

Przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (ANCA)

Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA)

Mariusz Puszczewicz

Katedra i Klinika Reumatologiczno-Rehabilitacyjna i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Poznaniu, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. med. Irena Zimmermann-Górska

Słowa kluczowe: autoprzeciwciała, ANCA, choroby reumatyczne, zapalenie naczyń.

Key words: autoantibodies, ANCA, rheumatic diseases, vasculitis.

Streszczenie

W pracy przedstawiono charakterystykę immunologiczną oraz metody wykrywania przeciwciał przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (ANCA). Omówiono również związek ANCA z zespołami chorobowymi, ich znaczenie kliniczne oraz udział w patogenezie zapaleń naczyń. Zwrócono szczególną uwagę na rolę przeciwciał przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych w rozpoznaniu i monitorowaniu przebiegu ziarniniaka Wegenera.

Przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych po raz pierwszy opisali w 1982 r. Davies i wsp. [1] u 8 chorych na kłębuszkowe zapalenie nerek. W 1985 r. van der Woude i wsp. [2] wykazali obecność przeciwciał swoiście reagujących z ziarnistościami cytoplazmy granulocytów obojętnochłonnych w surowicy chorych na ziarniniaka Wegenera i nazwali je *AntiNeutrophil Cytoplasmic Antibodies* (ANCA). W dalszych badaniach okazało się, że ANCA pojawiają się także w innych chorobach związanych z zapaleniem naczyń, szczególnie w zespole Churga i Strauss oraz mikroskopowej postaci guzkowego zapalenia tętnic [3]. Obecnie ANCA uważane są za szczególnie istotny wykładnik serologiczny zapaleń naczyń, głównie ziarniniaka Wegenera, mikroskopowej postaci guzkowego zapalenia tętnic (MPA) i gwałtownie postępującego, idiopatycznego kłębuszkowego zapalenia nerek.

Summary

The immunological characteristics and method of ANCA testing were presented in the paper.

Author shows connection between ANCA and vasculitis, especially with Wegener's granulomatosis, and clinical significance of ANCA as well as their role in the pathogenesis of vasculitis.

Metody wykrywania ANCA

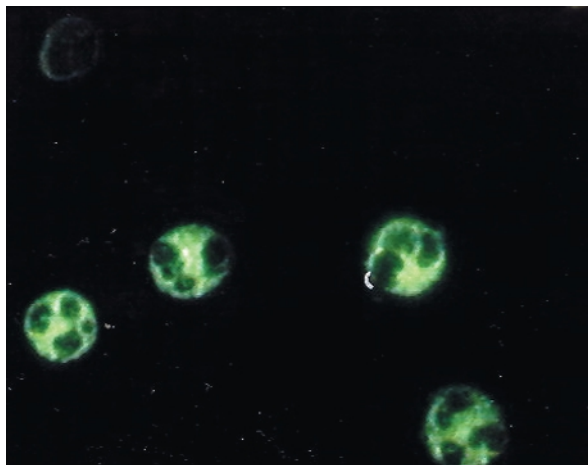
Immunofluorescencja pośrednia

Do rutynowej oceny obecności ANCA w surowicy krwi oraz w płynach ustrojowych wykorzystuje się metodę immunofluorescencji pośredniej [4]. W metodzie tej jako źródło antygeny stosuje się granulocyty obojętnochłonne izolowane z surowicy krwi osób zdrowych. Izolacji dokonuje się w taki sposób, aby nie doszło do aktywacji komórek, gdyż prowadzi ona do uwolnienia enzymów z ziarnistości cytoplazmatycznych. Wówczas PMNs nie mogą służyć jako źródło antygenów. Uzyskane komórki utrwalają się w 96% alkoholu etylowym w temperaturze 4°C.

Przy użyciu metody immunofluorescencji pośredniej wyróżnia się 3 typy ANCA: **C-ANCA** (*cytoplasmic* – typ cytoplazmatyczny) (ryc. 1.), **P-ANCA** (*perinuclear* – typ okołojądrowy) (ryc. 2.) oraz **A-ANCA** (*atypical* – atypowe) (ryc. 3.).

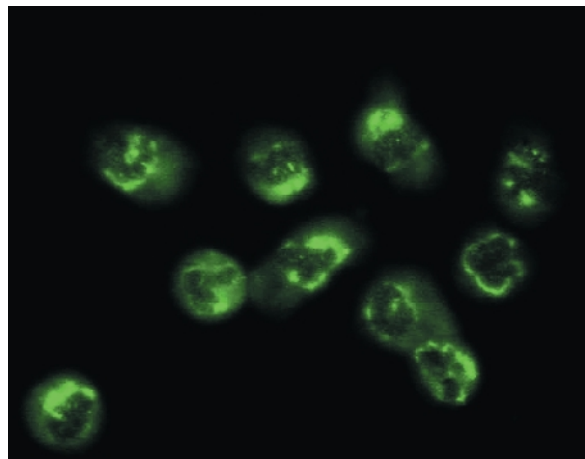
Adres do korespondencji:

doc. dr hab. med. Mariusz Puszczewicz, Katedra i Klinika Reumatologiczno-Rehabilitacyjna i Chorób Wewnętrznych, Akademia Medyczna, ul. 28 Czerwca 1956 r. 135/147, 61-545 Poznań, tel.+48 61 831 02 71, faks +48 61 831 02 71, e-mail: puszczewicz@hotmail.com



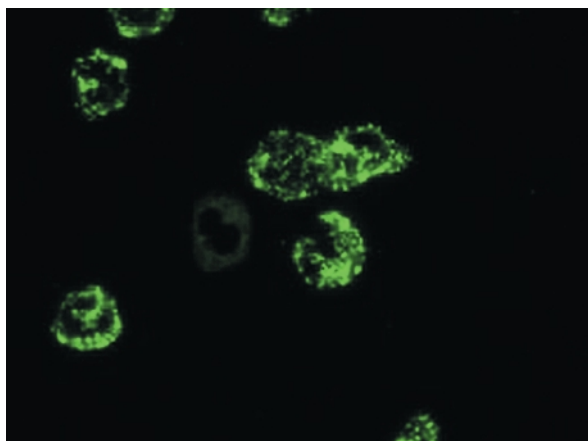
Ryc. 1. Przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych, typ cytoplazmatyczny (C-ANCA).

Fig. 1. *Antineutrophil cytoplasmic antibodies, cytoplasmic pattern (C-ANCA).*



Ryc. 2. Przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych, typ okołojądrowy (P-ANCA).

Fig. 2. *Antineutrophil cytoplasmic antibodies, perinuclear pattern (P-ANCA).*



Ryc. 3. Przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych, świecenie atypowe (A-ANCA).

Fig. 3. *Antineutrophil cytoplasmic antibodies, "atypical" pattern (A-ANCA).*

Typ cytoplazmatyczny, charakteryzuje się gruboziarnistym świeceniem całej cytoplazmy komórki, ze szczególnym nasileniem w obszarze między płatkami jądra. Podobny obraz daje typ A-ANCA, jednak świecenie zwykle jest wówczas drobnoziarniste lub linijne. Natomiast P-ANCA wywołują intensywne świecenie wokół jądra komórkowego. Typy ANCA, określane metodą IIF powinny być bardzo krytycznie interpretowane, ze względu na możliwość fałszywie dodatnich wyników, szczególnie u chorych po wielokrotnych przetoczeniach krwi oraz u kobiet po licznych ciążach. Dochodzi wówczas łatwo do alloimmunizacji i po-

wstania przeciwciał przeciw składowym cytoplazmy PMNs [5].

ELISA

Kolejną metodą wykorzystywaną do oceny ANCA jest metoda ELISA. Służy ona głównie do określenia swoistości antygenowej tych autoprzeciwciał [6].

Antygeny

Do chwili obecnej nie udało się scharakteryzować dokładnie wszystkich antygenów, z którymi reagują ANCA. Większość antygenów znajduje się w obrębie ziarnistości azurofilnych granulocytów obojętnochłonnych i lizosomów monocytów.

C-ANCA reagują głównie z proteinazą 3 (29 kD proteinazą serynową) znajdującą się w ziarnistościach azurofilnych granulocytów (PR-3 ANCA) [7]. Znacznie rzadziej antygenem dla nich bywa białko BPI (*bactericidal permeability increasing protein*) [8], a także enolaza i lizozym. W 1% przypadków również mieloperoksydaza powoduje cytoplazmatyczny typ świecenia ANCA.

Głównym antygenem dla P-ANCA jest natywna mieloperoksydaza, zawarta także w ziarnistościach azurofilnych. Wykazano, że P-ANCA mogą reagować swoiście z katepsyną G, laktoferyną, elastazą, katalazą [9].

Okazuje się, że nie wszystkie przeciwciała reagujące z ziarnistościami cytoplazmy PMNs powodują odpowiedni typ świecenia w metodzie immunofluorescencji pośredniej. Około 50% ANCA reagujących swoiście z białkiem BPI nie powoduje świecenia w metodzie IIF.

Proteinaza 3

Proteinaza 3 jest 29 kD proteinazą serynową, wykazuje właściwości proteolityczne przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Bierze udział w degradacji białek macierzy międzykomórkowej, szczególnie fibronektyny, kolagenu typu IV i lamininy, przez co umożliwia granulocytom obojętnochłonnym przedostawanie się do miejsca zapalenia. Jest także zaangażowana w proces dojrzewania granulocytów obojętnochłonnych. Ostatnio stwierdzono, że indukuje ona apoptozę komórek śródbłonna. Jednak do tej pory nie wykazano, czy PR3-ANCA odgrywają rolę w patogenezie zapalenia naczyń czy są jedynie epifenomenem. Występują one u 93% osób z nieaktywną klinicznie i 95–99% z aktywną postacią ziarniniaka Wegenera.

Sekwencja molekularna PR3 jest podobna do sekwencji innych proteinaz obojętnochłonnych serynowych, takich jak elastaza czy katepsyna.

Mieloperoksydaza

Mieloperoksydaza stanowi 5% białek ziarnistości granulocytów obojętnochłonnych. Jest białkiem 140 kD występującym w postaci dimerów. Katalizuje ona reakcje nadtlenu wodoru z anionami chloru, efektem czego jest powstanie kwasu podchlorawego, który wykazuje silne właściwości bakterioobójcze oraz przeciwwirusowe [10].

Laktoferryna

Laktoferryna jest 78 kD białkiem wiążącym jony żelaza, ma działanie przeciwbakteryjne. Uwalniana jest z ziarnistości specyficznych granulocytów obojętnochłonnych pod wpływem ich aktywacji. Wyróżnia się 2 mechanizmy jej działania; pierwszy to wiązanie jonów żelaza, przez co pozbawia drobnoustroje czynnika istotnego dla ich wzrostu, drugi zaś to bezpośrednie działanie bakterioobójcze [11]. Wykazano, że laktoferryna łączy się z lipidem A, częścią lipopolisacharydu. Tworzenie wolnych rodników tlenowych w miejscu zapalenia wymaga obecności jonów żelaza. Laktoferryna, poprzez wiązanie jonów żelaza w miejscu zapalenia, może przeciwdziałać uszkodzeniu tkanek przez rodniki tlenowe. Obecna jest także we łzach, mleku, soku trzustkowym, żółdkowym, przez co może mieć istotne działanie przeciwbakteryjne. Przeciwciała przeciw laktoferryinie wykazano u chorych na kłębuszkowe zapalenie nerek oraz w przebiegu tocznia układowego z zajęciem nerek.

Lizozym

Lizozym jest 14 kD polipeptydem, zbudowanym z 129 aminokwasów, wykazującym działanie przeciw-

bakteryjne. Jest on glikozydazą, hydrolizującą wiązania glikozydowe między węglem C-1 NAM i C-4 NAG, głównego składnika błony komórkowej bakterii. Enzym ten jest obecny w komórkach i płynach ustrojowych. Największa ilość lizozymu znajduje się w ziarnistościach azurofilnych granulocytów obojętnochłonnych oraz lizosomach monocytów i makrofagów.

Przeciwciała przeciw lizozymowi stwierdzono u chorych na toczeń układowy [12] i reumatoidalne zapalenie stawów [13].

Katepsyna G

Jest białkiem 25 kD, należącym do obojętnych proteaz serynowych, znajdującym się w ziarnistościach azurofilnych granulocytów obojętnochłonnych. Wykazano, że bierze ona udział w procesie agregacji płytek krwi oraz zwiększa aktywność kolagenazy granulocytów obojętnochłonnych.

Przeciwciała przeciw katepsynie G wykazano u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów i wrzodziejące zapalenie jelita grubego [14].

Elastaza

Znajduje się w ziarnistościach pierwotnych granulocytów obojętnochłonnych. Jest białkiem o właściwościach proteolitycznych, powoduje degradację elastyny oraz innych białek macierzy międzykomórkowej, takich jak fibronektyna, laminina oraz kolagen typu IV. W niewielkim zakresie oddziałuje na kolagen typu I i III. Wykazano także, że elastaza pobudza syntezę IL-8 przez komórki śródbłonna naczyń. Alfa₂-antytrypsyna i alfa₂-makroglobulina są głównymi inhibitorami jej aktywności. Stwierdzono, że bierze ona istotny udział w patogenezie takich chorób, jak rozedma płuc oraz mukowiscydoza. Przeciwciała przeciw elastazie badane metodą IIF powodują okołojądrowy typ świecenia. Ich obecność wykazano w przebiegu tocznia układowego oraz u osób leczonych propylotiouracylem.

BPI

BPI jest 50 kDa białkiem skierowanym przeciwko bakteriom Gram-ujemnym. Znajduje się w ziarnistościach azurofilnych, a także na błonie komórkowej granulocytów [15]. Bakterioobójcze właściwości przeciw Gram-ujemnym drobnoustrojom uwarunkowane są 21–25 kD aminokońcowym fragmentem BPI.

CAP-37

CAP-37, białko znane także jako azurocydyna, ma właściwości bakterioobójcze, skierowane przeciwko bakteriom Gram-ujemnym. Wykazuje ono to działanie tak-

że w stosunku do grzybów, bakterii Gram-dodatnich, jednak o mniejszym nasileniu. Stwierdzono, że bierze również udział w zapalnej odpowiedzi zapoczątkowanej przez granulocyty obojętnochłonne. Jest silnym czynnikiem chemotaktycznym dla monocytów [16]. Może więc odgrywać rolę w migracji granulocytów oraz rekrutacji monocytów w miejscu zapalenia. CAP-37 uczestniczy we wtórnej fazie procesu zapalnego.

Przeciwciała przeciw CAP-37 wykazano w surowicy chorych na mukowiscydozę oraz w przebiegu zakażenia bakteriami *Pseudomonas aeruginosa*.

Laminina (LMN)

Jest glikoproteiną znajdującą się w błonie podstawnej. Ułatwia ona *in vitro* przyleganie komórek śródbłonna i komórek mięśniowych do kolagenu obecnego w błonie podstawnej [17]. Laminina jest dużym białkiem o masie ok. 900 kDa i długości cząsteczki 70 nm, zbudowanym z 3 podjednostek, alfa, beta 1 i beta 2 – potączonych w cząsteczkę w kształcie wydłużonego krzyża. Ma ona miejsca wiążące kolagen typu IV, heparynę i integryny. Obecnie odróżnia się ok. 11 izoform lamininy, znajdujących się w różnych narządach. Na przykład LMN-1, LMN-B2 i LMN-alfa 1 są obecne głównie w obrębie nerek.

Pozostałe antygeny wiążące się z ANCA

Należą do nich HMG1/2 [18] oraz aktywna i inne enzymy ziarnistości granulocytów obojętnochłonnych. HMG1/2 są to niehistonowe białka chromosomalne, znajdujące się w jądrze komórkowym i cytoplazmie komórek eukariotycznych. Biorą one udział w procesie transkrypcji i proliferacji komórek. Mimo że nie są one enzymami ziarnistości azurofilnych, to przeciwciała skierowane przeciwko nim dają w metodzie immunofluorescencji pośredniej okołojądrowy typ *świecenia*.

Przeciwciała

Klasy immunoglobulin ANCA

Przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych należą najczęściej do immunoglobulin klasy G. Stwierdzono, że są to głównie podklasy IgG1 i IgG4 [19]. Obecność ANCA w podklasie IgG3 ma prognozować dużą aktywność kliniczną zapalenia naczyń. ANCA mogą występować także w innych klasach immunoglobulin. Obecność ANCA w klasie IgA stwierdzono u chorych z zespołem Schönleina i Henocha, nefropatią IgA, wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego oraz w przebiegu zapaleniu naczyń obejmującym głównie skórę [20]. Natomiast ANCA w klasie IgM wykazano w przypadku krwotocznego zapalenia naczyń obejmującego

nerki i płuca. Nie zaobserwowano korelacji między nasileniem objawów klinicznych a klasą ANCA.

Związek ANCA z zespołami chorobowymi

Obecność ANCA stwierdzano głównie w przebiegu niektórych chorób reumatycznych, chorób nerek, wątroby, jelita grubego, płuc oraz chorób indukowanych lekami i toksynami.

Występowaniem ANCA w przebiegu układowych chorób tkanki łącznej zajmowało się wielu badaczy [21–23]. Wykazano je u chorych z ziarniniakiem Wegenera [2], w zespole Churga i Strauss [3], w chorobie Behçeta, w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów [24, 25], przewlekłego młodzieńczego zapalenia stawów [26], zespołu Felty'ego [27] tocznia rumieniowatego układowego [28], twardziny układowej [29], zespołu Sjögrena [30], zapalenia wielomięśniowego, w reaktywnym zapaleniu stawów [31] oraz u chorych z zespołem antyfosfolipidowym i mieszaną krioglobulinemią [32]. Ścisły związek pomiędzy C-ANCA/PR-3 ANCA a ziarniniakiem Wegenera wykazano w licznych publikacjach [33, 34]. U 80–95% chorych na ziarniniaka Wegenera stwierdza się C-ANCA przy użyciu metody immunofluorescencji pośredniej. Czulość tych autoprzeciwciała uwarunkowana jest aktywnością choroby oraz rozległością zmian. Ostatnie badania wykazały, że czulość dla nieaktywnej postaci choroby wynosi 63%, a dla postaci aktywnej 91% [34], swoistość określono na 95–99%. W pozostałych chorobach, szczególnie w mikroskopowej postaci guzkowego zapalenia tętnic i zespole Churga i Strauss, u 70% osób stwierdzono P-ANCA, które swoiście reagowały z mieloperoksydazą [9]. U ok. 25% chorych na MPA wykazano także ANCA reagujące z PR-3. Zhao i wsp. [35] obserwowali ANCA swoiście reagujące z azurocydyną u chorych z zapaleniem naczyń. Jednak ich znaczenie kliniczne nie zostało dotychczas potwierdzone. Wydaje się, że były one raczej wynikiem poliklonalnej aktywacji przez leki, głównie hydralazynę. ANCA stwierdzano także u 40–60% osób z rzadką postacią zapalenia naczyń obejmującego ośrodkowy układ nerwowy. U większości chorych były to P-ANCA reagujące swoiście z MPO, jednak w nielicznych przypadkach C-ANCA. W przebiegu choroby Behçeta wykazywano również obecność ANCA, jednak w ostatnio przeprowadzonych badaniach na dużej liczbie chorych obserwacje te nie zostały potwierdzone [36].

Obecność P- lub A-ANCA stwierdzano u 15–30% chorych w przebiegu tocznia układowego, reumatoidalnego zapalenia stawów i zespołu Sjögrena. U chorych na reumatoidalne zapalenie stawów ANCA reagowały z licznymi antygenami, do których należą: MPO, laktoferrylna, lizozym. Jednak do chwili obecnej głównie anty-

gen nie został zidentyfikowany. Natomiast w surowicy chorych na toczeń układowy wykazano obecność ANCA, które reagowały swoiście z laktoferyną, MPO i katepsyną G [37]. W przebiegu układowych chorób tkanki łącznej rzadko wykrywa się ANCA reagujące swoiście z proteinazą 3. Obecność ANCA wykazano także w przypadkach choroby Kawasaki [38] oraz w przebiegu zespołu Sweeta [39] i Coghana [40].

W przypadku idiopatycznego, szybko postępującego kłębuszkowego zapalenia nerek ANCA są obecne u 45–65% chorych, reagują one głównie z mieloperoksydazą.

W przebiegu pełnoobjawowego zespołu Goodpasture u 20–40% chorych wykazano obecność ANCA jednocześnie z przeciwciałami przeciw błonie podstawnej. Reagowały one głównie z mieloperoksydazą, dając okołojądrowy typ świecenia w metodzie immunofluorescencji pośredniej.

ANCA wykrywa się także w innych chorobach o podłożu autoimmunologicznym. Należą do nich wrzodziejące zapalenie jelita grubego, przewlekłe aktywne zapalenie wątroby [41] i pierwotne twardejące zapalenie dróg żółciowych [8]. Ich obecność wykazano w surowicy krwi u 40–80% chorych na wrzodziejące zapalenie jelita grubego [42] i w 10–20% przypadkach choroby Leśniowskiego-Crohna [43]. W metodzie immunofluorescencji pośredniej w większości dawały atypowy typ świecenia, w nielicznych przypadkach były to P-ANCA. Reagowały one głównie z katepsyną G i BPI [8]. Wykazano także, że mogą być skierowane przeciwko lamininie A, B1. W przypadku chorób wątroby o podłożu autoimmunologicznym ANCA wykazano u 65–80% osób z pierwotnym twardejącym zapaleniem dróg żółciowych i u 65–95% osób z autoimmunologicznym zapaleniem wątroby. Były to głównie p-ANCA, które swoiście reagowały z laktoferyną [41].

ANCA wykrywano również w przebiegu zakażenia wirusem HIV, aktywnej postaci gruźlicy [44], zapaleniu wsierdza, zakażeniach grzybiczych, amebiozie i malarii [45]. Większość przypadków to pojedyncze opisy kliniczne. Obecność ANCA była prawdopodobnie raczej wynikiem aktywacji granulocytów obojętnochłonnych niż wykładnikiem zapalenia naczyń.

U osób leczonych metizolem, propylotioracylem, sulfasalazyną, D-penicylaminą, minocykliną, hydralazyną, a także allopurynolem, u których obserwowano objawy kliniczne zapalenia naczyń, wykazano również obecność ANCA [46, 47]. W większości przypadków były to P-ANCA, które reagowały swoiście z MPO oraz elastazą. ANCA skierowane przeciw PR-3 wykazywano także u chorych leczonych tiouracylem.

ANCA, które wykrywano w przebiegu pylicy [48] oraz u chorych na mukowiscydozę, [49] były skierowa-

ne przeciw MPO. Ostatnie badania wskazują, że przeciwciała te są obecne u osób z przewlekłą kolonizacją układu oddechowego przez *Pseudomonas aeruginosa*.

Wykazano je także u chorych z zatorami cholesterolowymi, po transplantacji nerek powikłanej zapaleniem naczyń, w przebiegu zapalenia rdzenia kręgowego [50], zapalenia tęczówki [14], w chorobie Bürgera [51] oraz u osób, u których w młodym wieku były obecne zaawansowane zmiany miażdżycowe [52]. Natomiast atypowe ANCA wykrywano u chorych leczonych immunoglobulinami podawanymi dożylnie, szczególnie wtedy, gdy stosowano je w dużych dawkach [53].

Znaczenie kliniczne ANCA

Przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych zyskały istotną pozycję w diagnostyce serologicznej zapaleń naczyń. Dotychczasowe postępowanie diagnostyczne w tych zespołach chorobowych opierało się głównie na ocenie objawów klinicznych i biopsji narządu, w którym toczył się proces zapalny. Obecnie uważa się, że ANCA – zarówno C-ANCA, jak i P-ANCA – pełnią istotną rolę w potwierdzeniu rozpoznania układowych postaci zapalenia naczyń, są także markerem w rozpoznaniu ziarniniaka Wegenera. Wykazano, że obecne są u 65% chorych z nieaktywną i 95–99% chorych z aktywną postacią tej choroby. Ich miano koreluje z aktywnością procesu zapalnego, a także z odpowiedzią na zastosowane leczenie. Nawrót ziarniniaka Wegenera przejawia się zwiększeniem miana ANCA, szczególnie podklasy IgG3. Średni czas, który upływa między wzrostem miana przeciwciał a pojawieniem się objawów klinicznych, wynosi 7 tyg. Miano ANCA u osób z ziarniniakiem Wegenera radykalnie obniża się po transplantacji nerek. Chorzy, u których stwierdza się PR3-ANCA, często mają zajęte górne drogi oddechowe oraz okołonaczyniowe nacieki w obrębie zajętego narządu. Natomiast MPO-ANCA pojawiają się najczęściej u osób w podeszłym wieku z zajęciem obwodowego układu nerwowego, płuc i nerek. Śmiertelność chorych na mikroskopową postać guzkowego zapalenia tętnic była wyższa wtedy, gdy stwierdzano C-ANCA, niż w przypadkach, w których obecne były P-ANCA. Wykazano także, że obecność C-ANCA wiąże się ze złym rokowaniem co do czynności nerek. Z punktu klinicznego istotne jest odróżnianie mikroskopowego guzkowego zapalenia tętnic od klasycznej postaci tej choroby. Obserwacje wskazują, że miano P-ANCA zwiększa się wtedy, gdy dochodzi do wznowy choroby, jednak stwierdza się to u 50% chorych. Natomiast w przypadku MPA ANCA obecne są u ok. 50–75% chorych, a w zajęciu ośrodkowego układu nerwowego proce-

sem zapalnym o typie *vasculitis* u 50–70%. Swoistość C-ANCA dla ziarniniaka Wegenera wynosi 95%, a p-ANCA dla MPA 80–90%.

U chorych na mukowiscydozę ANCA reagują swoiście z c-końcowym fragmentem BPI, który jest niezbędny do opsonizacji. Autoprzeciwiactwa te mają także zdolność hamowania opsonizacji. Wykazano ponadto ujemną korelację pomiędzy mianem BPI-ANCA a czynnością płuc. Być może w przyszłości dzięki leczeniu prowadzącemu do zahamowania produkcji BPI-ANCA będzie można zmniejszyć nasilenie objawów klinicznych mukowiscydozy.

Hipotezy dotyczące roli ANCA w patogenezie chorób zapalnych

Dotychczas nie ustalono jednoznacznie znaczenia ANCA w patogenezie zapalenia naczyń [54]. Badania na modelu zwierzęcym wykazały istotny ich udział w procesie zapalnym obejmującym naczynia krwionośne [55]. Uważa się, że prawdopodobnie ANCA pośrednio lub bezpośrednio pobudzają granulocyty obojętnochłonne do tworzenia się nacieków zapalnych i uszkodzenia komórek śródbłonna naczyń, zapoczątkowując tym proces zapalny w ich obrębie [56, 57]. Antygeny, z którymi reagują ANCA, tj. MPO i PR-3, są obecne na błonie komórkowej granulocytów obojętnochłonnych po wcześniejszym ich pobudzeniu przez cytokiny [58] lub jako wynik apoptozy tych komórek [59]. Połączenie się ANCA z tymi antygenami prowadzi do wybuchu tlenowego, degranulacji i uwolnienia cytokin [60]. Połączenie ANCA z FcGamma RIIfa i FcgammaRIIIb, znajdującymi się na powierzchni granulocytów, prowadzi do ich aktywacji [61, 62]. Pobudzone granulocyty mają zdolność łączenia się także z aktywowanymi komórkami śródbłonna [63], czego efektem jest ich uszkodzenie. Natomiast Yang J. J. i wsp. [64] udowodnili, że proteiny serynowe wykazują właściwości indukujące apoptozę komórek śródbłonna. Wiadomo również, że ANCA indukują uwolnienie przez monocyty czynników chemotaktycznych, takich jak MCP-1 i IL-8 [65], czego wynikiem jest powstanie nacieku zapalnego w obrębie ściany naczynia krwionośnego, składającego się głównie z monocytów i granulocytów.

Wyniki badań doświadczalnych oraz fakt, że u 75% chorych z ziarniniakiem Wegenera miano ANCA wykazuje korelację z aktywnością choroby, przemawiają za udziałem tych autoprzeciwiactw w patogenezie zapalenia naczyń.

Jednak badania *in vitro* nie potwierdziły obecności ANCA lub złożeń IgG w tkankach zajętych procesem zapalnym. Obecność ziarniniaków składających się głównie z aktywowanych limfocytów T oraz ich obecność w znacznej ilości we krwi wskazuje bardziej na

udział odpowiedzi komórkowej niż humoralnej w zapaleniu naczyń. Ponadto podanie zwierzętom MPO-ANCA nie indukowało zapalenia naczyń, a u 35% chorych z potwierdzonym rozpoznaniem ziarniniaka Wegenera lub MPA nie stwierdza się ANCA. Wszystkie te fakty przemawiają przeciw istotnemu udziałowi ANCA w procesie zapalenia naczyń.

Piśmiennictwo

1. Davies DJ, Moran JE, Niall JF, et al. Segmental necrotizing glomerulonephritis with antineutrophil antibody. Possible arbovirus aetiology? *Br Med. J* 1982; 285: 606.
2. Van der Woude FJ, Lobatto S, Van der Giessen M, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: Tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985; 1: 425-9.
3. Guillemin L, Cohen P, Gayraud M, et al. Churg-Strauss syndrome. Clinical study and long-term follow-up of 96 patients. *Medicine* 1999; 78: 26-37.
4. Wiik A. Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *APMIS Suppl* 1989; 6: 12-3.
5. Stroncek DF, Egging MS, Eiber GA, et al. Neutrophil alloantibodies react with cytoplasmic antigens: a possible cause of false-positive indirect immunofluorescence assays for antibodies to neutrophil cytoplasmic antigens. *Am J Kidney Dis* 1993; 21: 368-73.
6. Segelmark M, Westman K, Wislander J. How and why should we detect ANCA? *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 629-35.
7. Russell KA, Wiegert E, Schroeder DR, et al. Detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies under actual clinical testing condition. *Clin Immunol* 2002; 103: 196-203.
8. Stoffel MP, Csernock E, Herzberg C. Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bactericidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders. *Clin Exp Immunol* 1996; 104: 54-9.
9. Fu HL, Hsu TC, Chang CC, et al. Antigenic specificity of antineutrophil cytoplasmic antibody. *J Formos Med Assoc* 2001; 100: 35-9.
10. Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, et al. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest* 2000; 80: 617-53.
11. Akin DT, Lu MQ, Lu SJ, et al. Bactericidal activities of different forms of lactoferrin. *Adv Exp Med Biol* 1994; 357: 61-70.
12. Manolova I, Danche M, Halacheva K. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with systemic lupus erythematosus: prevalence, antigen specificity, and clinical associations. *Rheumatol Int* 2001; 5: 197-202.
13. Mulder AH, Horst G, van Leeuwen MA, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 1054-60.
14. Gordon LK, Eggena M, Holland N, et al. P-ANCA antibodies in patients with anterior uveitis: identification of a marker antibody usually associated with ulcerative colitis. *J Clin Immunol* 1998; 18: 264-71.

15. Weersink AJ, Van Kessel KP, Van Den Tol ME, et al. Human granulocytes express a 55-kDa lipopolysaccharide binding protein on the cell surface that is identical to bactericidal/permeability-increasing protein. *J Immunol* 1993; 150: 253-63.
16. Spitznagel J. Antibiotic proteins of human neutrophils. *J Clin Invest* 1990; 86: 1381-6.
17. Terranova VP, Rohrbach DH, Martin GR. Role of laminin in the attachment of PAM 212 (epithelial) cells to basement membrane collagen. *Cell* 1980; 22: 719-26.
18. Uesugi H, Ozaki S, Sobajima J, et al. Prevalence and characterization of novel p-ANCA antibodies to the high mobility group non-histone chromosomal proteins HMG1 and HMG2, in systemic rheumatoid diseases. *J Rheumatol* 1998; 25: 703-9.
19. Brouwer E, Tervaert JW, Horst G, et al. Predominance of IgG1 and IgG4 subclasses of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in patients with Wegener's granulomatosis and clinically related disorders. *Clin Exp Immunol* 1991; 83: 379-86.
20. Provel-Guitera P, Diemert MC, Charuel JL, et al. IgA antineutrophil cytoplasmic antibodies in cutaneous vasculitis. *Br J Dermatol* 2000; 143: 99-103.
21. Hauschild S, Schmitt WH, Csernok E. ANCA in systemic vasculitides, rheumatoid disorders and inflammatory bowel diseases. *Adv Exp Med Biol* 1993; 336: 245-51.
22. von Muhlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic disease. *Semin Arthritis Rheum* 1995; 24: 323-58.
23. Puszczewicz M, Zimmermann-Górska I, Białkowska-Puszczewicz G i wsp. Występowanie przeciwciał przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (ANCA) i ich swoistość w układowych chorobach tkanki łącznej. *Pol Arch Med Wewn* 2003; 109: 10-16.
24. Abad E, Carbonell M, Tural C, et al. ANCA antibodies in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 1993; 93: 46-51.
25. Guang LS. ANCA in RA patients. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 1328-9.
26. Bakkaloglu A, Ozen S, Saatci U, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in juvenile chronic arthritis. *Clin Rheumatol* 1999; 18: 304-7.
27. Juby C, Johnston C, Davis P. Antinuclear and antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in the sera of patients with Felty's syndrome. *Br J Rheumatol* 1992; 31: 185-8.
28. Schnabel A, Csernok E, Isenberg DA, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 633-7.
29. Endo H, Hosono T, Kondo H. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in 6 patients with renal failure and systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1994; 21: 864-70.
30. Font J, Ramos-Casals M, Cervera R, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibody in primary Sjögren's syndrome: prevalence and clinical significance. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 1287-91.
31. Locht H, Skogh T, Kihlström E. Anti-lactoferrin antibodies and other types of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in reactive arthritis and ankylosing spondylitis. *Clin Exp Immunol* 1999; 117: 568-73.
32. Lamprecht P, Schmitt WH, Gross WL. Mixed cryoglobulinemia, glomerulonephritis and ANCA: essential cryoglobulinemic vasculitis or ANCA-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 213-21.
33. Jennette JC, Wilkman AS, Falk RJ. Diagnostic predictive value of ANCA serology. *Kidney Int* 1998; 53: 796-8.
34. Rao JK, Weinberger M, Oddone EZ, et al. The role of antineutrophil cytoplasmic antibody (c-ANCA) testing in the diagnosis of Wegener granulomatosis. A literature review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 1995; 123: 925-32.
35. Zhao MH, Lockwood CM. Azurocidin is a novel antigen for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1996; 103: 397-402.
36. Tunc R, Ozbakir F, Caglayan A, et al. Absence of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in Behcet's syndrome with large vessel involvement. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 215.
37. Spronk PE, Bootsma H, Horst G, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 625-31.
38. Savage CO, Tizard J, Jayne D, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in Kawasaki disease. *Arch Dis Child* 1989; 64: 360-3.
39. Kemmett D, Harrison DJ, Hunter JA. Antibodies to neutrophil cytoplasmic antigens: serologic marker for Sweet's syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1991; 24: 967-9.
40. Ikeda M, Okazaki H, Minota S. Cogan's syndrome with antineutrophil cytoplasmic autoantibody. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 761-2.
41. Seibold F, Weber P, Schoning A. Antineutrophil antibodies (p-ANCA) in chronic liver disease and inflammatory bowel disease: do they react with different antigens? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 1095-100.
42. Locht H, Skogh T, Wiik A. Characterisation of autoantibodies to neutrophil granule constituents among patients with reactive arthritis, rheumatoid arthritis, and ulcerative colitis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 898-903.
43. Bansal DS, Chapman RW, Fleming KA. Prevalence and diagnostic role of antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 881-5.
44. Flores-Suarez LF, Cabiedes J, Villa AR, et al. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with tuberculosis. *Rheumatology* 2003; 42: 223-9.
45. Hoffman GS, Specks U. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1521-37.
46. Karpinski J, Jothy S, Radoux V, et al. D-penicillamine-induced crescentic glomerulonephritis and antimyeloperoxidase antibodies in a patient with scleroderma. Case report and review of the literature. *Am J Nephrol* 1997; 17: 528-32.
47. Merkel PA. Drug associated with vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 1998; 10: 45-50.
48. Wichmann I, Sanchez-Roman J, Morales J, et al. Antimyeloperoxidase antibodies in individuals with occupational exposure to silica. *Ann Rheum Dis* 1996; 55: 205-7.
49. Mahadeva R, Dunn AC, Westerbeek RC. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) against bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) and cystic fibrosis lung disease. *Clin Exp Immunol* 1999; 117: 561-7.
50. Nakashima I, Fujihara K, Endo M, et al. Clinical and laboratory features of myelitis patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. *J Neurol Sci* 1998; 157: 60-6.
51. Halacheva KS, Manolova IM, Petkov DP, et al. Study of antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with

- thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). *Scand J Immunol* 1998; 48: 544-50.
52. van Haelst PL, Asselbergs FW, Van Doormaal JJ, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with premature atherosclerosis: prevalence and association with risk factors. *J Intern Med* 2002; 251: 29-34.
 53. Jolles S, Deacock S, Turnbull W, et al. Atypical C-ANCA following high dose intravenous immunoglobulin. *J Clin Pathol* 1999; 52: 177-80.
 54. Preston GA, Yang JJ, Xiao H, et al. Understanding the pathogenesis of ANCA: where are we today? *Cleve. Clin J Med* 2002; 69 (suppl. 2): S1151-54.
 55. Kallenberg CG, Brouwer E, Weening JJ, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies: current diagnostic and pathophysiological potential. *Kidney Int* 1994; 46: 1-15.
 56. Puszczewicz M, Zimmermann-Górska I, Białkowska-Puszczewicz G. Wpływ surowic zawierających przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (ANCA) na czynność granulocytów in vitro. *Alerg Astm Immunol* 1999; 4: 259-66.
 57. Puszczewicz M, Zimmermann-Górska I, Białkowska-Puszczewicz G. Wpływ surowic zawierających przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (ANCA) na metabolizm tlenowy granulocytów in vitro. *Reumatologia* 1999; 37: 133-44.
 58. Yang JJ, Tuttle RH, Hogan SL, et al. Target antigens for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) are on the surface of primed and apoptotic but not unstimulated neutrophils. *Clin Exp Immunol* 2000; 121: 165-72.
 59. Bell AL, Magill MK, Mc Kane R, et al. Human blood and synovial fluid neutrophils cultured in vitro undergo programmed cell death which is promoted by the addition of synovial fluid. *Ann Rheum Dis* 1995; 54: 910-5.
 60. Preston G, Falk RJ. ANCA signaling: Not just a matter of respiratory burst. *Kidney Int* 2001; 59: 1981-2.
 61. Kocher M, Edberg JC, Fleit HB, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies preferentially engage Fc gammaRIIIb on human neutrophils. *J Immunol* 1998; 161: 6909-14.
 62. Porges AJ, Redecha PB, Kimberly WT, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies engage and activate human neutrophil via Fc gamma RII a. *J Immunol* 1994; 153: 1271-80.
 63. Tervaert JW. Proteinase 3: A cofactor for the binding of antineutrophil cytoplasm antibodies (ANCA) to endothelial cells? *Kidney Int* 2000; 57: 2171-2.
 64. Yang JJ, Kettritz R, Falk RJ, et al. Apoptosis of endothelial cells induced by the neutrophil serine proteases, proteinase 3 and elastase. *Am J Pathol* 1996; 149: 1617-26.
 65. Ralston DR, Marsh CB, Lowe MP, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies induce monocyte IL-8 release. Role of surface proteinase-3, alpha1-antitrypsin, and Fc gamma receptor. *J Clin Invest* 1997; 100: 1416-24.