

## Przeciwciała przeciwko białku C-reaktywnemu u chorych na toczeń rumieniowaty układowy

*Anti-CRP autoantibodies in systemic lupus erythematosus*

Izabela Korczowska-Łącka<sup>1</sup>, Dorota Cieślak<sup>1</sup>, Magdalena Retman<sup>1</sup>, Zofia Niemi<sup>2</sup>, Paweł Hrycaj<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Reumatologii i Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, kierownik Zakładu dr hab. med. Paweł Hrycaj, prof. UM

<sup>2</sup>Pracownia Nefrologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, kierownik Pracowni prof. dr hab. med. Zofia Niemi

**Słowa kluczowe:** toczeń rumieniowaty układowy, białko C-reaktywne, przeciwciała przeciwko białku C-reaktywnemu.

**Key words:** systemic lupus erythematosus, C-reactive protein, anti-CRP autoantibodies.

### Streszczenie

Toczeń rumieniowaty układowy (TRU) to przewlekła choroba zapalna o podłożu autoimmunologicznym. Złożonej i nie w pełni wyjaśnionej etiologii upatruje się w zaburzeniach usuwania produktów apoptozy, wynikających m.in. z niedostatecznej ilości białka C-reaktywnego. Przyczyna występowania małych, nieadekwatnych do stanu zapalnego, wartości stężeń CRP może wynikać z wiązania z oznaczanymi w pracy przeciwciałami anti-CRP w kompleksy immunologiczne. Ponadto, obecność autoprzeciwciał przeciwko białku C-reaktywnemu może być skorelowana z występowaniem częstszych objawów klinicznych choroby. Częstość występowania autoprzeciwciał anti-CRP w badanej grupie 45 chorych na TRU wynosiła 6,67%. Nie stwierdzono związku pomiędzy przeciwciałami anti-CRP a surowiczym stężeniem białka C-reaktywnego, co może oznaczać, że małe stężenia CRP w TRU nie są związane z łączeniem z przeciwciałami. Zaobserwowano większą aktywność choroby (SLEDAI) u pacjentów z większymi poziomami przeciwciał anti-CRP, ale bez cech istotności. Jednocześnie nie znaleziono związku między obecnością przeciwciał anti-CRP a zajęciem nerek. Stężenia surowicze wolnych nukleosomów były istotnie większe u chorych z małymi stężeniami CRP.

### Summary

Systemic lupus erythematosus is a chronic inflammatory disease with autoimmunological origin. The etiology is complicated and not fully understandable, but it seems to be related with disturbances of apoptotic products removal, stemming from inadequate C-reactive protein amounts. The cause of low CRP concentrations, incompatible with the inflammatory process, can be due to its binding to anti-CRP antibodies with the formation of immunological complexes. In addition, the occurrence of antibodies against the C-reactive protein can be correlated with higher probability of clinical symptoms appearance. The frequency of anti-CRP antibodies occurrence in a group of 45 patients suffering from systemic lupus erythematosus came to 6.67%. No correlation was found between anti-CRP antibodies and serum concentration of C-reactive protein. This result indicates, that low values of CRP in systemic lupus erythematosus are not related to their binding with antibodies. There was no correlation between anti-CRP and the activity of the disease, but higher disease activity (SLEDAI) was observed in patients with higher levels of anti-CRP antibodies. Serum concentration of circulating nucleosomes was significantly higher in patients with low serum CRP.

---

### Adres do korespondencji:

dr med. Izabela Korczowska-Łącka, Zakład Reumatologii i Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Przybyszewskiego 39, 60-356 Poznań, tel. +48 61 854 72 10, faks +48 61 854 72 12

Praca wpłynęła: 20.02.2009 r.

## Wstęp

Toczeń rumieniowaty układowy (TRU) jest przewlekłą, wielonarządową chorobą zapalną o podłożu autoimmunologicznym. Etiologia toczenia układowego jest złożona i nie w pełni wyjaśniona. Główną rolę w autoimmunizacji przypisuje się zaburzeniom usuwania produktów apoptozy, prowadzącym do przedłużonej ekspozycji antygenów na działanie układu odpornościowego [1]. Wśród czynników wpływających na zaburzenia usuwania produktów apoptozy w TRU wymienia się: małe stężenie białka C-reaktywnego (CRP), niedobór składników dopełniacza, zmniejszone stężenie białka MBL (białko wiążące mannozę) oraz wpływ niektórych autoprzeciwciał, takich jak przeciwko białkom ostrej fazy (w tym przeciwciała anti-CRP) i składowym dopełniacza [2]. Białko C-reaktywne, wiążąc się z komórką ulegającą apoptozie, rozpoczyna indukcję aktywacji dopełniacza drogą klasyczną, z opsonizowanych komórek uwalnia się wiele cząsteczek chemotaktycznych. Działa ono również jako opsonina, reagując z receptorem Fc na komórkach fagocytujących, co wzmacnia fagocytozę komórek ulegających apoptozie. Fakt, że u chorych na TRU stężenie CPR jest małe, może przyczyniać się do dłuższego usuwania produktów apoptozy, a tym samym do autoimmunizacji. Białko C-reaktywne ma zdolność wiązania się z błonami i wieloma składnikami jądra komórkowego komórek nekrotycznych, takich jak histony, małe jądrowe nukleoproteidy [3–6].

Celowe zatem wydaje się dokonane w niniejszej pracy oznaczenie występowania autoprzeciwciał anti-CRP, które mogą odpowiadać za małe stężenia CRP u chorych na TRU w mechanizmie wiązania w kompleksy immunologiczne. Mało zbadana jest także asocjacja pomiędzy obecnością u chorych przeciwciał anti-CRP a aktywnością choroby.

## Materiał i metody

### Grupa badana

Badania przeprowadzono w grupie 45 chorych na TRU (42 kobiety i 3 mężczyźni) w wieku 18–72 lat (średnia 39,1 ± 13,4 roku). Pacjenci spełniali kryteria klasyfikacyjne toczenia rumieniowatego układowego opracowane przez Amerykańskie Towarzystwo Reumatologiczne [7]. Grupę kontrolną stanowiło 30 zdrowych dawców krwi w wieku 25–62 lat (średnia wieku 43,7 ± 10,1 roku).

Do oceny aktywności choroby zastosowano indeks SLEDAI. Częstość występowania poszczególnych objawów u pacjentów przedstawiono w tabeli I. Należałoby zwrócić uwagę na liczebność grupy pacjentów z zajęciem nerek w przebiegu toczenia układowego, jako po-

wiązane z problematyką pracy. Aktywność choroby przedstawiono w tabeli II.

### Profil autoprzeciwciał

W pierwszej kolejności, metodą immunofluorescencji pośredniej, przy użyciu linii komórkowej HEp-2010 (EUROIMMUN, Niemcy) oznaczano obecność oraz miano autoprzeciwciał przeciwjądrowych. Były one obecne u 35 pacjentów (77,78%). Najwyższe miano, otrzymane dla 6 chorych, wynosiło 1280. Metodą immunoblottingu – EUROLINE (EUROIMMUN, Niemcy), wykazano obecność autoprzeciwciał o swoistościach do różnych rozpuszczalnych antygenów jądrowych. Rozłożenie występowania przedstawiono w tabeli III.

### Oznaczenie surowiczego stężenia hsCRP

Oznaczenia dokonano metodą ELISA przy użyciu komercyjnego testu firmy BioCheck

### Oznaczenie autoprzeciwciał anti-CRP

Oznaczenie autoprzeciwciał anti-CRP klasy IgG wykonano w surowicy pacjentów oraz w zdrowej grupie kontrolnej przy użyciu metody ELISA. Oznaczenie wykonano na podstawie metodyki opublikowanej przez Roseau i wsp. [8] z własnymi modyfikacjami podanymi poniżej:

- W celu optaszczenia płytki do studzienek reakcyjnych dodano po 100 µl buforu białko CRP + TRIS bufor (*C-reactive protein*, Human Serum, High Purity; Calbiochem Cat. No. 236603), stężenie białka: 6,07 mg/ml. Całość inkubowano przez 12 godz. w temperaturze 4°C. Po inkubacji czterokrotnie przepłukano studzienki poprzez dodanie 300 µl buforu płuczącego (0,05% Tween/TRIS bufor, pH 8,0 – Tris Bufere Saline with Tween 20; Sigma).
- Zablokowanie miejsc wiążących. Do każdego dołka naniesiono po 200 µl 1-procentowego roztworu BSA (*bovine serum albumin*, BSA; Sigma) w 0,05-procentowym Tween/TRIS (bufor blokujący) i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 60 min, a następnie przepłukano 5-krotnie buforem płuczącym.
- Dodanie surowic. Nałożono po 50 µl rozcieńczonych surowic w 1-procentowym BSA w 0,05-procentowym Tween/TRIS buforze w stosunku 1 : 50. Ślepą próbę (*blank*) stanowił 1-procentowy roztwór BSA w 0,05-procentowym Tween/TRIS. Całość inkubowano w lodówce w temperaturze 4°C przez 12 godz., a następnie przepłukano buforem płuczącym.
- Dodanie koniugatu. Naniesiono po 50 µl rozcieńczonego w stosunku 1 : 1000 koniugatu w 1-procentowym roztworze BSA w 0,05-procentowym Tween/

/TRIS buforze (koniugat – przeciwciało skoniugowane z enzymem znacznikowym – alkaliczną fosfatazą, przeciwciało przeciw ludzkim łańcuchom  $\gamma$  dla przeciwciał klasy IgG; Anti-Human IgG –  $\gamma$ -chain Specific – Alkaline Phosphatase; Sigma A3150) i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 60 min. Następnie przepłukano buforem płuczającym.

- Dodanie substratu. Do każdej studzienki reakcyjnej dodano po 50  $\mu$ l substratu: (p-nitrophenyl phosphate; Sigma N2765) i inkubowano na wytrząsarce (200 obrotów/min) w temperaturze pokojowej przez 1 godz. 20 min. Odczytu dokonano spektrofotometrycznie przy długości fali 405 nm.

Stężenie przeciwciał w poszczególnych surowicach określono co najmniej 3 razy. Wyniki oznaczeń wyrażono jako różnicę średniej ekstynkcji odczytanej dla danej próby do średniej ekstynkcji jednej z surowic badanych, oznaczonej na każdej płytce (współczynnik ekstynkcji – O.D. *ratio*). Za pozytywny wynik – obecność w badanej surowicy przeciwciał anty-CRP – traktowano wartość

wyniku przekraczającą 3 odchylenia standardowe od wartości średniej wyniku w grupie kontrolnej, z uwzględnieniem 98-procentowego przedziału ufności.

Powtarzalność oznaczeń dla poszczególnych płytek i pomiędzy płytkami oceniono na podstawie analizy wariancji oraz współczynnika wariancji (CV%). Współczynnik wariancji dla oznaczeń w obrębie płytki nie przekraczał 10%, a pomiędzy płytkami 15%.

Wyniki opracowano, wykorzystując test U Manna-Whitneya, korelację porządku rang Spearmana oraz jednostronny dokładny test Fischera. Za graniczny poziom istotności statystycznej przyjęto  $p < 0,05$ .

## Wyniki

### Wyniki oznaczania autoprzeciwciał anty-CRP metodą ELISA

Średnia wartość ekstynkcji wszystkich surowic w grupie badanej wynosiła 0,515, a w grupie kontrolnej

**Tabela I.** Profil objawów klinicznych w badanej grupie chorych

**Table I.** Clinical symptoms in the study group of patients

Objawy	Liczba badanych	Odsetek (%)
ogólne	40	89
skórno-śluzówkowe	35	78
ze strony układu mięśniowo-szkieletowego	17	38
ze strony układu sercowo-naczyniowego i oddechowego	31	69
zapalenie naczyń	27	60
neurologiczne	27	60
zajęcie nerek	16	36
hematologiczne	14	31

**Tabela II.** Rozkład aktywności choroby mierzony skalą SLEDAI

**Table II.** Assessment disease activity using SLEDAI

Aktywność (SLEDAI)	Liczba pacjentów	Odsetek (%)
mała	16	36,36
średnia	13	29,54
duża	15	34,09

**Tabela III.** Częstość występowania autoprzeciwciał przeciwko rozpuszczalnym antygenom jądrowym w badanej grupie chorych

**Table III.** Frequencies of occurrence of antinuclear antibodies in the study group of patients

Autoprzeciwciało	Częstość (%)
dsDNA	24
antyhistonowe	22
przeciwko centromerom	0
antynukleosomowe	40
anty-Sm	9
anty-U1-RNP	7
anty-Ro	47
anty-LA	18
anty-Ro-52	40
Scl-70 (topoizomeraza I)	2
PM-Scl	0
Jo-1 (syntetaza histydylowego tRNA)	0
PCNA	0
AMA-M2	13

0,479. Minimalna oraz maksymalna wartość ekstynkcji odpowiednio dla prób badanych i kontrolnych wynosiła: 0,227 i 0,255 oraz 1,930 i 0,787. Dla liczby odchylenia standardowego analogicznie: 0,32 i 0,13.

Wyniki przedstawiono za pomocą szeregu rozdzielczego prostego i skumulowanego (tabela IV), a zobrazowano na rycinie 1 oraz 2.

### Wyniki oznaczania hsCRP

Średnie stężenie hsCRP (*high-sensitivity CRP*) w grupie badanej wynosiło 5,28 mg/l. U 30 osób (66,67%) stwierdzono stężenia wynoszące poniżej 6 mg/l, z czego u 2 równe 0 mg/l. U 4 pacjentów stężenie wynosiło powyżej 15 mg/l, przy wartości maksymalnej wynoszącej 18 mg/l. Rozłożenie ilościowe pacjentów oraz grupy kontrolnej ze względu na stężenie hsCRP przedstawiono w tabeli V. Dla grupy kontrolnej średnie stężenie wyniosło 2,01 mg/l. Średnie stężenie hsCRP u chorych na TRU było istotnie większe ( $p < 0,05$ ) w porównaniu z grupą kontrolną (ryc. 3).

Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy między liczbą przeciwciał anti-CRP w grupie badanej i kontrolnej. Obecność przeciwciał anti-CRP (wartość ekstynkcji przekraczającą średnią ekstynkcję dla grupy kontrolnej +3 odchylenia standardowe) wykryto u 3 chorych na TRU, natomiast nie wykorzystano ich u żadnej osoby z grupy kontrolnej. W naszych badaniach stwierdzono brak korelacji pomiędzy obecnością autoprzeciwciał anti-CRP a stężeniem surowiczego hsCRP. Nie zaobserwowano również istotnych statystycznie różnic między aktywnością choroby mierzoną za pomocą skali SLEDAI a stężeniem hsCRP. Jednocześnie zaobserwowa-

no, ale bez cech istotnych statystycznie, że pacjenci z większym stężeniem autoprzeciwciał przeciwko białku C-reaktywnemu wykazywali większą aktywność choroby niż pacjenci z małymi stężeniami przeciwciał.

Stwierdzono brak zależności między obecnością przeciwciał anti-CRP a zajęciem nerek w przebiegu TRU. Analiza korelacji wykazała brak związku między przeciwciałami anti-CRP a przeciwciałami antynukleosomowymi.

Wykazano ujemną korelację między wartością surowiczego stężenia hsCRP a stężeniem przeciwciał antynukleosomowych. Wysokie miana przeciwciał antynukleosomowych są związane z niskimi stężeniami surowiczego hsCRP (ryc. 4).

### Omówienie

Pochodzenie przeciwciał anti-CRP jest nieznane. Jako pierwsi opisali je już w 1985 r. Robey i wsp. u jednego z ośmiu pacjentów z TRU [9]. W 1995 r. Bell i wsp. wykazali znaczną częstość występowania przeciwciał, w większości w klasie IgG, przeciwko CRP u pacjentów cierpiących na TOS (*Toxic Oil Syndrome*) [10], a następnie opublikowali dane dotyczące powszechnego występowania autoprzeciwciał przeciwko CRP w toczeniu rumieniowatym układowym (78%). W naszych badaniach wykazano obecność przeciwciał anti-CRP u trzech pacjentów (6,67%) z 45-osobowej grupy. Wynik ten jest zbliżony jedynie do tego, jaki uzyskali Schoenfeld i wsp. [11]. Z przeglądu dostępnej literatury wynika, że wartość ta jest znacznie mniejsza niż uzyskana przez innych badaczy, którzy podają większy odsetek chorych na TRU z obecnymi przeciwciałami anti-CRP. Rosenau i wsp. [8],

**Tabela IV.** Wyniki oznaczenia autoprzeciwciał anti-CRP metodą ELISA

**Table IV.** Results of detection of anti-CRP antibodies using ELISA

Klasa (przedziały ekstynkcji)	Liczba	Skumulowana liczba	Procent ważnych	Skumulowany procent ważnych
-0,200 < x ≤ 0,000	16	16	35,6	35,6
0,000 < x ≤ 0,200	18	34	40	75,6
0,200 < x ≤ 0,400	6	40	13,3	88,9
0,400 < x ≤ 0,600	1	41	2,2	91,1
0,600 < x ≤ 0,800	2	43	4,5	95,6
0,800 < x ≤ 1,000	1	44	2,2	97,8
1,000 < x ≤ 1,200	0	44	0	97,8
1,200 < x ≤ 1,400	0	44	0	97,8
1,400 < x ≤ 1,600	1	45	2,2	100
brakujące	0	45	0	100

oznaczając przeciwciała tą samą metodą, uzyskali wynik 23%, co i tak już było wartością mniejszą niż podano w innych publikacjach na ten temat, gdzie wyniki wynosiły 32–78%. Za rozbieżność wyników w przedstawionej pracy może być odpowiedzialna różnica w populacji badanej. Wyjaśnienia różnic można również doszukać się w metodyce oznaczenia.

W 2006 r. Rosenau i wsp. [8] wykazali obecność przeciwciał anti-CRP w surowicach pacjentów z różnymi chorobami reumatycznymi, łącznie z TRU, w których zaobserwowano częstość występowania wynoszącą 23% (86 wyników pozytywnych z 413, w tym 43 ze 190 dla TRU). Autorzy sugerują, że rzadsze występowanie przeciwciał anti-CRP w ich badaniu w porównaniu z dotychczasowymi obserwacjami może być spowodowane odmienną metodą oznaczenia i różnicą w populacji badanej. Jednocześnie podają argumenty przedstawiające wiarygodność opracowanej metody, w których większe niż w przypadku oznaczeń pozostałych badaczy stężenie antygenu w studziencie zapewniło jego dostateczną ilość. Ponadto dokonano etapu blokowania, co wyeliminowało reakcje niespecyficzne [8].

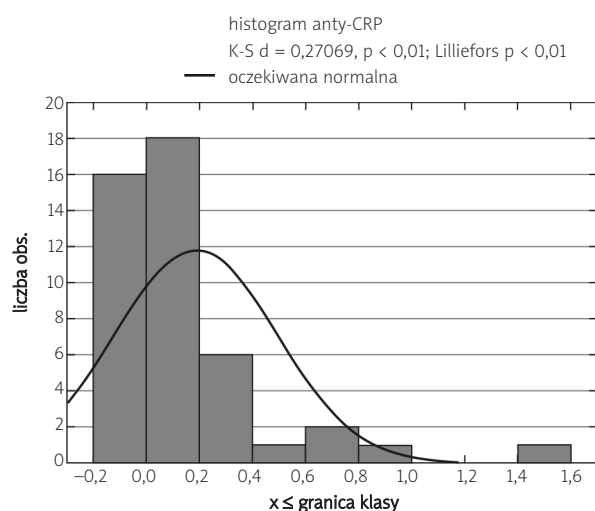
Do określenia przeciwciał w niniejszej pracy wykorzystano omawianą metodykę.

W pracy autorów niniejszego opracowania badano zależności między obecnością autoprzeciwciał anti-CRP a surowiczym stężeniem hsCRP. Związek ten może mieć znaczenie w patogenezie TRU, poprzez wiązanie przeciwciał anti-CRP z CRP, co może wpływać na szybkość usuwania produktów apoptozy. Podobnie jak Sjöwal i wsp. [12] oraz Rosenau i wsp. [8] autorzy opracowania wykazali brak korelacji między obecnością autoprzeciwciał przeciwko CRP a surowiczym stężeniem białka C-reaktywnego, oznaczonego metodą wysokiej czułości. Wynikałoby z tego zatem, że przeciwciała anti-CRP przypuszczalnie nie odpowiadają za małe stężenia surowiczego białka C-reaktywnego u chorych na TRU. Wydaje się, że nieadekwatnie małe przy istniejącym stanie zapalnym w przebiegu tocznia stężenia białka C-reaktywnego u osób z tą chorobą mogą być rezultatem polimorfizmu pojedynczego nukleotydu w genach promotorowych CRP [13, 14].

Wiadomo, że obecność określonych autoprzeciwciał może być związana z częstszym występowaniem pew-

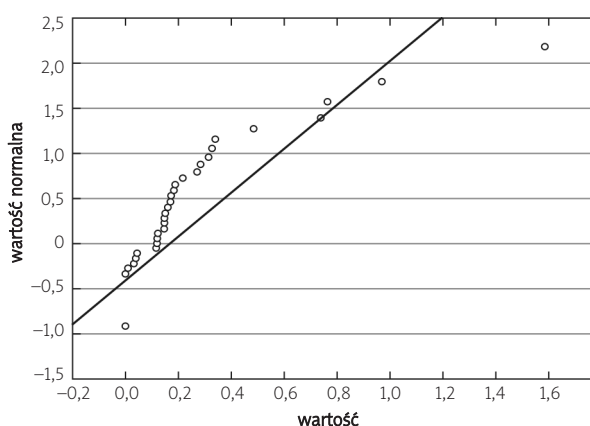
**Tabela V.** Rozkład ilościowy grupy badanej oraz grupy kontrolnej osób zdrowych pod kątem stężeń hsCRP  
**Table V.** Quantitative analysis serum concentration of hsCRP in group of patients and in the control group

Surowcze stężenie hsCRP	Grupa badana		Grupa kontrolna	
	liczba badanych	odsetek (%)	liczba badanych	odsetek (%)
< 6 mg/l	30	66,67	27	90
≥ 6 mg/l	15	33,33	3	10



**Ryc. 1.** Wyniki oznaczania autoprzeciwciał anti-CRP.

**Fig. 1.** Results of detection of anti-CRP antibodies.



**Ryc. 2.** Wykres normalności autoprzeciwciał anti-CRP.

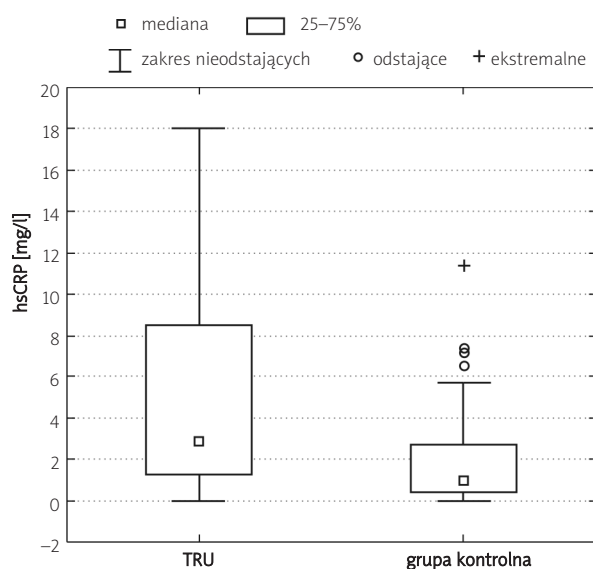
**Fig. 2.** Diagrammatic presentation of anti-CRP antibodies.

nych objawów klinicznych choroby. Dlatego w pracy badano zależność między obecnością autoprzeciwciał anti-CRP a aktywnością i obrazem klinicznym choroby. Nie stwierdzono istotnie statystycznej różnicy między aktywnością choroby u chorych z obecnymi przeciwciałami przeciw białku C-reaktywnemu. Jednocześnie przy braku wyników statystycznie istotnych zaobserwowano, że chorzy z większym stężeniem przeciwciał anti-CRP wykazywali większą aktywność choroby niż chorzy, u których nie wykryto przeciwciał. Podobne wyniki spotykane są w publikacjach innych autorów [15–17].

Minatani i wsp. [16] dostrzegli zjawisko znacznie mniejszych surowicznych stężeń przeciwciał anti-CRP u chorych z białkomoczem, z wałeczkami komórkowymi w osadzie moczu i hipalbuminemią. Wyniki badań mogą służyć do potwierdzenia opracowanego schematu patogenyzy wtórnego kłębuszkowego zapalenia nerek u chorych na TRU. W modelu tym CRP byłoby hipotetycznie wystawione na powierzchni komórek, np. na komórkach śródbłonna, albo zaadsorbowane na błonie podstawnej kłębuszka nerkowego [18–20], gdzie krążące w krwiobiegu przeciwciała anti-CRP mogłyby się z nimi łączyć. Spowodowałoby to aktywację dopełniacza, co prowadziłoby do wzmocnienia i rozszerzenia stanu zapalnego [2].

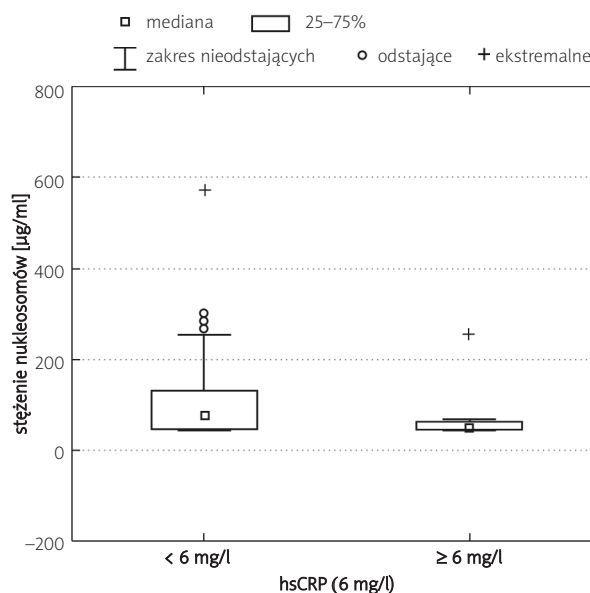
W niniejszej pracy nie stwierdzono jednak korelacji między obecnością przeciwciał anti-CRP a zajęciem nerek.

Niemalą wkład w dotychczasowym poznaniu relacji pomiędzy przeciwciałami anti-CRP a toczeniem rumieniowatym układowym mają Sjőwal i wsp. W publikacji dotyczącej omawianego zagadnienia [17] zanotowali oni, że ci sami pacjenci z grupy badanej w jednym przypadku mają obecne przeciwciała anti-CRP, a w innym czasie przeciwciała te są niewykrywalne, co nasunęło pytanie, czy obecność przeciwciał może być różna w czasie trwania choroby i czy ma to związek z aktywnością choroby. Postanowiono zatem oznaczyć auto-przeciwciała przeciwko CRP w serii 5 surowic pochodzących od 10 chorych z toczeniem układowym [12]. Mimo że badany materiał liczył zaledwie 50 próbek, zaobserwowano wiele zależności. W 4 przypadkach zauważono pozytywną korelację między stężeniem przeciwciał anti-CRP a aktywnością choroby ocenianą skalą SLEDAI, w 5 zaś między stężeniem przeciwciał anti-CRP a stężeniem przeciwciał przeciw dsDNA. Ujemną zależność otrzymano natomiast dla składowych C1q, C3, C4 dopełniacza oraz dla liczby leukocytów. W poprzednich badaniach [17] nie znaleziono związku pomiędzy poziomem auto-przeciwciał anti-CRP a mianem przeciwciał anti-dsDNA. Badacze doszukują się powodu w różni-



**Ryc. 3.** Porównanie stężeń hsCRP (mg/l) w grupie badanej i w grupie kontrolnej ( $p < 0,05$ ).

**Fig 3.** Serum concentrations of hsCRP in group of patients compared to the control group ( $p < 0.05$ ).



**Ryc. 4.** Stężenie krążących nukleosomów u chorych na TRU z niskim (< 6 mg/l) i wyższym ( $\geq 6$  mg/l) stężeniem surowicznym hsCRP ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 4.** Serum concentration of circulating nucleosomes in SLE patient with low (< 6 mg/l) and higher ( $\geq 6$  mg/l) serum levels of hsCRP ( $p < 0.05$ ).

cach metodologicznych dla wykrywania przeciwciał anty-dsDNA i w różnicach w selekcji surowic pacjentów.

U chorych na TRU często obserwuje się występowanie dużych surowiczych stężeń nukleosomów [21, 22]. Ponieważ CRP łączy się z kilkoma strukturami komórkowymi [23], w tym z antygenami nukleosomów, może to być argumentem, że przeciwciała przeciwko CRP *in vivo* mogą wchodzić w interakcję z krążącymi nukleosomami i przeciwciałami antynukleosomowymi. Analiza korelacji wykonana przez autorów niniejszego opracowania pokazała jednak, że nie ma związku między przeciwciałami anty-CRP a przeciwciałami antynukleosomowymi. Obserwacja ta jest zgodna z wynikiem uzyskanym przez Sjöwal i wsp. [12]. Otrzymano jednak ujemną korelację między surowiczym stężeniem hsCRP u chorych na TRU względem poziomów przeciwciał antynukleosomowych. Małe stężenia surowiczego hsCRP są związane z dużymi mianami przeciwciał antynukleosomowych u chorych.

Na podstawie dotychczasowych publikacji na temat występowania autoprzeciwciał anty-CRP w TRU wysunął się zarys problemów wymagający dalszego poznania.

## Wnioski

Stwierdzono, że obecność autoprzeciwciał anty-CRP u chorych na TRU nie ma związku z surowiczym stężeniem hsCRP u tych chorych. Wśród pacjentów z obecnymi przeciwciałami przeciwko białku C-reaktywnemu większą aktywność choroby stwierdzono u chorych z dużym stężeniem przeciwciał, ale bez różnic istotnych statystycznie. Nie znaleziono zależności między obecnością przeciwciał anty-CRP a objawem zajęcia nerek w przebiegu tocznia układowego. Analiza korelacji wykazała brak związku między przeciwciałami anty-CRP a przeciwciałami antynukleosomowymi. Wykazano statystycznie istotną różnicę między surowiczym stężeniem hsCRP względem poziomów przeciwciał przeciw nukleosomom.

### Piśmiennictwo

1. Bijl M, Limburg PC, Kahlenberg CG. New insights into the pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE): the role of apoptosis. *Neth J Med* 2001; 59: 66-75.
2. Sjöwall C, Bengtsson T, Skogh T. CRP and anti-CRP autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rev* 2005; 1: 81-89.
3. Munoz LE, Gaipl US, Franz S, et al. TRU – a disease of clearance deficiency. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 1101-1107.
4. Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol* 2001; 38: 189-197.
5. Kishore U, Ghai R, Greenhough TJ, et al. Structural and functional anatomy of the globular domain of complement protein C1q. *Immunol Lett* 2004; 95: 113-128.
6. Mold C, Gewurz H, Du Clos TW. Regulation of complement activation by C-reactive protein. *Immunopharmacology* 1999; 42: 23-30.
7. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of SLE. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-1277.
8. Rosenau BJ, Schur PH. Antibodies to C-reactive protein. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 674-676.
9. Robey FA, Jones KD, Steinberg AD. C-reactive protein mediates the solubilization of nuclear DNA by complement *in vitro*. *J Exp Med* 1985; 161: 1344-1356.
10. Bell SA, Du Clos TW, Khursigara G, et al. Autoantibodies to cryptic epitopes of C-reactive protein and other acute phase proteins in the toxic oil syndrome. *J Autoimmun* 1995; 8: 293-303.
11. Shoenfeld Y, Szyper-Kravitz M, Witte T, et al. Autoantibodies against protective molecules – C1q, C-reactive protein, serum amyloid P, mannose-binding lectin, and apolipoprotein A1 prevalence in Systemic Lupus Erythematosus. *Ann NY Acad Sci* 2007; 1108: 227-239.
12. Sjöwall C, Bengtsson A, Sturfelt G, Skogh T. Serum levels of autoantibodies against monomeric C-reactive protein are correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: 87-94.
13. Kovacs A, Green F, Hansson LO, et al. A novel common single nucleotide polymorphism in the promoter region of the C-reactive protein gene associated with the plasma concentration of C-reactive protein. *Atherosclerosis* 2005; 178: 193-198.
14. Szalai AJ, Wu J, Lange EM, et al. Single-nucleotide polymorphisms in the C-reactive protein (CRP) gene promoter that affect transcription factor binding, alter transcriptional activity, and associate with differences in baseline serum CRP level. *J Mol Med* 2005; 83: 440-447.
15. Figueredo MA, Rodriguez A, Ruiz-Yague M, et al. Autoantibodies against C-reactive protein: clinical associations in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 2006; 33: 1980-1986.
16. Minatani M, Shinichi A, Tetsuo S. Autoantibodies against C-reactive protein (CRP) in sera of patients with systemic rheumatic diseases. *Mod Rheumatol* 2001; 11: 127-131.
17. Sjöwall C, Eriksson P, Almer S, Skogh T. Autoantibodies to C-reactive protein is a common finding in SLE, but not in primary Sjögren's syndrome, rheumatoid arthritis or inflammatory bowel disease. *J Autoimmun* 2002; 19: 155-160.
18. Jönsen A, Bengtsson AA, Gunnarsson I, et al. Association of polymorphic variants of FcγRIIIa and CRP genes with nephritis in SLE. Abstract, ACR San Diego, 2005.
19. Nakahara C, Kanemoto K, Saito N, et al. C-reactive protein frequently localizes in the kidney in glomerular diseases. *Clin Nephrol* 2001; 55: 365-370.
20. Zuniga R, Markowitz GS, Arkachaisri T, et al. Identification of IgG subclasses and C-reactive protein in lupus nephritis: the relationship between the composition of immune deposits and Fcγ receptor type IIa alleles. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 460-470.
21. Amoura Z, Koutouzov S, Piette JC. The role of nucleosomes in lupus. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 369-373.
22. Mohan C, Adams S, Stanik V, Datta SK. Nucleosome: a major immunogen for pathogenic autoantibody-inducing T cells of lupus. *J Exp Med* 1993; 177: 1367-1381.
23. Du Clos TW. The interaction of C-reactive protein and serum amyloid P component with nuclear antigens. *Mol Biol Rep* 1996; 23: 253-260.