

Anticorpi anti-citoplasma dei granulociti neutrofili (ANCA)

Antineutrophil cytoplasmic antibodies

G.D. Sebastiani

U.O.C. di Reumatologia, Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini, Roma

SUMMARY

Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) are predominantly IgG autoantibodies directed against constituents of primary granules of neutrophils and monocytes' lysosomes. Although several antigenic targets have been identified, those ANCA directed to proteinase 3 or myeloperoxidase are clinically relevant, whereas the importance of other ANCA remains unknown. Both are strongly associated with small vessel vasculitides, the ANCA-associated vasculitides, which include Wegener's granulomatosis, microscopic polyangiitis, and Churg-Strauss syndrome, and the localised forms of these diseases (eg, pauci-immune necrotising and crescentic glomerulonephritis). ANCA is a useful serological test to assist in diagnosis of small-vessel vasculitides. 85-95% of patients with Wegener's granulomatosis, microscopic polyangiitis, and pauci-immune necrotising and crescentic glomerulonephritis have serum ANCA. ANCA directed to either proteinase 3 or myeloperoxidase are clinically relevant, yet the relevance of other ANCA remains unknown. Besides their diagnostic potential, ANCA might be valuable in disease monitoring. In addition, data seem to confirm the long-disputed pathogenic role of these antibodies. There is increasing evidence that myeloperoxidase-ANCA are directly involved in the pathogenesis of necrotizing vasculitis. This is less clear for proteinase 3-ANCA, markers for Wegener's granulomatosis. With respect to proteinase 3-ANCA, complementary proteinase 3, a peptide translated from the antisense DNA strand of proteinase 3 and homologous to several microbial peptides, may be involved in induction of proteinase 3-antineutrophil cytoplasmic autoantibodies.

Reumatismo, 2009; 61(1):69-76

Gli anticorpi anti-citoplasma dei granulociti neutrofili (ANCA) sono una famiglia di autoanticorpi diretti contro le proteine contenute nel compartimento lisosomiale dei neutrofili e dei monociti. Gli antigeni bersaglio degli ANCA appartengono a varie proteine, ma quelli più importanti in reumatologia sono la proteinasi 3 (PR3) e la mieloperoossidasi (MPO), in quanto gli ANCA diretti verso queste due specificità antigeniche sono strettamente associati con un gruppo di malattie, le vasculiti ANCA-associate. Le vasculiti ANCA-associate sono classificate tra le vasculiti dei vasi di piccolo calibro, secondo la classificazione delle vasculiti sistemiche proposta dalla Consensus Conference di Chapel Hill (1). Le vasculiti ANCA-associate com-

prendono la malattia di Wegener (granulomatosi di Wegener, WG), la sindrome di Churg-Strauss (CS), la poliangiote microscopica (MP) e la forma localizzata al rene della MP, la glomerulonefrite necrotizzante pauci-immune (GNNP). In questa breve rassegna, che fa seguito alla relazione presentata all'ultimo congresso della Società Italiana di Reumatologia (2), verranno esaminati il ruolo patogenetico, i metodi di determinazione, e l'utilità clinica degli ANCA.

RUOLO PATOGENETICO

Gli ANCA hanno un ruolo diretto nella patogenesi delle lesioni vasculitiche. Già nel 1990 Falk aveva dimostrato che gli ANCA determinano il rilascio degli enzimi contenuti nei granuli primari dei neutrofili (3).

Successivamente, è stato documentato che gli ANCA stimolano in vivo il rilascio di citochine e che-

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott. Gian Domenico Sebastiani

Via Eutropio, 24

00136 Roma

E-mail: gsebastiani@scamilloforlanini.rm.it

mochine dai neutrofili, e in vitro l'adesione di queste cellule all'endotelio, mediata dalle integrine, con lisi delle cellule endoteliali. Alcune citochine, quali TNF alfa, IL-1, e IL-18 inducono l'espressione di PR3 e MPO sulla membrana dei neutrofili. L'interazione degli ANCA con i neutrofili avviene sia tramite il legame del frammento F(ab')₂ con gli antigeni espressi sulla membrana cellulare, sia attraverso il legame del frammento Fc con i recettori FcγRIIIa e FcγRIIIb. Inoltre, è stato dimostrato che l'espressione della PR3 sulla membrana dei neutrofili è geneticamente determinata, che il numero dei neutrofili che esprimono PR3 e i livelli di espressione sono incrementati nella WG rispetto ai controlli sani, e che il livello di PR3 espressa correla con la frequenza delle recidive nella WG (4-6).

A conferma dell'importanza degli ANCA nella patogenesi delle vasculiti, gli esperimenti nell'animale di laboratorio. Xiao et al. hanno immunizzato topi knockout per la MPO (che non producono MPO) con MPO murina. Successivamente, hanno trasferito le cellule spleniche di questi topi in topi Rag2(-/-), non immunocompetenti, ottenendo la produzione di ANCA-MPO e lo sviluppo di una vasculite sistemica, con glomerulonefrite necrotizzante e capillarite polmonare. In uno studio successivo gli stessi Autori hanno iniettato ANCA-MPO nei topi Rag2(-/-), ottenendo lo sviluppo di GNNP.

Questi dati forniscono la dimostrazione che gli ANCA-MPO sono in grado di provocare direttamente la GNNP (7). Dati da altri studi forniscono inoltre l'evidenza che il TNF alfa prodotto durante le infezioni induce la migrazione di PR3 e MPO sulla superficie dei neutrofili, che i lipopolisaccaridi (LPS) di origine batterica incrementano il danno

tissutale indotto dagli ANCA-MPO e che l'inibizione del TNF alfa attenua, ma non previene, l'aggravamento della glomerulonefrite necrotizzante indotta dai LPS batterici (8). Tutti questi dati suggeriscono che le vasculiti ANCA-associate sono scatenate dagli ANCA in un ospite reso suscettibile da stimoli proinfiammatori, spesso di origine infettiva.

Una conferma a questa ipotesi deriva dagli studi condotti sugli ANCA diretti contro la glicoproteina lisosomiale di membrana umana denominata hLAMP-2, presentati da Kallenberg al VI International Congress on Autoimmunity svoltosi a Porto nel settembre 2008. La hLAMP2 è presente nei granuli e sulla membrana dei neutrofili e sulla membrana delle cellule endoteliali. Gli anticorpi diretti contro la hLAMP2 producono un pattern ANCA quando testati in immunofluorescenza indiretta sui granulociti neutrofili.

Gli ANCA-hLAMP2 sono molto importanti nella GNNP, in cui hanno una sensibilità del 93% quando la malattia è in fase attiva e del 7% quando la malattia è in remissione. Possiedono inoltre una specificità molto elevata. Gli studi finora condotti dimostrano che anche questi ANCA, al pari degli ANCA-MPO, possiedono un ruolo patogenetico nelle vasculiti.

Infatti, gli anti-hLAMP-2 di coniglio inducono GNNP nel ratto. Inoltre, anticorpi monoclonali anti-hLAMP-2 attivano i neutrofili e danneggiano le cellule endoteliali umane. È interessante notare che 8/9 aminoacidi dell'epitopo immunodominante di hLAMP-2 sono identici alla sequenza della proteina FimH dei batteri gram-negativi, e che l'immunizzazione di ratti con FimH risulta nella produzione di anticorpi che cross-reagiscono con hLAMP-2 e inducono GNNP. Questi dati raffor-

Tabella 1 - Ruolo controverso degli ANCA-PR3 nella patogenesi delle vasculiti: argomenti a favore e contrari.

<i>Argomenti a favore</i>	<i>Argomenti contro</i>
Topi PR3 -/- immunizzati con cPR3 murina ricombinante: produzione di Ab anti-cPR3 e Ab anti-PR3	Il transfer degli anti-PR3 a topi naive non provoca vasculite
Anti-PR3 si legano alla PR3 sulla superficie dei PMN	Anti-PR3 di ratto non inducono vasculite nel ratto, anche dopo stimolazione con LPS
Molecular mimicry tra peptidi dello <i>S. aureo</i> e cPR3	
Il numero dei neutrofili che esprimono PR3 e i livelli di espressione sono incrementati nella WG rispetto ai controlli sani	
cPR3: peptide complementare della PR3, di origine endogena o esogena (sequenze di peptidi dello <i>S. aureo</i>).	

Tabella II - Fattori genetici associati alla produzione di ANCA.

Gene	Fenotipo	Possibile effetto
Polimorfismo nel gene promotore PR3	Elevata espressione PR3 membrana PMN	Legame PR3-ANCA con neutrofili facilitato
Allele difettivo del gene SERPINA1 alfa1 antitripsina	Bassi livelli alfa1 antitripsina	Minore inibizione PR3
Polimorfismi Fc-gamma IIa e IIIa	Deficit clearance batterica	Infezione nasale cronica S. aureo
Polimorfismo gene CD18	Elevati livelli CD18	Maggior adesione dei neutrofili all'endotelio
Polimorfismi geni C3 e C4	bassi livelli C3 e C4	Effetto proinfiammatorio
Polimorfismo gene IL-10	Maggior produzione autoanticorpi	Effetto proinfiammatorio
Polimorfismo geni IFN gamma e TNF alfa	Maggior espressione citochine	Effetto proinfiammatorio
Polimorfismo gene CTLA4	Risposta immune iperattiva	Effetto proinfiammatorio
HLA-DPB1*0401/RXRBO3	presentazione antigeni?	Effetto proinfiammatorio

zano l'ipotesi che le infezioni svolgono un ruolo patogenetico importante nelle vasculiti ANCA-associate. L'importanza dei fattori infettivi nelle vasculiti deriva anche dalle osservazioni dei rapporti tra Stafilococco aureo e WG. È noto infatti che l'infezione nasale cronica da S. aureo induce la persistenza degli ANCA nella WG ed è fattore di rischio per le recidive della malattia, forse a causa del mimetismo molecolare tra peptidi dello S. aureo e PR3 (9). Tuttavia, il ruolo patogenetico degli ANCA-PR3 non è altrettanto chiaro. Infatti, se alcune evidenze depongono per un ruolo patogenetico di questi autoanticorpi, altri dati lo smentiscono (Tab. I). Sulla base di queste differenze, c'è chi propone di distinguere ulteriormente, nell'ambito delle vasculiti ANCA-associate, quelle mediate dagli anti-MPO da quelle mediate dagli anti-PR3 (10).

Due sono le teorie più accreditate sul perché vengono prodotti gli ANCA. La prima ipotizza la formazione di anticorpi diretti verso molecole prodotte da agenti infettivi, che per mimetismo molecolare reagiscono anche contro molecole endogene. A supporto di questa teoria c'è l'osservazione che spesso la granulomatosi di Wegener è associata ad una infezione da Stafilococco aureo a livello nasale. Altri ricercatori suggeriscono invece che la presenza degli ANCA è legata ad una apoptosi difettosa dei neutrofili.

Durante l'apoptosi, infatti, i costituenti dei granuli primari migrano sulla superficie della cellula. In determinate circostanze, come ad esempio duran-

Tabella III - Fattori ambientali associati alla produzione di ANCA.

- Polvere di silicio
- Solventi
- Allergeni
- Asbesto
- Pesticidi
- Cocaina (elastasi-ANCA, PR3-ANCA)
- Farmaci: propiltiouracile, idralazina, metimazolo, D-penicillamina, minociclina. ANCA con più specificità

te un processo infettivo, le cellule dendritiche possono presentare gli autoantigeni ai linfociti T, innescando così la produzione di autoanticorpi diretti contro i costituenti dei granuli dei neutrofili. Il TNF α avrebbe in questo caso un ruolo importante nel condizionare la risposta dei linfociti T. L'ipotesi al momento più accreditata è che sia necessaria la contemporanea presenza degli ANCA e di stimoli pro-infiammatori, più spesso di origine infettiva, per lo sviluppo del processo vasculitico. Inoltre, sono importanti fattori predisponenti genetici (Tab. II) e ambientali (Tab. III).

METODI DI DETERMINAZIONE

Le metodiche più utilizzate per la determinazione degli ANCA sono due: l'immunofluorescenza indiretta su granulociti (IIF) e la metodica ELISA per la valutazione delle singole specificità antigeniche (11).

Con l'IIF su granulociti fissati in etanolo si possono riconoscere 2 differenti quadri fluoroscopici principali: un *pattern* citoplasmatico con accentuazione dell'intensità della fluorescenza fra i lobi nucleari (C-ANCA) e un *pattern* perinucleare/nucleare (P-ANCA).

Accanto ai due *pattern* principali si possono riconoscere quadri fluoroscopici diversi, caratterizzati talvolta da una fluorescenza citoplasmatica diffusa omogenea senza accentuazione interlobulare (C-ANCA atipico), talaltra da *pattern* mal definibili (ANCA atipico) (12, 13).

Il principale antigene associato con il *pattern* C-ANCA è la proteinasi 3. Questi anticorpi (C-ANCA) si ritrovano nel siero di pazienti affetti da granulomatosi di Wegener e, in misura minore, in soggetti con altre forme di vasculite. Va comunque precisato che non tutti i sieri C-ANCA reagiscono con la PR3 nei test immunoenzimatici (ELISA).

L'antigene più comunemente responsabile del *pattern* P-ANCA è la mieloperossidasi. Più raramente anticorpi anti-lattoferrina, anti-elastasi, anti-catepsina G ed altri ancora possono dare lo stesso quadro fluoroscopico. Il *pattern* P-ANCA, quando associato alla presenza di MPO-ANCA, suggerisce la diagnosi di MP, GNNP, CS e, con minor probabilità, WG. Lo stesso *pattern*, quando si associa a specificità antigeniche differenti dalla MPO, può riscontrarsi in malattie diverse dalle vasculiti, quali ad esempio le malattie infiammatorie intestinali croniche.

Il *pattern* C-ANCA atipico è in genere specifico per la BPI (bactericidal/permeability-increasing protein), e si può riscontrare nelle infezioni croniche. Poiché alcuni sieri negativi all'IIF sono positivi in ELISA, e viceversa, per una valutazione completa occorre effettuare entrambi i test. L'algoritmo condiviso per la determinazione degli ANCA prevede i seguenti passaggi:

- 1) screening con immunofluorescenza indiretta;
- 2) positività all'IIF: ELISA per PR3 e MPO;
- 3) follow-up del paziente con il test positivo.

UTILITÀ CLINICA

In presenza di manifestazioni cliniche che suggeriscono una diagnosi di vasculite ANCA-associata la dimostrazione degli ANCA nel siero del paziente ha un'elevata sensibilità (>80%) e specificità (>95%) per queste malattie, con un valore predittivo molto più elevato che in altre situazioni clini-

Tabella IV - Manifestazioni cliniche che debbono indurre la ricerca degli ANCA.

- Artralgie/mialgie a carattere flogistico non altrimenti giustificabili.
- Decadimento delle condizioni generali non altrimenti giustificabile.
- Incremento indici di flogosi non altrimenti spiegabile.
- Porpora palpabile, vasculite cutanea.
- Ulcere o gangrena digitale.
- Mononevrite o polineuropatia.
- Emorragia polmonare, sindrome polmonare/renale.
- Ematuria o proteinuria, glomerulonefrite.
- Nodulo o noduli polmonari.
- Manifestazioni erosive della mucosa nasale.
- Sinusite, otite cronica non infettiva.
- Massa retro-orbitaria.

che, per esempio quando la ricerca sia effettuata in pazienti ospedalizzati, a prescindere dal quadro clinico (14).

Al contrario, in assenza di un quadro clinico suggestivo di vasculite, la ricerca indiscriminata di questi autoanticorpi non riveste alcun significato clinico, in quanto possono essere riscontrati in molte altre malattie diverse dalle vasculiti. Nella tabella IV sono elencate le situazioni cliniche che debbono indurre a sospettare la diagnosi di vasculite e, di conseguenza, a richiedere la determinazione degli ANCA.

ANCA nelle vasculiti

Le migliori *performance* diagnostiche degli ANCA si riescono ad ottenere quando la metodica di immunofluorescenza indiretta viene affiancata dalle metodiche ELISA PR3 e MPO specifiche. Questo è stato dimostrato in diversi studi prospettici e recentemente confermato da una meta-analisi (15, 16).

Quando è utilizzata una corretta metodologia, gli ANCA (C-ANCA + PR3-ANCA o P-ANCA + MPO-ANCA) hanno una elevata sensibilità (85,5%) ed una ottima specificità (98,5%) per la diagnosi di vasculite ANCA-associata.

In particolare, l'80-90% dei pazienti con WG generalizzata in fase di attività sono ANCA positivi. Circa l'80% sono C-ANCA con specificità per la PR3 e i rimanenti 20% sono P-ANCA diretti contro la MPO (17).

La percentuale di ANCA positività si riduce significativamente nei pazienti con forme loco-regionali di WG (circa 50%) e in fase di inattività della malattia.

La frequenza di ANCA positività è simile (80%) nei pazienti con MP o GNNP. In 2/3 dei casi si tratta però, a differenza di quanto riscontrato nella WG, di P-ANCA con specificità per la MPO e in 1/3 di C-ANCA/PR3-ANCA (17).

Nella CS la percentuale di pazienti ANCA positivi varia dal 40 al 60-70% nelle poche casistiche pubblicate. Anche nella CS c'è una netta prevalenza di P-ANCA.

ANCA, in genere P-ANCA/MPO-ANCA, sono presenti anche nel 10-20% dei pazienti con sindrome di Goodpasture o glomerulonefrite da anticorpi anti-membrana basale glomerulare. Questi pazienti avrebbero anche manifestazioni cliniche di tipo vasculitico e tenderebbero a recidivare (18).

P-ANCA con molteplici specificità antigeniche (MPO, lattoferrina, elastasi) vengono descritti con crescente frequenza in corso di vasculiti indotte da farmaci quali propiltiouracile, minociclina, idralazina (19).

Il livello serico degli ANCA correla generalmente con l'attività della malattia anche se le eccezioni non sono rare. La persistenza o la ricomparsa degli ANCA nei pazienti in remissione clinica da meno di un anno è associata alla recidiva della vasculite, mentre il rischio di recidiva è molto basso nei pazienti in cui gli ANCA sono persistentemente negativi (20). Molti studi, per lo più retrospettivi, hanno valutato il numero di pazienti che presentano una recidiva clinica dopo l'aumento del titolo degli ANCA nel siero.

La conclusione cui si è giunti è che la recidiva non si verifica dopo un aumento della concentrazione sierica degli ANCA nel 42% dei casi quando la metodica utilizzata è l'IF, nel 25% dei casi con la metodica ELISA (21). Pertanto non è giustificato sottoporre i pazienti in remissione ai rischi della terapia immunosoppressiva basandosi soltanto sul dato laboratoristico dell'incremento del titolo degli ANCA. In tal caso, è opportuno monitorizzare con assiduità i parametri clinici allo scopo di intervenire sollecitamente qualora si assista ad una recidiva dei sintomi.

Generalmente gli ANCA, almeno quelli di riconosciuto significato clinico, sono di classe IgG.

ANCA, prevalentemente di classe IgA, sono stati descritti da alcuni Autori in pazienti con porpora di Schonlein-Henoch, ma tale dato non è stato confermato da altri gruppi.

Gli ANCA sono generalmente negativi anche in altre vasculiti primarie quali la poliarterite nodosa classica, l'arterite gigante-cellulare (temporale), l'arterite di Takayasu, la sindrome di Kawasaki, la

vasculite crioglobulinemica, la vasculite leucocitoclastica cutanea e la malattia di Behcet. La segnalazione di ANCA-IgM isolati, in corso di sindromi polmonari-renali, non ha avuto conferme.

ANCA nelle malattie infiammatorie intestinali croniche (IBD) e nelle epatopatie autoimmuni

ANCA sono presenti nel 50-70% dei pazienti con colite ulcerosa, solo nel 10-30% dei pazienti affetti da morbo di Crohn e ancora più raramente in altre patologie gastro-intestinali (13). All'immunofluorescenza indiretta il pattern prevalente è P-ANCA o ANCA atipico.

Il pattern P-ANCA nella colite ulcerosa presenta alcune peculiarità, è generalmente assente l'estensione nucleare della fluorescenza, spesso presente nei P-ANCA/MPO positivi delle vasculiti.

In realtà, utilizzando un microscopio confocale, sarebbe possibile rilevare dei foci multipli intranucleari fluorescenti associati, in alcuni casi, ad uno *staining* nucleare periferico (*rim-like*) e, in altri, ad uno *staining* nucleare periferico combinato con una fluorescenza citoplasmatica. Tali foci intranucleari fluorescenti non sarebbero dimostrabili nei P-ANCA delle vasculiti.

I P-ANCA della colite ulcerosa, a differenza dei P-ANCA delle vasculiti, non riconoscono come bersaglio antigenico la MPO ma uno o più antigeni non ancora identificati.

Tra gli antigeni proposti come possibili *target* ci sono la catepsina G, la lattoferrina, il lisozima, la bactericidal/permeability-increasing protein (BPI), le proteine cromosomiche non istoniche HMG1 e 2 ed altre ancora. Nessuno di questi si è però confermato in modo convincente come antigene maggiore.

Evidenze recenti sembrerebbero indicare che in realtà i P-ANCA della colite ulcerosa riconoscono un antigene nucleare o nucleo-associato. In questo caso il termine "ANCA" sarebbe perlomeno inaccurato e dovrebbe essere sostituito da quello di anticorpi anti-nucleo granulocita specifici (GS-ANA). In ambito clinico, la ricerca degli ANCA può essere di aiuto nei casi di malattia infiammatoria intestinale cronica in cui non è possibile stabilire con certezza la diagnosi di Crohn o, in alternativa, di colite ulcerosa. In tali circostanze la positività degli ANCA pesa a favore della diagnosi di colite ulcerosa, mentre la presenza di anticorpi anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA), suggerisce la diagnosi di Crohn (22).

Gli ANCA nella colite ulcerosa non si correlano

con l'estensione e/o l'attività della malattia anche se, secondo alcuni, livelli elevati di P-ANCA prima della colectomia sarebbero significativamente associati allo sviluppo di *pouchite* (recidiva di malattia a livello della tasca anastomotica ileo-anale) post-intervento.

Inoltre P-ANCA si ritroverebbero anche in familiari sani di pazienti con colite ulcerosa, rafforzando l'ipotesi che la loro presenza sia più espressione di un *marker* genetico che non un fattore patogenetico della malattia.

P-ANCA o ANCA atipici sono presenti anche in oltre il 70% dei pazienti con colangite sclerosante, patologia spesso associata alla colite ulcerosa e in una percentuale inferiore di pazienti affetti da epatite autoimmune e cirrosi biliare primitiva. Nel caso dell'epatite autoimmune di tipo I il bersaglio antigenico sarebbe costituito dall'actina.

ANCA nelle malattie reumatiche autoimmuni

ANCA sono stati descritti in diverse malattie reumatiche autoimmuni tra cui l'artrite reumatoide (23, 24), il lupus eritematoso sistemico (25, 26), la sclerodermia (27, 28). Molto spesso si tratta di falsi positivi legati alla presenza di anticorpi anti-nucleo, assai comuni in queste patologie, che possono mostrare un aspetto simile ai P-ANCA. Nei casi di vera ANCA-positività prevale il *pattern* perinucleare o atipico.

Generalmente i P-ANCA descritti nell'artrite reumatoide, nel lupus, nella sclerodermia ed in altre malattie reumatiche non sono diretti verso la MPO ma verso altri antigeni quali la lattoferrina, la capestina G, la BPI ed altri non ancora identificati.

Comunque, molto raramente, P-ANCA/MPO-ANCA sono stati riscontrati in pazienti con lupus e sclerodermia. I pazienti con sclerodermia e P-ANCA/MPO-ANCA positivi si presenterebbero clinicamente con una sindrome di *overlap* sclerodermia-MPA. Recentemente sono stati segnalati in questa malattia sporadici casi di P-ANCA positivi per la PR3, il cui significato clinico è ancora oggetto di studio.

Nelle altre malattie reumatiche la positività degli ANCA non avrebbe un particolare significato clinico con l'eccezione, forse, di una maggior frequenza di vasculite reumatoide nei pazienti con artrite reumatoide ANCA/lattoferrina positivi.

ANCA in altre patologie

ANCA, in genere con *pattern* C-ANCA omogeneo o atipico, sono stati descritti in una elevata percentuale (40-70%) di bambini con mucoviscidosi (fibrosi cistica).

Il target antigenico è rappresentato, nella quasi totalità dei casi, dalla BPI (29). La presenza di anticorpi anti-BPI nei pazienti con fibrosi cistica è correlata alle infezioni batteriche croniche tipiche di questa malattia.

ANCA, per lo più con *pattern* atipico, sono stati sporadicamente segnalati in numerose patologie infettive. Nella maggior parte dei casi si tratta di falsi positivi o di ANCA diretti verso antigeni non noti. È comunque opportuno sottolineare che ANCA (PR3 o MPO-ANCA+) sono stati ritrovati in malattie infettive, quali l'endocardite infettiva, che possono entrare in diagnosi differenziale con le vasculiti (30).

RIASSUNTO

Gli anticorpi anti-citoplasma dei granulociti neutrofili (ANCA) sono una famiglia di autoanticorpi diretti contro le proteine contenute nel compartimento lisosomiale dei neutrofili e dei monociti. Gli antigeni bersaglio degli ANCA appartengono a varie proteine, ma quelli più importanti in reumatologia sono la proteinasi 3 (PR3) e la mieloperossidasi (MPO), in quanto gli ANCA diretti verso queste due specificità antigeniche sono strettamente associati con un gruppo di malattie, le vasculiti ANCA-associate. Gli ANCA hanno un ruolo patogenetico diretto nelle lesioni vasculitiche, come dimostrato da numerosi studi, tra cui assumono particolare rilievo quelli condotti in vivo negli animali. L'utilità clinica degli ANCA è notevole quando questi autoanticorpi vengono ricercati nel contesto clinico appropriato, mentre il test non ha alcun significato clinico se eseguito indiscriminatamente senza tener conto della sintomatologia. Nelle vasculiti ANCA-associate la sensibilità e la specificità del test sono molto elevate. Inoltre, il titolo degli ANCA correla abbastanza bene con l'attività di malattia.

Parole chiave - ANCA, glomerulonefrite necrotizzante pauci-immune, malattia di Wegener, poliangiite microscopica, sindrome di Churg-Strauss, vasculiti.

Key words - ANCA, Churg-Strauss syndrome, microscopic polyangiitis, pauci-immune necrotising glomerulonephritis, vasculitis, Wegener's granulomatosis.

BIBLIOGRAFIA

1. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 187-92.
2. Sebastiani GD. Diagnostica sierologica delle vasculiti: il ruolo degli ANCA. *Reumatismo* 2008; 60 (n.spec 1): 157-60.
3. Falk RJ, Terrell RS, Charles LA, Jennette JC. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4115-9.
4. van Rossum AP, Rarok AA, Huitema MG, Fassina G, Limburg PC, Kallenberg CG. Constitutive membrane expression of proteinase 3 (PR3) and neutrophil activation by anti-PR3 antibodies. *J Leukoc Biol* 2004; 76: 1162-70.
5. Rarok AA, Stegeman CA, Limburg PC, Kallenberg CG. Neutrophil membrane expression of proteinase 3 (PR3) is related to relapse in PR3-ANCA-associated vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2232-8.
6. Schreiber A, Busjahn A, Luft FC, Kettritz R. Membrane expression of proteinase 3 is genetically determined. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 68-75.
7. Xiao H, Heeringa P, Hu P, Liu Z, Zhao M, Aratani Y, et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies specific for myeloperoxidase cause glomerulonephritis and vasculitis in mice. *J Clin Invest* 2002; 110: 955-63.
8. Huugen D, Xiao H, van Esch A, Falk RJ, Peutz-Kootstra CJ, Buurman WA, et al. Aggravation of antimyeloperoxidase antibody-induced glomerulonephritis by bacterial lipopolysaccharide: role of tumor necrosis factor- α . *Am J Pathol* 2005; 167: 47-58.
9. Stegeman CA, Tervaert JW, Sluiter WJ, Manson WL, de Jong PE, Kallenberg CG. Association of chronic nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and higher relapse rates in Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med* 1994; 120: 12-7.
10. Kallenberg CG, Heeringa P, Stegeman CA. Mechanisms of Disease: pathogenesis and treatment of ANCA-associated vasculitides. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006; 2: 661-70.
11. Vassilopoulos D, Niles JL, Villa-Forte A, Arroliga AC, Sullivan EJ, Merkel PA, et al. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with various pulmonary diseases or multiorgan dysfunction. *Arthritis Rheum* 2003; 49: 151-5.
12. Savage J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, et al. International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol* 1999; 111: 507-13.
13. Savage J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jennette JC, et al. International Group for Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). Addendum to the International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am J Clin Pathol* 2003; 120: 312-8.
14. Falk RJ, Jennette JC. Thoughts about the classification of small vessel vasculitis. *J Nephrol* 2004; 17: S3-9.
15. Sinico RA, Radice A, Pozzi C, Ferrario F, Arrigo G. Diagnostic significance and antigen specificity of antineutrophil cytoplasmic antibodies in renal diseases. A prospective multicentre study. Italian Group of Renal Immunopathology. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 505-10.
16. Choi HK, Liu S, Merkel PA, Colditz GA, Niles JL. Diagnostic performance of antineutrophil cytoplasmic antibody tests for idiopathic vasculitides: metaanalysis with a focus on antimyeloperoxidase antibodies. *J Rheumatol* 2001; 28: 1584-90.
17. Wiik A. Rational use of ANCA in the diagnosis of vasculitis. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41: 481-3.
18. Levy JB, Hammad T, Coulthart A, Dougan T, Pusey CD. Clinical features and outcome of patients with both ANCA and anti-GBM antibodies. *Kidney Int* 2004; 66: 1535-40.
19. Slot MC, Links TP, Stegeman CA, Tervaert JW. Occurrence of antineutrophil cytoplasmic antibodies and associated vasculitis in patients with hyperthyroidism treated with antithyroid drugs: A long-term followup study. *Arthritis Rheum* 2005; 53: 108-13.
20. Stegeman CA. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) levels directed against proteinase-3 and myeloperoxidase are helpful in predicting disease relapse in ANCA-associated small-vessel vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 2077-80.
21. Schmitt WH, van der Woude FJ. Clinical applications of antineutrophil cytoplasmic antibody testing. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16: 9-17.
22. Wiik A. Neutrophil-specific autoantibodies in chronic inflammatory bowel diseases. *Autoimmun Rev* 2002; 1: 67-72.
23. Bosch X, Llena J, Collado A, Font J, Mirapeix E, Ingelmo M, et al. Occurrence of antineutrophil cytoplasmic and antineutrophil (peri)nuclear antibodies in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1995; 22: 2038-45.
24. Afeltra A, Sebastiani GD, Galeazzi M, Caccavo D, Ferri GM, Marcolongo R, Bonomo L. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in synovial fluid and in serum of patients with rheumatoid arthritis and other types of synovitis. *J Rheumatol* 1996; 23: 10-5.
25. Schnabel A, Csernok E, Isenberg DA, Mrowka C, Gross WL. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in systemic lupus erythematosus. Prevalence, specificities, and clinical significance. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 633-7.
26. Galeazzi M, Morozzi G, Sebastiani GD, Bellisai F, Marcolongo R, Cervera R, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in 566 European patients with systemic lupus erythematosus: prevalence, clinical associations and correlation with other autoantibodies. European Concerted Action on the Immunogenetics of SLE. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 541-6.
27. Bellisai F, Morozzi G, Bacarelli MR, Radice A, Sinico RA, Sebastiani GD, et al. Anti-proteinase 3 anti-

- bodies in diffuse systemic sclerosis (SSc) with normotensive renal impairment: is it suggestive for an overlapping between SSc and idiopathic vasculitis? *Reumatismo* 2001; 53: 33-39.
28. Ruffatti A, Sinico RA, Radice A, Ossi E, Cozzi F, Tonello M, et al. Autoantibodies to proteinase 3 and myeloperoxidase in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2002; 29: 918-23.
29. Carmona E, Perez-Aguilar F, Lopez JA, Ferrer-Calvente J, Sanchez-Cuenca JM. Anti-neutrophil-cytoplasmic auto-antibodies (ANCA) in 105 patients (56 adults and 49 children) suffering from cystic fibrosis, attending a Spanish hospital. *J Intern Med* 2002; 252: 281-2.
30. Choi HK, Lamprecht P, Niles JL, Gross WL, Merkel PA. Subacute bacterial endocarditis with positive cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-proteinase 3 antibodies. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 226-31.