



Autoprzeciwciała przeciwko aneksynom i ich rola jako biomarkerów chorób autoimmunologicznych

Luca Iaccarino, Anna Ghirardello, Mariagrazia Canova, Margherita Zen, Silvano Bettio, Linda Nalotto, Leonardo Punzi, Andrea Doria*

Division of Rheumatology,
Department of Medicine,
University of Padova,
Via Giustiniani 2, 35128
Padova, Włochy

*Autor korespondujący:
Division of Rheumatology,
University of Padova,
Via Giustiniani 2, 35128,
Padova, Włochy;
e-mail: adoria@unipd.it
(A. Doria).

Autoimmunity Reviews
10 (2011) 553–558

Dermatologia po
Dyplomie 2011;2(6):28-37

STRESZCZENIE

Aneksyny to grupa 12 białek o wysoce jednolitej sekwencji, pełniących w komórce wiele regulatorowych funkcji. Uczestniczą w takich procesach komórkowych jak transport pęcherzykowy, przekazywanie sygnałów komórkowych z udziałem jonów wapnia, wzrost, podziały komórkowe i apoptoza. Opisano autoprzeciwciała skierowane przeciwko aneksynom I, II, V i XI, ale ich rola i korelacje kliniczne pozostają kontrowersyjne.

Aneksyna I działa przeciwzapalnie, na drodze supresji produkcji cząsteczek pośredniczących w indukcji stanu zapalnego; przeciwciała przeciwko aneksynie I wykryto u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów oraz układowy i skórny toczeń rumieniowaty.

Aneksyny II i V wykazują silne powinowactwo do fosfolipidów i odgrywają decydującą rolę w regulacji kaskady koagulacyjnej. Przeciwciała przeciwko aneksynie II i V wykrywa się u chorych z zakrzepicą tętnic lub żył, szczególnie u tych z autoimmunologicznymi schorzeniami reumatycznymi (autoimmune rheumatic diseases, ARD), takimi jak SLE, pierwotny zespół antyfosfolipidowy (antiphospholipid syndrome, APS) czy twardzina układowa. Przeciwciała przeciwko aneksynie V wykrywa się także u kobiet po poronieniach.

Aneksyna XI zaangażowana jest w wiele szlaków biologicznych, zwłaszcza apoptozy, oraz w podziały komórkowe. Przeciwciała przeciwko aneksynie XI wykrywa się u chorych na SLE, nieodróżnicowaną chorobę tkanki łącznej, reumatoidalne zapalenie stawów, zespół Sjögrena i APS.

W metaanalizie opublikowanych badań wykazano, że iloraz szans (odds ratio, OR) występowania ARD z obecnością przeciwciał przeciwko aneksynie XI wynosi 5,08 (95% przedział ufności [PU] 2,06-12,58).

SŁOWA KLUCZOWE

aneksyny, przeciwciała przeciwko aneksynom, układowa choroba reumatyczna, zakrzepica, poronienie

Wprowadzenie

Aneksyny to rodzina bardzo jednolitych białek charakteryzujących się zdolnością wiązania fosfolipidów, głównie w sposób zależny od wapnia. Zidentyfikowano 12 aneksyn występujących u człowieka. Aneksyny po raz pierwszy opisano w latach 70. i 80. XX wieku i w zależności od pełnionych przez nie funkcji nadano im odrębne nazwy. W latach 90. nazewnictwo aneksyn zostało uporządkowane, dzięki wykazaniu na podstawie analizy homo-

logii sekwencji, że białka te należą do tej samej rodziny. Wszystkie białka w tej rodzinie mają taką samą strukturę, z C-końcówką domeną rdzenia oraz tzw. głową na końcu N.¹

Rdzeń C-końca zawiera bardzo jednolite i powtarzalne sekwencje, typowe dla aneksyn. We wszystkich aneksynach kręgowców występują po cztery takie powtórzenia, z wyjątkiem aneksyny A6, w której jest ich osiem. Powtórzenia kodują miejsce wiązania wapnia, podobne we wszystkich aneksynach. Sekwencja N-końca jest bardzo zróżnicowana między różnymi aneksynami. Przypuszcza się, że odpowiada za indywidualne cechy każdego z tych białek, związane z ich zaangażowaniem w różne procesy komórkowe.¹

Aneksyny wydają się odgrywać rolę w różnych procesach komórkowych, takich jak transport pęcherzykowy, przekazywanie sygnałów z udziałem jonów wapnia, podziały komórkowe, regulacja wzrostu komórek i apoptoza. Znalaziono dowody na udział aneksyn w niektórych chorobach, takich jak rak, choroby układu krążenia, cukrzyca, choroby zapalne i autoimmunologiczne, w tym autoimmunologiczne choroby reumatyczne (autoimmune rheumatic diseases, ARD).²⁻⁵

U ludzi stwierdzono obecność następujących przeciwciał skierowanych przeciwko aneksynom: przeciwciała przeciwko aneksynie A1 (przeciwciała I), aneksynie A2 (przeciwciała II), aneksynie A5 (przeciwciała V) i aneksynie A11 (przeciwciała XI) – ich rola i korelacje pozostają przedmiotem dyskusji.

Przeciwciała przeciwko aneksynie I

Aneksyna I pełni rolę we wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej.

Wykazano, że działa przeciwzapalnie na drodze supresji produkcji mediatorów stanu zapalnego, w tym prostaglandyn, tromboksanów i leukotrienów, hamowania przemieszczania się neutrofilów, degranulację i aktywację komórek tucznych oraz przez stymulację apoptozy neutrofilów i fagocytozy komórek apoptotycznych przez makrofagi.⁶

W spoczynku w cytoplazmie neutrofilów, monocytów i makrofagów człowieka i myszy zachodzi konstytutywna synteza dużych stężeń aneksyny I. W przypadku aktywacji komórkowej, aneksyna I jest szybko gromadzona przy powierzchni komórki i wydzielana na zewnątrz.⁶ U myszy infuzja aneksyny I podczas odpowiedzi zapalnej prowadzi do uruchomienia procesów przeciwzapalnych. To działanie wiąże się z odłączeniem przylegających neutrofilów od ścian naczyń,

co prowadzi do zmniejszenia liczby komórek migrujących do macierzy podścieliskowej.⁷

Rola aneksyny I w odpowiedzi nabytej jest mniej jasna. Ekspresja aneksyny I jest mniejsza w limfocytach T w porównaniu do komórek szpiku, takich jak neutrofile. Tym niemniej ekspresja aneksyny I w limfocytach T podczas aktywacji jest silniejsza.⁶ Podczas stymulacji limfocytów T (tzn. w chorobach autoimmunologicznych lub zakażeniach) dochodzi do uwalniania aneksyny I; jej receptor, hFPRL1 (human formyl peptide receptor like 1), ulega ekspresji na powierzchni limfocytów T. Wiązanie aneksyny I z hFPRL1 zwiększa siłę sygnałów przekazywanych za pośrednictwem TCR; wynikiem jest aktywacja limfocytów T, proliferacja oraz różnicowanie Th1 i Th2.⁶

Biorąc pod uwagę powyższe dane, wydaje się, że aneksyna I cechuje się działaniem przeciwzapalnym przez hamowanie wrodzonej odpowiedzi zapalnej lub działaniem prozapalnym na drodze stymulacji nabytej odpowiedzi immunologicznej.

Co ciekawe, glikokortykosteroidy mogą wywierać modulujące działanie przeciw- lub prozapalne, stymulując lub hamując wydzielanie aneksyny I podczas, odpowiednio, wrodzonej lub nabytej odpowiedzi immunologicznej.⁶⁻⁸ Ekspozycja komórek biorących udział w odpowiedzi wrodzonej, w tym neutrofilów, monocytów, makrofagów i komórek tucznych, na glikokortykosteroidy indukuje uwalnianie aneksyny I, stymulując ekspresję genu kodującego to białko (ANXA1) oraz prezentację hFPRL1 na powierzchni tych komórek. Z kolei ekspozycja limfocytów T na glikokortykosteroidy prowadzi do zmniejszenia ekspresji aneksyny I, a w konsekwencji do hamowania aktywacji limfocytów T i różnicowania do fenotypu Th1 i Th2.⁶

Warto zwrócić uwagę, że przeciwciała przeciwko aneksynie I mogą regulować wpływ aneksyny I na wrodzoną lub nabytą odpowiedź immunologiczną, powodując, odpowiednio, działania pro- lub przeciwzapalne.

Goulding i wsp.⁹ oznaczali przeciwciała przeciwko aneksynie I u 63 chorych z reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS), 36 z toczeniem rumieniowatym układowym (SLE), 26 z polimialgią reumatyczną, 13 z przewlekłą chorobą dróg oddechowych i 90 osób zdrowych. Stężenia przeciwciał przeciwko aneksynie I były zwiększone u chorych z SLE i RZS, ale już nie u chorych z polimialgią reumatyczną, przewlekłą chorobą dróg oddechowych czy u osób zdrowych. U pacjentów z SLE wzrost stężenia przeciwciał IgM przeciwko aneksynie I był związany z chorobą w fazie aktywnej i niezależny od leczenia glikokortykostero-

idami. Stężenia przeciwciał IgM przeciwko aneksynie I były niezależne od aktywności choroby w RZS; jednak były one większe u chorych przyjmujących prednizon w dawce >7,5 mg/24 h, w porównaniu z badanymi przyjmującymi ten lek w dawce <7,5 mg/24 h lub nieprzyjmującymi go w ogóle. U chorych na RZS i SLE stężenia przeciwciał IgG przeciwko aneksynie I były mniejsze niż stężenia przeciwciał IgM, ale przyczyny tej rozbieżności pozostają niejasne. Autorzy sugerują, że może być ona związana z powtarzalną prowokacją antygenem prowadzącą do powtarzalnej syntezy głównej klasy autoprzeciwciał IgM.⁹ Autorzy postulują także, że przeciwciała przeciwko aneksynie I mogą zaburzać przeciwzapalne działanie glikokortykosteroidów, prowadząc do oporności na glikokortykosteroidy u chorych na RZS.⁹

Przeciwciała przeciwko aneksynie I wykryto też u chorych na SLE z zajęciem skóry.¹⁰ Występują trzy podtypy skórnej postaci tocznia rumieniowatego (STR): podostry, ogniskowy (przewlekły), obrzmiały.^{10,11} Co ciekawe, przeciwciała przeciwko aneksynie I wykryto u 15% chorych na STR, a ich stężenie było zwiększone we wszystkich podtypach STR.¹⁰ Ponadto częstość występowania zmian ogniskowych była większa u chorych z przeciwciałami przeciwko aneksynie I w porównaniu z chorymi, u których przeciwciał tych nie wykryto (66,7 vs 33,3%).

Zatem przeciwciała przeciwko aneksynie I mogą być biomarkerem w SLE, STR i RZS.

Przeciwciała przeciwko aneksynie II

Aneksyna II jest białkiem o masie 36 kDa, ulegającym ekspresji w różnych typach komórek, w tym w komórkach śródbłonna, mięśni gładkich, monocytach i keratynocytach. Aneksyna II bierze udział w wielu procesach biologicznych, takich jak przekazywanie sygnału, ezo- i endocytoza oraz transport immunoglobulin w łożysku. Ulega także ekspresji na powierzchni komórek śródbłonna, gdzie spełnia funkcję receptora komórek śródbłonna (tzw. receptor fibrynolityczny), wiążącego zarówno plazminogen, jak i aktywator tkankowego plazminogenu (tissue plasminogen activator, t-PA).¹² Są dowody, że aneksyna II działa jako kofaktor zależny od t-PA w wytwarzaniu plazminy powierzchni komórki.

U myszy homozygot wykazujących brak allelu genu kodującego aneksynę II dochodzi do odkładania fibryny w naczyniach włosowatych, ograniczenia usuwania powstałych w wyniku urazu zakrzepów oraz ograniczonej produkcji plazminy na powierzchni komórek

śródbłonna.¹³ Podanie *in vitro* aneksyny II do tętnicy szyjnej myszy prowadzi do ograniczenia zakrzepicy naczyniowej w odpowiedzi na uraz.¹⁴ Wykazano też, że nadmierna ekspresja aneksyny II przez blasty chorych na białaczkę przyczynia się do wystąpienia stanu krwotocznego z hiperfibrylizacją.¹⁵

Należy zauważyć, że aneksyna II pośredniczy w wiązaniu β 2GPI do komórek śródbłonna, odgrywając kluczową rolę w aktywacji tych komórek przez przeciwciała przeciwko- β 2GPI.^{16,17}

Aneksyna II może stać się celem autoprzeciwciał. Postuluje się, że przeciwciała skierowane przeciwko aneksynie II mogą indukować zakrzepicę na drodze aktywacji komórek śródbłonna i hamowania produkcji plazminy.¹⁸

Co ciekawe, aneksyna II ulega silnej ekspresji w śródbłonku mózgu a przeciwciała przeciwko aneksynie II wykryto u 12,5% z grupy 40 pacjentów z zakrzepicą żylną mózgu i jedynie u 2,1% ze 145 zdrowych ochotników.¹⁹

Przeciwciała przeciwko aneksynie II oznaczano także w osoczu 434 badanych: 206 ze SLE bez wcześniejszej zakrzepicy, 62 z zespołem antyfosfolipidowym (antifosfolipid syndrome, APS), 21 z zakrzepicą nieautoimmunologiczną i u 145 osób zdrowych. Przeciwciała przeciwko aneksynie II częściej występowały u chorych na APS (22,6%) niż u osób zdrowych (2,1%), chorych na SLE (6,3%) lub zakrzepicę nieautoimmunologiczną (0%).¹⁸ Autorzy sugerują, że przeciwciała przeciwko aneksynie II mogą być nowym antygenem docelowym w APS, gdzie mogą przyczyniać się do wystąpienia zakrzepicy.

W dużym badaniu retrospektywnym przeciwciała przeciwko aneksynie II wykryto u 8,5% spośród 294 chorych na ARD i u 2% zdrowych ochotników. Wśród chorych na ARD przeciwciała przeciwko aneksynie II stwierdzono u 15% osób z APS (pierwotnym i wtórnym) i u 7,5% osób ze SLE.²⁰

Zatem przeciwciała przeciwko aneksynie wydają się odgrywać pewną rolę w powstawaniu zakrzepów. Wydają się też związane z APS i w mniejszym stopniu ze SLE.

Przeciwciała przeciwko aneksynie V

Aneksyna V jest białkiem wiążącym fosfolipidy, występującym powszechnie u ludzi, zwierząt i roślin. Aneksyna V ulega silnej ekspresji w komórkach śródbłonna, gdzie, jak się przypuszcza, odgrywa rolę przeciwzakrzepową.

Aneksyna V ma silne powinowactwo do fosfolipidów anionowych, a zwłaszcza fosfatydyloseryny, na której tworzy kryształki blokujące dostęp zależnych od fosfolipidów enzymów koagulacyjnych do samych fosfolipidów.^{21,22} Ekspozycja fosfatydyloseryny na błonie zewnętrznej aktywowanych komórek jest sygnałem fizjologicznym dla rozpoczęcia procesów, takich jak krzepnięcie i apoptoza. Zewnątrzkomórkowa aneksyna V rozpoznaje ten sygnał, wiąże się do składnika fosfatydyloserynowego błony i składa się w ściśle uporządkowany, promienisty wzorec. Struktura ta tworzy tarczę zapobiegającą nadmiernej reakcji koagulacji zależnej od fosfolipidów.²²

Aneksyna V odgrywa też ważną rolę w regulacji apoptozy. Każdy typ komórek dysponuje mechanizmem molekularnym ekspozycji fosfatydyloseryny na powierzchni błony komórkowej. Mechanizm ten ulega aktywacji w trakcie apoptozy; aneksyna V wiąże się do komórek apoptotycznych eksponujących fosfatydyloserynę i może w ten sposób hamować prozakrzepowe i prozapalne właściwości umiarkującej komórki.²³

Wreszcie aneksyna V ulega silnej ekspresji w syncytiotrofoblastach kosmków łożyska na obszarach kontaktu między matką a płodem. Wykazano, że u myszy aneksyna V uczestniczy w modulacji procesu powstawania zakrzepów w naczyniach krwionośnych łożyska i jest konieczna do utrzymania integralności łożyska.²⁴ U myszy wlew z poliklonalnych przeciwciał przeciwko aneksynie V prowadzi do obumierania płodu oraz martwicy i włóknienia łożyska.²⁴

PRZECIWCIAŁA PRZECIWKO ANEKSYNIE V A UTRATA CIĄŻY

W pierwszym badaniu pilotażowym przeprowadzonym w 1994 r. przeciwciała przeciwko aneksynie V wykryto u 4 z 11 kobiet z poronieniami nawykowymi w wywiadzie i u 2 z 10 kobiet ze stanem przedzręczawkowym.²⁵ Sześć lat później w badaniu NOHA²⁶ u 518 kobiet z poronieniem o niewyjaśnionej etiologii w wywiadzie, w porównaniu z tą samą liczbą kobiet, u których doszło do poronień o wyjaśnionej przyczynie i z kobietami bez wcześniejszych powikłań położniczych, wykazano istotnie większą częstość obecności przeciwciał IgG przeciwko aneksynie V, co wskazuje, że przeciwciała te mogą być czynnikiem ryzyka poronienia.

W kolejnych siedmiu badaniach uzyskano sprzeczne wyniki. W czterech wykazano, że przeciwciała przeciwko aneksynie V wiążą się z poronieniem,²⁷⁻³⁰ podczas gdy w trzech z nich takiej zależności nie potwierdzono.³¹⁻³³

Matsubayashi i wsp.²⁷ wykazali, że u 5,5% kobiet, u których dochodziło do poronień nawykowych, występowały przeciwciała przeciwko aneksynie V, w porównaniu z 1,1% kobiet zdrowych niebędących w ciąży lub ciężarnych z ciążą prawidłową.

Gris i wsp.²⁸ porównali 743 kobiety, u których doszło do poronienia w 8 lub 9 tygodniu, z 743 kobietami, które przebyły pierwsze poronienie wywołane. Poronienie, w tym pierwsze poronienie na wczesnym etapie ciąży, było niezależnie związane z obecnością przeciwciał IgG przeciwko aneksynie V. W badaniu tym przeciwciała przeciwko aneksynie V wiązane były z utratą ciąży nawet u chorych bez klasycznych przeciwciał przeciwko fosfolipidom.

Zammiti i wsp.²⁹ badali 172 Tunezyjki, u których doszło do trzech poronień idiopatycznych pod rząd, porównując je ze 173 kobietami z grupy kontrolnej z ciążą bez powikłań. Analiza regresji wykazała, że przeciwciała przeciwko glikoproteinie anty-β2 i aneksynie V wiązały się, odpowiednio, z wczesnymi i późnymi kolejnymi poronieniami samoistnymi.

W badaniu retrospektywnym wykazano, że obecność przeciwciał przeciwko aneksynie V wiązała się z poronieniami o niewyjaśnionej etiologii, niezależnie od występowania przeciwciał przeciwko kardiolipinie.³⁰

Z kolei w dużym prospektywnym badaniu wykazano, że wykryte na początku ciąży przeciwciała IgG i IgM przeciwko aneksynie V nie były czynnikiem predykcyjnym poronienia; wyniki tego badania nie potwierdzają zatem skuteczności tych przeciwciał jako przydatnego markera ryzyka poronienia.³¹

Ponadto niedawne badanie retrospektywne obejmujące 54 kobiety, u których doszło do kolejnych poronień oraz utraty płodu z przyczyn niewyjaśnionych, oraz 68 kobiety w ciąży bez powikłań, nie wykazało związku między obecnością przeciwciał przeciwko aneksynie V a powtarzającymi się poronieniami czy poronieniami z niewyjaśnionych przyczyn.³²

Warto zauważyć, że częstość występowania przeciwciał IgG przeciwko aneksynie V była znacznie większa u kobiet z przeciwciałami przeciwko fosfolipidom, u których doszło do kolejnych poronień, w porównaniu do kobiet bez takich przeciwciał, u których doszło do ponownych powikłań położniczych, czy u zdrowych kobiet, które już rodziły (odpowiednio 35, 19 i 15%), co wskazuje, że przeciwciała przeciwko aneksynie V nie są niezależnym czynnikiem ryzyka kolejnych poronień.³³

Zatem związek między przeciwciałami przeciwko aneksynie V a poronieniem pozostaje w sferze kontrowersji w populacji ogólnej, ale nie u chorych z APS,

Tabela. Badania kliniczne opublikowane do dnia dzisiejszego, poświęcone przeciwciałom przeciwko aneksynie XI.

Autor	Technika	Antygen	Analizowana ARD	Procent ANXIAb		p
				Pacjenci	Grupa kontrolna	
Van Venrooij WJ, 1989 ⁴⁷	Immunoblotting	Ekstrakt z komórek HeLa jako substrat	pZS, MCTD, PDM, TU	6,1% (n=441)	0,6% (n=154)	p=0,003
Misaki Y, 1995 ⁴⁸	ELISA	Rekombinowane białko ulegające ekspresji w komórkach bakterii	SLE, RZS, pZS, TU, PM	8% (n=523)	1,4% (n=114)	p=0,002
Jørgensen CS, 2000 ⁴⁹	Immunoblotting	Ekstrakt z komórek HeLa jako substrat	PAPS, pTRS, TU, RZS, PM, SLE, MCTD	3,9% (n=282)	0% (n=115)	p=0,038
Ghirardello A, 2005*	Immunoblotting	Ekstrakt z komórek Raji jako substrat	SLE, PDM, TU, pZS, RA, UCTD, PAPS	2% (n=428)	0% (n=74)	p=nieznamienne
Razem	3 badania oparte na metodzie blotting, 1 na ELISA			5,31% (n=1674)	0,6% (n=487)	p < 0,001

ANXIAb – przeciwciała przeciwko aneksynie XI, ARD – autoimmunologiczna choroba reumatyczna, SLE – toczeń rumieniowaty układowy, pTRS – podostry toczeń rumieniowaty skórny, UCTD – niezróżnicowana choroba tkanki łącznej, pZS – pierwotny zespół Sjögrena, PM – zapalenie wielomięśniowe, PDM – zapalenie skórno/wielomięśniowe (poly/dermatomyositis), TU – twardzina układowa, MCTD – mieszana choroba tkanki łącznej, RZS – reumatoidalne zapalenie stanów, PAPS – pierwotny zespół antyfosfolipidowy.

*Doniesienie własne przedstawione podczas kongresu Italian Society of Rheumatology, w 2005 r.

u których zniszczenie przeciwzakrzepowej tarczy z kryształów aneksyny V przez przeciwciała przeciwko fosfolipidom może stanowić mechanizm prowadzący do poronienia i zakrzepicy.³⁴

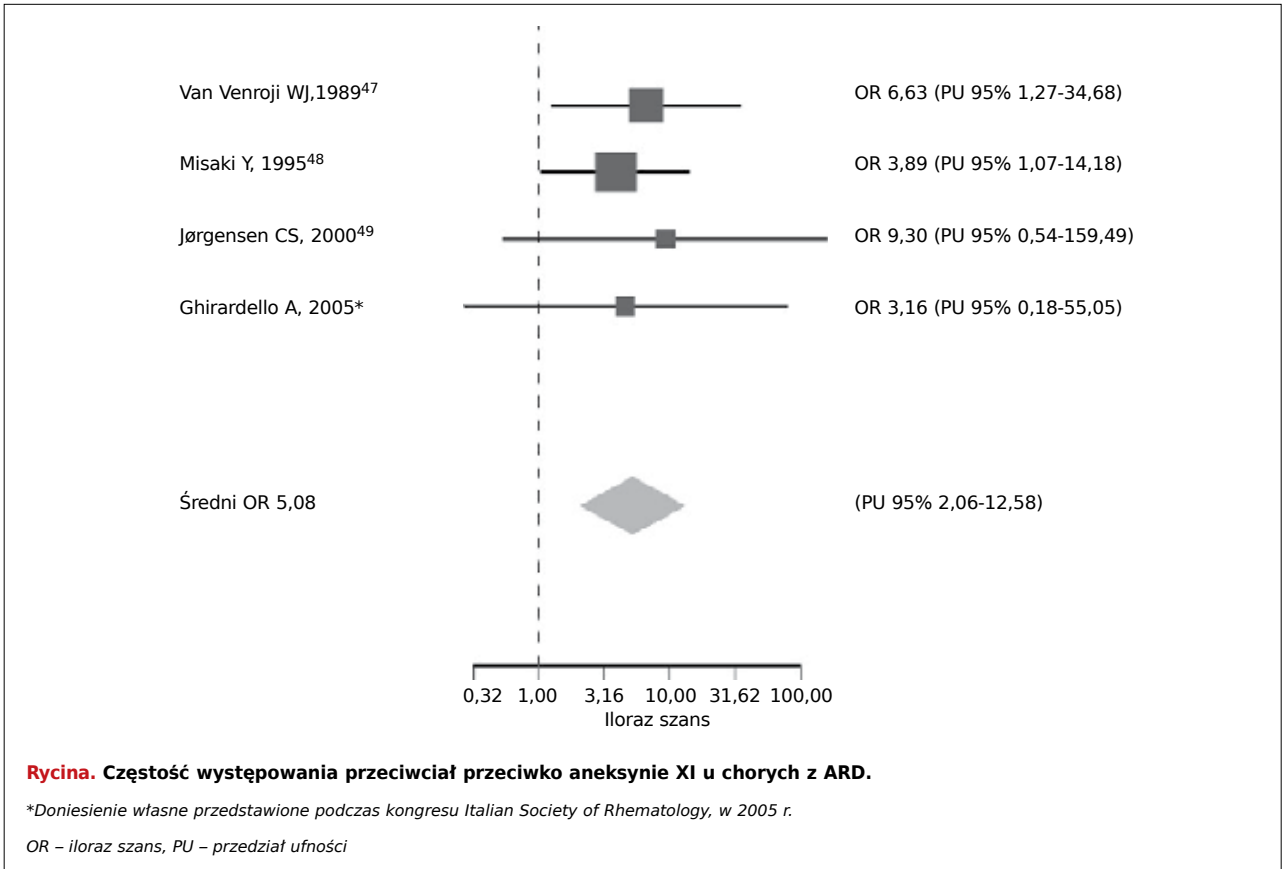
PRZECIWCIAŁA PRZECIWKO ANEKSYNIE V A ARD

Wykazano, że w SLE przeciwciała przeciwko aneksynie V są związane ze zwiększoną tendencją do zakrzepów, szczególnie u chorych z obecnością przeciwciał przeciwko fosfolipidom.^{35,36} Co ciekawe, w SLE zmniejszenie ekspresji aneksyny V na powierzchni komórek śródbłonna wywołane obecnością przeciwciał przeciwko aneksynie V korelowało z nasiloną krzepliwością osocza i miażdżycą.³⁷

Natomiast Nojima i wsp.³⁸ nie wykazali żadnej korelacji między występowaniem przeciwciał przeciwko aneksynie V a zakrzepicą tętnic lub żył u chorych na SLE.

Te kontrowersyjne wyniki wskazują, że przeciwciała przeciwko aneksynie V mogą przyczyniać się do zdarzeń zakrzepowo-zatorowych w SLE, gdy współistnieją z innymi czynnikami nasilającymi proces krzepnięcia, np. przeciwciałami przeciwko fosfolipidom,^{39,40} przeciwko protrombinie,⁴¹ niedoborem białka S lub białka C, nadciśnieniem tętniczym czy zespołem nerczycowym.

Przeciwciała przeciwko aneksynie V wykryto także u chorych z twardziną układową (systemic sclerosis, SSs); stwierdzono, że niedokrwienie palców występowało u 75% chorych z potwierdzoną obecnością przeciwciał przeciwko aneksynie V i tylko u 24,1% badanych bez tych przeciwciał.⁴² W nowszym badaniu przeciwciała przeciwko aneksynie wykryto u 15 z 20 chorych na twardzinę układową (75%); nie wykryto ich u żadnej z osób w grupie kontrolnej złożonej ze zdrowych ochotników. Zatem po raz kolejny wykazano



związek między obecnością przeciwciał a występowaniem lub nasileniem owrzodzeń na palcach.⁴³

Przeciwciała przeciwko aneksynie XI

Aneksyna XI to białko o masie 56 kDa, pełniące różne regulatorowe funkcje komórkowe w takich procesach jak podziały komórkowe, transport pęcherzykowy i apoptoza.

Domena N-końcowa zawiera miejsca wiązania, które pozwalają na niezależne od wapnia oddziaływanie z zarówno kalcykliną, jak i ALG-2 (apoptosis-linked gene-2), białkiem kodowanym przez PDCD6 (programmed cell death protein 6). Białka te uczestniczą w stymulacji procesów apoptozy⁴⁴ i przypuszcza się, że brak lub zaburzenia czynnościowe aneksyny XI (związane z produkcją przeciwciał przeciwko aneksynie XI) mogą wpływać na równowagę między apoptozą a przeżyciem aktywowanych komórek zapalnych,

zwiększając w ten sposób prawdopodobieństwo wystąpienia choroby zapalnej i autoimmunologicznej, takiej jak sarkoidoza czy ARD.⁴⁵

Aneksyna XI rozpoznawana jest przez przeciwciała wykrywane w surowicy chorych z ARD. Jak przedstawiono w tabeli 1 we wszystkich czterech opublikowanych badaniach (w 3 z nich do oznaczenia przeciwciał stosowano metodę immunoblot,⁴⁶ w jednym metodę ELISA), wykazano małą częstość występowania przeciwciał przeciwko aneksynie XI w surowicy chorych z ARD. Ponadto w trzech badaniach częstość występowania tych przeciwciał była znacznie większa w surowicy chorych z ARD niż u osób z grupy kontrolnej.

W pierwszym z badań przeprowadzonych z użyciem metody immunoblot, wykorzystując jako substrat ekstrakt z komórek HeLa, przeciwciała przeciwko aneksynie XI wykryto w surowicy chorych na RZS, pierwotny zespół Sjögrena i SLE oraz u osób z przeciwciałami przeciwko SSB.⁴⁷



- Aneksyny uczestniczą w procesach wzrostu, podziału i apoptozy komórek.
- Przeciwciała przeciwko aneksynie I, II, V i XI wykryto u chorych z ARD.
- Aneksyna i przeciwciała przeciwko aneksynie są zaangażowane w patogenezę niektórych ARD.
- Przeciwciała przeciwko aneksynom są biomarkerami ARD.

Misaki i wsp.,⁴⁸ wykorzystując test ELISA z białkiem rekombinowanym jako antygenem, wykazali małą częstość występowania przeciwciał przeciwko aneksynie XI (8%) u chorych z RZS, SLE, pierwotnym zespołem Sjögrena, twardziną układową i zapaleniem wielomięśniowym oraz brak związku między obecnością przeciwciał przeciwko aneksynie XI a innymi cechami klinicznymi czy serologicznymi.

W kolejnym badaniu, przeprowadzonym metodą immunoblot z wykorzystaniem jako substratu ekstraktu z komórek HeLa, obecność przeciwciał przeciwko aneksynie XI wykazano w surowicy 11 (3,9%) spośród 282 pacjentów z ARD. Przeciwciała przeciwko aneksynie XI stwierdzano głównie u chorych z APS, rzadziej u pacjentów z innymi ARD, w tym twardziną układową, RZS czy SLE.⁴⁹

Autorzy zbadali surowice kolejnych 428 chorych na ARD i 74 zdrowych ochotników. Przeciwciała przeciwko aneksynie XI wykryto w surowicy 9 chorych (2%) i nie wykryto u osób zdrowych. Przeciwciała przeciwko aneksynie XI oznaczano za pomocą metody immunoblot, jako substrat wykorzystując ekstrakty z komórek Raji. Wśród 9 badanych z przeciwciałami przeciwko aneksynie XI było 8 kobiet, średnia wieku wynosiła (\pm SD) 55,2 \pm 6,3 roku (zakres 46-66) a średni czas trwania choroby 132,7 \pm 112,5 miesiąca (zakres 2-309).

Retrospektywna ocena pacjentów wykazała, że troje z nich cierpiało na zapalenie wielomięśniowe, troje na SLE, dwoje na niezróżnicowaną chorobę tkanki łącznej a jeden chory na pierwotny zespół Sjögrena. Wyraźnymi cechami klinicznymi i serologicznymi były: bóle stawów (67%), astenia mięśni (56%), zapalenie stawów (45%), objawy skórne (33%), małe stężenie C3 (100%), małe stężenie C4 (83%), leuko/limfopenia (62%), zakrzepica (10%), obecność ANA (100%), obecność przeciwciał przeciwko SSA (44%), obecność przeciwciał przeciwko fosfolipidom (43%). Nie stwierdzono żadnych swoistych korelacji klinicznych czy serologicznych.

Łączona analiza danych z tych badań wykazała, że przeciwciała przeciwko aneksynie XI występowały

w surowicy 84 z 1674 (5,31%) pacjentów z ARD. Co ciekawe, częstość ta była większa niż w 487 surowicach kontrolnych (0,6% $p < 0,001$).

Rycina 1 przedstawia wyniki metaanalizy danych z czterech badań. Do analizy statystycznej wykorzystano pakiet Spss. Iloraz szans (odds ratio, OR) oszacowano za pomocą testu Mantela-Haenszela. Całkowity OR dla ARD i obecności przeciwciał przeciwko aneksynie XI wyniósł 5,08 (95% PU 2,06-12,58).

Przeciwciała przeciwko aneksynie cechują się więc dużą swoistością, ale małą czułością u chorych z ARD; ponadto ponieważ brak jest istotnej korelacji z określoną ARD, u tych chorych mogą one służyć jedynie jako biomarker autooporności.^{4,50-52}

Podsumowanie

Aneksyna I ma właściwości przeciwzapalne. Przeciwciała przeciwko aneksynie I wykazano u chorych ze SLE, TRS i RZS. Przeciwciała przeciwko aneksynie II i V zaburzają wiązanie między fosfolipidami a aneksyną, co prowadzi do zakrzepicy i poronień u chorych ze SLE lub zespołem antyfosfolipidowym. Ich związek z poronieniami i zakrzepicą w populacji ogólnej pozostaje kontrowersyjny.

Aneksyna XI odgrywa rolę w regulacji apoptozy. Zaburzenie jej funkcji przez przeciwciała przeciwko aneksynie XI może prowadzić do zwiększonej podatności na choroby zapalne i autoimmunologiczne. Rzeczywiście, przeciwciała przeciwko aneksynie XI wykryto u chorych z ARD, w tym RZS, SLE, zapaleniem wielomięśniowym i niezróżnicowaną chorobą tkanki łącznej, ale nie u osób zdrowych.

Do dziś nie wykazano jednoznacznych związków między obecnością przeciwciał przeciwko aneksynom a cechami klinicznymi czy serologicznymi.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved. Reprinted from Autoimmunity Reviews 10 (2011) 553-558, L. Iaccarino, A. Ghirardello, M. Canova, M. Zen, S. Bettio, L. Nalotto, L. Punzi, A. Doria, Anti-annexins autoantibodies: Their role as biomarkers of autoimmune diseases with permission from Elsevier.

Piśmiennictwo

1. Hayes MJ, Moss SE. Annexins and disease. *Bioch Biophys Res Comm* 2004;322:1166-70.
2. Fatimathas L, Moss SE. Annexins as disease modifiers. *Histol Histopathol* 2010;25:527-32.
3. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome (Hughes syndrome): 10 clinical topics. *Lupus* 2010;19:343-6.
4. Rojas-Villarraga A, Toro CE, Espinosa G, Rodríguez-Velosa Y, Duarte-Rey C, Mantilla RD, et al. Factors influencing polyautoimmunity in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2010;9:229-32.



5. Khamashta MA. Hughes syndrome: 'sticky blood'. *Clin Exp Rheumatol* 2009;27:1-2.
6. Peretti M, D'Acquisto F. Annexin A1 and glucocorticoids as effectors of the resolution of inflammation. *Nat Rev Immunol* 2009;9:62-70.
7. Lim LH, Solito E, Russo-Marie F, Flower RJ, Perretti M. Promoting detachment of neutrophils adherent to murine postcapillary venules to control inflammation: effect of lipocortin 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:14535-9.
8. Zen M, Canova M, Campana C, Bettio S, Nalotto L, Rampudda M, et al. The kaleidoscope of glucocorticoid effects on immune system. *Autoimmun Rev* 2011;10:305-10.
9. Goulding NJ, Podgorski MR, Hall ND, Flower RJ, Browning JL, Pepinsky RB, et al. Autoantibodies to recombinant lipocortin-1 in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1989;48:843-50.
10. Kretz CC, Norpo M, Abele-Dorner L, Linke B, Haust M, Edler L, et al. Anti-annexin 1 antibodies. A new diagnostic marker in the serum of patients with discoid lupus erythematosus. *Exp Dermatol* 2010; 19:919-21.
11. Bano S, Bombardieri S, Doria A, Iaccarino L, Lehmann P, Mosca M. Lupus erythematosus and the skin. *Clin Exp Rheumatol* 2006;24 (1 Suppl 40):S26-35.
12. Hajjar KA, Jacovina AT, Chacko J. An endothelial cell receptor for plasminogen/tissue plasminogen activator. *J Biol Chem* 1994;269:21191-7.
13. Ling Q, Jacovina AT, Deora A, Febbraio M, Simantov R, Silverstein RL, et al. Annexin II is a key regulator of fibrin homeostasis and neoangiogenesis. *J Clin Invest* 2004;113:38-48.
14. Ishii H, Yoshida M, Hiraoka M, Hajjar KA, Tanaka A, Yasukochi Y, et al. Recombinant annexin II modulates impaired fibrinolytic activity in vitro in rat carotid artery. *Circ Res* 2001;89:1240-5.
15. Olwill SA, McGlynn H, Gilmore WS, Alexander HD. Annexin II cell surface and mRNA expression in human acute myeloid leukemia cell lines. *Thromb Res* 2005;115:109-14.
16. Zhang J, McCrae KR. Annexin II mediates endothelial cell activation by antiphospholipid/anti-beta2glycoprotein I antibodies. *Blood* 2005;105:1964-9.
17. Matsuura E, Shen L, Matsunami Y, Quan N, Makarova M, Geske FJ, et al. Pathophysiology of beta2-glycoprotein I in antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2010;19:379-84.
18. Cesarman-Maus G, Rios-Luna NP, Deora AB, Huang B, Villa R, Cravioto Mdel C, et al. Autoantibodies against the fibrinolytic receptor, annexin 2, in antiphospholipid syndrome. *Blood* 2006;107:4375-82.
19. Cesarman-Maus G, Cantù-Brito C, Barinagarrementeria F, Villa R, Reyes E, Sanchez-Guerrero J, et al. Autoantibodies against the fibrinolytic receptor, annexin A2, in cerebral venous thrombosis. *Stroke* 2011;42:501-3.
20. Salle V, Mazière JC, Smail R, Cévallos R, Mazière C, Fuentes V, et al. Anti-annexin II antibodies in systemic autoimmune disease and antiphospholipid syndrome. *J Clin Immunol* 2008;28:291-7.
21. Frank M, Sodim-Semrl S, Irman S, Bozic B, Rozman B. Beta2-glycoprotein I and annexin A5 phospholipid interactions: artificial and cell membranes. *Autoimmun Rev* 2009;9:5-10.
22. van Genderen HO, Kenis H, Hofstra L, Narula J, Reutelingsperger CPM. Extracellular annexin A5: functions of phosphatidylserine-binding and two-dimensional crystallization. *Biochim Biophys Acta* 2008;1783:953-63.
23. Reutelingsperger CPM, Van Heerde WL. Annexin V the regulator of phosphatidylserine- catalyzed inflammation and coagulation during apoptosis. *Cell Mol Sci* 1997;53:527-32.
24. Wang X, Campos B, Kaezel MA, Dedman JR. Annexin V is critical in the maintenance of murine placental integrity. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:1008-16.
25. Matsuda J, Gotoh M, Saitoh N, Gohch K, Tsukamoto M, Yamamoto T. Anti-annexin V antibodies sera of patients with habitual foetal loss or preeclampsia. *Thromb Res* 1994;75:105-6.
26. Gris JC, Quéré I, Sanmarco M, Buotiere B, Mercier E, Amiral J, et al. Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent early foetal loss. *Thromb Haemost* 2000;84:228-36.
27. Matsubayashi H, Arai T, Izumi S, Sugi T, McIntyre JA, Tsunehisha Makino. Antiannexin V antibodies in patients with early pregnancy loss of implantation failure. *Fertil Steril* 2001;76:694-9.
28. Gris JC, Perneger TV, Quéré I, Mercier E, Fabbro-Peray P, Lavigne-Lissalde G, et al. Antiphospholipid/antiprotein antibodies, haemostasis related autoantibodies, and plasma homocystein as risk factor for first pregnancy loss: a matched case control study. *Blood* 2003; 102:3504-13.
29. Zammiti W, Mtiraoui N, Hidar S, Fekih M, Almawi WY, Mahjoub T. Antibodies to β 2-glycoprotein I and annexin V in women with early and late idiopathic recurrent spontaneous abortions. *Arch Gynecol Obstet* 2006;274:261-5.
30. Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Tampona M, Tozzoli R. Prevalence and clinical correlation of anti-phospholipid-binding protein antibodies in anticardiolipinnegative patients with systemic lupus erythematosus and women with unexplained recurrent miscarriages. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:61-8.
31. Bizzaro N, Antico A, Musso M, Platzgummer S, Camogliano L, Tozzoli R, et al. A prospective study of 1038 pregnancies on the predictive value of anti-annexin V antibodies for foetal loss. *Ann NY Acad Sci* 2005;1050:348-56.
32. Aljotas-Reig J, Ferrer-Oliveras R, Rodrigo-Anoro MJ, Farrn-Codina I, Llura-Olivé E, Vilardell-Tarres M, et al. Anti-annexin A5 antibodies in women with spontaneous pregnancy loss. *Med Clin (Barc)* 2010;134:433-8.
33. Arnold J, Holmes Z, Pickering W, Farmer C, Regan L, Cohen H. Anti-beta2 glycoprotein I and of anti-annexin V antibodies in women with recurrent miscarriages. *Br J Haematol* 2001;113:911-4.
34. Rand JH, Wu XX, Quinn AS, Taatjes DJ. The annexin A5-mediated pathogenic mechanism in the antiphospholipid syndrome: role in pregnancy losses and thrombosis. *Lupus* 2010;19:460-9.
35. Kaburaki J, Kuwana M, Yamamoto M, Kawai S, Ikeda Y. Clinical significance of antiannexin V antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Hematol* 1997;54:209-13.
36. Satoh A, Suzuki K, Takayma E, Kojima K, Hidaka T, Kawakami M, et al. Detection of anti-annexin V antibodies in patients with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1999; 26:1715-20.
37. Cederholm A, Svenungsson E, Jensen-Urstad K, Trollmo C, Ulfgren AK, Swedenborg J, et al. Decreased binding of annexin V to endothelial cells: a potential mechanism in atherothrombosis of patients with systemic lupus erythematosus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:198-203.
38. Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Futsukaichi Y, Yamanishi H, Machii T, et al. Association between the prevalence of antibodies to beta(2)-glycoprotein I, prothrombin, protein C, protein S, and annexin V in patient with systemic lupus erythematosus and thrombotic and thrombocytopenic complications. *Clin Chem* 2001;47:1008-15.
39. Asherson RA, Francès C, Iaccarino L, Khamashta MA, Malacarne F, Piette JC, et al. The antiphospholipid antibody syndrome: diagnosis, skin manifestations and current therapy. *Clin Exp Rheumatol* 2006;24(1 Suppl 40):S46-51.
40. Matsuura E, Kobayashi K, Matsunami Y, Lopez LR. The immunology of atherothrombosis in the antiphospholipid syndrome: antigen presentation and lipid intracellular accumulation. *Autoimmun Rev* 2009;8:500-5.
41. Bizzaro N, Ghirardello A, Zampieri S, Iaccarino L, Tozzoli R, Ruffatti A, et al. Antiprothrombin antibodies predict thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus: a 15-year longitudinal study. *J Thromb Haemost* 2007;7:1158-64.
42. Sugiura K, Muro Y. Anti-annexin V antibodies and digital ischemia in patient with scleroderma. *J Rheumatol* 1999;26:2168-72.
43. Habeeb RA, Mansour HE, Abdeldayem AM, Abo-shady RA, Hassan IA, Saafan NK, et al. Anti-annexin V antibodies: association with vascular

- involvement and disease outcome in patients with systemic sclerosis. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord* 2010;3:15–23.
44. Leclerc E, Fritz G, Weibel M, Heizman CW, Galichet A. S100B and S100A6 differentially modulate cell survival by interacting with distinct RAGE (receptor for advanced glycation and products) immunoglobulin domains. *J Biol Chem* 2007;282:31317–31.
 45. Hofman S, Franke A, Fischer A, Jacobs G, Nothnagel M, Gaede KI, et al. Genomewide association study identifies ANX11 as a new susceptibility locus for sarcoidosis. *Nat Genet* 2008;40:1103–6.
 46. Ghirardello A, Bendo R, Rampudda ME, Bassi N, Zampieri S, Doria A. Commercial blot assays in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Autoimmun Rev* 2009;8:645–9.
 47. van Venrooij WJ, Wodzing KW, Habes WJ, de Rooij DJ, van de Putte LB. Anti-56KD a novel, frequently occurring autoantibody specificity in connective tissue diseases. *Clin Exp Rheumatol* 1989;7:277–82.
 48. Misaki Y, van Venrooij WJ, Puijck GJM. Prevalence and characteristics of anti-56K/annexin XI autoantibodies in systemic autoimmune diseases. *J Rheumatol* 1995;22:97–102.
 49. Jørgensen S, Levantino G, Houen G, Jacobsen S, Halberg P, Ullman S, et al. Determination of autoantibodies to annexin in systemic autoimmune diseases. *Lupus* 2000;9:515–20.
 50. Doria A, Zen M, Canova M, Bettio S, Bassi N, Nalotto L, et al. TRU diagnosis and treatment: when early is early. *Autoimmun Rev* 2010;10:55–60.
 51. Sarzi-Puttini P, Atzeni F, Gerli R, Bartoloni E, Doria A, Barskova T, et al. Cardiac involvement in systemic rheumatic diseases: an update. *Autoimmun Rev* 2010;9:849–52.
 52. Zampieri S, Adami N, Biral D, Ghirardello A, Rampudda ME, Vecchiato M, et al. Polymyositis, dermatomyositis and malignancy: a further intriguing link. *Autoimmun Rev* 2010;9:449–53.

KOMENTARZ



Prof. dr hab. n. med.

Anna Woźniacka

Katedra i Klinika Dermatologii
i Wenerologii UM, Łódź

W artykule poglądowym zespół reumatologów z Padwy przedstawił wyniki prac przeprowadzonych w ostatnich latach w wiodących laboratoriach na świecie. Badania te dotyczą analizy znaczenia aneksyn, rodziny niskocząsteczkowych białek o zbliżonej strukturze, biorących aktywny udział procesach biochemicznych w organizmie. Analizowano ich rolę, jaką odgrywają w chorobach autoimmunologicznych, i możliwości uznania ich za potencjalne biomarkery. Aneksyny należą do białek, które mogą być oznaczane w materiale biologicznym. Ich udział w patogenezie chorób nie jest jeszcze w pełni potwierdzony. Zapewne nie wszystkie, podobnie jak nie każde przeciwciała przeciwko nim skierowane, znajdują szerokie zastosowanie kliniczne. Niemniej prace oceniające stężenie protein w sytuacjach patologicznych mają ogromne znaczenie nie tylko poznawcze, ale również praktyczne.

Pojęcie „biomarker” wprowadzono do terminologii medycznej 20 lat temu. Obecnie uważa się, że jest to parametr, który daje się obiektywnie zmierzyć i może być zastosowany w ocenie procesów fizjologicznych

oraz patologicznych lub odpowiedzi organizmu na działania terapeutyczne. Markerami są związki chemiczne lub białka, których ocena wskazuje na pewien stan organizmu, np. chorobę. Ostatnio obserwuje się rosnącą rolę biomarkerów we wszystkich prawie dziedzinach medycyny, ale zwłaszcza w onkologii, kardiologii, immunologii czy toksykologii.

Biomarkery są pomocne także w codziennej praktyce lekarskiej, w podejmowaniu decyzji terapeutycznych, monitorowaniu leczenia czy prognozowaniu rozwoju choroby. W wyniku ogromnego postępu wiedzy, jaki dokonuje się na naszych oczach, obok biomarkerów klasycznych pojawiają się wciąż nowe substancje poddawane ocenie w różnych sytuacjach klinicznych.

Biomarkery mogą być wczesnym wskaźnikiem możliwości rozwoju choroby, a więc odgrywają rolę w procesie diagnostycznym. Ich wykrycie i poznanie może przyczynić się do prewencji chorób. Szeroko zakrojone monitorowanie tzw. grup zwiększonego ryzyka może przyczynić się do rozpoznawania choroby na wczesnym etapie.

Istotą badań prowadzonych w ostatnich latach jest określenie białka lub grupy białek, których aktywność biologiczna odzwierciedla stan kliniczny pacjentów, a na podstawie oceny stężeń możliwe byłoby prowadzenie tzw. monitoringu biologicznego. Analiza tkankowa lub płynów ustrojowych zmierza do wykrycia biomarkerów. Te białka mogą stanowić określone ogniwa sekwencji wydarzeń prowadzących do rozwoju choroby. Badając zależności funkcjonalne, zmiany stężeń, możemy poznawać nie tylko elemen-

ty patogenezы choroby, ale również monitorować jej aktywność.

W przypadku wielu chorób proces diagnozowania jest żmudny i może być obarczony pewnym błędem. Perspektywa opracowania testu laboratoryjnego, który pozwoli na precyzyjne ustalenie diagnozy, ocenę aktywności procesu chorobowego lub reakcji na wdrożone leczenie, stwarza nowe nadzieje na dalszy rozwój medycyny. Stąd też tzw. strategia wielomarkerowa w diagnostyce i terapii chorób to wyzwanie na najbliższą przyszłość.

W artykule przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat aneksyn, a także ich ewentualnej roli markera w przebiegu chorób autoimmunologicznych. Dotychczasowe dane wskazują, że największe znaczenie kliniczne mogą mieć aneksyna I, II i V. Aneksyna I wykazuje działanie przeciwzapalne, a obecność skie-

rowanych przeciw niej przeciwciał wykrywana jest istotnie częściej u chorych na toczeń układowy i reumatoidalne zapalenie stawów. Aneksyna II również może stać się celem autoprzeciwciał, które na drodze aktywacji komórek śródbłónka i hamowania produkcji plazminy mogą indukować zmiany zakrzepowe. Podstawowa biologiczna rola aneksyny V związana jest z apoptozą komórkową. Stwierdzenie dużego stężenia aneksyny V w moczu chorych z aktywnym toczniem rumieniowatym – chorobą, której nasilenie pozostaje w ścisłym związku z apoptozą komórkową – może wskazywać na przydatność oznaczania tego białka w różnicowaniu etiologicznie różnych nefropatii.

Zagadnienia przedstawione w pracy są nowe, często kontrowersyjne i niejednoznaczne, ale pokazują nowatorski nurt badań i współczesne trendy światowej nauki.