα οποία η αργινίνη αντικαταστάθηκε με κιτρουλλίνη. Οι αντικαταστάσεις έγιναν σε ένα ή περισσότερα μόρια αργινίνης. Το μήκος των πεπτιδίων ήταν ποικίλο. Το πεπτίδιο που ονομάστηκε cfc1 ήταν το βασικό πεπτίδιο της μελέτης (εικόνα 1.7.2).

Βρέθηκε λοιπόν ότι πεπτίδιο με κιτρουλλίνη (cfc1) αντιδρά με APF/AKA αυτοαντισώματα. Επίσης, αντισώματα από στήλη σύνδεσης με πεπτίδιο αντιδρούν με φιλαγγρίνη, και δίνουν τις χαρακτηριστικές χρώσεις σε τομές οισοφάγου ποντικού (AKA-IIF test) και σε κοκκία κερατοϋαλίνης επιθηλιακών κυττάρων βλεννογόνου στόματος (APF-IIF test) και υπήρχε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ αντιδραστικότητας κατά του πεπτιδίου με κιτρουλλίνη (ELISA) και APF-IIF τεστ. Τέλος, οροί ασθενών με PA αντιδρούσαν με πεπτίδιο κιτρουλλίνης σε ELISA (Shcallekens et al 1998).

Peptide name	Sequence*	Corresponding filaggrin region and substitutions
cf0	SHQESTRGRSRGRSGRSGS	306-324
cfA	SHQESTAGRSRGRSGRSGS	306-324 Arg <sub>312</sub> →Ala
cfE	SHQESTEGRSRGRSGRSGS	306-324 Arg <sub>312</sub> →Glu
cfQ	SHQESTQGRSRGRSGRSGS	306-324 Arg <sub>312</sub> →Gln
cfZ	SHQESTZGRSRGRSGRSGS	306-324 Arg <sub>312</sub> →Orn
cfcl	SHQESTXGRSRGRSGRSGS	306-324 Arg <sub>312</sub> →Cit
cfcl2	SHQESTRGXS <sub>14</sub> GRSGRSGS	306-324 Arg <sub>314</sub> →Cit
cfcl3	SHQESTRGRSXGRSGRSGS	306-324 Arg <sub>316</sub> →Cit
cfcl4	SHQESTRGRSRGXSGRSGS	306-324 Arg <sub>318</sub> →Cit
cfcl5	SHQESTRGRSRGRSGXS <sub>5</sub> GS	306-324 Arg <sub>321</sub> →Cit
cfcl6	SHQESTXGXSRGRSGRSGS	306-324 Arg <sub>312</sub> + <sub>314</sub> →Cit
cfcl7	SHQESTXGRSXGRSGRSGS	306-324 Arg <sub>312</sub> + <sub>316</sub> →Cit
cfcl8	SHQESTXGRSRGXSGRSGS	306-324 Arg <sub>312</sub> + <sub>318</sub> →Cit
cfcl9	SHQESTXGRSRGRSGXS <sub>5</sub> GS	306-324 Arg <sub>312</sub> + <sub>321</sub> →Cit
cfcl-319	SHQESTXGRSRGRS	306-319 Arg <sub>312</sub> →Cit
cfcl-318	SHQESTXGRSRGR	306-318 Arg <sub>312</sub> →Cit
cfcl-317	SHQESTXGRSRG	306-317 Arg <sub>312</sub> →Cit
cfcl-316	SHQESTXGRSR	306-316 Arg <sub>312</sub> →Cit
cfcl-315	SHQESTXGRS	306-315 Arg <sub>312</sub> →Cit
cfcl-314	SHQESTXGR	306-314 Arg <sub>312</sub> →Cit
f12-31	ESSHGWTGPSTRGRQGS <sub>12</sub> RHE	12-31
cf18-31	TGPSTRGRQGSX <sub>18</sub> HE	18-31 Arg <sub>29</sub> →Cit
cf18-34-1	TGPSTRGRQGSX <sub>18</sub> HEQAQ	18-34 Arg <sub>29</sub> →Cit
cf18-34-2	TGPSTRGXQGS <sub>25</sub> RHEQAQ	18-34 Arg <sub>25</sub> →Cit
cf18-34-3	TGPSTXGRQGS <sub>23</sub> RHEQAQ	18-34 Arg <sub>23</sub> →Cit
cf48-65-1	TIHAHPGSX <sub>56</sub> RGRHGYHH	48-65 Arg <sub>56</sub> →Cit
cf48-65-2	TIHAHPGSRX <sub>57</sub> GGRHGYHH	48-65 Arg <sub>57</sub> →Cit
cf48-65-3	TIHAHPGSRRGX <sub>60</sub> HGYHH	48-65 Arg <sub>60</sub> →Cit
cf48-65-4	TIHAHPGSXX <sub>56</sub> GGRHGYHH	48-65 Arg <sub>56</sub> + <sub>57</sub> →Cit
cf260-276-1	GQASSAXDRGHRGSRGS	260-276 Arg <sub>266</sub> →Cit
cf260-276-2	GQASSARDX <sub>268</sub> GHRGSRGS	260-276 Arg <sub>268</sub> →Cit

Εικόνα 1.7.2: Πεπτίδια από το μόριο της φιλαγγρίνης με αντικατάσταση αργινίνης από κιτρουλλίνη. X= κιτρουλλίνη, Z= ορνιθίνη. Ο κλασσικός κώδικας ενός γράμματος χρησιμοποιήθηκε για τα υπόλοιπα αμινοξέα

## Επιβεβαίωση του ρόλου της κιτρουλλίνης ως κύριο αντιγόνο

Σε μελέτη περαιτέρω χαρακτηρισμού πρωτεϊνών και επίτοπων που αναγνωρίζονται από AFA βρέθηκε ότι: (α) Μόνο PA οροί αναγνωρίζουν μια ουδέτερη/όξινη υποομάδα (προ)φιλαγγρίνης, (β) Αντίσωμα ειδικό για κιτρουλλίνη, οπότε και ικανό να αναγνωρίζει απιμινωμένες πρωτεΐνες, έδειξε ότι όλα τα μόρια στόχοι των AFA είναι απιμινωμένα, (γ) AFA επίτοποι δημιουργούνται *in vitro* με απιμίνωση ανθρώπινης ανασυνδιασμένης φιλαγγρίνης, (δ) Το  $-COOH$  άκρο της φιλαγγρίνης (περιοχή 306 – 324) φέρει τους ανοσοεπικρατούντες επίτοπους, (ε) Τα κεντρικά τριπεπτίδια  $-thr-cit-gly-$ ,  $-gly-cit-ser-$ ,  $-ser-cit-gly-$ ,  $-ser-cit-his-$ , είναι στοιχεία των κύριων επίτοπων, στοιχείο που υποδηλώνει ότι αφενός ναι μεν η κιτρουλλίνη έχει κυρίαρχο ρόλο στην γέννηση AFA επίτοπων, αλλά μόνο υπό συγκεκριμένη αλληλουχία αμινοξέων της φιλαγγρίνης, και αφετέρου λόγω ετερογένειας η φιλαγγρίνη περιέχει εκατοντάδες πιθανούς επίτοπους κιτρουλλίνης και πιθανά κάθε PA ορός περιέχει πληθυσμό AFA που λίγο ή πολύ αντιδρά με υποκατηγορίες σχετιζόμενων επίτοπων (Girbal-Neuhauser et al 1999).

## Το πρώτο κυκλικό πεπτίδιο

Παρόλα αυτά, τα πεπτίδια μονής αντικατάστασης με κιτρουλλίνη έδειχναν διαφορές στην αντιδραστικότητα των PA ορών. Δόθηκε η εξήγηση ότι πιθανά σε κάθε ορό υπάρχει ομάδα αυτοαντισωμάτων που αναγνωρίζει συναφείς επίτοπους με κιτρουλλίνη (Schellekens et al 1998).

Κυρίως όμως, κανένα από τα αρχικά αυτά γραμμικά πεπτίδια δεν έδειξε ικανοποιητική ευαισθησία στην ELISA για την ανάπτυξη ορολογικής μεθόδου

ρουτίνας και η χρήση περισσότερων του ενός πεπτιδίου στην ίδια μέθοδο είναι τεχνικά δυσχερής.

Για να αυξηθεί λοιπόν η χαμηλή ευαισθησία των γραμμικών πεπτιδίων, κατασκευάστηκε κυκλικό κιτρουλλινιωμένο πεπτίδιο (cyclic citrullinated peptide [CCP]) με αντικατάσταση της σερίνης από κυστεΐνη στο αρχικό γραμμικό πεπτίδιο της κιτρουλλίνης (cfc1) (εικόνα 1.7.3), με σκοπό το τμήμα της κιτρουλλίνης να είναι πιο εκτεθειμένο στη δέσμευση αντισωμάτων.

Το πρώτο αυτό κυκλικό πεπτίδιο έδειξε ευαισθησία 68%, και ειδικότητα 96% για την PA, στην αρχική αυτή μελέτη.

Μελέτες σε άλλα ευρωπαϊκά εργαστήρια, με το αρχικό αυτό κυκλικό πεπτίδιο (cfc1-cyc), έδειξαν ευαισθησία 45-80% ανάλογα με την ομάδα των ασθενών με PA του κάθε εργαστηρίου, αλλά ειδικότητα 96-100% (Schellekens et al 2000). Το αρχικό αυτό κυκλικό κιτρουλλινιωμένο πεπτίδιο χρησιμοποιήθηκε ως αντιγονικό υπόστρωμα στην δοκιμασία CCP1 (van Boekel et al 2002).

Peptide	Sequence*
cfc1	SHQESTXGRSRGRSGRSGS
cf0	SHQESTRGRSRGRSGRSGS
cfc1-cyc	HQCHQESTXGRSRGRSGRSGS
cf0-cyc	HQCHQESTRGRSRGRSGRSGS

**Εικόνα 1.7.3: X = κιτρουλλίνη, οι γραμμές παριστάνουν τους χημικούς δεσμούς ανάμεσα στα δυο μόρια κυστεΐνης**



## Τα CCP2

Η δοκιμασία CCP1 περιέχει επίτοπους από την ανθρώπινη φιλαγγρίνη. Για την περαιτέρω βελτίωση της ευαισθησίας και για την αναζήτηση και άλλων αντιγονικών πεπτιδίων, από βιβλιοθήκες κιτρουλλινιωμένων πεπτιδίων, επιλέχθηκαν επίτοποι που μιμούνται πραγματικούς επίτοπους των κιτρουλλινιωμένων αυτών μορίων. Οι νέοι αυτοί επίτοποι χρησιμοποιήθηκαν στην κατασκευή πεπτιδίων που αποτελούν το αντιγονικό υπόστρωμα της δεύτερης γενιάς της δοκιμασίας (CCP2) (van Gaalen et al 2005).

## Απιμινωμένες πρωτεΐνες στον αρθρικό υμένα

Η (προ)φιλαγγρίνη δεν εκφράζεται στον αρθρικό υμένα (Α.Υ), το όργανο στόχο στην ΡΑ. Από την άλλη πλευρά τα antifilaggrin antibodies εμφανίζουν μεγάλη ειδικότητα για την ΡΑ, σχετίζονται με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους της νόσου (APF και AKA) και ακόμη μπορεί και να προηγούνται της εκδήλωσης της (ΑΚΑ). Τα δεδομένα αυτά οδήγησαν στη διερεύνηση της ύπαρξης απιμινωμένων πρωτεϊνών στον αρθρικό υμένα, που να οδηγούν σε αυτή την ορολογική αντιφιλαγγρινική απάντηση.

Ιστολογικές και ανοσοϊστοχημικές μελέτες αρθρικών υμένων (Α.Υ) ασθενών με ΡΑ έδειξαν: (α) Σε Α.Υ ασθενών με ΡΑ βρέθηκαν πολλές απιμινωμένες πρωτεΐνες στο κυτταρόπλασμα fibroblast-like και macrophage-like μονοκύτταρων κυττάρων, καθώς και διάμεσες άμορφες εναποθέσεις, (β) από τους Α.Υ εξήχθησαν πολλές απιμινωμένες πρωτεΐνες. Από αυτές, μόνο δύο ήταν σημαντικά και ειδικά στοχευόμενες από ΑFA – θετικούς ορούς ασθενών με ΡΑ και κεκαθαρμένα ΑFA, (γ) οι δύο αυτές πρωτεΐνες αναγνωρίστηκαν ως οι α- και β- αλυσίδες του ινώδους. Άρα, στόχοι των ΑFA

υπάρχουν στον Α.Υ ασθενών με ΡΑ, και κύριοι στόχοι είναι οι α- και β-αλυσίδες του ινώδους. Το γεγονός αυτό (μόνο δύο πρωτεΐνες από τις πολλές απιμινωμένες) επιβεβαιώνει το εύρημα ότι συγκεκριμένα αμινοξέα περί την κιτρουλλίνη είναι αναγκαία στην γένεση των ΑFA επίτοπων, (δ) απιμινωμένες *in vitro* α- και β-αλυσίδες ανθρωπίνου ινωδογόνου πλάσματος αναγνωρίστηκαν από όλους του ΑFA-θετικούς και από πολλούς ΑFA-αρνητικούς ορούς ασθενών με ΡΑ, αλλά κανέναν ορό ελέγχου. (ε) όλοι οι γνωστοί στόχοι των ΑFA (σε ανθρώπινη επιδερμίδα και επιθήλιο οισοφάγου ποντικού) αναγνωρίστηκαν από κεκαθαρμένα αντισώματα απιμινωμένου ινωδογόνου (Masson – Bessière et al 2001). Όμοια, από 88 βιοψίες Α.Υ γόνατος με αρθρίτιδα (36 ΡΑ, 35 σπονδυλαρθρίτιδες), στο 50% των Α.Υ των ΡΑ ασθενών ανιχνεύθηκε κιτρουλλίνη σε ενδοκυττάριας κιτρουλλινιωμένες πρωτεΐνες (και όχι ελεύθερη), που ενώ έδειχναν θετική ΑFA αντιδραστικότητα, φιλαγγρίνη δεν εκφραζόταν στον αρθρικό υμένα. Κανένας από τους Α.Υ της ομάδας ελέγχου δεν εξέφραζε κιτρουλλίνη. Πιθανά η κιτρουλλίνη να δύναται να αποτελέσει ειδικό ιστολογικό δείκτη για τον αρθρικό υμένα της ΡΑ (Baeten et al 2001).

Αφού βρέθηκαν κιτρουλλινιωμένες πρωτεΐνες στον αρθρικό υμένα, στην συνέχεια διερευνήθηκε ο πιθανός τρόπος παραγωγής τους. Η κιτρουλλινίωση (μετατροπή της αργινίνης σε κιτρουλλίνη) καταλύεται από το ένζυμο PAD. Το ένζυμο αυτό παρουσιάζει διάφορους ισότυπους που κατανέμονται στους διάφορους ιστούς. PAD1 και PAD3 υπάρχουν σε επιδερμίδα και θυλάκους τριχών, PAD2 σε πολλούς ιστούς (μύες, εγκέφαλος, αιμοποιητικά κύτταρα), PAD4 σε αιμοποιητικά κύτταρα. Μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος μπαίνουν στον αρθρικό υμένα και διαφοροποιούνται σε μακροφάγα. Τα

μακροφάγα είναι σε περίσσεια στον αρθρικό υμένα στην ΡΑ (80-100% των καλυπτήριων κυττάρων είναι macrophage-like κύτταρα). Η έκφραση mRNA PAD 4 στα κύτταρα αυτά χάνεται, αλλά διατηρείται αυτή του PAD 2. Κατά την απόπτωση των μακροφάγων, το ενδοκυττάριο  $Ca^{++}$  αυξάνεται (απενεργοποίηση αντλίας  $Ca^{++}$  μεμβράνης από κασπάσες). Το ένζυμο ενεργοποιείται και πρωτεΐνες ενδοκυττάριας κιτρολλινιώνονται (βιμεντίνη). Ένζυμο πιθανά εξέρχεται από νεκρωτικά κύτταρα και κιτρολλινιώνει εξωκυττάρια πρωτεΐνες (πχ. ινώδες) (Vossenaar et al 2004).

### Παραγωγή των αντι-CCP

Εκτός των παραπάνω, διερευνήθηκε και η πηγή παραγωγής των αντι-CCP. Έτσι βρέθηκε ότι Β κύτταρα περιφερικού αίματος, τόσο υγιών όσο και ΡΑ ασθενών, μπορούν να προκληθούν *in vitro* να παράγουν αντι-CCP αντισώματα. Β κύτταρα με ικανότητα να παράγουν αντι-CCP βρίσκονται στο αρθρικό υγρό ορο(+) και ορο(-) αντι-CCP ασθενών με ΡΑ, αλλά αυτόματη παραγωγή αντι-CCP υπάρχει μόνο σε οροθετικούς αντι-CCP ασθενείς. Σε αντι-CCP θετικούς ασθενείς με ΡΑ, ο μυελός των οστών περιέχει ενεργά Β κύτταρα που εκκρίνουν αυτόματα αντι-CCP αντισώματα. Διατυπώθηκε λοιπόν η υπόθεση, ότι τα Β κύτταρα του αρθρικού υμένα ωριμάζουν τοπικά σε τελικώς διαφοροποιημένα ανοσοεκκριτικά Β κύτταρα στην άρθρωση που φλεγμαίνει. Μνημονικά Β κύτταρα σχηματιζόμενα στις θέσεις φλεγμονής, τοπικά διαφοροποιούνται σε πλασματοκύτταρα που παράγουν αντι-CCP ή/και μπαίνουν στην κυκλοφορία μεταναστεύουν στον μυελό και διαφοροποιούνται σε αντι-CCP πλασματοκύτταρα (Reparon-Schuijt et al 2001).

## Πιθανή εμπλοκή των αντι-CCP στη χρονιότητα της ΡΑ

Η ενζυμική μετατροπή της αργινίνης σε κιτρουλλίνη (κιτρουλλινίωση) συμβαίνει μόνο σε λίγες πρωτεΐνες στα κύτταρα των θηλαστικών. Μοιάζει απίθανο κάποια από αυτές (π.χ βασική πρωτεΐνη μυελίνης, φιλαγγρίνη, τριχοϋαλίνη) να αποτελεί τον πραγματικό στόχο των αντι-CCP αντισωμάτων, μια και δεν εκφράζονται στον αρθρικό υμένα. Υπάρχει λοιπόν πιθανότητα κάποιες πρωτεΐνες να κιτρουλλινιώνονται σε παθολογικές καταστάσεις (π.χ ινώδες στον αρθρικό υμένα) ή κατά την διάρκεια της απόπτωσης (π.χ βιμεντίνη). Κατά την απόπτωση πολλά πυρηνικά και κυτταροπλασματικά αντιγόνα μεταναστεύουν στην κυτταρική μεμβράνη των αποπτωτικών σωματίων. Τα αυτοαντιγόνα αυτά συχνά είναι τροποποιημένα (Utz et al 2000). Είναι πιθανό λοιπόν περιβαλλοντολογικοί παράγοντες (π.χ φλεγμονώδης διαδικασία της ΡΑ στον αρθρικό υμένα) να προκαλούν μη φυσιολογικό κυτταρικό θάνατο ή να διαταράσσουν την κάθαρση των αποπτωτικών κυττάρων. Ίσως έτσι, κιτρουλλινιωμένες πρωτεΐνες να παρουσιάζονται στο ανοσοποιητικό σύστημα. Πιθανά η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα σε συγκεκριμένα σημεία, σπάει την ανοσοανοχή και καταλήγει στην γέννηση αυτοαντισωμάτων που θα αναγνωρίζουν επίτοπους στην επιφάνεια αποπτωτικών κυττάρων και θα οδηγήσουν σε περαιτέρω φλεγμονώδη διεργασία (van Venrooij and Pruijijn 2000).

Βέβαια κιτρουλλινιωμένες πρωτεΐνες μπορούν να ανιχνευτούν και σε άλλες, πλην ΡΑ, φλεγμονές του αρθρικού υμένα, οι οποίες όμως δεν οδηγούν σε παραγωγή αντι-CCP αντισωμάτων. Η παραγωγή των αντι-CCP αντισωμάτων λοιπόν, εκτός της γέννησης του κατάλληλου αντιγόνου κατά την απόπτωση κυρίως, ίσως να χρειάζεται και το ανάλογο γενετικό υπόστρωμα.

Βρέθηκε ότι η μετατροπή της αργινίνης σε κιτρουλλίνη αυξάνει την συνδετικότητα ενός πεπτιδίου με HLA-DRB1 και μπορεί να οδηγήσει σε ενεργοποίηση CD4+ T κυττάρων, και ότι ασθενείς ομόζυγοι για SE (shared epitope) αλλήλια και αντι-CCP θετικοί εμφάνιζαν αυξημένη αρθρική βλάβη σε σχέση με ασθενείς που έφεραν το ένα ή κανένα από τα αλλήλια αυτά. Ίσως λοιπόν, κομμάτια κιτρουλλινιωμένων πρωτεϊνών να παρουσιάζονται σε T κύτταρα μέσω συγκεκριμένων MHC τάξης II μορίων, στη συνέχεια να ενεργοποιούνται B κύτταρα με αποτέλεσμα την παραγωγή αντισωμάτων έναντι κιτρουλλινιωμένων πρωτεϊνών, με επακόλουθο τη δημιουργία ανοσοσυμπλεγμάτων, που τελικά οδηγούν στη διέγερση της φλεγμονής μέσω της παραγωγής φλεγμονωδών κυτταροκινών (Zendman et al 2006).

### **1.8. Αυτοαντισώματα ως διαγνωστική εξέταση**

Στη ρευματολογία είναι γνωστά παραδείγματα αντισωμάτων που συσχετίζονται με κλινικά σύνδρομα ή εκδηλώσεις νόσου. Τέτοια παραδείγματα περιλαμβάνουν τα αντι-dsDNA αντισώματα που έχουν μεγάλη ειδικότητα για συστηματικό ερυθηματώδη λύκο, αντι-τοποϊσομεράσης I, με μεγάλη ειδικότητα για τη συστηματική διάχυτη δερματική σκληροδερμία, και τα cANCA που αναγνωρίζουν την πρωτεΐνη 3, με μεγάλη ειδικότητα για κοκκιωμάτωση Wegener. Η ανάγκη διαγνωστικής εξέτασης στην αρθρίτιδα πρόσφατης έναρξης οδήγησε στην ανάλυση του ρευματοειδούς παράγοντα και τώρα των αντι-CCP αντισωμάτων ως διαγνωστικών μέσων (van Venrooij et al 2006).

Σε αρθρίτιδα πρόσφατης έναρξης, η ευαισθησία του ρευματοειδούς παράγοντα ήταν 55% και η ειδικότητα 89% (Nell et al 2005). Η ευαισθησία του

ρευματοειδούς παράγοντα σε πρόσφατες μελέτες κυμαίνεται από 64 έως 73%. Η ειδικότητα του ρευματοειδούς παράγοντα είναι μέτρια κυμαινόμενη περί το 70% (Steiner and Smolen 2002) μολονότι σε πρόσφατες μελέτες κυμαίνεται από 82,1% έως 95% (Lee et al ARD 2003;62:870, Rantapaa-Dahlqvist et al AR 2003;48:2741, Vallbracht 2004;63:1079, Kastbom ARD 2004;63:1085). Ωστόσο, όταν το όριο φυσιολογικής τιμής (cut off) του ρευματοειδούς παράγοντα ανεβαίνει, η ευαισθησία μειώνεται αλλά η ειδικότητα αυξάνει. Έτσι, όταν το όριο του ρευματοειδούς παράγοντα είναι στο 50 IU/mL η ευαισθησία πέφτει στο 45% αλλά η ειδικότητα αυξάνει στο 92-96% (Steiner and Smolen 2002, Nell et al 2005). Ο ρευματοειδής παράγοντας και ο κοινός επίτοπος ανεξάρτητα συσχετίζονται με ακτινολογικές αλλοιώσεις στη PA (Mattey et al 2001).

Η ευαισθησία των αντι-CCP2 αντισωμάτων σε διάφορους πληθυσμούς κυμαίνεται από 64% έως 74% ενώ η ειδικότητά τους κυμαίνεται από 90% έως 99% (Lee et al 2003, Suzuki et al 2003, Dubucquoi et al 2004, Kastbom et al 2004, Vallbracht et al 2004, Zendman et al 2006). Τα αντι-CCP αντισώματα φαίνεται επίσης να αποτελούν προγνωστικό παράγοντα αρθρικής βλάβης στη PA αφού έχει αναφερθεί συσχέτισή τους με ακτινολογική βλάβη των αρθρώσεων (De Rycke et al 2004, Forslind et al 2004, van Gaalen et al 2004, Ronnelid et al 2005, Machold et al 2007).

Ο APF έχει ευαισθησία 40-90% σε PA μακράς διάρκειας αλλά 27-38% σε PA πρόσφατης έναρξης (Goldbach-Mansky et al 2000). Σε μια μελέτη που σύγκριναν RF, APF, AKA η ευαισθησία για τη PA ήταν 67, 60, 35, αντίστοιχα, και η ειδικότητα 54, 67, 68, αντίστοιχα (Meyer et al 2003). Παρόμοια, μια άλλη μελέτη σε αρθρίτιδα πρόσφατης έναρξης βρήκε τις αντίστοιχες τιμές στην

ευαισθησία για PA 65, 52, 47 και στην ειδικότητα 87, 79, και 94 (Saraux et al 2002).

Τα αντι-RA33 αντισώματα έχουν ευαισθησία ~30% για PA και ευαισθησία ~90% και ανιχνεύονται με εμπορική ELISA (Steiner and Smolen 2002, Nell et al 2005). Τα αντι-RA33 αυτοαντισώματα, όταν απαντούν χωρίς την παρουσία ρευματοειδούς παράγοντα και αντι-CCP αντισωμάτων, φαίνεται ότι χαρακτηρίζουν ήπια PA (Nell et al 2005).

Τα αντι-Sa αντισώματα έχουν ευαισθησία έως 40% και ειδικότητα μεταξύ 92% και 98% (Goldbach-Mansky et al 2000).

Τα αντι-BiP αντισώματα έχουν ευαισθησία 60% και ειδικότητα 96% για τη PA (Steiner and Smolen 2002).

Η διαγνωστική αξία των αντισωμάτων ρευματοειδούς παράγοντα, αντι-CCP και αντι-RA33 συγκρίθηκαν σε αρθρίτιδα πρόσφατης έναρξης: η ευαισθησία του ρευματοειδούς παράγοντα ήταν 55% και η ειδικότητα 89% (Nell et al 2005). Οι αντίστοιχες τιμές για τα αντι-CCP αντισώματα ήταν 45% και 98% και για τα αντι-RA33 αντισώματα ήταν 28% και 90% (Nell et al 2005).

## Άλλα χαρακτηριστικά των αντι-CCP

### Αντι-CCP και ηλικία

Οροί από 300 ηλικιωμένους (78-88 ετών, 1 με P.A), 33 PA ασθενείς και 67 ομάδας ελέγχου (ηλικίας 40-65 ετών) ελέγχθηκαν για AFA (με ELISA), για αντι-CCP (ELISA) και RF. Από τους ηλικιωμένους, 52 οροί ήταν RF (+) (17%), 24/300 (1 με PA) ήταν AFA (+) (8%) και μόνο δύο οροί (1 με PA) ήταν θετικοί για αντι-CCP (Palosuo et al 2003).

## Αντι-CCP και θεραπεία

Η θεραπεία με μεθοτρεξάτη (7,5-15 mg εβδομαδιαίως) για 6 μήνες δεν άλλαξε τα επίπεδα των αντι-CCP σε 20 ασθενείς με PA (Spadaro and Ricciari 2005). Η θεραπεία με Remicade (3 mg/Kgr, 24 εβδομάδες) και μεθοτρεξάτη, μείωσε τους τίτλους των αντι-CCP και RF σε 43 PA ασθενείς, αλλά κανένας ασθενής δεν μετετράπη από αντι-CCP θετικός σε αντι-CCP αρνητικό (Alessandri et al 2004). Παρόμοια, μέση μείωση κατά 31% από τις αρχικές τιμές, εμφάνισαν σε 3 μήνες οι τίτλοι των αντι-CCP αντισωμάτων 90 PA ασθενών που έλαβαν Enbrel και DMARDs (Chen et al 2006).

## Αντι-CCP και διάρκεια νόσου

Αντι-CCP ελέγχθηκαν αρχικά και μετά 3 χρόνια, σε 97 αρρώστους με πρώιμη PA. 5/97 ασθενείς άλλαξαν αντι-CCP status: 3 από θετικούς σε αρνητικούς και 2 από αρνητικούς σε θετικούς. Τα αντι-CCP στο 19% αυξήθηκαν >15%, στο 35% μειώθηκαν >15% και στο 46% έμειναν σταθερά ( $\pm$  15%). Το μέσο επίπεδο των anti-CCP μειώθηκε κατά 131U/ml στα 3 χρόνια (Kastbom et al 2004).

Παρόλα αυτά, σε ανασκόπηση 68 μελετών (16 αντι-CCP1, 50 αντι-CCP2 και 2 με μη προσδιορισμένη δοκιμασία) φάνηκε ότι για ασθενείς με διάρκεια νόσου < 6 μήνες, < 12 μήνες και > 24 μήνες η μέση ευαισθησία ( $\pm$  σταθερή απόκλιση) της αντι-CCP2 δοκιμασίας αυξήθηκε αντίστοιχα από 48% ( $\pm$  7) (διάμεσος 48%, διάστημα 39-58%), σε 51% ( $\pm$  9) (διάμεσος 54%, διάστημα 41-54%) έως και 71% ( $\pm$  15) (διάμεσος 77%, διάστημα 44-97%). Οι αντίστοιχες τιμές της μέσης ευαισθησίας ( $\pm$  σταθερή απόκλιση) για την αντι-CCP1 δοκιμασία (νόσος < 12 μήνες και > 24 μήνες) ήταν 49 ( $\pm$  9) (διάμεσος



47%, διάστημα 41-66%) και 53 ( $\pm 7$ ) (διάμεσος 55%, διάστημα 44-60%) (Anouac et al 2006).

#### Αντι-CCP πριν την έναρξη της νόσου

Τρεις μελέτες αναφέρονται σε ΡΑ ασθενείς που ήταν αιμοδότες πριν την έναρξη της νόσου. Στην πρώτη μελέτη 83 ασθενείς με ΡΑ, είχαν δείγματα ορών από 9 έως και 1,5 έτη πριν την εμφάνιση της. Τα αντι-CCP έδειξαν ευαισθησία που κυμαινόταν από 4% (9 έτη) έως 52% (1,5 έτος) και ειδικότητα 98% για την εμφάνιση της νόσου (Rantapaa-Dahlqvist et al 2003). Η δεύτερη μελέτη ερευνήσε, στην ομάδα ασθενών της πρώτης μελέτης, την παρουσία του κοινού επίτοπου και των αντι-CCP. Σε πολυπαραγοντική ανάλυση, τα αντι-CCP είχαν την μεγαλύτερη προγνωστική αξία (odds ratio 15,9) (Berglin et al 2004). Στην τρίτη μελέτη, από 79 ασθενείς με ΡΑ, αιμοδότες πριν την έναρξη των συμπτωμάτων, είχαν συλλεχθεί στην αιμοδοτική περίοδο κατά μέσο όρο 13 δείγματα ορών ανά ασθενή, που εξετάστηκαν στη συνέχεια για την παρουσία IgM-RF και αντι-CCP. Τα δείγματα είχαν συλλεχθεί κατά μέσο όρο 7,5 χρόνια πριν την εμφάνιση των συμπτωμάτων. 32/79 (40,5%) ήταν αντι-CCP (+) και 22/79 (27,8%) ήταν IgM-RF (+) πριν τα συμπτώματα. Συνολικά 39/79 (49,4%) ήταν θετικοί στη μια ή/και στην άλλη δοκιμασία. Στα 5 χρόνια πριν την έναρξη, η ευαισθησία και η ειδικότητα των αντι-CCP στην πρόβλεψη της νόσου ήταν 29% και 99,5% αντίστοιχα. Τα αντι-CCP ήταν θετικά πριν τον IgM-RF (μέγιστο 14 χρόνια έναντι 11) (Nielen et al 2004).

## Τα αντι-CCP σε άλλες ρευματικές παθήσεις

### Στον Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο

231 ασθενείς με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ) αξιολογήθηκαν για αρθρίτιδα που χωρίστηκε σε διαβρωτική (10 ασθενείς) και μη διαβρωτική (221). Προσδιορίστηκαν αντι- RA33, αντι-CCP1 και RF. Διαβρωτική αρθρίτις: 6/10 RF (+) (60%), 6/10 αντι- RA33 (+) (60%), 2/10 αντι-CCP1 (+) (20%). Μη διαβρωτική: 40/221 RF (+) (18%), 14/221 αντι-RA 33 (+) (6%), 1/221 αντι-CCP1 (+) (0,5%). Η παρουσία των αντι-CCP ίσως είναι χρήσιμη στον διαχωρισμό PA και αρθρίτιδας του ΣΕΛ. Αντι-RA 33 και RF δεν είναι βοηθητικά (Mediawake et al 2001). Σε άλλη μελέτη 11/201 (5,5%) ασθενείς με ΣΕΛ ήταν αντι-CCP2 θετικοί. Η παρουσία αντι-CCP αντισωμάτων στον ορό δεν αποκλείει την διάγνωση του ΣΕΛ (Hoffman et al 2005).

### Στην οστεοαρθρίτιδα

Σε μελέτη 32 ασθενών με διαβρωτική οστεοαρθρίτιδα και 35 με οστεοαρθρίτιδα των άκρων χειρών κανένας δεν είχε θετικά αντι-CCP (Morozzi et al 2005).

### Στο σύνδρομο Sjogren

149 ασθενείς με πρωτοπαθές σύνδρομο Sjogren (15 πληρούσαν ACR κριτήρια για PA) ελέγχθηκαν για αντι-CCP2 (ELISA), AKA (IFF) και RF. Βρέθηκαν RF (+) 80 (59%), αντι-CCP (+) 10 (7,5%) και AKA (+) 7 (5,2%). Από τους 10 αντι-CCP (+) ασθενείς με σύνδρομο Sjogren οι 9 πληρούσαν ACR κριτήρια για PA. Οι αντι-CCP θετικοί ασθενείς με σύνδρομο Sjogren θα πρέπει να παρακολουθούνται στενά για την πιθανότητα εμφάνισης PA στο μέλλον (Gottenberg et al 2005).

### Στην Ψωριασική Αρθρίτιδα

160 ασθενείς με ψωριασική αρθρίτιδα, 146 με ψωρίαση χωρίς αρθρίτιδα, 101 με πρώιμη PA και 102 υγιείς ελέγχθηκαν για αντι-CCP. Βρέθηκαν θετικοί 11 (7,5%) με ψωριασική αρθρίτιδα, 1 (0,7%) με ψωρίαση, 75 (74%) με πρώιμη PA και 2 (2%) υγιείς. Η παρουσία των αντι-CCP ήταν συχνότερη στους ασθενείς με πολυαρθρική μορφή ψωριασικής αρθρίτιδας αλλά δεν σχετιζόταν με ακτινολογικές βλάβες, ούτε με λειτουργική έκπτωση (Alenius et al 2006).

### Στον Παλίνδρομο Ρευματισμό

63 ασθενείς με παλίνδρομο ρευματισμό (33 χωρίς και 30 με στοιχεία και άλλης νόσου [21 PA]), 60 με πρώιμη PA και 80 σπονδυλαρθρίτιδες ελέγχθηκαν για αντι-CCP (ELISA), AKA (IIF) και RF. Βρέθηκαν αντι-CCP (+): 18/32 (56,3%) και 10/30 (33,3%), AKA (+): 12/33 (36,4%) και 9/30 (30%) στον παλίνδρομο ρευματισμό. Αντι-CCP (+): 2/80 (2,5%), AKA (+): 3/80 (3,8%) στις σπονδυλαρθρίτιδες. Τα αντι-CCP και σε μικρότερο βαθμό τα AKA βρέθηκαν σε υψηλό ποσοστό ασθενών με παλίνδρομο ρευματισμό. Η προγνωστική αξία αυτών των αντισωμάτων, σαν δείκτης εξέλιξης σε PA, παραμένει άγνωστη (Salvador et al 2003).

### Στην Ρευματική Πολυμυαλγία

57 ασθενείς με όψιμης έναρξης PA και 49 με ρευματική πολυμυαλγία (PMR), με ομάδα ελέγχου 24 ηλικιωμένων υγιών ( $73 \pm 8$  έτη), ελέγχθηκαν για αντι-CCP (ELISA) και RF. Αντι-CCP (+): 35/57 (65%) στην όψιμη PA, 0/49 στην PMR, 0/24 ηλικιωμένους υγιείς. RF (+): 66,7% στην όψιμη PA, 7% στην PMR και 0% στους ηλικιωμένους υγιείς. Η παρουσία αντι-CCP αντισωμάτων

σε ασθενή με κλινικά συμπτώματα PMR ίσως πρέπει να εκλαμβάνεται σαν έντονα υποδεικτική οψίμου ενάρξεως PA (Lopez-Hoyos et al 2004).

Σε ασθενείς με Ηπατίτιδα C – Μεικτή Κρυοσφαιριναιμία

50 ασθενείς HCV (+) χωρίς κρυοσφαιρίνες, 29 με μικτή κρυοσφαιριναιμία [(23 HCV +), 13 με ρευματικά συμπτώματα, 5 με αρθρίτιδα] και 20 υγιείς ελέγχθηκαν για αντι-CCP (ELISA) και IgM-RF. Αντι-CCP (+): 0/50 με HCV, 2/29 με κρυοσφαιριναιμία (οριακές τιμές). RF (+): 22/50 (44%) με HCV, 22/29 (76%) με κρυοσφαιριναιμία. Ο RF ήταν συχνός στους ασθενείς με HCV λοίμωξη, με ή χωρίς κρυοσφαιριναιμία. Αντι-CCP δεν βρέθηκαν σε HCV (+) ασθενείς. Οι οριακά θετικές τιμές των αντι-CCP στη μικτή κρυοσφαιριναιμία προκλήθηκαν από μη ειδική αντίδραση στο πλαστικό. Η μέτρηση των αντι-CCP ίσως βοηθά στη διάγνωση της PA σε ασθενείς με χρόνια HCV λοίμωξη (Wener et al 2004). Παρόμοια, σε μελέτη με 147 HCV (+) ασθενείς με ρευματικές εκδηλώσεις, βρέθηκε ότι τα αντι-CCP αντισώματα πολύ σπάνια ανιχνεύονται στον όρό των ασθενών αυτών (Séne et al 2006).

Πολύ πρόσφατα, για ασθενείς χωρίς PA, δείχθηκε ότι μπορεί να υπάρχεί και μη εξαρτώμενη από την κιτρολλίνη αντι-CCP2 αντιδραστικότητα. Αυτό συνέβαινε ιδιαίτερα σε ασθενείς με αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 1 (Vannini et al 2007), όπου είχε αναφερθεί 9% αντι-CCP2 θετικότητα.

### 1.9. ΣΚΟΠΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Πρόσφατα έχει γίνει φανερό ότι η εφαρμογή θεραπείας όσο πιο ενωρίς μετά την έναρξη της ρευματοειδούς αρθρίτιδας (ΡΑ) βελτιώνει την πρόγνωση. Ωστόσο η διάγνωση της ΡΑ στηρίζεται σε κλινικά κριτήρια που μπορεί να πάρει έτη να συμπληρωθούν. Ο σκοπός είναι να εφαρμοσθεί συνδυασμένη θεραπεία ενωρίς πριν να εμφανισθούν ακτινολογικές βλάβες στις αρθρώσεις. Γι αυτό, η εφαρμογή διαγνωστικής εξέτασης με μεγάλη ειδικότητα είναι πολύ χρήσιμη. Τέτοια φαίνεται να είναι το αντι-CCP2 αντίσωμα σε Βορειο-Ευρωπαίους λαούς. Σε Βορειο-Ευρωπαίους Καυκάσιους λαούς η παραγωγή των αντι-CCP αντισωμάτων συσχετίζεται με τον κοινό επίτοπο HLA-DRB1 (van Gaalen et al 2004). Στους λαούς αυτούς η ΡΑ συσχετίζεται με τον κοινό επίτοπο HLA-DRB1. Όμως ο κοινός επίτοπος HLA-DRB1 έχει ανιχνευθεί μόνο στη μειοψηφία των Ελλήνων ασθενών με ΡΑ (Boki et al 1993). Για το λόγο αυτό μελετήθηκε η διαγνωστική και προγνωστική σημασία των αντι-CCP αυτοαντισωμάτων σε Έλληνες ασθενείς με ΡΑ.

Οι σκοποί της διατριβής είναι να μελετηθεί σε Έλληνες ασθενείς με ΡΑ:

1. η διαγνωστική αξία των αντι-CCP2 αυτοαντισωμάτων και να συγκριθεί με εκείνη του ρευματοειδούς παράγοντα.
2. η συσχέτιση των αντι-CCP2 αυτοαντισωμάτων με δείκτες ενεργότητας της νόσου.
3. η συσχέτιση των αντι-CCP2 αυτοαντισωμάτων με βαθμό βλάβης των αρθρώσεων στη ΡΑ.
4. η συσχέτιση των αντι-CCP2 αυτοαντισωμάτων με εξωαρθρικές εκδηλώσεις της νόσου.

## 2. ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Ασθενείς

155 Έλληνες ασθενείς με ΡΑ [118 γυναίκες, 37 άνδρες, ηλικία  $60,3 \pm 12,8$  χρόνια (μέση τιμή  $\pm$  σταθερή απόκλιση)], παρακολουθούμενοι από το Ρευματολογικό Τμήμα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας), συμμετείχαν στην μελέτη. Όλοι οι ασθενείς είχαν διαγνωσμένη ΡΑ σύμφωνα με τα ARA κριτήρια του 1987. Σε αυτούς τους ασθενείς καταγράφηκαν η ηλικία, το φύλο, η διάρκεια της νόσου, κλινικά χαρακτηριστικά, αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις, και η φαρμακευτική αγωγή. Σαράντα τέσσερις ασθενείς ελάμβαναν Μεθοτρεξάτη, 37 λεφλουνομίδη, 22 υδροξυχλωροκίνη, 9 πρεδνιζολόνη, 14 κυκλοσπορίνη-A, 4 σουλφασαλαζίνη, και 25 αντι-TNFα μαζί με Μεθοτρεξάτη.

Για την ανάλυση των εξωαρθρικών εκδηλώσεων χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 220 συνεχόμενοι ασθενείς με ΡΑ, που παρακολουθούνται στο Εξωτερικό Πανεπιστημιακό Ρευματολογικό Ιατρείο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

178 ασθενείς με άλλες νόσους (130 γυναίκες, 48 άνδρες, ηλικία  $54,9 \pm 16,5$  χρόνια), χρησιμοποιήθηκαν σαν ομάδα ελέγχου με νόσο. Αναλυτικά επρόκειτο για: 17 με σύνδρομο Sjogren, 19 με οστεοαρθρίτιδα (9 με διαβρωτική μορφή), 53 με σπονδυλαρθρίτιδα (20 με αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα, 1 με σύνδρομο Reiter, 1 εντεροπαθητική αρθρίτιδα και 31 με ψωριασική αρθρίτιδα), 32 με ΣΕΛ, 5 με συστηματικό σκληρόδερμα, 11 με ρευματική πολυμυαλγία, 15 με αγγειίτιδα (7 με κροταφική αρτηρίτιδα, 2 με κοκκιωμάτωση Wegener, 3 με νόσο Αδαμαντιάδη-Behcet), 4 με νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα, 5 με νόσο του Still των ενηλίκων, 5 με ουρική αρθρίτιδα, 2

με χονδρασβέστωση, 4 με βρουκέλλωση, και 6 με άλλες νόσους (1 δερματομυοσίτιδα, 1 μικτή νόσος του συνδετικού ιστού (MCTD), 1 με οικογενή μεσογειακό πυρετό (FMF), 1 με πρωτοπαθές αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο (aPL), και 2 με ρευματικό πυρετό). Όλοι αυτοί οι άρρωστοι πληρούσαν τα απαραίτητα κριτήρια για την αντίστοιχη νόσο.

100 αιμοδότες (γυναίκες 15, άνδρες 85, ηλικία  $39,2 \pm 10,4$ ) από το τοπικό κέντρο αιμοδοσίας, χρησιμοποιήθηκαν σαν ομάδα ελέγχου υγιών.

Η μελέτη έγινε αποδεκτή από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας.

## 2.2. Τεχνικές

Ενεργότητα της ρευματοειδούς αρθρίτιδας

Η ενεργότητα της νόσου μετρήθηκε με την χρήση του δείκτη DAS28, όπως αναλυτικά περιγράφηκε, της πρωινής δυσκαμψίας (σε λεπτά), των εξωαρθρικών εκδηλώσεων και την CRP (mg/dL).

Ο δείκτης DAS28 περιλαμβάνει στον υπολογισμό του, τους αριθμούς των ευαίσθητων στην πίεση και των διογκωμένων αρθρώσεων. Η ευαισθησία και η διόγκωση των αρθρώσεων ανιχνεύονται ως εξής (EULAR Handbook of Clinical Assessments in Rheumatoid Arthritis, 2004 b):

(α). Αρθρική ευαισθησία

Αρθρική ευαισθησία είναι πόνος σε μια άρθρωση εμφανιζόμενος κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Αυτές περιέχουν: πόνο σε ηρεμία μετά από πίεση (π.χ MCPs και καρποί), πόνο σε κίνηση της άρθρωσης (π.χ ώμοι και ταρσοί) ή μετά από ερωτήσεις σχετικές με αρθρικό πόνο (π.χ ισχία, αυχενική μοίρα σπονδυλικής στήλης). Η πίεση για την έκλυση ευαισθησίας πρέπει να

εφαρμόζεται με τον αντίχειρα και τον δείκτη του εξεταστή, και να είναι τέτοια ώστε να προκαλεί “διαύγαση” της κοίτης του νυχιού του εξεταστή.

#### (β). Διόγκωση αρθρώσεων

Είναι διόγκωση μαλακών μορίων της άρθρωσης η οποία ανιχνεύεται κατά μήκος των ορίων της άρθρωσης. Όταν υπάρχει ενδοαρθρική συλλογή υγρού, αυτό σημαίνει σίγουρα ότι η άρθρωση είναι διογκωμένη. Ούτε οστική διόγκωση, ούτε παραμόρφωση, ούτε περιαρθρικό οίδημα αποτελούν διόγκωση αρθρώσεων. Η αντιτυπία είναι ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα των διογκωμένων αρθρώσεων. Η διόγκωση των αρθρώσεων μπορεί να επηρεάσει το εύρος της κίνησης. Αυτό μπορεί να φανεί χρήσιμο στον καθορισμό της παρουσίας διόγκωσης. Παραδείγματα περιλαμβάνουν την μείωση της ραχιαίας κάμψης του καρπού και την μείωση της έκτασης του αγκώνα, όταν η αρθρική διόγκωση είναι παρούσα.

#### Τρόπος εξέτασης

##### Εγγύς μεσοφαλαγγικές αρθρώσεις των χεριών (PIPs)

- Εξέταση κάθε άρθρωσης χωριστά με τα άκρα χέρια του ασθενή σε έκταση
- Πιάνουμε το έξω και το έσω όριο της άρθρωσης με τον δείκτη και τον αντίχειρα
- Με το άλλο χέρι εφαρμόζουμε πίεση εναλλάξ στην παλαμιαία και ραχιαία επιφάνεια της άρθρωσης, με τον δείκτη και τον αντίχειρα (Εικόνα 2.2.1)





**Εικόνα 2.2.1: Κλινική εξέταση των PIPs των χεριών**

Μετακαρποφαλαγγικές αρθρώσεις (MCPs) - Τεχνική Α

- Εξέταση κάθε άρθρωσης χωριστά με τα άκρα χέρια του ασθενή σε έκταση
- Ψηλάφηση των προσθίων έσω και έξω ορίων της άρθρωσης με τον αντίχειρα και τον δείκτη
- Το άλλο χέρι κρατά την άκρα χείρα του εξεταζόμενου σε έκταση με τις MCPs σε κάμψη περίπου 50° (Εικόνα 2.2.2)



**Εικόνα 2.2.2: Κλινική εξέταση των MCPs – Τεχνική Α**

### Μετακαρποφαλαγγικές αρθρώσεις (MCPs) - Τεχνική Β

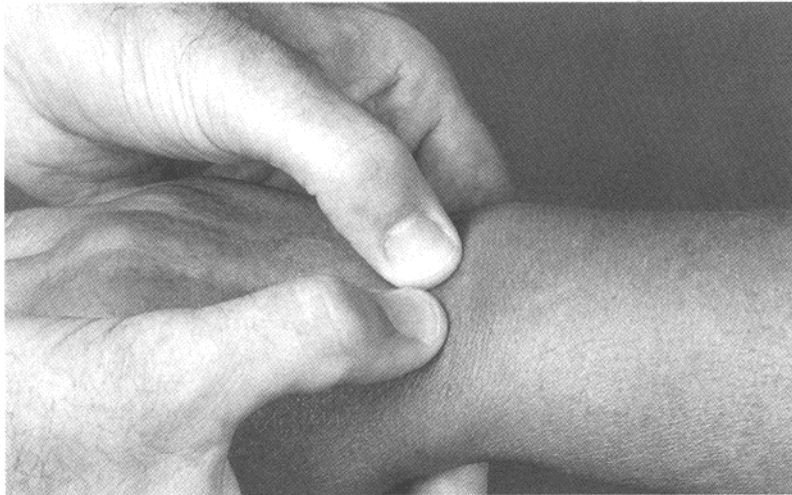
- Εξέταση κάθε άρθρωσης χωριστά με τα άκρα χέρια του ασθενή σε έκταση
- Ψηλάφηση των προσθίων έσω και έξω ορίων της άρθρωσης με τους αντίχειρες ενώ τα άλλα δάκτυλα στηρίζουν την άκρα χείρα του ασθενή (Εικόνα 2.2.3)



**Εικόνα 2.2.3: Κλινική εξέταση των MCPs – Τεχνική Β**

### Καρπός

- Εξέταση με τον καρπό σε έκταση και σε ουδέτερη θέση
- Εξέταση και με τα δύο χέρια, με τους αντίχειρες στην ραχιαία επιφάνεια και τα άλλα δάκτυλα στην παλαμιαία επιφάνεια του καρπού του εξεταζόμενου
- Ήπια ραχιαία και παλαμιαία κάμψη του καρπού  $10^{\circ}$  και  $20^{\circ}$  ενώ εφαρμόζεται ήπια πίεση από τα χέρια του εξεταστή (Εικόνα 2.2.4)



**Εικόνα 2.2.4: Κλινική εξέταση του καρπού**

#### Αγκώνας

- Κάμψη του αγκώνα μεταξύ  $70^{\circ}$  και  $80^{\circ}$
- Εξέταση και με τα δύο χέρια
- Τοποθέτηση του αντίχειρα μεταξύ ωλεκράνου και βραχιονίου κονδύλου
- Τοποθέτηση του δείκτη στον υπερκονδύλιο βόθρο (Εικόνα 2.2.5)



**Εικόνα 2.2.5: Κλινική εξέταση του αγκώνα**

## Ωμος

- Ο εξεταστής κρατά το χέρι σε ελαφρά κάμψη
- Γίνεται παθητική κίνηση του ώμου του ασθενούς από μηδέν έως 50°
- Προσεκτική παρατήρηση για διόγκωση.

Σημείωση: Αν ο ώμος έχει βλάβη, ο πόνος είναι μη ανεκτός σε εκσεσημασμένες κινήσεις (Εικόνα 2.2.6).



**Εικόνα 2.2.6: Κλινική εξέταση του ώμου**

## Γόνατο

- Τοποθέτηση αντίχειρα και δείκτη του εξετάζοντος χεριού στη μεσότητα των έσω και έξω ορίων της κνημο-μηριαίας άρθρωσης. Αυτό ανιχνεύει ευαισθησία και διόγκωση. Σε μεγάλες αρθρώσεις μπορεί να χρειαστούν και τα δυο χέρια
- Ακολουθεί η χρήση του δεύτερου χεριού για την εκκένωση του υπερ-επιγονατιδικού θυλάκου ενώ το εξετάζων χέρι έχει τον αντίχειρα και τον μέσο δάκτυλο στα έσω και έξω όρια της επιγονατιδο-μηριαίας άρθρωσης και τον δείκτη πάνω στην επιγονατίδα. Αυτό ανιχνεύει την ενδοαρθρική συλλογή υγρού. Αν είναι παρούσα, η άρθρωση είναι διογκωμένη (Εικόνα 2.2.7)



**Εικόνα 2.2.7: Κλινική εξέταση του γόνατος**

#### Ακτινολογική αξιολόγηση

Ελήφθησαν ακτινογραφίες (ραχιοπαλαμιαία λήψη) άκρων χειρών και καρπών στους ασθενείς με ΡΑ. Δυο ρευματολόγοι (I.A, A.Z), με την χρήση της τελευταίας τροποποίησης της μεθόδου βαθμολόγησης Larsen (Larsen 1995), εκτίμησαν κοινά με ταυτόχρονη ανάγνωση των ακτινογραφιών (paired reading), την ακτινολογική αρθρική βλάβη, σε μια κλίμακα από 0 (χωρίς βλάβη) έως 5 (έντονη ανωμαλία), όπως έχει περιγραφεί εκτενώς παραπάνω. Η εκτίμηση της ακτινογραφίας έγινε τυφλά σε σχέση με τα δημογραφικά, κλινικά και ορολογικά δεδομένα των ασθενών. Όπου χρειάστηκε, οι αξιολογητές επέλεξαν την μεταξύ τους μικρότερη βαθμολόγηση.

## Ορολογικές εξετάσεις

Δείγματα ορών από PA ασθενείς και ομάδες ελέγχου φυλάχθηκαν στους  $-80^{\circ}\text{C}$  έως ότου ελέγχθηκαν. Τα αντι-CCP2 αντισώματα ανιχνεύθηκαν με την χρήση του QUANTA lite CCP2 IgG ELISA kit (INOVA diagnostics, San Diego CA). Η μέθοδος έγινε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (ανώτερη φυσιολογική τιμή 20 IU/mL). Ο IgM RF ανιχνεύθηκε με ανοσονεφελομετρία (Dade Behring, Marburg, Germany) (ανώτερη φυσιολογική τιμή 15 IU/mL). Και οι δυο μέθοδοι έγιναν τυφλά ως προς την τελική διάγνωση και τα μεταξύ τους αποτελέσματα. Οι αναλύσεις αυτές έγιναν στο Εργαστήριο Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας.

## Βασικές αρχές και τεχνική της CCP IgG ELISA

Το αντιγόνο είναι συνθετικό κυκλικό κιτρουλλινιωμένο πεπτιδίο προσκολλημένο στην επιφάνεια μιας θέσης. Προ-αραιωμένοι οροί ελέγχου (controls) και αραιωμένοι οροί ασθενών τοποθετούνται σε χωριστές θέσεις, επιτρέποντας κάθε αντι-CCP2 αντίσωμα που υπάρχει να συνδεθεί με το αντιγόνο. Επώαση για 30 λεπτά. Έκπλυση. Προστίθεται αντι-ανθρώπινη IgG ανοσοσφαιρίνη σεσημασμένη με ένζυμο σε κάθε θέση. Δεύτερη επώαση (30 λεπτά), που επιτρέπει την σύνδεση της αντι-IgG με όποιο IgG αντίσωμα του ορού του ασθενή συνδέθηκε με αντιγόνο. Έκπλυση. Προσθήκη χρωμογόνου υποστρώματος. Επώαση (30 λεπτά) στο σκοτάδι. Διακοπή της αντίδρασης (προσθήκη HRP stop solution). Ανάγνωση της απορρόφησης (OD) στα 450 nm, εντός μιας ώρας από τη διακοπή της αντίδρασης.

## Βασικές αρχές της N latex IgM RF ανοσονεφελομετρίας

Σωματίδια πολυεστέρα επενδυμένα με ανοσοσύμπλεγμα από ανθρώπινη - γ-σφαιρίνη / αντι-ανθρώπινη - γ-σφαιρίνη προβάτου συγκολλούνται όταν αναμειγνύονται με ορό που περιέχει RF (αυτοαντίσωμα έναντι Fc τμήματος ανθρώπινης IgG, αντιδρά επίσης και με ανοσοσφαιρίνη ζώων). Μια ακτίνα φωτός περνά από το συσσωμάτωμα αυτό και σκεδάζεται. Η ένταση του φωτός που σκεδάζεται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του RF στο δείγμα. Το αποτέλεσμα επιβεβαιώνεται με σύγκριση με στάνταρ γνωστής συγκέντρωσης. Οι οροί των ασθενών αραιώνονται αυτόματα στο νεφελόμετρο (1:20) και σε περίπτωση που το αποτέλεσμα είναι εκτός του άνω ορίου για την αραιώση αυτή, αυτόματα αραιώνονται περαιτέρω.

### 2.3. Στατιστική ανάλυση

Γράφηκαν Receiver operating characteristics curves (ROC) και υπολογίσθηκαν η περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve, AUC) και οι αντίστοιχες ζώνες αξιοπιστίας (confidence intervals). Υπολογίσθηκαν χαρακτηριστικά διαγνωστικά, όπως ευαισθησία, ειδικότητα, αναλογίες θετικής πιθανότητας (positive likelihood ratios) και οι αντίστοιχες ζώνες αξιοπιστίας με βάση το χρυσό στάνταρ. Στατιστική συσχέτιση (correlation) μεταξύ του επιπέδου των αντι-CCP2 αντισωμάτων και του ακτινολογικού σκορ Larsen προσδιορίσθηκε με το τεστ Spearman rank correlation. Όλες οι τιμές p είναι διπλής κατεύθυνσης (two-tail) και το στατιστικώς σημαντικό θεωρήθηκε το επίπεδο του 0,05. Οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με το στατιστικό λογισμικό πρόγραμμα SPSS.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1. Συχνότητα των αντι-CCP2 αντισωμάτων

Τα δημογραφικά, κλινικά, και εργαστηριακά γνωρίσματα των ασθενών με ΡΑ φαίνονται στον Πίνακα 3.1.1. Η συχνότητα των αντι-CCP2 αντισωμάτων και του ρευματοειδούς παράγοντα σε ασθενείς και μάρτυρες φαίνονται στον Πίνακα 3.1.2.

Μεταξύ των ασθενών με ΡΑ, 98 ασθενείς (63,2%) είχαν αντι-CCP αντισώματα και 92 ασθενείς (59,1%) είχαν ρευματοειδή παράγοντα. Εβδομήντα έξι ΡΑ ασθενείς (49,0%) ήταν και αντι-CCP2-θετικοί και RF-θετικοί, 16 ΡΑ ασθενείς (10,3%) ήταν αντι-CCP2-αρνητικοί και RF-θετικοί (Εικόνα 3.1.1), και 22 ΡΑ ασθενείς (14,2%) ήταν αντι-CCP2-θετικοί και RF-αρνητικοί. Παρουσία και των αντι-CCP2 αντισωμάτων και RF, είτε καθένα από τα δυο, βρέθηκε σε 75.5% των ασθενών με ΡΑ. Μεταξύ των 63 RF-αρνητικών ΡΑ ασθενών, 22 ασθενείς (34,9%) ήταν αντι-CCP2 θετικοί (Εικόνα 3.1.1). Μεταξύ των 57 αντι-CCP2-αρνητικών ΡΑ ασθενών, 28,1% είχαν ρευματοειδή παράγοντα.

Στην ομάδα των μη ΡΑ ασθενών, 14 ασθενείς (7,9%) είχαν αντι-CCP2 αντισώματα. Εννέα από αυτούς τους 14 ασθενείς είχαν πολύ χαμηλά επίπεδα αντισωμάτων (23,2-27,7 IU/mL). Μια ασθενής με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο και υψηλά επίπεδα αντι-CCP2 αντισωμάτων είχε μητέρα με ΡΑ.

Στην ομάδα των υγιών μαρτύρων αιμοδοτών, κανένας δεν είχε αντι-CCP2 αντισώματα και 3% είχαν ρευματοειδή παράγοντα.



### **3.2. Διαγνωστική αξία των αντι-CCP2 αντισωμάτων στη ρευματοειδή αρθρίτιδα**

Η διαγνωστική αξία των αντι-CCP2 αντισωμάτων και του ρευματοειδούς παράγοντα περιγράφονται με την ROC (receiver operating characteristics curve), AUC (Εικόνα 3.2.1), ευαισθησία, ειδικότητα, θετική και αρνητική προβλεπτική αξία (positive and negative predictive values) (Πίνακας 3.2.1).

Όταν η ευαισθησία και ειδικότητα εξετάζονται ταυτοχρόνως, η AUC για τα αντι-CCP2 αντισώματα ήταν 0,90 με 95% ζώνη αξιοπιστίας από 0,87 έως 0,93, ενώ η AUC για το RF ήταν 0,71 με 95% ζώνη αξιοπιστίας από 0,64 έως 0,77. Έτσι, τα αντι-CCP2 αντισώματα είχαν καλύτερη διαγνωστική αξία από τον RF για την PA σε Έλληνες ασθενείς.

Όταν η ευαισθησία και ειδικότητα εξετάστηκαν ξεχωριστά, η ευαισθησία των αντι-CCP2 αντισωμάτων για τη PA ήταν 63,2% και η ειδικότητα 95,0%, ενώ οι αντίστοιχες τιμές για τον RF ήταν 59,1% και 91,2%.

Η παρουσία είτε αντι-CCP2 αντισωμάτων είτε RF αύξανε την ευαισθησία (75,5%), ενώ η παρουσία και των δυο αντισωμάτων αύξανε την ειδικότητα (98,2%).

### **3.3. Αντι-CCP2 αντισώματα και δείκτες ενεργότητας της ρευματοειδούς αρθρίτιδας**

Η ενεργότητα της PA όπως ορίζεται με τον δείκτη DAS28, ήταν χαμηλή ( $\text{DAS28} < 3,2$ ) σε 30 ασθενείς (19,7%), μέτρια ( $\text{DAS28 } 3,2\text{-}5,1$ ) σε 68 ασθενείς (44,7%), και υψηλή ( $\text{DAS28} > 5,1$ ) σε 54 ασθενείς (35,5%).

PA ασθενείς με υψηλό σκορ DAS28 είχαν μεγαλύτερη συχνότητα αντι-CCP2 (75,9%) συγκρινόμενοι με PA ασθενείς με χαμηλό σκορ DAS28

(31,8%) ( $p < 0,001$ ). Αντι-CCP2-θετικοί ασθενείς με PA είχαν αυξημένο αριθμό διογκωμένων αρθρώσεων και αυξημένη συγκέντρωση CRP ορού σε σχέση με αντι-CCP2-αρνητικούς ασθενείς με PA (Mann-Whitney U test,  $p = 0,01$ ,  $p < 0,001$ , αντίστοιχα) (Εικόνα 3.3.1). Ωστόσο, δεν βρέθηκε στατιστική συσχέτιση μεταξύ των αντι-CCP2 αντισωμάτων και της ενεργότητας της νόσου, όπως αυτή ορίζεται με τον δείκτη DAS28 ( $r = 0,13$ ,  $p = 0,12$ ).

Τριάντα τρεις PA ασθενείς (72,2%) με υψηλή ενεργότητα νόσου είχαν RF, συγκρινόμενοι με 15 PA ασθενείς (50,0%) με χαμηλή ενεργότητα νόσου (όχι σημαντική διαφορά). Τα επίπεδα του RF ορού έδειξαν στατιστική συσχέτιση με το σκορ DAS28 ( $r = 0,29$ ,  $p = 0,001$ ) (Εικόνα 3.3.2). Επίσης, οι RF(+) PA ασθενείς είχαν αυξημένο αριθμό διογκωμένων αρθρώσεων και αύξηση της συγκέντρωσης CRP ορού σε σχέση με του RF(-) PA ασθενείς (Mann-Whitney U test,  $p = 0,02$ ,  $p = 0,002$ , αντίστοιχα)

#### **3.4. Αντι-CCP2 αντισώματα και ακτινογραφικό σκορ αρθρώσεων στη ρευματοειδή αρθρίτιδα**

Δώδεκα ασθενείς με PA είχαν σκορ Larsen 0-I, 83 ασθενείς είχαν σκορ II-III, και 36 ασθενείς είχαν σκορ IV-V. Μεταξύ των PA ασθενών με σκορ Larsen IV-V, 28 ασθενείς (77,7%) είχαν αντι-CCP2 αντισώματα, και 22 ασθενείς (61,0%) είχαν και αντι-CCP2 αντισώματα και RF. Μεταξύ των PA ασθενών με σκορ Larsen 0-I, οι αντίστοιχοι αριθμοί ήταν 6 (50,0%) και 3 (25,0%). Οι ασθενείς με αντι-CCP2 αντισώματα είχαν μια τάση για μεγαλύτερη ακτινογραφική βλάβη των αρθρώσεων σε σχέση με τους PA ασθενείς χωρίς αντι-CCP2 αντισώματα, αλλά αυτή η τάση δεν έφθασε σε στατιστικώς σημαντικά επίπεδα. Ωστόσο, υπήρχε, μολονότι σχετικά μικρή, στατιστική

συσχέτιση μεταξύ του ακτινογραφικού σκορ Larsen και των αντι-CCP2 αντισωμάτων (Spearman correlation coefficient,  $r=0,27$ ,  $p=0,001$ ) (Εικόνα 3.4.1).

Όταν οι PA ασθενείς χωρίστηκαν ανάλογα με τη διάρκεια νόσου (0-5 έτη, 5-10 έτη, περισσότερα από 10 έτη), στατιστική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ του ακτινογραφικού σκορ και των αντι-CCP2 αντισωμάτων στην ομάδα με τη μικρή διάρκεια (0- 5 έτη) νόσου (Spearman  $r=0,40$ ,  $p=0,03$ ).

Στατιστική συσχέτιση βρέθηκε και μεταξύ του ρευματοειδούς παράγοντα και του ακτινογραφικού σκορ Larsen (Spearman  $r=0,33$ ,  $p=0,001$ ) (Εικόνα 3.4.2).

### **3.5 Αντι-CCP και εξωαρθρικές εκδηλώσεις**

Η τελική καταγραφή των εξωαρθρικών εκδηλώσεων έγινε σε 220 PA ασθενείς (η ομάδα των 155 PA ασθενών μας + 65 νέοι). Ενενήντα πέντε PA ασθενείς είχαν εξωαρθρικές εκδηλώσεις (exRA) και 125 PA δεν εμφάνισαν ποτέ κάποια εξωαρθρική εκδήλωση (cRA) (Πίνακας 3.5.1). Αντι-CCP2 θετικοί ήταν 62 exRA ασθενείς (65,3%) συγκρινόμενοι με 73 cRA ασθενείς (58,4%) (μη σημαντικό). RF θετικοί ήταν 66 exRA ασθενείς (69,5%) συγκρινόμενοι με 75 cRA ασθενείς (60%) (μη σημαντικό).

Από τους exRA ασθενείς, 36 ασθενείς (37,9%) είχαν υψηλά επίπεδα αντι-CCP2 αντισωμάτων στον ορό ( $> 100$  IU/ml) συγκρινόμενοι με 27 cRA (21,6%) ( $p = 0,008$ ). Από τις εξωαρθρικές εκδηλώσεις, η ορογονίτιδα και η πνευμονική ίνωση βρέθηκαν να σχετίζονται με υψηλές τιμές αντι-CCP2 αντισωμάτων (52,9% vs 26,6%,  $p = 0,02$  και 63,6% vs 26,8%,  $p = 0,008$ , αντίστοιχα).

Πενήντα τρεις exRA ασθενείς (55,8%) ήταν αντι-CCP2 θετικοί και RF θετικοί, συγκρινόμενοι με 53 (42,4%) cRA ασθενείς ( $p = 0,04$ ).

Αντι-CCP2 ή/και RF θετικότητα βρέθηκε σε 75 (78,9%) exRA ασθενών, συγκρινόμενοι με 95 (76%) cRA ασθενείς (μη σημαντικό).

Τα επίπεδα των αντι-CCP αντισωμάτων στον ορό των exRA ασθενών ήταν 40,0, 133,0 (διάμεση τιμή, ενδοτεταρτημοριακή διασπορά) συγκρινόμενα με 23,0, 82,0 των cRA ασθενών (Mann-Whitney U test,  $p = 0,065$ , μη σημαντικό) (Εικόνα 3.5.1). Εντούτοις, τα επίπεδα των αντι-CCP στους exRA ασθενείς με πνευμονική ίνωση και ορογονίτιδα διέφεραν σημαντικά από τους cRA (Mann Whitney U test,  $p = 0,004$  και  $p = 0,01$ , αντίστοιχα).

Τα επίπεδα του RF στον ορό των exRA ασθενών ήταν 61,0, 319,0 (διάμεση τιμή, ενδοτεταρτημοριακή διασπορά) και 25,9, 161,6 στους cRA (μη σημαντικό). Από την ROC καμπύλη υπολογίζεται, ότι για ειδικότητα 98,5% του CCP2 και του RF, το όριο θετικότητας προσαρμόζεται στα 40 IU/ml και 268 IU/ml αντίστοιχα. Ασθενείς με εξωαρθρικές εκδηλώσεις ήταν πιο πιθανό να έχουν RF πάνω από 268 IU/ml από ότι ασθενείς χωρίς ( $p = 0,01$ ). Η εξωαρθρική εκδήλωση που σχετίζονταν με RF > 268 IU/ml ήταν το σύνδρομο sicca ( $p = 0,006$ ) και όχι η πνευμονική ίνωση και η ορογονίτιδα.

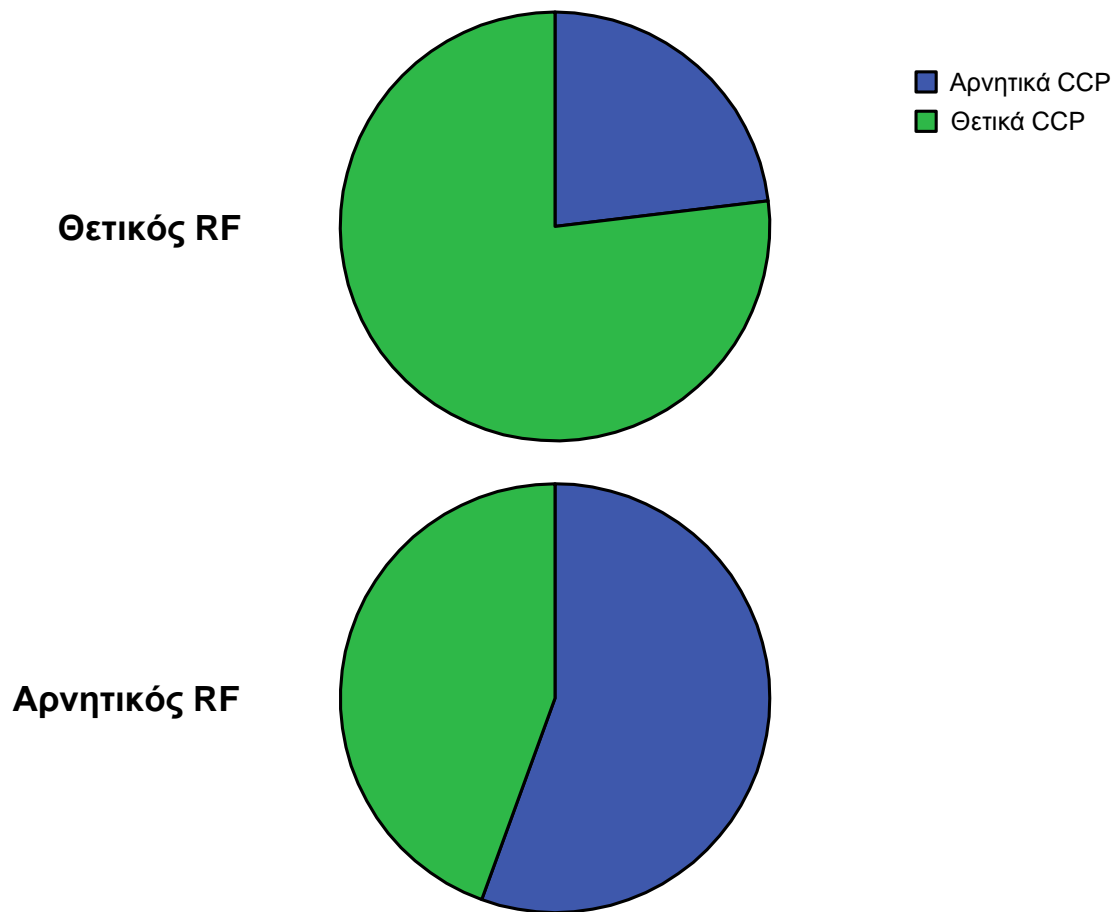
Οι PA ασθενείς με υψηλά επίπεδα αντι-CCP2 αντισωμάτων στον ορό είχαν περισσότερες πιθανότητες να παρουσιάσουν εξωαρθρική εκδήλωση (ορογονίτιδα και πνευμονική ίνωση) παρά οι PA ασθενείς χωρίς υψηλές τιμές αντι-CCP2 αντισωμάτων στον ορό ( $p = 0,03$ ).

**Πίνακας 3.1.1: Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΡΑ**

<u>Χαρακτηριστικό</u>	<u>Τιμή(μέση <math>\pm</math> σταθερή απόκλιση)</u>
Φύλο (%γυναίκες)	75%
Ηλικία	60,3 ( $\pm 12,8$ )
Διάρκεια νόσου (n=153)	11,3 ( $\pm 0,8$ )
Πρωινή δυσκαμψία (n=137)	32,9 ( $\pm 52,6$ )
Ευαίσθητες αρθρώσεις (n=153)	8,0 ( $\pm 7,0$ )
Διογκωμένες αρθρώσεις (n=153)	3,0 ( $\pm 5,0$ )
TKE (n=152)	30,9 ( $\pm 22,8$ )
CRP (n=143)	1,8 ( $\pm 3,3$ )
DAS28 (n= 152)	4,5 ( $\pm 1,6$ )
Larsen σκορ (n=131)	2,1 ( $\pm 1,1$ )
Αντι-CCP αντισώματα (n=155)	81,9 ( $\pm 115,4$ )
RF (n=155)	246,3 ( $\pm 508,1$ )

**Πίνακας 3.1.2: Αντι-CCP2 αντισώματα και RF σε ασθενείς με και χωρίς ΡΑ και φυσιολογικούς**

<u>Νόσος (αριθμός)</u>	<u>αντι-CCP (%)</u>	<u>RF (%)</u>
Ρευματοειδής αρθρίτιδα (155)	98 (63,2)	92 (59,1)
Σπονδυλαρθρίτιδες (53)	2 (3,8)	5 (9,4)
Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (32)	2 (6,2)	6 (18,7)
Σύνδρομο Sjogren (17)	3 (17,6)	3 (17,6)
Οστεοαρθρίτιδα (19)	0 (0,0)	0 (0,0)
Αγγειίτιδα (15)	3 (20)	4 (26,7)
Ρευματική Πολυμυαλγία (11)	0 (0,0)	0 (0,0)
Κρυσταλλογενής αρθρίτιδα (7)	0 (0,0)	1 (14,3)
Νόσος Still των ενηλίκων (5)	0 (0,0)	0 (0,0)
Συστηματικό σκληρόδερμα (5)	1 (20)	1 (20)
Νεανική Ιδιοπαθής Αρθρίτιδα (4)	1 (25)	1 (25)
Βρουκέλλωση (4)	2 (50)	1 (25)
Άλλες νόσοι (6)	0 (0,0)	0 (0,0)
Υγιείς αιμοδότες (100)	0 (0,0)	3(3,0)



**Εικόνα 3.1.1: Τα αντι-CCP σε RF θετικούς και RF αρνητικούς ασθενείς με ΡΑ.**

Θετικός RF = 92 ασθενείς, αρνητικός RF = 63 ασθενείς.

RF (+) με CCP (+) = 76 στους 92 RF (+) ασθενείς. RF (-) αλλά CCP (+) = 22 στους 63 RF (-) ασθενείς.

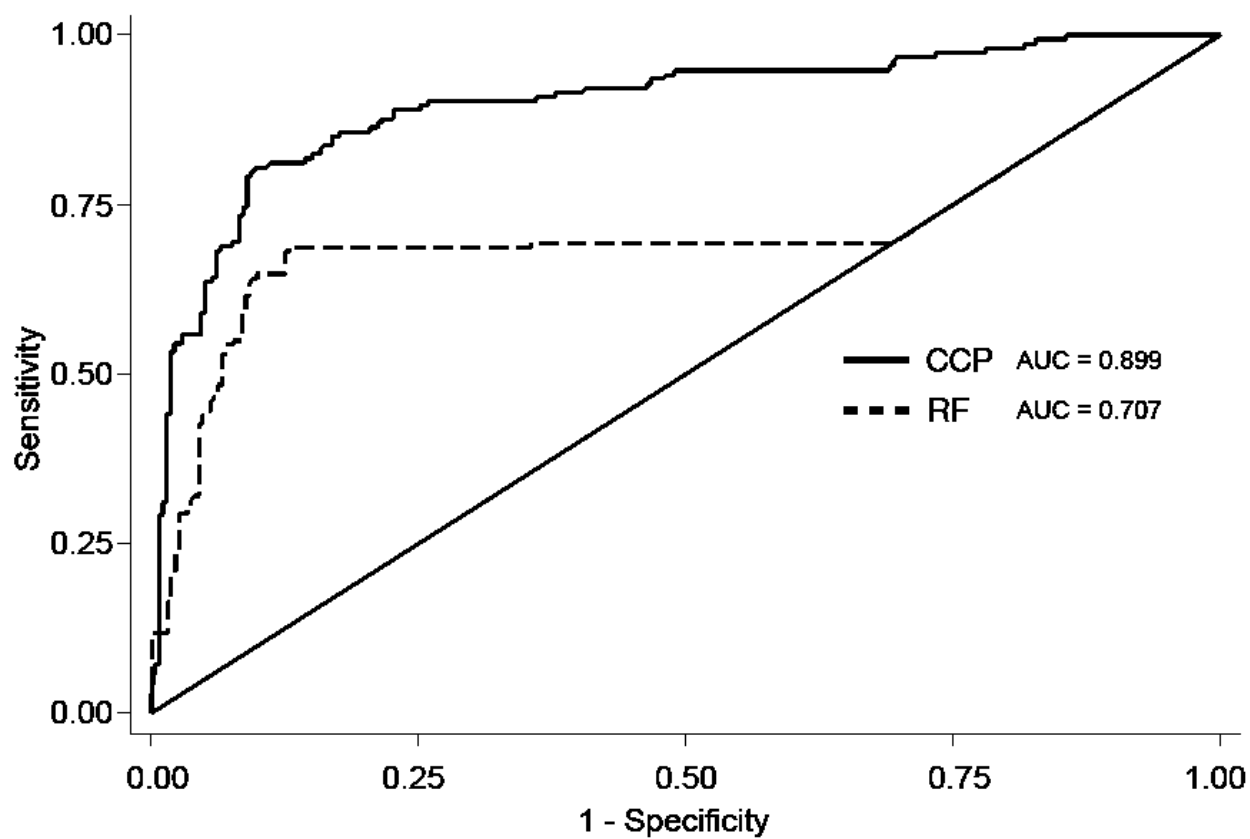
**Πίνακας 3.2.1 Διαγνωστικά χαρακτηριστικά των αντι-CCP αντισωμάτων  
και του RF στη ρευματοειδή αρθρίτιδα**

<b>Αντι-CCP</b>	<b>PA vs μη-PA</b>	<b>PA vs άλλες νόσοι</b>	<b>PA vs υγιείς αιμοδότες</b>
<b>AUC</b>	0,899 (95% CI: 0,866 – 0,932)	0,871 (95% CI: 0,831 – 0,911)	0,949 (95% CI: 0,923 – 0,975)
<b>Ευαισθησία*</b>	63,64% (95% CI: 55,79% - 70,82%)	63,64% (95% CI: 55,79% - 70,82%)	63,64% (95% CI: 55,79% - 70,82%)
<b>Ειδικότητα*</b>	94,96% (95% CI: 91,73% - 96,98%)	92,13% (95% CI: 87,23% - 95,26%)	100% (95% CI: 96,38% - 100%)
<b>PPV*</b>	87,50% (95% CI: 80,11% - 92,41%)	87,50% (95% CI: 80,11% - 92,41%)	100% (95% CI: 96,23% - 100%)
<b>NPV*</b>	83,80% (95% CI: 80,03% - 86,97%)	74,55% (95% CI: 68,40% - 79,85%)	64,10% (95% CI: 56,32% - 71,21%)
<b>LR +*</b>	12,64 (95% CI: 10,86 – 14,70)	8,09 (95% CI: 6,95 – 9,41)	<b>Απροσδιόριστο</b>
<b>LR -*</b>	0,38 (95% CI: 0,37 – 0,40)	0,39 (95% CI: 0,38 – 0,41)	0,37 (95% CI: 0,35 – 0,38)
<b>Διαγνωστικός OR*</b>	33 (95% CI: 17,58 – 61,95)	20,50 (95% CI: 10,84 – 38,76)	<b>Απροσδιόριστο</b>

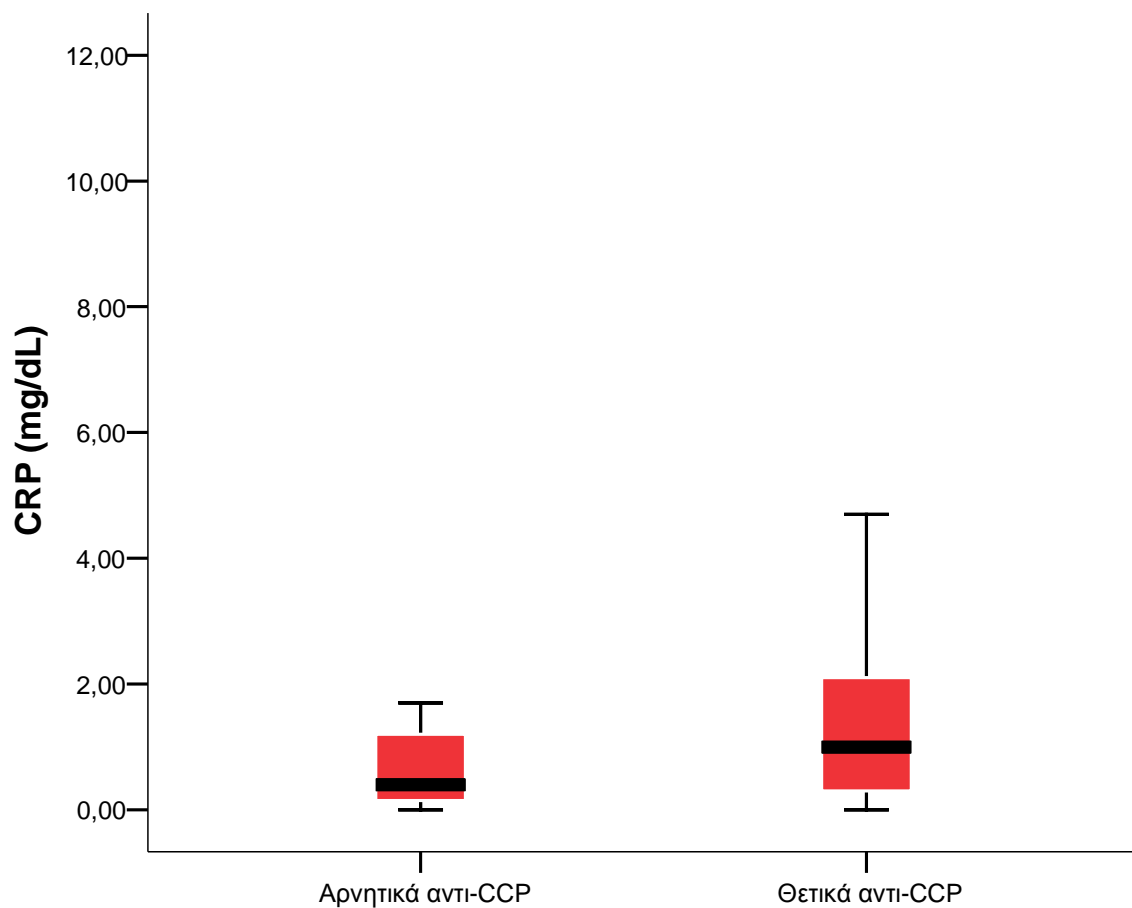
<b>RF</b>	<b>PA vs μη-PA</b>	<b>PA vs άλλες νόσοι</b>	<b>PA vs υγιείς αιμοδότες</b>
<b>AUC</b>	0,707 (95% CI: 0,643 – 0,767)	0,719 (95% CI: 0,659 – 0,778)	0,682 (95% CI: 0,609 – 0,755)
<b>Ευαισθησία*</b>	59,09% (95% CI: 51,20% - 66,54%)	59,09% (95% CI: 51,20% - 66,54%)	59,09% (95% CI: 51,20% - 66,54%)
<b>Ειδικότητα*</b>	91,24% (95% CI: 87,30% - 94,04%)	87,93% (95% CI: 82,25% - 91,97%)	97,00% (95% CI: 91,55% - 98,97%)
<b>PPV*</b>	79,13% (95% CI: 70,82% - 85,56%)	81,25% (95% CI: 73,03% - 87,40%)	96,81% (95% CI: 91,03% - 98,91%)
<b>NPV*</b>	79,87% (95% CI: 75,08% - 83,94%)	70,83% (95% CI: 64,45% - 76,49%)	60,62% (95% CI: 52,89% - 67,86%)
<b>LR +*</b>	6,75 (95% CI: 6,13 – 7,43)	4,89 (95% CI: 4,39 – 5,46)	19,70 (95% CI: 10,10 – 38,43)
<b>LR -*</b>	0,45 (95% CI: 0,43 – 0,46)	0,47 (95% CI: 0,45 – 0,48)	0,42 (95% CI: 0,41 – 0,44)
<b>Διαγνωστικός OR*</b>	15,05 (95% CI: 8,88 – 25,51)	10,52 (95% CI: 6,02 – 18,38)	46,70 (95% CI: 14,17 – 154,00)

AUC= περιοχή κάτω από την καμπύλη, PPV= θετική προβλεπτική αξία, NPV= αρνητική προβλεπτική αξία, LR+ = αναλογία πιθανότητας για θετικό τεστ, LR- = αναλογία πιθανότητας για αρνητικό τεστ, OR= odds ratio

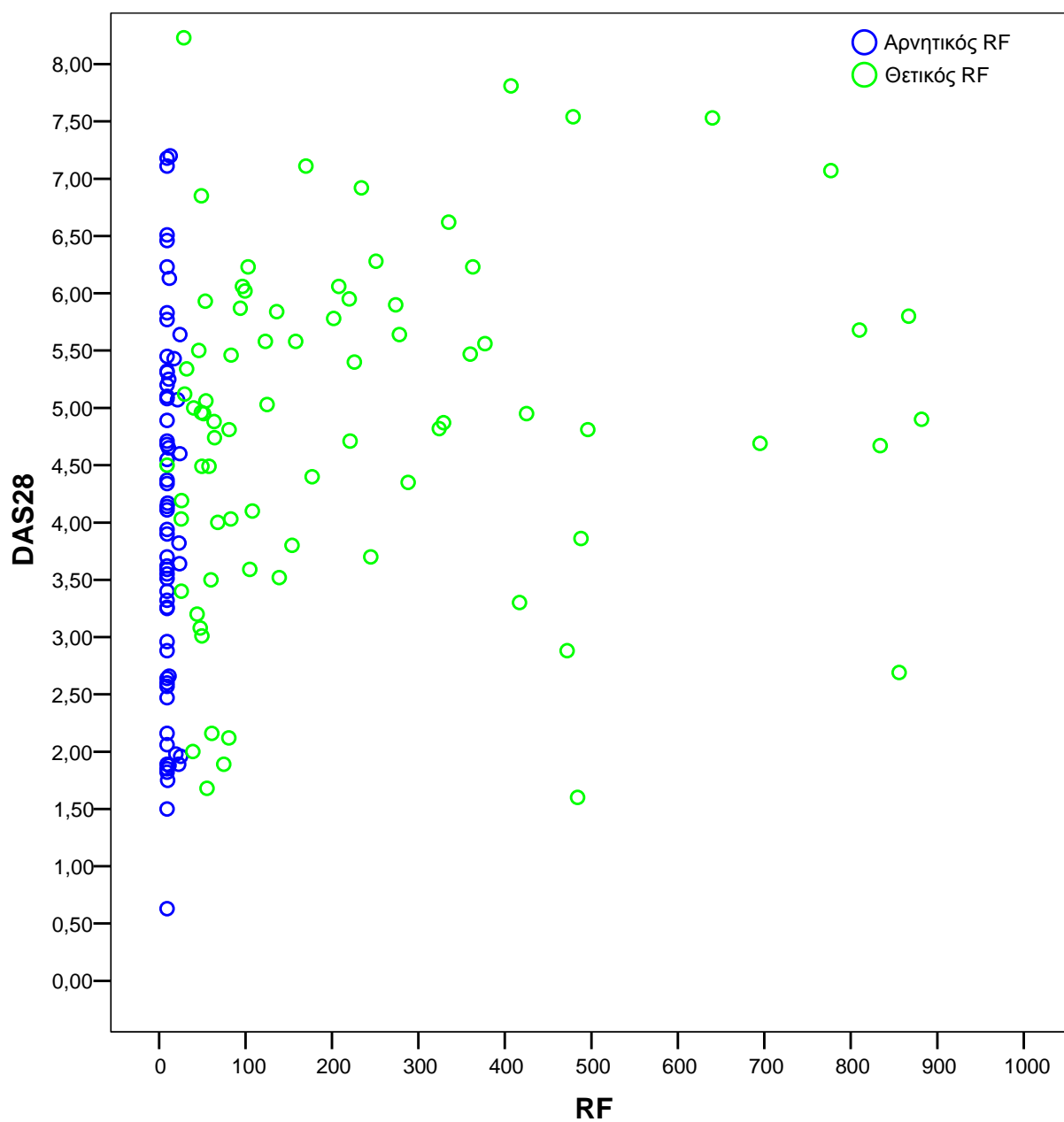




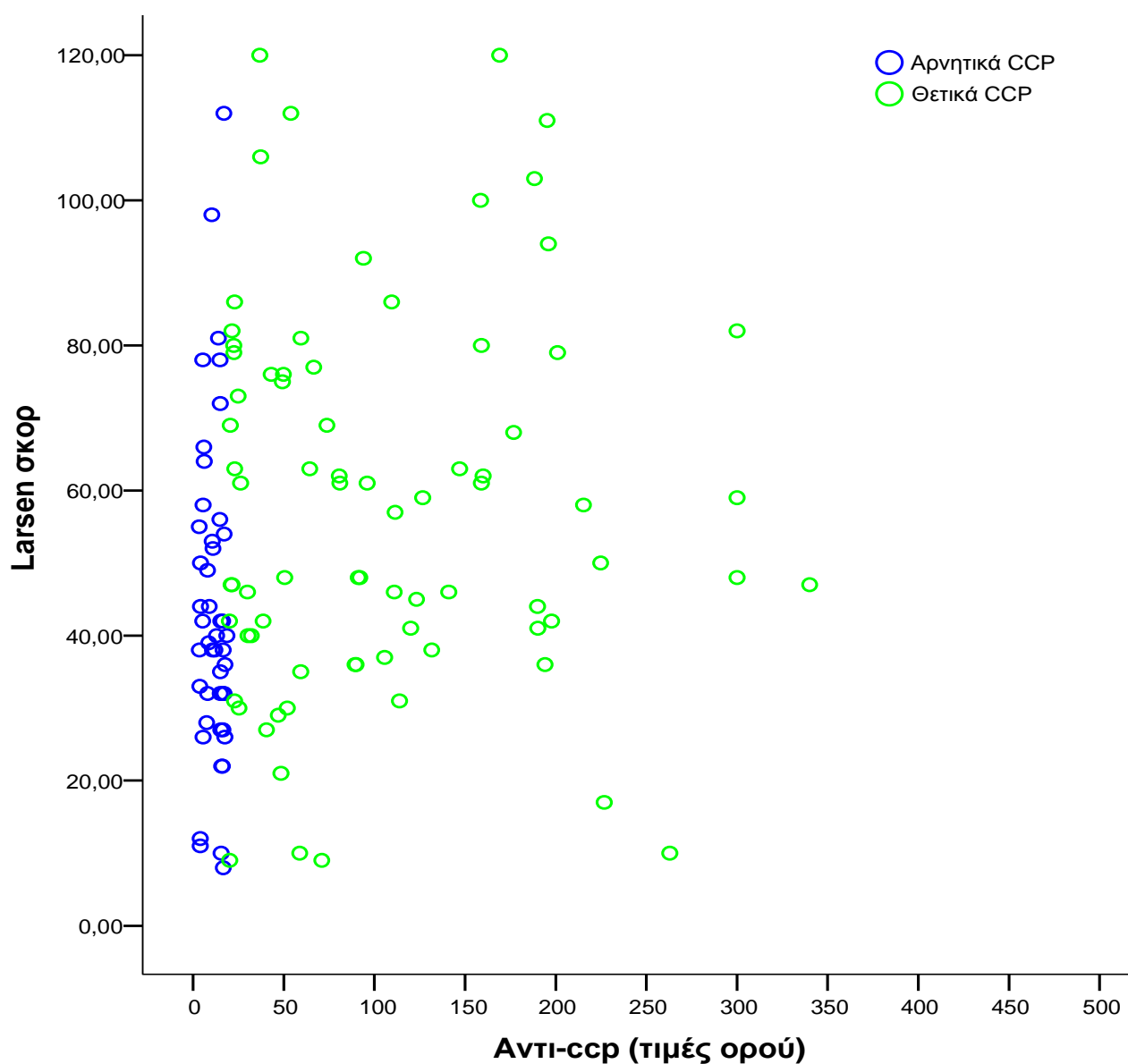
**Εικόνα 3.2.1: Η ROC (Receiver Operating Characteristics) καμπύλη για τα αντι-CCP2 αντισώματα και τον RF.**



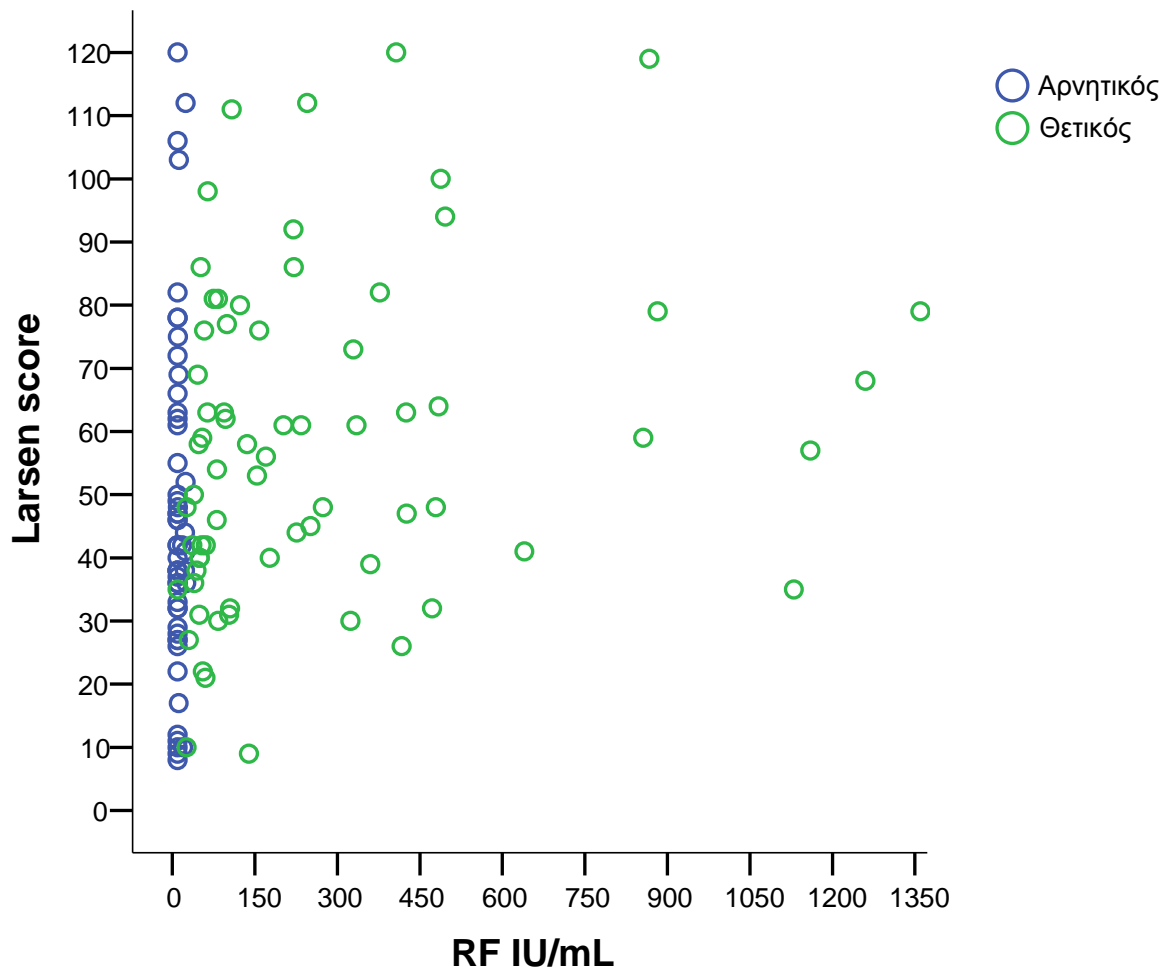
**Εικόνα 3.3.1: Επίπεδα της CRP σε αντι-CCP θετικούς και αντι-CCP αρνητικούς ασθενείς με ΡΑ**



**Εικόνα 3.3.2: Γραφική απεικόνιση της συσχέτισης του δείκτη ενεργότητας DAS28 με τον RF.**



**Εικόνα 3.4.1: Γραφική απεικόνιση της συσχέτισης των αντι-CCP2 και του ακτινολογικού δείκτη Larsen**



**Εικόνα 3.4.2: Γραφική απεικόνιση συσχέτισης του RF με τον ακτινολογικό δείκτη Larsen.**

**Πίνακας 3.5.1: Αντι-CCP2 αντισώματα σε ασθενείς με ΡΑ και εξωαρθρικές εκδηλώσεις (exRA) και σε ασθενείς με ΡΑ αλλά χωρίς ποτέ καμία εξωαρθρική εκδήλωση (cRA).**

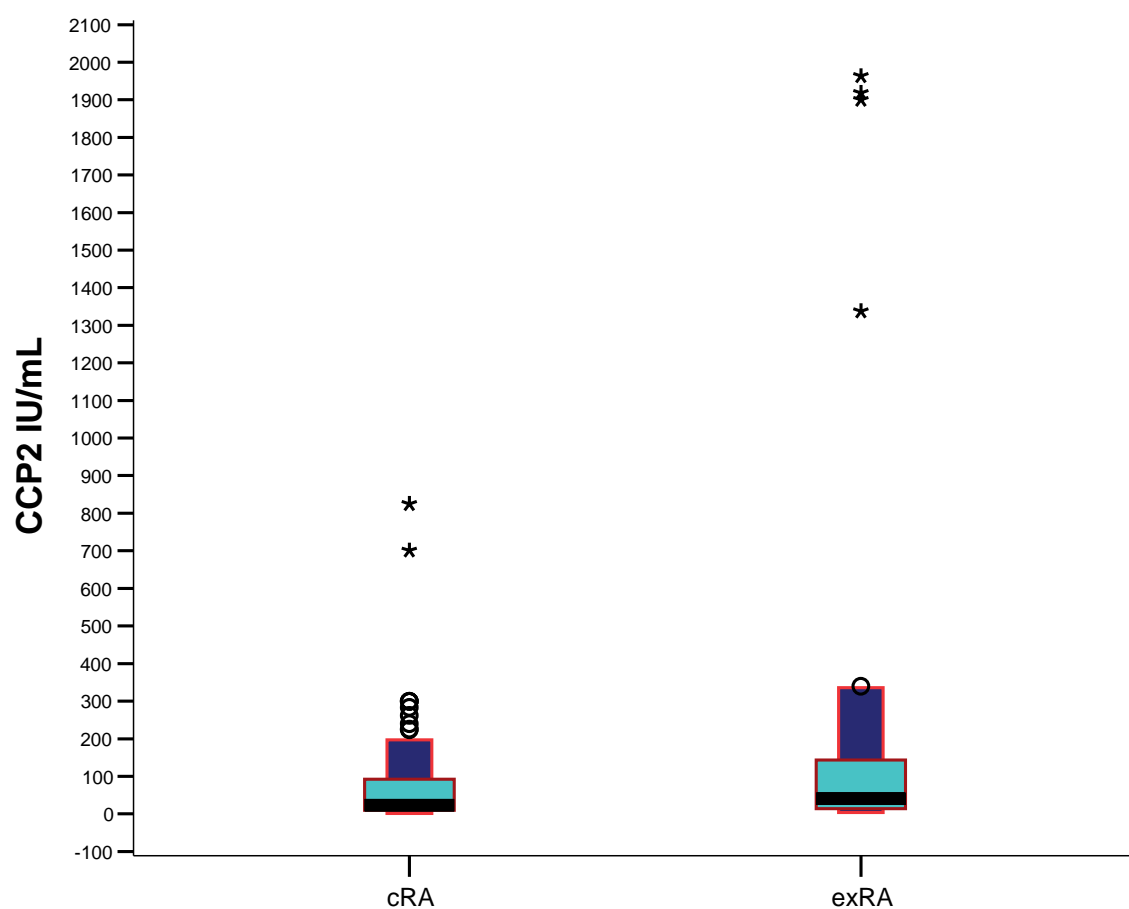
Νόσος	αντι-CCP2 abs (median,IQR)	CCP2-θετικοί(%)
<b>exRA</b> (n = 95, F=76)	40,0, 133,0	62(65,3)
Εξωαρθρική εκδήλωση		
-Ρευματικά οζίδια (n=10)	94,0, 119,0	6(60,0)
-Πνευμονική ίνωση (n=11)	158,0, 210,0*	10(90,9)**
-Ορογονίτιδα (n=17)	105,0, 175,0***	14(82,4)
-Αγγειίτιδα δέρματος (n=2)	52,0, 104,0	1(50,0)
-Νευροπάθεια (n=5)	53,0, 86,0	3(60,0)
-Sicca σύνδρομο (n=53)	41,0, 137,5	35(66,0)
-Felty σύνδρομο (n=4)	103,0, 156,0	4(100)
-Raynaud φαινόμενο (n=14)	12,5, 131,7	6(42,9)
<b>cRA</b> (n=125, F=96)	23,0, 82,0	73(58,4)

\* p=0,004

\*\* p=0,03

\*\*\* p=0,01

n = αριθμός ασθενών, F = γυναίκες, abs = αντισώματα, median = διάμεσος, IQR = ενδοτεταρτημοριακή διασπορά



**Εικόνα 3.5.1: Επίπεδα αντι-CCP2 αντισωμάτων σε ασθενείς με εξωαρθρικές εκδηλώσεις (exRA) και χωρίς (cRA).**

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η πρώτη μελέτη για τα αντι-CCP αντισώματα (CCP1 τεστ) έδειξε ευαισθησία 68% και ειδικότητα 98% για τη PA (Schellekens et al 2000), ενώ οι ίδιοι ερευνητές όταν ανέλυσαν ασθενείς από άλλα κέντρα βρήκαν ευαισθησία 45-80% και ειδικότητα 96-100% (Schellekens et al 2000). Άλλες μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκε το CCP2 τεστ βρήκαν ευαισθησία 64-74% και επιβεβαίωσαν την υψηλή ειδικότητα του τεστ (90-99%) (Lee et al 2003, Suzuki et al 2003, de Rycke et al 2004, Dubucquoi et al 2004, Kastbom et al 2004, Vallbracht et al 2004, Zendman et al 2006). Τα αντι-CCP αντισώματα (CCP1 τεστ) χρησιμοποιήθηκαν για τη διάγνωση επιμένουσας αρθρίτιδας σε σχέση με παροδική αρθρίτιδα (Visser et al 2002) ή για τη διαφοροδιάγνωση της PA (CCP2 τεστ) από την αδιαφοροποίητη αρθρίτιδα πρόσφατης έναρξης (van Gaalen et al 2004). Μετά 3 χρόνια παρακολούθησης οι van Gaalen et al (2004) βρήκαν ότι PA αναπτύχθηκε στο 93% των αντι-CCP2 (+) και μόνο στο 25% των αντι-CCP2 (-) ασθενών (odds ratio 37,8% με 95% CI 13,8-111,9). Τα ευρήματά μας ότι τα αντι-CCP2 αντισώματα έχουν ευαισθησία 63,2% και ειδικότητα 95% για τη PA σε Έλληνες ασθενείς είναι σε συμφωνία με τις μελέτες αυτές.

Τα αντι-CCP2 αντισώματα είχαν καλύτερη διαγνωστική αξία από τον RF για τη PA. Όταν εξετάζονται ταυτόχρονα, AUC για τα αντι-CCP2 αντισώματα ήταν 0,90 (με 95% ζώνη αξιοπιστίας 0,87-0,93) ενώ για τον RF ήταν 0,71 (με 95% ζώνη αξιοπιστίας 0,64-0,77). Όταν εξετάστηκαν χωριστά, η ευαισθησία των αντι-CCP2 αντισωμάτων και του RF για τη PA ήταν αντίστοιχα 0,63 και 0,59, ενώ η ειδικότητα ήταν 0,95 και 0,91, αντίστοιχα. Τα



αντι-CCP2 αντισώματα υπερείχαν και σε άλλους στατιστικούς δείκτες. Η θετική προβλεπτική αξία (positive predictive value) των αντι-CCP2 αντισωμάτων ήταν υψηλότερη σε σχέση με το RF (87,5 σε σχέση με 79,1), ενώ η αρνητική προβλεπτική αξία (negative predictive value) ήταν 0,84 για τα αντι-CCP2 αντισώματα και 0,79 για τον RF. Το OR (odds ratio) για τα αντι-CCP2 αντισώματα στη PA ήταν 33 ενώ για τον RF στη PA ήταν 15.

Η διαφορετική συχνότητα των αντι-CCP αντισωμάτων σε διαφορετικούς πληθυσμούς PA μπορεί να εξηγηθεί ως εξής:

(α) Τα αντι-CCP αντισώματα αναγνωρίζουν διαφορετικούς επίτοπους στα μόρια που περιέχουν κιτρολλίνη και οροί διαφόρων ασθενών με PA μπορεί να περιέχουν διαφορετικούς υπότυπους αντι-CCP αντισωμάτων (Schellekens et al 1998, Bizzaro et al 2001).

(β) Όπως διαπιστώθηκε για άλλα αυτοαντισώματα σε άλλες αυτοάνοσους νόσους, η παραγωγή των αντι-CCP αντισωμάτων στη PA επηρεάζεται από τα αλληλία HLA. Τα επίπεδα των αντι-CCP αντισωμάτων στον ορό ασθενών με PA που έφεραν τον κοινό επίτοπο HLA-DRB1 ήταν υψηλότερα από ότι σε ασθενείς με PA χωρίς τον κοινό επίτοπο (van Gaalen et al 2004).

(γ) Τέλος, η θεραπεία της PA μπορεί να μειώνει τον τίτλο των αντι-CCP αντισωμάτων. Θεραπεία με αντι-TNFα έχει βρεθεί ότι μειώνει τα επίπεδα των αντι-CCP αντισωμάτων (Alessandri et al 2004).

Η μεγάλη ειδικότητα των αντι-CCP2 αντισωμάτων είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στους RF(-) ασθενείς. Στη μελέτη μας η συχνότητα των αντι-CCP αντισωμάτων στους RF(-) ασθενείς με PA ήταν 34,9%, αλλά έχει αναφερθεί έως 40% (Kastbom et al 2004). Σχεδόν το 1/3 των αντι-CCP(-) ασθενών με

ΡΑ (28,1%) ήταν RF(+). Η παρουσία και των δυο αντισωμάτων αύξανε την ειδικότητα στην ΡΑ στο 98,2% ενώ η παρουσία είτε του ενός είτε του άλλου αντισώματος αύξανε την ευαισθησία στο 75,5%. Αυτό υποδηλώνει ότι σε έναν ασθενή με αρθρίτιδα πρόσφατης έναρξης είναι χρήσιμο να γίνονται και τα δύο τεστ.

Το σχετικά χαμηλό ποσοστό του ρευματοειδούς παράγοντα των ασθενών μας με ΡΑ μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι οι ασθενείς μας περιλαμβάνουν όλο το φάσμα της βαρύτητας/ενεργότητας, λόγω της μορφής του συστήματος Υγειονομικής περίθαλψης στην Ελλάδα: Το νοσοκομείο μας λειτουργεί ως κέντρο πρωτοβάθμιας φροντίδας, αλλά και ως κέντρο δευτεροβάθμιας και τριτοβάθμιας φροντίδας. Σε άλλες χώρες, όπου τα Πανεπιστημιακά νοσοκομεία δέχονται μόνο παραπομπές από τους γενικούς Ιατρούς, η ομάδα ΡΑ μπορεί να περιλαμβάνει μόνο τις πιο βαριές περιπτώσεις.

Σε συμφωνία με μια δημοσίευση (Kastbom et al 2004), η μελέτη μας βρήκε συσχέτιση των αντι-CCP2 αντισωμάτων με την ενεργότητα της ΡΑ, όπως αυτή ορίζεται από τον αριθμό των διογκωμένων αρθρώσεων και τη συγκέντρωση του CRP. Ασθενείς με υψηλό DAS28 σκορ ήταν περισσότερο πιθανό να έχουν αντι-CCP2 αντισώματα, παρά οι ασθενείς με χαμηλό DAS28 σκορ ( $p < 0,001$ ). Ωστόσο δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των αντι-CCP2 αντισωμάτων και του δείκτη DAS28 (Spearman correlation  $r = 0,13$ ,  $p = 0,12$ ).

Η μελέτη μας έδειξε στατιστική συσχέτιση (correlation) μεταξύ των αντι-CCP2 αντισωμάτων και της ακτινολογικής βλάβης των αρθρώσεων στη ΡΑ. Η μελέτη μας είναι επίσης σε συμφωνία με μια άλλη μελέτη που βρήκε ότι τα

αντι-CCP αντισώματα μόνα τους ή μαζί με τον κοινό επίτοπο HLA-DRB1 συσχετίζονται με την ακτινολογική βλάβη των αρθρώσεων στη ΡΑ (de Rycke et al 2004). Σε μελέτες μακροχρόνιας παρακολούθησης των ασθενών με ΡΑ, τα αντι-CCP αντισώματα, μόνα τους (Ronnellid et al 2005) ή μαζί με τον κοινό επίτοπο HLA-DRB1 (van Gaalen et al 2004) συσχετίζονται με ταχύτερες ακτινολογικές αλλοιώσεις των αρθρώσεων. Σε ανάλυση πολλαπλής στατιστικής εξάρτησης (multiple regression), τα αντι-CCP1 αντισώματα (Kroot et al 2000) και τα αντι-CCP2 αντισώματα (Forslind et al 2004) αποτελούν προγνωστικούς δείκτες ακτινολογικών αλλοιώσεων των αρθρώσεων στη ΡΑ.

Στη μελέτη μας επίσης βρέθηκε στατιστική συσχέτιση μεταξύ του ρευματοειδούς παράγοντα και του ακτινογραφικού σκορ Larsen των αρθρώσεων. Παρομοίως, μια πρόσφατη μελέτη με ΡΑ πολύ πρόσφατης έναρξης που παρακολουθήθηκαν τουλάχιστον επί 3 έτη, ο RF ή και τα αντι-CCP2 αντισώματα ήταν οι καλύτεροι προγνωστικοί δείκτες ακτινογραφικών βλαβών των αρθρώσεων (Nachold et al 2007).

Πρέπει όμως να υπενθυμίσουμε ότι η μελέτης μας είναι εγκάρσιας διατομής (cross-sectional) και δεν παρακολούθησε τους ασθενείς επί πολλά έτη για να μελετήσει τη σημασία των αντι-CCP2 αντισωμάτων για τη βλάβη των αρθρώσεων. Μια τέτοια ανάλυση θα απαιτούσε προοπτική μελέτη σε βάθος χρόνου. Παρόλα αυτά, η μελέτη μας έδειξε συσχέτιση των αντι-CCP2 αντισωμάτων με την ακτινολογική βλάβη της άρθρωσης.

Οι προαναφερθείσες μελέτες, μαζί με τη δική μας υποδηλώνουν ότι τα αντι-CCP2 αντισώματα και ο ρευματοειδής παράγοντας είναι χρήσιμα για την πρόβλεψη βαρύτερης πορείας ΡΑ με βαρύτερες ακτινολογικές αλλοιώσεις των αρθρώσεων και στους Έλληνες ασθενείς με ΡΑ.

Οι εξωαρθρικές εκδηλώσεις αποτελούν δείκτη βαρύτητας της PA, επειδή αυξάνουν την νοσηρότητα και την θνητότητα σε ασθενείς με PA (Gabriel et al 2003). Για τη μελέτη των εξωαρθρικών εκδηλώσεων χρησιμοποιήθηκαν συνολικά συνεχόμενοι 220 ασθενείς με PA, που παρακολουθούνται στα Εξωτερικά Ρευματολογικά Ιατρεία του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Όλοι οι ασθενείς ήταν Έλληνες.

Τα επίπεδα των αντι-CCP2 αντισωμάτων στους exRA δεν διέφεραν σημαντικά από τους cRA. Ωστόσο, τα επίπεδα των αντι-CCP2 αντισωμάτων ήταν υψηλότερα στους ασθενείς με πνευμονική ίνωση και ορογονίτιδα. Επίσης, η συχνότητα των CCP2 θετικών ασθενών με πνευμονική ίνωση ήταν σημαντικά αυξημένη σε σχέση με τους μάρτυρες (cRA). Ακόμη, ασθενείς με υψηλά επίπεδα αντι-CCP2 αντισωμάτων (πάνω από 100 IU/ml) ήταν πιο πιθανό να έχουν εξωαρθρικές εκδηλώσεις, και κυρίως πνευμονική ίνωση και ορογονίτιδα, από ότι ασθενείς χωρίς υψηλά επίπεδα αντι-CCP2 αντισωμάτων.

Τα επίπεδα του RF στους ασθενείς με exRA δεν διέφεραν σημαντικά από τα επίπεδα του RF στους ασθενείς με cRA. Ωστόσο ασθενείς με σύνδρομο sicca ήταν πιο πιθανό να έχουν υψηλό RF (πάνω από 268 IU/ml). Η τιμή αυτή του RF υπολογίζεται από την καμπύλη ROC ως όριο (cut-off) για να έχει ο RF ειδικότητα 98,5% για την PA.

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν δυο μελέτες, από τις οποίες η μια δεν βρήκε συσχέτιση με αντι-CCP αντισώματα (de Ryke et al 2004), ενώ η άλλη μελέτη βρήκε συσχέτιση μεταξύ RF και εξωαρθρικών εκδηλώσεων, και λιγότερο δυνατή συσχέτιση μεταξύ αντι-CCP αντισωμάτων και εξωαρθρικών εκδηλώσεων (Turesson et al 2007).

Η μέτρια ευαισθησία με τη μεγάλη ειδικότητα των αντι-CCP2 αντισωμάτων, μαζί με το γεγονός ότι εμφανίζονται πριν την κλινική εκδήλωση της νόσου (Berglin et al 2004, Vittecoq et al 2004) υποδηλώνει ότι τα αντι-CCP2 αντισώματα πρέπει να περιληφθούν στα κριτήρια της PA. Επιπρόσθετα, η στατιστική συσχέτιση των αντι-CCP2 αντισωμάτων και του ρευματοειδούς παράγοντα με την ακτινολογική βλάβη των αρθρώσεων στη PA (Kroot et al 2000, Forslind et al 2004, van Gaalen et al 2004, Ronnelid et al 2005, Machold et al 2007) παρέχει επιπρόσθετη βοήθεια στους κλινικούς ιατρούς να αποφασίσουν ενωρίς επιθετική θεραπεία και στενή παρακολούθηση για τυχόν έγκαιρη τροποποίηση της θεραπείας για ένα ασθενή με PA που έχει αυξημένες πιθανότητες να έχει σοβαρή κλινική πορεία νόσου.

Όσο πιο νωρίς γίνεται η διάγνωση της PA και εφαρμόζεται νοσοτροποποιητική θεραπεία τόσο πιο καλή γίνεται η πρόγνωση της νόσου (O'Dell 2002). Η εφαρμογή θεραπείας με νοσο-τροποποιητικά φάρμακα ενωρίς καθυστερεί τη βλάβη των αρθρώσεων (Egsmose et al 1995). Σε μια μετα-ανάλυση 14 τυχαιοποιημένων μελετών, 53% των ασθενών στους οποίους έγινε η διάγνωση της PA και πήραν θεραπεία εντός ενός έτους από την έναρξη της νόσου είχαν καλή ανταπόκριση στη θεραπεία σε σχέση με το 35% των ασθενών στους οποίους η διάγνωση και θεραπεία καθυστέρησε 10 ή περισσότερα έτη (Anderson et al 2000). Μάλιστα συνδυασμός νοσοτροποποιητικών φαρμάκων ενωρίς μετά την έναρξη της νόσου είναι πιο αποτελεσματικός σε σχέση με τη μονοθεραπεία στην καθυστέρηση των ακτινολογικών αλλοιώσεων τα επόμενα έτη (Mottonen et al 1999, Landewe et al 2002, Korpela et al 2004). Ακόμα πιο σημαντικό είναι το εύρημα ότι πρώιμη

θεραπεία με αντι-TNFα παράγοντα αναστέλλει τις ακτινολογικές αλλοιώσεις της ΡΑ (Genovese et al 2002, Breedveld et al 2004).

### **Συμπεράσματα**

1. Τα αντι-CCP2 αντισώματα έχουν καλύτερη διαγνωστική αξία από το ρευματοειδή παράγοντα για τη ΡΑ σε Έλληνες ασθενείς.

2. Ένα σημαντικό ποσοστό (34,9%) των RF(-) ασθενών με ΡΑ έχουν αντι-CCP2 αντισώματα. Επίσης ένα σημαντικό ποσοστό CCP2(-) ασθενών με ΡΑ έχουν RF. Άρα είναι χρήσιμη η αναζήτηση και των δυο αντισωμάτων.

3. Τα αντι-CCP2 αντισώματα συσχετίζονται με ενεργότητα της ΡΑ. Ασθενείς με αντι-CCP2 αντισώματα έχουν περισσότερες πιθανότητες να έχουν πιο πολλές διογκωμένες αρθρώσεις και υψηλότερη CRP ορού σε σχέση με ασθενείς χωρίς αντι-CCP2 αντισώματα.

4. Υπάρχει μέτρια στατιστική συσχέτιση μεταξύ αντι-CCP2 αντισωμάτων και ακτινολογικής βλάβης των αρθρώσεων στη ΡΑ.

5. Τα αντι-CCP2 αντισώματα συσχετίζονται με τις εξωαρθρικές εκδηλώσεις πνευμονική ίνωση και ορογονίτιδα (πλευρίτιδα, περικαρδίτιδα). Αντίθετα, δεν υπάρχει συσχέτιση του RF με τις εξωαρθρικές εκδηλώσεις.

Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι το αντι-CCP2 τεστ αυξάνει τις πιθανότητες για την έγκαιρη διάγνωση της ΡΑ και την πρόβλεψη βαρύτερης πορείας της ΡΑ. Για το λόγο αυτό το αντι-CCP2 τεστ είναι χρήσιμο στην καθημερινή ρευματολογική πρακτική άσκηση.

## 5. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΑΠΟ ΤΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ioannis Alexiou, Anastasios Germanis, Athanasios Ziogas, Katerina Theodoridou, Lazaros I. Sakkas

«Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in Greek patients with rheumatoid arthritis»

BMC Musculoskeletal Disorders 2007, 8: 37

Ioannis Alexiou, Anastasios Germanis, Athanasios Ziogas, Athanasios Koutroumbas, Katerina Theodoridou, Anastasia Kontogianni, Lazaros I. Sakkas. Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in Greek patients with rheumatoid arthritis: Association with extra-articular manifestations. Arthritis Res Ther 2007 (Abstract)

## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) ACR subcommittee on RA Guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 328-46.
- 2) Alenius GM, Berglin E, Rantapaa-Dahlqvist S. Antibodies against cyclic citrullinated peptide (CCP) in psoriatic patients with or without joint inflammation. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 398-400
- 3) Alessandri C, Bombardieri M, Papa N, Cinquini M, Magrini L, Tincani A, Vaestini G. Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti-TNF $\alpha$  therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1218-21.
- 4) American College of Rheumatology Subcommittee on rheumatoid arthritis guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis:2002 update. *Arthritis Rheum* 2002;46:328-46.
- 5) Anderson JJ, Wells G, Verhoeven AC, Felson DT. Factors predicting response to treatment in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:22-9
- 6) Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS, Medsger TA, Mitchel DM, Neustadt DH, Pinals RS, Schaller JG, Sharp JT, Wilder RL, Hunder GG. The



American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.

7) 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; 65 845-851

8) Backhaus M, Burmester GR, Sandrock D, Loreck D, Hess D, Scholz A et al. Prospective two year follow up study comparing novel and conventional imaging procedures in patients with arthritic finger joints. *Ann Rheum Dis* 202;61:895-904

9) Berglin E, Padyukov L, Sundin U, Hallmans G, Stenlund H, van Venrooij WJ, Klareskog L, Rantapaa-Dahlqvist S. A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: R303-R308.

10) Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chemistry* 2001; 47; 6: 1089-93.

11) Blass S, Union A, Raymackers J, Schumann F, Ungethum U, Muller Steinbach S et al. The stress protein BiP is overexpressed and is a major B and T cell target in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001;44:761-71

12)Boerbooms AMT, Westgeest AAA, Reekers P, van de Putte LBA. Immunogenetic heterogeneity of seronegative rheumatoid arthritis and the perinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1990; 49: 15-17

13)Boki KA, Panayi GS, Vaughan RW, Drosos AA, Moutsopoulos HM, Lanchbury JS. HLA class II sequence polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis in Greeks. The HLA-DR beta shared-epitope hypothesis accounts for the disease in only a minority of Greek patients. *Arthritis Rheum* 1992; 35:749-55

14)Bolon B, Shalhoub V, Kostenuik PJ, Campagnuolo G et al. Osteoprotegerin, an endogenous antiosteoclastic factor for protecting bone in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46:3121-35

15)Breedveld FC, Emery P, Keystone E, Patel K, Furst DE, Kalden JR, stClair EW, Weisman M, Smolen J, Lipsky PE. Maini RN. Infliximab in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004;63:149-55

16)Brower AC. Use of the radiograph to measure the course of rheumatoid arthritis. The gold standard versus the fool's gold. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 316-324

17) Bukhari M, Harrison B, Lund M, Scott DG, Symmons DP, Silman AJ. Time to first occurrence of erosions in inflammatory polyarthritis: results from a prospective community-based study. *Arthritis Rheum* 2001;44:1248-53

18) Bukhari M, Lund M, Harrison BJ, Scott DG, Symmons DP, Silman AJ. Rheumatoid factor is the major predictor of increasing severity of radiographic erosions in rheumatoid arthritis; results from the Norfolk Arthritis Register study, a large inception cohort. *Arthritis Rheum* 2002;46:906-12

19) Campagnuolo G, Bolon B, Feige U. Kinetics of bone protection by recombinant osteoprotegerin therapy in Lewis rats with adjuvant arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46:1926-36

20) Chen HA, Lin KC, Chen CH. The effect of etanercept on anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 35-39

21) Chin JE, Winterrowd GE, Krzesicki RF, Sander ME. Role of cytokines in inflammatory synovitis: the coordinate regulation of intercellular adhesion molecule 1 and HLA class I and class II antigens in rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum* 1990;33:1776-86

22) Choy EHS, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2001;344:907-16

- 23) Chung CP, Oeser A, Raggi P, Gebretsadik T, Shintani AK et al. Increased coronary-artery atherosclerosis in rheumatoid arthritis. Relationship to disease duration and cardiovascular risk factors. *Arthritis Rheum* 2005;52:3045-53
- 24) Cunnane G, FitzGerald O, Hummel KM, Youssef PP, Gay RE, Gay S, Bresnihan B. Synovial tissue protease gene expression and joint erosions in early rheumatoid arthritis. *Arthritis rheum* 2001;44: 1744-53
- 25) Del Rincon I, Freeman GL, Haas RW, O'Leary DH, Escalante A. Relative contribution of cardiovascular risk factors and rheumatoid arthritis clinical manifestations to atherosclerosis. *Arthritis Rheum* 2005;52:3413-23
- 26) De Rycke L, Peene I, Hoffman IEA, Kruithof E, Union A, Meheus L, Lebeer K, Vincent C, Mielants H, Boullart L, Serre G, Veys EM, de Keyser F. Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1587-93
- 27) Dubucquoi S, Solau-Gervais E, Lefranc D, Marguerie L, Sibilia J, Goetz J, Dutoit V, Fauchais A-L, Hachulla E, Flipo R-M, Prin L. Evaluation of the anti-citrullinated filaggrin antibodies as hallmarks for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 415-19.

28) Egsmose C, Lund B, Borg G, Petersson H et al. Patients with rheumatoid arthritis benefit from early 2<sup>nd</sup> line therapy: 5 year follow up of a prospective double-blind study. *J Rheumatol* 1995;22:2208-13

29) EULAR handbook of clinical assessments in rheumatoid arthritis: Radiological measure. 2004: 29.

30) EULAR handbook of clinical assessments in rheumatoid arthritis: Assessment technique. 2004: 13-19.

31) Felson DT, Anderson JJ, Boers M, Bombardier C, Furst D, Goldsmith C et al. American College of Rheumatology preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995;38:727-35

32) Ferrara R, Priolo F, Cammisa M, Bacarini L, Cerase A, Pasero G et al. Clinical trials in rheumatoid arthritis: methodological suggestions for assessing radiographs arising from GRISAR study. *Ann Rheum Dis* 1997; 56: 608-12.

33) Forslind K, Ahlmén M, Eberhardt K, Hafström I, Svensson B for the BARFOT study group. Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1090-95.

34) Fries JF, Spitz P, Kraines RG et al. Measurement of patient outcome in arthritis. *Arthritis Rheum* 1980;23:137-45

35)Fries JF, Block DA, Sharp JT, Mc Shane DJ, Spitz P, Bluhm GB et al. Assessment of radiologic progression in rheumatoid arthritis. A randomised, controlled trial. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 1-9.

36)Gabriel SE, Crowson CS, O'Fallon WM. The epidemiology of rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota, 1955-1985. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 415-20.

37)Gabriel SE, Crowson CS, Kremers HM, Doran MF, Turesson C, O' Fallon WM, Matteson EL. Survival in rheumatoid arthritis: a population-based analysis over 40 years. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 54-58.

38)Genovese MC, Bathon JM, Martin RW, Fleischmann RM, Tesser JR, Schiff MH et al. Etanercept versus methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. Two-year radiographic and clinical outcomes. *Arthritis Rheum* 2002;46:1443-50

39)Girbal E, Sebbag M, Gomès-Daudrix V, Simon M, Vincent C, Serre G. Characterisation of the rat oesophagus epithelium antigens defined by the so-called "antikeratin antibodies", specific for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 749-757

40)Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Arnaud M, Dalbon P, Sebbag M, Vincent C et al: The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated

antifilaggrin autoantibodies are post-translationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues. J Immunol, 1999, 162: 585-594.

41)Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A, Hoxworth J, Yarboro C, Smolen JS, Steiner G et al. Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. Arthritis Res 2000;2:236-43

42)Gottenberg JE, Mignot S, Nicaise-Rolland P, Cohen-Solal J, Aucouturier F, Goetz J et al. Prevalence of anti-cyclic citroullinated peptide and antikeratin antibodies in patients with primary Sjorgen's syndrome. Ann Rheum Dis 2005; 64: 114-117

43)Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1987;30:1205-13

44)Hochberg MC, Chane RW, Dwosh I et al. The American College of Rheumatology 1991 revised criteria for the classification of global functional status in rheumatoid arthritis. Arthritis rheum 1992;25:498-502

45)Hoet RM, Boerbooms AMT, Arends M, Ruiter DJ, van Venrooij WJ. Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalization of the perinuclear factor and profilaggrin. Ann Rheum Dis 1991; 50: 611-618

- 46) Hoffman IEA, Peene I, Cebecauer L, Isenberg D, Huizinga TWJ, Union A et al. Presence of rheumatoid factor antibodies to citrullinated peptides in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 330-332
- 47) Hulsman HMJ, Jacobs JWG, van der Heijde DMFM, van Albada-Kuipers GA, Schenk Y, Bijlsma JWW. The course of radiologic damage during the first six years of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:1927-40
- 48) Janssens X, Veys EM, Verbruggen G, Declercq L. The diagnostic significance of the antiperinuclear factor for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1988; 15: 1346-50
- 49) Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1085-89.
- 50) Kataaha PK, Mortazavi-Milani SM, Russell G, Holborow EJ. Anti-intermediate filaments antibodies, antikeratine antibody, and antiperinuclear factor in rheumatoid arthritis and infectious mononucleosis *Ann Rheum Dis* 1985; 44: 446-449.
- 51) Kaye JJ, Callahan LF, Nance EP. Bony ankylosis in rheumatoid arthritis. Associations with longer duration and greater severity of disease. *Invest Radiology* 1987; 22: 303-309.



52) Keffer J, Probert L, Cazlaris H et al. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor : predictive genetic model of arthritis. *EMBO J* 1991;10:4025-31

53) Kirstein H, Hjarvard K, Moork Hansen T. Antikeratin antibodies in synovial fluid in rheumatoid arthritis. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1989; 97: 185-189

54) Klimiul PA, Goronzy JJ, Bjornsson J, Beckenbaugh A, Weyand CM. Tissue cytokine patterns distinguish variants of rheumatoid synovitis. *Am J Pathol* 1997;151:1311-19

55) Kong YY, Feige U, Sarosi I et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand *Nature* 1999 ;402: 304-9

56) Korpela M, Laasonen L, Hannonen P, Kautiainen H, Leisalo-Repo M, Hakala M et al. Retardation of joint damage in patients with early rheumatoid arthritis by initial aggressive treatment with disease-modifying drugs. Five-year experience from the FIN-RACo study. *Arthritis Rheum* 2004;50:2072-81

57) Kroot E-JJA, de Jong BAW, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen FHJ, van't Hof M, van de Putte LBA, van Rijswijk MH, van Venrooij WJ, van Riel PLCM. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1831–35.

58)Kurki P, Helve T, Virtanen I. Antibodies to cytoplasmic intermediate filaments in rheumatic diseases. J Rheumatol 1983; 10: 558-562.

59)Kurki P, Aho K, Palosuo T, Heliovaara M. Immunopathology of rheumatoid arthritis. Antikeratin antibodies precede the disease. Arthritis Rheum 1992; 35: 914-917.

60)Landowe RBM, Boers M, Verhoeven AC, Westhovens R, van de Laar MA, Markusse HM et al. COBRA combination therapy in patients with early rheumatoid arthritis: long-term structural benefits of a brief intervention. Arthritis Rheum 2002;46:347-56

61)Larsen A, Dale K, Eek M. Radiographic evaluation of rheumatoid arthritis and related conditions by standard reference films. Acta Radiol Diag 1977; 18: 481-491.

62)Larsen A, Horton J, Howland C. The effects of auranofin and parenteral gold in the treatment of rheumatoid arthritis: an X-rays analysis. Clin Rheumatol 1984; 3 (suppl 1): 97-104

63)Larsen A, Thoen J. Hand radiography of 200 patients with rheumatoid arthritis after an interval of one year. Scand J Rheumatol 1987; 16: 395-401.

64)Larsen A. How to apply Larsen score in evaluating radiographs of rheumatoid arthritis in long-term studies? J Rheumatol 1995; 22:1974-75.

- 65) Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2001;358:903-11.
- 66) Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 870-74.
- 67) Liang MH, Larson MG, Cullen KE, Schwartz JA. Comparative measurement efficiency and sensitivity of five health status instruments for arthritis research. *Arthritis Rheum* 1985;28:542-47
- 68) Lopez-Hoyos M, Ruiz de Alegria C, Blanco R, Crespo J, Pena M, Rodriguez-Valverde V, Martinez-Toboada VM. Clinical utility of anti-CCP antibodies in the differential diagnosis of elderly-onset rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Rheumatology* 2004; 43: 655-657
- 69) Machold KP, Stamm TA, Nell VPK, Pflugbeil S, Aletaha D, Steiner G, Uffmann M, Smolen JS. Very recent onset rheumatoid arthritis: clinical and serological patient characteristics associated with radiographic progression over the first years of disease. *Rheumatology* 2007;46:342-49
- 70) McQueen FM, Benton N, Crabbe J, Robinson E, Yeoman S, McLean L et al. What is the fate of erosions in early rheumatoid arthritis? Tracking individual lesions using x-rays and magnetic resonance imaging over the first two years of disease. *Ann Rheum Dis* 2001;60:859-68

71)Martel W. Radiological manifestations of rheumatoid arthritis with particular reference to the hand, wrist and foot. Medical Clinics of North America 1968; 52; 655-665.

72)Masson-Bessière C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T et al: The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the  $\alpha$  - and  $\beta$  - chains of fibrin. J Immunol, 2001; 166: 4177-4184.

73)Mattey DL, Hassell AB, Dawes PT, Cheung NT, Poulton KV, Thomson W et al Independent association of rheumatoid factor and the HLA-DRB1 shared epitope with radiographic outcome in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2001;44:1529-33

74)Mediawake R, Isenberg DA, Scellekens GA, van Venrooij WJ. Use of anti-citrullinated peptide and anti-RA33 antibodies in distinguishing erosive arthritis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2001; 60: 67–68

75)Mewa AAM, Pui M, Cocksott WP, Buchanan WW. Observer differences in detecting erosions in radiographs of rheumatoid arthritis, a comparison of posteroanterior, Norgaard and Brewerton views. J Rheumatol 1983; 10: 216-221.

76)Meyer O, Labarre C, Dougados M, Goupille Ph, Cantagrel A, Dubois A et al. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 120-126.

77)Moreland LW, Daniel WW, Alacrón GS. The value of Norgaard view in the evaluation of erosive arthritis. *J Rheumatol* 1990; 17: 614-617.

78)Morozzi G, Bellisai F, Fioravanti A, Galleazzi M. Absence of anti-cyclic citroullinated peptide antibodies in erosive osteoarthritis: further serological evidence of the disease as a subset of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1095-1096

79)Mottonen R, Hannonen P, Leirisalo-Repo M, Nissila M, Kautiainen H, Korpela M et al. Comparison of combination therapy with single-drug therapy in early rheumatoid arthritis: a randomised trial. *Lancet* 1999;353:1568-73

80)Nance EPG, Kaye JJ, Callahan LF, Carroll FE, Winfield AC, Earthman WJ et al. Observer variation in quantitative assessment of rheumatoid arthritis. Scoring erosions and joint space narrowing. *Invest Radiol* 1986; 21: 922-27.

81)Nell VPK, Machold KP, Stamm TA, Eberl G, Uffmann M, Smolen JS, Steiner G. Autoantibody profiling as early diagnostic and prognostic tool for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1731-36

82) Nichol FE, Woodrow JC. HLA-DR antigens in Indian patients with rheumatoid arthritis. *Lancet* 1980;1:220-21

83) Nielen MMJ, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MHMT et al: Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 380–386

84) Nienhuis RLF, Mandema E. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1964; 23: 302-305

85) O'Dell JR. Treating rheumatoid arthritis early: a window of opportunity? *Arthritis Rheum* 2002;46:283-85

86) Paimela L, Gripenberg M, Kurki P, Leirisalo-Repo M. Antikeratin antibodies: diagnostic and prognostic markers for early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 743-746

87) Palosuo T, Tilvis R et al: Filaggrin related antibodies among the aged. *Ann Rheum Dis* 2003;62: 261–263

88) Papasavvas GK, Thompson PW, Kirwan JR. Small joint involvement: systematic roentgenographic study in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1986; 45: 351-52

89)Paul WE, Seder RA. Lymphocyte responses and cytokines. Cell 1994; 76: 241-251.

90)Pincus T, Callahan LF. Taking mortality in rheumatoid arthritis seriously-predictive markets, socioeconomic status and comorbidity. J Rheumatol 1986; 13: 841-845.

91)Prevoo ML, van't Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van de Putte LB, van Riel PL. 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: 44-48.

92)Quismorio FPJr, Kaufman RL, Beardmore T, Mongan ES. Reactivity of the serum antibodies to the keratin layer of rat esophagus in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1983; 26: 494-499.

93)Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BAW, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2003; 48: 2741-2749.

94)Reparon-Schuijt CC, van Esch WJE, van Kooten C, Schellekens G, de Jong BAW, van Venrooij WJ et al: Secretion of anti-citrullin-containing antibody by B lymphocytes in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2001; 44: 41-47

95) Ronnelid J, Wick MC, Lampa J, Lindblad S, Nordmark B, Klareskog L, van Vollenhoven RF. Longitudinal analysis of citrullinated protein/peptide antibodies (anti-CP) during 5 year follow up in early rheumatoid arthritis: anti-CCP status predicts worse disease activity and greater radiological progression. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1744-49

96) Sakkas LI, Chen P-F, Platsoucas CD. T cell antigen receptors in rheumatoid arthritis. *Immunol Res* 1994 ;13 :117-38.

97) Sakkas LI, Johanson N, Scanzello C, Platsoucas CD. Interleukin-12 is expressed by infiltrating macrophages and synovial lining cells in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Cell Immunol* 1998, 188:105-110

98) Sakkas LI, Scanzello C, Johanson N, Burkholder J, Mitra A, Salgame P, Katsetos CD, Platsoucas CD. T cells and T-cell cytokine transcripts in the synovial membrane in patients with osteoarthritis. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998;5:430-37

99) Salvador G, Gomez A, Vinas O, Ercilla G, Canete JD, Munoz-Gomez J, Sanmarti R. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citroullinated peptide and antikeratin antibodies in palidromic rheumatism. An abortive form of rheumatoid arthritis? *Rheumatology* 2003; 42: 972-975



100) Sanchez B, Moreno I, Magarino R et al. HLA-DRw10 confers the highest susceptibility to rheumatoid arthritis in a Spanish population. *Tissue Antigens* 1990;36:174-76

101) Saraux A, Berthelot JM, Chales G, le Henaff C, Mary JY, Thorel JB et al. Value of laboratory tests in early prediction of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;47:155-65

102) Schellekens GA, de Jong BAW, van den Hoogen FHJ, van de Putte LBA. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998; 101: 273-81.

103) Schellekens GA, Visser H, de Jong BAW, van den Hoogen FHJ, Hazes JMW, Breedveld FC, van Venrooij WJ. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43:155-63.

104) Scherbaum WA, Youinou PY, Le Goff P, Bottazzo GF. Anti-perinuclear and rheumatoid factor in different forms of autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol* 1984; 55: 516-518

105) Scott DL, Coulton BL, Popert AJ. Long term progression of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1986; 45: 373-378

106) Scott DL, Symmons DP, Coulton BL, Popert AJ. Long-term outcome of treating rheumatoid arthritis: results after 20 years. *Lancet* 1987;1:1108-11

107) Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson-Bessière C, Girbal E, Durieux JJ, et al. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest.* 1995 Jun;95(6):2672-9.

108) Sène D, Ghillani-Dalbin P, Limal N, Thibault V, van Boekel T, Piette JC, Cacoub P. Anti-cyclic citroullinated peptide antibodies in hepatitis C virus associated manifestations and Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 394-397

109) Sharp JT, Lidsky MD, Collins LC, Moreland J. Methods of scoring the progression of radiologic changes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1971; 14: 706-20.

110) Sharp JT, Young DY, Bluhm GB, Brook A, Brower AC, Corbett M et al. How many joints in the hands and wrists should be included in a score of radiologic abnormalities used to assess rheumatoid arthritis? *Arthritis Rheum* 1985; 28: 1326-35.

111) Shingu M, Nagai Y, Isayama T, Naomo T, Nobunaga M, Nagai Y. The effect of cytokines on metalloproteinase inhibitors (TIMP) and collagenase

production by human chondrocytes and TIMP production by synovial cells and endothelial cells. Clin Exp Immunol 1993;94:145-49.

112) Silman AJ, MacGregor AJ, Thomson W et al. Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study. Br J Rheumatol 1993;32:903-7

113) Simon AK, Seipelt E, Sieper J. Divergent T-cell cytokine patterns in inflammatory arthritis. Proc Natl Acad Sci(USA) 1994;91:8562-66

114) Simon M, Girbal E, Sebbag M, Gomès-Daudrix V, Vincent C, Salama G et al. The cytokeratin filament-aggregating protein filaggrin is the target of the so-called "antikeratin antibodies," autoantibodies specific for rheumatoid arthritis. J Clin Invest. 1993 Sep;92(3):1387-93.

115) Skriner K, Sonnergruber WH, Trenmel V, Fisher I, Barta A, Smolen JS et al. Anti-A2/RA33 autoantibodies are directed to the RNA binding region of the A2 protein of the heterogenous nuclear ribonucleoprotein complex. Differential epitope recognition in rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease. J Clin Invest 1997;100:127-35

116) Smolen JS, Breedveld FC, Schiff MH, Kalden JR, Emery P, Eberl G et al. A simplified disease activity index for rheumatoid arthritis for use in clinical practice. Rheumatology 2003;42:244-57

117) Spadaro A, Riccieri V. Methotrexate effect on anti-cyclic citrullinated peptide antibody level in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1241-42

118) Stastny P. Association of the B cell alloantigen DRw4 with rheumatoid arthritis *N Engl J Med* 1978;298:869-71

119) Steibroker O, Traeger CH, Batterman RC. Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. *JAMA* 1949;140:659-62.

120) Steiner G, Smolen J. Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance. *Arthritis Res* 2002; 4 (suppl 2): S1-S5.

121) Suzuki K, Sawada T, Murakami A, Matsui T, Tohma S, Nakazono K, Takemura M, Takasaki Y, Mimori T, Yamamoto K. High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Scan J Reumatol* 2003; 32: 197-204.

122) Tugweel P and Boers M. OMERACT conference on outcome measures in RA clinical trials: conclusion *J Rheumatol* 1993; 20: 590.

123) Turesson C, Jacobsson LTH, Sturfelt G, Matteson EL, Mathsson L, Ronnelid J. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptide are associated with severe extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 59-64.

124) Utz PJ, Gensler TJ, Anderson P. Death, autoantigen modifications, and tolerance. *Arthritis Res* 2000; 2: 101-104

125) Vallbracht I, Rieber J, Oppermann M, Förger F, Siebert U, Helmke K. Diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1079-84

126) Van Boekel MA, Vossenaar ER, van der Hoogen FH, van Venrooij WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res* 2002; 4: 87-93

127) Van Boekel MA, van Venrooij WJ. Modifications of arginine and their role in autoimmunity. *Immunol Rev* 2003; 2: 57-62.

128) Van Gaalen FA, Visser H, Huizinga TWJ. A comparison of the diagnostic accuracy and prognostic value of the first and second anti-cyclic citrullinated peptides (CCP1 and CCP2) autoantibody tests for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1510-1512

129) Van Gestel AM, Prevoo ML, van't Hof MA, van Rijswijk MH, van de Putte LB, van Riel PL. 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;39:34-40

130) Van der Heijde DMFM, van Reil PL, Nuvér-Zwart IH, Gribnau FW, van de Putte LB. Effects of hydroxychloroquine and sulfasalazine on progression of joint damage in rheumatoid arthritis. Lancet 1989; i: 1306-1308.

131) Van der Heijde DM, van't Hof MA, van Riel PL, Theunisse LA, Lubberts EN, van Leeuwen MA, van Rijswijk MH, van de Putte LB. Judging disease activity in clinical practice in rheumatoid arthritis: first step in the development of a disease activity score. Ann Rheum Dis 1990;49:916-20

132) Van der Heijde DMFM, van Leeuwen MA, van Reil PL, Koster AM, Van't Hof MA, van Rijswijk MH et al. Biannual radiographic assessment of hands and feet in a three year prospective follows up of patients with early rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1992; 35: 26-34

133) Van der Heijde DMFM, van Leeuwen MA, van Riel PLCM et al. Radiographic progression on radiographs of hands and feet during the first 3 years of rheumatoid arthritis measured according to Sharp's method (van der Heijde modification). J Rheumatol 1995;22:1792-96

134) Van der Heijde DMFM. Joint erosions and patients with early rheumatoid arthritis. Br J Rheumatol 1995; 34(suppl 2): 74-78.

135) Van der Heijde DMFM. How to read radiographs according to the Sharp/van der Heijde method. J Rheumatol 1999, 26: 743-45.

136) Van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, de Jong BA, Breedveld FC, Verweij CL, Toes REM, Huizinga TWJ. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis. Arthritis Rheum 2004; 50:709-15.

137) Van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TWJ, Schreuder GMTh, Breedveld FC, Zanelli E, van Venrooij WJ, Verweij CL, Toes REM, de Vries RRP. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2004; 50: 2113-21.

138) Vannini A, Cheung K, Fusconi M, Stammen-Vogelzangs J, Drenth JPH, Dall' Aglio AC, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide positivity in non-rheumatoid arthritis disease samples: citrulline-dependent or not? Ann Rheum Dis 2007; 66: 511-516

139) Van Riel PLCM, van Gestel AM. Clinical outcome measures in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2000; 59(suppl1): i28-i31

140) Van Venrooij WJ and Pruijn GJM. Citrullination: a small change for a protein with great consequences for rheumatoid arthritis. Arthritis Res 2000; 2: 249-251

141) Van Venrooij WJ, Zendman AJW, pruijn GJM. Autoantibodies to citrullinated antigens in (early) rheumatoid arthritis. *Autoimmunity Rev* 2006;6:37-41.

142) Vincent C, Serre G, Lapeyre F, Fournié B, Ayrolles C, Fournié A, Soleilhavoup JP. High diagnostic value in rheumatoid arthritis of antibodies to the stratum corneum of rat oesophagous epithelium, so-called “antikeratin antibodies”. *Ann Rheum Dis* 1989, 48; 712-722.

143) Vincent C, Serre G, Fournié B, Fournié A, Soleilhavoup JP. Natural IgG to epidermal cytokeratins vs IgG to stratum corneum of the rat oesophagus epithelium, so-called “antikeratin antibodies”, in rheumatoid arthritis and other rheumatic diseases. *J Autoimmun* 1991; 4: 493-505.

144) Visser H, Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JMW. How to diagnose rheumatoid arthritis early. A prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 357-65.

145) Vittecoq O, Incaugarat B, Jouen-Beades F, Legoedec J, Letourneur O, Rolland D, Gervasi G, Menard JF, Gayet A, Fardellone P, Daragon A, Jolivet M, Le Loet X, Tron F. Autoantibodies recognizing citrullinated rat filaggrin in an ELISA using citrullinated and non-citrullinated recombinant proteins as antigens are highly diagnostic for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2004; 135:173-80



- 146) Vossenaar ER, Radstake TRD, van der Heijden A, van Mansum MAM, Dieteren C, de Rooij DJ et al: Expression and activity of citrullinated peptidylarginine deiminase enzymes in monocytes and macrophages. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 373-381
- 147) Welsing PMJ, van Gestel AM, Swinkels HL, Kiemeneij LALM, van Riel PLCM. The relationship between disease activity, joint destruction, and functional capacity over the course of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001;44: 2009-17
- 148) Wener MH, Hutchinson K, Morishima C, Gretch DR. Absence of antibodies to cyclic citrullinated peptide in sera of patients with hepatitis C virus infection and cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2305-2308.
- 149) Westgeest AAA, Boerbooms AMTh, Jongmans M, Vandenbroucke JP, Vierwinden G, van de Putte LBA. Antiperinuclear factor: indicator of more severe disease in seronegative rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1987; 14: 893-97
- 150) Wolfe F, Hawley DJ. Remission in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1985;12:245-52
- 151) Wolfe F, Hawley DJ. The long term outcomes of rheumatoid arthritis: work disability: a prospective 18-year study of 823 patients. *J Rheumatol* 1998;25:2108-17

152) Wordsworth BP, Lanchbury JSS, Sakkas LI, et al. HLA-DR4 subtype frequencies in rheumatoid arthritis indicates that DRB1 is the major susceptibility locus within the HLA class II region. Proc Natl Acad Sci(USA) 1989;86:10049-53

153) Youinou P, Pennec Y, Le Goff P, Ferec C, Morrow WJW, Le Menn G. Antiperinuclear factor in Sjogren's syndrome in the presence or absence of rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol 1984; 2: 5-9

154) Youinou P, Zabba C, Eveilaud C. Antiperinuclear activity in lung carcinoma patients. Cancer Immunol Immunother 1984; 18: 80-81.

155) Youinou P, Le Golf P, Colaco CB, Thivolet J, Tater D, Viac J, Shipley M. Antikeratin antibodies in serum and synovial fluid show specificity for rheumatoid arthritis in a study of connective tissue diseases. Ann Rheum Dis 1985; 44: 450-454

156) Young BJJ, Mallya RK, Leslie RDG, Clark CJM, Hamblin TJ. Antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. Br Med J 1979; 2: 97-99

157) Young A, Koduri G, Batley M, Kulinskaya E, Gough A, Norton S et al. Mortality in rheumatoid arthritis. Increased in the early course of disease, in ischemic heart disease and in pulmonary fibrosis. Rheumatology 2007;46:350-57

158) Zendman AJW, van Venrooij WJ, Pruijn GJM. Use and significance of anti-CCP autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2006, 45:20-25.

## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ΙΩΑΝΝΗΣ ΑΛΕΞΙΟΥ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: 17/10/1964

ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: ΛΑΡΙΣΑ

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ: Σκύρου 3 – ΛΑΡΙΣΑ

ΤΗΛΕΦΩΝΟ: (2410) – 610163

Κινητό: 6974 – 372520

e – mail: larissa@in.gr

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ: Άγαμος

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ: Αγγλικά (First Certificate in English)

Γαλλικά

### ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

1982: Αποφοίτηση από το 3<sup>ο</sup> Λύκειο Λάρισας

Βαθμός: Άριστα 19 3/12

Βαθμός “Άριστα” σε όλες τις τάξεις του Λυκείου

1991:	Πτυχίο Ιατρικής Σχολής Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών Βαθμός πτυχίου: «Λίαν Καλώς» Ημερομηνία έκδοσης: 30/7/1991
Φεβρουάριος 1992	Σεμινάριο της Εταιρίας Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης
Νοέμβριος 1997	Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ρευματολογίας
Μάρτιος 1998	Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ρευματολογίας
Μάρτιος 1998	Εκπαιδευτικό πρόγραμμα «Πληροφορική και οργάνωση εργασίας»
Φεβρουάριος 1999	Μετεκπαιδευτικό πρόγραμμα του ΕΛ.Ι.ΟΣ
Ιούνιος 1999	Σεμινάριο Ανοσολογίας
Νοέμβριος 1999	Μετεκπαιδευτικά μαθήματα Ρευματολογίας
Ιούνιος 2000	6 <sup>th</sup> Postgraduate Course in Rheumatology
14/6/2001	Τίτλος Ειδικότητας Ρευματολογίας

Σεπτέμβριος 2001      Εκπαιδευτικό σεμινάριο της ΕΡΕ

9/2001 – 6/2003      Σεμινάρια - δίπλωμα στον ιατρικό βελονισμό

#### ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ ΑΠΟ ΛΗΨΗΣ ΠΤΥΧΙΟΥ ΜΕΧΡΙ ΛΗΨΗΣ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑΣ

9/1991 – 3/1993:      Υπηρέτησα στις τάξεις του Ελληνικού Στρατού,  
εκτελώντας τα καθήκοντα του Ιατρού Μονάδος

24/3/93 - 28/9/94:      Αγροτικός Ιατρός – Κέντρο Υγείας Τιρνάβου

29/9/94 - 29/9/96:      Π.Ν.Ν «Αχιλλοπούλειο» Βόλου - Α' Παθολογική  
Κλινική - Ειδικευόμενος ιατρός στην Παθολογία

15/11/96 - 29/11/2000: Π.Γ.Ν «Ασκληπιείο» Βούλας- Ρευματολογική  
Κλινική – Ειδικευόμενος ιατρός στη Ρευματολογία

Κατά την διάρκεια της ειδίκευσης μου, συμμετείχα ανελλιπώς σε όλες τις δραστηριότητες των τμημάτων που υπηρέτησα. Αναλυτικότερα, συμμετείχα ενεργά στην διεκπεραίωση των αρρώστων του εκάστοτε Τμήματος, στις εφημερίες τους, στην λειτουργία των Εξωτερικών Ιατρείων τους, καθώς και σε όλες τις επιστημονικές τους δραστηριότητες. Επίσης συμμετείχα ανελλιπώς και ενεργά στα εκπαιδευτικά προγράμματα των Τμημάτων αυτών.

## ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΛΗΨΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑΣ

Ιούλιος 2001 έως σήμερα      Ιδιωτικό ρευματολογικό ιατρείο

Ιούνιος 2001 έως σήμερα      Ιατρός Θεραπευτηρίου «Ασκληπιείο»  
Λάρισας. Υπεύθυνος τμήματος Φυσικής  
Ιατρικής και Αποκατάστασης (24/4/02 –  
27/5/03)

### ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΔΗΜΟΣΙΕΥΤΕΙ ΣΕ ΠΡΑΚΤΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ

(1). Π. Αθανασίου, Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Α. Ελέζογλου, Ιφιγένεια Κώστογλου-Αθανασίου, Αθηνά Ακκίζίδου, Γ. Βεζύρογλου. «Απλαστική αναιμία σε ασθενείς με Ρευματοειδή Αρθρίτιδα υπό Μεθοτρεξάτη» Πρακτικά: 424. 24<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 5-9 Μαΐου 1998, Αθήνα.

(2). Π. Αθανασίου, Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Α. Ελέζογλου, Ιφιγένεια Κώστογλου-Αθανασίου, Ειρ. Φράγκου, Α. Αγραφιώτης, Γ. Βεζύρογλου. «Δευτεροπαθής αμυλοείδωση σε ασθενή με Ψωριασική Αρθρίτιδα». Πρακτικά: 423. 24<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 5-9 Μαΐου 1998, Αθήνα.

(3). Ι. Μυριοκεφαλιάκης, Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Α. Ελέζογλου, Π. Αθανασίου, Α. Ακκίζίδου, Η. Κρητικός, Ε. Τσαγκλή, Γ. Βεζύρογλου. «Σάρκωμα Karosi σε Ρευματοειδή Αρθρίτιδα υπό Μεθοτρεξάτη». Τόμος Περιλήψεων: 35 (62Ρ). 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 26-28 Νοεμβρίου 1998, Αθήνα.

(4). Ι. Μυριοκεφαλιάκης, Χ. Αντωνιάδης, Π. Αθανασίου, Α. Ακκίζίδου, Α. Ελέζογλου, Ι. Αλεξίου, Η. Κρητικός, Ε. Τσαγκλή, Γ. Βεζύρογλου. «Λέμφωμα

Hodjkin σε Ρευματοειδή Αρθρίτιδα υπό Μεθοτρεξάτη». Τόμος Περιλήψεων: 36 (63P). 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 26-28 Νοεμβρίου 1998, Αθήνα.

(5). Γ. Βεζύρογλου, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Π. Αθανασίου, Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Α. Ελέζογλου, Α. Μπουμπουγιάννη, Χ. Παρασκευαϊδης. «Lupoid Sclerosis (κατά πλάκας σκλήρυνση στον ΣΕΛ). Δύο περιπτώσεις». Τόμος Περιλήψεων: 36 (64P). 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 26-28 Νοεμβρίου 1998, Αθήνα.

(6). Π. Αθανασίου, Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Α. Ελέζογλου, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Ι. Κώστογλου - Αθανασίου, Α. Ακκίζιδου, Γ. Βεζύρογλου «Απλαστική αναιμία σε ασθενείς με Ρευματοειδή Αρθρίτιδα. Περιγραφή 4 περιπτώσεων». Τόμος Περιλήψεων: 37 (66P). 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 26-28 Νοεμβρίου 1998, Αθήνα.

(7). Χ. Αντωνιάδης, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Ι. Αλεξίου, Γ. Παπαδημητρίου, Α. Σαρακιώτης, Γ. Βαϊόπουλος, Γ. Βεζύρογλου «Σηπτικός αίμαρθρος σε επίκτητη αιμορροφιλία Α και Β». Τόμος περιλήψεων: 43 (pp 210). 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογίας, 20-23 Οκτωβρίου 1999, Αθήνα.

(8). Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Α. Ακκίζιδου, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Π. Αθανασίου, Α. Ελέζογλου, Ε. Τσαγκλή, Γ. Βεζύρογλου. «Μονοαρθρίτιδα ως εναρκτήρια εκδήλωση κεχροειδούς φυματιώσεως». Τόμος περιλήψεων: 41 (pp 208). 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογίας, 20-23 Οκτωβρίου 1999, Αθήνα.

(9). Ι. Αλεξίου, Π. Αθανασίου, Χ.Αντωνιάδης, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Α. Μπουμπουγιάννη, Γ. Βεζύρογλου. «Άσηπτη νέκρωση των ισχίων και



ψωρίαση» Τόμος περιλήψεων: 42 (pp 209). 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογίας, 20-23 Οκτωβρίου 1999, Αθήνα.

(10). Ι. Αλεξίου, Χ. Αντωνιάδης, Ι. Μυριοκεφαλιάκης, Α. Ακκίζιδου, Ε. Θεοδοσιάδου, Γ. Βεζύρογλου. «Νόσος Waldenström και οφθαλμική προσβολή σε ασθενή με λέμφωμα πνεύμονος». Τόμος περιλήψεων: 44 (pp 211). 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογίας, 20-23 Οκτωβρίου 1999, Αθήνα.

(11). P. Athanassiou, I. Myriokefalitakis, Ch. Andoniades, A. Elezoglou, I. Alexiou, S. Delakidis, M. Daimonakou, G. Vezyroglou. «Adamantiades-Behcet syndrome and gastrointestinal manifestations» 10<sup>th</sup> EULAR Symposium, Rheumatology in Europe 26 (Suppl. 2): 57, Vienna 1997.

(12). P. Athanassiou, Ch. Antoniades, I. Kostoglou-Athanassiou, A. Akkizidou, A. Elezoglou, A. Boubougianni, I. Alexiou, I. Myriokefalitakis, G. Vezyroglou. «Rheumatoid Arthritis and Diabetes Mellitus in a patient with Klippel-Trenaunay syndrome». 10<sup>th</sup> EULAR Symposium Rheumatology in Europe 26 (Suppl.): 57, Vienna 1997.

(13). P. Athanassiou, Ch. Antoniades, I. Alexiou, A. Elezoglou, I. Kostoglou-Athanassiou, I. Frangou, L. Nakopoulou, A. Agrafiotis, G. Vezyroglou. «Secondary amyloidosis in a patient with Psoriatic Arthritis». 11<sup>th</sup> EULAR Symposium, Geneva 1998, Poster No 243.

(14). P. Athanassiou, Ch. Antoniades, I. Alexiou, A. Elezoglou, I. Kostoglou-Athanassiou, C. Paraskevaedis, G. Vezyroglou. «Multiple Sclerosis in a patient with Systemic Lupus Erythematosus. Lupoid Sclerosis or coexistence?» 11<sup>th</sup> EULAR Symposium, Geneva 1998, Poster No 287.

(15). P. Athanassiou, Ch. Antoniades, I. Alexiou, A. Elezoglou, I. Kostoglou-Athanassiou, A. Akkizidou, G. Vezyroglou. «Aplastic anemia in patients with

Rheumatoid Arthritis on Methotrexate». 11<sup>th</sup> EULAR Symposium, Geneva 1998, Poster No 132.

(16). G. Vezyroglou, Ch. Antoniadou, P. Athanasiou, I. Myriokefalitakis, A. Akkizidou, I. Alexiou, A. Elezoglou. « Os Acetabuli: Clinical evaluation and experience in 19 patients». Annual EULAR Congress, Nice 2000, (Suppl 1): pp 223.

(17). I. Alexiou, Ch. Antoniadou, I. Myriokefalitakis, G. Papadimitriou, A. Sarakiotis, O. Katsarou, G. Vaiopoulos, G. Vezyroglou. «Septic hemarthrosis initiating polyarticular form of acquired hemophilia A and B». Annual EULAR Congress, Nice 2000, (Suppl 1): pp 239.

(18). Ch. Antoniadou, I. Alexiou, A. Akkizidou, I. Myriokefalitakis, P. Athanasiou, E. Tsagli, G. Vezyroglou «Monoarthritis as presenting manifestation of miliary tuberculosis». Annual EULAR Congress, Nice 2000, (Suppl 1): pp 318.

(19). Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Α. Ακκίζίδου, Μ. Παπαδοπούλου, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Α. Μπουμπουγιάννη, Ε. Θεοδοσιάδου, Γ. Βεζύρογλου «Τα επίπεδα της CRP σε Έλληνες ασθενείς με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο». 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 21-25 Νοεμβρίου 2000, Αθήνα.

(20). Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Α. Ακκίζίδου, Μ. Παπαδοπούλου, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Π. Κωσταντοπούλου, Γ. Βεζύρογλου «Συσχέτιση κλινικών εκδηλώσεων και αυτοαντισωμάτων σε Έλληνες ασθενείς με ΣΕΛ». 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 21-25 Νοεμβρίου 2000, Αθήνα.

(21). Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Μ. Παπαδοπούλου, Α. Ακκίζίδου, Β. Κουλτούκη, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Α. Σαρακιώτης, Γ. Βεζύρογλου «Συχνότητα αιματολογικών διαταραχών και αυτο-αντισωμάτων σε Έλληνες ασθενείς με

ΣΕΛ» 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 21-25 Νοεμβρίου 2000, Αθήνα.

(22). Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Μ. Παπαδοπούλου, Α. Ακκιζίδου, Α. Σαρακιώτης, Α. Ελέζογλου, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Γ. Βεζύρογλου. «Η συχνότητα των κλινικών εκδηλώσεων του ΣΕΛ σε Έλληνες ασθενείς». 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 21-25 Νοεμβρίου 2000, Αθήνα.

(23). Κ. Μιχελιδάκης, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Γ. Παπαδημητρίου, Α. Μπουμπουγιάννη, Α. Κοτρώτσιος, Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Κ. Στεφανίδης, Γ. Βεζύρογλου « Προσωπικότητα και Ρευματοειδής Αρθρίτιδα. Φόβοι και ενοχές» 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 21-25 Νοεμβρίου 2000, Αθήνα.

(24). Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Ι. Αλεξίου, Π. Αθανασίου, Χ. Αντωνιάδης, Α. Βουδούρη, Δ. Γραικιώτης, Χ. Παρασκευαΐδης, Κ. Μιχελιδάκης, Γ. Βεζύρογλου. «Ηλεκτροεγκεφαλογραφικά ευρήματα σε ασθενή με σύνδρομο Αδαμαντιάδη - Behcet». 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 21-25 Νοεμβρίου 2000, Αθήνα.

(25). Κ. Μιχελιδάκης, Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Ι. Αλεξίου, Α. Μπουμπουγιάννη , Γ. Παπαδημητρίου , Α. Κοτρώτσιος, Α. Ακκιζίδου, Χ. Αντωνιάδης, Γ. Βεζύρογλου. «Διαφορές στην προσωπικότητα σε ασθενείς με Ψωριασική αρθρίτιδα και σε ασθενείς με ΣΕΛ» 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 21-25 Νοεμβρίου 2000, Αθήνα.

(26). Ι. Μυριοκεφαλιτάκης, Γ. Παπαδημητρίου, Α. Κοτρώτσιος, Ι. Αλεξίου, Χ. Αντωνιάδης, Κ. Μιχελιδάκης, Γ. Βεζύρογλου «Ρευματικές εκδηλώσεις σε ασθενή με πρόσφατη λοίμωξη από κυτταρομεγαλοϊό» 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 21-25 Νοεμβρίου 2000, Αθήνα.

- (27). Α. Σαρακιώτης, Ι. Αλεξίου, Ι. Παπαδόπουλος, Χ. Αντωνιάδης, Ι. Μυριοκεφαλιάκης, Ι. Γκολφομήτσος, Β. Δημητρόπουλος «Επίδραση της λουτροθεραπείας σε συμπτώματα ασθενών με οστεοαρθρίτιδα του γόνατος», XVII Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 27-30 Νοεμβρίου 2002, Αθήνα.
- (28). Α. Σαρακιώτης, Ι. Αλεξίου, Ι. Παπαδόπουλος, Ν. Χριστοδούλου, Δ. Δημητρόπουλος, Κ. Πετρόπουλος, Ε. Παπαδημητρίου «Μεταβολές δεικτών της φλεγμονής σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα του γόνατος υπό λουτροθεραπεία», XVII Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 27-30 Νοεμβρίου 2002, Αθήνα.
- (29). Ι. Αλεξίου, Α. Σαρακιώτης, Ι. Παπαδόπουλος, Χ. Αντωνιάδης, Δ. Δημητρόπουλος, Χ. Σδρένιας «Επίδραση της λουτροθεραπείας σε ασθενείς με εκφυλιστική σπονδυλαρθροπάθεια», XVII Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 27-30 Νοεμβρίου 2002, Αθήνα.
- (30). Ι. Αλεξίου, Α. Σαρακιώτης, Ι. Παπαδόπουλος, Ν. Χριστοδούλου, Δ. Δημητρόπουλος, Ε. Παπαδημητρίου, Κ. Πετρόπουλος «Δείκτες της φλεγμονής σε ασθενείς με εκφυλιστική σπονδυλαρθροπάθεια υπό λουτροθεραπεία», XVII Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 27-30 Νοεμβρίου 2002, Αθήνα.
- (31). Ch. Antoniadis, S. Spyridonakou, S. Fotinopoulou, L. Koutsogeorgopoulou, I. Alexiou, A. Tsirogiani, C. Pachoula – Papasteriadis «Correlation between clinical manifestations and autoantibodies in Greek SLE patients» XI Mediterranean Congress of Rheumatology, Heraklion Crete 2005, Clinical and Experimental Rheumatology vol. 23 no 5, P39 page 590.
- (32). Ch. Antoniadis, S. Fotinopoulou, L. Koutsogeorgopoulou, S. Spyridonakou, I. Alexiou, A. Kordalis «CRP levels in Greek SLE patients» XI

Mediterranean Congress of Rheumatology, Heraklion Crete 2005, Clinical and Experimental Rheumatology vol. 23 no. 5, P40, page 590.

(33). Ch. Antoniadis, L. Koutsogeorgopoulou, S. Spyridonakou, S. Fotinopoulou, I. Alexiou, A. Tsirogiani, C. Pachoula–Papasteriadis «Frequency of hematological disorders and autoantibodies in Greek SLE patients» XI Mediterranean Congress of Rheumatology Heraklion Crete 2005, Clinical and Experimental Rheumatology vol.23 no.5, P41, page 590.

(34). Ch. Antoniadis, S. Fotinopoulou, L. Koutsogeorgopoulou, S. Spyridonakou, I. Alexiou, A. Kordalis «The frequency of clinical manifestations in Greek SLE patients» XI Mediterranean Congress of Rheumatology, Heraklion Crete 2005, Clinical and Experimental Rheumatology vol. 23 no. 5, P51, page 592.

(35). I. Myriokefalitakis, I. Alexiou, M. Bastakis, S. Korogiani, E. Vritzali, G. Vosvotekas, A. Voudouri, C. Paraskevaides, K. Michelidakis, Ch. Antoniadis «Adamantiades – Bechet syndrome with epileptic crises. Case report seven years later» XI Mediterranean Congress of Rheumatology, Heraklion Crete 2005, Clinical and Experimental Rheumatology vol. 23 no. 5, P70, p 597.

(36). Ioannis Alexiou, Anastasios Germanis, Athanasios Ziogas, Athanasios Koutroumbas, Katerina Theodoridou, Anastasia Kontogianni, Lazaros I. Sakkas. «Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in Greek patients with rheumatoid arthritis: Association with extra-articular manifestations». 6<sup>th</sup> Global Arthritis Network (GARN) meeting, Zurich, Switzerland, May 10<sup>th</sup>-12<sup>th</sup> 2007, Arthritis Res Ther 2007 (Abstract).

Οι εργασίες (1) και (2) ανακοινώθηκαν προφορικά στο 24<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο.

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

(Α). Π. Αθανασίου, Χ. Αντωνιάδης, Ι. Κώστογλου-Αθανασίου, Αθηνά Ακκίζίδου, Α. Ελέζογλου, Ι. Αλεξίου, Γ. Βεζύρογλου. «Ρευματοειδής Αρθρίτιδα και Σακχαρώδης Διαβήτης σε ασθενή με σύνδρομο Klippel - Trepanay». Ελληνική Ρευματολογία, Τόμος 9, Τεύχος 2, Απρίλιος - Ιούνιος 1998, σελ: 130 – 135.

(Β). Ι. Αλεξίου, Π. Αθανασίου, Χ. Αντωνιάδης, Α. Ελέζογλου, Ι. Κώστογλου – Αθανασίου, Λ. Νακοπούλου, Α. Αγραφιώτης, Γ. Βεζύρογλου «Δευτεροπαθής αμυλοείδωση σε ψωριασική αρθρίτιδα. Περιγραφή περίπτωσης και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας». Ελληνική Ρευματολογία, Τόμος 9, Τεύχος 4, Οκτώβριος – Δεκέμβριος 1998, σελ: 277 – 282.

(Γ). Ioannis Alexiou, Anastasios Germenis, Athanasios Ziogas, Katerina Theodoridou, Lazaros I. Sakkas «Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in Greek patients with rheumatoid arthritis». BMC Musculoskeletal Disorders 2007, 8: 37

## ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΕΙΣ

Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου « Νεότερα δεδομένα στην παθογένεια της οσφυαλγίας μηχανικής/εκφυλιστικής αιτιολογίας». Ελληνική Ρευματολογία, Τόμος 11, Τεύχος 3, Ιούλιος-Σεπτέμβριος 2000, σελ: 212-221.

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΤΟ ΛΑΪΚΟ ΤΥΠΟ

Ι. Αλεξίου: «Οστεοπόρωση, η σιωπηρή επιδημία», ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ (καθημερινή εφημερίδα της Λάρισας), 26 Οκτωβρίου 2003.

## ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΟΜΙΛΙΕΣ - ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ

(1). Ομιλία, Ι. Αλεξίου: «Η ιαματική λουτροθεραπεία στην εκφυλιστική οστεοαρθρίτιδα», 31<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 20 Μαΐου 2005.

(2). Ομιλία, Ι. Αλεξίου: «Ουρική και ψευδο-ουρική αρθρίτιδα», “Επιστημονική Ημερίδα με θέματα Ρευματολογίας”, Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική και Ρευματολογικό Τμήμα Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, 7 Ιουνίου 2003, Λάρισα.

(3). Ομιλία, Ι. Αλεξίου: «Εκφυλιστική σπονδυλαρθροπάθεια Α.Μ.Σ.Σ», επιστημονική ημερίδα της Ε.Ρ.Ε με θέμα: “Νεότερες εξελίξεις στην διάγνωση και θεραπεία των ρευματικών νοσημάτων”, 11 Οκτωβρίου 2003, Λάρισα.

(4). Ι. Αλεξίου: «Λέμφωμα σε ασθενείς με Ρευματοειδή Αρθρίτιδα: Συσχέτιση με το στάδιο της νόσου ή την θεραπεία με Μεθοτρεξάτη», τακτική βιβλιογραφική ενημέρωση της ΕΡΕ, Μάρτιος 1998, Αθήνα.

(5). Ι. Αλεξίου: «Παρουσίαση και ανάλυση περίπτωσης ασθενούς με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) και Συστηματική Σκλήρυνση», τακτική

εκδήλωση της ΕΡΕ για την παρουσίαση ενδιαφερόντων περιπτώσεων,  
Μάρτιος 1998, Αθήνα.

(6). Προφορική ανακοίνωση: Ι. Αλεξίου

Εργασία: Π. Αθανασίου, Χ. Αντωνιάδης, Ι. Αλεξίου, Α. Ελέζογλου, Ιφιγένεια Κώστογλου-Αθανασίου, Αθηνά Ακκίζίδου, Γ. Βεζύρογλου. «Απλαστική αναιμία σε ασθενείς με Ρευματοειδή Αρθρίτιδα υπό Μεθοτρεξάτη», 24<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 5-9 Μαΐου 1998, Αθήνα.

#### ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ

Sub-investigator στην διεθνή πολυκεντρική μελέτη MO2-497 (ReAct) με συμμετοχή 399 ασθενών από τον Ελληνικό χώρο. Η μελέτη ολοκληρώθηκε επιτυχώς (2003 – 2005).

Sub-investigator στην πανευρωπαϊκή πολυκεντρική μελέτη Realise με συμμετοχή 399 ασθενών από τον Ελληνικό χώρο. Έναρξη: Αρχές 2005. Η μελέτη συνεχίζεται.

#### ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΤΑΙΡΙΕΣ

Μέλος του Ιατρικού Συλλόγου Λάρισας (1992 – σήμερα).

Μέλος της Ελληνικής Ρευματολογικής Εταιρίας (ΕΡΕ) (1997 – σήμερα).



Μέλος του Ελληνικού Ινστιτούτου Οστεοπόρωσης (ΕΛ.Ι.ΟΣ) (1999 – σήμερα).

Μέλος της Ιατρικής Εταιρείας Βελονισμού Βόρειας Ελλάδας (2001 – σήμερα).

## ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ

18<sup>ο</sup> Σεμινάριο της Εταιρείας Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης, 52 εκπαιδευτικών αντικειμένων και 18 ωρών πρακτικής άσκησης, 3 - 14 Φεβρουαρίου 1992, Αθήνα.

Μετεκπαιδευτικό πρόγραμμα του ΕΛ.Ι.ΟΣ, διάρκειας 30 ωρών, στα Μεταβολικά Νοσήματα των Οστών, Φεβρουάριος 1999, Αθήνα. Δίπλωμα μετά από επιτυχείς εξετάσεις.

Σεμινάριο Ανοσολογίας (17ος κύκλος), 3 - 5 Ιουνίου 1999, Αθήνα.

6<sup>th</sup> Postgraduate Course in Rheumatology, Nice France, 18 – 27 June 2000.

Εκπαιδευτικό σεμινάριο της ΕΡΕ με θέμα: “Ρευματολογία: σύγχρονες απόψεις”, 22 Σεπτεμβρίου 2001, Ιωάννινα.

Διετής κύκλος σεμιναρίων στον ιατρικό βελονισμό, της Ιατρικής Εταιρείας Βελονισμού Βόρειας Ελλάδας, με 300 ώρες θεωρητικής και πρακτικής

εξάσκησης, Σεπτέμβριος 2001 – Ιούνιος 2003, Θεσσαλονίκη. Δίπλωμα μετά από επιτυχείς εξετάσεις.

Εκπαιδευτικό πρόγραμμα 40 ωρών με τίτλο «Πληροφορική και οργάνωση εργασίας» (αντικείμενο: Windows και προγράμματα του Microsoft Office), Μάρτιος 1998.

#### ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

- 18<sup>ο</sup> Σεμινάριο της Εταιρίας Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης, 3 - 14 Φεβρουαρίου 1992, Αθήνα.
- XIV Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 28 έως 30 Νοεμβρίου 1996, Αθήνα.
- 66<sup>th</sup> Congress of the "European Atherosclerosis Society", 13 - 17 July 1996, Florence, Italy.
- "Ημέρες Παθολογίας", 18 -19 Απριλίου 1997, Αθήνα.
- 23<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 13 - 17 Μαΐου 1997, Αθήνα.
- Κλινικό φροντιστήριο "Ακτινογραφία Θώρακος" στα πλαίσια του 23<sup>ου</sup> Πανελληνίου Ιατρικού Συνεδρίου, 13 - 17 Μαΐου 1997, Αθήνα.
- 10<sup>th</sup> EULAR Symposium, 19 - 22 November 1997, Vienna, Austria.
- Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ρευματολογίας, 27 - 29 Νοεμβρίου 1997, Θεσσαλονίκη.
- 18<sup>th</sup> European Workshop for Rheumatology Research, 12 - 15 March 1998, Athens.

- Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ρευματολογίας, 20 - 21 Μαρτίου 1998, Ρόδος.
- 24<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 5 - 9 Μαΐου 1998 Αθήνα.
- 14<sup>th</sup> Congress of the European League Against Rheumatism, 6 - 11 June 1998, Glasgow, Scotland.
- 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 26 - 28 Νοεμβρίου 1998, Αθήνα.
- Μετεκπαιδευτικά μαθήματα του ΕΛ.Ι.ΟΣ με θέμα: «Βασικές γνώσεις για τα μεταβολικά νοσήματα των οστών», 12 - 14 Φεβρουαρίου 1999, Αθήνα.
- 25<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 4 - 8 Μαΐου 1999 Αθήνα.
- Διημερίδα της ΕΡΕ με θέμα: «Απεικονιστικές τεχνικές στη Ρευματολογία», 14 και 15 Μαΐου 1999, Αθήνα.
- 7<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο της ΕΕΜΜΟ, 28 - 30 Μαΐου 1999, Χαλκιδική.
- 3<sup>ο</sup> Διεθνές Συνέδριο του ΕΛ.Ι.ΟΣ, 28 - 30 Μαΐου 1999, Χαλκιδική.
- Σεμινάριο Ανοσολογίας (17ος κύκλος), 3 - 5 Ιουνίου 1999, Αθήνα.
- Διημερίδα της ΕΡΕ με θέμα: «Οστεοαρθρίτις – Οσφυαλγία – Σπονδυλαρθρίτις», 24 και 25 Σεπτεμβρίου 1999, Αθήνα.
- 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογίας, 20 - 23 Οκτωβρίου 1999, Αθήνα.
- Μετεκπαιδευτικά μαθήματα Ρευματολογίας, 26 και 27 Νοεμβρίου 1999, Αθήνα.

- Σεμινάριο του Τμήματος ενδομυελικών Ηλώσεων 26 – 27 Φεβρουαρίου 2000, Αθήνα.
- 26<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 16 – 20 Μαΐου 2000, Αθήνα.
- 8<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο της ΕΕΜΜΟ, 25 – 28 Μαΐου 2000, Αθήνα.
- 4<sup>ο</sup> Σεμινάριο ΕΛΙΟΣ, 25 – 28 Μαΐου 2000, Αθήνα.
- XVI Περιφερειακό Σεμινάριο του Κ.Ε.Ο.Χ, 26 – 27 Μαΐου 2000, Καλαμπάκα.
- Διημερίδα της ΕΡΕ με θέμα: “Νοσήματα Συνδετικού Ιστού”, 9 και 10 Ιουνίου 2000, Δελφοί.
- Annual European Congress of Rheumatology, Nice France, June 21 – 24, 2000.
- 6<sup>th</sup> Postgraduate Course in Rheumatology, Nice France, 18 – 27 June 2000.
- 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 21-25 Νοεμβρίου 2000, Αθήνα.
- 3<sup>ο</sup> Σεμινάριο ΚΕΟΧ ανασκόπησης σύγχρονης ορθοπαιδικής και τραυματιολογίας
- 1<sup>η</sup> Διαπανεπιστημιακή ημερίδα με θέμα: “Λοιμώξεις του μυοσκελετικού συστήματος”, 1 Φεβρουαρίου 2001, Λάρισα
- 3<sup>η</sup> αρθροσκοπική ημερίδα γόνατος, 10 Μαρτίου 2001, Θεσ/νική
- Εκπαιδευτικό σεμινάριο της ΕΡΕ με θέμα: “Ρευματολογία: σύγχρονες απόψεις”, 22 Σεπτεμβρίου 2001, Ιωάννινα

- Ημερίδα της ΕΕΜΜΟ με θέμα: “Όστεοπόρωση: νέα δεδομένα στην αντιμετώπιση της”, 23 Νοεμβρίου 2003, Λάρισα
- XVII Πανελλήνιο συνέδριο Ρευματολογίας, 27 – 30 Νοεμβρίου 2003, Αθήνα
- Ημερίδα της ΕΡΕ με θέμα: “ Νεότερες εξελίξεις στη θεραπεία των ρευματικών νοσημάτων”, 15 Μαρτίου 2003
- Annual European Congress of Rheumatology “EULAR 2003”, 18 – 21 June 2003, Lisbon, Portugal
- Ημερίδα της ΕΡΕ με θέμα: “Νεώτερες εξελίξεις στη διάγνωση και θεραπεία των ρευματικών νοσημάτων”, 11 Οκτωβρίου 2003, Λάρισα
- Abbott meeting της μελέτης ReACT: Treating RA in real-life clinical practice, 14-15 Μάη 2004, Αθήνα
- Annual European Congress of Rheumatology “EULAR 2004” 9-12 June 2004, Berlin, Germany
- XVIII Πανελλήνιο συνέδριο Ρευματολογίας, 1 – 4 Δεκεμβρίου 2004, Αθήνα
- Annual European Congress of Rheumatology “EULAR 2005” 8 – 11 June 2005, Vienna, Austria
- Επιστημονική ημερίδα “Εαρινές ημέρες Ρευματολογίας”, 18 Ιουνίου 2005, Κυλλήνη
- XI Mediterranean Congress of Rheumatology, 22 – 24 September 2005, Heraklion, Crete, Greece

- American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting 12 – 17 November 2005, San Diego, California, USA
- Annual European Congress of Rheumatology “EULAR 2006” 21 – 24 June 2006, Amsterdam, Netherlands

### ΔΙΔΑΚΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

Από τον Οκτώβριο του 2001 μέχρι τον Ιούνιο του 2002, ήμουν εκπαιδευτής στο τμήμα Νοσηλευτικής Τραυματολογίας του 2<sup>ου</sup> ΙΕΚ Λάρισας, διδάσκοντας το μάθημα «Στοιχεία Νευρολογίας – Ψυχιατρικής». Την διδακτέα ύλη της περιόδου αυτής αποτελούν δικά μου συγγράμματα.

Από τον Σεπτέμβριο του 2002 μέχρι σήμερα είμαι εργαστηριακός συνεργάτης του τμήματος της Νοσηλευτικής, της Σχολής Επιστημών Υγείας Πρόνοιας (Σ.Ε.Υ.Π), του Τ.Ε.Ι Λάρισας, διδάσκοντας το εργαστήριο στο μάθημα της Φυσιολογίας του 2<sup>ου</sup> εξαμήνου, το εργαστήριο του μαθήματος της Κλινικής Σημειολογίας και το μάθημα της Γενικής Μικροβιολογίας (εργαστήριο και θεωρία). Επίσης, είμαι επιβλέπων καθηγητής σε σημαντικό αριθμό πτυχιακών εργασιών σπουδαστών της Νοσηλευτικής σχολής που έχουν εκπονηθεί, ή βρίσκονται στο στάδιο της διεκπεραίωσης τους.