

## FORMACION CONTINUADA EN NEFROLOGIA

# Anticuerpos anticitoplasmáticos (ANCA). Vasculitis y glomerulonefritis

E. Mirapeix, X. Bosch\* y Ll. Revert

Servicios de Nefrología y Medicina Interna\*. Hospital Clínic i Provincial. Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona.

Con el descubrimiento de la existencia de anticuerpos que reaccionan con el citoplasma de polimorfonucleares de individuos normales y que se denominan anticuerpos anticitoplasmáticos (ANCA)<sup>1,2</sup>, podemos abordar hoy día el estudio clínico y patogénico de un grupo importante de glomerulonefritis que cursan con la práctica ausencia de depósitos de inmunoglobulinas y de complemento y que, por tanto, no pueden explicarse por los conocidos mecanismos patogénicos de depósito o formación *in situ* de complejos inmunes o por la reacción glomerular de los anticuerpos antimembrana basal. Dentro de este grupo, denominado *pauci immune* glomerulonefritis, están la glomerulonefritis rápidamente progresiva (GNRP)<sup>2</sup>, hoy en día ya reconocidas como formas renales de vasculitis<sup>3</sup>, y las vasculitis propiamente dichas como la granulomatosis de Wegener (GN) y las distintas formas de periarteritis nodosa (PAN) en su afectación renal<sup>2</sup>. Además de su reconocida utilidad para el diagnóstico y seguimiento evolutivo de tales afecciones, los ANCA parecen estar directamente implicados en su patogenia, pues, como ya comentaremos, se ha demostrado su capacidad para provocar una activación de los neutrófilos con liberación de proteasas y radicales superóxido que podría conllevar a una lesión inflamatoria y necrotizante de la pared vascular.

### Primeras descripciones

Los ANCA se detectaron por primera vez de forma accidental en 1982 en una serie de ocho pacientes afectos de vasculitis necrotizante sistémica y glomerulonefritis necrotizante focal<sup>4</sup>. En 1985, Van der Woude y cols.<sup>1</sup> 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 cuatro de 32 con GW inactiva. Mediante el análisis de una serie de pacientes con un diagnóstico anatomopatológico de glomerulonefritis necrotizantes y rápidamente progresivas, Falk y Jennette<sup>2</sup> describían en 1988 la presencia de ANCA en tales

afecciones, tanto en sus formas idiopáticas como en las secundarias a vasculitis del tipo PAN y GW. Mediante ensayo inmunoenzimático (ELISA), estos autores demostraron que los ANCA eran específicos para constituyentes de los gránulos primarios de los neutrófilos e identificaron dos tipos principales de autoanticuerpos: uno que reaccionaba con la mieloperoxidasa (MPO) y que producía un patrón de inmunofluorescencia perinuclear y otro que no mostraba reactividad alguna con esta enzima en el ELISA y que ocasionaba una inmunotinción citoplasmática difusa. Estudios posteriores confirmaron la presencia de ANCA en estas formas de glomerulonefritis, a la vez que se reconoció el importante papel que desempeñaban en muchas de ellas los anticuerpos anti-MPO<sup>5-14</sup>. En 1989, Goldschmeding y cols.<sup>25</sup> demostraron que el antígeno que corresponde al patrón citoplasmático corresponde a la llamada proteinasa 3.

### Técnicas de detección

La *inmunofluorescencia indirecta* es la técnica que ha sido adoptada en la mayoría de centros para la detección de ANCA. Mediante la misma se pueden observar dos patrones principales de inmunotinción: citoplasmático y perinuclear. El primero consiste en una fluorescencia granular fina, brillante y acentuada en el centro de la célula entre los segmentos nucleares<sup>15-17</sup> y el segundo en una tinción perinuclear o nuclear difusa<sup>2,9,17</sup> (figs. 1-3). En ambos casos, los ANCA reaccionan con neutrófilos y monocitos activados e incluso, a nivel experimental, con la línea celular promielocítica HL-60, pero no con monocitos en reposo, linfocitos y eosinófilos<sup>18,19</sup>. En ocasiones, el patrón nuclear o perinuclear propio de los ANCA resulta difícil de distinguir del que puede producir la presencia sérica de anticuerpos antinucleares, por lo que es aconsejable que éstos sean descartados sistemáticamente en estos pacientes<sup>21</sup>. En la actualidad se sabe que la inmunotinción perinuclear es en realidad un artefacto consecuencia de la redistribución de antígenos nucleofílicos citoplasmáticos solubles que difunden hacia el núcleo celular durante el proceso de inmunofluorescencia indirecta cuando se utiliza etanol como medio de fijación<sup>2,7,18</sup>.

Con la finalidad de obtener una mayor sensibilidad, ob-

Correspondencia: Dr. Eduardo Mirapeix.  
Servicio de Nefrología.  
Hospital Clínic i Provincial.  
Villarroel, 170.  
08036 Barcelona.

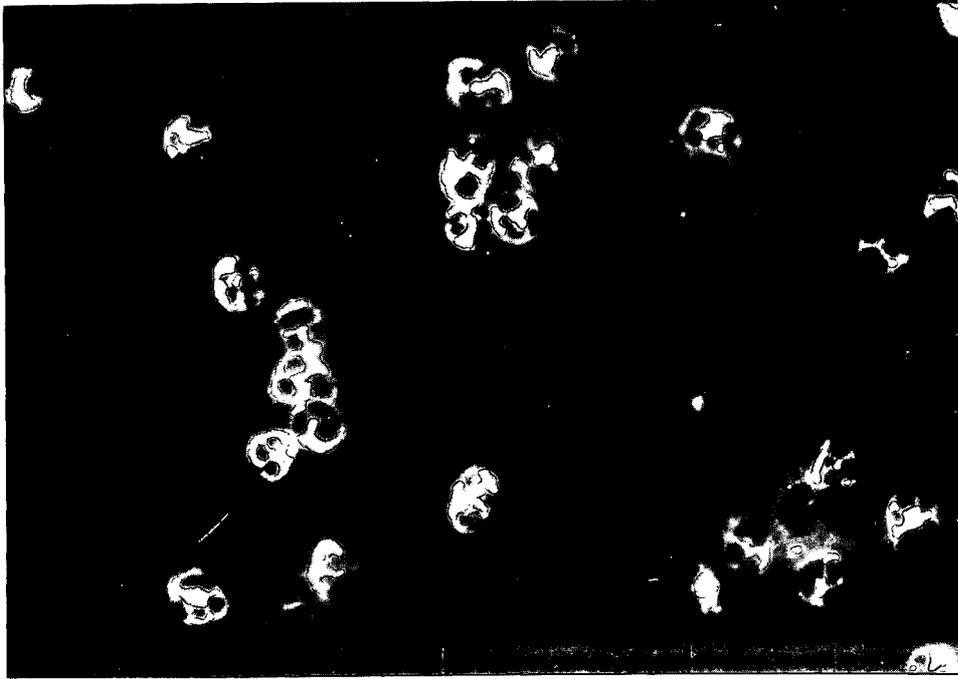


Fig. 1.—Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo. Patrón citoplasmático ( $\times 40$ ).

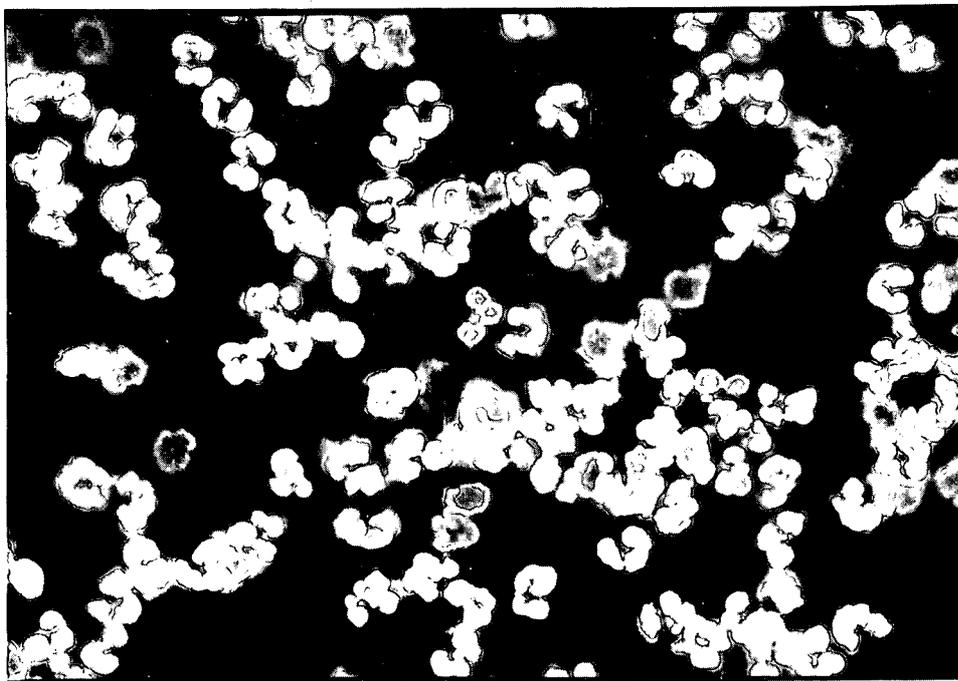


Fig. 2.—Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo. Patrón perinuclear ( $\times 40$ ).

jetividad y cuantificación de los resultados se han intentado desarrollar métodos alternativos a la inmunofluorescencia indirecta, como son el *radioinmunoensayo (RIA)*<sup>20</sup> y el *enzimoinmunoensayo (ELISA)*<sup>2, 15, 22-24</sup>. Los antígenos utilizados en estos casos se han obtenido mediante técnicas de extracción ácida<sup>22</sup>, disrupción de neutrófilos por

cavitación con nitrógeno<sup>2, 24</sup> y aislamiento del antígeno del citoplasma por cromatografía de afinidad<sup>15, 23</sup>. Aunque los resultados fueron inicialmente prometedores, éstos no siempre coincidían con el hallazgo de ANCA por inmunofluorescencia indirecta y su reproductibilidad aún está en discusión. Por este motivo, la mayoría de autores coin-

# Revistas Médicas

- PATHOS (CURRENT PROBLEMS)**  
10 monografías año: 5.500 ptas.
- PSIQUIATRIA**  
6 monografías año: 5.000 ptas.
- PEDIATRIA**  
6 monografías año: 5.000 ptas.
- RHEUMA**  
6 monografías año: 4.000 ptas.
- COLESTEROL**  
6 monografías año: 5.000 ptas.
- SALUD RURAL**  
15 números año: 5.000 ptas.
- NUTRICION HOSPITALARIA**  
7 números año: 4.000 ptas.
- CIRUGIA DE URGENCIA**  
4 números año: 4.000 ptas.
- ALLERGY PROCEEDINGS**  
6 números año: 6.000 ptas.
- NEFROLOGIA**  
5 números año: 6.000 ptas.
- DERMATOLOGIA**  
6 monografías año: 6.000 ptas.
- ACAD (GASTROENTEROLOGIA)**  
4 números año: 3.000 ptas.
- GASTRUM**  
12 monografías año: 5.000 ptas.
- AMERICAN JOURNAL OF RHINOLOGY**  
6 números (edic. Española): 5.000 ptas.
- CARDIOVASCULAR DRUGS AND THERAPY**  
6 números (ed. Española): 8.000 ptas.
- HEPATO GASTROENTEROLOGY**  
6 números (ed. Española): 6.000 ptas.

APELLIDOS .....

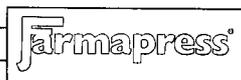
NOMBRE .....

DOMICILIO .....

LOCALIDAD .....

PROVINCIA .....

TELEF. ....



Los precios de estas publicaciones son valederos por un año.  
Para suscribirse envíe recortada esta información a:

JARPYO EDITORES, S. A.  
Departamento de Suscripciones  
Antonio López Aguado, 4  
28029 Madrid (España)

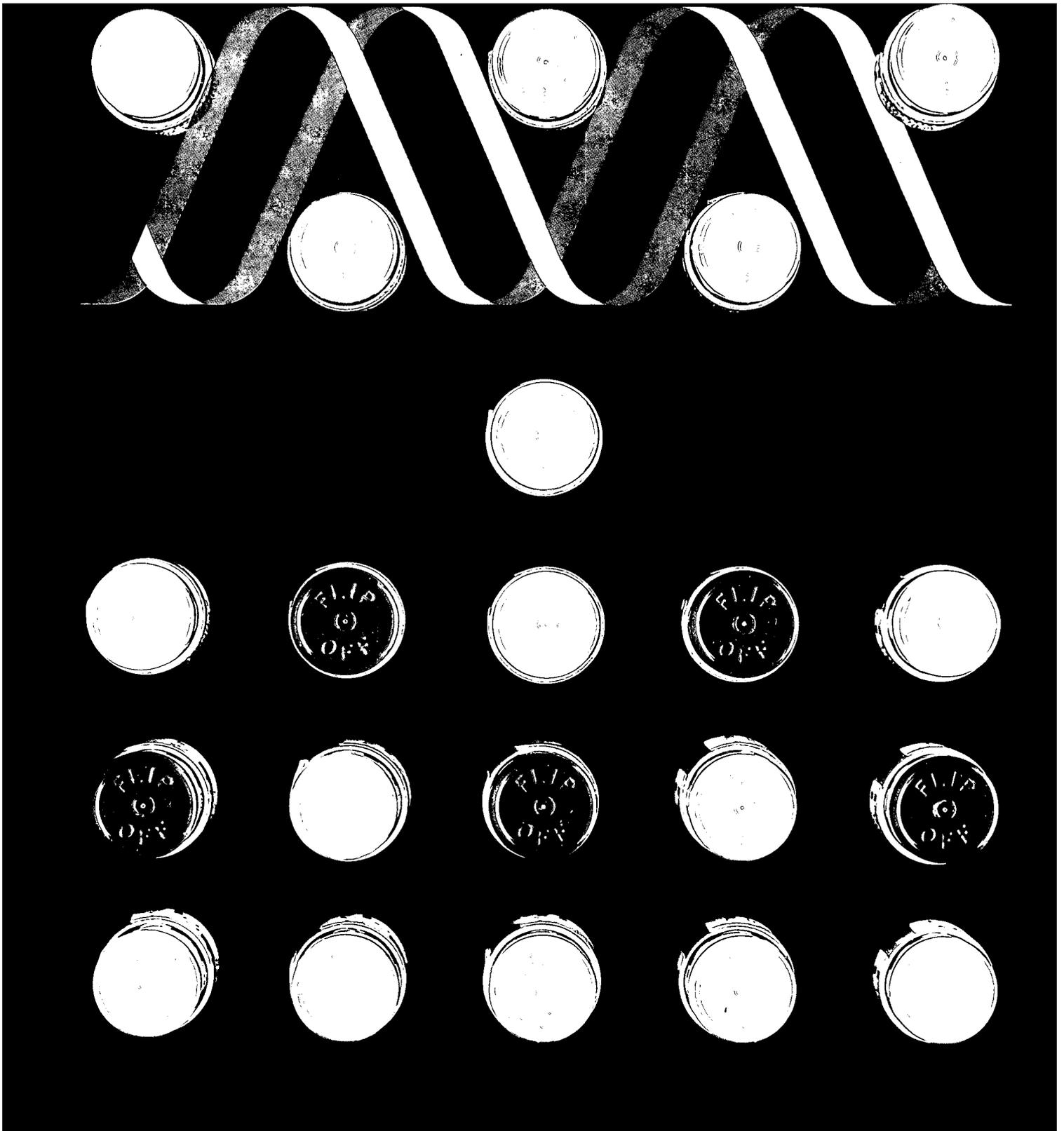
Llamadas  
(91) 314 43 38 - 314 44 58  
Lorenzo Andrés

## Erantin® 1000 Erantin® 2000

**Propiedades:** La eritropoyetina es una glucoproteína que estimula la formación de eritrocitos a partir de los precursores eritroides en la médula ósea. El peso molecular aparente de la eritropoyetina es de 32.000 a 40.000 daltons. La fracción proteica de la molécula constituye un 58% aproximadamente y consta de 165 aminoácidos. Las cuatro cadenas de carbohidratos están unidas a la proteína por tres enlaces N-glucosídicos y uno O-glucosídico. La rh-Epo obtenida por ingeniería genética es idéntica en su composición de aminoácidos y carbohidratos a la eritropoyetina que ha sido aislada de la orina de pacientes anémicos. Después de la administración de rh-Epo, se produce un incremento del número de eritrocitos, de los valores de Hb y del número de reticulocitos, así como de la velocidad de incorporación de <sup>59</sup>Fe a los hematíes. Se ha podido demostrar con ayuda de cultivos celulares de células de médula ósea humana, que rh-Epo estimula la eritropoyesis específicamente y no afecta a la leucopoyesis. No se han detectado acciones citotóxicas de rh-Epo sobre las células de la médula ósea. Hasta ahora no hay indicios de desarrollo de anticuerpos anti rh-Epo en humanos. Las investigaciones farmacocinéticas en sujetos sanos y pacientes urémicos mostraron que la semivida de rh-Epo administrada intravenosamente está situada entre 4 y 12 horas, y que el volumen de distribución corresponde a una o dos veces el volumen plasmático. No existen evidencias de efectos teratogénicos, fetotóxicos o embriotóxicos. Composición: 1 vial de polvo liofilizado contiene: • 1.000 unidades internacionales (UI) de eritropoyetina humana recombinante (rh-Epo) en forma de sustancia anhidra (correspondiente a 8,3 µg de eritropoyetina). • 2.000 unidades internacionales (UI) de eritropoyetina humana recombinante (rh-Epo) en forma de sustancia anhidra (correspondiente a 16,6 µg de eritropoyetina). 1 ampolla de disolvente contiene 1 y 2 ml de agua para inyección, respectivamente. Indicaciones: Erantin está indicado para el tratamiento de la anemia asociada a Insuficiencia Renal Crónica en pacientes sometidos a hemodíalisis. Posología: La dosis y el momento de su administración serán fijados por el médico. La dosificación puede regirse según las siguientes pautas. Puesto que se ha observado un caso de reacción anafiláctica en un ensayo clínico, se recomienda que la 1ª dosis sea administrada bajo vigilancia médica. La terapia con Erantin se divide en 2 fases de tratamiento: 1. Fase de corrección: A lo largo de las primeras 6 semanas, la dosificación recomendada será de 3x40 UI/kg de peso corporal y semanal. Al cabo de 1 mes, el tratamiento puede ser aumentado a 80 UI/kg peso corporal, 3 veces por semana, y si son necesarios posteriores incrementos, éstos deberán ser de 20 UI/kg peso corporal, 3 veces por semana, en intervalos mensuales, hasta alcanzar un valor del hematocrito entre el 30 y 35%. La dosis máxima no debe exceder de 3x240 UI/kg peso corporal, por semana. 2. Fase de mantenimiento: Para mantener el valor del hematocrito entre un 30 y 35 vol.%, la dosis se reducirá inicialmente a la mitad de la cantidad administrada previamente. A continuación, la dosis se adaptará individualmente a cada paciente (dosis de mantenimiento). Como pauta para la dosis media de mantenimiento pueden considerarse 30 UI/kg de peso corporal, 3 veces a la semana, después de la sesión de diálisis. Normas para la correcta administración: rh-Epo se presenta en viales conteniendo sustancia anhidra. Esta se disuelve con el contenido de la ampolla adjunta y se administra por vía intravenosa lenta (2 minutos); en pacientes sometidos a hemodíalisis se podrá inyectar a través de la fistula arteriovenosa al final de cada sesión de diálisis. Para evitar incompatibilidades o pérdida de efecto, deberán seguirse las siguientes indicaciones: —No emplear otro disolvente. —No mezclar con otros medicamentos o soluciones de infusión. —No emplear material de vidrio sino exclusivamente material de plástico para la inyección. Normalmente, el tratamiento con Erantin es una terapia a largo plazo. En caso necesario puede interrumpirse su administración en cualquier momento. Contraindicaciones: Erantin no deberá emplearse durante el embarazo y la lactancia ni en niños, dado que hasta ahora se carece de experiencia en estos casos. Interacciones: En base a los resultados clínicos de los que disponemos hasta el momento, no hay indicios de interacciones con otros medicamentos. No administrar en infusión intravenosa o en solución con otros fármacos. Efectos secundarios: Especialmente al principio del tratamiento, pueden aparecer síntomas similares a los de un síndrome gripal, tales como cefaleas, dolor de extremidades, sensación de debilidad, vértigo o cansancio. El efecto secundario más frecuente bajo tratamiento con Erantin es un aumento, dosis-dependiente, de la tensión arterial o el agravamiento de una hipertensión ya existente. Estos aumentos de la tensión arterial responden al tratamiento medicamentoso. Por otra parte, también se recomienda la monitorización de la tensión arterial entre las sesiones de diálisis, y particularmente, al inicio de la terapia. Las siguientes reacciones también pueden ocurrir ocasionalmente en pacientes con tensión arterial normal o baja: crisis hipertensivas con síntomas similares a una encefalopatía (ej.: dolores de cabeza, estado confusional) así como convulsiones tónico-clónicas generalizadas. Deberá prestarse una atención especial, como una posible señal de aviso a la aparición repentina de dolores de cabeza similares a migrañas. Durante el tratamiento con Erantin puede producirse un aumento moderado, dosis-dependiente, de las plaquetas dentro de los límites de la normalidad, que vuelve a otras más bajas en el transcurso de la terapia. El desarrollo de una trombocitosis es raro. Se recomienda que durante las primeras 8 semanas de terapia el recuento de plaquetas sea regularmente monitorizado. Debido al aumento de glóbulos rojos, puede producirse un ligero incremento de la viscosidad sanguínea. En el transcurso de la terapia con rh-Epo, a menudo, se hace necesario aumentar la dosis de heparina durante la hemodíalisis. En caso de no conseguir una heparinización óptima, existe la posibilidad de que se produzca una oclusión en el sistema de diálisis. Especialmente en aquellos pacientes que tengan a menudo una tensión arterial demasiado baja o cuyas fistulas arterio-venosas presenten un flujo disminuido de sangre (p.e. en caso de estrechamiento o de ensanchamiento), pueden producirse oclusiones en las fistulas. Se recomienda revisar regularmente el shunt o tomar también medidas preventivas para evitar una trombosis. En la mayoría de los casos, paralelamente al aumento del valor del hematocrito, se produce un descenso de los valores de ferritina en el suero. Por este motivo se recomienda administrar oralmente hierro 200-300 mg/día, a todos aquellos pacientes que presentan un valor sérico de ferritina por debajo de 100 ng/ml. Además, se ha observado, en casos aislados una hiperkalemia. Se recomienda que el nivel de potasio sea monitorizado al menos en el período de corrección. Asimismo, se han observado incrementos de los niveles séricos de creatinina, urea y fosfato y erupciones similares al acné, infarto de miocardio y una reacción anafiláctica. Precauciones especiales: Erantin deberá ser utilizado con precaución en presencia de hipertensión no tratada, insuficientemente tratada o difícilmente controlable, tumores malignos, epilepsia, trombocitosis, insuficiencia hepática crónica e hipersensibilidad conocida al medicamento. Se recomienda

## una nueva

normalizar, previamente al tratamiento con Erantin, déficits de ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> pues pueden reducir su eficacia. Intoxicación y su tratamiento: La administración en inyectables hace difícil su aparición. Conservación y almacenamiento: Erantin no debe utilizarse pasada la fecha de caducidad que figura en el estuche y debe conservarse en la nevera a una temperatura de +2 °C hasta +8 °C. La solución lista para el uso es estable durante 24 horas a una temperatura de +2 °C hasta +8 °C. No obstante se recomienda una utilización inmediata para garantizar su esterilidad. Cualquier resto de medicamento que permanezca en el vial después de su uso, deberá desecharse. Condiciones de dispensación: Con receta médica. Especialidad del Uso Hospitalario. Presentación y PVP: Erantin 1000, 15.298,— ptas. Erantin 2000, 30.574,— ptas. Caja con 6 viales de polvo liofilizado y 6 ampollas de disolvente.



# Era en nefrología, Erantín®

Viales liofilizados Eritropoyetina humana recombinante.

**BOEHRINGER  
MANNHEIM**  
ESPAÑA

Boehringer Mannheim S.A.  
Copérmico, 60 y 61-63  
08006 Barcelona



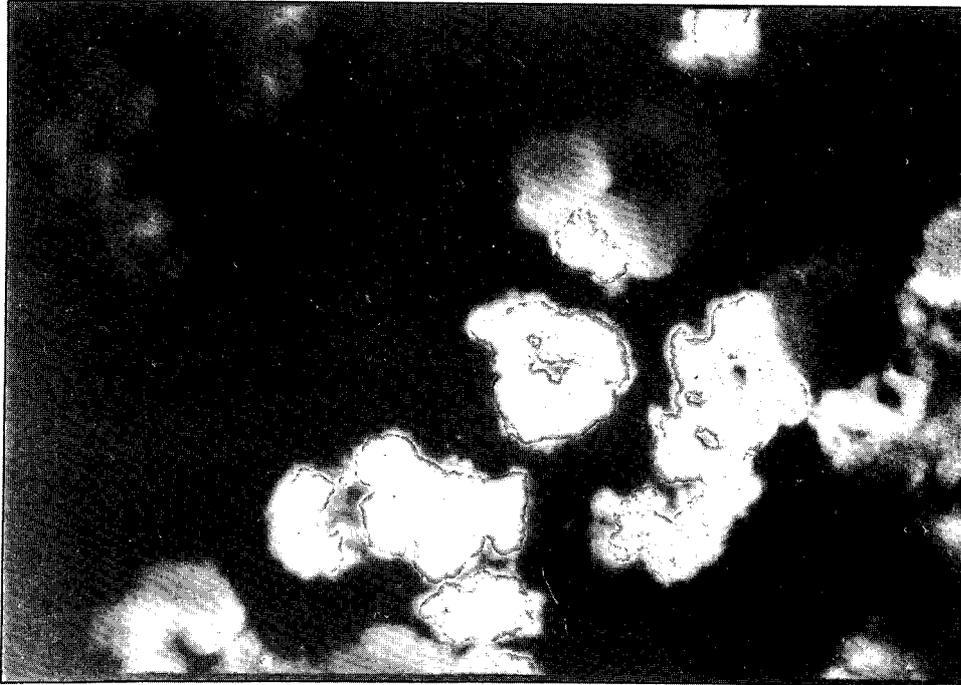


Fig. 3.—Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo. Obsérvese la inmunotinción nuclear difusa con bandas endonucleares densas, característico de los anticuerpos antimieloperoxidasa ( $\times 100$ ).

ciden en señalar la inmunofluorescencia indirecta como el método de elección para la detección de ANCA. Sin embargo, la reciente purificación y comercialización de diversos antígenos citoplasmáticos granulocitarios, como la proteinasa 3, MPO y elastasa, puede permitir la realización de estas técnicas, especialmente el ELISA, con una fiabilidad teóricamente absoluta.

### Identificación antigénica y asociaciones clínicas

#### Proteinasa 3

Goldschmeding y cols.<sup>25</sup> y Niles y cols.<sup>26</sup> demostraron en 1989 que el antígeno con el que reaccionan los ANCA que producen un patrón citoplasmático (C-ANCA) es una serin proteasa de 29 kD, que se localiza en los gránulos azurófilos de los neutrófilos y en los lisosomas de los monocitos<sup>27</sup>. Durante el Second International ANCA Workshop (Holanda, 1989), el grupo alemán de Lüdemann y cols.<sup>28</sup> sugirió que esta enzima era en realidad la proteinasa 3 (PR3), que es un constituyente de los gránulos primarios caracterizado por Kao en 1988<sup>29</sup>. Asimismo, Jennette y cols.<sup>30</sup>, mediante la utilización de anticuerpos monoclonales anti-PR3, comprobaron que algunos C-ANCA de pacientes afectos de GW eran específicos para esta proteasa. Por último, en el Third International ANCA Workshop (Washington, 1990), así como en estudios recientes, se ha confirmado definitivamente que la mayoría de C-ANCA presentes en pacientes con GW reconocen a la PR3<sup>13, 31, 32</sup>, e incluso ya ha sido posible la decodificación de la secuencia aminoácida de esta enzima, que pa-

rece ser homóloga a la de las enzimas lisosomales mieloblastina y proteinasa AGP<sup>33</sup>.

#### Mieloperoxidasa

Mediante técnicas de ELISA, western-blot y el empleo de anticuerpos monoclonales se ha demostrado que los ANCA con patrón perinuclear o nuclear (P-ANCA) representan un grupo heterogéneo de autoanticuerpos que pueden reconocer a uno o más antígenos, generalmente de los gránulos azurófilos de los neutrófilos. Se han detectado así ANCA con especificidad para la MPO, elastasa y lactoferrina aisladamente y en diferentes combinaciones, e incluso asociados a los ANCA que reaccionan con la proteinasa 3. No obstante, la mayoría de P-ANCA (80-90 %) identifican únicamente a la MPO<sup>9, 11, 12, 17, 34</sup>.

Existe un método desarrollado en nuestro laboratorio<sup>35</sup> mediante el cual es posible identificar ANCA con especificidad para la MPO, y que consiste en efectuar una inmunofluorescencia indirecta convencional en neutrófilos, los cuales se sabe previamente que poseen un déficit congénito de MPO. Esta condición es fácilmente detectada en análisis de rutina empleando el Technicon H-1 auto-analizador (Technicon, Tarrytown, NY, USA). Sueros que daban positivo con neutrófilos normales y negativo en neutrófilos con déficit de MPO se consideró que eran portadores de anticuerpos anti-MPO.

Clinicamente, los ANCA parecen identificar a diversos trastornos según la especificidad antigénica que presentan. Así, los P-ANCA, y concretamente aquellos que reaccionan con la MPO, se detectan mayoritariamente en glo-

merulonefritis necrotizantes y rápidamente progresivas de tipo idiopático, mientras que los C-ANCA, y especialmente aquellos que reconocen a la PR3, identifican a pacientes con GW (tablas I y II).

*Granulomatosis de Wegener*

En esta enfermedad, la presencia y/o titulación sérica de estos anticuerpos se correlaciona perfectamente con este diagnóstico y con la actividad clínica<sup>1, 16, 36</sup>. Sin embargo, la frecuencia observada del tipo antigénico parece depender del criterio utilizado por el diagnóstico de GW. Cuando se emplea como único criterio admisible la demostración histológica de granulomas en el aparato respiratorio, independientemente de la existencia de afec-

ción renal, la mayoría de ANCA (más del 90 %) corresponden a C-ANCA con especificidad para la PR3, y el porcentaje aumenta más cuando clínicamente existe afección sinusal y del tracto respiratorio superior. Si el criterio diagnóstico es menos riguroso (por ejemplo, cualquier evidencia de vasculitis pulmonar histológicamente comprobada o clínicamente sospechada), algunos pacientes presentarán C-ANCA, mientras que en otros se demostrarán P-ANCA (tabla III) y éstos representarán, en su mayoría, anticuerpos anti-MPO que están mayoritariamente implicados en casos de glomerulonefritis necrotizantes y rápidamente progresivas, con nula o escasa afección extrarrenal<sup>13, 18, 37</sup>. Tanto si se considera el criterio restrictivo como si se considera el criterio más amplio, la determinación de los ANCA se ha convertido en índices serológicos extremadamente útiles para el diagnóstico y seguimiento de la granulomatosis de Wegener.

**Tabla I.** Anticuerpos anticitoplasmáticos de neutrófilo. Asociación entre patrón de inmunofluorescencia, especificidad antigénica y enfermedades asociadas

Patrón IF	Antígeno	Enfermedad asociada
C-ANCA.....	Proteinasas 3 (PR3)	Granulomatosis de Wegener
P-ANCA.....	Mieloperoxidasa (MPO)	PAN, GNRP, GNFN

PAN: periarteritis nodosa.  
GNRP: glomerulonefritis rápidamente progresiva.  
GNFN: glomerulonefritis focal necrotizante.

**Tabla II.** Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo: patrones de inmunofluorescencia y enfermedades asociadas\*

Patrón IF	GNFN y GNRP idiopática (n = 45)	PAN (n = 47)	GW g (n = 25) †	GW 1 (n = 16) ‡
C-ANCA.....	5	1	12	4
P-ANCA.....	32	12	4	0

\* X. Bosch, E. Mirapeix y cols.: *Medicina Clínica* (en prensa).  
C-ANCA: patrón citoplasmático.  
P-ANCA: patrón perinuclear.  
GNFN y GNRP: glomerulonefritis necrotizante y rápidamente progresiva.  
PAN: periarteritis nudosa.  
GW g: granulomatosis de Wegener generalizada; † 18 casos en actividad clínica.  
GW 1: granulomatosis de Wegener localizada; ‡ 12 casos en actividad clínica.

*Periarteritis nodosa*

Aunque en esta enfermedad se han detectado C-ANCA y P-ANCA, la sensibilidad y especificidad de éstos para esta forma de vasculitis necrotizante sistémica no han sido totalmente establecidas. Ello se debe a la ausencia de estudios sobre ANCA en series amplias de pacientes con un diagnóstico indudable de PAN y, en segundo lugar, al solapamiento clínico e histológico que puede existir entre esta enfermedad y la GW, según el criterio diagnóstico utilizado<sup>2, 5-14, 18, 36, 37</sup>. A este respecto cabe recordar que, en ausencia de granulomas, la arteritis sistémica y la glomerulonefritis observadas en la GW pueden ser indiferenciables de las presentes en la PAN<sup>38, 39</sup>. Por otra parte, numerosos autores admiten en la actualidad que la PAN puede ser causa de vasculitis pulmonar<sup>40, 41</sup>; por tanto, la única característica histopatológica que diferenciaría claramente ambos procesos sería la presencia de una inflamación necrotizante granulomatosa del tracto respiratorio en la GW.

Otro punto conflictivo se deriva de la tendencia a subclasificar la PAN en dos formas clínica e histológicamente distintivas: PAN «clásica» y PAN «microscópica»<sup>12, 20, 22, 36, 39, 45</sup>. Existe mucha confusión respecto a la utilización de estos conceptos, ya que, por un lado, algunos autores consideran que la afección pulmonar excluye el diagnóstico de PAN, mientras que otros no lo excluyen.

**Tabla III.** Especificidad antigénica de los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo (ANCA) en función del criterio utilizado para el diagnóstico de granulomatosis de Wegener\*

Criterio diagnóstico	PR3-ANCA	MPO-ANCA	ANCA negativos
Vasculitis granulomatosa (senos y TRS).....	+++	+	+
Cualquier evidencia de vasculitis pulmonar.....	+++	+++	+

\* Modificada de Falk RJ<sup>45</sup>.  
PR3-ANCA: anticuerpos antiproteinasas 3.  
MPO-ANCA: anticuerpos antimieloperoxidasa.  
TRS: tracto respiratorio superior.

También en algunos centros se denomina PAN «microscópica» a cualquier evidencia de glomerulonefritis necrotizante focal, con o sin lesiones arteríticas renales e independientemente de la presencia de manifestaciones extrarrenales<sup>43</sup>. Sin embargo, la introducción de los ANCA puede suponer que estas dudas diagnósticas sean aclaradas, al menos en parte. Así, a la vista de los trabajos aparecidos sobre estos anticuerpos y en base a la experiencia personal en este terreno<sup>14, 46, 47</sup>, nuestra impresión es que la PAN «clásica» y la PAN «microscópica» corresponden a una misma entidad, es decir, a una vasculitis necrotizante sistémica no granulomatosa, con afección de vasos de diferente calibre (arterias y arteriolas) y con distintas expresiones clínicas.

En nuestra casuística de 47 pacientes diagnosticados de PAN «clásica» detectamos ANCA en 13 casos, diez de los cuales correspondían a P-ANCA con especificidad para la MPO. Sorprendentemente, éstos eran los únicos pacientes del grupo con insuficiencia renal y en la mayoría de ellos la biopsia renal demostró una glomerulonefritis necrotizante con mayor o menor grado de proliferación extracapilar (tablas II y IV)<sup>47</sup>. De ahí se deduce que los anticuerpos anti-MPO en pacientes afectados de glomerulonefritis necrotizantes y rápidamente progresivas, independientemente de la existencia de afección sistémica extrarenal, identificarían a una misma entidad, es decir, una PAN, y la PAN «microscópica» correspondería a esta enfermedad, manifestándose principalmente como una glomerulonefritis necrotizante focal.

*Glomerulonefritis necrotizante y rápidamente progresiva idiopáticas*

Godman y Churg<sup>48</sup>, al igual que otros muchos investigadores<sup>38, 39, 49, 50</sup>, observaron que las lesiones glomerulares de la PAN y la GW podían ser totalmente indiferenciables. En fase de actividad, éstas se caracterizan por una necrosis segmentaria, con frecuencia acompañada de proliferación extracapilar. Ocasionalmente pueden demostrarse lesiones vasculíticas en arterias de mediano o pequeño calibre y, excepcionalmente, granulomas periglomerulares, que serían indicativos, aunque no siempre, de GW<sup>51</sup>. Por otra parte, la inmunofluorescencia renal no suele demostrar depósitos inmunes a nivel glomerular. El concepto de glomerulonefritis necrotizante y proliferativa ex-

tracapilar idiopáticas hace referencia a aquellos casos que no son consecuencia aparente de un proceso vasculítico sistémico, tanto por la ausencia de lesiones vasculíticas en otros territorios como por la de manifestaciones clínicas extrarrenales<sup>2, 38, 43, 49-52</sup>. El reciente descubrimiento de los ANCA ha representado, sin duda alguna, un avance importante en el diagnóstico y seguimiento evolutivo de estas formas idiopáticas de glomerulonefritis. En fase de actividad, éstos se detectan en más del 80 % de casos y la mayoría corresponden a P-ANCA con especificidad para la MPO<sup>7, 11, 18, 37</sup>, que, como hemos comentado, parecen identificar a formas de PAN limitadas al riñón (tablas II y IV). Esta asociación entre ANCA y glomerulonefritis rápidamente progresivas está adquiriendo gran importancia, de tal modo que Falk<sup>37</sup>, en un Forum de Kidney Int., propone una clasificación de las GNRP en tres grupos: la tipo I, mediada por anticuerpos antimembrana basal glomerular, que corresponde al síndrome de Goodpasture o la enfermedad por anti-MBG. La tipo II, mediada por complejos inmunes, de las que el ejemplo con más personalidad lo constituye el lupus eritematoso sistémico. Por último, este autor define como tipo III al conjunto de glomerulonefritis que cursan con anticuerpos anticitoplasmáticos, incluyendo dentro de este grupo la glomerulonefritis rápidamente progresiva con semilunas en su forma idiopática o limitada al riñón y todas las afectaciones renales de vasculitis, sean secundarias a una PAN o a la granulomatosis de Wegener (tablas IV y V).

La presencia de anticuerpos anti-MPO o anti-PR3 en gran parte de glomerulonefritis necrotizantes y rápidamente progresivas idiopáticas, que al mismo tiempo compar-ten otras glomerulonefritis secundarias a PAN o GW, respectivamente, y cuyas lesiones glomerulares son idénticas a las primeras, sugiere que aquéllas no son más que una variante de estas vasculitis limitadas al riñón (tabla IV), y que de no ser detectadas y controladas en fase precoz pueden evolucionar a una forma más definida de la enfermedad<sup>52</sup>. Asimismo, la existencia de uno u otro anticuerpo en pacientes diagnosticados de PAN o GW que desarrollan una glomerulonefritis necrotizante y/o rápidamente progresiva, al mismo tiempo que una hemorragia pulmonar secundaria a capilaritis alveolar necrotizante, puede también extrapolarse a las formas idiopáticas de glomerulonefritis con hemorragia pulmonar coexistente. Así pues, los anticuerpos anti-MPO serían marcadores de capilaritis glomerular y pulmonar en el contexto de una

**Tabla IV.** Especificidad antigénica de los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo en función de la etiología de las glomerulonefritis rápidamente progresivas (GNRP) tipo III\*

GNRP III (etiología)	PR3-ANCA	MPO-ANCA	ANCA negativos
Periarteritis nudosa.....	-	+++	-
Granulomatosis de Wegener .....	+++	+	-
Idiopáticas .....	+ (GW?)	+++ (PAN?)	+

\* X. Bosch, E. Mirapeix y cols.: *Medicina Clínica* (en prensa).  
Abreviatura: ver tablas I y II.

**Tabla V.** Nueva clasificación propuesta para las glomerulonefritis rápidamente progresivas\*

Tipo	Mecanismo inmunológico	IF renal	Enfermedad responsable
I..... II.....	Anticuerpos Inmunocomplejos	Lineal Granular	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lupus eritematoso sistémico.</li> <li>- Púrpura de Schönlein Henoch.</li> <li>- Crioglobulinemia mixta.</li> <li>- Nefropatía por IgA.</li> <li>- Glomerulonefritis mesangiocapilar.</li> <li>- Postinfecciosas.</li> <li>- Desconocida.</li> </ul>
III.....	Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo	Negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Desconocida: idiopáticas.</li> <li>- Granulomatosis de Wegener.</li> <li>- Periarteritis nudosa.</li> </ul>

\* Modificada de Falk RJ<sup>45</sup>.  
MBC: membrana basal glomerular.

PAN, mientras que los anticuerpos anti-PR3 también serían indicativos de una capilaritis en estos territorios, pero en el contexto de una GW (tabla IV).

**Síndrome de Goodpasture**

En algunos estudios de GNRP asociadas a ANCA se incluían a los pacientes con anticuerpos antimembrana basal glomerular (anti-MBG) en el grupo control negativo<sup>2,6</sup>. Sin embargo, en estudios más recientes algunos autores han observado la presencia de ANCA en pacientes con anticuerpos anti-MBG<sup>53</sup>. En realidad, algunos pacientes con enfermedad por anti-GBM, con o sin hemorragia pulmonar, tienen síntomas que sugieren una afectación sistémica del tipo vasculitis, como son mialgias, artralgias, rash cutáneo o incluso alteraciones neurológicas<sup>20,54</sup>. Además, en algunos casos se han demostrado histológicamente lesiones claramente vasculíticas<sup>55,56</sup>. Según nuestros resultados<sup>54</sup>, un tercio de los pacientes diagnosticados de enfermedad por anticuerpos anti-GBM, con depósitos lineales en la biopsia renal y un test positivo por RIA para los anti-MBG, tienen además ANCA con patrón perinuclear y específicos para la MPO. El hallazgo de ANCA en pacientes con anti-MBG puede tener implicaciones pronósticas importantes, ya que según nuestra experiencia<sup>54</sup> aquellos pacientes con ambos anticuerpos y títulos altos de ANCA, recibiendo el mismo tratamiento, tienen una respuesta clínica mejor que aquellos con títulos bajos, habiéndose observado que en la mayoría de casos es posible suprimir la hemodiálisis al existir una clara recuperación de la función renal. Ello no acostumbra a suceder en los casos con títulos bajos de ANCA o en aquellos casos de anti-MBG y ausencia de ANCA. Estos hallazgos sugieren que al menos en algunos casos pueden coexistir dos mecanismos patogénicos, uno dependiendo del anti-MBG y otro asociado al ANCA. Sería atractivo especular que el mecanismo patogénico que va asociado al ANCA (ver hipótesis patogénica) sea el causante de alteraciones en la membrana basal glomerular que ponen

en evidencia antígenos normalmente ocultos, los cuales son susceptibles de generar la aparición de anticuerpos anti-GBM.

**Hipótesis patogénica**

La patofisiología de las GNRP y GNFN, sean idiopáticas o secundarias a vasculitis, es prácticamente desconocida. Esto contrasta con las formas mediadas por anti-GBM o por complejos inmunes, como son el síndrome de Goodpasture o el lupus eritematoso sistémico. Con la aparición de los ANCA se abre una posibilidad de estudio patogénico que implica la participación de un autoanticuerpo y de los polimorfonucleares como portadores y generadores de los correspondientes antígenos. Los polimorfonucleares contienen en su interior una serie de gránulos llamados lisosomas, los cuales contienen a su vez un conjunto relativamente numeroso de enzimas con gran capacidad destructiva una vez han sido liberados en el proceso de la fagocitosis. Existe evidencia experimental<sup>57,58</sup> en la que la perfusión de estos enzimas a animales de experimentación produce la fijación de los mismos a la membrana basal glomerular debido a su elevado punto isoelectrónico, que reacciona con la carga electronegativa del capilar glomerular. Ello va seguido de alteraciones funcionales y estructurales en forma de proteinuria, tumefacción endotelial y necrosis glomerular con proliferación epitelial<sup>58</sup>. El enzima mejor estudiado es la MPO, el cual, debido a su punto isoelectrónico superior a 10, se fija a la membrana basal de la rata si se perfunde en la arteria renal. Cuando dicha rata se expone *a posteriori* a la perfusión de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y halides (Br<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>), sustancias que también son generadas por el propio PMN, se produce una tumefacción de la célula endotelial, fusión de los pies de los podocitos con proteinuria asociada, al mismo tiempo que se estimulan otros enzimas, como la colagenasa y la gelatinasa, de gran capacidad destructiva<sup>57-59</sup>. Los neutrófilos polimorfonucleares, que son los portadores naturales de los enzimas lisosómicos, son elementos celulares que

pueden encontrarse en el glomérulo renal en las GNRP primitivas y secundarias<sup>60</sup>, y la importancia patogenética de esta célula está ampliamente demostrada en las glomerulonefritis experimentales al observarse una importante reducción de la lesión renal si estos animales son deplecionados previamente de PMN. Estas células, y probablemente también los monocitos/macrófagos activados en el contexto de la respuesta inmune en asociación con las interleukinas (IL 1) y el factor tumoral de necrosis (TNF)<sup>61</sup>, liberarán los enzimas lisosómicos que se fijarán eléctricamente<sup>65</sup> a la membrana basal, produciendo alteraciones proliferativas, funcionales y estructurales. Queda, sin embargo, por explicar por qué no se producen fenómenos vasculíticos o glomerulonefritis en todos los casos en los que hay una activación masiva de los PMN, como podían ser los casos de sepsis bacteriana, y queda también por explicar cuál es el papel patogenético de los ANCA cuando estos anticuerpos no están presentes en ninguno de los tejidos afectados.

*Autoinmunidad, vasculitis y glomerulonefritis*

Una explicación no exenta de dificultades que hoy en día está en vigor es la de incluir a este proceso dentro de otro más amplio y de carácter autoinmune en donde probablemente el ANCA es la expresión humoral de la autoinmunidad y en donde además coexistirían procesos de inmunidad celular<sup>57</sup>. Existen asociaciones clínicas que inclinan a pensar que la patología vasculítica está de algún modo relacionada con la *autoinmunidad*, tales como son

la estrecha asociación existente, el diagnóstico y la actividad clínica de la granulomatosis de Wegener con la presencia y niveles de autoanticuerpos anticitoplasmáticos. Por otro lado, el hecho de que en general el tipo de autoanticuerpos ANCA sean IgG tipo IV, sugiere una estimulación antigénica repetida en el contexto de una respuesta inmune T dependiente. Se ha sugerido que el tipo de antígeno implicado en este proceso sería de origen microbiano, dada la frecuente asociación a un antecedente de *infección* de vías respiratorias altas, la estacionalidad de las afecciones vasculíticas, las cuales parece que predominan en invierno, y la supuesta eficacia de la recidiva del cotrimoxazol como medida preventiva de las recaídas en los pacientes afectados de granulomatosis de Wegener<sup>57</sup>.

En un proceso infeccioso normal se produce una activación de los PMN, los cuales liberarán los conocidos enzimas lisosómicos, dotados de gran capacidad destructiva; pero no siempre que hay una infección se producen fenómenos vasculíticos con necrosis inflamatoria o granulomas. Para que ello ocurra tendría que existir otro componente de tipo autoinmunitario, el cual, al ponerse en marcha, producirá autoanticuerpos (ANCA) frente a los antígenos lisosómicos liberados en el proceso inflamatorio (fig. 4). Estos anticuerpos se unirán, por un lado, a los enzimas que se expresan en la superficie celular del neutrófilo activado<sup>32</sup>, habiéndose demostrado que esta unión reestimula la misma PMN, induciendo la degranulación de enzimas y radicales tóxicos de oxígeno<sup>62</sup>. Además, y por otro lado, la unión del autoanticuerpo a los enzimas liberados los hace resistentes a su inactivación natural por parte de la alfa-1-antitripsina<sup>57</sup>, con lo cual su actividad se

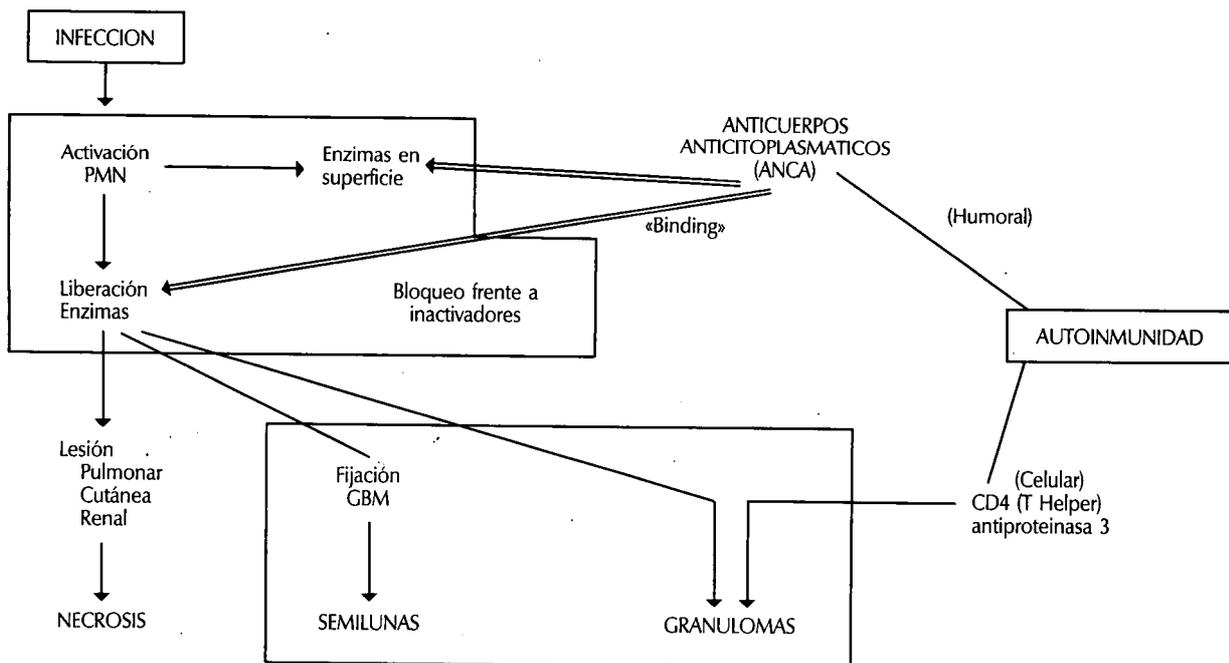


Fig. 4.—Hipótesis patogénica autoinmunitaria.

vería prolongada por falta de inactivación y su capacidad necrotizante se vería incrementada por este proceso amplificador.

Existen también fenómenos de inmunidad celular mediada por células T con características autoinmunes frente a antígenos lisosómicos, que podrían explicar la formación de granulomas y de semilunas epiteliales sin la participación de la inmunidad humoral. La inmunohistología de las biopsias renales en pacientes afectados de granulomatosis de Wegener muestra la predominancia de células T del tipo CD4+ (helper), lo cual sugiere una reacción de hipersensibilidad retardada (DTH) con producción local de citoquinas, que atraerían y activarían a macrófagos y polimorfonucleares. Existen también estudios que demuestran que células mononucleares de pacientes afectados de granulomatosis de Wegener pueden proliferar *in vitro* en respuesta a la proteinasa 3, compatible con un reconocimiento de este antígeno por las células T *in vivo*. Ambas experiencias apoyan la hipótesis de que los granulomas de la enfermedad de Wegener son la consecuencia de una reacción de autoinmunidad celular mediada por células T frente al antígeno de la PR3<sup>57</sup>.

Experiencias recientes también demuestran que las células T participan en la patogénesis de las glomerulonefritis con formación de semilunas. Mediante la utilización de anticuerpos monoclonales se han identificado linfocitos T CD4+ en el glomérulo de las GNRP, tanto en el flóculo glomerular como en el seno de la proliferación epitelial<sup>60</sup>. Se ha descrito también recientemente un modelo experimental en el que se reproduce en ratas una GNRP con semilunas sin la colaboración de inmunoglobulinas ni complemento, es decir, con la única participación de la inmunidad celular<sup>63</sup>. La experiencia consistía en perfundir en la arteria renal un antígeno de características semejantes a los enzimas lisosómicos en lo que a punto isoeléctrico se refiere. Este antígeno quedaba implantado en la membrana basal glomerular, seguido de exudación y proliferación epitelial únicamente en aquellos animales que habían sido previamente sensibilizados con el mismo antígeno y que, por tanto, eran capaces de responder inmunológicamente a través de la inmunidad celular.

Todos estos datos, que relacionarían la granulomatosis de Wegener con mecanismos de inmunidad celular, dirigidos contra la proteinasa 3, no han sido descritos aún de forma que se pueda relacionar de forma semejante a la MPO y la GNRP, del mismo modo que no se conoce todavía por qué el ANCA anti-PR3 se asocia a la granulomatosis de Wegener y el ANCA anti-MPO se asocia a las PAN con afectación renal y a la GNRP.

Queda también por dilucidar cuál es el papel del macrófago en la génesis de las vasculitis, el cual está mucho más directamente relacionado con la respuesta inmune, siendo al mismo tiempo una célula que sintetiza lisosomas y enzimas que van a poder ser reconocidos por los ANCA de modo semejante a como se ha demostrado que ocurre con los PMN. No hay que olvidar que el macrófago es la célula que sintetiza IL1 y TNF en gran cantidad y

que estas linfoquinas pueden activar a células endoteliales y mesangiales, produciendo respuesta proliferativa<sup>60, 61</sup>.

Por último, debemos considerar a la célula epitelial como a un elemento inmunológicamente activo, ya que puede actuar como célula presentadora de antígeno del mismo modo que lo hace el macrófago y en determinadas circunstancias la célula endotelial<sup>64</sup>, y quizás podríamos considerar a su respuesta proliferativa como una reacción a antígenos lisosómicos implantados en la membrana basal.

De todo lo expuesto existen algunos aspectos que parecen tener una especial relevancia, como son la elevada especificidad y sensibilidad que muestran los diferentes patrones de inmunofluorescencia para cada uno de los procesos con los que se asocian, así como la práctica aceptación del concepto de que las glomerulonefritis necrotizantes y rápidamente progresivas idiopáticas inmunonegativas son formas renales de vasculitis. La aparición de estos marcadores en enfermos críticos permitiría la adopción de medidas terapéuticas agresivas aun en ausencia de otros métodos diagnósticos, como pueda ser la biopsia renal.

## Bibliografía

1. Woude van der FJ, Rasmussen N, Lobatto S y cols.: Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet*, 1:425-429, 1985.
2. Falk RJ y Jennette JC: Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med*, 318:1651-1657, 1988.
3. Hall JB, Wadham BM, Wood CJ, Ashton V y Adam WR: Vasculitis and glomerulonephritis: a subgroup with an antineutrophil cytoplasmic antibody. *Aust N Z J Med*, 14:277-278, 1984.
4. Davies DJ, Moran JE, Niall JF y Ryan GB: Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *Br Med J*, 2:606, 1982.
5. Walters MDS, Savage COS, Dillon MJ y cols.: Antineutrophil cytoplasm antibody in crescentic glomerulonephritis. *Arch Dis Child*, 63:814-817, 1988.
6. Andrassy K, Koderish J, Rufer M, Erb A, Waldherr R y Ritz E: Detection and clinical implication of anti-neutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis and rapidly progressive glomerulonephritis. *Clin Nephrol*, 32:159-167, 1989.
7. Jennette JC, Wilkman AS y Falk RJ: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and vasculitis. *An J Pathol*, 135:921-930, 1989.
8. Nässberger L, Sjöholm AG, Bygren P, Thysell H, Hojer-Madsen M y Rasmussen N: Circulating anti-neutrophil cytoplasm antibodies in patients with rapidly progressive glomerulonephritis and extracapillary proliferation. *J Intern Med*, 225:191-196, 1989.
9. Cohen Tervaert JW, Goldschmeding R, Elema JD y cols.: Autoantibodies against myeloid lysosomal enzymes in crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int*, 37:799-806, 1990.
10. Mustonen J, Soppi E, Pasternack A y Hällström O: Clinical significance of autoantibodies against neutrophil cytoplasmic components in patients with renal disease. *Am J Nephrol*, 10:482-488, 1990.
11. Nässberger L, Sjöholm AG y Thysell H: Antimyeloperoxidase antibodies in patients with extracapillary glomerulonephritis. *Nephron*, 56:152-156, 1990.

E. MIRAPEIX y cols.

12. Cohen Tervaert JW, Goldschmeding R, Elema JD y cols.: Association of autoantibodies to myeloperoxidase with different forms of vasculitis. *Arthritis Rheum*, 33:1264-1272, 1990.
13. Falk RJ, Hogan S, Carey TS y Jennette JC: Clinical course of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and systemic vasculitis. *Ann Intern Med*, 113:656-663, 1990.
14. Bosch X, Mirapeix E, Font J, Ingelmo M y Revert L: Anti-myeloperoxidase antibodies in crescentic glomerulonephritis. *Nephron* (en prensa).
15. Nölee B, Specks U, Lüdemann J, Rohrbach MS, De Remeé RA y Gross WL: Anticytoplasmic autoantibodies: their immunodiagnostic value in Wegener's granulomatosis. *Ann Intern Med*, 111:28-40, 1989.
16. Cohen Tervaert JW, Woude van der FJ, Fauci AS y cols.: Association between active Wegener's granulomatosis and anticytoplasmic antibodies. *Arch Intern Med*, 149:2461-2465, 1989.
17. Wiik A: Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *APMIS*, 97 (suppl.):12-13, 1989.
18. Jennette JC y Falk RJ: Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated diseases: a review. *Am J Kidney Dis*, 15:517-529, 1990.
19. Charles LA, Falk RJ y Jennette JC: Reactivity of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with HL-60 cells. *Clin Immunol Immunopathol*, 53:243-253, 1989.
20. Savage COS, Winearls CG, Jones S, Marshall PD y Lockwood CM: Prospective study of radioimmunoassay for antibodies against neutrophil cytoplasm in diagnosis of systemic vasculitis. *Lancet*, 1:1389-1393, 1987.
21. Font J, Bosch X, Mirapeix E, Revert L e Ingelmo M: Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo en el lupus eritematoso sistémico. *Rev Clin Esp*, 188: 167-168, 1991.
22. Lockwood CM, Bakes D, Jones S, Whitaker KB, Moss DW y Savage COS: Association of alkaline phosphatase with an autoantigen recognised by circulating anti-neutrophil antibodies in systemic vasculitis. *Lancet*, 1:716-720, 1987.
23. Lüdemann J, Utech B y Gross WL: Detection and quantification of anti-neutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis by ELISA using affinity-purified antigen. *J Immunol Methods*, 114:167-174, 1988.
24. Rasmussen N, Sjölin C, Isaksson B, Bygren P y Wieslander J: An ELISA for the detection of anti-neutrophil cytoplasm antibodies (ANCA). *J Immunol Methods*, 127:139-145, 1990.
25. Goldschmeding R, Schoot van der CE, Bokkel Huininkten D y cols.: Wegener's granulomatosis antibodies identify a novel diisopropyl-fluorophosphate-binding protein in the lysosomes of normal human neutrophils. *J Clin Invest*, 84:1577-1587, 1989.
26. Niles JL, McClusky RT, Ahmad MF y cols.: Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine proteinase. *Blood*, 74:1888-1893, 1989.
27. Calafat J, Goldschmeding R, Ringeling PL, Janssen H y Schoot van der CE: In situ localization by double-labeling immunoelectron microscopy of anti-neutrophil cytoplasm autoantibodies in neutrophils and monocytes. *Blood*, 75:242-250, 1990.
28. Lüdemann J, Csemock E, Ulmer M y cols.: Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis: immunodiagnostic value, monoclonal antibodies and characterization of the target antigen. *Neth J Med*, 36:157-162, 1990.
29. Kao RC, Wehner NG, Skubitz KM y cols.: Proteinase 3. A distinct human polymorphonuclear leukocyte proteinase that produces emphysema in hamsters. *J Clin Invest*, 82:1963-1973, 1988.
30. Jennette JC, Hoidal JH y Falk RJ: Specificity of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies for proteinase 3. *Blood*, 78:2263-2264, 1990.
31. Lüdemann J, Utech B y Gross WL: Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis recognize an elastinolytic enzyme. *J Exp Med*, 171:357-362, 1990.
32. Csemok E, Lüdemann J, Gross WL y Bainton DF: Ultrastructural localization of proteinase 3, the target antigen of anti-cytoplasmic antibodies circulating in Wegener's granulomatosis. *Am J Pathol*, 137:1113-1120, 1990.
33. Jenne DE, Tschopp J, Lüdemann J, Utech B y Gross WL: Wegener's autoantigen decoded. *Nature*, 346:520, 1990.
34. Goldschmeding R, Cohen Tervaert JW, Gans ROB y cols.: Different immunological specificities and disease associations of c-ANCA and p-ANCA. *Neth J Med*, 36:114-116, 1990.
35. Bosch X, Mirapeix E, Font J, Ingelmo M y Revert L: Anti-myeloperoxidase antibodies in crescentic glomerulonephritis. *Nephron* (en prensa).
36. Lüdemann J y Gross WL: Autoantibodies against cytoplasmic structures of neutrophil granulocytes in Wegener's granulomatosis. *Clin Exp Immunol*, 69:350-357, 1987.
37. Falk RJ: ANCA-associated renal disease. *Kidney Int*, 38:998-1010, 1990.
38. Parfrey PS, Hutchinson TA, Jothy S y cols.: The spectrum of diseases associated with necrotizing glomerulonephritis and its prognosis. *Am J Kidney Dis*, 6:387-396, 1985.
39. Furlong TJ, Ibels LS y Eckstein RP: The clinical spectrum of necrotizing glomerulonephritis. *Medicine (Baltimore)*, 66:192-201, 1987.
40. Laetheman JW, Sibley RK y Davies SF: Diffuse intrapulmonary hemorrhage and glomerulonephritis unrelated to anti-glomerular basement membrane antibody. *Am J Med*, 72:401-410, 1982.
41. Haworth SJ, Savage COS, Carr D, Hughes JMB y Rees AJ: Pulmonary haemorrhage complicating Wegener's granulomatosis and microscopic polyarteritis. *Br Med J*, 290:1175-1178, 1985.
42. Savage COS, Winearls CG, Evans DJ, Rees AJ y Lockwood CM: Microscopic polyarteritis: presentation, pathology and prognosis. *Q J Med*, 56:467-483, 1985.
43. Serra A, Cameron JS, Turner DR y cols.: Vasculitis affecting the kidney: presentation, histopathology and long-term outcome. *Q J Med*, 53:181-207, 1984.
44. Andrews M, Edmunds M, Campbell A, Walls J y Feehally J: Systemic vasculitis in the 1980s; is there an increasing incidence of Wegener's granulomatosis and microscopic polyarteritis? *J Royal Coll Phys London*, 24:284-288, 1990.
45. Kaufman LD y Kaplan AP: Poliarteritis microscópica. *Hospital Practice* (ed. español), 4:5-19, 1989.
46. Bosch X, Font J, Mirapeix E e Ingelmo M: Poliarteritis nudosa y autoanticuerpos citoplasmáticos. *An Med Intern (Madrid)*, 8:99-100, 1991.
47. Bosch X, Mirapeix E, Font J y cols.: Association of autoantibodies to myeloperoxidase with necrotizing glomerular and alveolar capillaritis. *Br Med J* (sometido a revisión).
48. Godman GC y Chung J: Wegener's granulomatosis. Pathology and review of the literature. *Arch Pathol*, 58:533-553, 1954.
49. Croker BP, Lee T y Gunnells JC: Clinical and pathologic features of polyarteritis nodosa and its renal-limited variant: primary crescentic and necrotizing glomerulonephritis. *Hum Pathol*, 18:38-44, 1987.
50. Weiss MA y Crissman JD: Segmental necrotizing glomerulonephritis: diagnostic, prognostic, and therapeutic significance. *Am J Kidney Dis*, 6:199-211, 1985.
51. Bhatena DB, Migdal SD, Julian BA y cols.: Morphologic and immunohistochemical observations in granulomatous glomerulonephritis. *Am J Pathol*, 126:581-591, 1987.
52. Wilkowski MJ, Velosa JA, Holley KE y cols.: Risk factors in idiopathic renal vasculitis and glomerulonephritis. *Kidney Int*, 36:1133-1141, 1989.
53. Jayne DRW, Marshall PD, Jones SJ y Lockwood CM: Autoantibodies to GBN and neutrophil cytoplasm in rapidly progressive glomerulonephritis. *Kidney Int*, 37:965-970, 1990.
54. Bosch X, Mirapeix E, Font J y cols.: Prognostic implication of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with myeloperoxidase specificity in anti-glomerular basement membrane disease. *Clin Nephrol* (en prensa).
55. Glassock RJ, Cohen AH, Adler SG y Ward HJ: Secondary glomerular diseases. En Brenner BM y Rector FC (eds.). *The Kidney*. Saunders. Philadelphia, 1036, 1986.
56. Wahls TL, Bousito SM y Achuster VL: Coexistent Wegener's granulomatosis and anti-glomerular basement membrane disease. *Human Pathol*, 18:202-205, 1987.
57. Kallenberg CGM, Cohen Tervaert JW, Woude van der FJ, Goldschmeding R, Bome von dem AECK y Weening JJ: Autoimmunity to lysosomal enzymes: new clues to vasculitis and glomerulonephritis? *Immunology Today*, 12:61-64, 1991.

58. Johnson RJ, Conser WC, Chi EY, Adler S y Klebanoff SJ: New mechanism for glomerular injury. Myeloperoxidase-Hydrogen Peroxide-Halide System. *J Clin Invest*, 79:1379-1387, 1987.
59. Jonson RJ, Guggenheim SJ, Klebanoff SJ, Ochi RF, Wass A, Baher P, Schulze M y Couser WG: Morphologic correlates of glomerular oxidant injury induced by the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-halide system of the neutrophil. 58:294-301, 1988.
60. Arrizabalaga P, Mirapeix E, Damell A, Torras A y Revert L: Cellular immunity analysis using monoclonal antibodies in human glomerulonephritis. *Nephron*, 53:41-49, 1989.
61. Tipping PG, Lowe MG y Holdsworth SR: Glomerular interleukin 1 production is dependent on macrophage infiltration in anti-GBM glomerulonephritis. *Kidney Int*, 39:103-110, 1991.
62. Falk RJ, Terrell RS, Charles LA y Jennette JC: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87:4115-4119, 1990.
63. Oite T, Shimiju F, Kagami S y Morioka T: Hapten specific cellular immune response producing glomerular injury. *Clin Exp Immunol*, 76:463-468, 1989.
64. Meadrick DL, Kelly DM y Reunke HG: Antigen processing and presentation by glomerular visceral epithelium in vitro. *Kidney Int*, 39:71-78, 1991.
65. Camussi G, Tetta C, Bussolino F, Turello E, Brentjens J, Montauchio G y Andres G: Effect of leukocyte stimulation on rabbit immune complex glomerulonephritis. *Kidney Int*, 38:1047-1055, 1990.