



CIENCIAS CLÍNICAS Y PATOLÓGICAS
ARTÍCULO ORIGINAL

Eficacia diagnóstica de anticuerpos antipeptidos citrulinados de segunda y tercera generaciones para la artritis reumatoide

Diagnostic effectiveness of anti-citrullinated peptides antibodies of second and third generations for rheumatoid arthritis

Goitybell Martínez Téllez^{1*}, Bárbara Torres Rives¹, Jorge Alexis Gómez²,
Dinorah M. Prada Hernández², Vicky Sánchez Rodríguez¹

¹Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

²Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Centro de Reumatología. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: goitybell@cngen.sld.cu

Cómo citar este artículo

Martínez Téllez G, Torres Rives B, Alexis Gómez J, Prada Hernández DM, Sánchez Rodríguez V. Eficacia diagnóstica de anticuerpos antipeptidos citrulinados de segunda y tercera generaciones para la artritis reumatoide. Rev haban cienc méd [Internet]. 2018 [citado]; 17(4):540-554. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2192>

Recibido: 05 de enero del 2018.

Aprobado: 08 de mayo del 2018.

RESUMEN

Introducción: La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune caracterizada por la presencia de anticuerpos contra péptidos citrulinados, que constituyen indicadores para el diagnóstico de la enfermedad. Es necesario determinar la utilidad de diferentes métodos de determinación de estos anticuerpos para el

diagnóstico de pacientes cubanos con artritis reumatoide.

Objetivo: Determinar la eficacia de los ensayos de determinación de anticuerpos anti-CCP2 y anti-CCP3 para el diagnóstico de pacientes cubanos con artritis reumatoide.

Material y método: Participaron 101 pacientes con artritis reumatoide, 58 pacientes con otras

enfermedades reumáticas e inflamatorias y 43 individuos sanos. Se determinó la eficacia diagnóstica de los anticuerpos factor reumatoideo (FR), anti-CCP2 y anti-CCP3 medidos mediante ELISA, con el cálculo de la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos.

Resultados: El ensayo anti-CCP2 mostró un mejor balance sensibilidad (48,5%) y especificidad (98,0%). Cuando se fijó la especificidad a 98%, se observó la menor sensibilidad para el FR (40,3%). Utilizar los ensayos anti-CCP2 y FR aumentó la especificidad a 100%. Todos los autoanticuerpos mostraron asociación con la proteína C reactiva y correlación con la velocidad de sedimentación

ABSTRACT

Introduction: Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease characterized by the presence of antibodies against citrullinated peptides, which are one of the indicators for the diagnosis of a disease. The usefulness of different methods for the determination of these antibodies in the diagnosis of Cuban patients with rheumatoid arthritis is necessary to be established.

Objective: To establish the diagnostic effectiveness of the second (anti-CCP2) and third (anti-CCP3) generation assays for the determination these antibodies against citrullinated peptides in Cuban patients with rheumatoid arthritis.

Material and method: 101 patients with rheumatoid arthritis, 58 patients with other rheumatic and inflammatory diseases, and 43

globular. Solamente los anticuerpos anti-CCP2 no mostraron correlación con el indicador clínico de actividad DAS 28.

Conclusiones: Los anticuerpos anti-CCP2 son los de mayor eficacia para el diagnóstico de pacientes cubanos con artritis reumatoide. La determinación de FR permite identificar pacientes con artritis reumatoide seronegativos de anticuerpos anti-CCP2, por lo que la combinación de ambos inmunoensayos produce una mejoría en la eficacia diagnóstica.

Palabras claves: Artritis reumatoide, péptido cíclico citrulinado, anticuerpos, anti-CCP2, anti-CCP3, diagnóstico.

healthy persons participated in the study. The diagnostic efficiency of rheumatoid factor (RF), anti-CCP2 and anti-CCP3 antibodies were determined using ELISA test, by calculating sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values.

Results: The anti-CCP2 assay showed a better balance of sensitivity (48.5 %) and specificity (98.0 %). The lower sensibility was observed for RF (40.3%) when the specificity was set at 98 %. Specificity increased to 100% when anti-CCP2 and RF assays were used. All autoantibodies showed association with C-reactive protein and correlation with erythrocyte sedimentation rate. Only anti-CCP2 antibodies showed no correlation with the DAS28 clinical indicator.

Conclusions: Anti-CCP2 antibodies are the ones of greater effectiveness in the diagnosis of Cuban

patients with rheumatoid arthritis. RF identification allows to identify seronegative anti-CCP2 patients; therefore, the combination of both immunoassays leads to an improvement in the diagnostic effectiveness.

INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica y multisistémica de causa autoinmune. Su diagnóstico en Cuba se basa en los criterios de la Asociación Americana de Reumatología (ARA), con el factor reumatoideo (FR) como único criterio serológico. El FR no es específico para la AR. Está presente en individuos sanos y en pacientes con otras enfermedades autoinmunes.^(1,2)

Recientemente las proteínas citrulinadas han sido involucradas en los mecanismos patogénicos de la AR. La citrulinación es una modificación postraduccional, donde ocurre la conversión del aminoácido arginina en citrulina, capaz de activar la respuesta inmune.⁽³⁾

Los primeros anticuerpos antipeptidos citrulinados (anti-PC) descritos fueron el factor perinuclear, los anticuerpos antiqueratina que reaccionan con epítopes de la profilagrina, los anticuerpos antifilagrina.^(3,4)

En el tejido sinovial de pacientes con AR se han detectado distintas proteínas citrulinadas con alta especificidad, como fibrinógeno, enolasa, fibronectina, vimentina y colágeno tipo II.^(3,4,5)

Algunos estudios para determinar anticuerpos anti-PC utilizaban como antígeno distintas variantes lineales de filagrina. La sensibilidad mejoró con la introducción de cambios cíclicos del péptido, lo cual dio origen a la primera generación de anticuerpos anti-PC.⁽³⁾

Keywords: Rheumatoid arthritis, cyclic citrullinated peptide, antibodies, anti-CCP2, anti-CCP3, diagnosis.

Para aumentar el valor diagnóstico de estos métodos surgió la segunda generación de ensayos (anti-CCP2), basados en péptidos altamente inmunogénicos, obtenidos de librerías proteicas.^(6,7,8,9) Los anti CCP2 tienen una sensibilidad de 58 a 80% y una especificidad de 93 a 99% en pacientes con AR.^(7,8,9) La tercera generación de ensayos anti-PC (anti-CCP3) se diseñó mediante ingeniería de péptidos. No se ha demostrado una mejoría de los ensayos anti-CCP3 ya que su sensibilidad varía de 56 a 79% y mantienen una alta especificidad.^(6,8,9) Ambos ensayos son basados en mimotopos, ya que no son antígenos naturales y se realizan mediante la técnica de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA).^(6,7,10)

Durante la última década varios estudios sugieren que los anti-CCP2 además de su alta especificidad, se presentan en etapas tempranas y discriminan entre AR y otras artropatías.^(7,11) Por esta razón fueron incluidos como criterios de clasificación para la AR en el nuevo Colegio Americano de Reumatología/Liga Europea contra el Reumatismo (ACR/EULAR).⁽¹²⁾

No existen estudios publicados sobre la evaluación de la utilidad de los anticuerpos anti-CCP2 y anti-CCP3 para el diagnóstico de pacientes cubanos con AR.

No todos los métodos de determinación de anticuerpos anti-PC disponibles comercialmente

tienen igual desempeño diagnóstico. Además, pueden existir variaciones en los determinantes antigénicos presentes en pacientes con AR de diferentes poblaciones debido a factores genéticos y medioambientales.^(8,13)

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue determinar la eficacia de los ensayos de determinación de anticuerpos anti-CCP2 y anti-CCP3 para el diagnóstico de pacientes cubanos con AR.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio casos controles en el Centro Nacional de Reumatología y el Centro Nacional de Genética Médica en La Habana, durante el período de enero de 2014 a julio de 2016.

Participaron 101 pacientes con AR provenientes del Centro Nacional de Reumatología y 101 controles (58 pacientes con otras enfermedades reumáticas e inflamatorias atendidos en el Centro Nacional de Genética Médica y 43 individuos sanos del Banco de Sangre Provincial de La Habana). Los pacientes con AR fueron diagnosticados de acuerdo con los criterios establecidos por la ARA, donde cada paciente cumplió con 4 criterios de los 7 ya establecidos.⁽²⁾ (Anexo).

Los pacientes se agruparon en AR temprana cuando el tiempo de diagnóstico fue menor e igual a 1 año y AR establecida cuando fue mayor a 1 año. El grupo de pacientes con otras enfermedades incluyó pacientes con artritis no diferenciada (n=16), lupus eritematoso sistémico (n=12), esclerodermia (n=6), enfermedad mixta del tejido conectivo (n=10), espondilitis anquilosante (n=5), artritis psoriásica⁽⁴⁾, síndrome de Sjögren (n=1), polimiositis (n=3), polimialgia reumática (n=1). La artritis no diferenciada fue

La selección y evaluación del método a utilizar en los pacientes cubanos con AR es sumamente importante para obtener resultados confiables para el diagnóstico y tratamiento oportuno de estos pacientes.

definida para aquellos pacientes que no cumplieron todos los criterios diagnósticos de AR. Los datos demográficos sexo, edad en años y duración de la enfermedad en años, se coleccionaron en planillas de recolección de datos mediante entrevistas individuales realizadas por un reumatólogo.

Exámenes generales de laboratorio

Se determinó cuantitativamente la velocidad de sedimentación globular (VSG) en 2 mL de sangre anticoagulada con citrato de sodio 0,5 mol/L durante 1 hora. Se realizó además la determinación de la proteína C reactiva mediante un método cualitativo (positivo o negativo) de aglutinación en látex (DiagnosticAutomation/Cortez Diagnostics, EUA).

Determinación del indicador clínico DAS 28

Un reumatólogo realizó el conteo del número de articulaciones dolorosas (NAD) y articulaciones inflamadas (NAI) de cada paciente. Se realizó la evaluación global del paciente (EGP) en una escala entre 0 (muy bien) y 10 (muy mal). Posteriormente se calculó el indicador clínico cuantitativo: DAS 28 (Del inglés: Disease activity Score) mediante la siguiente fórmula:⁽¹²⁾

$DAS\ 28 = 0,56 (\sqrt{NAD}) + 0,28 (\sqrt{NAI}) + 0,70 (VSG) + 0,014 (EGP)$

Se identificaron los pacientes con DAS 28 normal ($\leq 2,6$), bajo ($>2,6$ y $\leq 3,2$), moderado ($DAS\ 28 > 3,2$ y $\leq 5,1$) y elevado ($>5,1$).

Determinación de autoanticuerpos FR, anti-CCP2 y anti-CCP3

Se utilizaron ensayos tipo ELISA para determinar cuantitativamente los anticuerpos FR del isotipo inmunoglobulina (Ig) M (Orgentec Diagnostika, Germany), anti-CCP2 IgG (IBL International, Germany) y anti-CCP3 IgG (INNOVA Diagnostic INC, USA). Para el ensayo anti-CCP2 el valor de corte recomendado por el fabricante fue 30 U/mL y para los ensayos anti-CCP3 y FR fue 20 U/mL. Se analizó además la presencia o no de estos autoanticuerpos en cada paciente de manera cualitativa (positivo o negativo).

Análisis estadístico

Las variables cualitativas sexo, proteína C reactiva, DAS 28 se expresaron como frecuencia y porcentajes. Las variables cuantitativas edad, duración de la enfermedad, DAS 28, VSG y concentraciones de los anticuerpos no siguieron una distribución normal y se expresaron como mediana y rangos intercuartiles. La comparación

RESULTADOS

Los pacientes con AR incluidos en el estudio tuvieron una mediana de la edad de 51 años (43-61), con una mediana de la duración de la enfermedad de 3 años (1-8). Se observó una frecuencia elevada del sexo femenino (81,2%).

La mayor parte de los pacientes fueron positivos

entre las medianas de las concentraciones de anticuerpos se realizó mediante la prueba no paramétrica U de Mann Whitney. Para cada ensayo de determinación de anticuerpos se calcularon los parámetros de evaluación diagnóstica: sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos, para lo cual se tuvo en cuenta como regla para la identificación de pacientes y controles, el diagnóstico de AR, según los criterios establecidos por la ARA.2 Se determinó el Índice de Youden (IY) y el área bajo la curva de las curvas de característica operacionales del receptor (ROC). El análisis de correlación se realizó mediante el método de Spearman. Se calculó el estadígrafo Chi-Cuadrado y se estimó el Odd Ratio (OR) como magnitud de asociación. El nivel de significación estadística fue 0,05.

Para el desarrollo de la investigación se cumplieron los principios enunciados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.¹⁴ El consentimiento informado de participación fue entregado a los pacientes en la consulta antes de las extracciones de sangre. La investigación fue aprobada por el Comité de ética del Centro Nacional de Genética Médica y del Centro Nacional de Reumatología.

de proteína C reactiva (60,4%). La mediana de la VSG fue de 31 mm/h (16-55).

Los pacientes con AR temprana y establecida tuvieron en su mayoría una actividad de la enfermedad entre moderada y elevada (Tabla 1), con una mediana del DAS 28 de 5,1 (3,7-6,0).

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes con artritis reumatoide, utilizando el DAS 28

DAS 28	AR temprana (33 pacientes)		AR establecida (68 pacientes)		Total (101 pacientes)	
	No.	%	No.	%	No.	%
Normal	1	3,0	6	8,8	7	6,9
Bajo	5	15,2	7	10,3	12	11,9
Moderado	10	30,3	23	33,8	33	32,7
Elevado	17	51,5	32	47,1	49	48,5

AR: artritis reumatoide. **DAS 28:** Índice de actividad de la enfermedad basado en el conteo de 28 articulaciones.¹²

Al analizar la positividad de los autoanticuerpos en los pacientes estudiados con AR, se observan frecuencias similares para los ensayos anti-CCP2 y anti-CCP3, mientras que en los pacientes con otras enfermedades reumáticas e inflamatorias no se detectaron anticuerpos anti-CCP2 (Tabla 2).

Los anticuerpos FR fueron los más frecuentes en los controles tanto sanos como enfermos. Las medianas de las concentraciones de los anticuerpos fueron superiores en los pacientes con AR que en los pacientes con otras enfermedades y en los individuos sanos (Tabla 2).

Tabla 2. Positividad y concentración de anticuerpos en los pacientes con artritis reumatoide, con otras enfermedades reumáticas e inflamatorias y en individuos sanos

Grupo	Anti-CCP 2+			Anti-CCP 3+			FR +		
	No.	%	C (U/mL)	No.	%	C (U/mL)	No.	%	C (U/mL)
AR Total	49	48,5	874,7 * (305,3- 950,0)	48	47,5	261,3* (284,8-174,3)	61	55,4	121,7* (60,0-483,3)
AR temprana	12	36,4	891,4 (551,8-1124,3)	11	33,3	316,1 (267,2-337,2)	16	48,5	181,3 (75,0-501,2)
AR establecida	37	54,4	552,5 (146,6-958,8)	37	54,4	277,1 (169,9-331,9)	45	66,2	108,1 (60,0-483,3)
Otras enfermedades	-	-	-	7	12,1	31,5 (23,3-71,9)	13	22,4	31,5 (23,3-71,9)
Individuos sanos	2	4,7	37,5 (34,7-40,3)	1	2,4	20,1 (0)	2	4,7	38,8 (21,8-55,8)

N: Número de positivos al valor de corte establecido (30 U/mL para anti-CCP2 y 20 U/mL para anti-CCP3 y FR). **AR:** Artritis reumatoide. **C:** Mediana de la concentración (rangos). **Anti-CCP 2:** Antipéptidos citrulinados de segunda generación. **Anti-CCP3:** Antipéptidos citrulinados de tercera generación. **FR:** Factor reumatoide. **Otras enfermedades:** enfermedades reumáticas e inflamatorias diferentes a AR. **Individuos sanos:** donantes de sangre del Banco de Sangre Provincial de La Habana. *Diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con AR y los pacientes con otras enfermedades e individuos sanos que presentaron positividad de autoanticuerpos, mediante la prueba U de Mann Whitney, (P<0,05).

De los pacientes con AR, 40 fueron positivos y 13 fueron negativos por los tres métodos. De los pacientes positivos de FR, 15 no presentaron

anticuerpos anti-CCP2 y 17 no presentaron anticuerpos anti-CCP3 (Tabla 3).

Tabla 3. Positividad de anticuerpos en pacientes con Artritis reumatoide teniendo en cuenta la combinación de ensayos

Ensayos	Número de positivos
FR+ Anti-CCP2 + Anti-CCP3+	40
FR+ Anti-CCP2 - Anti-CCP3-	11
FR- Anti-CCP2 - Anti-CCP3-	13
FR+ Anti-CCP2 -	15
FR+ Anti-CCP3-	17
FR- Anti-CCP2 +	3
FR- Anti-CCP3+	4
FR- Anti-CCP2 -	13
FR- Anti-CCP3-	13

FR: Factor reumatoide. **Anti-CCP2:** Antipéptidos citrulinados de segunda generación. **Anti-CCP3:** Antipéptidos citrulinados de tercera generación.

En los pacientes negativos de FR se observaron anticuerpos anti-CCP2 en 3 de ellos y anti-CCP3 en 4 pacientes (Tabla 3).

En la Tabla 4, se observan los valores de sensibilidad y especificidad a diferentes valores de corte de los ensayos estudiados. Cuando se fija la especificidad a 98%, la sensibilidad obtenida para el ensayo anti-CCP2 (48,5%) fue similar al ensayo anti-CCP3 (47,5%) y superior a la obtenida para el FR (40,3%). El mejor balance de

sensibilidad y especificidad, determinado mediante el IY, se obtuvo en el caso del ensayo anti-CCP2 y FR a los valores de corte recomendados por el fabricante. En el ensayo anti-CCP3 se obtiene el mayor IY utilizando un valor de corte superior al recomendado (40 U/mL). Cuando se utilizan los ensayos anti-CCP2 y FR, se obtiene el mayor valor de IY además de aumentar la especificidad diagnóstica a 100%.

Tabla 4. Parámetros de evaluación diagnóstica de los ensayos de determinación de anticuerpos en pacientes cubanos con artritis reumatoide

Ensayo	VC (U/mL)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	Índice Youden
Anti-CCP2	10	53,5	90,1	84,4	65,9	0,44
	20	50,5	94,1	89,5	65,5	0,45
	30*	48,5	98,0	96,1	65,7	0,47
Anti-CCP3	20	47,5	92,4	85,7	63,7	0,40
	30	46,5	96,0	92,2	64,2	0,43
	40*	47,5	98,0	96,2	65,1	0,46
FR	10	73,3	39,6	54,9	59,7	0,13
	20	60,4	85,2	80,3	68,3	0,46
	30	53,3	89,1	83,1	65,7	0,43
	70*	40,3	98,0	95,4	62,3	0,39
Anti-CCP2 y Anti-CCP3	30 – 40**	39,6	100	100	62,4	0,40
Anti-CCP2 y FR	30 – 20**	45,5	100	100	64,7	0,58
Anti-CCP3 y FR	40 – 20**	40,6	99,0	97,6	62,5	0,40
Anti-CCP2 o Anti-CCP3	30 - 40**	52,2	96,0	93,0	66,9	0,42
Anti-CCP2 o FR	30 - 20**	63,4	83,2	79,0	69,4	0,47
Anti-CCP3 o FR	40 - 20**	63,4	84,2	80,0	69,7	0,48

VC: Valor de corte. **VPP:** Valor predictivo positivo. **VPN:** Valor predictivo negativo. **FR:** Factor reumatoide. **Anti-CCP2:** Antipéptidos citrulinados de segunda generación. **Anti-CCP3:** Antipéptidos citrulinados de tercera generación. *Valor de corte correspondiente a la especificidad de 98%. **Valor de corte seleccionado en el estudio de sensibilidad/especificidad.

El área bajo la curva de las curvas ROC para el ensayo anti-CCP2 fue superior a las obtenidas para el ensayo anti-CCP3 y para el FR. (Figura).

1. FR	2. Anti-CCP3	3. Anti-CCP 2	
Curva	Área ROC	IC (95%)	
1	0,6642	0,5843	0,7442
2	0,6790	0,5996	0,7583
3	0,7039	0,6307	0,7771

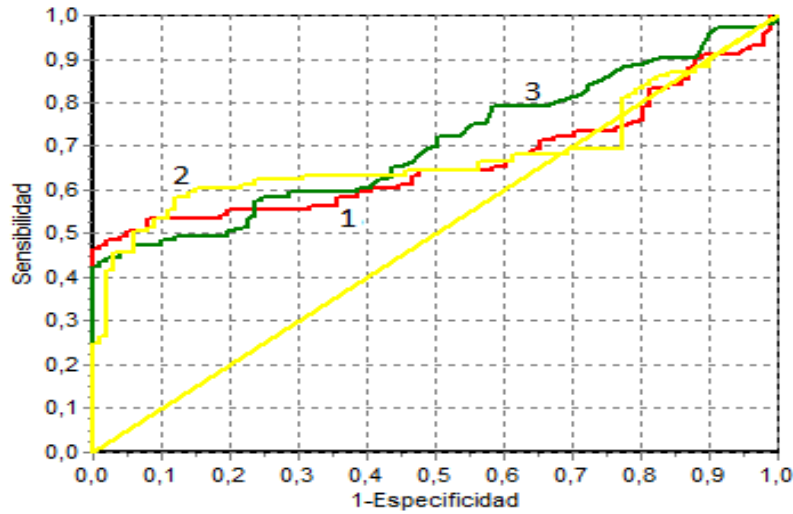


Figura. Curvas ROC de los ensayos de determinación de anticuerpos en pacientes cubanos con artritis reumatoide

ROC: Curva operativa del receptor. **IC:** Intervalo de confianza. **Anti-CCP2:** Antipéptidos citrulinados de segunda generación. **Anti-CCP3:** Antipéptidos citrulinados de tercera generación. **FR:** Factor reumatoideo

Se observó asociación entre la positividad de proteína C reactiva y la presencia de FR ($p=0,0001$, $OR=6,4$; IC 95%; [2,5-16,8]), anticuerpos anti-CCP2 ($p=0,0001$, $OR=5,3$; IC 95%; [2,2-12,9]) y anticuerpos anti-CCP3

($p=0,0005$, $OR=4,6$; IC 95%; [1,9-11,4]). Todos los autoanticuerpos mostraron correlación entre ellos y con la VSG (Tabla 5). Los anticuerpos anti-CCP2 no mostraron correlación con el DAS 28.

Tabla 5. Correlación entre las concentraciones de anticuerpos y los indicadores de actividad de la enfermedad de los pacientes con artritis reumatoide

	Anti-CCP2 (r; p)	Anti-CCP3 (r; p)	FR (r; p)	DAS 28 (r; p)
VSG	0,2385; $p=0,016^*$	0,2261; $p=0,023^*$	0,3494; $p=0,000^*$	0,5539; $p=0,000^*$
Anti-CCP2		0,7391; $p=0,000^*$	0,3086; $p=0,002^*$	0,1909; $p=0,056$
Anti-CCP3			0,4154; $p=0,000^*$	0,2277; $p=0,022^*$
FR				0,2627; $p=0,008^*$

Anti-CCP 2: Antipéptidos citrulinados de segunda generación. **Anti-CCP3:** Antipéptidos citrulinados de tercera generación. **FR:** Factor reumatoide. **DAS 28:** Índice de actividad basado en 28 articulaciones. **VSG:** Velocidad de sedimentación globular. **r:** Coeficiente de correlación. **p:** Significación estadística. *Correlación para $p<0,05$

DISCUSIÓN

Los anticuerpos anti-PC han adquirido una gran importancia por su implicación en la patogenia de la AR⁽⁴⁾ y este hallazgo ha permitido el desarrollo de diversos inmunoensayos. Aunque la determinación de anticuerpos anti-PC fueron incluidos como criterio para la clasificación de la enfermedad,⁽¹²⁾ no existen especificaciones sobre cuál ensayo utilizar y los resultados pueden diferir entre un ensayo y otro, así como en cada población estudiada. Es importante en la práctica clínica interpretar los resultados de un ensayo, así como comprender las diferentes especificidades antigénicas que se utilizan.

El ensayo más estudiado para la determinación de anticuerpos anti-PC ha sido el anti-CCP2 y se ha evidenciado su utilidad diagnóstica en diferentes poblaciones.

La presencia de anticuerpos anti-CCP2 observada en pacientes con AR en otros países de Latinoamérica varía entre 48 y 85%.^(7,15,16) La frecuencia obtenida en este estudio en pacientes cubanos con esta enfermedad, se encuentra en los límites inferiores de este rango (Tabla 2).

Sin embargo, la frecuencia obtenida para FR en los pacientes cubanos con AR fue similar a los de otros estudios que utilizan ELISA (Tabla 2). Se han reportado frecuencias de positividad de este ensayo alrededor de 50% en otros países de Latinoamérica.^(15,16,17) Kokuina y col. describieron en pacientes cubanos con AR una frecuencia superior de FR (84% en AR establecida y 67% en AR temprana), utilizando el ensayo inmunoturbidimétrico.⁽¹⁸⁾ La menor especificidad de este ensayo con respecto al ELISA conlleva a tener falsos positivos.

En este estudio el hecho de que 11 pacientes de

los 90 estudiados sean positivos de FR y negativos de anticuerpos anti-PC (Tabla 3), demuestra que a pesar de las ventajas de los ensayos de determinación de anticuerpos anti-PC, todavía existe una proporción de pacientes negativos en este método que son positivos para el FR, aunque la especificidad sea mucho menor para el FR.

Para el ensayo anti-CCP2 el rango en Latinoamérica varía tanto para la sensibilidad diagnóstica en la AR (61,8-97,6%) como para la especificidad (52,5-97,0%).^(7,15,19,20) En este estudio se obtuvo una menor sensibilidad y, por tanto, un mayor número de pacientes con la enfermedad que no son diagnosticados por ese método (Tabla 4). No obstante, la especificidad observada fue mayor en comparación con otros países, lo que demuestra la calidad diagnóstica de este ensayo en la discriminación de pacientes con AR y otras enfermedades.

Existen más de seis ensayos disponibles para la determinación de anti-CCP2, los cuales tienen diferencias en su eficacia para el diagnóstico de la AR, ya que, aunque generalmente se utiliza el mismo antígeno, existen variaciones en los reactivos y materiales que forman parte del inmunoensayo.⁽⁸⁾ Independientemente de esto pueden existir variaciones en la presencia de estos anticuerpos en diferentes poblaciones debido a factores genéticos, medioambientales como el hábito de fumar, el estrés oxidativo entre otros, además de influencias debidas a características demográficas y clínicas de los pacientes y controles incluidos en el estudio.⁽⁹⁾ Se ha demostrado un vínculo entre la AR asociada a la presencia de haplotipos del complejo mayor de histocompatibilidad como el DR4*0401,

conocido como epítotope compartido y la producción de anticuerpos anti-PC.⁽²¹⁾ Esto conlleva a diferencias en las sensibilidades de los ensayos cuando se estudian diferentes poblaciones. Otra razón importante para estas diferencias es la selección de los pacientes y la clasificación de la enfermedad en AR temprana y AR establecida.⁽⁹⁾

En muchos trabajos en Latinoamérica, no se realizan estudios estratificados, lo cual hace difícil realizar la comparación entre diferentes poblaciones. Una de las características más importante de este ensayo es su especificidad y en los estudios estratificados se determina la sensibilidad fijando la especificidad a 98% o más en el mismo grupo de pacientes, y de esta manera evaluar cómo se compromete la sensibilidad y la eficiencia diagnóstica del ensayo.

En estudios estratificados se han obtenido sensibilidades entre 57 y 80,4% para anti-CCP2, entre 58 y 79% para anti-CCP3 y entre 16,3 y 48,4% para el FR.⁽⁸⁾ Las sensibilidades obtenidas en este estudio fijando la especificidad a 98% fueron inferiores a las reportadas para los ensayos anti-PC (Tabla 4).

La mejor eficacia diagnóstica obtenida mediante el análisis de las curvas ROC se obtuvo para el ensayo anti-CCP2.

Se demostró que cuando se utiliza el FR en combinación con el ensayo anti-CCP2 aumenta la eficacia diagnóstica (Tabla 4), lo cual concuerda con los resultados obtenidos por otros investigadores.⁽⁸⁾ En estudios recientes realizados en Brasil se observó una mejoría en el

ensayo anti-CCP2 con respecto al anti-CCP3, ya que no se observó en pacientes con otras enfermedades reumáticas o antiinflamatorias, tal como ocurre en este estudio (Tabla 2).⁽¹⁵⁾ Otras investigaciones han encontrado una sensibilidad ligeramente inferior del ensayo anti-CCP3.^(8,9)

Los ensayos anti-PC y FR IgM son capaces de orientar acerca de la severidad de la enfermedad ya que mostraron una buena asociación con la proteína C reactiva y correlación con la VSG (Tabla 5), similar a los resultados obtenidos por otros autores.⁽¹⁷⁾ Solamente el ensayo anti-CCP2 no mostró correlación con el DAS 28, como principal indicador clínico de la actividad de la enfermedad.

La realización de estudios de cohorte que permita evaluar la severidad de la enfermedad con el tiempo de tratamiento, permitirá un mejor análisis de la utilidad de estos anticuerpos en la evaluación de la actividad clínica y el pronóstico de la enfermedad, lo cual constituye una limitación de esta investigación.

Los resultados obtenidos en este trabajo contribuyen a la incorporación de la determinación de anticuerpos anti-CCP2, en conjunto con el FR al diagnóstico de pacientes cubanos con AR. No obstante, la variación en las características diagnósticas de los ensayos anti-PC, confirma la necesidad de que otros centros realicen esta evaluación en un mayor número de pacientes con AR, para evitar el riesgo de errores en el diagnóstico y el empleo de tratamientos innecesarios.

CONCLUSIONES

La determinación de anticuerpos anti-CCP2 tiene mayor eficacia diagnóstica en los pacientes cubanos con AR, que la determinación de anticuerpos anti-CCP3 y FR, con una elevada especificidad diagnóstica y una adecuada discriminación entre los pacientes con AR y pacientes con otras enfermedades reumáticas e

inflamatorias.

La determinación de FR IgM mediante ELISA permite la identificación de pacientes seronegativos de anticuerpos anti-PC, por lo que si se utilizan ambos inmunoensayos, se observa una mejoría en el diagnóstico de pacientes cubanos con AR.

RREFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbas AK, Lichtman A, Pillai S. Inmunología celular y molecular. 8va ed. Barcelona: Elsevier Saunders; 2015.
2. Arnett FC, Bloch DA. The American Rheumatism association 1987. Revised criteria for the classification of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988; 31:315-23.
3. Arana V, Ku R, Canul J, Chan Zapata I, Torres J. Importancia clínica de los anticuerpos péptidos cíclicos citrulinados en el diagnóstico de la artritis reumatoide. *Rev Iberoamericana Cienc [Internet].* 2015.Mar [consultado: 18/01/2018];2(2):119-132. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/275583893_Importancia_clinica_de_los_anticuerpos_peptidos_ciclicos_citrulinados_en_el_diagnostico_de_la_artritis_reumatoide
4. Cornillet M, Sebbag M, Verrouil E, Magyar A, Babos F, Ruysen-Witrand A y col. The fibrin-derived citrullinated peptide β 60-74Cit60,72,74 bears the major ACPA epitope recognised by the rheumatoid arthritis-specific anticitrullinated fibrinogen autoantibodies and anti-CCP2 antibodies. *Ann Rheum Dis.* 2014. 73(6):1246-52.
5. Van Steendam K, Tilleman K, Deforce D. The relevance of citrullinated vimentin in the production of antibodies against citrullinated proteins and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford) [Internet].* 2011.Jan[consultado: 15/03/2018];50(5):830-837. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC21278075/>
6. Gavrila BI, Ciofu C, Stoica V. Biomarkers in Rheumatoid Arthritis, what is new? *J Med Life [Internet].* 2016.Apr [consultado: 8/02/2018];9(2):144-148. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4863504/>
7. Díaz-Toscano ML, Olivas-Flores EM, Zavaleta-uñiz SA, Gámez-Nava JI, Cardona-Muñoz EG, Ponce-Guarneros M, y col. Comparison of two assays to determine anti-citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis in relation to other chronic inflammatory rheumatic diseases: assaying anti-modified citrullinated vimentin antibodies adds value to second-generation anticitrullinated cyclic peptides testing. *Biomed Res Intl [Internet].* 2014 [consultado:18/11/2016].Disponible en: <https://static.pubmed.gov/portal/portal3rc.fcgi/4179591/img/3977009>
8. Demoruelle M, Parish M, Derber L, Kolfenbach J, Hughes-Austin J, Weisman M, y col.

Anti-cyclic citrullinated peptide assays differ in subjects at elevated risk for rheumatoid arthritis and subjects with established disease. *Arthritis Rheum.* 2013; 65(9):2243-52.

9. Szekanecz Z, Szabó Z, Zeher M, Soós L, Dankó K, Horváth I y col. Superior performance of the CCP3.1 test compared to CCP2 and MCV in the rheumatoid factor-negative RA population. *Immunologic Research* [Internet]. 2013.Jul [consultado: 10/01/2018];56(2-3):439-43. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12026-013-8425-8>

10. Soroush M, Mahoudi M, Akhlagh M. Determination of specificity and sensitivity of rheumatoid factor and anti CCP tests in patients with RA in private clinic in Tehran, Iran. *Biomed Pharmacol J* [Internet]. 2016 [consultado: 18/02/2018];9(2):775-80. Disponible en: <http://biomedpharmajournal.org/?p=7820>

11. Koga T, Okada A, Fukuda T, Hidaka T, Ishii T, Ueki Y, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies are the strongest predictor of clinically relevant radiographic progression in rheumatoid arthritis patients achieving remission or low disease activity: A post hoc analysis of a nationwide cohort in Japan. *PLoS ONE* [Internet]. 2017[consultado: 12/01/2018]; 12(5):26. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5432072/?report=reader>

12. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO y col. Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62:2569-81.

13. Mathsson L, Fountain DL, Cadwell KK,

Madrigal AM, Gallo G, Poorafshar M. The performance of anti-cyclic citrullinated peptide assays in diagnosing rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Experim Rheumatol* [Internet]. 2018 [consultado: 8/01/2018];36(1):144-52. Disponible en: <http://www.clinexprheumatol.org/pubmed/find-pii.asp?pii=29185968>

14. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* [Internet]. 2013.Nov; [consultado: 6/01/2018];310(20):2191-2194. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/10.1001/jama.2013.281053>

15. Henrique da Mota LM, Neto LL, Pereira IA, Burlingame R, Menard H, Laurindo IM. Autoantibodies in early rheumatoid arthritis—Brasília cohort— results of a three-year serial analysis. *Rev Bras Reumatol* [Internet]. 2011 [consultado: 7/02/2018]; 51(6):558-571. Disponible en: http://www.scielo.br/pdf/rbr/v51n6/en_v51n6a04.pdf

16. Haye MJ, Retamozo S, Vettorazzi L, Peano N, Díaz PE, Castaños MS y col. Anticuerpo anticitrulina y manifestaciones extra articulares en artritis reumatoidea. *Medicina (Buenos Aires)* [Internet]. 2013[consultado: 18/9/2017]; 73(1):21-25. Disponible en: <http://docplayer.es/12160189-Articulo-original-medicina-buenos-aires-2013-73-21-25.html>

17. González-López L, Rocha-Muñoz AD, Ponce-Guarneros M, Flores-Chávez A, Salazar-Paramo M, Nava A, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (Anti-CCP) and anti-mutated citrullinated vimentin (Anti-MCV). Relation with extra-

articular manifestations in rheumatoid arthritis. J Immunol Res. [Internet]. 2014 [consultado:1/10/2017]; 2014: [aprox. 10 p.]. Disponible en:

<http://dx.doi.org/10.1155/2014/536050>

18. Kokuina H, Chico A, Carballar L, Gutiérrez A, Soto J, Estévez M, y col. Factor reumatoide: asociación con la erosión radiológica y con la actividad de la artritis reumatoide. Rev Cubana Med [Internet]. 2008 [consultado: 18/12/2017];47(3).Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232008000300004

19. González M, Rueda J, González H, Salcedo M. Utilidad diagnóstica del anticuerpo antipéptido cíclico citrulinado como prueba diagnóstica en pacientes con artritis reumatoide Rev Colomb Reumatol [Internet]. 2013.Jan [consultado: 8/02/ 2018];20(1): 9-18. Disponible

en:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-81232013000100002

20. González M, Rueda J, González H, Cantora E. Artritis reumatoide temprana: resultados clínicos y funcionales de una cohorte en un centro de alta complejidad, Cali-Colombia. Rev Colomb Reumatol [Internet]. 2016 [consultado: 8/02/ 2018]; 23(3):148-154. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcr/v23n3/v23n3a02.pdf>

21. Wagner C, Sokolove J, Lahey L, Bengtsson C, Saevarsdottir S, Alfredsson L, y col. Identification of anticitrullinated protein antibody reactivity in a subset of anti-CCP-negative rheumatoid arthritis: association with cigarette smoking and HLA-DRB1 'shared epitope' alleles. Ann Rheum Dis. 2015; 74:579-86.

ANEXO

Criterios establecidos por el Colegio Americano de Reumatología para el diagnóstico de la AR (1988)

Criterio	Definición
Rigidez matutina	Rigidez matutina articular que dura al menos 1 hora.
Artritis de 3 ó más grupos articulares	Al menos 3 grupos articulares deben estar inflamados simultáneamente y ser objetivados por un médico.
Artritis de las articulaciones de la mano	Al menos una articulación de las manos debe estar inflamada (carpo, metacarpo falángicas, interfalángicas proximales).
Artritis simétrica	Afectación simultánea del mismo grupo articular (definido en el criterio 2) en ambos lados del cuerpo.
Nódulos reumatoides	Nódulos subcutáneos en prominencias óseas, superficies de extensión o en zonas yuxta-articulares observados por un médico.
Factor reumatoide positivo en suero	Presencia de valores elevados de factor reumatoide por cualquier método con un resultado en controles inferior a 5%.
Alteraciones radiológicas	Alteraciones radiológicas típicas de AR en radiografías posteroanteriores de las manos. Debe existir erosión u osteoporosis yuxta-articular clara y definida en articulaciones afectadas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Contribución de autoría

Todos los autores participamos en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto final del artículo.