

## HISTORIA

# Anticuerpos Anticitoplasma de Neutrófilos (ANCA): desde su descubrimiento hasta su difusión

Juan Pablo Camargo Mendoza<sup>1</sup>, Jorge de Jesús Cantillo Turbay<sup>2</sup>,  
José Félix Restrepo Suárez<sup>3</sup>, Antonio Iglesias Gamarra<sup>4</sup>

### Resumen

#### Objetivos:

1. Identificar los aspectos fundamentales en el desarrollo histórico de los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA).
2. Establecer de manera amplia el papel de la Inmunología como base en el conocimiento médico.
3. Reconocer a los investigadores que contribuyen al entendimiento de las vasculitis asociadas a ANCA.

**Materiales y métodos:** revisión de la literatura desde 1982 a 2008 a través de Pubmed, Embase, Ovid, Science Direct, SpringerLink, Blackwell Synergy, MD Consult, ProQuest, Highwire, biblioteca y hemeroteca de la Universidad Nacional de Colombia.

**Resultados:** se encontraron 3645 artículos en relación con ANCA, los cuales fueron seleccionados en idiomas inglés y español con énfasis en re-

visiones históricas médicas, ensayos clínicos relevantes, estudios controlados, aleatorizados y revisiones en general. Del total de artículos encontrados, seleccionamos aquellos que tuvieran un mayor interés desde el punto de vista histórico y de aplicación clínica, quedando finalmente para el análisis 53 fuentes bibliográficas.

**Conclusiones:** aunque el descubrimiento de los ANCA fue un hallazgo accidental, tuvo una rápida difusión, siendo considerados éstos como prueba diagnóstica en vasculitis desde los primeros cinco años de su descubrimiento. Se evidencia gran aporte de la Inmunología y la Nefrología en las diferentes publicaciones. Por otra parte, existen muchas patologías y medicamentos que se asocian a estos autoanticuerpos; sin embargo, son pocos en los cuales se tiene valor en cuanto a orientación diagnóstica, severidad o perfil en el tratamiento.

**Palabras clave:** ANCA, vasculitis de pequeños vasos, mieloperoxidasa, proteinasa-3.

### Abstract

#### Objectives

1. Identify key aspects in the historical development of antineutrophil cytoplasmic antibodies.

1 Residente de Medicina Interna III, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.

2 Coordinador Médico, Servicio de Nefrología y Diálisis, Hospital El Tunal; Nefrólogo, Servicio de Terapia Renal (RTS), Hospital Universitario Clínica San Rafael, Bogotá D.C., Colombia.

3 Profesor Titular de Medicina Interna y Reumatología, Coordinador Unidad de Reumatología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.

4 Profesor Titular de Medicina Interna y Reumatología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.

2. To establish in a comprehensive manner the role of immunology as a basis in medical knowledge.
3. Recognize the characters that contribute to the understanding of vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies.

**Materials and methods:** review of literature from 1982 to 2008 through Pubmed, Embase, Ovid, ScienceDirect, SpringerLink, Blackwell Synergy, MD Consult, ProQuest, HighWire, library and archive of the National University of Colombia.

**Results:** 3645 items in English and Spanish were found in relation to the antineutrophil cytoplasmic antibodies; which we select with an emphasis on medical historical review, relevant clinical trials, controlled and randomized studies, and review in general.

Of all the items found, we select those who have a greater interest from a historical point of view and clinical application. Finally for analysis we used 53 bibliographic sources.

**Conclusions:** although the discovery of the antineutrophils anticytoplasmic antibodies was an accidental finding, had a rapid spread, being considered as evidence in diagnosis of vasculitis since their first years of its discovery. There are a great evidence about the contribution of Nephrology and Immunology in several publications. On the other hand, there are many diseases and medicines that are associated with these auto-antibodies, however, in a little of them has value in terms of diagnostic orientation, or severity profile in the treatment. **Key words:** ANCA, small vessel vasculitis, myeloperoxidase, proteinase-3.

## Introducción

Dentro de las vasculitis primarias se encuentran la Granulomatosis de Wegener (GW), la Poliangeítis Microscópica (PAM) y el Síndrome de Churg Strauss (SCS), que se caracterizan patológicamente por lesiones necrosantes focales, que afectan diferentes vasos y órganos. En los pulmones, la capilaritis puede producir hemorragia alveolar, a nivel renal puede

ocasionar glomerulonefritis extracapilar hasta la falla renal y en la dermis, exantema purpúrico o ulceración vasculítica. Estas entidades se encuentran asociadas a ANCA<sup>1</sup>.

Los ANCA son autoanticuerpos predominantemente de tipo IgG en contra de los gránulos del neutrófilo y los lisosomas de monocitos. Se han identificado subtipos antigénicos en contra de proteinasa 3 (PR3) y mieloperoxidasa (MPO), los cuales tienen relevancia clínica<sup>2</sup>.

En la última década, los ANCA se han asociado a otras enfermedades; por ejemplo, en el 30% de los pacientes en tratamiento por enfermedad de Graves, donde los medicamentos antitiroideos (propiltiuracilo y metimazol) son los agentes inductores. Al igual que el 90% de los pacientes con colangitis esclerosante, 90% con síndrome de Felty, 70% de los pacientes con hepatitis crónica autoinmune, 70% de los pacientes con colitis ulcerativa, 30% con enfermedad de Crohn, 20% con artritis reumatoide, 20% con lupus eritematoso sistémico (LES) y en enfermedades infecciosas como endocarditis, malaria, amebiasis invasiva, blastomycosis, leptospirosis y oncocercosis. La importancia de los ANCA es variable de una enfermedad a otra; sin embargo, cada día busca darse mayor importancia a su identificación<sup>3</sup>.

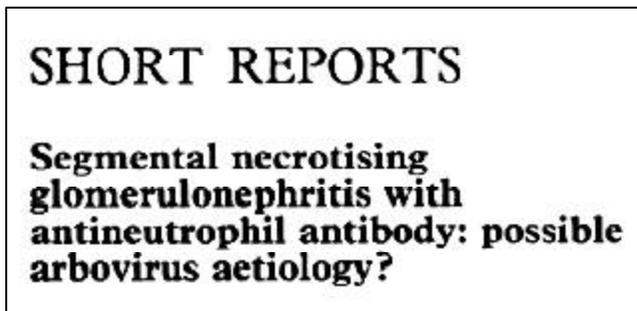
En esta revisión se recopilan los hechos de importancia que se han asociado a los ANCA desde su descubrimiento hasta sus asociaciones con otras patologías diferentes a vasculitis necrosantes.

### Año 1982. Descubrimiento de los ANCA

Davies DJ y cols. en Australia realizan la descripción de los ANCA, hecho importante trasladado de una serie de ocho pacientes con vasculitis necrosante sistémica y glomerulonefritis necrosante focal. Se descubrieron de forma accidental en el curso de un estudio pormenorizado de anticuerpos antinucleares por técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en la que se utilizaron leucocitos de donantes normales como substrato celular<sup>4</sup> (Figuras 1 y 2).

### Año 1984. Presencia de ANCA en la Granulomatosis de Wegener

Hall JB y cols. refieren la presencia de ANCA en el suero de cuatro pacientes con características clínicas de vasculitis y glomerulonefritis necrosante<sup>5</sup>.



**Figura 1.** Facsímil del primer informe relacionado con ANCA.



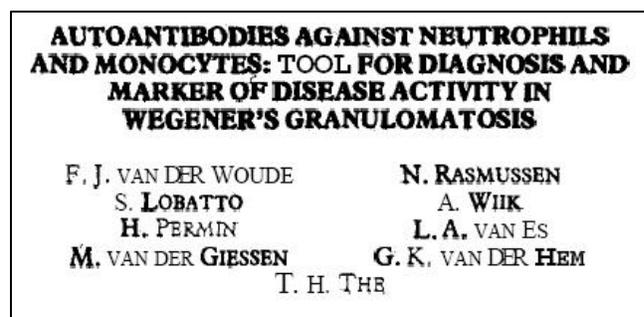
**Figura 2.** Hospital de St. Vincent's en Melbourne, Australia. Sitio de trabajo de Davies en el momento del descubrimiento de los ANCA.

#### **Año 1985. ANCA como prueba diagnóstica**

van der Woude y cols. publicaron los resultados de un estudio multicéntrico que demostró la presencia de ANCA de la clase IgG en 25 de 27 pacientes con GW activa y en 4 de 32 con GW inactiva. Poco tiempo después, Gross y cols. confirmaron la elevada sensibilidad de los ANCA para esta enfermedad, así como la relación existente entre su presencia y/o concentraciones séricas y la actividad clínica del proceso<sup>6</sup> (Figuras 3 y 4).

#### **Año 1987**

Venning MC y cols. referían la presencia de ANCA en la forma microscópica de la Panarteritis Nodosa, que si bien eran similares a las descripciones iniciales de Davies o las hechas por Hall, se corrobora que dichos anticuerpos en los pacientes estudiados están relacionados directamente con la actividad de la enfermedad<sup>7</sup>.



**Figura 3.** Facsímil del trabajo por el cual se determina el valor de los ANCA en el diagnóstico y actividad de la granulomatosis de Wegener.



**Figura 4.** Fokke Johannes van der Woude (1953-2006). Nefrólogo que contribuyó en la utilización de los ANCA, creando una nueva era en su especialidad.

#### **Año 1988. Asociación con la mieloperoxidasa**

Se realiza un trabajo para evaluar la distribución y especificidad antigénica de los ANCA. Se identificaron los autoanticuerpos por IFI en 27 de 35 pacientes con glomerulonefritis extracapilar y necrosante idiopática, cuya enfermedad se limitaba a riñón y otros con extensión hacia arteritis sistémica. La incidencia de los autoanticuerpos no difería entre los pacientes con enfermedad limitada al riñón. La inmunotinción de antineutrófilos fue detectada en 5 de 11 pacientes con nefritis lúpica, 4 de 71 con otras enfermedades renales y ninguna alteración en 50. Esta distribución de autoanticuerpos fue confirmada por ELISA (ensayo

**ANTI-NEUTROPHIL CYTOPLASMIC AUTOANTIBODIES WITH SPECIFICITY FOR  
MYELOPEROXIDASE IN PATIENTS WITH SYSTEMIC VASCULITIS AND IDIOPATHIC  
NECROTIZING AND CRESCENTIC GLOMERULONEPHRITIS**

RONALD J. FALK, M.D., AND J. CHARLES JENNETTE, M.D.

**Figura 5.** Facsímil del artículo que evaluó el papel de la mieloperoxidasa.

inmunoabsorbente ligado a enzimas) usando lisato como antígeno. Dos tipos de autoanticuerpos fueron identificados, uno con reactividad con mieloperoxidasa en ELISA produciendo inmunotinción perinuclear de neutrófilos fijados con etanol y otro sin reactividad con mieloperoxidasa en ELISA produciendo inmunotinción citoplasmática difusa. Estos datos pudieron concluir que la presencia de algunos marcadores serológicos en pacientes con enfermedad limitada a riñón y glomerulonefritis extracapilar y necrosante asociada a arteritis, incluyendo GW y poliarteritis nodosa (PAN), podrían tener una patogénesis similar iniciada por autoanticuerpos mediados por neutrófilos<sup>8</sup> (Figuras 5 a 7).

### **Año 1989. Descubrimiento de la proteinasa 3**

En este momento se tenía claridad que en un amplio porcentaje de los pacientes con GW activa, se presentaban autoanticuerpos IgG que producían tinción de inmunofluorescencia en el citoplasma de neutrófilos fijados con etanol. No obstante, no se conocía la naturaleza del antígeno responsable de la tinción, por lo cual en la Universidad de Harvard se analizaron 10 tinciones positivas en pacientes con GW. Por Western Blot se corrobora reacción con proteínas del neutrófilo de 29 kilodaltons las cuales se denominaron p29; luego, en ratones se generaron anticuerpos monoclonales que se fijaban a esta proteína. Al purificar el antígeno se encontró secuencia N-terminal, similar a los miembros de la familia de la proteinasa de serina (en más de la tercera parte a proteinasa 3) y ligado al diisopropilfluorofosfato (DFP). Con esto, se determina que el antígeno responsable de la tinción citoplasmática producida por autoanticuerpos es una proteinasa de serina<sup>9</sup> (Figura 8).

Snook JA y cols., usando neutrófilos aislados de sangre periférica y la técnica de inmunoensayo, encontraron anticuerpos anti-núcleo de neutrófilos en el 84% de los pacientes con colangitis esclerosante primaria y en 86% con enfermedad inflamatoria intestinal. No hubo



**Figura 6.** Ronald J. Falk quien junto a J. Charles Jennette ha aportado importante información en el conocimiento de los ANCA, al igual que de las vasculitis en general.



**Figura 7.** J. Charles Jennette. Grandes aportes a la nefropatología e inmunopatología.

**Wegener's Granulomatosis Autoantigen Is a Novel Neutrophil Serine Proteinase**

By John L. Niles, Robert T. McCluskey, Mir F. Ahmad, and M. Amin Arnaut

**Figura 8.** Facsímil del trabajo que reveló la proteinasa 3.

**Anti-neutrophil nuclear antibody in ulcerative colitis,  
Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis**

J. A. SNOOK, R. W. CHAPMAN, K. FLEMING & D. P. JEWELL. *Department of Gastroenterology and Nuffield  
Department of Pathology, John Radcliffe Hospital, Oxford*

**Figura 9.** Facsímil del artículo que da evidencia de la asociación de los ANCA con patología gastrointestinal.

diferencias entre los títulos de anticuerpos en la colitis ulcerativa y la enfermedad de Crohn, tampoco se encontró asociación con neutropenia. Sí se encontró asociación de los títulos y la actividad de la enfermedad, lo que ratifica un componente autoinmune de estas patologías<sup>10</sup> (Figura 9).

**Año 1990**

Se evaluó la secuencia de la proteinasa 3 con la secuencia p29, encontrando similitud a la AGP7 una nueva proteasa de serina de gránulos azurófilos de neutrófilos. Se encontró que los residuos 15 y 21 de PR3 eran idénticos con los siete residuos aminoterminales de mieloblastina, una proteasa de serina clonada del DNA de las células HL60 de la leucemia promielocítica. Esto, con otros análisis posteriores demostraron que la mieloblastina es idéntica a la PR3. Varias preguntas en cuanto a procesos de biosíntesis, activación subcelular, distribución tisular, activación enzimática y sitio de acción proteica, podrían ser respondidas. Por ejemplo, los anticuerpos contra proteinasa 3 o mieloblastina interfieren en la función enzimática, lo que llevaría a leucocitosis neutrofílica vista en la GW fulminante, resultado de la diferenciación granulocítica<sup>11, 12</sup>.

Por otra parte, Falk y Jennette ratifican la importancia de los ANCA como marcador para identificar glomerulonefritis extracapilar y necrosante pauci-inmune. Describen cómo los pacientes con ANCA asociados a enfermedad renal tienen un espectro que va desde

la enfermedad limitada a la vasculitis generalizada, incluyendo síndromes clínicos patológicos como poliarteritis nodosa y GW<sup>13</sup>.

**Año 1991**

Savigne JA y cols. publican un estudio con el fin de aclarar la incidencia de ANCA en la artritis reumatoide. Se investigaron 58 pacientes donde se encontró positividad para los autoanticuerpos en el 17% de los casos por IFI. La forma p-ANCA (perinuclear) era la más común (70%); sin embargo, la presencia de estos no se asoció con actividad de la enfermedad, demostración de vasculitis cutánea o enfermedad renal. Los autores asociaron la presencia de ANCA a la lisis intravascular facilitada de los leucocitos en el proceso de injuria vascular por anticuerpos de la artritis reumatoide, lo que permite la transferencia intracelular en los epítomos de la superficie de neutrófilos<sup>14</sup>.

**Año 1992**

Se describe la asociación de ANCA con la enfermedad inflamatoria intestinal. Se encuentra relación en el 50% de los pacientes con colitis ulcerativa y 25% con enfermedad de Crohn. La probabilidad aumenta con antecedente de familiares en primer grado con colitis ulcerativa y en individuos con enteritis infecciosa. El patrón predominante en la inmunofluorescencia es variable, describen p-ANCA (perinuclear), atípico o c-ANCA (citoplasmático). Esta variación se asocia a

diferencias en la interpretación en el laboratorio y a cambios en la permeabilidad de las proteínas implicadas. Se clarifica que la presencia de ANCA no se correlaciona con la actividad de la enfermedad o con la necesidad de tratamiento activo<sup>15</sup>.

Jennette y Falk recopilan la literatura hasta el momento y realizan una revisión en cuanto a los ANCA y su utilidad clínica. Los reconocen como marcador sérico para síndromes vasculíticos como GW, poliarteritis nodosa (especialmente poliarteritis nodosa microscópica), SCS y el síndrome renopulmonar. Se reconoce que aunque los ANCA son asociados a enfermedad sistémica, pueden ocurrir en enfermedad limitada a un órgano, como glomerulonefritis necrosante aislada, enfermedad del tracto respiratorio aislada o enfermedad orbitaria aislada. Consideran a los ANCA como medio para titular el tratamiento médico<sup>16</sup>.

#### **Año 1993**

Se publica el considerado primer informe de vasculitis asociadas a ANCA en hermanos. Se trataba de dos hermanas, la primera de 55 años quien debutó con artralgias y posteriormente con uveítis, escleritis, condritis de la oreja y costochondritis. Se consideró diagnóstico de policondritis. La segunda, de 54 años quien presentó rinorrea purulenta, hipoacusia, epiescleritis, mialgias, alteración de la función hepática y proteinuria. Se le realizó el diagnóstico de GW. Las dos presentaron ANCA positivos, la primera de tipo p-ANCA y la segunda c-ANCA. Fue interesante que los HLA (antígenos leucocitarios humanos) eran idénticos, aunque previamente no tenían antígenos para ANCA<sup>17</sup>.

#### **Año 1994**

El grupo de Nefrología del Hospital Necker en París, evaluó el papel del isotipo de la inmunoglobulina G (IgG) y la afinidad de los anticuerpos anti MPO en la expresión clínica de las vasculitis. Veintiocho pacientes con anticuerpos anti-MPO y glomerulonefritis extracapilar y necrosante fueron analizados. Se obtuvieron las muestras de suero antes y después del tratamiento. Ninguna asociación fue observada entre el isotipo, la afinidad nivelada de anticuerpos anti-MPO, síntomas clínicos, severidad y distribución del órgano comprometido por la vasculitis, incluyendo la hemorragia alveolar. Ninguna correlación significativa se encontró entre la afinidad y el nivel de IgG anti-MPO.

Sin embargo, la presencia de IgM anti-MPO era claramente asociada con baja afinidad de IgG anti-MPO y viceversa. Este trabajo demostró que la determinación de los niveles de distribución de isotipo y la afinidad de ANCA anti-MPO no tiene importancia clínica. Sin embargo, hay observaciones donde esta relación toma valor en el seguimiento terapéutico<sup>18</sup>.

#### **Año 1995**

El curso clínico y patológico de los ANCA asociados a enfermedad renal fue estudiado entre los pacientes del Hospital Queen Mary en Hong Kong. Ocho pacientes ANCA positivo con insuficiencia renal aguda fueron estudiados, cuatro de los cuales requirieron diálisis poco después de la presentación. La edad media de presentación fue de  $61,6 \pm 4,2$  años. La histología renal obtenida en siete pacientes mostró glomerulonefritis extracapilar pauci-inmune en cinco pacientes, nefritis intersticial en dos pacientes y vasculitis de pequeño vaso en un paciente. La hemorragia pulmonar fue la manifestación común de la enfermedad, presente en cuatro de los ocho pacientes, donde hubo necesidad de apoyo ventilatorio en tres pacientes. Compromiso neurológico, cutáneo y gastrointestinal también fueron observados. Siete de los ocho pacientes tuvieron resultados positivos para pANCA y anti-mieloperoxidasa, cANCA se detectó en uno de los ocho pacientes, seis (75%) respondieron a la terapia, que consistió en prednisolona y ciclofosfamida en cinco pacientes. Dos pacientes fallecieron por sepsis severa en el primer mes después de la presentación, de los otros seis pacientes, cinco tenían una mejoría significativa de la función renal, mientras que uno requirió diálisis permanente. Los niveles de ANCA y proteína C reactiva se mantuvieron normales, y la reactivación de la enfermedad no se observó durante el seguimiento de  $32,4 \pm 6,1$  meses. Las tasas de supervivencia de pacientes y función renal a un año fueron 75% y 62,5%, respectivamente. Este informe permite evidenciar que los rasgos clínicos y patológicos de ANCA asociados con enfermedad renal en pacientes chinos son en general similares a las descritas en los caucásicos, siendo la principal diferencia, la baja positividad de c-ANCA<sup>19</sup>.

La división de Reumatología e Inmunología de la Universidad de Duke realiza un estudio prospectivo en 346 pacientes en quienes se tenía el diagnóstico de vasculitis, pero previamente se había establecido la posibilidad de GW y donde se tuvo medida de los c-ANCA.

En un grupo se utilizaron criterios del American College of Rheumatology (ACR) para definir GW y en otro grupo, la biopsia renal. La sensibilidad y especificidad de c-ANCA por ACR para el diagnóstico de GW fue 28% y 96% respectivamente. Los valores predictivos positivos y negativos fueron 50 y 91%. En cuanto al diagnóstico de GW por biopsia y clínica compatible, la sensibilidad fue de 83% con un valor predictivo positivo de sólo 35%. Este estudio pone en duda la utilización de c-ANCA y la clínica como únicos elementos en el diagnóstico de GW<sup>20</sup>.

Por otra parte, Rao JK y cols. publican un meta-análisis con el fin de evaluar la utilidad de los ANCA como marcador en la GW. Setecientos cuarenta y siete artículos fueron incluidos pasando por cuatro estados de revisión. Se encontró que la sensibilidad general de la prueba para GW se encontraba en el rango del 34% a 92%, con una especificidad de 88% a 100%. Para enfermedad activa, la sensibilidad era del 91% y la especificidad 99%. Para enfermedad inactiva, la sensibilidad y especificidad eran 63% y 99,5%, respectivamente. Estos datos dieron alto rendimiento en el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad<sup>21</sup>.

#### **Año 1996**

Hogan SL y cols. demostraron que en pacientes con ANCA asociados a PAM y glomerulonefritis, el riesgo relativo de muerte era 3,78 veces mayor en pacientes con c-ANCA comparado con p-ANCA. Esto corrobora los informes recientes en cuanto que los ANCA-PR3 son un potente activador de neutrófilos in vitro en comparación con ANCA-MPO<sup>22</sup>.

Wenisch C y cols. informan cuatro de treinta pacientes con malaria complicada por *Plasmodium falciparum* con ANCA de tipo IgG 28 días posterior al tratamiento. No se encontró reactividad para MPO, PR3, lactoferrina o elastasa lo que sugiere una activación no clásica. Se consideró que no hubo vasculitis en estos pacientes, y la positividad de los ANCA se asoció a una respuesta secundaria, inducida por la activación de los neutrófilos<sup>23</sup>.

#### **Año 1997**

El grupo de Medicina Interna de la Universidad de Kochi en Japón realiza un estudio para evaluar la incidencia, la especificidad y la importancia clínica de la positividad de los ANCA en 31 pacientes con LES. Uti-

lizaron IFI y ELISA para la detección de ANCA, utilizando mieloperoxidasa purificada (MPO), lactoferrina (LF), catepsina-G (CTG) y la elastasa (HLE) como antígenos para ELISA. Trece (42%) de los 31 pacientes mostraron positividad para patrón perinuclear, pero no para citoplásmico. Cinco eran positivos para MPO, diez para LF, uno para la CTG y ninguno para HLE. Los pacientes positivos para ANCA tenían una puntuación más alta en cuanto actividad de la enfermedad según el índice de SLEDAI que aquellos sin ANCA. No hubo correlación entre la presencia de ANCA, manifestaciones clínicas o del compromiso orgánico. Esta permitió clarificar conceptos ya descritos en cuanto a la relación de la actividad del LES con la positividad de los ANCA; sin embargo, no permite correlacionar con el compromiso orgánico<sup>24</sup>.

Teniendo en cuenta la asociación que se conocía entre los niveles de  $\alpha$ 1-antitripsina (AAT) y enfermedades asociadas a ANCA, se realiza un estudio para clarificar el papel de ésta en la progresión de la enfermedad. Se tuvo en cuenta perfil genético, fenotipo, estado de la enfermedad y grado de remisión. Se reconoció el gen PiZ que se asocia con niveles elevados de AAT durante la enfermedad aguda. El fenotipo PiM se asoció con niveles normales de AAT durante la enfermedad aguda. Se corroboró que niveles bajos de AAT se asociaron a niveles bajos de proteína C reactiva (PCR), menor compromiso renal y baja mortalidad. Este estudio pone en pie el uso de la genética molecular en enfermedades asociadas a ANCA que no responden en fase aguda<sup>25</sup>.

Nash y Dillon publican una interesante revisión donde se enfoca el papel de los ANCA en Pediatría. Se ratifica la pobre información hasta el momento, encontrándose casos de GW, PAM y glomerulonefritis extracapilar. Igualmente asociación con enfermedad inflamatoria intestinal y LES. No encuentran relación con la púrpura de Henoch Schonlein la cual es de alta frecuencia en niños. Describen informes con la enfermedad de Kawasaki<sup>26</sup>.

#### **Año 1998**

Franssen C y cols. realizan un análisis retrospectivo con el fin de comparar el espectro de la enfermedad de pacientes con ANCA dirigidos a PR3 o MPO. Se encontró que el índice de severidad de la vasculitis era mayor en pacientes con anti-PR3 en comparación a los que tenían anti-MPO, este tuvo gran valor en cuanto al

grupo de órganos comprometidos. La combinación de compromiso renal y respiratorio se presentó en el 78,3% de los pacientes con anti-PR3 comparado con 23,9 % de los anti-MPO. Enfermedad limitada al riñón era exclusiva de los pacientes anti-MPO. Todos los pacientes con anti-PR3 tenían GW o PAM, en contraste con los anti-MPO cuyo patrón era diverso. Los pacientes con anti-PR3 tenían mayor recaída en un seguimiento de ocho años. Este estudio permitió ratificar las divergencias en el espectro de la enfermedad de los ANCA<sup>27</sup>.

Se publica un trabajo mexicano con el objetivo de evaluar la relación de los ANCA en pacientes con lepra. Sesenta y cuatro pacientes fueron estudiados y divididos de acuerdo a la clasificación de Ridley Jopling: de 38 pacientes con lepra lepromatosa, 21% tenían patrón p-ANCA y 6% c-ANCA. De los seis pacientes con lepra límite, 16% tenían patrón p-ANCA. Todos los pacientes con lepra tuberculoide tenían negativo los ANCA. Este informe permitió adicionar otra enfermedad a la lista que se asocia a ANCA, no obstante aclarando que los títulos no se asociaron con actividad de la enfermedad<sup>28</sup>.

### Año 1999

Se publica el consenso del International Group for Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies donde se establecen los cuatro patrones de ANCA: c-ANCA (patrón citoplasmático granular clásico con acentuación central o interlobular), c-ANCA atípico, p-ANCA y ANCA atípico. Este comité de expertos recomienda además, la determinación habitual mediante técnicas de ELISA de la reactividad frente a la PR3 y la MPO. La limitación de la denominación c-ANCA a la descripción clásica de acentuación central e interlobular en la IFI mejora su correlación con la existencia de reactividad frente a la PR3 y con el diagnóstico de vasculitis asociada a ANCA<sup>29</sup>.

Nishiya y cols., teniendo en cuenta los pocos informes de los ANCA y su asociación con Sjogren, informan 60 casos a quienes se les investigó ANCA a través de IFI y ELISA. Diez pacientes (16,7%) con Sjogren presentaron positividad por IFI para patrón perinuclear, pero no para citoplasmático. No hubo correlación entre la positividad de los ANCA y la presentación clínica. Se considera que los ANCA en pacientes con Sjogren pudiese ser un epifenómeno de activación policlonal de células B<sup>30</sup>.

### Año 2000

Con el fin de investigar el polimorfismo de las moléculas de adhesión asociadas con la interacción entre neutrófilos y células endoteliales, Genzik y cols. demostraron que la restricción de longitud de un fragmento del axón 11 del gen CD18 estaba relacionado con vasculitis asociadas a ANCA-MPO. Los investigadores sugirieron que una variante común del CD18 podría predisponer al desarrollo de vasculitis por regulación cuantitativa<sup>31</sup>.

Con el fin de aclarar variables inmunológicas, se publica una revisión donde se aclara la complementariedad de la región (CDR3) en los residuos de anti-PR3, los cuales contienen muchos anticuerpos cargados negativamente con residuos de ácido aspártico, que contribuye a la carga positiva en regiones de la PR3. El examen de otros anticuerpos monoclonales anti-PR3 muestra un número de residuos cargados negativamente dentro de las regiones CDR3. La elaboración de mapas de segmentos lineales de epítomos PR3 reacciona con anti-anticuerpos frente al citoplasma de neutrófilo, lo que estimula a las estructuras que contribuyen a determinantes antigénicos. Epítomos de células T se estudian en leucemia mieloide crónica. Estos epítomos de células T parecen determinados por el antígeno leucocitario humano HLA A2.1<sup>32</sup>.

Por otra parte, se publica un estudio liderado por el Hospital de Massachussets con el fin de aclarar la asociación de ANCA con minociclina, sulfasalazina y penicilamina. Se midieron los títulos de anticuerpos desde el inicio de tratamiento en pacientes con artritis reumatoide y esclerosis múltiple, distribuidos en tres ensayos clínicos. No se demostró seroconversión de los ANCA en los grupos evaluados al final del tiempo de seguimiento. Sólo 5% de los pacientes fueron positivos para anti-MPO con p-ANCA. No se encontró vasculitis sugestiva en ninguno de los pacientes. Estos datos se oponen a los casos informados en la literatura sobre la seroconversión de estos medicamentos; sin embargo, los autores no descartan la posibilidad de casos esporádicos por mecanismos no conocidos<sup>33</sup>.

### Año 2001

Se publica un estudio de casos y controles donde se evaluó la relación entre las vasculitis asociadas a ANCA y la exposición al sílice. En los casos hubo asociación en el 46% en comparación con el 20% de los

controles. El OR debido a exposición a sílice era 4,4 veces mayor en los pacientes con vasculitis de pequeños vasos en comparación con los grupos control. Estos datos establecen un factor ambiental en la generación de ANCA, que en esta publicación es de más de dos años para el sílice<sup>34</sup>.

Se publica un estudio con el fin de evaluar la eficacia de la ciclofosfamida en pulsos para las vasculitis asociadas a ANCA. Con los once estudios no randomizados evaluados y un meta-análisis de tres estudios prospectivos, se corroboró que la ciclofosfamida en pulsos inducía mayor remisión en comparación con la ciclofosfamida en tratamiento continuo, tenía menor probabilidad de leucopenia e infección. No hubo diferencias en la presentación de falla renal terminal o muerte<sup>35</sup>.

Girard T. y cols. publican un estudio prospectivo que buscaba evaluar los ANCA como marcador en las recaídas en el tratamiento de la GW. El 39% de las recaídas ocurrieron en pacientes que mantuvieron persistencia de los ANCA y 35% presentaron recaída precedida por la reaparición de los mismos. El tiempo promedio para la desaparición de los ANCA fue similar para los pacientes que recayeron y para los que no lo hicieron. Los esteroides o la ciclofosfamida no modificaron significativamente el tiempo de desaparición de los anticuerpos. Este estudio demostró que a pesar de la positividad de los ANCA no se puede predecir recaída de la enfermedad y por lo tanto un reajuste del tratamiento<sup>36</sup>.

### Año 2002

Se realiza un estudio con el propósito de valorar los métodos utilizados para detección de ANCA en el contexto clínico. Algunos de los datos con mayor relevancia eran la combinación de ANCA-PR3 y ANCA-MPO por ELISA la cual tenía una sensibilidad de 72,1% y especificidad de 92,8% y, por ejemplo, c-ANCA determinado por IFI tenía una sensibilidad de 45,4% y especificidad del 99,6%. Estos datos permitieron crear un algoritmo diagnóstico de mayor costo-efectividad donde las pruebas combinadas no ofrecen mayores ventajas y donde las pruebas por ELISA serían para tamizaje y las de IFI serían utilizadas sólo para confirmación<sup>37</sup>.

Vaglio A. y cols. informan dos casos de fibrosis retroperitoneal asociada a ANCA. Esta enfermedad se caracteriza por un desorden del tejido conectivo que patológicamente se presenta con depósito periaórtico de colágeno. Se considera una enfermedad idiopática; sin

embargo, se ha asociado a medicamentos, infecciones, neoplasias, LES, espondilitis anquilosante, uveítis, esclerodermia y enfermedad de Crohn. Los dos casos eran hombres mayores de 50 años y la presencia de ANCA contribuye a la asociación de glomerulonefritis rápidamente progresiva con presentación similar, pero respuesta y curso diferentes<sup>38</sup>.

El servicio de Medicina Interna, sección de Inmunología, del Hospital Universitario Infanta Cristina, realiza una revisión retrospectiva con el fin de describir los diagnósticos clínico-patológicos de una serie de pacientes con ANCA positivo. Se identificaron 82 pacientes: seis casos (7,3%) presentaron un patrón c-ANCA, 19 (23,2%) un patrón p-ANCA y 57 (69,5%) un patrón atípico. Ocho pacientes (9,7%) tuvieron una vasculitis asociada a ANCA (5 GW, 2 PAM y 1 CS). Cuatro pacientes (4,9%) tuvieron una glomerulonefritis rápidamente progresiva pauci-inmune sin vasculitis sistémica. Un único caso (1,2%) presentó un patrón c-ANCA sin evidencia de vasculitis asociada a ANCA o pauci-inmune. Este trabajo demostró en su población que el patrón atípico es el más frecuente en pacientes con ANCA. Una minoría de pacientes con ANCA tiene una vasculitis asociada a ANCA (GW, PAM o SCS) o una glomerulonefritis rápidamente progresiva pauci-inmune. La presencia de un patrón c-ANCA es excepcional en pacientes sin vasculitis asociada a ANCA o glomerulonefritis rápidamente progresiva pauci-inmune<sup>39</sup>.

### Año 2003

Con el fin de tener un amplio conocimiento de los sitios antigénicos de mayor importancia de la proteinasa 3, se realizó expresión de células utilizando un baculovirus. Cuatro secuencias diferentes de la proteinasa fueron amplificadas utilizando plásmidos a través de insectos: dos formas de rPR3 que contienen dos propéptidos (rproPR3-his y rproPR3) y dos formas de rPR3 sin el propéptido (rPR3-his y rPR3). Las formas de proteinasa 3 expresadas en las células de insectos podrían ser usadas como herramienta para pruebas diagnósticas e igualmente para el mapeo en estudios posteriores<sup>40</sup>.

Yamauchi K. y cols. describen el primer caso de ANCA positivo con expresión MPO y PR3 con hemorragia alveolar sin compromiso de otro órgano y asociado a consumo de propiltiuracilo. Se trataba de una mujer de 59 años que se encontraba en manejo de hipertiroidi-

dismo desde hacía cinco años previos a la presentación del cuadro clínico. La suspensión del medicamento tuvo una respuesta positiva<sup>41</sup>.

#### **Año 2004**

Chirinos J y cols. publican un interesante caso clínico de una aortitis fatal y disección aórtica en un paciente con PAM. Realizan una discusión con recopilación de casos en la literatura sobre vasculitis de grandes vasos asociadas a ANCA desde 1990. Se recopilaron casos de arteritis estenosante de grandes vasos, enfermedad aneurismática, disección aórtica, ruptura aórtica, regurgitación aórtica y muerte. Las características epidemiológicas, clínicas y patológicas diferían de otras vasculitis de grandes vasos como la arteritis de células gigantes y la arteritis de Takayasu. Los datos pudieron determinar que los ANCA pueden estar asociados a vasculitis de grandes vasos, que las vasculitis de grandes vasos pueden predecir a las de pequeños vasos o pueden ocurrir en la ausencia de éstas. De igual manera, esta publicación permite generar conceptos útiles en cuanto al desarrollo de una nueva clasificación de las vasculitis<sup>42</sup>.

Pendergraft WF 3rd y cols. sugieren que la generación de PR3 puede ser atribuida a la complementariedad de autoantígeno. Consideran que la configuración del péptido codifica para censar las cadenas de ADN y esto lleva a que los péptidos codificados se autocensen. Esto con la complementariedad del péptido conlleva a la producción de anticuerpos, los cuales disparan una respuesta de antiidiotipos y más tarde los anticuerpos reaccionan con los autoantígenos originales<sup>43</sup>.

#### **Año 2005**

Sinico R. y cols. publican un estudio de cohortes con el fin de valorar la prevalencia de ANCA en el SCS. Los ANCA estuvieron presentes por determinación por IFI en el 37,6%. La forma p-ANCA en el 74,3%, con especificidad a MPO en la mayoría de los casos. La positividad de los ANCA era asociada con una alta prevalencia de enfermedad renal, mononeuritis múltiple, púrpura y hemorragia pulmonar. En contraste, los ANCA negativos se correlacionaron con alto compromiso pulmonar (con excepción de la hemorragia alveolar) y compromiso cardíaco. Estos datos corroboraron la menor frecuencia de ANCA en SCS en comparación con la GW y la PAM<sup>44</sup>.

En el encuentro anual del Colegio Americano de Reumatología se presenta un estudio prospectivo, aleatorizado, controlado para determinar si el metotrexate podría sustituir a la ciclofosfamida en el tratamiento precoz de las vasculitis asociadas a ANCA. Este estudio, realizado en 23 centros europeos, encontró que la tasa de remisión en los pacientes tratados con metotrexate no fue inferior a los tratados con ciclofosfamida; no obstante, se retrasó la remisión en pacientes con enfermedad más extensa o con compromiso pulmonar. Las tasas de recaída a 18 meses fueron 69,5% en el grupo de metotrexate y 46,5% en el grupo de ciclofosfamida. Los eventos adversos, incluida la leucopenia, fueron menos frecuentes en el grupo del metotrexate. Este estudio planteó la utilización de metotrexate en etapas tempranas de las vasculitis asociadas a ANCA<sup>45</sup>.

#### **Año 2006**

Por parte de los grupos de Medicina Interna, Dermatología y Enfermedades Autoinmunes de la Universidad de Barcelona se publica una completa revisión de los ANCA, donde se destaca su importancia en el diagnóstico de las vasculitis de pequeños vasos en sus formas sistémica o localizada. De igual manera, de su asociación en la enfermedad inflamatoria intestinal, colangitis esclerosante primaria, hepatitis autoinmune tipo I, síndrome de Felty, enfermedades infecciosas, neoplasias y otras enfermedades del tejido conectivo. Se clarifican las teorías de generación de los ANCA: la complementariedad de autoantígenos y la disfunción de la apoptosis de los neutrófilos. Se da claridad al mecanismo de acción y con esto, a los métodos de detección de mayor utilización (IFI y ELISA)<sup>2</sup>.

Se publica un estudio que tenía como objetivo identificar las características clínicas, histológicas e indicadores de pronóstico en pacientes con vasculitis asociadas a ANCA. Los puntos finales fueron la función renal en el momento del diagnóstico (GFR0) y 12 meses después del diagnóstico (GFR12). Los predictores de GFR0 fueron la edad, arteriosclerosis, segmentariedad crescénica e infiltración eosinofílica. Indicadores para el pronóstico para GFR12 fueron la edad, normalidad de los glomérulos, atrofia tubular, infiltrado intraepitelial. Fibrosis crescénica fue predictor de terapia dialítica<sup>46</sup>.

#### **Año 2007**

Xiao H. y cols. realizan el primer informe como evidencia del papel del complemento como mediador de

las enfermedades asociadas a ANCA. El papel de la activación del complemento fue investigado usando ratones. Después de la inyección de IgG anti-MPO hubo activación de componentes de algunas vías del complemento y generación de enfermedad. Se valoró en este estudio el papel del complemento en humanos, IgG era aislada de pacientes con ANCA-MPO o ANCA-PR3 y grupos control. Los ANCA incubados presentaron activación del complemento principalmente por vía alterna<sup>47</sup>.

El departamento de Oftalmología de la escuela de Medicina de Okayama realiza un informe de casos sobre las manifestaciones oculares de los p-ANCA. Con los cuatro informados por el grupo serían 31 en la literatura, 19 mujeres y 12 hombres con edades entre los 11 y 79 años. Las manifestaciones oculares más comunes fueron las superficiales, como la epiescleritis y escleritis. Dichas manifestaciones eran igualmente unilaterales como bilaterales. Entre las manifestaciones del segmento posterior se encontraron oclusión de ramas de la vena retinal y central, neuropatía óptica y la epitelopatía pigmentaria placoide multifocal posterior aguda (EPPMPA)<sup>48</sup>.

Por otra parte, Chirinos JA y cols. hacen una revisión de los casos de endocarditis asociados a ANCA. Identificaron once informes de casos de endocarditis bacteriana asociada a positividad de los anticuerpos. Todos los casos tenían presentación subaguda y síntomas constitucionales. Las manifestaciones cutáneas fueron informadas en siete casos, donde la púrpura era la de mayor frecuencia. La esplenomegalia, demostrada por tomografía computarizada, ultrasonido o examen físico, se documentó en tres casos. La velocidad de sedimentación eritrocitaria se encontraba elevada en todos los casos, anemia en siete casos y leucocitosis en dos casos. Igualmente se identificaron 17 casos de vasculitis idiopáticas asociadas a ANCA con compromiso endocárdico. Los síntomas constitucionales fueron informados en la mayoría. El tiempo del curso de presentación de los síntomas era de una semana a once meses. Las manifestaciones cutáneas fueron informadas en ocho casos, siendo igualmente la púrpura la de mayor frecuencia. La velocidad de sedimentación eritrocitaria se informó en cinco casos, anemia en siete y leucocitosis en nueve<sup>49</sup>.

Yu F y cols. informan 19 pacientes en tratamiento con propiltiuracilo con vasculitis asociadas a ANCA. De los 15 pacientes con compromiso renal, todos presenta-

ban especificidad a MPO, pero también era observada especificidad a otros antígenos, incluyendo catepsina G (9 de 15), elastasa leucocitaria humana (8 de 15), lactoferrina (7 de 15), azurocidina (5 de 15) y PR3 (4 de 15). Esta observación sugiere que la respuesta autoinmune generada por el propiltiuracilo es más heterogénea que la respuesta idiopática de los ANCA<sup>50</sup>.

Watts y cols. realizan un trabajo con el objetivo de clasificar a los pacientes con GW, PAM, SCS y la PAN sólo en categorías clínicamente relevantes, teniendo en cuenta que los regímenes del American College of Rheumatology, definiciones de la Conferencia de Consenso de Chapel Hill y los criterios de Lanham producían conflictos de superposición, lo que hacía difícil comparar las cifras de incidencia. Ellos crearon un algoritmo que permite la clasificación de pacientes de forma fiable en una sola categoría y según sus conclusiones permitiría realizar comparaciones epidemiológicas entre áreas geográficas<sup>51</sup>.

### Año 2008

Se realiza una actualización de las vasculitis asociadas a ANCA, con la evidencia hasta el momento. Los estudios *in vitro* indican que la IgG de ANCA-MPO está involucrada en la patogénesis no solo en la activación de los neutrófilos, sino también en la función de las moléculas de mieloperoxidasa. Se menciona los modelos ya nombrados en ratones, en donde los auto-anticuerpos generan activación de la vía alterna del complemento. Se ratifica la importancia que realizan los antígenos de los ANCA, MPO y PR3 no solo en los neutrófilos sino también en los monocitos<sup>52</sup>.

Martínez y cols. publican un estudio prospectivo multicéntrico que valoró la eficacia y seguridad de las inmunoglobulinas (IGs) en el tratamiento de las recaídas de la GW y PAM, bien sea durante el tratamiento o durante el año siguiente a la suspensión de los corticoides y/o inmunosupresores, a los 9 y 24 meses. Todos los 22 pacientes incluidos en el estudio respondieron inicialmente a la terapia IGs. A los nueve meses, trece pacientes presentaron remisión completa, una remisión parcial, siete presentaron recaída, y uno con fracaso del tratamiento. En ocho de los catorce pacientes que habían tenido remisión, la respuesta persistió hasta los 24 meses. Siete pacientes experimentaron efectos secundarios leves. Este trabajo da una buena estrategia terapéutica en caso de recaídas<sup>53</sup>.

## Referencias

1. Kamesh L, Harper L, Savage CO. ANCA-Positive Vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1953-1960.
2. Bosch X, Guilabert A, Font J. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Lancet* 2006; 368: 404-418.
3. Savige J, Pollock W, Trevisin M. What do antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) tell us? *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005; 19: 263-276.
4. Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotizing glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *Br Med J* 1982; 285: 606.
5. Hall JB, Wadham BM, Wood CJ, Ashton V, Adam WR. Vasculitis and glomerulonephritis: a subgroup with an antineutrophil cytoplasmic antibody. *Aust N Z J Med* 1984; 14: 277-278.
6. Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van es LA, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985; 1: 425-429.
7. Venning MC, Arfeen S, Bird AG. Antibodies to neutrophil cytoplasmic antigen in systemic vasculitis. *Lancet* 1987; 2: 850.
8. Falk RJ, Jennette JC. 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.
9. Niles JL, McCluskey RT, Ahmad MF, Arnaut MA. Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine proteinase. *Blood* 1989; 74: 1888-1893.
10. Snook JA, Chapman RW, Fleming K, Jewell DP. Antineutrophil nuclear antibody in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis. *Clin Exp Immunol* 1989; 7(6): 30-33.
11. Goldschmeding R, Dolman KM, van den Ende ME, van der Meer-Gerritsen CH, Sonnenberg A, von dem Borne AE. The relation of 29 kD C-ANCA antigen to proteinase 3. *APMIS Suppl* 1990; 19: 26-27.
12. MacIsaac AI, Moran JE, Davies DJ, Murphy BF, Georgiou T, Niall JF. Antineutrophil cytoplasm antibody (ANCA) associated vasculitis. *Clin Nephrol* 1990; 34: 5-8.
13. Falk RJ, Jennette JC. Antineutrophil cytoplasmic autoantibody in renal disease. *Clin Immunol Newsletter* 1990; 10: 166-170.
14. Savige JA, Gallicchio MC, Stockman A, Cunningham TJ, Rowley MJ, Georgiou T, et al. Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 1991; 86: 92-98.
15. Cambridge G, Rampton DS, Stevens TR, McCarthy DA, Kamm M, Leaker B. Antineutrophil antibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* 1992; 33: 668-674.
16. Jennette JC, Falk RJ. Disease associations and pathogenic role of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 1992; 4: 9-15.
17. Murphy EA, Sturrock RD, Fox JG, Boulton-Jones JM. Two sisters with ANCA positive vasculitis. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 385.
18. Kokolina E, Noël LH, Nusbaum P, Geffriaud C, Grünfeld JP, Halbwachs-Mecarelli L, et al. Isotype and affinity of anti-myeloperoxidase autoantibodies in systemic vasculitis. *Kidney Int* 1994; 46: 177-184.
19. Chan TM, Chan KW, Lawfon JWM, Lo Cy, Li Fk, Lo Wk, et al. Clinicopathologic features of antineutrophil cytoplasm autoantibody (ANCA)-associated acute renal failure in Chinese patients. *Nephrology* 1995; 1: 39-46.
20. Rao J, Allen NB, Feussner JR, Weinberger M. A prospective study of antineutrophil cytoplasmic antibody (c-ANCA) and clinical criteria in diagnosing Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1995; 346: 926-931.
21. Rao JK, Weinberger M, Oddone EZ, Allen NB, Landsman P, Feussner JR. 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; 15(123): 925-932.
22. Hogan SL, Nachman PH, Wilkman AS, Jennette JC, Falk RJ. Prognostic markers in patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated microscopic polyangiitis and glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 23-32.
23. Wenisch C, Wenisch H, Bankl HC, Exner M, Graninger W, Looareesuwan S, et al. Detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies after acute Plasmodium falciparum malaria. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3: 132-134.
24. Nishiya K, Chikazawa H, Nishimura S, Hisakawa N, Hashimoto K. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody patients with systemic lupus erythematosus is unrelated to clinical features. *Clin Rheumatol* 1997; 16: 70-75.
25. Callea F, Gregorini G, Sinico A, Gonzales G, Bossolasco M, Salvidio G, et al.  $\alpha$ 1-Antitrypsin (ATT) deficiency and ANCA-positive systemic vasculitis: genetic and clinical implications. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 696-702.
26. Nash MC, Dillon MJ. Antineutrophil cytoplasm antibodies and vasculitis. *Arch Dis Child* 1997; 77: 261-264.
27. Franssen C, Gans R, Kallenberg C, Hageluen C, Hoorntje S. Disease spectrum of patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies of defined specificity: distinct differences between patients with anti-proteinase 3 and anti-myeloperoxidase autoantibodies. *J Intern Med* 1998; 244: 209-216.
28. Medina F, Camargo A, Moreno J, Zonana-Nacach A, Aceves-Avila J, Fraga A. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies in leprosy. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 270-273.
29. Savige J, Gillis D, Davies D, Esnault V, Falk RJ, Benson E, et al. International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol* 1999; 111: 507-513.
30. Nishiya K, Chikazawa H, Hashimoto K, Miyawaki S. Antineutrophil cytoplasmic antibody in patients with primary Sjogren's syndrome. *Clin Rheumatol* 1999; 18: 268-271.
31. Gencik M, Meller S, Borgmann S, Sitter T, Menezes Saecker AM, Fricke H et al. The association of CD18 alleles with anti-myeloperoxidase subtypes of ANCA-associated systemic vasculitides. *Clin Immunol* 2000; 94: 9-12.
32. Peen E, Williams RC Jr. What you should know about PR3-ANCA. Structural aspects of antibodies to proteinase 3 (PR3). *Arthritis Res* 2000; 2: 255-259.
33. Choi HK, Slot MC, Pan G, Weissbach CA, Niles JL, Merkel PA. Evaluation of antineutrophil cytoplasmic antibody seroconversion induced by minocycline, sulfasalazine, or penicillamine. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2488-2492.
34. Hogan SL, Satterly KK, Dooley MA, Nachman PH, Jennette JC, Falk RJ. Silica exposure in anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 134-142.

35. de Groot K, Adu D, Savage CO. The value of pulse cyclophosphamide in ANCA-associated vasculitis: meta-analysis and critical review. *Nephrol Dial Transplant*. 2001; 16: 2018-2027.
36. Girard T, Mahr A, Noël LH, Cordier JF, Lesavre P, André MH, et al. Are antineutrophil cytoplasmic antibodies a marker predictive of relapse in Wegener's granulomatosis? A prospective study. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40: 147-151.
37. Russell KA, Wiegert E, Schroeder DR, Homburger HA, Specks U. Detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies under actual clinical testing conditions. *Clin Immunol* 2002; 103: 196-203.
38. Vaglio A, Manenti L, Allegri L, Ferrozzi F, Corradi D, Buzio C. ANCA-positive periaortic vasculitis: does it fall within the spectrum of vasculitis? *J Intern Med* 2002; 251: 268-271.
39. Romero JM, Requena J, Lorido JC, Salado JL, Castellano E, Perez M, et al. Anticuerpos frente al citoplasma de los neutrófilos (ANCA): correlaciones clínico-patológicas de una serie de 82 casos. *An Med Interna (Madrid)* 2002; 19: 7-10.
40. van der Geld YM, Smook ML, Huitema MG, Harmsen MC, Limburg PC, Kallenberg CG. Expression of recombinant proteinase 3, the autoantigen in Wegener's granulomatosis, in insect cells. *J Immunol Methods* 2002; 264: 195-205.
41. Yamauchi K, Sata M, Machiya J, Osaka D, Wada T, Abe S, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibody positive alveolar haemorrhage during propylthiouracil therapy for hyperthyroidism. *Respirology* 2003; 8: 532-535.
42. Chirinos J, Tamariz LJ, Lopes G, Del Carpio F, Zhang X, Milikowski C, et al. Large vessel involvement in ANCA-associated vasculitides: report of a case and review of the literature. *Clin Rheumatol* 2004; 23: 152-159.
43. Pendergraft WF 3rd, Preston GA, Shah RR, Tropsha A, Carter CW Jr, Jennette JC, et al. Autoimmunity is triggered by cPR-3(105-201), a protein complementary to human autoantigen proteinase-3. *Nat Med* 2004; 10: 72-79.
44. Sínico R, Di Toma L, Maggiore U, Bottero P, Radice A, Tosoni C, et al. Prevalence and clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in Churg-Strauss Syndrome. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2926-2935.
45. de Groot K, Rasmussen N, Bacon PA, Tervaert JW, Feighery C, Gregorini G, et al. Randomized trial of cyclophosphamide versus methotrexate for induction of remission in early systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2461-2469.
46. de Lind van Wijngaarden RA, Hauer HA, Wolterbeek R, Jayne DR, Gaskin G, Rasmussen N, et al. Clinical and histologic determinants of renal outcome in ANCA-associated vasculitis: A prospective analysis of 100 patients with severe renal involvement. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2264-2274.
47. Xiao H, Schreiber A, Heeringa P, Falk RJ, Jennette JC. Alternative complement pathway in the pathogenesis of disease mediated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Am J Pathol* 2007; 170: 52-64.
48. Matsuo T. Eye Manifestations in Patients with Perinuclear Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis: Case Series and Literature Review. *Jpn J Ophthalmol* 2007; 51: 131-138.
49. Chirinos JA, Corrales-Medina VF, Garcia S, Lichtstein DM, Bisno AL, Chakko S. Endocarditis associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies: a case report and review of the literature. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 590-595.
50. Yu F, Chen M, Gao Y, Wang SX, Zou WZ, Zhao MH, et al. Clinical and pathological features of renal involvement in propylthiouracil-associated ANCA-positive vasculitis. *Am J Kidney Dis* 2007; 49: 607-614.
51. Watts R, Lane S, Hanslik T, Hauser T, Hellmich B, Koldingsnes W, et al. Development and validation of a consensus methodology for the classification of the ANCA-associated vasculitides and polyarteritis nodosa for epidemiological studies. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 222-227.
52. Jennette JC, Falk RJ. New insight into the pathogenesis of vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20: 55-60.
53. Martinez V, Cohen P, Pagnoux C, Vinzio S, Mahr A, Mouthon L, et al. Intravenous Immunoglobulins for Relapses of systemic vasculitides associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 308-317.