

ΑΦΙΕΡΩΜΑ ΣΤΟΝ ΕΛΕΥΘΕΡΟΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΑ ΙΑΤΡΟ

Κλινική ερμηνεία και επεξήγηση των ανοσολογικών εξετάσεων

Σειρά άρθρων αφιερωμένα στον κλινικό ιατρό
για τη χρησιμότητα και την αξιοπιστία των ανοσολογικών εξετάσεων



ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ - ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ:

ΙΩΑΝΝΗΣ ΡΟΥΤΣΙΑΣ

Μικροβιολόγος - Ανοσολόγος

Λέκτορας Παν/μίου Αθηνών

1. Ο ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ

Ι. ΡΟΥΤΣΙΑΣ, ΔΗΜ. ΓΟΥΛΕΣ, Π. ΒΟΥΛΓΑΡΗ

¹Υπεύθυνος ανοσολογικού ΕΚΠΑ,²Ρευματολόγος, Επιστ. Συνεργάτης ΕΚΠΑ,³Αν. Καθηγήτρια Ρευματολογίας, Ιωάννινα

Ο ρευματοειδής παράγοντας είναι ένα αυτοαντίσωμα που ανιχνεύεται στον ορό ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα, αυτοάνοσα και άλλα νοσήματα, καθώς και σε φυσιολογικά άτομα με ποικίλλουσα συχνότητα και βαθμό χημικής συγγένειας. Στο παρόν άρθρο, γίνεται σύντομη περιγραφή των μεθόδων μέτρησης, των ανοσοχημικών ιδιοτήτων, καθώς και της σύνθεσης - παραγωγής του στον οργανισμό. Τέλος, γίνεται λόγος για την προγνωστική και διαγνωστική αξία των ισοτύπων του ρευματοειδή παράγοντα, καθώς και για το μηχανισμό δράσης του στη ρευματοειδή αρθρίτιδα.

Λέξεις κλειδιά: ρευματοειδής παράγων, διάγνωση, πρόγνωση, δοκιμασίες μέτρησης

Ο ρευματοειδής παράγοντας (ΡΠ) είναι αυτοαντίσωμα που ανιχνεύεται στον ορό ασθενών με αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα¹. Μπορεί όμως να βρεθεί θετικός σε λοιμώξεις, σε φλεγμονώδη και λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα, καθώς και σε φυσιολογικά άτομα² (Πίνακας 1).

Ο ρευματοειδής παράγοντας (ΡΠ) στρέφεται εναντίον του Fc τμήματος (fragment crystallizable - κρυσταλοποιήσιμο τμήμα) της ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης IgG (Σχήμα 1). Ειδικότερα, στοχεύει αντιγονικούς καθοριστές των περιοχών CH₂ και CH₃ του Fc τμήματος. Στην πραγματικότητα, ο ΡΠ δεν είναι ένας, αλλά υπάρχουν πολλοί τύποι. Συγκεκριμένα, διακρίνουμε διάφορους ισοτύπους του ΡΠ: IgM, IgG, IgA, IgE, με τον πρώτο να απαντάται συνηθέστερα στον ορό των ασθενών. Στο Σχήμα 1 παρουσιάζονται η μοριακή δομή του IgM ΡΠ (πράσινο μόριο) και ο IgG ΡΠ (μπλε), καθώς και το μόριο της IgG ανοσοσφαι-

ρίνης εναντίον της οποίας στρέφεται. Η συχνότητα του ΡΠ σε αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα παρουσιάζεται στον Πίνακα 2. Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ), το σύνδρομο Sjogren και η μικτή νόσος του συνδετικού ιστού είναι τα κυριότερα ρευματικά νοσήματα που μπορεί να εμφανίσουν θετικό ΡΠ.

Τα μη αυτοάνοσα νοσήματα που συνοδεύονται από θετικό ΡΠ περιλαμβάνουν χρόνιες βακτηριακές λοιμώξεις, όπως η υποξεία βακτηριακή ενδοκαρδίτιδα και η φυματίωση, ιογενείς λοιμώξεις, όπως η ερυθρά, η γρίπη, η λοιμώδης μονοπυρήνωση και η λοίμωξη από κυτταρομεγαλοϊό, αλλά και λοιμώξεις από παράσιτα (Πίνακας 1). Ακόμη, τα χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα, όπως η σαρκοείδωση, οι παθήσεις του ήπατος και η περιοδοντική νόσος, καθώς και νεοπλασμάτα συνοδεύονται συχνά από θετικό ΡΠ. Στα παραπάνω νοσήματα είναι συχνή η ύπαρξη υπεργammασφαιριναιμίας λόγω πολυκλωνικής Β λεμφοκυτταρι-

Πίνακας 1. Νοσήματα με θετικό ΡΠ

• Χρόνιες βακτηριακές λοιμώξεις - Υποξεία βακτηριακή ενδο-καρδίτιδα - Λέπρα - Σύφιλη - Φυματίωση - N. Lyme • Ιογενή νοσήματα - Ερυθρά - CMV λοίμωξη - Λοιμώδης μονοκυττάρωση - Γρίπη • Παρασιτικά νοσήματα - Συχνή η ύπαρξη υπεργαμμασφαιριναιμίας - πολυκλωνική B κυτταρική ενεργοποίηση	• Χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα - Σαρκοείδωση - Πνευμονική διάμεση νόσος - Παθήσεις ήπατος - Περιοδοντική νόσος • Άλλα αυτοάνοσα νοσήματα - Σύνδρομο Sjogren - Μικτή κρουσφαιριναιμία - Υπεργαμμασφαιρινική πορφύρα - ΣΕΛ, ΜΝΣΙ - ΡΑ • Νεοπλάσματα
--	---

κής ενεργοποίησης. Ο ΡΠ στα μη αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα είναι συνήθως IgM χαμηλής συγγένειας. Η συχνότητα εμφάνισης θετικού ΡΠ σε φυσιολογικά άτομα αυξάνει ανάλογα με την ηλικία. Στις ηλικίες μεταξύ 20 και 60 ετών η συχνότητα είναι 2-4%, στα άτομα 60 έως 70 ετών είναι 5%, ενώ μετά τα 70 ανέρχεται σε 10-25%. Οι τίτλοι του ΡΠ σε φυσιολογικά άτομα είναι συνήθως χαμηλοί και μόνο στο 20% είναι υψηλοί.

Δοκιμασίες μέτρησης

Οι κυριότερες κλινικές δοκιμασίες ανίχνευσης και προσδιορισμού του ΡΠ αναφέρονται αμέσως παρακάτω. Το όριο θετικότητας του αποτελέσματος εξαρτάται από τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο:

- Μέθοδος συγκόλλησης σωματίων πολυστυρενίου (latex) (ποιοτική).
- Μέθοδος συγκόλλησης ερυθροκυττάρων επεξεργασμένων με IgG κουνελίου (ποιοτική).
- Ραδιοανοσολογική μέθοδος (ΡΙΑ).
- Έμμεσος ανοσοφθορισμός.
- Ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA).
- Ανοσοδιάχυση ή ανοσοηλεκτροφόρηση.
- Νεφελομετρία ($\geq 20\text{U/ml}$).
- Θολομετρία ($\geq 20\text{U/ml}$).

Στα περισσότερα εργαστήρια, σήμερα, χρησιμοποιείται η νεφελομετρία, ενώ σε κάποια χρησιμοποιείται η θολομετρία, η ELISA και η μέθοδος συγκόλλησης σωματίων latex. Η τελευταία χρησιμοποιεί σωματίδια πολυστυρενίου επενδυμένα με IgG για την ανίχνευση του IgM ΡΠ, ο οποίος συνδέεται στα σωματίδια και προκαλεί ορατή συγκόλληση. Ο προσδιορισμός στην περίπτωση αυτή είναι ποιοτικός (+/-) ή ημιποσοτικός μέσω διαδοχικών αραιώσεων. Θετικός θεωρείται ο τίτλος $>1/20$. Η επικρατούσα μέθοδος για τον προσδιορισμό του ΡΠ είναι η νεφελομετρία, η οποία μπορεί να ανιχνεύσει τους τρεις ισότυ-

Πίνακας 2. Αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα με θετικό ΡΠ

Νόσημα	Συχνότητα (%)
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	80-85
Σύνδρομο Sjogren's	75-95
Κρουσφαιριναιμία	40-100
Μικτή νόσος συνδετικού ιστού	50-60
Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	15-35
Σκληρόδερμα	20-30
Πολυμυοσίτιδα	5-10

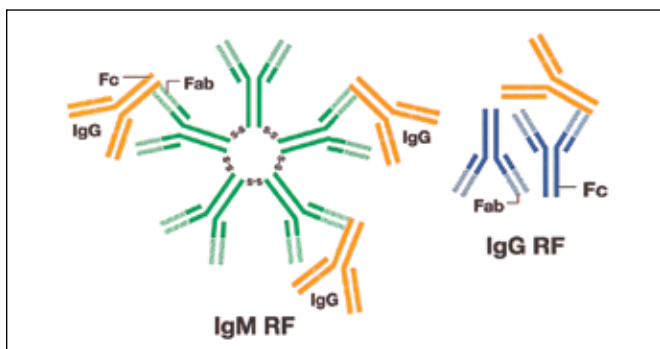
πους ΡΠ (IgM, IgG, IgA) ποσοτικά με μεγάλη ευαισθησία (μεγαλύτερη από τη θολομετρία) και επιπρόσθετα, μπορεί εύκολα να αυτοματοποιηθεί. Με τη νεφελομετρία, θετικό θεωρείται το αποτέλεσμα $\geq 20\text{IU}$.

Προγνωστική σημασία ΡΠ

Η παρουσία ΡΠ στον ορό συχνά προηγείται αρκετά έτη της έναρξης της ρευματοειδούς αρθρίτιδος (ΡΑ). Υψηλοί τίτλοι ΡΠ με αυξημένη συγγένεια για την ανθρώπινη IgG ανοσοσφαιρίνη διαπιστώνονται στο 85% περίπου των ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα. Πρέπει να σημειωθεί όμως, ότι αν και περιλαμβάνεται στα διαγνωστικά κριτήρια ACR της νόσου, ο ΡΠ δεν είναι, ωστόσο, ειδικός γι' αυτή. Οι αυξημένοι τίτλοι ΡΠ συνδέονται με σοβαρή και επιθετική ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ), υψηλό ποσοστό συστηματικών εκδηλώσεων, ρευματοειδή οζίδια και αγγειίτιδα^{3,4}. Οι επαναλαμβανόμενες μετρήσεις του IgM-ΡΠ δεν αντανakλούν ικανοποιητικά την ενεργότητα της νόσου και ως εκ τούτου, δεν έχουν αξία για την παρακολούθηση της πορείας της. Ωστόσο, οι ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα και αρνητικό ΡΠ στον ορό έχουν συνήθως ηπιότερες αρθρικές και λιγότερες εξωαρθρικές εκδηλώσεις. Ένα μικρό ποσοστό οροαρνητικών ασθενών με ΡΑ γίνονται οροθετικοί, καθώς η νόσος εξελίσσεται, εμφανίζοντας παρόμοια πρόγνωση και κλινικές εκδηλώσεις με αυτούς που εξαρχής ήταν θετικοί για ΡΠ. Τα ασυμπτωματικά οροθετικά άτομα με επίμονα υψηλούς τίτλους ΡΠ έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΡΑ⁵. Στο αρθρικό υγρό ασθενών με ΡΑ μπορεί να ανιχνεύονται περισσότεροι του ενός ισότυποι του ρευματοειδή παράγοντα (IgM, IgG, IgA, IgE)⁶. Ο IgG ΡΠ ανευρίσκεται με αυξημένη συχνότητα και τίτλους στον ορό και κυρίως στο αρθρικό υγρό ασθενών με σοβαρή μορφή ΡΑ⁷. Η συνύπαρξη IgG και IgA ΡΠ αυξάνει τον κίνδυνο συστηματικών εξωαρθρικών εκδηλώσεων, π.χ. αγγειίτιδας⁵, ενώ η παρουσία του IgE ΡΠ (ELISA) συνδέεται επίσης με εξωαρθρικές εκδηλώσεις. Ο IgA ΡΠ συνδέεται με πιο σοβαρή, ταχέως επιδεινούμενη νόσο και οστικές διαβρώσεις⁸. Αξίζει να σημειωθεί, ότι ασθενείς με ΡΠ οροθετικά αυτοάνοσα νοσήματα (εκτός της ΡΑ) τείνουν να εμφανίζουν συμμετρική αρθρίτιδα.

Ανοσοχημικές ιδιότητες

Οι ανοσοχημικές ιδιότητες του ΡΠ σχετίζονται με τη θέση σύνδεσής του πάνω στην ανοσοσφαιρίνη IgG και την κινητική αλληλεπίδρασή του με αυτή. Ο ΡΠ από διάφορα αίτια (ΡΑ, νόσος



Σχήμα 1. Ο ρευματοειδής παράγοντας και ανήκει συνηθέστερα στην τάξη IgM και κυκλοφορεί σε πενταμερή μορφή (πράσινο μόριο). Στο σχήμα παρουσιάζεται επίσης ο ΡΠ τάξης IgG (μπλε μόριο) που δεν έχει τη δυνατότητα ολιγομερισμού. Το πορτοκαλί μόριο είναι η IgG ανοσοσφαιρίνη εναντίον του Fc τμήματος της οποίας στρέφεται ο ΡΠ.

του Waldestorm, κ.λπ.) συνδέεται με διάφορες υποτάξεις της IgG, δηλαδή IgG₁, IgG₂, IgG₄. Σύνδεση του ΡΠ με την IgG₃ γίνεται μόνο στη ΡΑ και κυρίως στον αρθρικό υμένα. Η περιοχή που αναγνωρίζει ο IgM ΡΠ βρίσκεται στο Fc τμήμα της IgG μεταξύ των πεδίων CH₂-CH₃. Στο αρθρικό υγρό, ο IgM και ο IgG ΡΠ συνδέονται ισχυρά με το Fc των IgG που είναι λιγότερο γλυκοζυλιωμένες και κατέχουν λιγότερα μόρια γαλακτόζης, λόγω μειωμένης δράσης της γαλακτοσυλτρανσφεράσης των Β λεμφοκυττάρων. Ο μονοκλωνικός IgM ΡΠ στα λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα έχει χαμηλή συγγένεια σύνδεσης (10⁻⁴-10⁻⁵ M) συγκριτικά με τον IgM ρευματοειδή παράγοντα στη ΡΑ που έχει υψηλή συγγένεια σύνδεσης (10⁻⁷ M). Ειδικότερα, στη ΡΑ και στο σύνδρομο Sjogren τα CD₃⁺ Β λεμφοκύτταρα παράγουν πολυδραστικό ΡΠ χαμηλής συγγένειας και μονοδραστικό ΡΠ υψηλής συγγένειας από επέκταση ειδικών κλώνων λεμφοκυττάρων που παράγουν ΡΠ και έχουν υποστεί σωματικές μεταλλάξεις. Ο ΡΠ συνδέεται επίσης με τη φυσική ανοσοσφαιρίνη IgG, καθώς και με συναθροίσεις αυτής (π.χ. σε ανοσοσυμπλέγματα). Ο IgM ΡΠ παρουσιάζει εκλεκτική σύνδεση στα ανοσοσυμπλέγματα που δημιουργούνται στο αρθρικό υγρό ασθενών με ΡΑ, λόγω αυξημένης συνάφειας με αυτά.

Σύνθεση- Παραγωγή ΡΠ

Δύο κύρια ερεθίσματα επάγουν τη σύνθεση IgM ρευματοειδή παράγοντα στον οργανισμό: Τα ανοσοσυμπλέγματα και οι πολυκλωνικοί Β κυτταρικοί ενεργοποιητές. Για τη βέλτιστη παραγωγή ΡΠ απαιτείται η παρουσία αντισωμάτων και ειδικών Τ κυττάρων για το ανοσογόνο αντιγόνο (π.χ. βακτηριακή ενδοκαρδίτιδα). Στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, η παραγωγή ΡΠ παραμένει για χρόνια, λόγω επιμονής των Β κυτταρικών κλώνων που παράγουν ΡΠ ή/και τη συνεχή παρουσία ανοσοσυμπλεγμάτων στον ορό και στο αρθρικό υγρό, όπου είναι η κύρια θέση παραγωγής του. Η παρουσία IgM ΡΠ συχνά προηγείται της έναρξης της ΡΑ κατά αρκετά έτη.

Παθογενετικός ρόλος ΡΠ

Ο ακριβής βιολογικός και παθογενετικός ρόλος του ΡΠ δεν έχει

ακόμη αποσαφηνισθεί. Έχουν προταθεί διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί συμμετοχής του ΡΠ στην παθογένεια της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, όπως:

- 1) Η σύνδεση του IgM ΡΠ σε ανοσοσυμπλέγματα επαυξάνει την πρόσδεση και ενεργοποίηση του συμπληρώματος, π.χ. σύνδεση IgM ΡΠ σε αντισώματα έναντι κολλαγόνου.
- 2) Τα Β λεμφοκύτταρα, που φέρουν τον ΡΠ σαν ανοσοσφαιρίνη επιφανείας, μπορεί να δράσουν ως σημαντικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα.
- 3) Συμπλέγματα IgG ΡΠ ενεργοποιούν NK κύτταρα μέσω του υποδοχέα των NK για την IgG (CD16) για να παράγουν παράγοντα νέκρωσης των όγκων άλφα (TNF-α) και ιντερφερόν γ, ευοδώνοντας τη φλεγμονώδη διεργασία.

Τα τελευταία χρόνια έγιναν προσπάθειες εξεύρεσης ενός αυτοαντισώματος με μεγαλύτερη ειδικότητα για τη ΡΑ από τον ΡΠ, όπως είναι τα αντικιτρουλλινικά αντισώματα. Στη ΡΑ έχουν ανευρεθεί αντισώματα, τόσο έναντι γραμμικών κιτρουλλινικών πεπτιδίων και κυκλικών κιτρουλλινικών πεπτιδίων, διαδραματίζοντας παθογενετικό και διαγνωστικό ρόλο.

ABSTRACT

Rheumatoid factor (RF) is an autoantibody which is directed against the Fc region of other immunoglobins. Positive serologic results are found in patients with rheumatoid arthritis, as well as in a number of other conditions (autoimmune or not), including clinically normal individuals, with variations in frequency and chemical affinity, though. The present article revises the methodology for laboratory measurement, the immunochemical properties and the triggering factors for its production. In the end, prognostic and diagnostic values of RF are being assessed, as well as its pathogenetic role in rheumatoid arthritis.

Key words: rheumatoid factor, diagnosis, prognosis, laboratory testing

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Winchester RJ, Kunkel HG, Agnello V. Occurrence of gamma-globulin complexes in serum and joint fluid of rheumatoid arthritis patients: use of monoclonal rheumatoid factors as reagents for their demonstration. J Exp Med 1971; 134:286-95.
2. Korpilahde T, Heliovaara M, Kaipainen-Seppanen O, Knekt P, Aho K. Regional differences in Finland in the prevalence of rheumatoid factor in the presence and absence of arthritis. Ann Rheum Dis 2003; 62:353-5.
3. Wilson D. Rheumatoid factors in patients with rheumatoid arthritis. Can Fam Physician 2006; 52:180-1.
4. De Rycke L, Peene I, Hoffman IE, Kruihof E, Union A, Meheus L, Lebeer K, Wyns B, Vincent C, Mielants H, Boullart L, Serre G, Veys EM, De Keyser F. Rheumatoid factor and anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations. Ann Rheum Dis 2004; 63:1587-93.
5. Halldorsdottir HD, Jonsson T, Thorsteinsson J, Valdimarsson H. A prospective study on the incidence of rheumatoid arthritis among people with persistent increase of rheumatoid factor. Ann Rheum Dis 2000; 59:149-51.
6. Jonsson T, Valdimarsson H. Is measurement of rheumatoid factor isotypes clinically useful? Ann Rheum Dis 1993; 52:161-4.
7. Visvanathan S, Robertson PW, Bertouch JV. IgG rheumatoid factor synthesis in synovial fluid. Ann Rheum Dis 1992; 51:1342.
8. Pai S, Pai L, Birkenfeldt R. Correlation of serum IgA rheumatoid factor levels with disease severity in rheumatoid arthritis. Scand J Rheumatol 1998; 27:252-6.
9. Πανταζή Λ, Τζούφας Α. Εργαστηριακά ευρήματα ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Στο: Μουστόπουλος Χ, Ντούνης Ε. Ρευματοειδής πόδι. Παριζάνου, Αθήνα σελ 57-61.
10. Βούλγαρη Π. Ρευματοειδής Παράγων και Αντι-CCP αντισώματα. Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα ρευματολογίας, Αθήνα 2007.