

ANTICORPI ANTI-CITRULLINA

Sigla corrente	CCP
Sinonimi	Anticorpi anti-citrullina anticorpi anti peptide ciclico citrullinato (CCP)
Struttura e caratteristiche molecolari	Vengono ricercati anticorpi diretti verso l'antigene costituito da un peptide citrullinato ciclico. In precedenza venivano utilizzati come marcatori specifici della artrite reumatoide (AR) gli anticorpi anti filaggrina/cheratoialina o il cosiddetto fattore perinucleare. In realtà è stato dimostrato che gli anticorpi anti-CCP riconoscono una proteina epiteliale comune chiamata filaggrina, soggetta ad una modificazione enzimatica post-trascrizionale che comporta la sostituzione di alcuni residui di arginina con altri di citrullina. L'aminoacido citrullina presente nella filaggrina si è rivelato un componente importante dell'epitopo antigenico di queste molecole divenendo l'antigene di scelta come substrato in test immunoenzimatici (ELISA) di prima generazione per la determinazione degli anticorpi anti-CCP dotati di un'ottima specificità per la diagnosi di AR. L'utilizzo di peptidi citrullinati ciclici, nei test anti-CCP di seconda generazione, ha migliorato notevolmente la sensibilità del test mantenendo un'elevata specificità. Il test è stato approvato dalla <i>United States</i> FDA per l'utilizzo nella diagnosi di AR. L'antigene CCP di seconda generazione (CCP2) è caratterizzato da un mix di peptidi citrullinati ciclici e consente di ottenere le migliori prestazioni, anche rispetto alla terza generazione (vimentina citrullinata) di recente introduzione.
Biosintesi	La citrullinazione è un processo biochimico in cui i residui di arginina della filaggrina (proteina filamentosa aggregata coinvolta nella organizzazione del citoscheletro delle cellule degli epitelii squamosi) vengono deaminati a citrullina tramite l'enzima peptidil arginina deaminasi. In seguito a queste modificazioni la profilaggrina viene clivata in frammenti di filaggrina che contengono i residui citrullinati riconosciuti dagli anticorpi specifici. La filaggrina non è presente nella membrana sinoviale, ma altre proteine possono essere citrullinate allo stesso modo e quindi essere legate dagli stessi anticorpi (reattività crociata).
Funzione e significato biologico	Gli anticorpi anti-CCP potrebbero avere un importante ruolo patogenetico nella AR: a livello articolare sono presenti numerose proteine citrullinate (catene α e β della fibrina) in grado di determinare l'attivazione dei linfociti specifici presenti a livello sinoviale. E' stato recentemente dimostrato che i linfociti sinoviali di pazienti affetti da AR producono spontaneamente anticorpi anti-CCP. La citrullinazione delle proteine è un evento riconducibile anche ai fenomeni apoptotici, notoriamente associati agli eventi autoimmunitari.
Utilizzo Clinico	L'AR è una delle malattie autoimmuni più diffuse (1-2% popolazione europea). La manifestazione clinica più significativa è una infiammazione delle membrane sinoviali che porta a dolorosi rigonfiamenti delle articolazioni e all'anchilosi. Nel porre la diagnosi di AR come quadro clinico a sé stante è necessario poter escludere con sicurezza altre forme di artrite: in tale percorso diagnostico il laboratorio gioca un ruolo importante con la determinazione dei fattori reumatoidei (FR), anticorpi di classe IgM rilevabili nel 60-80% dei pazienti con AR. I FR sono marcatori sensibili ma non molto specifici; per contro gli anti-CCP sono caratterizzati da una specificità di oltre il 90% per AR e sono rilevabili ad uno stadio molto precoce, subclinico della malattia. Circa il 70% dei pazienti con AR sono positivi per anti-CCP a fronte di solo il 2% dei soggetti di controllo. La loro determinazione risulta quindi utile nella diagnosi della AR e in particolare nei casi di artriti erosive, nell'infanzia e nei casi di AR giovanile. Appaiono, inoltre, utili nel differenziare le collagenopatie con artrite concomitante dalla AR. Presentano un importante valore prognostico nell'evoluzione di danni articolari rilevabili radiologicamente. La loro determinazione quantitativa è utile nel controllo e verifica della terapia farmacologica. L'utilizzo insieme alla determinazione del FR massimizza il rapporto sensibilità/specificità. Non va

dimenticato infatti che il 20% delle AR sono FR-negative e che il 15/20% delle AR sono positive al solo al FR. La contemporanea positività a FR e CCP ha un valore predittivo positivo quasi del 100%. I livelli di anticorpi anti-CCP non sono necessariamente correlati allo stadio evolutivo della malattia. Il grande pregio degli anticorpi anti-CCP è quello di essere riscontrabili nel siero dei pazienti fino a 10 anni prima della comparsa dei sintomi. Inoltre nei casi di artrite precoce la positività al test secondo alcuni studi è correlabile al successivo sviluppo di lesioni erosive ossee a livello delle articolazioni.

DETERMINAZIONE

Matrice biologica	Siero o plasma (EDTA, citrato, eparina)
Variabilità preanalitica del soggetto	non disponibile
del campione	non disponibile
Stabilità – conservabilità	Sino a 48 ore 4°C; per periodi più prolungati conservare a -20°C
Metodo di riferimento	non disponibile
Standard internazionale di riferimento	non disponibile (in sperimentazione Standard Internazionale WHO per gli anticorpi anti-Peptidi Citrullinati)
Unità di misura	Unità Arbitrarie (UA - metodo dipendenti)
Metodologie impiegabili	Immunochimiche
Intervalli di riferimento	Variano con il produttore. Ciascun laboratorio deve verificare i propri intervalli di riferimento in funzione dei livelli di sensibilità e specificità cliniche prefissati

DISPONIBILITA' DI MERCATO

Produttore	Distributore	Prodotto	Tecnica	Strumentazione richiesta
Axis-Shield www.axis-shield.com	Abbott S.r.l www.abbott.com	AxSym® <i>xtra</i> anti-CCP	MEIA	AxSYM®
Aesku Diagnostics www.aesku.com	Grifols Italia S.p.A www.grifols.com	Aeskulisa RA CP-Detect*	ELISA	Analizzatori di micropiastre
Astra S.r.l www.astradiagnostici.it	Astra S.r.l www.astradiagnostici.it	VCP IgG*	ELISA	Analizzatori di micropiastre
Axis-Shield www.axis-shield.com	Bouty S.p.A./ Technogenetics www.technogenetics.it	Diastat anti-CCP	ELISA	Analizzatori di micropiastre
Euro-Diagnostica www.eurodiagnostica.com	BSN S.r.l. Via Roma, 56 Castelleone (CR) Diasorin S.p.A. www.diasorin.com	Immunoscan RA	ELISA	Analizzatori di micropiastre
Euroimmun www.euroimmun.de	Euroimmun Italia S.r.l www.euroimmun.it	Anti CCP ELISA	ELISA	Analizzatori di micropiastre
Genesis Diagnostics www.elisa.co.uk	Beta Diagnostics s.a.s www.betadiagnostici.it	EDRA Genesis CPA	ELISA	Analizzatori di micropiastre
Immuno Concepts www.immunoconcepts.com	Technogenetics www.technogenetics.it	Anti-MCV*	ELISA	Analizzatori di micropiastre / Alegria

Scheda tecnica

Produttore	Distributore	Prodotto	Tecnica	Strumentazione richiesta
Inova Diagnostics, Inc. www.inovadx.com	Instrumentation Laboratory www.il-italia.it	QUANTA-Lite™ CCP IgG ELISA QUANTA-Lite™ CCP3 IgG ELISA	ELISA	Analizzatori di micropiastre
A.Menarini Diagnostics www.menarini.com	A.Menarini Diagnostics www.menarini.com	CC	ELISA	Analizzatori di micropiastre
Phadia S.r.l www.phadia.it	Phadia S.r.l www.phadia.it	EliA CCP	IFMA	ImmunoCAP 100 ImmunoCAP 250
Roche Diagnostics www.roche-diagnostics.it	Roche Diagnostics www.roche-diagnostics.it	Anti-CCP	ECLIA	Elecsys 2010 / Modular E Cobas e 411 / e 601

*Questi test non utilizzano come leganti i peptidi citrullinati ma loro analoghi.

Bibliografia essenziale

1. **Bizzaro N. et al.** Diagnostic Accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 47:6, 1089-1093, 2001
2. **Schellekens G. et al.** The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 43:155-163 (2000)
3. **Baeten D. et al.** Specific presence of intracellular citrullinated proteins in rheumatoid arthritis synovium. *Arthritis Rheum* 44:2255-2262 (2001)
4. **Wener MH.** Rheumatoid Factors. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, NR Rose et al. American Society of Microbiology Press, 961-972 (2002)
5. **Bizzaro N. Tampoia M.** Diagnostic accuracy of immunoassays for the detection of antibodies to citrullinated proteins. *Allergy & immunology* 2008;34:16-20
6. **del Val del Amo N, Ibanez Bosch R, Fito Manteca C, et al.** Anti-cyclic citrullinated peptide antibody in rheumatoid arthritis: relation with disease aggressiveness. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24(3):281-6
7. **Samanci N, Ozdem S, Akbas H, et al.** Diagnostic value and clinical significance of anti-CCP in patients with advanced rheumatoid arthritis. *J Natl Med Assoc.* 2005;97(8):1120-6
9. **Matsui T, Shimada K, Ozawa N, et al.** Diagnostic utility of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies for very early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2006;33(12):2390-7
10. **Bizzaro N, Villalta D, Tozzoli R, et al.** Validazione del primo standard internazionale WHO per gli anticorpi anti-Peptidi Citrullinati *RiMEL/IJLaM* 2008; 4(suppl): F23 - 203