

AUTOANTICUERPOS Y VASCULITIS SISTEMICAS

Autoantibodies and Systemic vasculitis

Paula Alba*, Maria Laura Bertolacini**, Munther A Khmashta ***

Introducción

El término vasculitis incluye un grupo heterogéneo de enfermedades que tienen en común la lesión inflamatoria de los vasos sanguíneos. La evolución de este proceso inflamatorio conduce a la isquemia o, en ocasiones, hemorragia de los órganos dependientes de esos vasos. La localización de los vasos y los tejidos afectados van a determinar la aparición de una amplia variedad de manifestaciones clínicas y, por tanto, de un pronóstico también muy variable⁽¹⁾.

Las distintas entidades agrupadas bajo el término de vasculitis incluyen la granulomatosis de Wegener, el síndrome de Churg-Strauss, panarteritis nodosa clásica, poliangeítis microscópica, enfermedad de Kawasaki y vasculitis leucocito clásticas que afectan predominantemente a vasos de mediano y pequeño tamaño. La arteritis de células gigantes y la arteritis de Takayasu afectan sobre todo a vasos de gran tamaño. Podemos encontrar vasculitis primarias (sin asociación con otra enfermedad subyacente) o secundarias tanto a procesos infecciosos como a enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, etc.).

Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo (ANCA) fueron descritos inicialmente por Davies et al.⁽²⁾ en pacientes con glomerulonefritis. Están dirigidos contra enzimas presentes en los gránulos azurófilos de los neutrófilos^(3,4). Trabajos posteriores han confirmado su asociación con la granulomatosis de Wegener^(5,6), con la poliangeítis microscópica, glomerulonefritis idiopática necrotizante y otras enfermedades

autoinmunes⁽⁷⁻⁹⁾. Cuadro 1

Cuadro 1 *Enfermedades asociadas a la presencia de anticuerpos*

- Anticitoplasma de neutrófilo (ANCA)
- Granulomatosis de Wegener
- Poliangeítis microscópica
- Síndrome de Churg-Strauss
- Enfermedad de Takayasu
- Enfermedad de Behçet
- Lupus eritematoso sistémico
- Lupus inducido por hidralazina

Los anticuerpos anticélula endotelial (AAE) se han hallado en una amplia variedad de enfermedades con distinto grado de afectación vascular (vasculitis sistémicas, enfermedades del tejido conectivo, síndrome hemolítico urémico, rechazo de injertos, etc.). Fueron descritos por Leung et al.⁽⁸⁾ En el suero de pacientes con enfermedad de Kawasaki, durante la fase aguda. Aún no está caracterizado el antígeno contra el que van dirigidos estos anticuerpos. En este capítulo nos centraremos en el papel patogénico de estos anticuerpos en aquellas vasculitis a las que se les ha asociado y en su utilidad para el diagnóstico y el tratamiento de estas entidades

Clasificación de las Vasculitis

Los intentos de clasificación de todas las entidades han sido numerosos. La mayoría se han basado en el tamaño de los vasos; así, la de Fauci contempla criterios clínicos y ha sido una de las más utilizadas. En 1990, el Colegio Americano de

*Hospital Córdoba. Càtedra de Medicina I UHMI 3. Universidad Nacional de Córdoba **,**Lupus Research Unit, The Rayne Institute, Division of Women's Health, King's College London and *** Louise Coote Lupus Unit, Guy's and St Thomas' NHS Foundation Trust, St Thomas' Hospital, London, UK

Reumatología desarrolló un sistema de clasificación basado en la sensibilidad y especificidad de los datos de pacientes que presentaban formas bien definidas de las distintas vasculitis ⁽¹⁰⁾. Esta clasificación es útil desde el punto de vista epidemiológico y para estandarizar grupos de pacientes, pero no supone una gran ayuda para que el clínico pueda hacer un diagnóstico preciso en un paciente, sobre todo en los estadios iniciales de la enfermedad. En 1994, se reunió un comité de expertos formado por clínicos y patólogos en la Reunión Internacional de Consenso de Chapel Hill con el objetivo de acordar una nomenclatura para las vasculitis sistémicas ⁽¹¹⁾. El motivo de aquella reunión, fue tratar de estandarizar las definiciones y los términos diagnósticos que hasta entonces se venían aplicando a las vasculitis. La clasificación surgida de esta reunión Cuadro 2, aporta algunas novedades como el establecimiento de la poliangeítis microscópica como una entidad distinta de la panarteritis nodosa clásica, o el abandono del término vasculitis por hipersensibilidad ⁽¹²⁾.

Aunque para algunos autores esta clasificación ha reducido la confusión sobre la nomenclatura, otros han encontrado puntos controvertidos como la definición de la poliangeítis microscópica. La incorporación de la presencia de los ANCA a los criterios de clasificación podría ser de utilidad para la diferenciación de las vasculitis sistémicas de pequeños vasos ^(13,14).

Una encuesta realizada a un panel internacional de expertos reflejó que existe controversia en relación al uso de los Criterios ACR y las definiciones de Chapel Hill. Recientemente, La liga Europea contra el reumatismo (EULAR) en un consenso de expertos, considerò reevaluar los criterios de definición, diagnóstico y clasificación. ⁽¹⁶⁾.

Papel de los Autoanticuerpos en la Patogénesis de las Vasculitis

Anticuerpos anticitoplasma neutrófilo

Los ANCA son anticuerpos dirigidos contra antígenos citoplasmáticos de neutrófilos y monolitos de origen humano. Mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta se obtienen fundamentalmente dos patrones: uno citoplasmático c-ANCA y otro perinuclear p-ANCA ^(4,17-18). El antígeno responsable de los c-ANCA es una proteasa de 29-kD, conocida como proteinasa-3 que se encuentra en los gránulos azurófilos de los neutrófilos ⁽¹⁹⁾. El antígeno principal de los p-ANCA es la mieloperoxidasa, una enzima lisosomal que se encuentra también en los gránulos azurófilos de los neutrófilos ⁽²⁰⁻²¹⁾.

Los c-ANCA están estrechamente relacionados con la granulomatosis de Wegener. En la forma clásica de la enfermedad definida como afectación inflamatoria del tracto respiratorio y glomerulonefritis, los c-ANCA están presentes en un 90% de pacientes ⁽²²⁾; en las formas limitadas

Cuadro 2 Clasificación de las vasculitis (International Consensus Conference, 1994)

- Vasculitis de vasos grades
 - Arteritis Temporal
 - Enfermedad de Takayasu
- Vasculitis de Vasos Medianos
 - PAN clásica
 - Enfermedad de Kawasaki
- Vasculitis de Vasos Pequeños
 - Granulomatosis de Wegener *
 - Poliangeítis microscópica *
 - Síndrome de Churg-Strauss *
 - Schönlein-Henoch
 - Crioglobulinemia mixta esencial
 - Angétis leucocitoclásicas cutánea

Vasculitis asociadas a ANCA

de granulomatosis de Wegener (sin afectación renal) suelen aparecer en un 65-70%^(22,23). La asociación de los p-ANCA y enfermedad no es tan clara. Aparecen con más frecuencia en vasculitis sistémicas distintas de la granulomatosis de Wegener, en el síndrome de Goodpasture, en la poliangeítis microscópica y en glomerulonefritis necrotizantes idiopáticas.

Recientemente han sido descritos en la artritis reumatoidea estrechamente asociados a la presencia de nefropatía y enfermedad grave⁽²⁴⁾.

Las características funcionales de los ANCA han sido estudiadas en diferentes modelos in vivo e in vitro, dando evidencia creciente de su patogenicidad⁽²⁵⁾. Los ANCA se unen a los neutrófilos y a las células endoteliales teniendo efectos diferentes pero sinérgicos en ambos tipos de células. Los ANCA se unen a la proteinasa 3 (PR3) y la mieloperoxidasa (MPO) unida a la membrana en los neutrófilos^(25,26). De esta interacción con los ANCA resulta la activación y finalmente el aumento de superóxidos citotóxicos y proteasas séricas como PR3⁽²⁵⁻³¹⁾. La MPO/PR3 unida a la membrana se expresa constitutivamente por los neutrófilos y puede incrementarse por citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y el interferón- γ (IFN- γ)^(26,27,32,33,34).

La activación y degradación de los neutrófilos también incrementa la adhesión a las células endoteliales con un aumento en la expresión de MPO/PR3 en la membrana^(35,36). En consecuencia, la degranulación ocurre en estrecho contacto con el endotelio vascular resultando de daño vasculítico. Actualmente, existe discusión acerca del papel de los mediadores citotóxicos en el daño endotelial. Un estudio reciente realizado por Lu et al.⁽³⁷⁾ sugiere que las proteasas séricas (como PR3 y la elastasa) son más importantes que los radicales superóxidos en mediar el daño citotóxico. Los autores demostraron in vitro que el daño en la célula endotelial no pudo ser inhibido por el bloqueo del incremento de los superóxidos. Sin embargo, la inhibición de las proteasas séricas condujo a menor daño de la célula endotelial. Por lo tanto, el incremento de

proteasas inducido por los ANCA parece ser el factor más importante en el daño vasculítico. No obstante, un incremento de especies de oxígeno reactivo aumenta la actividad de las proteasas séricas por inactivar la α_1 antitripsina, que es un inhibidor potente de PR3^(38,39).

La unión de los ANCA a la célula endotelial puede ocurrir vía PR3/MPO que actúan como cofactores o vía receptores Fc, pero el mecanismo exacto permanece controvertido^(31,40,41). La interacción de los ANCA con la célula endotelial aumenta la expresión de las moléculas de adhesión y promueven la adhesión de los neutrófilos a ésta, conduciendo a la transmisión y el daño^(35,42,43).

Además de los modelos experimentales in vitro, la patogenicidad de los ANCA ha sido investigada en modelos animales. Si bien los modelos animales han demostrado la patogenicidad de los ANCA-MPO, similares estudios no han sido tan exitosos para el ANCA-PR3.

Un reciente estudio realizado por Primo et al. mostró respuestas inmunes inducidas por anti-PR3 en glomerulonefritis proliferativa necrotizante paucicelular (GPNP) en ratones predispuestos a autoinmunidad, demostrando que las respuestas inmunes PR3 pueden causar vasculitis y GPNP⁽⁴⁴⁾. En resumen, podríamos concluir que existe en la actualidad evidencia en estudios in vitro e in vivo que los ANCA son patogénicos.

En los últimos años, el espectro de los subtipos de ANCA se ha expandido y otros autoantígenos reconocidos por ANCA han sido encontrados⁽⁴⁵⁾. Recientes estudios han sugerido una nueva hipótesis en la inducción de los ANCA por respuestas inmunes contra bacterias Gram positivas y negativas. Pendergraft et al. investigaron el rol de péptidos complementarios en la granulomatosis de Wegener e hipotetizaron que la respuesta inmune es dirigida contra proteínas complementarias del PR3 (PR3c) y que los anticuerpos anti-PR3 intervienen durante una respuesta secundaria antiidiotípica⁽⁴⁶⁾. Acorde a esta hipótesis, los anticuerpos que forman una re-

puesta inmune humoral contra PR3c pueden servir como blanco antigénico para una respuesta inmune secundaria.

Recientemente, Kain et al. reportaron el descubrimiento de anticuerpos contra la proteína de membrana lisosomal 2 (LAMP-2) en GPNP asociada a vasculitis asociada a ANCA⁽⁴⁵⁾. Ellos mostraron evidencia en estudios in vivo e in vitro de la relevancia de estos anticuerpos en la patogénesis de la enfermedad unida a agentes infecciosos.

Los anticuerpos anti-LAMP2 fueron solamente encontrados en pacientes con GPNP activa asociada a ANCA. Por otra parte, estos anticuerpos también fueron detectados en algunos pacientes con GPNP ANCA-PR3 y MPO negativos.. El anti LAMP-2 reacciona en forma cruzada con la FimH , que es una parte de las fimbrias de los patógenos Gram negativos. Así, la inmunización con FimH puede conducir al desarrollo de GPNP en ratas. Estos resultados sugieren que la GPNP asociada a vasculitis ANCA positivo puede ser desencadenada por una infección bacteriana conduciendo una respuesta inmune a un nuevo autoantígeno no identificado. Sin embargo, otros autores han descrito el desarrollo y las recaídas de las vasculitis ANCA asociadas a bacterias Gram positivas como el *S. aureus* y no con bacterias Gram negativas^(47,48). Estos hallazgos necesitan ser confirmados en estudios futuros.

Otro de los autoantígenos reconocidos es la elastasa neutrófila humana (HNE) que pertenece a la familia de las quimotripsinas de proteasas séricas⁽⁴⁹⁾. Los ANCA con especificidad a HNE son detectados muy raramente en pacientes con vasculitis y pueden ser de utilidad en diagnóstico de vasculitis asociada ANCA inducida por drogas, como coacina y las drogas antitiroideas^(50,51).

Recientes estudios también han sugerido que el sistema del complemento estaría comprometido en la patogénesis de la enfermedad.⁽⁵²⁻⁵⁴⁾ Algunos han demostrado que los radicales de oxígeno y de MPO aumentan por la degranulación de neutrófilos que activan los factores del complemento C3 y C5^(55,56). Por otra parte, Xiao et al.

demonstraron que la activación de neutrófilos resulta en la activación del complemento y la generación de C3a.⁽⁵⁷⁾ En conclusión, el sistema del complemento sería un importante mediador cuya activación puede promover inflamación y aumento del daño tisular.

Por otra parte, las células T han sido encontradas dentro de granulomas y otras lesiones presentes en vasculitis asociada a ANCA.^(58, 59) En pacientes con enfermedad activa y durante la remisión, las células T se encuentran en estado de activación persistente con expansión de células T de memoria y con disminución de células T naive.⁽⁶⁰⁻⁶¹⁾ Wilde et al. han demostrado que un subtipo específico de células T efectoras de memoria expresan CD134 y GITR(proteína relacionada al receptor TNF inducida por glucocorticoide) , con un aumento en pacientes con granulomatosis de Wegener.⁽⁶²⁾ Las células CD134 + se encuentran también en lesiones activas sugiriendo un aumento en la migración a los sitios inflamados.

Anticuerpos anticélula endotelial

Los AACE forman un grupo heterogéneo de anticuerpos capaces de unirse a la membrana endotelial, principalmente por la porción (Fab')⁽²⁾. El significado patogénico de los AACE en las vasculitis no se conoce. Se han descrito en el suero de pacientes con granulomatosis de Wegener, panarteritis nodosa, poliangeítis microscópica, enfermedad de Kawasaki⁽⁶³⁻⁶⁵⁾ así como en las vasculitis asociadas al lupus eritematoso sistémico y otras enfermedades autoinmunes⁽⁶⁶⁾. La incidencia de estos anticuerpos en las vasculitis es muy variable, de un 2%⁽⁶⁷⁾ a un 86% (57%) y esto puede reflejar una falsa estandarización en los métodos de detección^(68,69).

Algunos experimentos en animales apoyan la idea de que los AACE puedan participar en la producción de glomerulonefritis. La inyección de AACE dirigidos contra la enzima de conversión de la angiotensina condujo al desarrollo de glomerulonefritis y depósito subepitelial de inmunoglobulinas en conejos⁽⁷⁰⁾. La inyección a cobayas de preparado de membrana de células

endoteliales cultivadas dio lugar a la aparición de anticuerpos anticélula endotelial y de una glomerulonefritis ⁽⁷¹⁾.

Se han sugerido algunos mecanismos por lo que las células endoteliales podrían estar implicadas en la patogenia de las vasculitis. Las células endoteliales vasculares tienen antígenos específicos históricos en su superficie, que podrían actuar como inmúenos potentes en la vasculitis sistémicas. Así, la interleucina-1, el FNT gamma y la linfotóxina inducen la expresión de las moléculas de adhesión ELAM-1 e ICAM-1 que son importantes para la unión al endotelio de células inflamatorias como leucocitos linfocitos y quizás monocitos. El interferón gamma además, induce la expresión de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (DR, DP y DQ) y expresión aumentada de los antígenos de clase (HLA A, B y C). Las células endoteliales se convierten así en células presentadoras de antígeno ⁽⁷²⁾. Los linfocitos T podrían reconocer un antígeno expresado en la superficie de las células endoteliales y activar a los linfocitos B para la producción de anticuerpos. El anticuerpo se uniría a la célula endotelial iniciando así el daño, la activación del complemento y la formación de complejos de ataque de la membrana. Los linfocitos activados por el contacto inicial con el antígeno podrían producir citoquinas, las cuales, a través de las moléculas de adhesión que inducen conducirían a la acumulación de células inflamatorias capaces de cruzar el endotelio y de producir inflamación y lesión tisular ⁽⁷³⁾. Todos estos datos sugieren una participación importante de los AACE en el daño vascular mediante el reclutamiento de leucocitos al lugar de la inflamación, facilitar su adherencia a la superficie endotelial y finalmente activarlos mediante diversas citocinas. Sin embargo, también cabe la posibilidad de que estos anticuerpos sean el resultado del daño endotelial producido por un proceso vasculítico desconocido.

Anticuerpos antifosfolípidos

Se denomina síndrome de Hughes (síndrome antifosfolípido) a la asociación de trombosis arteriales y/o venosas, pérdidas fetales recurrentes y/o

trombocitopenia en presencia de anticuerpos antifosfolípido. Los marcadores serológicos de este síndrome son los anticuerpos anticardiolipina y el anticoagulante lúpico. La histología de la lesión vascular no muestra cambios inflamatorios sino trombóticos. Este aspecto es muy importante respecto a la terapéutica ya que debe tratarse con anticoagulación y no con esteroides u otros inmunosupresores.

La asociación entre vasculitis y síndrome antifosfolípido ha sido descrita por varios autores ⁽⁷⁴⁻⁷⁸⁾. Más aún, algunos de los síntomas relacionados con la presencia de anticuerpos antifosfolípido forman parte también del espectro clínico de algunas vasculitis ⁽⁷⁹⁾. Ese es el caso de las oclusiones arteriales, trombosis venosas, úlceras de extremidades inferiores, lívido reticularis y trombocitopenia. Esta asociación podría explicarse por diversos mecanismos. En primer lugar, el daño causado en la célula endotelial en aquellas vasculitis medianas por inmunocomplejos, podría traer como consecuencia la exposición de fosfolípidos aniónicos que permitirían la unión de estos con los anticuerpos antifosfolípidos ^(74,80,81). Estos anticuerpos podrían unirse directamente o a través de la β 2-glucoproteína I ⁽⁸²⁾. Los AACE podrían jugar también un papel en esta asociación. Así, Vismara, et al, ⁽⁸³⁾ encontraron una reactividad cruzada entre los AACE y los anticuerpos anticardiolipina en los pacientes con LES, fenómeno que también ha sido detectado por nuestro grupo ⁽⁸⁴⁾. Este dato sugiere que los anticuerpos dirigidos contra los fosfolípidos de carga negativa podrían ser parte de los AACE y que pudieran provocar los fenómenos trombóticos del síndrome antifosfolípido por interacción con las células endoteliales.

Valor Diagnóstico y Pronóstico de los Anca

Los estudios iniciales sobre el valor diagnóstico de los ANCA le atribuían una sensibilidad y especificidad muy alta debido a que fueron realizados en casos bien definidos y confirmados por biopsia de granulomatosis de Wegener. Estos estudios sugerían que los ANCA eran marcadores útiles en pacientes ya diagnosticados de granu-

lomatosis de Wegener pero no establecían su verdadero valor diagnóstico. Posteriormente, diferentes grupos han intentado establecer un valor de predicción positivo para los ANCA con el fin de evitar el sesgo que una preselección de enfermos supone. Davenport et al, ⁽⁸⁵⁾ demostraron un valor de predicción positivo para los ANCA de un 40% para un grupo de pacientes con granulomatosis de Wegener o poliangeítis microscópica. Para otros autores el valor sería del 26.9% (38% para los c-ANCA y 20% para los p-ANCA) en un grupo de pacientes con diferentes vasculitis ⁽⁸⁶⁾. En este estudio se identificaron otros factores que influían sobre el valor predictivo de los ANCA como eran el patrón en la inmunofluorescencia, el título, la especificidad antimieloperoxidasa y el que estuvieran o no asociados a la presencia de anticuerpos antinucleares. Así, la confirmación de la especificidad de los p-ANCA como antimieloperoxidasa aumentaba el valor pronóstico de un 20% a un 66% y el valor predictivo de los ANCA, en ausencia de anticuerpos antinucleares, era del 90 %.

En la artritis reumatoide, como hemos comentado previamente, parecen ser un marcador de enfermedad más severa con una mayor frecuencia de enfermedad pulmonar y vasculitis asociada ⁽⁸⁷⁾.

La determinación de ANCA debe hacerse en todos aquellos pacientes en los que se sospeche una granulomatosis de Wegener u otra vasculitis relacionada con ellos. Sin embargo, esta determinación no debería nunca sustituir a una historia clínica y un examen físico adecuados y al uso de otras pruebas serológicas, radiológicas o histológicas. Un título alto de c-ANCA, en un paciente con síntomas compatibles con granulomatosis de Wegener apoya este diagnóstico o el de otra vasculitis estrechamente relacionada; sin embargo, la negatividad de una prueba de ANCA no excluye el diagnóstico de estas enfermedades ⁽⁸⁸⁾. Por el contrario, una prueba para ANCA positiva, sin evidencias clínica de granulomatosis de Wegener puede representar un falso positivo y es obligado un amplio diagnóstico diferencial ya que estos anticuerpos

pueden estar presentes en otras enfermedades como las del tejido conectivo, neoplasias o infecciones.

Con respecto a la monitorización de los pacientes con granulomatosis de Wegener debe incluirse la determinación de los ANCA pero sus resultados deben ser tomados con precaución. Los títulos de estos autoanticuerpos pueden fluctuar y aunque a veces estas fluctuaciones pueden correlacionarse con la actividad de la enfermedad, en otras ocasiones pacientes que presentan una remisión clínica incluso durante años siguen manteniendo títulos altos de ANCA ⁽⁸⁹⁾. Respecto a si se debe tratar a un paciente en remisión clínica, por presentar un título elevado de ANCA, no hay acuerdo unánime entre los investigadores, pero la mayoría de ellos aconsejan que, en ausencia de reactivación de la situación clínica o aparición de nuevos datos patológicos en las exploraciones complementarias (análisis de orina, radiología, tomografía computarizada, etc.) no debe instaurarse tratamiento. La recomendación en estos casos es vigilar cuidadosamente al paciente y monitorizar estrechamente aquellos datos que indican reactivación del proceso ^(90,91).

No hay evidencias que justifiquen el uso de la determinación de ANCA para monitorizar la actividad de otras enfermedades autoinmunes, incluida la artritis reumatoide ⁽⁹²⁾

En conclusión, a pesar del papel patogénico y diagnóstico de los ANCA en las vasculitis sistémicas, numerosas preguntas todavía permanecen sin respuesta, que serán evaluadas en futuros estudios.

Bibliografía

1. FAUCI, A. C.; LEAVITT, RY.: *Systemic vasculitis*. En: Lichtenstein L. M. Fauci AS ed. *Current therapy in allergy, immunology and rheumatology-3*. Toronto, Decker BC; 1988: 149-155.
2. DAVIES, D.; MORAN, J.; NIALL, J.; RYAN, G.: *Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology?* *BMJ* 1982; 285: 606.
3. LUDEMANN, J.; UTECHT, B.; GROSS, W. L.: *Anti-*

- neutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis recognize an elastinolytic enzyme: *J. Exp. Med.* 1990; 171: 357-362.
4. GOLDSCHMEDING, R.; VAN DER SCHOOT, C. E.; BOKKEL-HUININK, D. et al.: Wegener's granulomatosis autoantibodies identify a novel diisopropyl fluorophosphatase binding protein in the lysosomes of normal human neutrophils. *J. Clin. Invest.* 1989; 84: 1577-1587.
 5. GASKIN, G.; PUSEY, C. D.: Systemic vasculitis. In: CAMERON, J. S., DAVISON, A. M., GRUNFELD, J. KERR DNS eds. *Oxford textbook of clinical nephrology.* Oxford: Oxford University Press, 1992; 612-636.
 6. REINHOLD-KELLERE.; KEKOW, J.;SCHNABEL, A et al.: Influence of disease manifestation and antineutrophil cytoplasmic antibody titre on the response to pulse cyclophosphamide therapy in patients with Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum.* 1994; 37: 919-924.
 7. RAMIREZ, G.; KHAMASHTA, M. A.; HUGHES, G. R V.: The ANCA test: its clinical relevance. *Ann. Rheum. Dis.* 1990; 49: 741-742.
 8. NASSBERGER, L.; SJOHOLM A. G.; JONSSON, H.; STURFELT, G; AKESSON, A.: Autoantibodies against neutrophil cytoplasm components in systemic lupus erythematosus and in hydralazine-induced lupus. *Clin. Exp. Immunol.* 1990; 81-380-383.
 9. LEUNG, D. Y.M.; GEHA, R S.;NEWBURGER, J. W. et al.: Two monokines, interleukin 1 and tumor necrosis factor render cultured vascular endothelial cells susceptible to lysis by antibodies circulating during Kawasaki syndrome. *J. Exp. Med.* 1986; 164: 1958-1972.
 10. HUNDER, H H; AREND, W. P.; BLOCH, D.A et al: The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis: introduction. *Arthritis Rheum.* 1990; 33: 1065-1067.
 11. JENNETIE, J. c.; FALK, R J.; ANDRASSY, K. et al.: Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an International Consensus Conference. *Arthritis Rheum.* 1994; 37: 187-192.
 12. SAVAGE, C. O.; HARPER, L.; ADU, D.: Primary systemic vasculitis. *Lancet* 1997; 349: 553-558.
 13. LIE, J. T.: Nomenclature and classification of vasculitis:
Plus ça change, plus c'est la même chose. *Arthritis Rheum.* 1994; 37: 181-186.
 14. WATTS, R A.: ABC of rheumatology: Rashes and vasculitis. *B. M. J.* 1995; 310: 1128-1132.
 15. NILES, J. L.: Antineutrophil cytoplasmic antibodies in the classification of vasculitis. *Annu Rev. Med.* 1996; 47: 303-313.
 16. BASU N; WATTS R, BAJEMA I et al. EULAR points to consider in the development of classification and diagnostic criteria in systemic vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1744-50.
 17. WIES SLANDER, J.: How are antineutrophil cytoplasmic autoantibodies detected? *Am J. Kidney* 1991; 18: 154-158
 18. CALAFAT, J.; GOLDSCHMEDING, R; RINGENLING, P. L.; JANSSEN, H; VAN DER SCHOOT, C. E.: In situ localization of doublelabeling immunoelectron microscopy of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in neutrophils and monocytes. *Blood* 1990; 75: 242-250.
 19. NILES, J. L.; McCLUSKEY, R T.; AHMAD, M. F.; ARNAOUT, M. A.: Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine proteinase. *Blood* 1989; 74: 1888-1894.
 20. FALK, R J.; JENNETTE, J. C.: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318: 1651-1657.
 21. VENNING, M. c.; QUINN, A.; BROOMHEAD, V.; BIRD, A G Antibodies directed against neutrophils (e-ANCA and p-ANCA) are of distinct diagnostic value in systemic vasculitis. *Q. J. Med.* 1990; 77: 1287-1296.
 22. Van Der WOUDE, F. J.; LOBATIO, S.; PERMIN, H et al.: Autoantibodies against neutrophils and monocytes: Tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener granulomatosis. *Lancet* 1985; 1: 425: 429.
 23. NOLLE, B.; SPECKS, U; LUDEMANN, J. et al.: Anticytoplasmic autoantibodies: Their immuno-diagnostic value in Wegener's granulomatosis. *Ann Intern. Med.* 1989; 111: 28-40.
 24. MUSTILA, A; KORPELA, M.; MUSTONEN, J. et al.: Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody in rheumatoid arthritis: A marker of severe disease with associated nephropathy. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 710-717.
 25. GOMEZ -PUERTA JA, BOSCH X. Anti-neutrophil

- cytoplasmic antibody pathogenesis in small-vessel vasculitis: an update. *Am J Pathol* 2009; 175: 1790-98.
26. Van ROSSUM AP, RAROK AA, HUITEMA MG. et al. : Constitutive membrane expression of proteinase 3 (PR3) and neutrophil activation by anti-PR3 antibodies. *J Leukoc Biol* 2004; 76:1162-70.
27. RADFORD DJ, LORD JM, SAVAGE COS.: The activation of the neutrophil respiratory burst by anti-neutrophil autoantibody (ANCA) from patients with systemic vasculitis requires tyrosine kinases and protein kinase C activation. *Clin Exp Immunol* 1999;118: 171-79.
28. FALK RJ, TERREL RS, CHARLES LA, et al. : Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4115-19.
29. VAN PAASSEN P, TERVAERT JWC, HEERINGA P.: Mechanisms of vasculitis: How pauci-immune is ANCA associated renal vasculitis? *Nephron Exp Nephrol* 2007; 105:10-16.
30. MULLER KOBOLD AC, VAN WIJK RT, FRANSSSEN CF et al.: In vitro up regulation of E-selectin and induction of interleukin- 6 in endothelial cells by autoantibodies in Wegener's granulomatosis and microscopic polyangiitis. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17: 433-40.
31. TERVAERT JW.: Proteinase 3 : a cofactor for the binding of antineutrophil cytoplasm antibodies (ANCA) to endothelial cells? *Kidney Int* 2000; 57: 2171-72.
32. CSERNOK E, ERNST M, SCHMITT W et al. : Activated neutrophils express proteinase 3 on their plasma-membrane in-vitro and in-vivo. *Clin Exp Immunol* 1994; 95: 244-51.
33. MULLER KOBOLD AC, VAN DER GELD YM, LIMBURG PC et al. : Pathophysiology of ANCA-associated glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1366-75.
34. MULLER KOBOLD AC, KALLENBERG CG, TERVAERT JW.: Leucocyte membrane expression of proteinase 3 correlates with disease activity in patients with Wegener 's granulomatosis. *Br J Rheumatol* 1998; 37:901-7.
35. RADFORD DJ, SAVAGE COS, NASH GB.: Treatment of rolling neutrophils with antineutrophil cytoplasmic antibodies causes conversion to firm integrin-mediated adhesion. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1337-45.
36. SCHREIBER A, LUFT FC, KETTRITZ R. : Membrane proteinase 3 expression and ANCA-induced neutrophil activation. *Kidney Int* 2004;65: 2172-83.
37. LU X, GARFIELD A, RAINGER GE et al. : Mediation of endothelial cell damage by serine proteases, but not superoxide, released from antineutrophil cytoplasmic antibody-stimulated neutrophils. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1619-28.
38. WEISS S. : Tissue destruction by neutrophils. *N E J Med* 1989; 320: 365-76.
39. DOLMAN KM, STEGEMAN CA, VAN DE WIEL BA, et al. : Relevance of classic anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody (C-ANCA) mediated inhibition of proteinase 3-alpha 1-antitrypsin complexation to disease activity in Wegener 's granulomatosis. *Clin Exp Immunol* 1993;93: 405-10.
40. SIBELIUS U, HATTAR K, SCHENKEL A et al. : Wegener 's granulomatosis : anti-proteinase 3 antibodies are potent inducers of human endothelial cells signaling and leakage response. *J Exp Med* 1998; 187: 497-503.
41. DE BANDT M, MEYER O, DACOSTA L, et al. Anti-proteinase-3(PR 3) antibodies (C-ANCA) recognize various targets on the human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) membrane. *Clin Exp Immunol* 1999; 115: 362-68.
42. RADFORD DJ, LUU NT, HEWINS P et al. : Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies stabilize adhesion and promote migration of flowing neutrophils on endothelial cells. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2851-61.
43. HEERINGA P, HUUGEN D, TERVAERT JW. : Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies and leukocyte – endothelial interactions : a sticky connection? *Trends Immunol* 2005; 26: 561-64.
44. PRIMO VC, MARUSIC S, FRANKLIN CC, et al. : Anti-PR3 immune responses induce segmental and necrotizing glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol* 2010; 159 ;327-337.
45. KAIN R, EXNER M, BRANDES R et al. Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nat Med* 2008;14: 1088-96.
46. PENDERGRAFT WF, PRESTON GA, SHAH RR et al. Autoimmunity is triggered by cPR-3(105-201), a protein complementary to human autoantigen proteinase-3. *Nat Med* 2004;10:72-9.
47. STEGEMAN CA, TERVAERT JWC, SLUITER WJ et al. Trimethoprim –sulfamethoxazole (co-trimoxazole)

- for the prevention of relapses of Wegener`s granulomatosis. *N E J Med* 1996;335: 16-20.
48. STEGEMAN C, COHEN TERVAERT J, KALLENBERG C. Co-trimoxazole and Wegener`s granulomatosis: more than a coincidence ? *Nephrol Dial Trasplant* 1997; 12: 652-55.
49. TERVAERT JW, MULDER L, STEGEMAN C, et al. Occurrence of autoantibodies to human leucocyte elastase in Wegener`s granulomatosis and other inflammatory disorders. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 115-20.
50. WIESNER O, RUSSELL KA, LEE AS, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies reacting with human neutrophil elastase as a diagnostic marker for cocaine-induced midline destructive lesions but not autoimmune vasculitis. *Arthritis Rheum* 2004;50: 2954-65.
51. DOLMAN KM, GANS RO, VERVAAT TJ, et al. Vasculitis and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies associated with propylthiouracil therapy. *Lancet* 1993; 342: 651-2.
52. HU CH, O`LOUGHLIN S, WINKELMANN RK. :Cutaneous manifestations of Wegener granulomatosis. *Arch Dermatol* 1977; 113:175-182.
53. Van Timmeren MM, Chen M, Heeringa P. Pathogenic role of complement activation in anti-neutrophil cytoplasmic auto-antibody associated vasculitis. *Nephrology* 2009; 14:16-25.
54. Haas M, Eustace JA. Immune complex deposits in ANCA-associated crescentic glomerulonephritis : a study of 126 cases. *Kidney Int* 2004; 65:2145-2152.
55. Vogt W. Complement activation by mieloperoxidase products released from stimulated human polymorphonuclear leukocytes. *Immunobiology* 1996;195:334-346.
56. Johnson U, Ohlsson K, Olsson I. Effects of granulocyte neutral proteases on complement components. *Scand J Immunol* 1976;5:421-26.
57. Xiao H, Schreiber A, Heeringa P et al. Alternative complement pathway in the pathogenesis of disease mediated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Am J Pathol* 2007; 170:52-64.
58. Tipping PG, Holdsworth SR. T cells in crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:1253-1263.
59. Bolton WK, Innes Jr DJ, Sturgill BC et al. T-cells and macrophages in rapidly progressive glomerulonephritis: clinicopathologic correlations. *Kidney Int* 1987;32:869-876.
60. Marinaki S, Neumann I, Kalsch AI et al. Abnormalities of CD4 T cell subpopulations in ANCA-associated vasculitis. *Clin Exp Immunol* 2005; 140:181-191.
61. Marinaki S, Kalsch AI, Grimminger P et al. Persistent T cell activation and clinical correlations in patients with ANCA –associated systemic vasculitis. *Nephrol Dial Trasplant* 2006; 21:1825-1831.
62. Wilde B, Dolff S, Cai X et al. CD4+CD25+ T-cell populations expressing CD134 and GITR are associated with disease activity in patients with Wegener`s granulomatosis. *Nephrol Dial Trasplant* 2009; 24:161-171.
63. DEL PAPA, N.; CONFORTI, G.; GAMBINI, D. et al.: Characterization of the endothelial surface proteins recognized by antiendothelial antibodies in primary and secondary autoimmune vasculitis. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1994; 70: 211-216.
64. FERRARO, G.; MERONI, P. L.; TINCANI, A. et al.: Antiendothelial cell antibodies in patients with Wegener's granulomatosis and mycropoliarteritis. *Clin. Exp. Immunol.* 1990; 79: 47-54.
65. SAVAGE, C. O.; POTTINGER,B.E.;GASKIN,G. et al.: Vascular damage in Wegener's granulomatosis and microscopic polyarteritis: presence of antiendothelial cell antibodies and their relation to antineutrophil cytoplasm antibodies. *Clin Exp. Immunol.* 1991;85: 14-21.
66. D`CRUZ, D. P.; HUSSIAU, F. A.; RAMIREZ,G. et al.: Antibodies to endothelial cells in systemic lupus erythematosus: A potential marker for nephritis and vasculitis. *Clin. Exp. Immunol.* 1991; 85: 254-261.
- 67..FRAMPTON, G.; JAYNE, Dr.; PERRY, G. J. et al.: Autoantibodies to endothelial cells and neutrophil cytoplasmic antigens in systemic vasculitis. *Clin. Exp. Immunol.* 1990; 82: 227-235.
68. BRASILE, L.; KREMER, J. M.; CLARKE, J. L. et al.: Identification of an autoantibody to vascular endothelial cellspecificantigens in patients with systemic vasculitis. *Am. J. Med.* 1989; 87: 74-81.
69. ROLLINO, c.; ROCCA TELLO, D.; BORSA, S.; BELLONE, G.; PICOLLI, G.; EMANUELLI, G.: Antibodies directed to sonicated human endothelial cells in patients with vasculitis. *Nephron* 1996; 73: 346-347.
70. .MATSUO, S.;KUKATSU, A.; TAUB, M. L., CALDWELL P.R.B.,BREN1JENS,J. R; ANDRES, G.: Glomerulonefritis induced in the rabbit by endothelial

- cell antibodies. *J. Clin. Invest.* 1987; 79: 1798-1811.
71. MATSUDA, M.: *Experimental glomerular tissue injury induced by immunisation with cultured endothelial cell plasma membrane.* *Acta Pathol. Jpn* 1988; 38: 823-839.
72. JAFFE, E. A.: *Cell biology of endothelial cells.* *Human Pathol.* 1987; 18: 234-239.
73. D'CRUZ, D. P.: *Nuevos anticuerpos en las vasculitis.* In: KHAMASHTA M A.; FONT, J.; HUGHES, G. R V. eds. *Enfermedades autoinmunes del tejido conectivo.* Barcelona: Ediciones Doyma S. A. 1992; p: 173-187.
74. ALARCON-SEGOVIA, D. et al.: *Preliminary classification criteria for the antiphospholipid syndrome within systemic lupus erythematosus.* *Sem Arthritis Rheum.* 1992; 21: 275-286.
75. ALARCON-SEGOVIA, D.; CARDIEL, M. H.; REYES, E.: *Antiphospholipid arterial vasculopathy.* *J. Rheumatol.* 1989; 16: 762-767.
76. GOLDBERGER, E.; ELDER, R. c.; SCHWARTZ, R A.; PHILIPIS, P. E.: *Vasculitis in the antiphospholipid syndrome. A cause of ischemia responding to corticosteroids.* *Arthritis Rheum.* 1992; 35: 569-572.
77. TOUSSIROT, E. et al.: *Association of cerebral vasculitis with a lupus anticoagulant. A case with brain pathology.* *Clin Rheumatol.* 1994; 13: 624-627.
78. NORDEN, D. K; OSTROV, B. E.; SHAFRITZ, A. B.; Von FELDT, J. M.: *Vasculitis associated with antiphospholipid syndrome.* *Semin. Arthritis Rheum.* 1995; 24: 273-281.
79. ALARCON-SEGOVIA, D. et al.: *Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus.* *Medicine* 1989; 68: 353-365.
80. ALARCON-SEGOVIA, D.: *Pathogenetic potential of antiphospholipid antibodies.* *J. Rheumatol.* 1988; 15: 890-893.
81. DRENKARD, c.; VILLA, A. R; REYES, E.; ABELLO, M; ALARCON-SEGOVIA D.: *Vasculitis in systemic lupus erythematosus.* *Lupus* 1997; 6: 235-242.
82. DEL PAPA, N. et al.: *Relationship between antiphospholipid and anti-endothelial cell antibodies III: b2 glycoprotein I mediates the antibody binding to endothelial membranes and induces the expression of adhesion molecules.* *Clin. Exp. Rheumatol.* 1995; 13: 179-185.
83. VISMARA, A. et al.: *Relationship between anticardiolipin and anti-endothelial cell antibodies in systemü; lupus erythematosus.* *Clin. Exp. Immunol.* 1988; 74: 247-253.
84. CERVERA, R KHAMASHTA, M A.; FONT, J. et al.: *Antiendothelial cell antibodies in patients with antiphospholipid syndrome.* *Autoimmunity* 1991; 11: 1-6.
85. DAVENPORT, A.; LOCK, R J; WALLINGTON, T. B.; FEEST, T. G.: *Clinical significance of antineutrophil cytoplasm antibodies detected by a standarised indirect immunofluorescence assay.* *Q. J Med.* 1994; 87: 291-299.
86. EDGAR, J. D.; McMILLAN, S. A.; BRUCE, 1.; CONLAN, S. K: *An audit of ANCA in routine clinical practice.* *Postgrad Med. J.* 1995; 71: 605-612.
87. BRAUN, M. G.; CSERNOK, E.; SCHMITT, W. H.; GROSS, W. L.: *Incidence, target antigens, and clinical implications of antineutrophil cytoplasmic antigens, and clinical implications of antineutrophil cytoplasmic antibodies inn rheumatoid arthritis.* *J. Rheumatol.* 1996; 23: 826-830.
88. RAO, J. K; WEINBERG, M; ODDONE, E. 2.; ALLEN, N. B.; LANDSMAN, P.; FEUSSNER, J. R: *The role of antineutrophil cytoplasmic antibody (c-ANCA) testing in the diagnosis of Wegener granulomatosis-A literature review and meta-analysis.* *Ann Intern. Med.* 1995; 123: 925-932.
89. KERR, G. S.; FLEISHER, T. A.; HALLAHAM, C. W.; LEAVIIT, R Y.; FAUO, A. S.; HOFFMAN, G. S.: *Limited prognostic value of change in antineutrophil cytoplasmic antibody titer in patients with granulomatosis de Wegener.* *Arthritis Rheum.* 1993; 36: 365-371.
90. HOFFMAN, G. S.: *Vasculitis syndromes.* *Curr Opin-Rheumatol.* 1995; 7: 1-3.
91. HOFFMAN, G. S.; KERR, G. S.: *Rise in ANCA titer: to treat or not to treat.* *Am. J Med.* 1995; 98: 102-103.
92. EDGAR, J. D. M.: *The clinical utility of ANCA positivity.* *Ann Rheurn. Dis.* 1996; 55: 494-496.