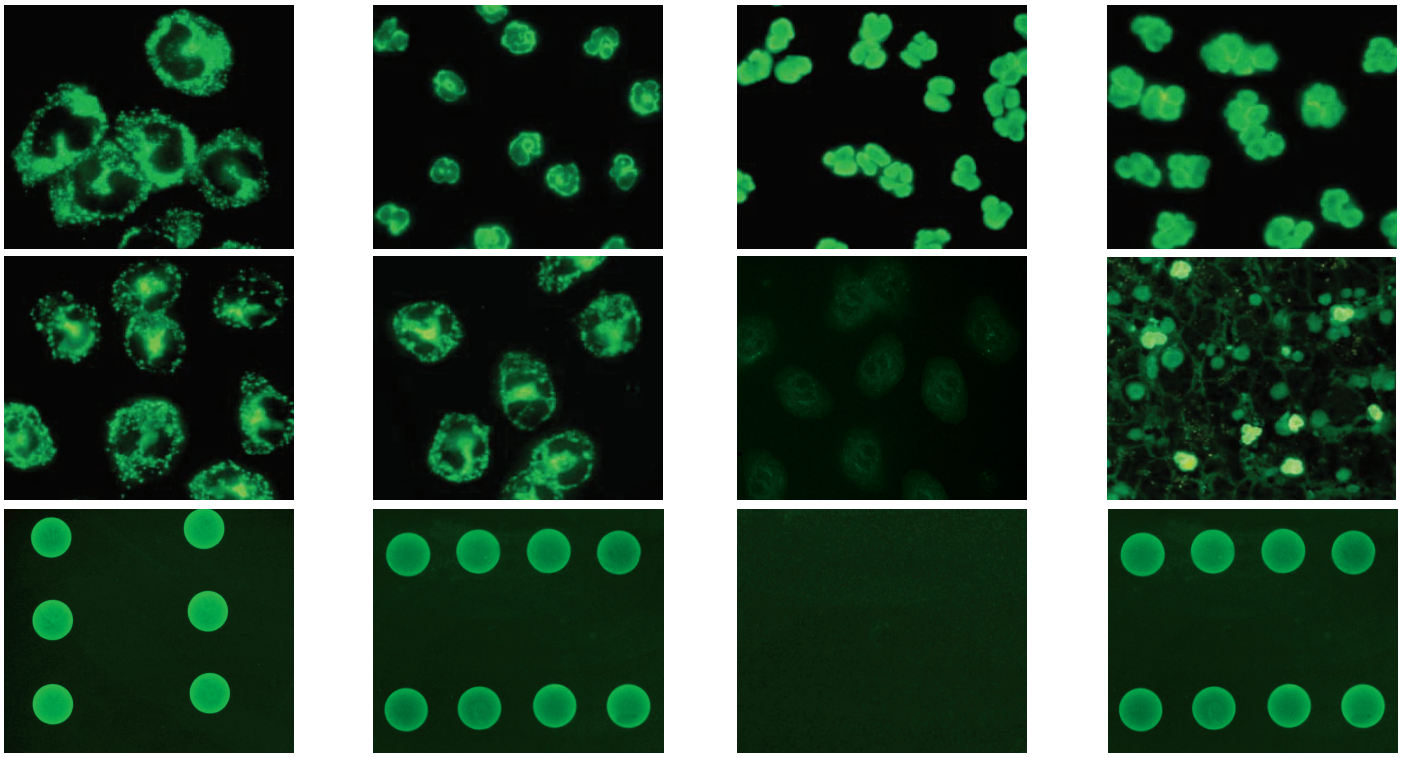
Przeciwciała przeciwko granulocytom (cANCA, pANCA).

Mozaika EUROPLUS BIOCHIP zawierająca granulocyty utrwalone etanolem, formaldehydem, wątrobę małpy, komórki HEp-2 oraz PR3 i MPO.



Granulocyty EOH/HCHO
PR3: anty-proteinaza 3 (cANCA)

Granulocyty EOH/HCHO
MPO: anty-mieloperok. (pANCA)

Granulocyty EOH/HCHO
MPO/PR3 negatywne, ANA

Granulocyty EOH/wątroba małpy
MPO: ANA i anty-mieloperok.

Diagnostyka przeciwciał przeciwko granulocytom obojętnochłonnym (ANCA) opiera się na immunofluorescencji pośredniej i jest uzupełniana przez monospecyficzne testy ELISA i immunoblot. Standardowym substratem dla immunofluorescencji są **ludzkie granulocyty utrwalone etanolem,** które umożliwiają różnicowanie dwóch typów ANCA: **cytoplazmatyczny (cANCA)** - związany z granulomatozą Wegenera i **perinuklearny (pANCA)** - wskazujący na spektrum różnych chorób.

Granularny typ fluorescencji wywołany przez **cANCA** odpowiada proteinazie 3. Jednakże typ cANCA może być również wywołany przez przeciwciała przeciwko Bactericidal Permeability Increasing Protein (BPI, CAP 57) oraz przeciw mieloperoksydazie, którym zwykle odpowiada typ pANCA.

Linijny, okołojądrowy typ fluorescencji **pANCA** jest wynikiem dyfuzji antygenów z ziarnistości do błony jądrowej, do której mają duże powinowactwo. Formaldehyd fiksuje je w ziarnistościach. Docelowymi antygenami pANCA są mieloperoksydaza (MPO), elastaza granulocytowa, laktoferryna, lizozym, katepsyna G, beta-glukuronidaza, azurocydyna, h-lamp-2, alfa-enolaza i defensyna.

Granulomatoza Wegenera jest przewlekłą chorobą przebiegającą z gorączką i wytwarzaniem ziarniniaków, przede wszystkim w jamie nosowo-gardłowej, płucach i nerkach. Odkąd bada się **cANCA**, identyfikuje się trzykrotnie więcej przypadków granulomatozy niż przedtem. W aktywnym stadium cANCA występują w ponad 90%, zaś w remisji w 30-40% przypadków. Miano przeciwciał koreluje jest z kliniczną aktywnością choroby. Badanie umożliwia decydujące o życiu różnicowanie między recydywą a sepsą, która może być następstwem agresywnej immunosupresji.

Przeciwciała przeciwko mieloperoksydazie, które występują w postaci **pANCA**, mogą również wskazywać na ostre, groźne dla życia schorzenia, które odpowiadają na leczenie immunosupresyjne (Gromerulonephritis rapid-progressiva, Polyangiitis microscopica i inne formy zapalenia naczyń). Dlatego w ostrych przypadkach badania serologiczne cANCA i pANCA powinny należeć do **pogotowia laboratoryjnego**.

Również w przebiegu Colitis ulcerosa, Cholangitis scleroticans i innych chorób stwierdza się obecność pANCA, które skierowane są przeciwko innym, częściowo jeszcze niezidentyfikowanym, antygenom.

W immunofluorescencji czasami trudno jest odróżnić **pANCA** od **przeciwciał przeciwjądrowych (ANA)**, dlatego kolejnym substratem jest BIOCHIP zawierający **wątrobę małpy**. Ponieważ na tym samym polu znajdują się jądra hepatocytów i granulocyty w sinusoidach, można zidentyfikować oba przeciwciała równocześnie:w tym wypadku fluorescencja jąder neutrofili jest wyraźnie intensywniejsza niż jąder hepatocytów. Poza tym, substratem mogą być **ludzkie komórki nabłonkowe (HEp-2)** i granulocyty. Dzięki technologii BIOCHIP nie jest już konieczna oddzielna inkubacja ludzkich komórek nabłonkowych w celu wykluczenia przeciwciał przeciwjądrowych.

Ponieważ przeciwciała przeciwko jądrom komórkowym mogą zatuszować typ pANCA, dodaje się czwarty BIOCHIP zawierający **ludzkie granulocyty utrwalone formaldehydem**, który pozwala na wykrycie części pANCA (szczególnie przeciwciała przeciwko MPO), podczas gdy prawie wszystkie przeciwciała przeciwjądrowe są zupełnie stłumione.

Firma EUROIMMUN opracowała system **EUROPLUS**: stanowi on kombinację utrwalonych na szkiełkach skrawków tkanek, komórek oraz biochip zawierający nakropione na szkiełko pojedyncze antygeny. W diagnostyce ANCA, na szkiełko nakropiono antygeny PR3 i MPO, które w przypadku obecności skierownych przeciwko nim przeciwciał, wykazują jasne świecenie na ciemnym tle. Dzięki temu, przeciwciała przeciw PR3 i MPO mogą być wykrywane jednocześnie, umożliwiając błyskawiczną diagnozę w nagłych przypadkach. Wyniki otrzymane z wykorzystaniem tego testu korelują w 98% przypadków z wynikami EUROIMMUN ELISA.