

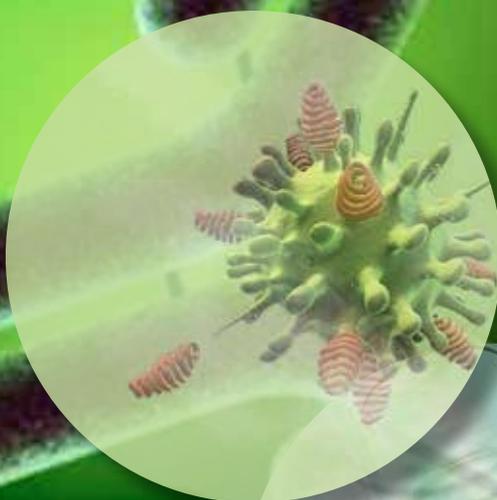
RB VETENSKAP



ReumaBulletinen

SVENSK REUMATOLOGISK FÖRENING

NUMMER 97 • 3/2014



www.svenskreumatologi.se



ReumaBulletinen RB VETENSKAP

ReumaBulletinen är Svensk Reumatologisk Förenings tidskrift och utkommer med sju nummer per år

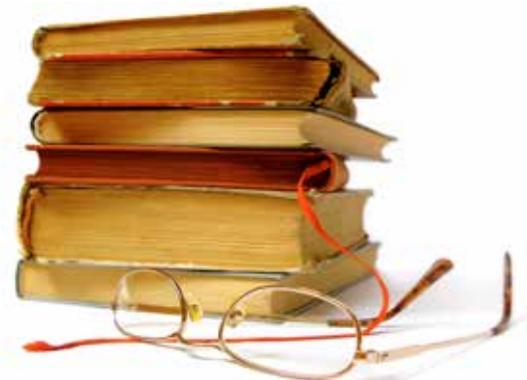
Ansvarig utgivare	Ralph Nisell Reumatologiska kliniken Karolinska Universitetssjh 171 76 Stockholm Tel 08-517 760 93 ralph.nisell@karolinska.se
Redaktörer	Inger Gjertsson Docent, överläkare Avd för reumatologi och inflammationsforskning Göteborgs Universitet Box 480, 405 30 Göteborg Tel 0730-24 67 25 inger.gjertsson@rheuma.gu.se
	Solveig Wällberg Jonsson Professor, överläkare Reumatologkliniken, Norrlands universitetssjukhus 901 85 Umeå Tel 0730-68 55 74 solveig.wallberg.jonsson@ medicin.umu.se
	Thomas Mandl Docent, överläkare Reumatologiska kliniken Skånes Universitetssjukhus thomas.mandl@med.lu.se
	Jon Lampa Docent, överläkare Reumatologiska kliniken Karolinska Universitetssjh 171 76 Stockholm jon.lampa@karolinska.se
Produktion	Mediahuset i Göteborg AB Marieholmsgatan 10C 415 02 Göteborg www.mediahuset.se Tel 031-707 19 30
Annonser	Dan Johansson dan@mediahuset.se
Layout	Eva-Lotta Emilsdotter lotta@mediahuset.se
Tryck	ÅkessonBerg AB Box 148 361 22 Emmaboda www.akessonberg.se
Distribution	Distribueras som posttidning ISSN 2000-2246 (print) ISSN 2001-8061 (online)

Utgivningsplan 2014

Nummer	Manusstopp	Utgivning
Nr 1 RB	24 januari	28 februari
Nr 2 RB	7 februari	19 mars
Nr 3 RB Vetenskap	7 mars	16 april
Nr 4 RB	22 april	28 maj
Nr 5 RB	1 september	8 oktober
Nr 6 RB Vetenskap	30 september	5 november
Nr 7 RB	10 november	18 december

Innehåll • 3/2014

- 3 Redaktören har ordet**
- 4 Cutting edge - ACPA: beyond diagnostic markers**
- 6 Antikroppar mot citrullinerade peptider i klinisk verksamhet**
- 12 Antikroppar mot citrullinerade proteiner/peptider (ACPA) som prediktorer för utvecklingen av reumatoid artrit**
- 16 Vad betyder ACPA?**
- 18 Börjar ledgångsreumatism i lungan?**
- 20 Hyaluronan - en alltid lika aktuell molekyl i reumatologiska sammanhang**
- 23 Det bakteriella sambandet mellan parodontit och reumatoid artrit**
- 25 Aktuell avhandling: Livsstilsfaktorer har betydelse för insjuknande i reumatoid artrit**
- 26 Aktuell avhandling: Prevalens, fysisk aktivitet och arbete hos patienter med spondylartrit**
- 28 Reumakalender**



Omslagsbild: Fotolia: Antibody

annons

Välkomna till RBV med tema ACPA

Vårt omhändertagande av patienter med reumatoid artrit (RA) har förändrats och förbättrats genom upptäckten av ACPA. Numrets gästskribent är Patrick Venables som tillsammans med Karin Lundberg ger oss en aktuell överblick över fältet och som klargör att "The discovery and definition of antibodies to citrullinated proteins (ACPA) is probably the most important advance in our understanding of rheumatoid arthritis (RA) in the last decade". Den svensk-norska forskningen som belyses i detta nummer ger verkligen exempel på detta.

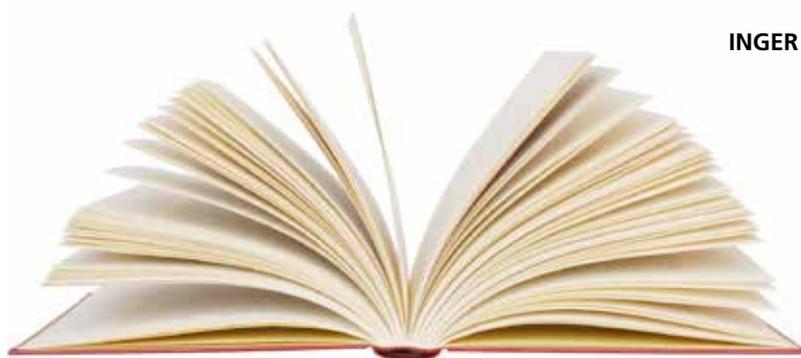
Vi får bland annat ta del av de banbrytande resultaten från 2003 där Umeå-gruppen kunde visa att närvaron av ACPA kunde föregå insjuknandet i RA med minst 15 år. Från Malmö/Lund kommer en artikel där förekomst av ACPA diskuteras i relation till vår kliniska vardag, speciellt med inriktning mot extra-artikulära manifestationer – ett inte alldeles solklart samband. Kan ACPA betyda olika saker i olika patientgrupper och kan ACPA ha skyddande egenskaper? Ja, kanske det. Intressanta fynd från Linköping talar för att anti-CCP av IgA isotyp i saliv skulle kunna vara associerat till lägre grad av erosivitet. Vi vet alla att det finns ett tydligt samband mellan ACPA, rökning och genetik. Men var börjar sjukdomen? Startar reumatismen i lungan eller kanske i munnen? Nya spännande teorier undersöks i Stockholm och Bergen.

Vi har också en liten uppstickare i numret – hyaluronsyra, alltid lika aktuell i reumatologiska sammanhang. Självklart presenterar vi också två avhandlingar: Ann-Marie Wesleys "Lifestyle Matters: epidemiological studies of oily fish, BMI, life events, physical workload and rheumatoid arthritis" och Emma Haglunds "Prevalence, physical activity, and work in patients with spondyloarthritis".

Sammanfattningsvis så har upptäckten av ACPA fört forskningen framåt med stormsteg avseende RA. Till stora delar är detta baserat på den svenska forskning som vi får ta del av i detta nummer av RBV. Vill ni läsa mer? Alla artiklarna har gedigna referenslistor med härliga tips för sköna kvällar!

God läsning önskar vi på redaktionen!

INGER GJERTSSON
Redaktör



Redaktörer för RB Vetenskap



Thomas Mandi



Solveig Wällberg Jonsson



Inger Gjertsson



Jon Lampa

ACPA: beyond diagnostic markers

The discovery and definition of antibodies to citrullinated proteins (ACPA) is probably the most important advance in our understanding of rheumatoid arthritis (RA) in the last decade¹. ACPA are characteristically measured by generic tests, which use artificial synthetic peptides or mutated recombinant proteins, designed primarily on the basis of their diagnostic performance.

The commonest tests used, anti-CCP and anti-MCV, have improved the diagnosis of RA and are now central to the revised classification criteria. But ACPA have gone beyond providing diagnostic markers, they have revolutionised our concept of what the diseases we call RA actually are. ACPA positive RA is more erosive, more severe, more strongly associated with the classical risk factors *HLA-DRB1* shared epitope (SE) and smoking than ACPA negative disease²: in other words, ACPA positive patients are generally more “RA-like” than those without the antibodies. It is conceivable that as antibody testing becomes more specific, “seronegative” RA will actually become a vanishing species. Perhaps those difficult-to-classify patients without autoantibodies will be assigned alternative diagnoses, such as psoriatic or reactive arthritis,

as the diagnostic tests for these conditions also becomes more refined.

True autoimmune condition

The most important advance to the researcher is that ACPA have finally confirmed what has been long suspected: that RA is a true autoimmune condition. Although, a major problem in the case of RA is that the autoantibodies remain poorly defined.

ACPA do not define the rheumatoid autoantigens, they merely indicate that the dominant “family” of autoantigens are citrullinated proteins³. Therefore, in order to elucidate the aetiopathogenic pathways of ACPA positive RA, three questions must be addressed:

- 1) what are the real biological targets for the autoimmune response;
- 2) by which mechanism(s) does the autoimmune response cause disease, and;
- 3) can the specificity of the autoimmune response give any clues to the disease aetiology?

Detail studies

Several citrullinated antigens have been described in RA, but only four: citrullinated fibrinogen, -alpha-enolase, -vimentin and -collagen type II, have been studied in detail, with peptide-based antibody assays reproducibly confirmed in several labora-

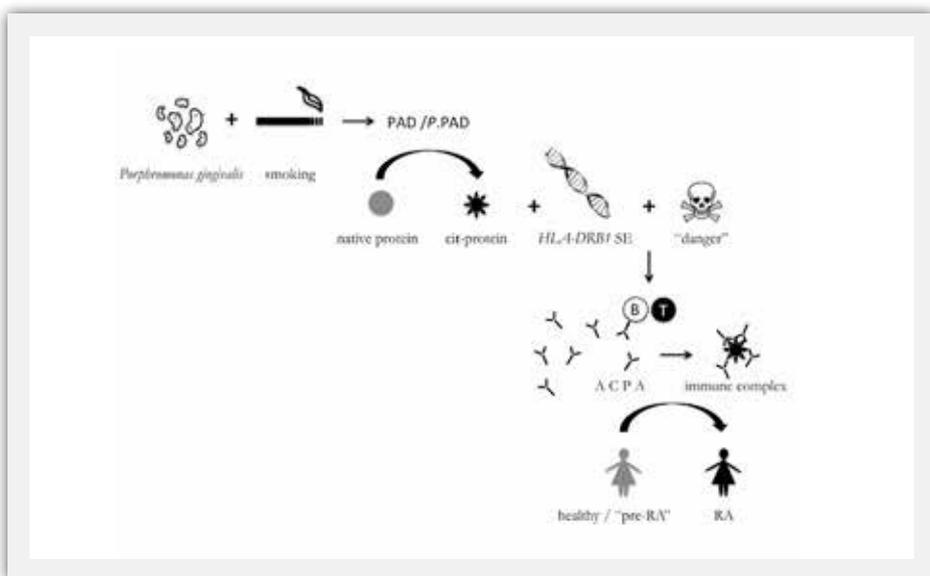
tories. Still, it is a matter of debate whether the ACPA response is antigen-specific, or whether it is peptide-specific. The prototype antigen for ACPA-binding was citrullinated flaggrin, a highly arginine-rich molecule, which when citrullinated provides multiple epitopes for ACPA-binding.

These epitopes were described in detail in the now classical papers from van Venrooij's and Serre's laboratories^{4,5}.

Their studies showed that flaggrin peptides containing citrulline immediately flanked by small neutrally charged and flexible amino acids, performed best in distinguishing RA from control serum samples. In contrast, some studies have challenged the concept that the ACPA response is peptide-specific, by providing evidence of true antigen-specificity. For example, both fibrinogen and alpha-enolase contain a large number of B cell epitopes, not all with particularly permissive residues surrounding the citrullines. Today, it would be fair to conclude that the current consensus favours the existence of distinct citrullinated antigens, but ACPA appear to be more cross-reactive than autoantibodies found in other autoimmune diseases.

A number of studies suggest that ACPA are also involved in the aetiopathogenesis of RA. For example, antibodies to citrullinated fibrinogen have been shown to form immune complexes and induce TNF secretion in human macrophages via FcγRIIa and Toll-like receptor 4⁶, and antibodies to citrullinated vimentin have been shown to bind directly to epitopes on osteoclasts and thereby induce bone absorption⁷. Furthermore, antibodies to citrullinated epitopes on both alpha-enolase and vimentin have been specifically linked to smoking as the major environmental agent in ACPA positive RA, and to *HLA-DRB1* SE, the major genetic determinant for ACPA positive RA^{8,9}. This particular finding provides an etiological link between smoking and ACPA positive RA, according to the hypothesis that smoking would increase cell death, activation of peptidyl arginine deiminase (PAD) and local protein citrullination. Presentation of peptides derived from citrullinated lung proteins on SE molecules would then in the context of the inflammatory milieu activate auto-reactive pathogenic T and B cells¹⁰.

The hypothesis outlined above could be challenged on the basis that citrullination is not sufficiently “unusual” to break tolerance. In this context, perhaps citrullina-



Mucosal surfaces may be exposed to cigarette smoke and microbes (e.g. *Porphyromonas gingivalis*), which could trigger innate immune reactions and local inflammation, activating PAD enzymes to citrullinate proteins. In the context of *HLA-DRB1* SE and “danger molecules”, peptides from citrullinated proteins may be presented to pathogenic T cells, which are activated and subsequently stimulate citrulline-specific B cells to produce high affinity ACPA. Through epitope-spreading and (cross)-reactivity with citrullinated epitopes exposed in the joints, the ACPA may form immune complexes and cause arthritis.

tion by the periodontal bacterium *Porphyromonas gingivalis* is a more credible candidate for initiating autoimmunity¹¹. *P. gingivalis* is unique among pathogens in its ability to express a PAD enzyme (P.PAD), which in combination with arginine gingipains can generate C-terminally citrullinated peptides from its own bacterial proteins as well as human proteins, including fibrinogen and alpha-enolase¹². Such peptides could not possibly be produced during the course of normal physiology.

Citrullinated peptides generated by P. PAD could therefore be genuine neo-epitopes for responding T cells, and prime candidates for breaking immune tolerance.

This hypothesis (illustrated in the figure), was recently supported by the observation of high levels of anti-citrullinated P.PAD antibodies in RA¹³, and low levels of ACPA in patients with chronic periodontitis¹⁴.

Diagnostic tests

ACPA have gone well beyond providing diagnostic tests for RA: investigations of their role in RA aetiopathogenesis are beginning to provide indications of aetiology.

One way to cure an autoimmune disease would be to remove the inciting and driving antigens. Hence, the concept of PAD inhibition has been proposed as a novel approach to treating RA. Another way to cure an autoimmune disease is to prevent the autoimmune response. Perhaps the present characterisation of citrullinated autoantigens may form the basis of future “vaccination” protocols. Either of these approaches offer the exiting possibility that RA should graduate from a challenging disease, which can only be suppressed, to one in which there is a genuine prospect of prevention and cure.



Karin Lundberg

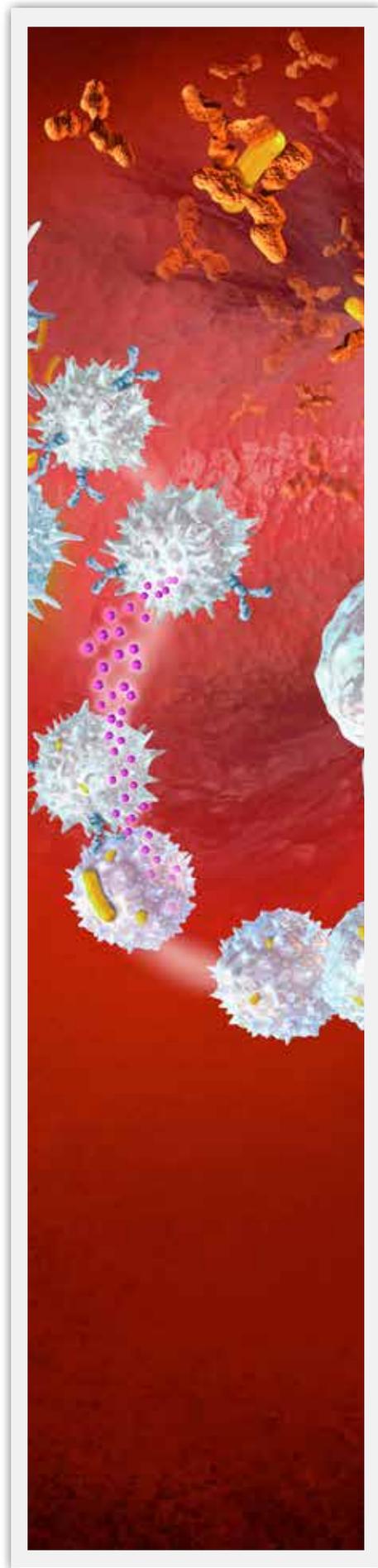
PhD, Dept of Medicine, Rheumatology Unit, Center for Molecular medicine (CMM), Karolinska Institutet Stockholm, Sweden

Patrick Venables

professor, Kennedy Institute Oxford University, Oxford, UK

Referenser

1. van Venrooij, W.J., van Beers, J.J. & Pruijn, G.J. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future. *Nature reviews. Rheumatology* 7, 391-398 (2011).
2. Klareskog, L., Ronnelid, J., Lundberg, K., Padyukov, L. & Alfredsson, L. Immunity to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Annual review of immunology* 26, 651-675 (2008).
3. Wegner, N., Wait, R. & Venables, P.J. Evolutionarily conserved antigens in autoimmune disease: implications for an infective aetiology. *The international journal of biochemistry & cell biology* 41, 390-397 (2009).
4. Schellekens, G.A., de Jong, B.A., van den Hoogen, F.H., van de Putte, L.B. & van Venrooij, W.J. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *The Journal of clinical investigation* 101, 273-281 (1998).
5. Girbal-Neuhauser, E., et al. The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro) flaggrin by deimination of arginine residues. *Journal of immunology* 162, 585-594 (1999).
6. Sokolove, J., Zhao, X., Chandra, P.E. & Robinson, W.H. Immune complexes containing citrullinated fibrinogen costimulate macrophages via Toll-like receptor 4 and Fcγ receptor. *Arthritis and rheumatism* 63, 53-62 (2011).
7. Harre, U., et al. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *The Journal of clinical investigation* 122, 1791-1802 (2012).
8. Mahdi, H., et al. Specific interaction between genotype, smoking and autoimmunity to citrullinated alpha-enolase in the etiology of rheumatoid arthritis. *Nature genetics* 41, 1319-1324 (2009).
9. Lundberg, K., et al. Genetic and environmental determinants for disease risk in subsets of rheumatoid arthritis defined by the anti-citrullinated protein/peptide antibody fine specificity profile. *Annals of the rheumatic diseases* 72, 652-658 (2013).
10. Klareskog, L., et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis and rheumatism* 54, 38-46 (2006).
11. Lundberg, K., Wegner, N., Yucel-Lindberg, T. & Venables, P.J. Periodontitis in RA-the citrullinated enolase connection. *Nature reviews. Rheumatology* 6, 727-730 (2010).
12. Wegner, N., et al. Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and alpha-enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 62, 2662-2672 (2010).
13. Quirke, A.M., et al. Heightened immune response to autocitrullinated *Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase: a potential mechanism for breaching immunologic tolerance in rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 73, 263-269 (2014).
14. Lappin, D.F., et al. Influence of periodontal disease, *Porphyromonas gingivalis* and cigarette smoking on systemic anti-citrullinated peptide antibody titres. *Journal of clinical periodontology* 40, 907-915 (2013).



Antikroppar mot citrullinerade peptider i klinisk verksamhet –

betydelse för artikulära och extraartikulära manifestationer vid RA

Serologiska analyser av specifika antikroppar har betydelse för tidig diagnostik av reumatoid artrit (RA), men också för sjukdomsfenotyp, prognostik och svar på behandling. Detta är ett exempel på hur en förhöjd ambitionsnivå och en ökad medvetenhet om den immunologiska komplexiteten i RA sjukdomen bidrar till nya arbetssätt inom reumatologin. I denna artikel diskuteras aktuell forskning om autoantikroppars betydelse för allvarliga extraartikulära manifestationer och fynden sätts in i ett sammanhang av tidigare kunskap om den kliniska betydelsen av dessa markörer.

ACPAs betydelse för diagnos och klassifikation

Sedan drygt ett decennium ingår analys av antikroppar mot citrullinerade peptider (antikroppar mot citrullinerade proteiner/peptider, ACPA) i standardutredningen av patienter med misstänkt RA. I Sverige och internationellt används vanligen en analys av antikroppar mot cykliska citrullinerade peptider (anti-CCP), riktade mot andra generationens CCP (anti-CCP2).

Den höga specificiteten hos sådana antikroppar har gjort testet mycket användbart i klinisk praxis. Detta återspeglas också i klassifikationskriterierna för RA från 2010 (gemensamt utarbetade av American College of Rheumatology (ACR) och European League Against Rheumatism (EULAR) (1). Poängsättningen i ACR/EULARs klassifikationskriterier medför i praktiken att tröskeln i form av kliniskt underlag är relativt låg för att klassificera en patient med hög anti-CCP nivå (mer än tre gånger över gränsvärdet) som RA patient. Förekomst av anti-CCP antikroppar är starkt associerad med förekomst av reumatoid faktor (RF) (2), som är en autoantikropp riktad mot den konstanta delen av en immunoglobulin G-molekyl och en klassisk markör för RA. Anti-CCP och RF överlappar dock endast delvis, och anti-CCP har högre specificitet för RA(2). Det bör understrykas att RA, liksom andra reumatologiska sjukdomar, är en klinisk diagnos, och att laboratorieprover alltid bara är en pusselbit som skall fogas samman med kliniska fynd. En rimlig hållning och praxis vid många reumatologmot-

tagningar idag är dock att en patient som har kombinationen av positiv anti-CCP och objektivt verifierad ledinflammation som kvarstår under längre tid har hög risk för utveckling av RA och alltid bör följas upp.

Detta överensstämmer med det vetenskapliga underlaget för Socialstyrelsens nationella riktlinjer för rörelseorganens sjukdomar (<http://www.socialstyrelsen.se/publikationer2012/2012-5-1>), där man konstaterar att anti-CCP är en stark prediktor för utveckling av RA hos patienter med odifferentierad artrit (det vill säga nyttillkommen ledinflammation där den kliniska bilden är otillräcklig för att diagnostisera en kronisk reumatologisk sjukdom). Socialstyrelsen rekommenderar därför bestämning av anti-CCP för patienter med nyupptäckt artrit av oklar genes i primärvården.

ACPA i prognostik

Hos patienter med diagnostiserad RA är förekomst av anti-CCP antikroppar starkt kopplad till ökad risk för progredierande leddestruktion i händer och fötter. Även andra ACPA, till exempel så kallade anti-Sa antikroppar, som också kallas antikroppar mot modifierat citrullinerat vimentin (anti-MCV), har funnits prediktera ledskador (3). Såväl Svensk Reumatologisk Förening (http://www.svenskreumatologi.se/kunder/srf/sites/default/files/49/SRFs_RA_riktlinjer_2013.pdf) som EULAR (4, 5) listar anti-CCP bland viktiga prognostiska faktorer som bör påverka behandlingen av patienter med RA. Patienter som har påvisade anti-CCP antikroppar och andra prognostiskt ogynnsamma faktorer (till exempel positiv reumatoidfaktor (RF), många svullna leder, högt CRP och tidigt påvisade ledskador på röntgen) blir vid handläggning enligt dessa riktlinjer tidigare och i större omfattning behandlade med potenta biologiska läkemedel.

Även när det gäller tidig behandling har man funnit att ACPA har ett prognostiskt värde. I en holländsk studie av patienter med odifferentierad artrit (se avsnittet ovan) fann man att behandling med metotrexat minskade risken att utveckla klassisk RA hos patienter som var anti-CCP positiva, men inte hos de anti-CCP negativa (6). Om man satte ut metotrexat efter ett års induktionsbehandling var det dock

många anti-CCP positiva patienter som utvecklade RA senare (7), vilket ånyo understryker kopplingen mellan anti-CCP och persisterande artrit.

Anti-CCP positivitet är också en markör för ökad sannolikhet att svara på behandling med rituximab, monoklonala anti-CD20 antikroppar som slår ut T-lymfocyter (8), och abatacept, en molekyl som interagerar med T-lymfocyters samspel med antigenpresenterande celler (9). Detta talar för att dessa läkemedels verkningsmekanismer påverkar sjukdomsprocesser som är nära kopplade till anti-CCP. Man kan sammanfatta det som att anti-CCP antikroppar är associerade med en allvarlig form av RA med svåra konsekvenser om inte tillräckliga åtgärder vidtas i tid, men också med en god möjlighet att svara på specifik behandling.

Man har också funnit att riskfaktorer skiljer sig åt för anti-CCP positiv och anti-CCP negativ RA. Rökning och RA associerade genvarianter (av HLA-DRB1) är tydligt kopplade till RA med påvisade anti-CCP antikroppar och RF, medan hormonella faktorer som tidigt klimakterium hos kvinnor (10) och låga testosteronnivåer hos män (11) förefaller ha större betydelse för utveckling av RF negativ RA. I många sammanhang skiljer man därför på seropositiv och seronegativ RA, och betraktar dem till och med som olika sjukdomstillstånd. Detta understryker att RA är en heterogen sjukdom, med många olika manifestationer.

Extraartikulära manifestationer vid RA

RA är en systemisk sjukdom, som förutom karaktäristisk destruerande polyartrit kännetecknas av förekomst av extraartikulära manifestationer hos en subgrupp av patienterna. Allvarliga extraartikulära manifestationer, definierade enligt etablerade kriterier som använts i ett flertal studier (12), innefattar vaskulit, vaskulitrelaterad neuropati, perikardit, pleurit, Feltys syndrom (sjukdomsassocierad persisterande neutropeni och splenomegali), glomerulonefrit och allvarliga ögonmanifestationer som sklerit och perifer ulcerativ keratit.

Kriterierna definierar patienter med kliniska symptom som lett till att det extraartikulära engagemanget upptäckts. Patienter med sådana manifestationer har funnits ha en ökad dödlighet jämfört med andra RA

patienter (12), framför allt på grund av en ökad risk för insjuknande i kardiovaskulär sjukdom (13). Vissa allvarliga extraartikulära manifestationer har minskat på senare år. I en studie från Olmsted County, Minnesota, hade incidensen av reumatoid vaskulit inom 10 år från RA diagnos minskat från 3.6 % till 0.6 % hos patienter med sjukdomsdebut efter 1995 (14). Sekundär amyloidos är en annan extraartikulär manifestation som numera ses mycket sällan (12), sannolikt på grund av förbättrad sjukdomskontroll över tiden hos RA patienter överlag. RA associerad interstitiell lungsjukdom, som senare också inkluderats i etablerade kriterier (15), förekommer däremot alltså hos en icke oväsentlig andel av RA patienter redan vid tidig sjukdom (16).

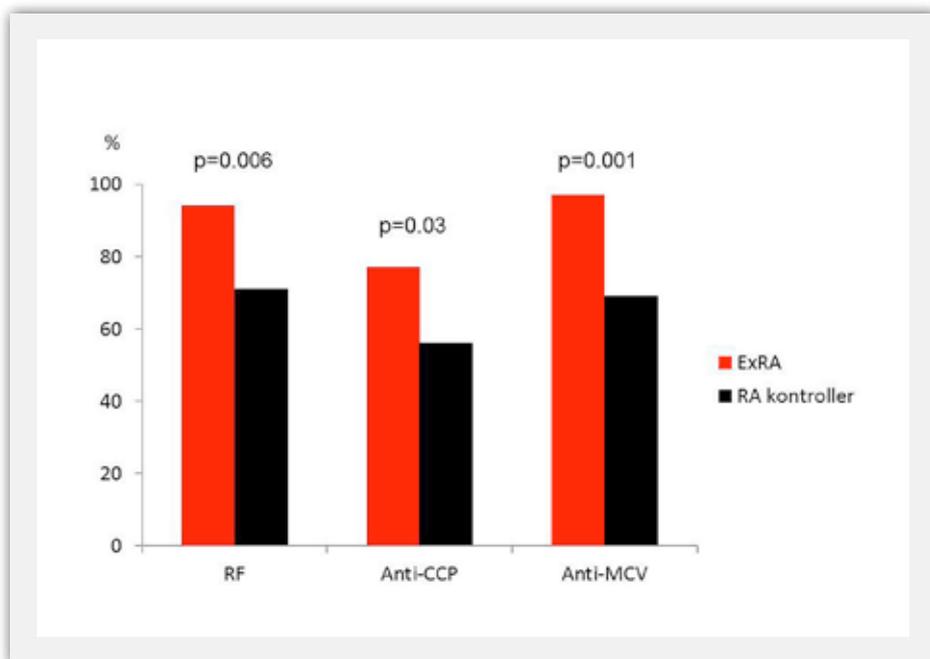
ACPA och extraartikulära manifestationer

Det är välkänt att såväl reumatiska noduli (den vanligaste extraartikulära manifestationen vid RA) som allvarlig extraartikulär sjukdom enligt ovan förekommer framför allt hos patienter som har påvisat RF i blodet (seropositiva). Förhållandet mellan ACPA och extraartikulär RA är relativt sparsamt studerat.

Vid studie av patienter med RA och tidigare förekomst av reumatiska noduli eller vaskulit fann man ingen ökad förekomst av anti-CCP hos patienter med dessa manifestationer (17). I en fall-kontroll studie av konsekutiva patienter med allvarliga extraartikulära manifestationer enligt ovan (n=35) från reumamottagningen i Malmö fann vi dock en association mellan positiv anti-CCP och svår extraartikulär RA (Fig 1) (18).

Detta baserades på prover tagna när de extraartikulära manifestationerna diagnostiserats, och innan behandling relaterad till dessa satts in. Det fanns även en tydlig association med RF (Fig 1), och nivåerna för RF var högre hos dem med svår extraartikulär sjukdom (median 245 IU/ml; interkvartilavstånd 94 till 604) jämfört med kontroller med RA utan aktuell eller tidigare extraartikulär sjukdom (median 73 IU/ml; interkvartilavstånd omätbart till 165; $p=0.0002$). Anti-CCP nivåerna var signifikant högre hos patienter med vaskulit ($p=0.02$) och Feltys syndrom ($p=0.005$) än hos RA kontrollerna. Det fanns inte något motsvarande samband för neuropati eller pleurit. Patienter med extraartikulär RA överlag tenderade att ligga högre i anti-CCP nivåer än kontrollerna (median 427 U/ml; interkvartilavstånd 76 till 1516 vs median 169 U/ml; interkvartilavstånd omätbart till 1133), men skillnaden uppnådde inte statistisk signifikans ($p=0.09$) (18).

Vissa patienter med vaskulit eller Feltys syndrom hade mycket höga anti-CCP nivåer (>5000 U/ml), men det fanns även enstaka sådana nivåer bland dem med icke-extraartikulär RA.



Figur 1: Andelar med positiva test för anti-CCP, anti-MCV och RF hos patienter med RA och allvarliga extraartikulära manifestationer jämfört med RA kontroller utan aktuell eller tidigare extraartikulär sjukdom. Baseras på data från (19).

I en nyligen publicerad, uppföljande artikel presenterade vi resultat av analyser av anti-MCV antikroppar (19). Sådana antikroppar förekom hos 34 av 35 patienter med allvarliga extraartikulära manifestationer jämfört med 46/67 kontroller (Fig 1).

Den anti-MCV negativa patienten med extraartikulär RA hade en pleurit, och var även negativ för anti-CCP och RF. Sju patienter med extraartikulär RA var anti-CCP negativa, men anti-MCV positiva. Av dessa hade fyra patienter pleurit, två perikardit och en neuropati. Anti-MCV nivåerna var högre hos patienter med extraartikulär RA jämfört med kontroller (median 333 U/ml; interkvartilavstånd 116 till 936 vs. median 203; interkvartilavstånd 10 till 514; $p=0.02$).

I synnerhet såg man högre anti-MCV nivåer hos patienter med vaskulit och patienter med Feltys syndrom jämfört med RA kontroller ($p=0.047$ respektive $p=0.004$).

Patienterna med extraartikulära RA manifestationer i denna studie hade i genomsnitt högre CRP-nivåer och fler svullna leder än RA kontrollerna (19). Det kan därför vara svårt att säkert skilja en association mellan stegrade antikropps nivåer och sjukdomsaktivitet i allmänhet från en specifik association med systemisk, extraartikulär inflammation. Det fanns dock inte någon korrelation mellan RF, anti-CCP eller anti-MCV och sjukdomsaktivitetsparametrar bland patienter med extraartikulär sjukdom, medan RF nivåerna korrelerade med CRP hos RA kontrollerna. Andra studier har påvisat en minskning av RF, men inte anti-CCP i samband med framgångsrik behandling av RA (20), och att aktuella nivåer av RF speglar sjukdomsaktivitet (21).

Det har föreslagits att RF bildas som en reaktion på immunkomplex mellan antigen och antikroppar, till exempel i inflammerad ledhinna (22) och att RF ökar precipitationen av immunkomplex vid RA (23). Det finns mycket som talar för att cirkulerande immunkomplex och immunkomplexmedierad aktivering av komplementsystemet har stor betydelse vid allvarliga extraartikulära manifestationer vid RA. Vi har i samma patientmaterial som beskrivs ovan påvisat högre nivåer av cirkulerande immunkomplex (24) och mer uttalad komplementaktivering (25) hos patienter med extraartikulär RA.

Utifrån detta förefaller anti-CCP antikroppar snarare vara markörer för en allvarlig sjukdomsfenotyp än kopplade till sjukdomsaktivitet och direkt involverade i uppkomst av extraartikulära manifestationer. Den starka kopplingen mellan extraartikulär RA och anti-MCV överensstämmer med fynd från studier av tidig RA, där anti-MCV var närmare relaterad till sjukdomsaktivitet än anti-CCP (26). Man kan uttrycka det som att anti-MCV beter sig mer som RF än som anti-CCP i detta sammanhang.

ACPA och den tidiga sjukdomsprocessen vid RA

ACPA har i flera studier påvisats i blodprover tagna på individer flera år innan de insjuknat i RA (27, 28). Förekomsten av anti-CCP antikroppar förefaller vara något högre hos patienter med kortare tid från provtagning till RA diagnos (Fig 2).

Anti-MCV antikroppar detekterades i något högre utsträckning än anti-CCP i den prekliniska fasen av RA (Fig 2).

I denna studie påvisades anti-CCP endast hos 1/168 och anti-MCV endast hos 6/168 matchade kontroller som inte utvecklade RA. Gränsvärdena i denna studie motsvarade de som användes i klinisk praxis vid laboratoriet (20 U/ml). Även i studier av kliniska material av patienter med artrit har anti-MCV oftast funnits ha högre sensitivitet och lägre specificitet för RA, även om det finns motstridiga resultat (29).

Vid analys av antikroppar riktade mot en panel av 10 olika citrullinerade peptider fann vi att hela 50 % av individer som senare utvecklade RA hade påvisbara nivåer (definierat som reaktivitet som låg över 98:e percentilen av resultaten hos kontrollerna) av någon av dessa ACPA (30). Betydelsen av olika tidigt påvisade ACPA för sjukdomsmekanismer och för sjukdomens förlopp, inklusive risken att utveckla allvarliga extraartikulära manifestationer, behöver studeras ytterligare.

Sammanfattning

ACPA är viktiga kliniska verktyg vid diagnostik av RA och vid bedömningen av sjukdomens prognos. Anti-MCV antikroppar förefaller i jämförelse med anti-CCP ha högre sensitivitet men lägre specificitet för RA, och vara tydligare kopplade till sjukdomsaktivitet och till systemengagemang med extraartikulära organmanifestationer. Särskilt höga nivåer för anti-MCV och anti-CCP har påvisats hos patienter med aktiv RA associerad vaskulit och patienter med Feltys syndrom. ACPA kan också påvisas flera år innan den kliniska debuten av RA.

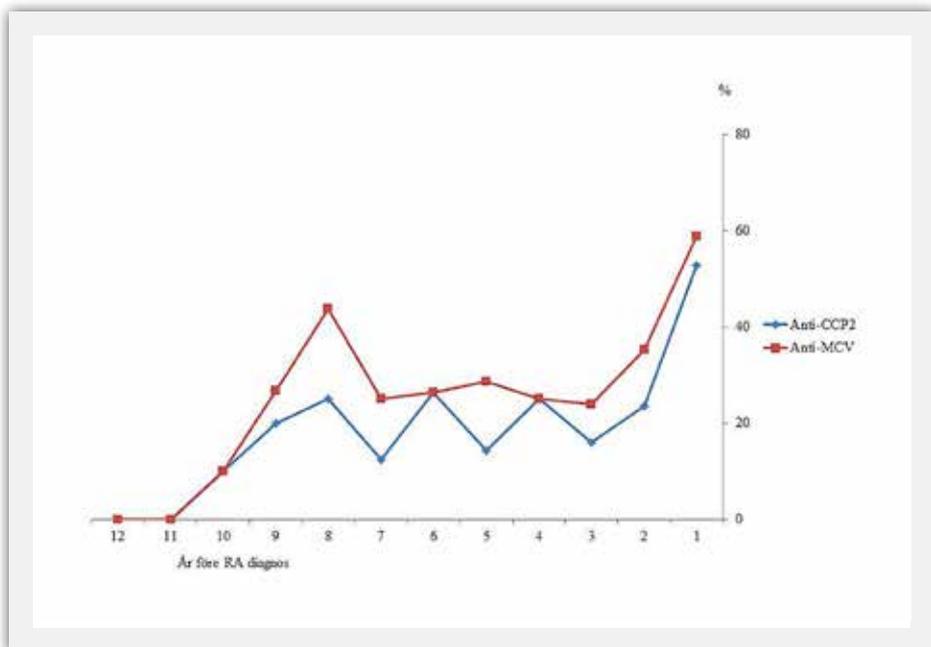
Den prognostiska betydelsen av en sådan tidig immunreaktion behöver studeras ytterligare.

Carl Turesson

Docent, Överläkare
Verksamhetsområde Njurmedicin,
Reumatologi och Gastromedicin,
Skånes Universitetssjukhus, Malmö
Institutionen för Kliniska Vetenskaper,
Malmö, Sektionen för Reumatologi,
Lunds Universitet

Referenser

1. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(9):1580-8.
2. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum.* 2000;43(1):155-63.



Figur 2: Andelar med positiva test för anti-CCP och anti-MCV i förhållande till tiden till RA diagnos bland deltagare i hälsoundersökningen Malmö Kost Cancer som diagnostiserades med RA > 1 år efter blodprovstagningen. Baseras på data från (28).

3. Boire G, Cossette P, de Brum-Fernandes AJ, Liang P, Niyonsenga T, Zhou ZJ, et al. Anti-Sa antibodies and antibodies against cyclic citrullinated peptide are not equivalent as predictors of severe outcomes in patients with recent-onset polyarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2005;7(3):R592-603.

4. Combe B, Landewe R, Lukas C, Bolosiu HD, Breedveld F, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of early arthritis: report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT). *Ann Rheum Dis.* 2007;66(1):34-45.

5. Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, Buch M, Burmester G, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(3):492-509.

6. van Dongen H, van Aken J, Lard LR, Visser K, Ronday HK, Hulsmans HM, et al. Efficacy of methotrexate treatment in patients with probable rheumatoid arthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2007;56(5):1424-32.

7. van Aken J, Heimans L, Gillet-van Dongen H, Visser K, Ronday HK, Speyer I, et al. Five-year outcomes of probable rheumatoid arthritis treated with methotrexate or placebo during the first year (the PROMPT study). *Ann Rheum Dis.* 2014;73(2):396-400.

8. Narvaez J, Diaz-Torne C, Ruiz JM, Hernandez MV, Torrente-Segarra V, Ros S, et al. Predictors of response to rituximab in patients with active rheumatoid arthritis and inadequate response to anti-TNF agents or traditional DMARDs. *Clin Exp Rheumatol.* 2011;29(6):991-7.

9. Gottenberg JE, Ravaud P, Cantagrel A, Combe B, Flipo RM, Schaevebeke T, et al. Positivity for anti-cyclic citrullinated peptide is associated with a better response to abatacept: data from the 'Orencia and Rheumatoid Arthritis' registry. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(11):1815-9.

10. Pikwer M, Nilsson JA, Bergstrom U, Jacobsson LT, Turesson C. Early menopause and severity of rheumatoid arthritis in women older than 45 years. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(4):R190.

11. Pikwer M, Giwercman A, Bergstrom U, Nilsson JA, Jacobsson LT, Turesson C. Association between testosterone levels and risk of future rheumatoid arthritis in men: a population-based case-control study. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(3):573-9.

12. Turesson C, O'Fallon WM, Crowson CS, Gabriel SE, Matteson EL. Occurrence of extraarticular disease manifestations is associated with excess mortality in a community based cohort of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2002;29(1):62-7.

13. Turesson C, McClelland RL, Christianson TJ, Matteson EL. Severe extra-articular disease manifestations are associated with an increased risk of first ever cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(1):70-5.

14. Myasoedova E, Crowson CS, Turesson C, Gabriel SE, Matteson EL. Incidence of extraarticular rheumatoid arthritis in Olmsted County, Minnesota, in 1995-2007 versus 1985-1994: a population-based study. *J Rheumatol.* 2011;38(6):983-9.

15. Turesson C, Jacobsson LT. Epidemiology of extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2004;33(2):65-72.

16. Nyhall-Wahlin BM, Petersson IF, Nilsson JA, Jacobsson LT, Turesson C. High disease activity disability burden and smoking predict severe extra-articular manifestations in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48(4):416-20.

17. De Rycke L, Peene I, Hoffman IE, Kruihof E, Union A, Meheus L, et al. 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(12):1587-93.

18. Turesson C, Jacobsson LT, Sturfelt G, Mattsson EL, Mathsson L, Ronnelid J. Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptides are associated with severe extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2007;66(1):59-64.
19. Turesson C, Mathsson L, Jacobsson LT, Sturfelt G, Ronnelid J. Antibodies to modified citrullinated vimentin are associated with severe extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(12):2047-8.
20. De Rycke L, Verhelst X, Kruithof E, Van den Bosch F, Hoffman IE, Veys EM, et al. Rheumatoid factor, but not anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, is modulated by infliximab treatment in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(2):299-302.
21. Knijff-Dutmer E, Drossaers-Bakker W, Verhoeven A, van der Sluijs Veer G, Boers M, van der Linden S, et al. Rheumatoid factor measured by fluoroimmunoassay: a responsive measure of rheumatoid arthritis disease activity that is associated with joint damage. *Ann Rheum Dis*. 2002;61(7):603-7.
22. Mathsson L, Lampa J, Mullazehi M, Ronnelid J. Immune complexes from rheumatoid arthritis synovial fluid induce FcγRIIa dependent and rheumatoid factor correlated production of tumour necrosis factor-α by peripheral blood mononuclear cells. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(3):R64.
23. Mitchell WS, Naama JK, Veitch J, Whaley K. IgM-RF prevents complement-mediated inhibition of immune precipitation. *Immunology*. 1984;52(3):445-8.
24. Turesson C ML, Jacobsson LTH et al. Circulating immune complexes in patients with severe extra-articular rheumatoid arthritis induce tumour necrosis factor production by peripheral blood mononuclear cells. *Arthritis Rheum*. 2010;62(S10):1020.
25. Happonen KE, Saxne T, Jacobsson L, Sturfelt G, Ronnelid J, Mollnes TE, et al. COMP-C3b complexes in rheumatoid arthritis with severe extraarticular manifestations. *J Rheumatol*. 2013;40(12):2001-5.
26. Mathsson L, Mullazehi M, Wick MC, Sjöberg O, van Vollenhoven R, Klareskog L, et al. Antibodies against citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis: higher sensitivity and extended prognostic value concerning future radiographic progression as compared with antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthritis Rheum*. 2008;58(1):36-45.
27. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BA, 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(10):2741-9.
28. Turesson C, Bergström U, Jacobsson LT, Truedsson L, Berglund G, Saxne T. Increased cartilage turnover and circulating autoantibodies in different subsets before the clinical onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(3):520-2.
29. Bartoloni E, Alunno A, Bistoni O, Bizzaro N, Migliorini P, Morozzi G, et al. Diagnostic value of anti-mutated citrullinated vimentin in comparison to anti-cyclic citrullinated peptide and anti-viral citrullinated peptide 2 antibodies in rheumatoid arthritis: an Italian multicentric study and review of the literature. *Autoimmun Rev*. 2012;11(11):815-20.
30. Turesson C, Hansson M, Bergström U et al. Patterns of circulating autoantibodies in the pre-clinical phase of rheumatoid arthritis suggests epitope spreading in the immune reaction against citrullinated peptides. *Ann rheum Dis*. 2012;71(S3):81.



annons

annons

Nationella ST-läkardagarna 2014

ST-läkardagarna kommer att äga rum måndag 19 maj från kl. 12.00 till tisdag 20 maj kl. 14.30 i Hotell Gamla Fängelset, Storgatan 62, Umeå

Tema Infektioner – som orsak eller verkan

Det blir intressanta föreläsningar av infektionsläkare, lungläkare, neurolog och reumatologer. Vi kommer också att diskutera patientfall och deltagare som så önskar är välkomna att anmäla fall för diskussion. Vi får också aktuell information av Svensk Reumatologisk Förenings (SRF:s) nya Yngreläkarrepresentant Yulia Stennikova.

Kostnad: Hemmakliniken står för resekostnaden och anmälningsavgift. 500 SEK för medlem i SRF, 2000 SEK för icke-SRF-medlem. Anmälningsavgiften återbetalas ej vid sen avanmälan.

Mer detaljerat schema och anmälningsblankett kommer som länk på SRF:s hemsida under februari månad.

Välkomna till två givande dagar i Europas kulturhuvudstad 2014!

Ewa Berglin
ST-studierektor

Reumatologiska kliniken
Norrlands Universitetssjukhus
ewa.berglin@vll.se
070-286 45 49

Lotta Ljung
Överläkare



FOLKETS HUS, STOCKHOLM / 20-23 SEPTEMBER 2014

Scandinavian Congress of Rheumatology



Den 35:e Skandinaviska kongressen i reumatologi

20-23 sept 2014 i Stockholm

Välkomna till den 35:e Skandinaviska kongressen i reumatologi som kommer att äga rum den 20-23 september, 2014 i Folkets hus, City konferenscenter vid Norra Bantorget i centrala Stockholm.

Som vi tidigare har meddelat kommer den skandinaviska kongressen 2014 att ha ett fokus på områden som är av gemensamt intresse i de skandinaviska länderna. Ett viktigt mål med kongressen 2014 är att ge unga forskare som arbetar med vetenskap inom reumatologi möjlighet att presentera sig och sin forskning. Ett annat viktigt mål är att lyfta fram tvärprofessionell forskning inom Skandinavien. Kongressen sker i samarrangemang mellan Scandinavian Society for Rheumatology, Svensk Reumatologisk Förening, Nordiskt Reumaråd som representerar de nordiska patientföreningarna, nordiska Health Professionals och barnläkare från Skandinavien.

Det är nu möjligt att börja lägga in abstracts. **Sista dagen att skicka in abstrakt är den 15 april, 2014.**

Nedan följer de områden som kommer att finnas med på programmet som vetenskapliga sessioner:

- **How to apply current knowledge comparing the effectiveness of treatments for rheumatic diseases**
- **Treatment strategies for RA- Today and tomorrow**
- **The pre-clinical and very early phases of RA: disease mechanisms and opportunities for prevention**
- **Pain in rheumatic diseases- clinical and molecular aspects**
- **Spondyloarthritis (ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis)**
with modern management of psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis
- **Modern imaging - clinical and molecular**
- **Osteoarthritis - Molecular and Clinical aspects**
- **Fatigue and cognitive dysfunction in rheumatic diseases**
- **Life style factors and intervention in rheumatic diseases**
- **Modern anti-rheumatic treatment and current strategies for prevention of infections**
- **Immunological mechanisms and clinical phenotypes in inflammatory systemic diseases**
- **Autoinflammatory diseases**
- **Adolescent rheumatology**

Därutöver kommer vi att ha workshops kring olika teman och några s.k. keynote lectures, varav en om ANCA-associerad vaskulit, där professor David Jayne från Cambridge har tackat ja.

Följ utvecklingen av programmet på www.scr2014.se

Varmt välkomna!

Ingrid Lundberg
Scandinavian Society for Rheumatology

Ralph Nisell
Svensk Reumatologisk Förening

Antikroppar mot citrullinerade proteiner/peptider (ACPA)

som prediktorer för utvecklingen av reumatoid artrit

Kan vi förutsäga vem som kommer att utveckla reumatoid artrit (RA)? Inom den reumatologiska forskningen vid Norrlands Universitetssjukhus (NUS) har vi försökt besvara denna fråga genom att analysera prover som donerats av blivande RA patienter i andra sammanhang. Våra studier har visat att autoantikroppar mot citrullinerade proteiner/peptider (ACPA) kan uppkomma många år före insjuknandet och kan också i många fall fungera som prediktor för sjukdomen.

ett karakteristiskum för RA är förekomst av autoantikroppar, såsom reumatoid faktor (RF) ACPA, som båda förekommer hos omkring 70 % av patienterna vid diagnos. ACPA mäts oftast med det så kallade anti-CCP2 testet som är konstruerat av en syntetiskt framställd cyklisk citrullinerad peptid. I en nyligen publicerad studie visade familjestudier att ärftlighet står för ca 50 % av insjuknandet i ACPA-positiv RA och ca 20 % för insjuknandet i ACPA-negativ RA (1).

De två starkaste genetiska faktorerna som man känner till idag är HLA-DRB1 (0101/0401/0404/0405/0408/1001) alleler, kallat shared epitope (SE) och ett basparsutbyte på position 1858 i *protein tyrosine phosphatase non receptor type 22* (PTPN22) genen. Flertalet studier har visat att dessa genetiska riskfaktorer är associerade företrädesvis till RF eller ACPA positiv RA sjukdom, medan ett fåtal andra genetiska varianter har hittats associerade till autoantikroppsnegativ (seronegativ) sjukdom.

Prekliniska fasen

Det senaste decenniet har mycket forskning fokuserat på den prekliniska fasen, dvs då sjukdomsprocessen i kroppen redan kan ha startat utan att individen upplever några symtom.

En föreslagen hypotes för sjukdomsutveckling av RA är att hos vissa genetiskt predisponerade individer kan en patogen immunologisk process så som autoantikroppsproduktion aktiveras av en omgivningsfaktor - t ex rökning - leda till en lokal produktion av autoantigen i exempelvis

lungorna. Man har också funderat över var den primära inflammationen egentligen startar, sker detta i synovialmembranet som rekryterar immunceller eller startar inflammationen i benmärgen för att sedan invadera synovialmembranet. Bakterien *Porphyromonas gingivalis*, som orsakar parodontit, har också föreslagits kunna vara med i sjukdomsutvecklingen av RA. Den har ett enzym som kan citrullinera humant fibrinogen såväl som α -enolas (2).

Antikroppar mot keratin och filaggrin

Redan på 1980-talet visade en studie i Finland på förekomst av RF, i form av IgM antikroppar, upp till 9 år innan diagnos. Samma forskargrupp visade också senare att det fanns antikroppar mot keratin och filaggrin innan debuten av symtom på RA (3).

Vi har samkört registren från Medicinska Biobanken i Västerbotten med registren vid Reumatologkliniken, NUS för att identifiera individer som lämnat prov innan debut av RA. I vår första samkörning hittade vi 86 sådana individer. De första resultaten från dessa studier publicerades 2003 och vi kunde visa att förhöjda nivåer av ACPA (och

även RF) av tre immunoglobulin-isotyper, IgM, IgA och IgG, kunde påvisas uppemot 15 år innan insjuknandet i RA (4). Dessa resultat har konfirmerats i ett flertal studier.

I en studie som vi publicerade 2011 kunde vi visa förekomst av tre isotyper (IgG, IgA och IgM) av ACPA redan flera år innan insjuknandet och att IgG och IgA isotyperna signifikant predikerade RA (5). Koncentrationen av alla tre isotyperna ökade ju närmare insjuknandet provet var taget, detta var mest tydligt för IgG och IgA. Ökningen av IgM isotypen kom senare (Bild 1). Ytterligare ett intressant fynd från denna studie var att rökare hade IgA ACPA signifikant tidigare än icke-rökare, vilket skulle kunna tyda på en betydelse för denna miljöfaktor i utvecklingen av IgA isotyp av ACPA.

Ökad risk för utveckling av RA

I tidigare studier genomförda på samma kohort med individer innan insjuknandet i RA fann vi att förekomsten av ACPA i kombination med de genetiska riskfaktorerna, HLA-SE respektive PTPN22 1858T-varianten, gav en kraftigt ökad risk för utveckling av RA.

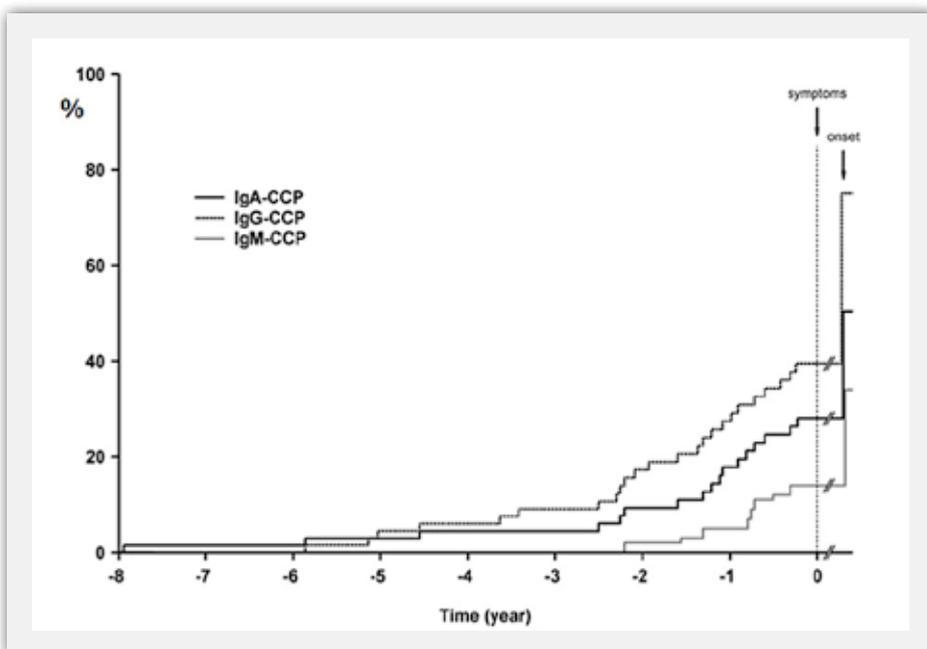


Bild 1. Illustration av hur den ackumulerade procentuella andelen prov positiva för ACPA av de olika immunoglobulin-isotyperna, IgG, IgA och IgM, stiger över tid åren innan insjuknandet i RA och vid tidpunkten för diagnos av RA (onset).

Hos individer med kombination HLA-SE + ACPA var den relativa risken 67 gånger ökad och för kombinationen 1858T + ACPA var den relativa risken 132 (eftersom denna kombination inte förekom hos kontrollindivider fick statistiken beräknas med en hypotetisk kontrollindivid som hade denna kombination) (6, 7).

Förhöjda faktorer

Andra markörer, förutom autoantikroppar, som tecken på inflammatorisk aktivering, som analyserats i blodprover insamlade innan insjuknandet i RA är bl. a. cytokiner och kemokiner.

Resultatet från en studie som gjordes här i Umeå 2007 visade att kemokinet monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) är signifikant förhöjd hos individer med positiv ACPA innan debut av RA (8). I en extensiv analys av cytokiner och cytokin-relaterade faktorer kunde Jørgensen och medarbetare visa förhöjda koncentrationer av IL-1 α , -1 α , -1 receptor antagonist, -4, -10, TNF- α och löslig TNF-receptor 1 upp till fem år innan RA-diagnosen (9).

I en liknande studie, som vi publicerade 2010, har vi analyserat koncentrationerna av 29 cytokiner och kemokiner hos 86 individer, som lämnat prov innan insjuknandet.

Dessutom, hos 69 av dessa individer vid diagnos samt 256 matchade kontroller, kunde vi också se att flertalet faktorer var förhöjda innan insjuknandet. De faktorer som var förhöjda i jämförelse med kontroller representerade både pro- och anti-inflammatoriska cytokiner som är relaterade till Th1-, Th2- och T-regulatoriska celler. Vi kunde också se associationer mellan förhöjda kon-

centrationer av de olika cytokinerna och förekomst av ACPA innan insjuknandet (10).

I en liknande studie gjord av en amerikansk grupp på prover samlade inom försvaret med regelbundna undersökningar påvisades innan insjuknandet i RA också signifikanta skillnader i cytokinkoncentrationer hos seropositiva individer jämfört med matchade kontroller (11). De fann också att ett ökat antal cytokiner/kemokiner hos seropositiva individer innan diagnos predikterade kortare tid till insjuknandet i RA.

Citrullinering

Citrullinering är en post-translationell modifiering, dvs en förändring av ett protein efter att protein efter att det producerats, som normalt pågår, tex vid celdifferentiering, apoptos och vid generation av strukturell vävnad. Detta sker genom att aminosyran arginin byts ut mot citrullin med hjälp av enzymet peptidyl arginine deiminase (PAD). Citrullinering av proteiner är inte specifikt för RA, det sker också vid andra inflammatoriska sjukdomar, t ex MS. Det som däremot är specifikt för RA är en autoimmun reaktion mot citrullinerade proteiner/peptider som leder till produktion av autoantikroppar mot dessa.

Varför denna tolerans bryts och antikroppar bildas är inte klarlagt. Citrullinering av ett flertal olika proteiner som man också kunnat identifiera antikroppar mot, t ex vimentin, α -enolas, typ II kollagen och fibrinogen, har identifierats i synovialvävnad och/eller serum hos patienter med RA.

Förekomsten av autoantikroppar

I studier där man analyserat för utbred-

ningen av ACPA reaktivitet, d.v.s. förekomsten av autoantikroppar mot olika citrullinerade proteiner eller peptider såg man att ju närmare insjuknandet provet var insamlat från desto större var spridningen av reaktivitet, sk epitope-spreading (12).

Varierande mönster för autoantikroppar

Nyligen publicerade vi en studie där prov från 386 individer med totalt 717 prov, identifierade som donatorer till Medicinska Biobanken innan insjuknandet i RA, samt 1305 populationsbaserade kontroller, analyserades för tio olika antikroppar mot citrullinerade peptider (13).

Resultaten visade på ett varierande mönster för de olika autoantikropparna. Nivåerna av de tidigast detekterbara antikropparna (anti-fibrinogen α 591 och anti-vimentin60-75) fluktuerade över tid och steg endast måttligt vid diagnos. En grupp inkluderande antikroppar mot α -enolas (CEP-1), fibrinogen α 36-52 och CCP1 (filaggrin) ökade gradvis och hade de högsta nivåerna vid insjuknandet. En tredje gruppering av antikroppar mot citrullinerade proteiner/peptider bestående av triple-helical type II kollagen peptide C1 (citC1III), fibrinogen α 573 och fibrinogen α 74 ökade främst efter insjuknandet (Bild 2).

När man stratifierade materialet för de individer som lämnat prov <3,5 år innan symtom var risken (odds kvoten) 40,4 för utveckling av RA hos de som hade kombinationen av antikroppar mot CEP-1 och fibrinogen α 36-52 jämfört med att inte ha denna kombination. Sokolove och medarbetare har också publicerat ett arbete där de analyserade anti-citrullin antikroppar tillsammans med cytokiner och kemokiner i det tidigare nämnda materialet insamlat från försvaret (14). De kunde påvisa att en epitop-spridning av ACPA responsen (d.v.s. en ökning i antalet olika ACPA mot flera skilda citrullinerade proteiner eller peptider) var associerad med en efterföljande ökning av cytokiner och kemokiner som ett tecken på en subklinisk inflammation.

I en studie som publicerades 2013 på blodprover tagna innan insjuknandet i RA stratifierades individerna baserat på om de hade riskallelen HLA-SE eller inte. Detta visade att den största risken för att utveckla RA fanns hos de individer som hade både HLA-SE allelen och ACPA med ett OR=33,3 jämfört med att inte ha HLA-SE och att vara ACPA negativ.

De visade också att individer med HLA-SE hade ACPA-reaktivitet mot fler ACPA-typer än de som inte bar på riskallelen (15). I en pågående studie har vi analyserat interaktionen mellan rökning och HLA-SE för utvecklingen av RA och kan då se att det finns en signifikant interaktion mellan dessa faktorer för sjukdomsutveckling hos både ACPA-positiva och ACPA-negativa ►

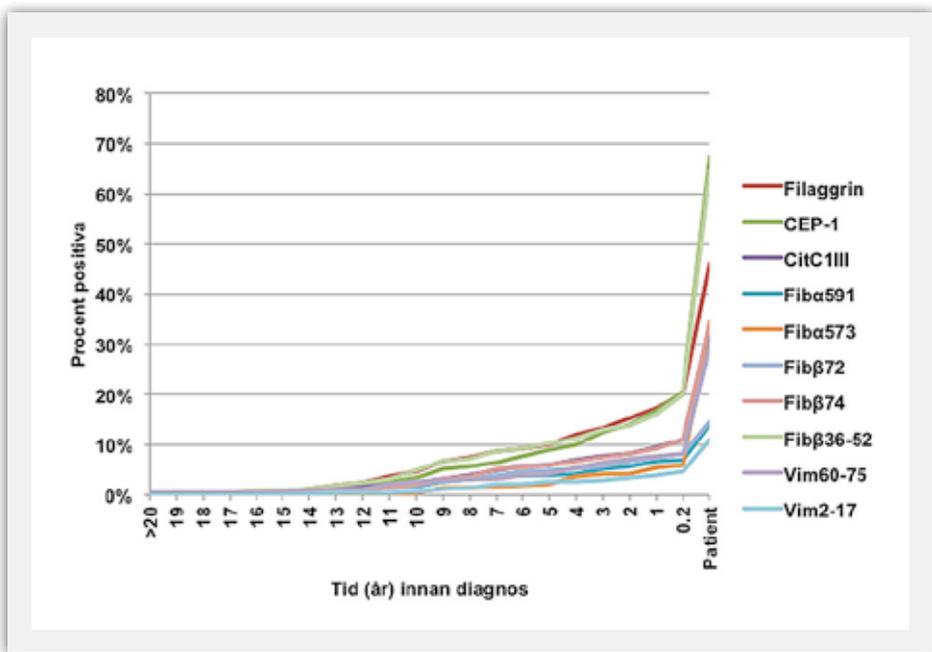


Bild 2. Illustration av den ackumulerade procentuella andelen blodprov som är positiva för antikroppar mot de olika citrullinerade peptiderna innan insjuknandet i RA och vid tidpunkten för diagnos av RA.

annons

individer, men hos flertalet av de olika ACPA-specificiteterna (autoantikroppar mot olika citrullinerade peptider/proteiner) är risk ration fördubblad hos de ACPA-positiva.

Sammanfattning

Sammanfattningsvis, RA verkar föregås av en lång preklinisk period där flertalet faktorer såsom genetik, autoantikroppar och miljöfaktorer kan samverka på olika sätt och bidra till att sjukdomen så småningom presenterar sig kliniskt.

Observationen att det finns subkliniska tecken på att en immunrespons har utvecklats flera år innan insjuknandet utan att individen uppvisar några symtom av led-sjukdom skulle kunna tyda på att det krävs något mer för att sjukdomen ska bryta ut och att de kliniska symtomen skall manifesteras, t.ex. en infektion eller ett trauma? Detta är en av många frågor som återstår för forskningen att bearbeta och analysera vidare.

Heidi Kokkonen

Läkarstuderande,

Med dr Reumatologkliniken

Norrlands Universitetssjukhus, Umeå

Referenser

1. Frisell T, Holmqvist M, Källberg H, Klareskog L, Alfredsson L, Askling J (2013). Familial risks and heritability of rheumatoid arthritis: role of rheumatoid factor/anti-citrullinated protein antibody status, number and type of affected relatives, sex and age. *Arthritis Rheum* 65(11):2773-2782.

2. Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen KA, Lundberg K, et al. (2010). Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and α -enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 62(9):2662-2672.

3. Aho K, Palosuo T, Heliövaara, Knekt P, Alha P, von Essen R (2000). Antiflaggrin antibodies within "normal" range predict rheumatoid arthritis in a linear fashion. *J Rheumatol* 27(12):2743-6.

4. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, et al. (2003). Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 48(10):2741-2749.

5. Kokkonen H, Mullazehi M, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Rönnelid J et al (2011). Antibodies of IgG, IgA and IgM isotypes against cyclic citrullinated peptide precede the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 13: R13.

6. Berglin E, Padyukov L, Sundin U, Hallmans G, Stenlund H, van Venrooij WJ et al. (2004). 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* 6(4):R303-308.

7. Johansson M, Arlestig L, Hallmans G, Rantapää-Dahlqvist S (2006). PTPN22 polymorphism and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in combination strongly predicts future onset of rheumatoid arthritis and has a specificity of 100 % for the disease. *Arthritis Res Ther* 8(1):R19.

8. Rantapää-Dahlqvist S, Boman K, Tarkowski A, Hallmans G (2007). Up regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression in anti-citrulline antibody and immunoglobulin M rheumatoid factor positive individuals precedes onset of inflammatory response and development of overt rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 66(1):121-123.

9. Jørgensen KT, Wiik A, Pedersen M, Hedegaard CJ, Vestergaard BF, Gislefoss RE, et al. (2008). Cy-

tokines, autoantibodies and viral antibodies in pre-morbid and postdiagnostic sera from patients with rheumatoid arthritis: case-control study nested in a cohort of Norwegian blood donors. *Ann Rheum Dis* 67(6):860-866.

10. Kokkonen H, Söderström I, Rocklöv J, Hallmans G, Lejon K, Rantapää-Dahlqvist S (2010). Up-regulation of cytokines and chemokines predates the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 62(2):383-391.

11. Deane KD, O'Donnell CI, Hueber W, Majka DS, Lazar AA, Derber LA et al. (2010). The number of elevated cytokines and chemokines in preclinical seropositive rheumatoid arthritis predicts time to diagnosis in an age-dependent manner. *Arthritis Rheum* 62(11):3161-3172.

12. van der Woude D, Rantapää-Dahlqvist S, Ioan-Facsinay A, Onnekink C, Schwarte CM, Verpoort KN et al (2010). Epitope spreading of the anti-citrullinated protein antibody response occurs before disease onset and is associated with the disease course of early arthritis. *Ann Rheum Dis* 69(8):1554-61.

13. Brink M, Hansson M, Mathson L, Jakobsson PJ, Holmdahl R, Hallmans G et al (2013). Multiplex analyses of antibodies against citrullinated peptides in individuals prior to development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 65:899-910.

14. Sokolove J, Bromberg R, Deane KD, Lahey LJ, Derber LA, Chandra PE et al (2012). Autoantibody epitope spreading in the pre-clinical phase predicts progression to rheumatoid arthritis. *PLoS One* 7(5):e35296.

15. Arkema EV, Goldstein BL, Robinson W, Sokolove J, Wagner CA, Malspeis S et al (2013). Anti-citrullinated peptide autoantibodies, human leukocyte antigen shared epitope and risk of future rheumatoid arthritis: a nested case-control study. *Arthritis Res Ther* 15(5):R159.



Vad betyder ACPA?

Bakgrund

Citrullinering av protein-/peptidbundet arginin är en fysiologisk enzymatisk process som sker i samband med normal celledöd och inflammation. Den banbrytande upptäckten av *citrullinerade peptider/proteiner* (citP) som målantigener för autoantikroppar vid reumatoid artrit gjordes i slutet av 90-talet av två forskargrupper i Holland och Frankrike.^{1,2} Anti-citP antikroppar (ACPA) är benämningen på en familj av antikroppar med specificitet för olika citP. I Walther van Venrooij's grupp testades systematiskt olika cykliska citrullinuttryckande peptidkonstrukt (CCP) som målantigener för *anti-CCP*. Utifrån dessa cirkulära peptider utvecklades enzymimmunologisk analys av anti-CCP i serum.

De mest beprövande ACPA-testerna för rutindiagnostik baseras på antikroppar mot "CCP2", som också användes vid utvärderingen av 2010 års klassifikationskriterier för RA. Förutom anti-CCP, finns en lång rad kommersiellt tillgängliga ACPA-tester, t.ex. antikroppar mot "modifierat citrullinerat vimentin" (anti-MCV).

IgG-ACPA

När ACPA (inkl. anti-CCP) nämns, avses nästan alltid antikroppar av IgG-klass. IgG anti-CCP etablerades snabbt som en viktig rutindiagnostisk och prognostisk markör med hög specificitet för RA.

Trots jämförbara sjukdomsmanifestationer (CRP, antal svullna leder, DAS28, etc.) vid diagnostillfället, fann vi i vår kohort TIRA-1 att de nydebuterade RA-fall som var anti-CCP-positiva hade ett mer aggressivt sjukdomsförlopp än anti-CCP negativa fall.³ I samma studie konstaterade vi att flertalet anti-CCP+ patienter fortfarande var anti-CCP+ efter 3 år, men att medelnivån av antikroppar i serum hade sjunkit.

Det har också visats att anti-CCP predicerar erosiv sjukdom.^{4,5} Som nämns i andra artiklar i detta nummer av RBV, visade Solbriitt Rantapää-Dahlqvist och medarbetare från Umeå att IgG anti-CCP kan förekomma många år innan RA-diagnos ställs.⁶ Vid tiden för dessa rön var det känt att genetiskt bärarskap av "HLA-DRB1/"s-shared epitope" (SE)⁷ och cigarettrökning⁸ var och en för sig innebär måttligt ökad risk att drabbas av RA. Lars Klareskog och medarbetare visade att kombinationen av cigarettrökning och SE innebär kraftigt ökad risk att drabbas av anti-CCP positiv (men inte anti-CCP negativ) RA.⁹

Även andra luftvägsirritanter,¹⁰ inflammation i munslemhinna/tandkött¹¹ och tarm¹²



har föreslagits associera till ACPA-positiv RA.

IgA-ACPA

Kopplingen mellan slemhinneinflammation och RA har återkommande fört tankarna till bristande eller missriktad mukosal immunitet och utveckling av systemsjukdom. Det finns många belägg för att IgA-brist medför ökad risk att utveckla kroniska inflammationssjukdomar, t.ex. celiaki och systemisk lupus erytematosus, men detta är inte belagt för RA.

Det är väl känt att slemhinneassocierat sekretoriskt IgA (SIgA) är viktigt för neutralisering och icke-inflammatorisk eliminering av antigener och för att underlätta etablering av en fysiologisk normalflora. Det är också väl dokumenterat att antigen-inducerad produktion av SIgA-antikroppar kan leda till utveckling av *systemisk tolerans* av antigenet (= mukosal tolerans), dvs att immunförsvaret slutar reagera på det aktuella antigenet. Möjligheten att inducera mukosal tolerans av molekyler som orsakar artrit, framför allt kollagen typ II, en av huvudbeståndsde-

larna i brosk, är välkänd och har lett till tankar om att förebygga uppkomst av eller åtminstone minska aggressiviteten i immunsvaret vid autoimmuna sjukdomar, men detta har ännu inte kunnat realiseras för effektiv behandling av RA eller andra humana autoimmuna tillstånd.

Även om IgG dominerar i serum, produceras normalt lika mycket cirkulerande IgA, som dock har snabbare omsättning. Den fysiologiska betydelsen är fortfarande okänd, även om man vet att serum-IgA (precis som IgG) kan utöva både pro- och anti-inflammatoriska effekter. Dessutom kan små mängder av cirkulerande SIgA påvisas i cirkulationen.

Vi har studerat förekomst av cirkulerande IgA-ACPA (anti-CCP och anti-MCV) vid tidig RA.^{13,14} Med enstaka undantag förekommer IgA-ACPA i serum tillsammans med höga nivåer IgG-ACPA. I såväl TIRA-1 (tidiga RA-fall rekryterade 1996-98) som TIRA-2 (2006-09) konstaterade vi att cirkulerande IgA-ACPA är relaterat till cigarettrökning (=slemhinne-irritation) medan IgG-ACPA istället står för relationen till SE. För att gå vidare med dessa fynd har vi inlett samarbete med Lars Klareskog och Lars Alfredsson på Karolinska Institutet och våra primära fynd har nu reproducerats i deras stora EIRA-1 material.

Bland Falupatienter med etablerad RA har vi också analyserat IgA i saliv. Denna pilotstudie baserad på 63 fall, visade hos 14 fall förekomst av IgA anti-CCP i saliv (med största sannolikhet SIgA), vilket var signifikant associerat till lägre grad av erosivitet, vilket skulle kunna tala för en skyddande effekt av SIgA anti-CCP. För att kunna bekräfta dessa fynd behöver vi dock göra ökade studier i större patientmaterial.

Vi har också funnit cirkulerande SIgA anti-CCP, som troligen är en markör för slemhinneassocierad immunisering mot citP. Samarbeten pågår här med Solbriitt Rantapää Dahlqvist och medarbetare i Umeå. För närvarande pågår på vårt laboratorium också studier *in vitro* för att analysera pro- och/eller anti-inflammatoriska egenskaper av IgG- respektive IgA anti-CCP från serum.

**Thomas Skogh, Anna Svärd
Klara Martinsson, Karin Roos
Anders Johansson, Alf Kastbom**
Reumatologi/AIR,
Institutionen för klinisk
och experimentell medicin
Linköpings Universitet

Referenser

1. Schellekens GA et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;101:273-281
2. Vincent C et al. Anti-perinuclear factor compared with the so called "antikeratin" antibodies and antibodies to human epidermis filaggrin, in the diagnosis of arthritides *Ann Rheum Dis* 1999;58:42-48
3. Kastbom A et al. Anti-CCP antibody predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004;63:1085-1089
4. Forslind K et al. Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies against citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann Rheum Dis* 2004;63:1090-1095
5. Rönnelid J et al. Longitudinal analysis of citrullinated protein/peptide antibodies (anti-CP) during five year followup in early rheumatoid arthritis: anti-CP status predicts worse disease activity and greater radiological progression. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1744-1749
6. Rantapää-Dahlqvist SB et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptides and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 2003;48:2741-2749
7. Gregersen P et al. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987;30:1205-1213
8. Reckner-Olsson Å et al. Comorbidity and lifestyle factors, reproductive factors, and environmental exposures associated with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001;60:934-939
9. Klareskog L et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (share epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006;54:38-36
10. Stolt P et al. Silica exposure among male current smokers is associated with high risk of developing ACPA-positive arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1072-1076
11. Lundberg K et al. Periodontitis in RA – the citrullinated enolase connection. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6:727-730
12. Dalvi S et al. Elevated fecal secretory immunoglobulin A anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and cytokine levels in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 2012;64 suppl.10:1212
13. Svärd A et al. Presence and utility of IgA-class antibodies to cyclic citrullinated peptides in early rheumatoid arthritis: the Swedish TIRA project. *Arthritis Res Ther* 2008;10:R75
14. Svärd A et al. A comparison between IgG- and IgA class antibodies to cyclic citrullinated peptide and to modified citrullinated vimentin in early rheumatoid arthritis and very early arthritis. *J Rheumatol* 2011;38:1265-1272
15. Svärd A et al. Salivary IgA antibodies to cyclic citrullinated peptides (CCP) in rheumatoid arthritis. *Immunobiology* 2013;218:232-237

Utrota barncancer.

Din gåva gör skillnad.



**BARNCANCER
FONDEN**

Pg 90 20 90-0

Börjar ledgångsreumatism i lungan?

Samspelet mellan genetiska och omgivningsfaktorer å ena sidan, och specifik immunitet å andra sidan, anses idag vara avgörande för utveckling av reumatoid artrit (RA). Men var i kroppen uppstår sjukdomen? Nya rön pekar på att specifik immunitet vid RA kan härstamma utanför leden (såsom i lungorna) redan flera år innan ledsymtomen uppstår.

Lungförändringar är vanliga hos RA patienter

Lungförändringar av olika slag uppstår ofta hos patienter med RA, antingen som extraartikulära manifestationer eller till följd av den antireumatiska behandlingen. De sista åren har det dock spekulerats mer om att RA eventuellt initieras i lungorna och att lungförändringar kan uppstå redan före debuten av ledsymtom.

Redan på 50-talet beskrev Caplan ett samband mellan lungförändringar och RA hos kol-exponerade patienter. Senare studier som undersökt detta samband har visserligen visat en ökad förekomst av lungförändringar hos patienter med RA men de flesta av dessa studier är gjorda på patienter med mångårig sjukdom som dessutom stått på antireumatisk behandling, vilken i sig kan påverka lungan. Nyligen påvisade en studie av friska individer med risk för att utveckla RA (med RA specifika antikroppar men

utan ledsymtom) luftvägsförändringar i en större utsträckning än förväntat [1].

Sista årtiondet har vår kunskap vad gäller orsaker och uppkomst av RA ökat markant.

Vi vet att RA specifika antikroppar, det vill säga reumatoid faktor (RF) och anti-citrullinerade protein antikroppar (ACPA), finns i blodet flera år innan kliniska ledsymtom uppstår [2], och i frånvaro av klinisk ledinflammation [3]. Följaktligen måste den initiala immunreaktiviteten genereras utanför lederna, men frågan är var och till följd av vilken stimuli.

Vi vet från epidemiologiska studier att rökning [4] (och möjligen kiseldioxid och textildamm) är en stark riskfaktor för utveckling av RF- och ACPA-positiv RA, särskilt i kombination med ogynnsamma genetiska faktorer. Dessutom har friska rökare en ökad förekomst av citrullinerade proteiner i lungsköljvätskan jämfört med icke rökare [5]. Dessa iakttagelser tillsammans med det faktum att lungan är i högsta grad ett immunologiskt aktivt organ, direkt utsatt för en rad olika miljöfaktorer (inte bara rökning utan även föroreningar och infektioner) pekar på lungan som en uppenbar möjlighet som uppkomstkälla för RA-specifik immunitet.

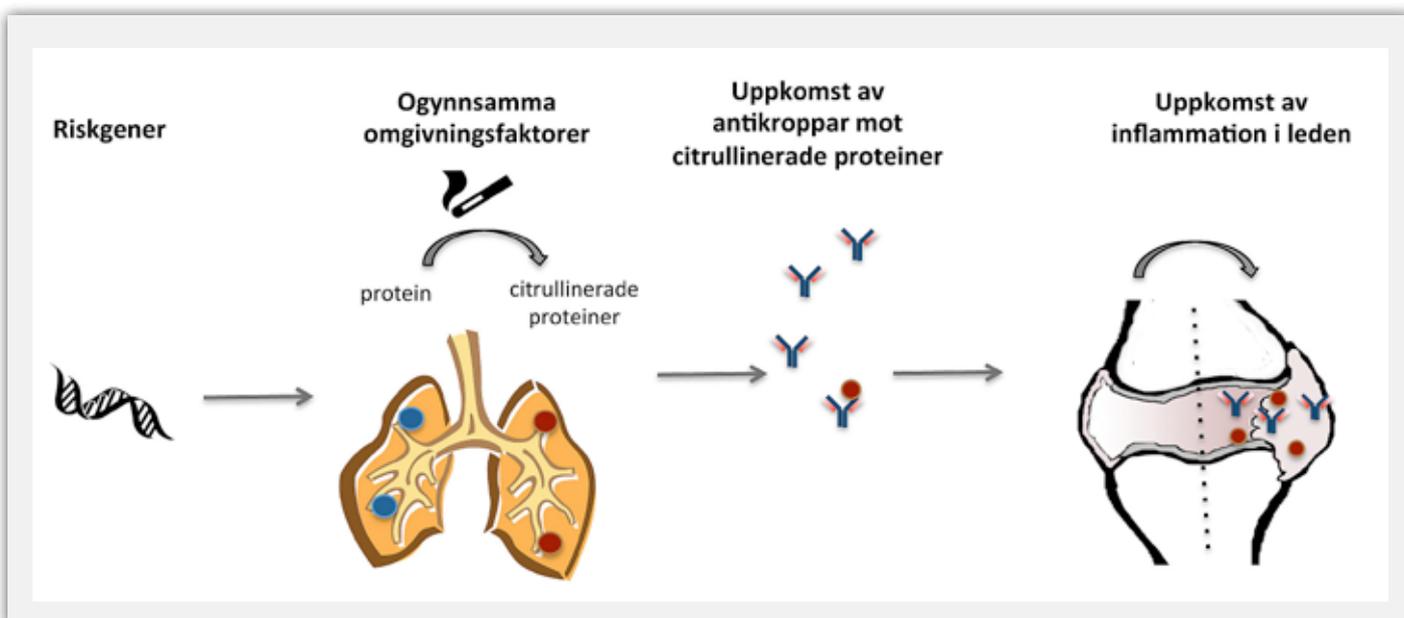
Övriga slemhinnor i till exempel mun och tarmkanalen [6] kan också tänkas som andra möjliga uppkomstorgan, men detta behöver utredas vidare.

Lungförändringar finns redan vid RA diagnos och är vanligare hos ACPA-positiva RA patienter

Nyligen har vi slutfört en klinisk studie för att undersöka sambandet mellan inflammation i lungor och leder hos patienter med tidig RA redan vid diagnos, och innan någon antireumatisk behandling sätts in [7]. 105 patienter med nydiagnostiserad RA undersöktes med högupplöst datortomografi (HRCT) och spirometri, medan en mindre subgrupp av 24 patienter även genomgick bronkoskopi.

Både parenkym- och luftvägsförändringar var vanligare hos RA patienter jämfört med en kontrollgrupp av friska individer. Nästan dubbelt så många RA patienter hade parenkymförändringar jämfört med friska kontroller (54% vs 30%), medan luftvägsförändringar fanns hos 66% av RA patienter och 42% av kontroller. Dessutom upptäcktes fibros och ground-glass förändringar enbart hos RA patienter. Parenkymförändringar förekom i större utsträckning hos ACPA-positiva patienter jämfört med ACPA-negativa patienter och resultaten var i huvudsak oförändrade när man kontrollerade för rökning status.

Preliminära resultat från den histologiska analysen av bronkialbiopsier från 24 patienter med nydiagnostiserad RA visar tecken på immunaktivering och inflammation hos ACPA-positiva patienter jämfört



Figur 1. Schematisk bild av samspelet mellan lung- och ledinflammation vid utveckling av reumatoid artrit.

med ACPA-negativa RA patienter med lokal ackumulering av ACPA i lungan. Detta fynd tillsammans med tidigare identifiering av B-celler som kan binda citrullinerade proteiner i RA lungor [8] indikerar lokal produktion av ACPA i lungorna.

Ytterligare stöd för denna hypotes kommer från nyligen publicerade data, som visar att både ACPA och RF kan påvisas i provocerat sputum hos vissa friska individer med ökad risk att utveckla RA, trots avsaknaden av dessa antikroppar i serum [9].

Från lungförändringar och systemisk immunitet till ledförändringar vid RA

En ännu oklar händelsesekvens leder från specifik immunitet initierat i lungorna (och möjligt andra slemhinnor) till artrit i ett senare skede.

En hypotes, som dock återstår att bevisa, är att vissa ännu oidentifierade händelser i leden (som litet trauma eller övergående virusinfektion) driver lokala ledförändringar (såsom citrullinering av proteiner) över en viss tröskel som behövs för att antikropparna skall lockas in till ledhinnan från blodet. En förutsättning för att detta skulle kunna hända är att det finns samma mål för ACPA i både lungan och leden. Våra preliminära data visar att samma citrullinerade peptider kan hittas med hjälp av mass spektrometri i merparten av undersökta lungor (n=6) och leder (n=7) hos patienter med RA.

Dessutom kunde vi påvisa immunreaktivitet mot dessa nya identifierade citrullinerade peptider hos RA patienter men inte hos friska individer eller patienter med andra reumatologiska sjukdomar [10]. Ytterligare antydning om vilka mekanismer som står bakom sambandet mellan antikroppar som ursprungligen tillverkas utanför leden och ledinflammation kommer från den senaste upptäckten om antikroppars funktioner.

Bland dessa ACPA:s kapacitet att specifikt aktivera osteoklasterna [11] samt tecken på ben destruktion som förekommer ledinflammation i ACPA positiva individer [12] tyder på att ben och/eller benmärgs strukturer kan vara viktiga för vidare utveckling av ledinflammation.

Sammanfattning

Sammanfattningsvis leder samspelet mellan genetiska och ogynnsamma omgivningsfaktorer fram till immunaktivering i slemhinnor (mest studerat för lungor), med påföljande produktion av RA associerade antikroppar och i ett senare skede ledinflammation.

Framtida studier behövs för att närmare kartlägga sambandet mellan lunginflammation och uppkomst av RA där målet är att hitta mekanismer som går att påverka i förebyggande eller behandlande syfte. (Se figur 1).

Gudrun Reynisdottir

Specialistläkare i reumatologi, Doktorand

Anca I. Catrina

MD, PhD, Biträdande överläkare, Forskare

Båda Reumatologiska kliniken, Institutionen för medicin, Solna, Karolinska Universitetssjukhuset/Karolinska Institutet

Referenser

1. Demoruelle MK, Weisman MH, Simonian PL, Lynch DA, Sachs PB, Pedraza IF, Harrington AR, Kolfenbach JR, Striebich CC, Pham QN et al: **Brief report: airways abnormalities and rheumatoid arthritis-related autoantibodies in subjects without arthritis: early injury or initiating site of autoimmunity?** Arthritis Rheum 2012, 64(6):1756-1761.

2. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, Sundin U, van Venrooij WJ: **Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis.** Arthritis Rheum 2003, 48(10):2741-2749.

3. van de Sande MG, de Hair MJ, van der Leij C, Klarenbeek PL, Bos WH, Smith MD, Maas M, de Vries N, van Schaardenburg D, Dijkmans BA et al: **Different stages of rheumatoid arthritis: features of the synovium in the preclinical phase.** Annals of the rheumatic diseases 2011, 70(5):772-777.

4. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg H, Bengtsson C, Grunewald J, Ronnelid J, Harris HE, Ulfgren AK, Rantapää-Dahlqvist S et al: **A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination.** Arthritis Rheum 2006, 54(1):38-46.

5. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren AK, Nicholas AP, Zendman AJ, Eklund A, Grunewald J, Skold CM, Klareskog L, Catrina AI: **Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells.** Annals of the rheumatic diseases 2008, 67(10):1488-1492.

6. Deane KD, El-Gabalawy H: **Pathogenesis and prevention of rheumatic disease: focus on preclinical RA and SLE.** Nature reviews Rheumatology 2014.

7. Reynisdottir G, Karimi R, Joshua V, Olsen H, Hensvold AH, Harju A, Engstrom M, Grunewald J, Nyren S, Eklund A et al: **Structural changes and antibody enrichment in the lungs are early features of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis.** Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ) 2014, 66(1):31-39.

8. Rangel-Moreno J, Hartson L, Navarro C, Gaxiola M, Selman M, Randall TD: **Inducible bronchus-associated lymphoid tissue (iBALT) in patients with pulmonary complications of rheumatoid arthritis.** The Journal of clinical investigation 2006, 116(12):3183-3194.

9. Willis VC, Demoruelle MK, Derber LA, Chartier-Logan CJ, Parish MC, Pedraza IF, Weisman MH, Norris JM, Holers VM, Deane KD: **Sputum Autoantibodies in Patients With Established Rheumatoid Arthritis and Subjects at Risk of Future Clinically Apparent Disease.** Arthritis Rheum 2013, 65(10):2545-2554.

10. Joshua V, Reynisdottir G, Ytterberg J, Engstrom M, Eklund A, Skold M, Jakobsson PJ, Ronnelid J, Malmstrom V, Klareskog L et al: **AI.1 Characterisation of lung inflammation and identification of shared citrullinated targets in the lungs and joints of early rheumatoid arthritis.** Annals of the rheumatic diseases 2014, 73 Suppl 1:A4-5.

11. Harre U, Georgess D, Bang H, Bozec A, Axmann R, Ossipova E, Jakobsson PJ, Baum W, Nimmerjahn F, Szarka E et al: **Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin.** The Journal of clinical investigation 2012, 122(5):1791-1802.

12. Kleyer A, Finzel S, Rech J, Manger B, Krieter M, Faustini F, Araujo E, Hueber AJ, Harre U, Engelke K et al: **Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anticitrullinated protein antibodies.** Annals of the rheumatic diseases 2013.



Anca I. Catrina



Gudrun Reynisdottir

Hyaluronan –

en alltid lika aktuell molekyl i reumatologiska sammanhang

Forskning som bidrog till att utveckla metoder för koncentrationsbestämning och grova storleksanalyser av hyaluronan pågick i Uppsala under 80-talet. Förhöjda serumnivåer av hyaluronan kunde påvisas bl. a. hos patienter med RA, systemisk sclerodermi och psoriasis. Sedan dess har ett allt större intresse riktats mot molekylens storlek och aktuell forskning har visat att storleken av hyaluronanmolekylen är en känslig barometer på den inflammatoriska aktiviteten i matrix.

Hur det började

Egentligen började det för många miljoner år sedan. Sockerarter tillhör evolutionens först identifierade molekyler. Glukosaminoglykanen hyaluronan har följt med i utvecklingen från mollusk till människa. Men inte förrän 1934 kunde vetenskapsmännen Carl Meyer och James Palmer påvisa förekomsten och beskriva strukturen av hyaluronan samt molekylens kemiska sammansättning.

De rapporterade att de funnit en ”ny” polysackarid i ögats glaskropp och kallade den hyaluronic acid efter platsen där den påvisats; hyaloid, det vill säga genomskinlig eller glasartad, och molekylens innehåll av glukuronsyra. Några år senare isolerades hyaluronan även från navelsträngen. 1986 föreslogs att substansen skulle byta namn från hyaluronsyra till hyaluronan. Detta var logiskt eftersom det inte är fråga om någon syra vid fysiologiskt pH-värde och hyaluronan är definitionsmässigt en glukosaminoglykan. Även beteckningen hyaluronat förekommer och det anger saltformen av substansen såsom den uppträder i vävnaderna vid ett fysiologiskt pH.

Nu vet vi att hyaluronan finns i de allra flesta vävnader och syntetiseras av de allra flesta celltyper.

Kemi och metabolism

Hyaluronan är framförallt känd som en del av det nätverk av molekyler som omger alla celler, interstitiet eller extracellulär matrix (ECM), bestående av proteiner, proteoglykaner och glukosaminoglykaner.

Hyaluronan är en negativt laddad polysackarid bestående av en ögrenad repetitiv dimer av N-acetyl- d-glukosamin och d-glukuronsyra. Vanligen har den en storlek mellan 200-2.000 kDa men den kan förekomma i upp till 10 MDa.

Till skillnad från andra glukosaminoglykaner är hyaluronan inte sulfaterad och förekommer sällan kovalent bunden till ett protein som en del av en proteoglykan. Hyaluronan uppkom relativt sent i evolutionen jämfört med de andra glukosaminoglykanerna. Man tror att den har betydelse vid utvecklingen av organ då den möjliggör för stamceller att förflytta sig i kroppen till sitt mål och där utvecklas de till nya celler och organ utan att påverkas av omgivande celler, gömda i ett skyddande lager av hyaluronan.

Dessutom tros hyaluronan haft betydelse för utvecklingen av skelettet och ryggraden och på så sätt utvecklat varelser som bättre kunnat motstå gravitationen på land.

Även enklare uppbyggda species än ryggradsdjur har funnit nytta med hyaluronan. Vissa bakterier kan syntetisera och omge sig med hyaluronan och kan på så sätt undgå upptäckt av våra kroppars immunförsvaret.

Stark attraktion på vatten

Tack vare sin negativa laddning och avsevärda storlek utövar hyaluronan en stark attraktion på vatten. Ett g hyaluronan kan attrahera en liter vatten och i koncentrationer högre än 0.2 mg/mL bildar den en gel.

Denna egenskap påverkar vattentransport och osmotisk aktivitet i extracellulär matrix. Dess negativa laddning påverkar också flödet av positivt laddade joner.

Till skillnad från de andra glukosaminoglykanerna som syntetiseras i Golgiapparaten syntetiseras hyaluronan på insidan av cellmembranet av ett membranbundet syntas. Hos ryggradsdjur finns det tre stycken syntaser, hyaluronansyntas 1, 2 och 3 (HAS 1-3). Efter sammansättningen av hyaluronan-kedjan förs den ut genom en por i membranet ut i ECM.

Hyaluronan förekommer i olika former i kroppens vävnader. Som en fritt cirkulerande molekyl, bunden till hyaluronan-bindande proteiner s.k. hyaladheriner, löst associerad med vävnad eller förankrad till cellmembran via receptorer. Hyaluronan kan dessutom hittas intracellulärt i cytoplasman, cellkärnan och också i nukleolen. Ett komplex av hyaluronan bundet till hyaladheriner får olika egenskaper och funktioner beroende på dess storlek, koncentration och vilken hyaladherin det är fråga om. I ledvätska binder hyaluronan till proteoglykanen aggregan och bildar en gel som fungerar som smörjmedel och stötdämpare. Hyaluronan kan även binda till membranbundna receptorer som CD44



Urban Hellman vid rattarna på GEMMA, gas-phase electrophoretic mobility molecular analyzer, under storleksanalys av hyaluronan.

och RHAMM, vilka då förmedlar intracellulära signaler som t.ex. reglerar cellproliferation, migration och inflammation.

I en människa på ca 70 kg finns det ca 15 g hyaluronan varav ca 5 g finns i huden. En tredjedel omsätts varje dygn. Nedbrytning sker enzymatiskt av hyaluronidaser (HYAL) eller oxidativt. Hos människan finns 6 stycken gener för HYAL där 4 st. kan ge upphov till fungerande enzymer. I kompakt vävnad sker nedbrytningen mestadels lokalt medan i lös vävnad transporteras hyaluronan via lymfan och blodet till levern som står för 90 % av degraderingen av hyaluronan.

Vid patologiska tillstånd kan balansen mellan syntes och nedbrytning av hyaluronan rubbas och fragmenterad hyaluronan bildas och kan ge skador på vävnaden.

Stora molekyler av hyaluronan s.k. nativ hyaluronan, har visats ha motsatt effekt jämfört med fragmenterad hyaluronan. T.ex. är hyaluronan med hög molekylärvikt antiinflammatorisk och anti-angiogenisk medan lågmolekylär hyaluronan är inflammatorisk och angiogenisk.

Betydande effekt på vävnaden

Vid ett inflammatoriskt svar har förändringar av hyaluronans metabolism tillsammans med hyaladheriner en betydande effekt på vävnaden. Hyaluronans koncentration kan öka så mycket som 200 ggr i inflammerad vävnad och den ökade syntesen av hyaluronan orsakar osmotiska krafter som leder till ödem och förändringar i vaskulär permeabilitet.

Frisk vävnad karakteriseras av hyaluronan



Hyaluronan i huden har stor betydelse för hudens åldrande.

med hög molekylärvikt (>1000 kDa) medan vid vävnadsskada ackumuleras hyaluronan med låg molekylärvikt (<250 kDa) och s.k. hyaluronan oligomerer (<30 kDa).

Normalt är lågmolekylär hyaluronan bortrensad ur vävnaden efter 14 dagar men kronisk inflammerad vävnad karakteriseras av hög koncentration av lågmolekylär hyaluronan. Både storlek och mängd hyaluronan i vävnaden är därför relaterade till graden av rensning vid inflammation.

Behandling av tävlingshästar

Av intresse för reumatologer har hyaluronan varit sedan Endre Balazs redan i slutet av 60-talet föreslog att man skulle behandla artros hos tävlingshästar med hyaluronaninjektioner i leden. 1971 kom den första artikeln där man beskrev intraartikulär injektion av hyaluronan vid knäledsartros hos människor.

Ett stort antal artiklar har sedan dess publicerats där man beskriver en god smärtlindrande effekt av intraartikulärt givet hyaluronan vid knäledsartros. Emellertid är det fortfarande oklart hur denna smärtlindrande effekt medieras.

Reumatologisk hyaluronanforskning

Att molekylens storlek är av central betydelse är uppenbart och pågående forskning har bland annat som mål att studera hur molekylstorlek påverkar inflammationsaktivitet. Med hjälp av teknik delvis utvecklad i Umeå; gas-phase electrophoretic mobility molecular analyzer, GEMMA, kan såväl vävnad som vätskor i mycket små mängder analyseras med bestämning av hyaluronans storleksfördelning och också koncentration. Vi är i första hand intresserade av att korrelera storleksanalyser med kliniska variabler. Huden är det organ som innehåller mest hyaluronan och det species vars hud innehåller överlägset mest hyaluronan är flodhästen.

En annan typ av hud som innehåller stora mängder hyaluronan är tuppkammen. Från tuppkam utvanns också den hyaluronan som det svenska företaget Pharmacia sålde under namnet Healon för användning vid kataraktkirurgi.



Anna Engström-Laurent och Philip Band, biokemist och medarbetare vid New York University.

Intresse för patologiska förändringar

Aktuell forskning av reumatologiskt intresse där hyaluronans betydelse för patologiska förändringar i huden studeras, är psoriasisartrit och sclerodermi. Histologiskt ser man tydlig skillnad i molekylens lokalisering och förekomst mellan frisk och psoriatrisk hud, men även i makroskopiskt frisk hud hos PsoA patienterna. Studier har just startat där hud från PsoA-patienter med aktiv sjukdom ska analyseras med avseende både på lokalisering, koncentration och molekylstorlek, före start med anti TNF behandling och vid bestämda tidpunkter under pågående behandling.

Hypotesen är att lågmolekylär hyaluronan driver den inflammatoriska reaktionen och vid framgångsrik behandling normaliseras hudens innehåll av ”normalstor” hyaluronan. I samarbete med kollegor i Uppsala studeras vi hyaluronan i en experimentell modell där kycklingar utvecklar typiska sclerodermiförändringar. Lokalisering, koncentration och storleksfördelning av molekylerna korreleras till såväl den kliniska bilden över tid, som till kända inflammatoriska markörer.

Pilotstudie

Tillsammans med reumatologkollegor i norra regionen har vi genomfört en pilotstudie där vi analyserat storleksfördelning och koncentration av hyaluronan i serum hos patienter med SLE och korrelerat det-

ta till svaret på den pågående Klorokinbehandling. Studien ska utvidgas och ytterligare markörer ska analyseras, bl.a. TSG-6. Dessa analyser utförs i samarbete med den amerikanske forskaren Phil Band på New York University.

I inflammerad vävnad förekommer hyaluronan bundet kovalent till tunga kedjan på inter- α -inhibitor (I α I). Komplexbildningen mellan hyaluronan och I α I medieras av TSG-6, vilken uppregleras av proinflammatoriska mediatorer och tillväxtfaktorer. TSG-6 kan detekteras vid inflammatoriska sjukdomar som reumatoid artrit.

Hyaluronan-I α I resulterar i en expansion av hyaluronan-nätverket och nivåerna på hyaluronan-I α I är höga vid reumatoid artrit medan vid osteoartrit är nivåerna normala.

Sammanfattning

Detta är ett axplock av all den forskning som pågår nationellt och internationellt med avseende på hyaluronans betydelse, inte bara vid reumatiska sjukdomar utan också vid tumorsjukdomar, lungsjukdomar, hjärtsjukdomar och metabola sjukdomar.

Molekylens betydelse vid sårhäkning är också ett stort forskningsområde, för att inte tala om alla terapeutiska indikationer.

Referenser:

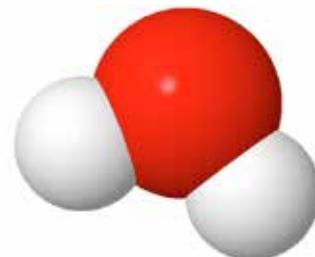
Hyaluronan as an Immune Regulator in Human Diseases. Jiang D, Liang J, Noble P W *Physiol Rev* 91: 221-264, 2011; doi:10.1152/physrev.00052.2009.

The Role of Hyaluronan and the Extracellular Matrix in Islet Inflammation and Immune Regulation. Bollyky P L, Bogdani M, Bollyky J B, Hull R L, Wight T N *Curr Diab Rep* 2012. DOI 10.1007/s11892-012-0297-0

Size determination of hyaluronan using a gas-phase electrophoretic mobility molecular analysis. Malm L, Hellman U, Larsson G. *Glycobiology*. 2012 Jan;22(1):7-11. Epub 2011 Jul 13.

Dermal distribution of hyaluronan in psoriatic arthritis; coexistence of CD44, MMP3 and MMP9. Lindqvist U, Phil-Lundin I, Engström-Laurent A. *Acta Derm Venereol*. 2012 Jul;92(4):372-7. doi: 10.2340/00015555-1286.

Circulating hyaluronic acid levels vary with physical activity in healthy subjects and in rheumatoid arthritis patients. Relationship to synovitis mass and morning stiffness. Engström-Laurent A, Hällgren R. *Arthritis Rheum*. 1987 Dec;30(12):1333-8.



Anna Engström-Laurent

HAR NI TID ATT HJÄLPA OSS MED EN SPLITTERSKADA?

Alla kan inte vara läkare. Men alla kan rädda liv. Och med en ganska liten handling kan ni utträtta stordåd. Utan ert bidrag har vi gränser. Hoppas ni vill vara med.

www.lakareutangranser.se/foretagsvan



**BLI
FÖRETAGSVÄN**

Ring 010-1993300
eller besök oss
på webben.



MEDECINS SANS FRONTIERES
LÄKARE UTAN GRÄNSER



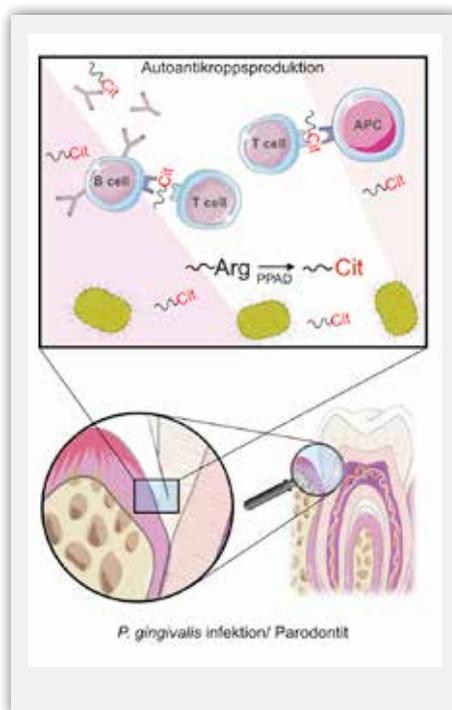
Det bakteriella sambandet mellan parodontit & reumatoid artrit

Parodontit är en mycket vanlig kronisk inflammation av tandkött och käbben som med tiden kan leda till tandlossning. Den orala bakterien *Porphyromonas gingivalis* är inte bara en drivande faktor av parodontit utan även den största anledningen till att sambandet mellan parodontit och reumatoid artrit studeras i en allt större utsträckning.

Det är väl känt att antikroppar mot citrullinerade proteiner (så kallade anti-cykliska citrullinerade peptider, anti-CCP; eller anti-citrullinerade protein antikroppar, ACPA) både förekommer flera år innan sjukdomstecken samt är specifika för patienter med reumatoid artrit (RA).

Trots att ca 70 % av alla RA patienter visar förekomst av dessa autoantikroppar så är citrullinerade proteiner på inget vis en unik förekomst för patienter med RA. Tvärtom är citrullinering en vanligt förekommande process vid normala fysiologiska förhållanden, i till exempel cellkärnor, epidermis, hårfolliklar och myelin.

Citrullinering är en enzymatisk process i vilken peptidylarginin deimineras (PAD) omvandlar aminosyran arginin till citrullin. Det finns fem olika PAD enzymer som uttrycks på varierande platser i kroppen varav PAD2 och PAD4 är av speciellt intresse då de uttrycks i hematopoetiska celler. Under inflammatoriska tillstånd kan ökad grad av apoptos och nekros resultera i att normalt intracellulärt PAD förekommer i extracellulära miljön, vilket resulterar i citrullinering av proteiner som normalt inte förekommer i citrullinerad form. Då arginin är en positivt laddad aminosyra och citrullin är neutral orsakar modifieringen en förändring i den totala elektrostatiska laddningen, vilket kan leda till förändring av den tredimensionella strukturen. Detta kan i sin tur orsaka uppkomst av nya, för immunförsvaret tidigare okända, epitoper och utgöra en grund till bildandet av autoantikroppar. Då inflammation av olika grad, och följaktligen citrullinering av peptider, är vanligt förekommande behöver inte sådana tillstånd per se leda till förekomst av ACPA och RA längre fram i tiden. Även om det är okänt vad som orsakar uppkomsten av ACPA så är det fastställt att genetisk predisposition i form av HLA samt miljöfaktorer så som rökning spelar en stor roll. De senaste åren har det även bildats hypoteser angående parodontit som ytterligare en riskfaktor för ACPA positiv RA².



Infektion med *P. gingivalis* medför lokal citrullinering, orsakad av både PPAD och humana PAD. PPAD citrullinerar främst carboxy-terminalt arginin och ger därmed uppkomst till en epitop skild från de som producerats av endogena PAD. Immunförsvaret, som försöker eliminera de patogena bakterierna, blir introducerat för både bakteriella komponenter och tidigare osedda citrullinerade epitoper. Hos individer med specifika genetiska anlag kan antikroppar mot citrullinerade epitoper produceras. (Illustrationen har tillverkats med hjälp av servier medical art.)

Parodontit som riskfaktor

Parodontit är, med en prevalens på upp till 20-30 %, en mycket vanligt förekommande inflammatorisk sjukdom och delar riskfaktorer, så som rökning och HLA genotyp, med RA. Till skillnad från gingivit, som är en förhållandevis lättbehandlad form av tandköttinflammation, drabbar parodontit käbben och parodontalmembran och kan i aggressiva fall leda till tandförlust. Inflammationen orsakas av det så kallade "röda komplexet", vilket består av en grupp bakterier (*Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythia* och *Treponema denticola*) som är starkt associerade med sjukdomsuppkomst.

Även om parodontit är en multibakteriell sjukdom anses *P. gingivalis* vara grundstenen i sjukdomsuppkomsten. Genom sina många virulensfaktorer är *P. gingivalis* väl

anpassad till ett liv djupt ned i tandköttfickor där inflammation och nedbrytning av vävnad resulterar i kontinuerlig tillgång till näring. Denna förändring av den omgivande miljön kan resultera i proliferation av en patogen flora som vidare driver inflammationen till en kronisk parodontit³.

P. gingivalis är exceptionellt intressant då det är den enda kända bakterien som uttrycker PAD (*P. gingivalis* PAD, PPAD) och kan citrullinera proteiner⁴. Det bakteriella enzymet skiljer sig från det humana då det är oberoende av kalcium för aktivitet och framförallt, det citrullinerar arginin carboxy-terminalt i en polypeptidkedja till skillnad från det humana enzymet som framförallt citrullinerar arginin inom peptidkedjan. *P. gingivalis* uttrycker även flera proteolytiska enzym, bland annat arginin-gingipain (Rgp) som klyver extracellulära proteiner och peptider efter arginin, vilket därmed lämnar carboxy-terminalt arginin öppet för citrullinering av membranbundet PPAD. Denna mekanism skapar inte bara nya citrullinerade proteiner, utan även proteinfraktioner som är modifierade på ett sätt som skiljer sig från produkterna av humana PAD⁵. Fibrinogen och α -enolas är exempel på proteiner som i sina citrullinerade former är kända autoantigen för ACPA från RA patienter. Dessa proteiner är inte bara substrat för humana PAD utan kan även utan problem citrullineras av PPAD efter klyvning av gingipains⁶. Vidare har ACPA identifierats hos, i övrigt friska, patienter med parodontit vilket ytterligare indikerar att citrullinering orsakad av PPAD kan vara en faktor i uppkomsten av dessa autoantikroppar⁷.

Proteiner från *P. gingivalis* som grund för immunreaktion

PPAD citrullinerar inte bara extracellulära proteiner utan är även i sig självt citrullinerat⁴. Det har nyligen visats att antikroppar mot citrullinerat PPAD existerar hos 38 % av RA patienter, nivåer som är högre än hos både friska kontroller och patienter med parodontit⁵. Dessa patienter visar ingen förekomst av antikroppar reaktiva mot PPAD från *P. gingivalis* med inaktivt enzym som därmed saknar all förmåga att citrullinera proteiner.

P. gingivalis producerar även ett bakteriellt α -enolas som är strukturellt mycket likt det humana proteinet. Det har visats att antikroppar mot en immunodominant epitop inom det humana proteinet (citrullinerad

enolas peptid-1, CEP-1) hos RA patienter även binder den motsvarande epitopen inom bakteriellt α -enolas⁸. Detta stärker den potentiella rollen för *P. gingivalis* som en utlösande faktor i bildandet av ett patogent immunsvaret mot citrullinerade proteiner. Trots mycket forskning inom fältet så är det i prospektiva studier ofta svårt att visa på parodontit som en riskfaktor för RA, och inte tvärt om. Dock har en studie utförts där friska individer med hög risk för RA, det vill säga tidig förekomst av ACPA, reumatoid faktor och HLA-DR4, men utan andra kliniska tecken på RA, blivit analyserade för förekomsten av antikroppar mot yttermembranet hos *P. gingivalis*⁹. Denna studie visade att individer med förekomst av en eller flera autoantikroppar även producerade högre nivåer av anti-*P. gingivalis* antikroppar, men inte mot *P. intermedia* eller *F. nucleatum*, jämfört med individer utan autoantikroppsproduktion. Detta indikerar att reaktiviteten mot proteiner från *P. gingivalis* kan föregå fullt utvecklad RA hos högrisk individer. Dock är det omöjligt att utröna om ACPA hos dessa individer redan hade uppkommit och om de i ett senare skede korsreagerar med citrullinerade epitoper hos *P. gingivalis* eller om *P. gingivalis* epitopen i sig ger upphov till ACPA.

Stöd från experimentella modeller

Djurmodeller kan i många fall utgöra en bas där individuella faktorer kan undersökas under kontrollerade former, någonting som i många fall är svårt att utföra genom patientstudier. Genom oral applicering av *P. gingivalis* följt av en induktion av artrit hos möss har man kunnat visa att tidig parodontit orsakar en förvärring av artrit jämfört med icke-infekterade möss¹⁰. Vidare mus-studier har visat att, även om *P. gingivalis* kan påverka graden av efterföljande artrit, så är effekten beroende av aktivt PPAD¹¹. I likhet med patientstudier där reaktivitet ses mot *P. gingivalis* men inte mot

andra orala patogener⁹ visar endast möss infekterade med *P. gingivalis*, men inte *P. intermedia*, eller *P. gingivalis* utan PPAD, en förvärring av artrit.

Dessa experimentella djurmodeller påvisar en viktig roll för PPAD där ökad grad av artrit efter infektion med *P. gingivalis* kan ske både genom en direkt effekt, där PPAD i sig självt verkar som ett antigen, eller indirekt genom en ökad nivå av citrullinerade epitoper. Även om kopplingen mellan parodontit och RA fortfarande till stor del är okänd så finns det i dagsläget många indikationer till att inhibering av PPAD skulle kunna ge lovande resultat, inte bara för parodontit utan även i form av förebyggande terapi för reumatoid artrit.



Piotr Mydel, Leg. Läk, PhD
 Broegelmann forskningslaboratorie
 Universitetet i Bergen, Norge
 piotr.mydel@k2.uib.no

Referenser

1. Klareskog L, Ronnelid J, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L. Immunity to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:651-75.
2. de Pablo P, Dietrich T, Mc Alindon TE. Association of periodontal disease and tooth loss with rheumatoid arthritis in the US population. *J Rheumatol.* 2008 Jan;35(1):70-6. Epub 2007 Nov 15

3. Hajshengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol.* 2012 Oct;10(10):717-25. doi: 10.1038/nrmicro2873. Epub 2012 Sep 3. Review.
4. McGraw WT, Potempa J, Farley D, Travis J. Purification, characterization, and sequence analysis of a potential virulence factor from *Porphyromonas gingivalis*, peptidylarginine deiminase. *Infect Immun.* 1999;67:3248-56.
5. Quirke AM, Lugli EB, Wegner N, Hamilton BC, Charles P, Chowdhury M, et al. Heightened immune response to autocitrullinated *Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase: a potential mechanism for breaching immunologic tolerance in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2013;73:263-9.
6. Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen KA, Lundberg K, et al. Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and alpha-enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62: 2662-72.
7. Lappin DE, Apatzidou D, Quirke AM, Oliver-Bell J, Butcher JP, Kinane DF, et al. Influence of periodontal disease, *Porphyromonas gingivalis* and cigarette smoking on systemic anti-citrullinated peptide antibody titres. *J Clin Periodontol.* 2013;40:907-15.
8. Lundberg K, Kinloch A, Fisher BA, Wegner N, Wait R, Charles P, et al. Antibodies to citrullinated alpha-enolase peptide 1 are specific for rheumatoid arthritis and cross-react with bacterial enolase. *Arthritis Rheum.* 2008;58:3009-19.
9. Mikuls TR, Thiele GM, Deane KD, Payne JB, O'Dell JR, Yu F, et al. *Porphyromonas gingivalis* and disease-related autoantibodies in individuals at increased risk of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2012;64:3522-30.
10. Cantley MD, Haynes DR, Marino V, Bartold PM. Pre-existing periodontitis exacerbates experimental arthritis in a mouse model. *J Clin Periodontol.* 2011;38:532-41.
11. Maresz KJ, Hellvard A, Sroka A, Adamowicz K, Bielecka E, Koziel J, et al. *Porphyromonas gingivalis* facilitates the development and progression of destructive arthritis through its unique bacterial peptidylarginine deiminase (PAD). *PLoS Pathog.* 2013;9:e1003627.



Livsstilsfaktorer har betydelse för insjuknade i reumatoid artrit

Lifestyle Matters: epidemiological studies of oily fish, BMI, life events, physical workload and rheumatoid arthritis
 Institutet för miljömedicin / Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet

Reumatoid artrit (RA) orsakas av en kombination genetiska-, miljö- och livsstilsfaktorer. ACPA-positiv och ACPA-negativ RA har visats sig ha skilda riskfaktorer och till stor del olika sjukdomsförlopp. De flesta miljö- och risk faktorer som idag är kända är associerade främst med ACPA+/RF+ RA (t.ex. rökning).

Syfte

Den här avhandlingen syftar till att öka kunskapen om en del faktorer som är kopplade till individens livsstil och hur dessa eventuellt kan påverka uppkomsten av RA, mer specifikt så var syftet att undersöka sambandet mellan intaget av fet fisk via kosten och omega-3 tillskott, övervikt och fetma, livshändelser, samt fysiskt ansträngande arbete.

För att kunna undersöka dessa faktorer användes information från EIRA (Epidemiological Investigation of Rheumatoid Arthritis) studien. EIRA initierades 1996, vid Institutet för miljömedicin på Karolinska Institutet av Professor Lars Klareskog och Professor Lars Alfredsson. Det rekryteras än idag individer till EIRA och det är idag världens största fall-kontroll studie med information om både biologiska-, miljö-, och livsstilsfaktorer. Samtliga patienter (fall) som blir diagnostiserade med RA av en reumatolog i enlighet 1987 års ACR (American College of Rheumatology) kriterier för RA, för första gången blir tillfrågande om de vill medverka i EIRA. För varje fall väljs sedan slumpmässigt två kontroller ur befolkningen som är av samma kön och ålder samt bor i samma kommun.

Fettsyran omega-3

De tillfrågade fallen och kontrollerna blir ombudda att besvara en omfattande enkät som inkluderar frågor kring kost, tobaksvanor, sjukdomshistoria, yrkesexponering, stress, levnadsvanor etc. Studiedeltagarna blir även ombudda att lämna ett blodprov som möjliggör genetiska analyser.

Delarbetena i studien är baserade på enkäter som har samlats in mellan maj 1996 och november 2009 från 2886 fall och 4072 kontroller. Av de som tillfrågades svarade

94 % av fallen och 78 % av kontrollerna.

Den essentiella fettsyran omega-3 är intressant, då den har visat sig vara betydelsefull för de immunologiska och inflammatoriska processerna i kroppen. Tidigare studier har visat att en kost innehållande mycket omega-3 kan mildra sjukdomsprocessen vid RA. Dessutom finns det indikationer på vanligare förekomst av mildare former av RA i befolkningar som har mycket fisk i kosten. I EIRA kunde vi se att de som åt fet fisk 1-7 gånger/vecka hade 20 % minskad risk för att insjukna i både ACPA-negativ och ACPA-positiv RA jämfört med de som sällan eller aldrig åt fisk, men vi kunde inte se samma skyddande effekt bland dem som regelbundet åt kosttillskott innehållande omega-3.

Skilnader i fettdistribution

Övervikt och fetma ökar risken för ett flertal kroniska sjukdomar inklusive hjärt- kärl sjukdomar. Våra resultat visar att kvinnor som har ett BMI över 30 har en ökad risk att insjukna i ACPA-negativ RA, medan män med samma BMI har en minskad risk att insjukna i ACPA-positiv RA. Könsskillnaderna är svårförklarade, men kan vara relaterade till kända skillnader i fettdistribution mellan män och kvinnor.

En annan faktor som undersöktes i avhandlingen var stress, vilket kopplades till ett flertal kroniska sjukdomar. Många patienter upplever att deras insjuknande i RA har föregåtts av en period med ökad stress, men man har tidigare inte kunnat se tydliga samband mellan detta och risken för RA.

De livshändelser som vi tittade på i EIRA var ex. konflikter med när anhöriga eller vän, långvarig sjukdom hos nära vän alternativt anhörig, skilsmässa, byte av arbete, flytt etc. Vi fann att individer som råkat ut för en livshändelse 5 år före insjuknande hade en ökad risk för att insjukna i RA. Det hade ingen betydelse om händelsen som inträffat hade upplevts positivt eller negativt av individen. För kvinnor ökade risken att insjukna i ACPA-positiv såväl som ACPA-negativ RA, medan för män verkade livshändelser endast ha betydelse för att insjukna i ACPA-negativ sjukdom.

Fysisk ansträngning är en annan faktor som många patienter uttrycker att de tror kan ha inverkat på deras insjuknande. Vi fann att kroppsligt ansträngande arbete (baserat både på subjektiva svar i enkäten samt en objektiv yrkesklassificering från Arbetsmiljöverket) fem år tidigare ökade

risken att insjukna i både ACPA-positiv och ACPA-negativ RA.

Slutsatser

Sammanfattningsvis visar resultaten i avhandlingen att livsstilen har betydelse för risken att insjukna i RA. Vi fann minskad risk för RA med ökat intag av fet fisk, ökad risk för kvinnor med högt BMI att insjukna i ACPA-negativ RA samt att stress och kroppsansträngande arbete associerar med ökad risk för insjuknande i RA. Således är flera faktorer som tidigare visats påverka risken för andra livsstilsrelaterade sjukdomar också associerade med RA. Det behövs dock ytterligare studier för att fastställa den biologiska kopplingen mellan de livsstilsfaktorer vi här studerat och RA.



Ann-Marie Wesley

Avdelningen för Kardiovaskulär epidemiologi, Institutet för Miljömedicin vid Karolinska Institutet.

Disputation: 20 september 2013, Stockholm

Opponent: Docent Ingrid Thyberg, Institutionen för molekylär och klinisk medicin, Linköpings universitet, Hälsouniversitetet

Huvudhandledare: Professor Lars Alfredsson.
Bihandledare: Sara Wedrén, Professor Lars Klareskog

Efter min magisterexamen i Folkhälsovetenskap 2003, arbetade jag några år vid Stockholm Centrum for Folkhälsovetenskap – Tobaksprevention med ett internationellt EU-finansierat forskningsprojekt. Jag var project coordinator för en stor randomiserad kontrollerad studie där vi utvecklade och utvärderade ett alcohol-, tobaks- och drogpreventivt program i skolan. Efter några år kände jag att jag ville fördjupa mig inom epidemiologi och hade turen att få kontakt med Professor Lars Alfredsson och Professor Klareskog som gav mig förmånen att bli doktorand i den stora epidemiologiska studien EIRA. I EIRA fick jag möjlighet att fördjupa mig i hur livsstils- och yrkesmiljöfaktorer kan samvariera med biologiska faktorer och påverka risken att insjukna i ledgångsreumatism. Jag bor på Ekerö med min man och våra två barn. Vi stormtrivs på Ekerö, med dess närhet till naturen och möjligheter till alla former.

Prevalens, fysisk aktivitet och arbete hos patienter med spondylartrit

I november 2013 lades avhandling *Prevalence, physical activity, and work in patients with spondyloarthritis* fram, av leg sjukgymnast Emma Haglund vid medicinska fakulteten, Lunds Universitet. Avhandlingen som baseras på fyra epidemiologiska studier, ger förutom en prevalensberäkning, kartläggning av fysisk aktivitet och produktivitet i arbetet, en övergripande sammanfattning kring sjukdomsgruppen spondylartrit (SpA).

Paraplybegreppet SpA inkluderar underdiagnoserna ankyloserande spondylit (AS), psoriasisartrit (PsA), artrit vid samtidig förekomst av inflammatorisk tarmsjukdom (Aa-IBD, Crohns sjukdom eller ulcerös kolit), odifferentierad spondylartrit (USpA), reaktiv artrit (ReA) och juvenil idiopatisk artrit (JIA).

Några diagnoskriterier för SpA finns ännu inte, däremot har Assessment of Spondyloarthritis Society (ASAS) enats kring klassifikationskriterier.

Sjukdomen delas in i axial och perifer SpA. Axial SpA delas även i AS eller icke radiografisk axial SpA (non radiographic axial SpA, nr-axSpA) där den senare gruppen

beskriver de som ännu inte har en röntgenverifierad sakroiliit.

Livslång sjukdom

Sjukdomen är livslång och debuterar ofta tidigt i livet vilket medför konsekvenser på såväl den fysiska funktionen, arbetsförmågan som till möjligheten att leva ett aktivt liv, vilket även kan påverka den hälsorelaterade livskvaliteten negativt. Tidig diagnostisering följt av adekvat farmakologisk behandling är tillsammans med regim och träning det som idag rekommenderas.

Ökad kunskap kring vilka konsekvenser sjukdomen medför behövs och kan bidra till att tidigt identifiera men också stödja de individer som har sämst prognos. Det övergripande syftet med avhandlingen och de fyra ingående studierna var därför att undersöka förekomst av och de konsekvenser som SpA medför för individen och samhället.

Region Skånes vårddatabas

Individerna i de fyra studierna som ingår i avhandlingen identifierades genom Region Skånes vårddatabas. I detta register finns information om alla läkarbesök som görs i regionen och besöket är kopplat till en di-

agnoskod. 12 olika ICD-10 koder för SpA identifierades genom registret där underdiagnoserna AS, PsA, Aa-IBD och USpA inkluderades.

Första studien

I första studien beräknades prevalensen för SpA utifrån alla de 3852 individer som besökt en läkare och registrerats med en SpA diagnos mellan åren 2003-2007.

Prevalensen var 0,45 % av den vuxna befolkningen (>15 år). Prevalensen för gruppen som helhet var lika för kvinnor och män. Prevalensen för respektive undergrupp var 0,12 % för AS, 0,25 % för PsA, 0,0015 % för Aa-IBD och 0,10 % för USpA.

Enkät

En enkät skickades via post ut i maj 2009, till alla individer som identifierats i registret. Svarefrekvensen var 58 % och data från de individer som återsände en besvarad enkät ligger till grund för följande studier.

Andra studien

I andra studien undersöktes i vilken grad de 2167 individerna uppnådde rekommendationen för en hälsosam fysisk aktivitet.



Genom data hämtad från folkhälsoinstitutet gjordes en jämförelse mellan den fysiska aktivitetsnivån i SpA gruppen och den svenska befolkningen. Sju av 10 individer med SpA uppnådde rekommenderad nivå för en hälsosam fysisk aktivitet. Kvinnorna uppnådde rekommendationen i något högre grad.

Vid jämförelse med befolkningen visade det sig att individer med SpA något oftare uppnådde rekommendationen för fysisk aktivitet, däremot var kvinnor <30 år mindre fysiskt aktiva än jämnåriga i befolkningen.

Tredje studien

I tredje studien undersöktes i vilken grad individerna var nedsatta i sin självrapporterade produktivitet när de var på arbetet, men också vilka faktorer som utmärkte de med en nedsatt produktivitet. Analyser gjordes av data från de 1773 individer som var i arbetsför ålder (<67 år).

Resultatet visade att nästan hälften av individerna (45 %) rapporterade någon grad av nedsatt produktivitet. Sämre hälsorelaterad livskvalitet, högre sjukdomsaktivitet, sämre fysisk funktion, sämre tilltro till sin egen förmåga och att rapportera mer depressiva besvär var faktorer som associerades med en nedsatt produktivitet i arbetet.

Sista studien

Sista studien har en longitudinell approach och förutom data från 2009 års enkät användes även data från en uppföljningsenkät som skickades ut i november 2011. Graden

av nedsatt produktivitet i arbetet undersöktes hos alla 1253 individer i arbetsför ålder som besvarat de båda enkäterna.

Analyserna visade att graden av nedsatt produktivitet i arbetet kunde förutsägas av flera faktorer, såsom nedsatt hälsorelaterad livskvalitet, högre sjukdomsaktivitet, sämre fysisk funktion, sämre tilltro till sin egen förmåga och nedsatt mental hälsa i ångest och depressionstest, av rökning och av låg utbildningsnivå. Samband mellan nedsatt produktivitet i arbetet och aktivitet på fritiden studerades också, där resultatet visade ett starkt samband mellan dessa båda faktorer. Tre fjärdedelar av de med påverkan på produktiviteten rapporterade även minskad fritidsaktivitet.

Sammanfattning

Sammanfattningsvis förekommer SpA i förhållandevis liten utsträckning i befolkningen, med en prevalens på knappt en halv procent, men för de som drabbas medför sjukdomen en mängd negativa konsekvenser.

Att öka kunskapen kring vad som karaktäriserar sjukdomen och kring tidiga symptom kan bidra till att förkorta tiden mellan första symtom tills det en diagnos blir fastställd. Idag är denna tid alltför lång, i snitt 6 år. Ett flertal frågeformulär som används i den kliniska vardagen kring bland annat hälsorelaterad livskvalité, sjukdomsaktivitet och fysisk och psykisk funktion, visade sig kunna förutsäga vilka individer som har störst risk för sämre prognos både avseende fysisk aktivitetsnivå och avseende produktivitet i arbetet. Kunskapen har betydelse

för kliniskt verksam vårdpersonal, i arbetet med att tidigt identifiera de med störst risk för ett sämre mående. En ökad förståelse kring dessa prognostiska faktorer i vården är värdefull, för att underlätta arbetet med att vägleda och coacha individen samt för att i dialog med den drabbade även diskutera förutsättningar till en hälsosam livsstil. Studierna genomfördes under sektionen för reumatologi, institutionen för kliniska vetenskaper i Lund i samarbete mellan FoU Spenshult, Halland och Epi-centrum Skåne.



Emma Haglund

Med dr, fysioterapeut med specialistkompetens i reumatologi. FoU Spenshult, Hallands län Sektionen för Ekonomi och Teknik; Idrottsfysiologi, Biomekanik och Hälsa, Halmstad Högskola

Emma Haglund, har som legitimerad fysioterapeut (ny yrkestitel från och med 1 januari 2014) arbetat med de reumatologiska sjukdomarna under största delen av tiden efter att hon tog examen för drygt 20 år sedan.

Rötterna finns i Halland och det kliniska arbetet har utövats på Spenshults reumatikersjukhus. Efter en klinisk fördjupning till specialistsjukgymnast inom reumatologi, påbörjade Emma 2008 doktorandstudier med fokus på individer med spondylartrit vid Lunds universitet, genom ett samarbete mellan avdelningen för reumatologi i Lund, rörelseorganens forskningsavdelning i Lund och FoU-Spenshult i Halland.

Emma arbetar nu vidare med fortsatta projekt kring individer med spondylartrit genom FoU-Spenshult, övrig tid arbetar hon som universitetslektor på Halmstad högskola.

Tänk gärna på
Sjöräddningssällskapet
pg 90 05 00-0

Minnesgåva sjoraddning.se
eller 077-579 00 00



ReumaKalender

2014

- | | | | |
|---------|---|---------|--|
| 1 maj | The Extracellular matrix
The legacy of Dick Heinegård. Center for Biochemistry, University of Cologne, Germany. May 1-3, 2014 | 21 sept | Scandinavian Congress of Rheumatology
21-23 september, Stockholm |
| 12 maj | Kroniska artritsjukdomar – diagnostik, patogenes och behandling
SK-kurs, Stockholm 12-16/5 | 16 okt | Cutting Edge Rheumatology Symposium
16 oktober, Lund |
| 19 maj | Nationella ST-dagar i reumatologi
19–20 maj, Umeå
Tema: Infektioner som orsak till och komplikation vid reumatisk sjukdom. | 14 nov | ACR/ARHP Annual Meeting
14-19 november, Boston |
| 11 juni | EULAR Congress 2014
11–14 juni, Paris
www.eular.org | 24 nov | SK-Kurs Reumatologisk immunologi
24-28 november, Lund |
| 12 sept | Farmakoterapikurs
SK-kurs, 8-12 september, Lund | | |



Information/program/inbjudan återfinnes i Reumakalendern på www.svenskreumatologi.se

www.svenskreumatologi.se

Surfa in på hemsidan för Svensk Reumatologisk Förening och hitta uppdaterad information om allt som händer

Finns även som app i din telefon

