

Receptory $Fc\gamma$: potencjalne biomarkery w diagnostyce reumatoidalnego zapalenia stawów i toczenia rumieniowatego układowego?

$Fc\gamma$ receptors: potential biomarkers for diagnosis of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus

STRESZCZENIE

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) i toczeń rumieniowaty układowy (TRU) są autoimmunizacyjnymi chorobami, których patomechanizm nie został do końca poznany. W etiopatogenezie zarówno RZS, jak i TRU podkreśla się rolę polimorfizmu oraz zaburzonej liczby kopii genów (*FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C* i *FCGR3A*, *FCGR3B*), kodujących receptory dla fragmentu Fc immunoglobuliny G ($Fc\gamma R$). Receptory $Fc\gamma RII$ i $Fc\gamma RIII$, obecne na komórkach układu immunologicznego, wpływają na fagocytozę, przede wszystkim kompleksów immunologicznych, apoptozę, reakcję cytotosycywności z udziałem przeciwciał, ekspresję cytokin prozapalnych czy produkcję rodników hydroksylowych u chorych na RZS i TRU. Ze względu na znaczny udział wymienionych receptorów w odpowiedzi immunologicznej tych chorób, rozważa się je jako potencjalne biomarkery RZS i TRU. Mogą być one pomocne także w ocenie przebiegu choroby, odpowiedzi organizmu na zastosowane leczenie oraz w diagnozowaniu współistniejących infekcji. Obecnie nie ma wysoce swoistych i specyficznych biomarkerów RZS i TRU w diagnostyce, leczeniu i rokowaniu tych schorzeń. Dlatego też badanie liczby i ekspresji receptorów $Fc\gamma$ na powierzchni komórek krwi obwodowej oraz analiza obecności poszczególnych alleli genów, kodujących te receptory, mogą stać się biomarkerem wykorzystywanym rutynowo w praktyce lekarskiej.

Forum Medycyny Rodzinnej 2011, tom 5, nr 1, 57–68

słowa kluczowe: receptory $Fc\gamma R$, reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń rumieniowaty układowy, diagnostyka

Anna Dubaniewicz¹,
Marlena Śmigiełska¹,
Szymon Nowakowski¹,
Żaneta Smoleńska²,
Peter Deeg¹,
Jan M. Słomiński¹,
Janusz Siebert³

¹Klinika Pneumonologii,
Katedra Pneumonologii i Alergologii
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
²Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych,
Chorób Tkanki Łącznej i Geriatrii
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
³Zakład Medycyny Rodzinnej,
Katedra Medycyny Rodzinnej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Adres do korespondencji:

dr hab. n. med. Anna Dubaniewicz
Klinika Pneumonologii, Katedra Pneumonologii
i Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu
Medycznego
ul. Dębinki 7, 80–211 Gdańsk
tel.: (58) 349 15 13; faks: (58) 341 16 77
e-mail: aduban@gumed.edu.pl



Receptory FcγRII i FcγRIII wpływają na fagocytozę kompleksów immunologicznych, apoptozę, ADCC, ekspresję cytokin prozapalnych oraz wytwarzanie rodników hydroksylowych

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) and systemic lupus erythematosus (SLE) are autoimmune disorders whose pathomechanisms are not completely understood. Recently, in the etiopathogenesis of both RA and SLE an important role of a polymorphism and a copy number variation of genes (*FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C* and *FCGR3A*, *FCGR3B*), coding for the receptors of Fc fragment of immunoglobulin G (FcγR), is now emphasised. FcγRII and FcγRIII receptors, present on the surface of the cells of the immune system, have a great influence on the phagocytosis, especially of immune complexes, apoptosis, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, expression of proinflammatory cytokines and the production of hydroxyl-radicals in RA and SLE. FcγR are also analysed for determining the disease activity or progression, a response of patients to the treatment and also while diagnosing for co-existing infections. Currently there is a lack of specific and sensitive biomarkers for the diagnosis, treatment and prognosis of RA and SLE. Therefore the analysis of a number and expression of Fcγ receptors on the surface of peripheral blood cells and determining of a presence of certain FcγR genes' alleles and their copy number could become RA and SLE biomarkers, that would be routinely used in a daily medical practice.

Forum Medycyny Rodzinnej 2011, vol. 5, no 1, 57–68

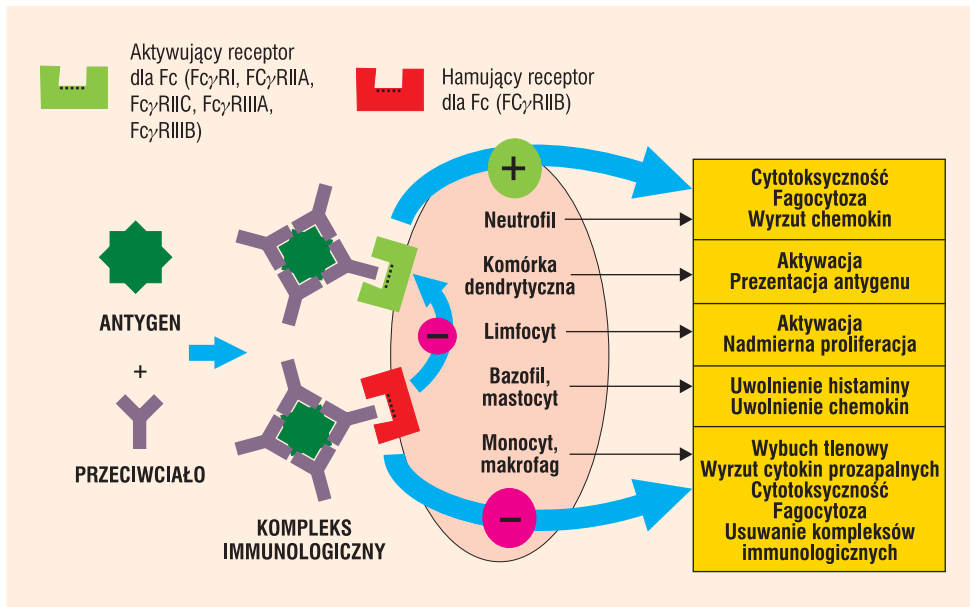
key words: receptor FcγR, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, diagnostics

RECEPTORY FcγR I ICH FUNKCJA W ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ

FcγR znajdują się na powierzchni wielu rodzajów komórek krwi, między innymi na neutrofilach, monocytach, makrofagach, komórkach dendrytycznych i niektórych limfocytach [1]. Na podstawie różnic w strukturze i powinowactwie do poszczególnych podklas immunoglobuliny G rozróżnia się 3 podstawowe klasy receptorów FcγR: FcγRI (CD64), FcγRIIA, B i C (CD32) i FcγRIIIA i B (CD16). Receptory FcγRI mają wysokie powinowactwo do IgG, jednak to klasy II i III receptorów są odpowiedzialne za wiązanie IgG z antygenem w kompleksach immunologicznych (KI) i ich usuwanie z krwioobiegu [1, 2]. Receptory te, wpływając na aktywność wymienionych komórek, regulują odpowiedź immunologiczną organizmu. Są one kluczowe dla prezentacji (auto)antygeny, dla fagocytozy, reakcji cytotoksycznej z udziałem przeciwciał (ADCC), regulacji ekspresji cytokin i wytwarzania rodników hy-

droksylowych (ryc. 1) [1–4]. Większość receptorów Fcγ to receptory aktywujące szlaki sygnalizacyjne, prowadzące do pobudzenia komórki w odpowiedzi na związanie KI (FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIC, FcγRIIIA, FcγRIIIB) (ryc. 2) [4]. Jedynie receptor FcγRIIB pełni funkcję hamującą w stosunku do reszty receptorów Fcγ i zapobiega nadmiernemu pobudzeniu komórek układu odpornościowego [1, 4]. Zaburzona liczba lub funkcja tego receptora może prowadzić do rozwoju chorób o podłożu autoimmunizacyjnym [5]. To właśnie w receptorze FcγRIIB pokłada się nadzieje w leczeniu tych chorób [4–7]. Również polimorfizm lub zaburzona liczba kopii genów receptorów Fcγ aktywujących (FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIC, FcγRIIIA, FcγRIIIB) może wpływać na wiązanie przez nie poszczególnych podklas immunoglobuliny G [1, 2].

Receptory dla fragmentu Fc immunoglobuliny G (FcγR) łączą odpowiedź humoralną z odpowiedzią komórkową [3].



Rycina 1. Fizjologiczna funkcja receptorów dla fragmentu Fc immunoglobuliny G (Fc γ R). Kompleksy immunologiczne, które powstały z połączenia przeciwciał IgG z antygenami, są rozpoznawane przez receptory dla fragmentu Fc immunoglobuliny G (Fc γ R). Receptory Fc γ aktywujące (Fc γ RIIA, Fc γ RIIC, Fc γ RIIAA i Fc γ RIIIB) aktywują komórkę układu immunologicznego, na której powierzchni się znajdują, tzn. pobudzają ją m.in. do fagocytozy i produkcji cytokin. Receptor Fc γ RIIB zapobiega nadmiernej aktywacji w/w komórek

REUMATOIDALNE ZAPALENIE STAWÓW

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) to przewlekły, postępujący proces zapalny rozpoczynający się w błonie maziowej stawów, prowadzący do niszczenia tkanek stawowych, zniekształceń i upośledzenia czynności stawów. W przebiegu tej choroby może dojść także do zajęcia narządów wewnętrznych. Częstość występowania RZS na świecie waha się od 0,5 do 2% i zależy od rasy oraz grupy etnicznej. Najczęściej choroba występuje wśród niektórych plemion Indian Ameryki Północnej (6%), podczas gdy najniższą zachorowalność odnotowano w Chinach i Japonii (0,3%) [8]. Rocznie u 1 na 100 osób rasy kaukaskiej rozpoznaje się RZS. W Polsce stwierdzono, że na RZS cierpi około 400 tys. osób. Kobiety chorują 3–4 razy częściej niż mężczyźni, a szczyt zachorowań stwierdza się po 40. rż. U 1/3 chorych wskutek nieodwracalnych zmian w układzie ruchu dochodzi do rozwoju niepełnosprawności i do inwalidztwa [9]. Reumatoidalne zapalenie stawów może również przyczynić

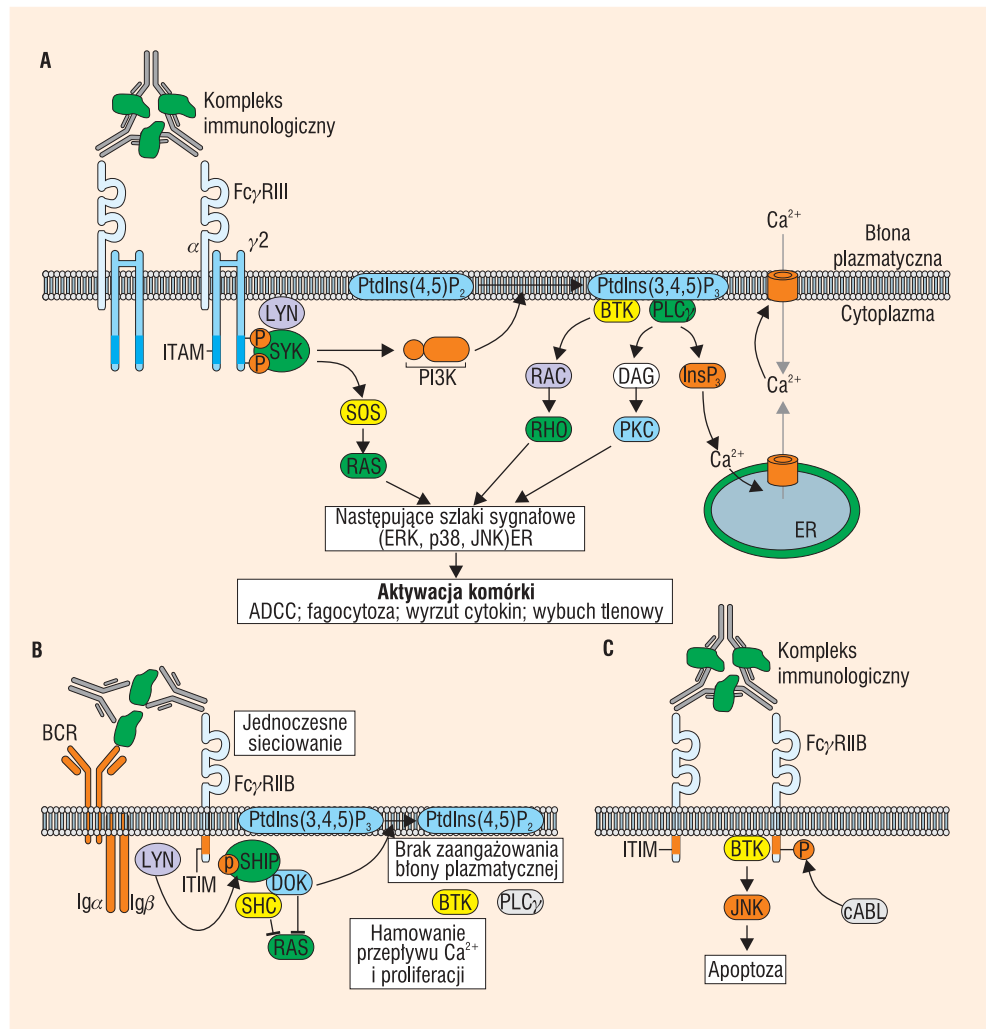
się do przedwczesnego zgonu z powodu chorób sercowo-naczyniowych i nowotworów [10]. W badaniach [11, 12] wykazano, że schorzenie to 2-krotnie zwiększa ryzyko zawału serca, 1,7-krotnie ryzyko udaru mózgu i 2-krotnie ryzyko chorób limfoproliferacyjnych.

TOCZEŃ RUMIENIOWATY UKŁADOWY

Toczeń rumieniowaty układowy (TRU) jest przewlekłą chorobą należąca również do układowych chorób tkanki łącznej. Choroba ta występuje najczęściej w 3. i 4. dekadzie życia, zwłaszcza u dorosłych kobiet, które chorują około 10 razy częściej niż mężczyźni [13]. Na świecie najwięcej przypadków TRU odnotowuje się wśród Azjatów i Afroamerykanów, podczas gdy jego występowanie w populacji rasy kaukaskiej wynosi około 15–50/100 000. Choć dzięki zastosowaniu leczenia immunosupresyjnego przeżywalność chorych na TRU znacznie wzrosła, schorzenie nadal powoduje około 15-procentową śmiertelność w ciągu 10 lat od zachorowania.



Fc γ R łączy odpowiedź humoralną z odpowiedzią komórkową



Rycina 2. Kaskada sygnałów wywołana przez związanie kompleksu immunologicznego przez receptory $Fc\gamma$ aktywujące i receptor hamujący [wg 4; za zgodą Macmillan Publishers Ltd: Nat. Rev. Immunol. 2008; 8: 34–47]

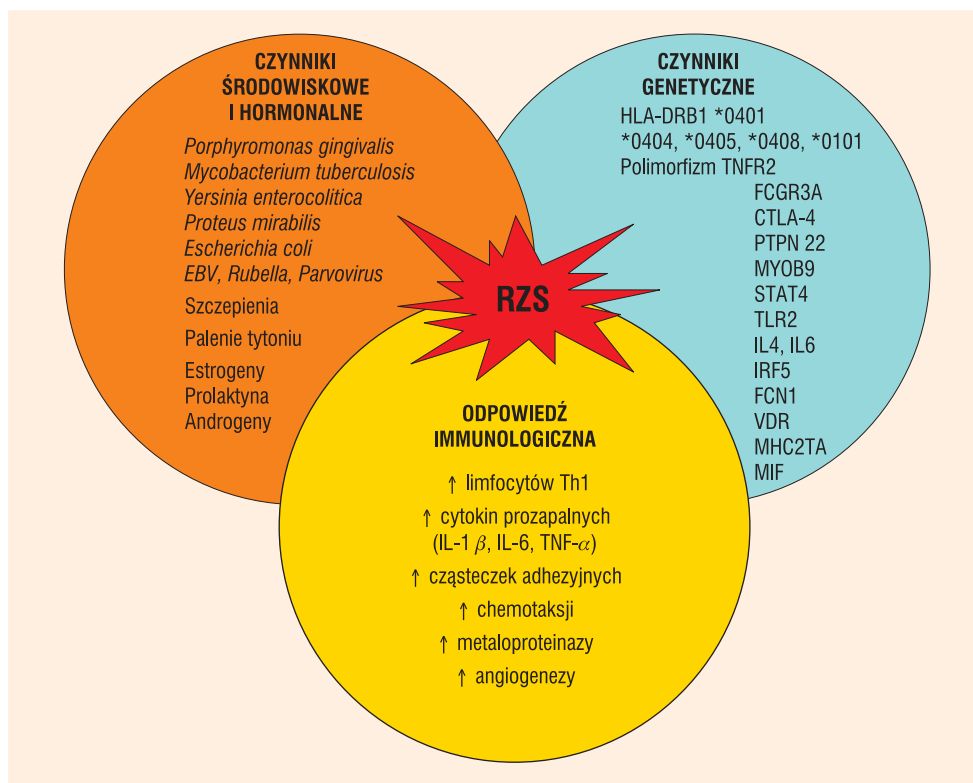
A. Sieciowanie receptorów $Fc\gamma$ aktywujących przez kompleksy immunologiczne wywołuje fosforylację łańcuchów γ receptorów przez kinazy należące do rodziny SRC. Powoduje to powstanie miejsc SH2 (SRC homology 2) przyłączania się kinazy SYK, która z kolei aktywuje wiele innych białek przekazujących sygnały w komórce, takie jak kinaza-3 fosfatydyloinozytolu (PI3K) i homolog przekaźnika SOS (*son of sevenless*). Utworzenie trifosforanu-3,4,5-fosfatydyloinozytolu ($PtdIns(3,4,5)P_3$) rekrutuje kinazę tyrozynową Brutona (BTK) i fosfolipazę C_γ (PLC_γ), co skutkuje aktywacją następných kinaz i uwolnieniem kationów wapniowych z retikulum endoplazmatycznego (ER).

B. Jednoczesne sieciowanie receptorów aktywujących, takich jak receptory limfocytów B (BCR) i receptora hamującego $Fc\gamma$ RIIB, prowadzi do fosforylacji motywu ITIM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*), znajdującego się w cytoplazmatycznym końcu białka receptorowego $Fc\gamma$ RIIB, przez kinazę LYN. Skutkuje to rekrutacją fosfatazy SHIP (*SRC-homology-2-domain containing inositol-5-phosphatase*) i hydrolizą $PtdIns(3,4,5)P_3$ do difosforanu-4,5-fosfatydyloinozytolu ($PtdIns(4,5)P_2$), co hamuje rekrutację białek, posiadających domenę PH (*pleckstrin homology*), takich jak BTK czy PLC_γ .

C. Związanie się kompleksu immunologicznego wyłącznie do receptora $Fc\gamma$ RIIB, bez jednoczesnego sieciowania z receptorem limfocyta B, prowadzi do apoptozy tego limfocyta poprzez drogi sygnałowania niezależne od ITIM ani SHIP, które angażują rodzinę kinaz cABL, BTK i N-terminalną kinazę białka c-JUN (JNK); DAG — diacyloglicerol; DOK — białko dokujące; $InsP_3$, trifosforan-1,4,5-inozytolu; ITAM — *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*; PKC — kinaza białkowa C; RHO — homolog białka RAS; SHC — *SH2-domain-containing transforming protein C*

Główne przyczyny wczesnej śmiertelności chorych na TRU to niekontrolowana aktywność choroby podstawowej oraz powikłania infekcyjne, natomiast późne powikłania

choroby mają najczęściej podłoże sercowo-naczyniowe. Dotychczas brakuje aktualnych danych analizy epidemiologicznej TRU w Polsce.



Rycina 3. Etiologia reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS)

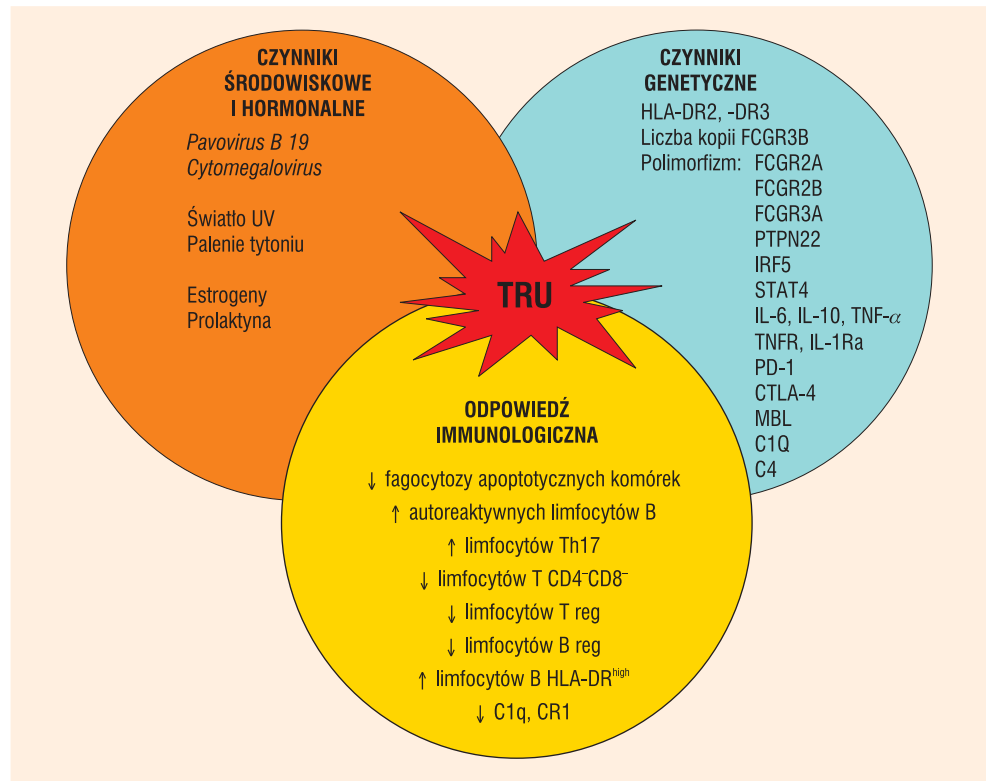
ETIOPATOGENEZA REUMATOIDALNEGO ZAPALENIA STAWÓW I TOCZNIA RUMIENIOWATEGO UKŁADOWEGO

Reumatoidalne zapalenie stawów i toczeń rumieniowaty układowy są chorobami, których patogeniza nie jest do końca poznana [10, 14]. Wydaje się, że u ludzi predysponowanych genetycznie nieznaną czynnik środowiskowy lub hormonalny może wywołać odpowiedź autoimmunizacyjną (ryc. 3 i 4) [7].

W RZS dochodzi do rozwoju autoimmunizacji w odpowiedzi na nieznaną (auto)antygen, prezentowany w kontekście antygenów zgodności tkankowej (HLA, *human leukocyte antigens*) i cząsteczek kostymulatorowych limfocytom CD4⁺T (ryc. 3). W tym procesie uczestniczą zarówno receptory, jak i efektorowe subpopulacje limfocytów T (Th1, Th17, Treg) oraz komórki prezentujące antygen APC (limfocyty B oraz komórki dendrytyczne, monocyty, makrofagi). Pod wpływem wydzielanych przez wymienione komórki cytokin (IL-1, IL-6, IL-17, TNF- α)

oraz chemokin: (IL-8, RANTES i MCPs) dochodzi do aktywacji i napływu komórek immunologicznych, między innymi limfocytów CD4⁺T, monocytów, makrofagów, neutrofilów, jak i fibroblastów maziówkowych i synowocytów, które tworzą w zajętej chorobowo stawie charakterystyczną dla RZS tak zwaną łuszczkę [10]. Dochodzi również do migracji i aktywacji limfocytów B, które różniąc się do komórek plazmatycznych, wytwarzają (auto)przeciwciała, między innymi przeciwko IgG, IgA oraz IgM, czyli klasyczny czynnik reumatoidalny (RF) i przeciwciała przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi (anty-CCP). Przeciwciała te mogą tworzyć kompleksy immunologiczne, których podwyższona zawartość we krwi obwodowej chorych na RZS może świadczyć o przewlekłej (auto)antygenemii i/lub o zaburzonej ich eliminacji przez receptor Fc γ RIIIa. Tworzenie się KI, aktywujących kaskadę składników układu dopełniacza, nasila procesy zapalne i w konsekwencji

” Czynnik środowiskowy i/lub hormonalny u osób predysponowanych genetycznie indukuje odpowiedź autoimmunizacyjną w RZS i TRU



Rycina 4. Etiologia tocznia rumieniowatego układowego (TRU)

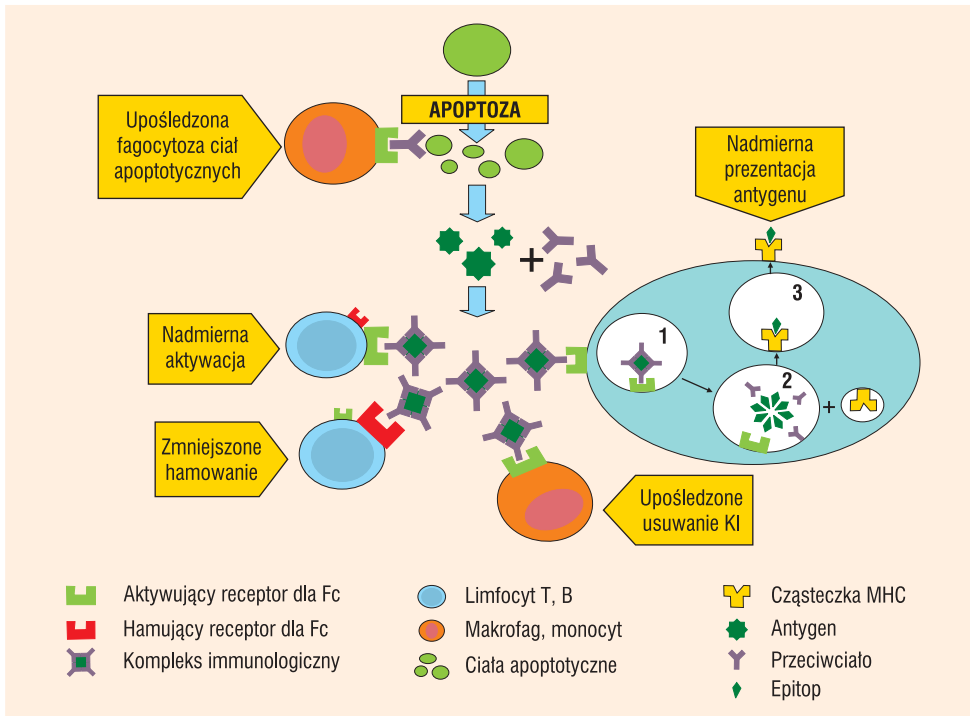
”
W TRU polimorfizm i zaburzenie liczby kopii genów *FCGR* jest przyczyną nieprawidłowej funkcji kodowanych przez nie receptorów

prowadzi do niszczenia tkanek budujących staw objęty procesem chorobowym [10, 15].

Warta uwagi jest także koncepcja tłumacząca rozwój RZS zmianami w układzie odpornościowym zbliżonymi do tych, które zachodzą u starszych zdrowych osób. Dowodem na to są występujące zarówno u chorych na RZS, jak i u osób starszych oligoklonalność populacji limfocytów pomocniczych oraz względne zwiększenie odsetka limfocytów CD4⁺CD28⁻, uważanych za autoreaktywne komórki cytotoksyczne [10].

W etiopatogenezie TRU rozważa się różnorodne czynniki genetyczne, środowiskowe i hormonalne (ryc. 4) [16, 17]. Istnieje wiele dowodów na to, że główną przyczynę choroby stanowi zaburzenie ekspresji receptorów dla Fc fragmentu immunoglobuliny G (Fc γ R) oraz składowych dopełniacza (CR), które są obecne na powierzchni komórek prezentujących antygen (APC) oraz CR1 na erytrocytach. Receptory te biorą udział także w eliminacji komórek

apoptotycznych oraz krążących we krwi kompleksów immunologicznych. Liczne badania immunogenetyczne ujawniają nieprawidłową funkcję receptorów Fc γ RIIA, ale szczególnie Fc γ RIIB i Fc γ RIIA u chorych na TRU [1, 2, 18]. Również polimorfizm genów FCGR2A i FCGR3A oraz zaburzona liczba kopii genu FCGR3B wpływa na zaburzenie fagocytozy i usuwania KI za pośrednictwem receptorów Fc γ R [1]. Następstwem nieprawidłowej funkcji receptorów Fc γ R i CR jest nadmierna obecność komórek apoptotycznych, które będąc źródłem autoantygenów (autoAg), przyczyniają się do przewlekłej autoantygenemii. Doprowadza to do następowej ciągłej prezentacji autoAg, w kontekście swoistych antygenów HLA, limfocytom Th2 z nadmierną proliferacją limfocytów B oraz aktywacją komórek plazmatycznych, które wytwarzają autoprzeciwciała — immunoglobuliny (ryc. 5). Przeciwciała te, wiążąc się z autoAg, tworzą kompleksy immunologiczne (KI), krążące we



Rycina 5. Rola receptorów Fc_γ w patogenezie toczenia rumieniowatego układuowego (TRU). Zaburzona liczba i/lub ekspresja Fc_γR może powodować rozwój TRU, będąc przyczyną zmniejszonej fagocytozy ciał apoptotycznych. Obecne w nich (auto)antygeny tworzą z przeciwciałami kompleksy immunologiczne, które przy dysfunkcji Fc_γR nie są efektywnie usuwane. Powoduje to nadmierną prezentację antygenów i aktywację komórek układu immunologicznego

krwi obwodowej (immunokompleksmia). Kompleksy immunologiczne, odkładając się w naczyniach krwionośnych, zapoczątkowują proces zapalny, który prowadzi do niszczenia początkowo ściany tych naczyń, by — w przypadku dalszego zaburzenia w eliminacji KI — doprowadzić do uszkodzenia narządów zaopatrywanych przez te naczynia [17].

Ponieważ patogeneza opisanych powyżej jednostek chorobowych nie została do końca poznana, a udział procesu autoimmunizacyjnego warunkuje złożoność ich przebiegu, rozpoznanie zarówno RZS, jak i TRU jest często problematyczne.

DIAGNOSTYKA ORAZ OBRAZ KLINICZNY REUMATOIDALNEGO ZAPALENIA STAWÓW I TOCZNI RUMIENIOWATEGO UKŁADOWEGO

Reumatoidalne zapalenie stawów diagnozuje się na podstawie kryteriów *American College of Rheumatology* (ACR) i *European League Against Rheumatism* (EULAR) z 2010

roku (tab. 1) [19]. Pewne rozpoznanie RZS, zgodnie z tą klasyfikacją, możliwe jest w przypadku uzyskania co najmniej 6 z 10 możliwych punktów [19]. Schorzenie to wpływa na ograniczenie ruchomości stawów objętych procesem chorobowym. U około 30% pacjentów w jego przebiegu występują objawy pozastawowe, głównie z układu oddechowego (np. zapalenie opłucnej, śródmiąższowe zwłóknienie płuc), układu krążenia (np. zapalenie osierdzia) oraz zmiany na skórze w postaci charakterystycznych guzków reumatoidalnych. U chorych na RZS można także zaobserwować między innymi suche zapalenie spojówek, nasiloną osteoporozę oraz zespół nerczycowy. Ponadto u większości pacjentów występują uogólnione objawy procesu zapalnego, takie jak: gorączka, osłabienie, spadek masy ciała oraz podwyższenie wartości OB, wzrost stężenia białka C-reaktywnego (CRP), fibrynogenu, α1- i α2-globuliny w osoczu. Podwyższone

**”
W diagnostyce i monitorowaniu przebiegu RZS oraz TRU brak jest czułych i specyficznych testów**

Tabela 1

Kryteria klasyfikacyjne reumatoidalnego zapalenia stawów (wg ACR/EULAR, 2010 r.) [19]

Ocenie można poddać pacjentów:

- którzy mają co najmniej jeden staw z pewnym klinicznie zapaleniem błony maziowej (obrzękiem)
- u których przyczyna zapalenia błony maziowej nie jest lepiej wytłumaczona przez inną chorobę

Kryteria klasyfikacyjne RZS: należy dodać punkty z kategorii A–D. Wartość $\geq 6/10$ pozwala zakwalifikować chorego jako mającego RZS

A. ZAJĘCIE STAWÓW

1 duży staw *	0
2–10 dużych stawów*	1
1–3 małych stawów ** (z zajęciem lub bez zajęcia dużych stawów)	2
4–10 małych stawów** (z zajęciem lub bez zajęcia dużych stawów)	3
> 10 stawów (co najmniej jeden mały staw)***	5

B. TESTY SEROLOGICZNE

RF i anty-CCP nieobecne	0
Niskie stężenie RF lub anty-CCP	2
Wysokie stężenie RF lub anty-CCP	3

C. WSKAŹNIKI OSTREJ FAZY

Prawidłowe wartości CRP i OB	0
Nieprawidłowe wartości CRP lub OB	1

D. CZAS TRWANIA OBJAWÓW

< 6 tygodni	0
≥ 6 tygodni	1

*stawy duże: stawy biodrowe, kolanowe, skokowe, barkowe, łokciowe; ** stawy małe: stawy nadgarstkowe, śródrečno-paliczkowe, z wyłączeniem stawu śródrečno-paliczkowego kciuka, międzypaliczkowe bliższe, staw międzypaliczkowy kciuka, stawy śródstopno-paliczkowe od drugiego do piątego; *** przy określaniu dużej liczby stawów można również uwzględnić: stawy skroniowo-żuchwowe, mostkowo-obojęzyczne i obojęzkowo-barkowe; CRP (*C-reactive protein*) — białko C-reaktywne; RF (*rheumatoid factor*) — czynnik reumatoidalny

stężenie cytokin prozapalnych: IL-1, 6, 15, 18 oraz czynnika martwicy nowotworu α (TNF, *tumor necrosis factor* α) wykazano zarówno w stawach, jak i surowicy chorych na RZS. Stwierdza się również zaburzenia hematologiczne, takie jak niedokrwistość i nadpłytkowość czy niewielka leukocytoza [10].

Diagnostyka TRU opiera się na kryteriach ACR (z 1982 r. z modyfikacją w 1997 r.) (tab. 2). Aby rozpoznać TRU, konieczne jest spełnienie przynajmniej 4 z 11 kryteriów [20]. Wymienione objawy nie muszą występować jednocześnie, a sumować się na przestrzeni lat [14]. Obraz kliniczny TRU zależy od zajęcia poszczególnych narządów przez proces chorobowy. U 70% pacjentów występują zmiany skórne, zwłaszcza rumień na twarzy

w kształcie motyla (w 50% przypadków) lub rumień obrączkowy (w 20% przypadków). Większość pacjentów zgłasza także dolegliwości stawowe. Ponadto w TRU spotyka się zmiany w układzie krążenia, układzie oddechowym i ośrodkowym oraz obwodowym układzie nerwowym lub w nerkach. Występujące osłabienie, zmniejszenie masy ciała, gorączka oraz podwyższona wartość OB są przejawami systemowej reakcji zapalnej w TRU [20].

Jednym z markerów diagnostycznych TRU jest obecność przeciwciał przeciw składnikowi układu dopełniacza C1q (anty-C1q) oraz przeciwciał anty-dsDNA, anty-ANA-Hep-2a w tkankach chorych. Natomiast biomarkerem aktywności choroby jest

Tabela 2

Kryteria klasyfikacyjne toczenia rumieniowatego układuowego (wg ACR, 1982 r. z modyfikacją w 1997 r.) [14, 20]

Lp.	Kryteria ACR	Definicja
1.	Rumień na twarzy	Stały rumień płaski lub lekko uniesiony, umiejscowiony na policzkach, nieprzekraczający bruzd nosowo-wargowych
2.	Rumień krążkowy	Zmiany rumieniowate lekko uniesione, z przylegającym rogowaceniem, łuszczeniem i zaczopowaniem mieszków; może pozostawiać blizny
3.	Nadwrażliwość na światło	Wysypka jako skutek ekspozycji na światło słoneczne
4.	Owrodzenia jamy ustnej	Zwykle niebolesne owrodzenia jamy ustnej lub przetyku
5.	Zapalenie stawów	Zapalenie co najmniej 2 stawów — stwierdzenie opuchlizny, wrażliwości na dotyk lub wysięku; bez nadżerek w radiogramie
6.	Zapalenie błon surowicznych	Zapalenie opłucnej lub osierdzia
7.	Zmiany w nerkach	Białkomocz powyżej 0,5 g/dobę lub, w przypadku gdy badania ilościowe nie są wykonywane, stwierdzona 3 razy obecność białka w moczu w badaniu ogólnym; obecność walczków komórkowych
8.	Zaburzenia neurologiczne	Napady drgawkowe lub zaburzenia psychiatryczne (po wykluczeniu reakcji po zażyciu leku lub narkotyku, zatrucia i zaburzeń metabolicznych)
9.	Zaburzenia hematologiczne	Anemia hemolityczna z retikulocytozą; dwukrotnie stwierdzona leukopenia < 4000/μl lub limfopenia < 1500/μl; bądź trombocytopenia < 100 000/μl po wykluczeniu reakcji polekowych
10.	Zaburzenia immunologiczne	Obecność podwyższonego miana przeciwciał przeciw dwuniciowemu DNA (anty-dsDNA) (u 60% pacjentów z TRU); obecność przeciwciał antyfosfolipidowych, tzn. stwierdzenie (i) przeciwciał antykardiolipidowych w klasie IgG lub IgM, (ii) antykoagulantu toczniowego lub (iii) fałszywie dodatni wynik testu VDRL utrzymujący się przynajmniej 6 miesięcy, potwierdzony ujemnym testem immobilizacji krętka <i>Treponema pallidum</i> lub FTA-ABS
11.	Przeciwciała przeciwjadrowe	Obecność podwyższonego miana przeciwciał przeciwjadrowych (u 98% pacjentów z TRU)

FTA-ABS (*fluorescent treponemal antibody absorbent test*) — test immunofluorescencji krętków w modyfikacji absorpcyjnej

między innymi stężenie CRP, ferrytyny i fragmentów dopełniacza, np. C3, C3a, C3d, C4, C5a w surowicy [21].

Kryteria te jednak są często trudne w interpretacji. Ponadto **nie ma wystarczająco czułych i specyficznych testów, które mogłyby zostać użyte w diagnostyce i w monitorowaniu przebiegu choroby.** Z tego względu problem stanowi również określenie odpowiedzi organizmu na zastosowaną terapię czy opracowanie nowych leków na TRU lub RZS [21, 22].

CO TO JEST BIOMARKER?

Biomarkerem może być cecha genetyczna, cząsteczkowa, biochemiczna lub biologicz-

na, której zmiany korelują z patomechanizmem lub manifestacją choroby i można je określić jakościowo lub ilościowo. Wyróżnia się biomarkery odzwierciedlające stopień podatności na zachorowanie, służące do diagnostyki, oceny aktywności choroby oraz zajęcia przez nią poszczególnych narządów wewnętrznych [21]. Potocznie biomarkerem jest nazywany test laboratoryjny, za pomocą którego określa się obecność lub poziom badanego parametru. Biomarker musi spełniać kilka kryteriów, by odzwierciedlać zmiany zachodzące w organizmie. Cecha będąca biomarkerem musi mieć znaczenie w biologii i fizjopatologii organizmu. Natomiast test, określający jakościowo lub ilo-



Biomarkerem może być cecha genetyczna, cząsteczkowa, biochemiczna oraz biologiczna, określana jakościowo lub ilościowo, której zmiany korelują z patomechanizmem bądź manifestacją choroby

Tabela 3

Analiza polimorfizmu oraz liczby kopii genów *FCGR* w reumatoidalnym zapaleniu stawów i toczeniu rumieniowatym układowym [1, 2, 21, 26]

Gen	Reumatoidalne zapalenie stawów		Toczeń rumieniowaty układowy	
	Polimorfizm/liczba kopii genu	Marker	Polimorfizm/ /liczba kopii genu	Marker
<i>FCGR2A</i>	Allel R131	Agresywny przebieg choroby	Allel R131	
<i>FCGR2B</i>	–	–	-120A, -343C, -386C, T232	Podatność na zachorowanie
<i>FCGR3A</i>	Allel V158	Podatność na zachorowanie	Allel F158	
<i>FCGR3B</i>	–	–	Allel NA2, < 2 kopii genu	

ściowo tę cechę, musi być prosty i szybki w wykonaniu oraz swoisty i wrażliwy na zmiany badanych parametrów.

Ze względu na złożony obraz kliniczny opisywanych jednostek chorobowych, odnalezienie jednego biomarkera odzwierciedlającego ich wszystkie aspekty nie jest możliwe. Z tego powodu **należy opracować kompleksowy panel markerów w TRU oraz RZS** [21, 22].

FC γ R — POTENCJALNE BIOMARKERY W REUMATOIDALNYM ZAPALENIU STAWÓW I TOCZNIU RUMIENIOWATYM UKŁADOWYM

W RZS stwierdzono zależność pomiędzy obecnością allelu V158 genu *FCGR3A* (gen kodujący receptor Fc γ RIIIa) a podatnością na zachorowanie. Wykazano, że allel V158 genu *FCGR3A* wiąże się ze wzrostem wytwarzania czynnika reumatoidalnego (RFs), pomocnego w diagnostyce RZS (tab. 3) [2]. Należy podkreślić, że jednoczesny pomiar RFs i anty-CCP umożliwia prawidłowe zdiagnozowanie około 76% przypadków RZS, przy czym obecność przeciwciał anty-CCP nie wyklucza zachorowania na inną niż RZS chorobę o podłożu autoimmunizacyjnym, np. TRU [23].

Ponadto stwierdzono związek polimorfizmu genu *FCGR2A*, kodującego receptor Fc γ RIIA, z przebiegiem reumatoidalnego zapalenia stawów. Okazało się bowiem, że u osób posiadających allel R131 rozwija się bardziej agresywna forma RZS niż u osób homozygotycznych pod względem obecności tego allelu (tab. 3) [2, 24].

Pomocny także okazał się pomiar liczby receptorów Fc γ RI, kodowanego przez *FCGR1A*, na powierzchni neutrofilów u pacjentów z RZS. Stwierdzono, że jest on swoistym (92,7%) i specyficznym (96,5%) wyznacznikiem współistniejącej infekcji, zaburzającej obraz przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów. Należy nadmienić, że liczba receptorów Fc γ RI nie ulega zmianie w odpowiedzi na kortykosteroidy czy inne leki przeciwreumatyczne, dlatego wspomniane badanie umożliwia odróżnienie wznowy RZS od toczącej się dodatkowej infekcji bakteryjnej, wirusowej czy zakażenia grzybiczego [25]. Równoległy pomiar liczby receptorów Fc γ RI i CR1 (*complement receptor 1*, inaczej CD35) dla składników układu dopełniacza na neutrofilach zwiększa możliwości diagnostyki różnicowej i pozwala także na rozróżnienie między infekcją bakteryjną, infekcją wirusową a chorobą, np. RZS [26].



Analiza polimorfizmu, liczby kopii genów *FCGR* oraz ilości Fc γ R może być pomocna w ocenie stopnia podatności na RZS i TRU, ich diagnostyce, ocenie aktywności choroby, skuteczności leczenia oraz w różnicowaniu wznów od współistniejących infekcji

W przeciwieństwie do RZS, w TRU przeprowadzono mniej badań nad związkiem polimorfizmu genów *FCGR* z aktywnością i przebiegiem choroby, czy odpowiedzią na zastosowane leczenie (tab. 3). Dotychczasowe doniesienia wskazują tylko na korelację między zwiększoną podatnością na zachorowanie na TRU a polimorfizmem tych genów (*FCGR2A* - allel R131; *FCGR2B* allele -120A, -343C i -386C w rejonie promotorowym oraz allel T232; *FCGR3A* - allel F158; *FCGR3B* - allel NA2) i stwierdzeniem niskiej liczby kopii genu *FCGR3B* (< 2 kopie) (tab. 3) [1, 2, 20, 21, 24].

Wynikiem wymienionych polimorfizmów jest zaburzenie funkcji kodowanych przez te geny receptorów, a w konsekwencji indukcja opisanej odpowiedzi autoimmunizacyjnej.

W świetle powyższych faktów polimorfizm i liczba kopii genów warunkujących czynność receptorów Fc γ nie tylko odgrywają dużą rolę w ocenie podatności na RZS i TRU, ale także mogą być pomocne zarówno w diagnostyce, jak i w ocenie aktywności przebiegu tych chorób [1, 2, 21, 26].

Wyżej opisane zmiany w genomie pacjenta można monitorować przy użyciu technik biologii molekularnej, takich jak łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*), zwłaszcza PCR z użyciem starterów specyficznych dla poszczególnych alleli genów (SSP-PCR, *sequence specific primer-PCR*) oraz PCR w czasie rzeczywistym (*Real Time-PCR*) w przypadku ustalenia liczby kopii określonego genu [1].

Natomiast funkcje receptorów Fc γ R, kodowanych przez te geny, przeprowadza się przy użyciu cytometrii przepływowej. Wymienione metody szeroko stosuje się w laboratoriach w różnych celach diagnostycznych, w związku z czym ich wykorzystanie może być przeprowadzane bez ponoszenia kosztów zakupu dodatkowej aparatury badawczej i w przyszłości służyć jako część panelu diagnostycznego markerów w RZS oraz TRU.

PODSUMOWANIE

Ze względu na niejasną etiologię zarówno RZS, jak i TRU, istnieje potrzeba znalezienia biomarkerów odzwierciedlających toczące się w organizmie procesy autoimmunizacyjne. **Jest wysoce prawdopodobne, że polimorfizm i zaburzenia w liczbie kopii genów *FCGR* oraz analiza liczby i ekspresji receptorów Fc γ , kodowanych przez te geny, mogą pomóc w określeniu stopnia podatności na te choroby, a także w diagnostyce RZS oraz TRU. Ponadto mogą one być wyznacznikiem aktywności choroby oraz odpowiedzi organizmu pacjenta na zastosowane leczenie i okazać się przydatne w odróżnianiu wznowy choroby od współistniejących infekcji** [2, 25, 26]. Regulacja aktywności receptorów Fc γ może się przyczynić do skuteczniejszej walki z tymi chorobami, przez co zapobiegnie postępującemu kalectwu i przedwczesnej śmierci osób z RZS lub TRU [4, 6, 7].

PIŚMIENNICTWO

- Li X., Ptacek T.S., Brown E.E., Edberg J.C. Fc γ receptors: structure, function and role as genetic risk factors in SLE. *Genes Immun.* 2009; 10: 380–389.
- Bournazos S., Woof J.M., Hart S.P., Dransfield I. Functional and clinical consequences of Fc receptor polymorphic and copy number variants. *Clin. Exp. Immunol.* 2009; 157: 244–254.
- Cohen-Solal J.F.G., Cassard L., Fridman W.H., Sautöcs-Fridman C. Fc γ receptors. *Immunol. Lett.* 2004; 92: 199–205.
- Nimmerjahn F., Ravetch J.V. Fc γ receptors as regulators of immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8: 34–47.
- Nakamura A., Kubo T., Takai T. Fc receptor targeting in the treatment of allergy, autoimmune

- diseases and cancer. W: Sigalov A.B. (red.). Multichain immune recognition receptor signaling: from spatiotemporal organization to human disease. Landes Bioscience, Austin 2007; 220–232.
6. Wenink M.H., van den Berg W.B., van Riel P.L., Radstake T.R. Fc gamma receptor mediated modulation of dendritic cells as a potential strategy in the battle against rheumatoid arthritis. *Neth. J. Med.* 2006; 64: 103–108.
 7. Masuda A., Yoshida M., Shiomi H. i wsp. Role of Fc receptors as a therapeutic target. *Inflamm. Allergy Drug Targets* 2009; 8: 1–7.
 8. Silman A.J., Pearson J.E. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2002; 4: 265–272.
 9. Combe B., Cantagrel A., Goupille P. i wsp. Predictive factors of 5-year health assessment questionnaire disability in early rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2003; 30: 2344–2349.
 10. Bryl E., Witkowski J.M. Układ odpornościowy a reumatoidalne zapalenie stawów. *Forum Med. Rodz.* 2008; 2: 196–207.
 11. Tanasescu C., Jurcut C., Jurcut R. i wsp. Vascular disease in rheumatoid arthritis: from subclinical lesions to cardiovascular risk. *Eur. J. Intern. Med.* 2009; 20: 348–354.
 12. Landgren O., Engels E.A., Pfeiffer R.M. Autoimmunity and susceptibility to Hodgkin lymphoma: a population-based case-control study in Scandinavia. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006; 98: 1321–1330.
 13. Jimenez S., Cervera R., Font J., Ingelmo M. The epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2003; 25: 3–12.
 14. Griffiths B., Mosca M., Gordon C. Assessment of patients with systemic lupus erythematosus and the use of lupus disease activity indices. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 2005; 19: 685–708.
 15. Lee D.M., Weinblatt M.E. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2001; 358: 903–911.
 16. Manson J.J., Isenberg D.A. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Neth. J. Med.* 2003; 61: 343–346.
 17. Pazdur J. Współczesny pogląd na patogenezę tocznia rumieniowatego układowego. *Terapia* 2006; 1: 175–185.
 18. Gergely P. Jr, Isaák A., Szekeres Z. i wsp. Altered expression of Fcγ and complement receptors on B cells in systemic lupus erythematosus. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007; 1108: 183–192.
 19. Stanisławska-Biernat E., Sierakowska M., Sierakowski S. Zalecenia postępowania diagnostycznego i terapeutycznego. Nowe kryteria klasyfikacyjne reumatoidalnego zapalenia stawów. *Reumatologia* 2010; 48, 6: 361–365.
 20. Świerkot J., Nowak B., Szechiński J. Toczeń rumieniowaty układowy a infekcja wirusem HIV. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2005; 59: 433–440.
 21. Liu C.C., Ahearn J.M. The search for lupus biomarkers. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 2009; 23: 507–523.
 22. Wu T., Sajitharan D., Mohan C. Biomarkers of rheumatoid arthritis: recent progress. *Expert Opin. Med. Diagn.* 2010; 4: 293–305.
 23. Singh U., Vishwanath A., Verma P.K. i wsp. Is rheumatoid factor still a superior test for the diagnosis of rheumatoid arthritis? *Rheumatol. Int.* 2010; 30: 1115–1119.
 24. Sardjono C.T., Mottram P.L., Hogarth P.M. The role of FcγRIIIa as an inflammatory mediator in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Immunol. Cell Biol.* 2003; 81: 374–381.
 25. Matsui T., Ohsumi K., Ozawa N. CD64 on neutrophils is a sensitive and specific marker for detection of infection in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2006; 33: 2416–2424.
 26. Jalava-Karvinen P., Hohenthal U., Laitinen J. Simultaneous quantitative analysis of FcγRI (CD64) and CR1 (CD35) on neutrophils in distinguishing between bacterial infections, viral infections, and inflammatory diseases. *Clin. Immunol.* 2009; 133: 314–323.