

FORMACION CONTINUADA

Patogenia de las vasculitis de vaso pequeño. Contribución de los anticuerpos anticitoplasmáticos ANCA

E. Mirapeix

Servei de Nefrologia. Hospital Clinic. Barcelona.

INTRODUCCION

La patogenia de las vasculitis antes de la aparición de los anticuerpos anticitoplasmáticos del neutrófilo (ANCA) era prácticamente desconocida, si bien se había atribuido a la acción de complejos inmunes por el hecho de que en el modelo experimental de la enfermedad aguda del suero aparecen lesiones de carácter vasculítico en los vasos sanguíneos. Sin embargo, en la mayoría de lesiones vasculíticas humanas no podemos demostrar depósitos de inmunoglobulinas ni complemento, lo cual ha servido para caracterizar a este tipo de enfermedades llamándolas inmunonegativas¹. Con la descripción de los anticuerpos anticitoplasmáticos y su fuerte asociación con los casos de vasculitis activa, se han comenzado a elaborar hipótesis en las que los ANCA están directamente involucrados en la patogénesis de la inflamación y daño vascular^{2,3}.

La hipótesis patogénica que actualmente parece tener más consistencia es la que postula por la combinación de un fenómeno desencadenante, tóxico o infeccioso, en un contexto de autoinmunidad^{4,5}. Experimentos realizados *in vitro* y la asociación descrita entre las vasculitis de vaso pequeño, granulomatosis de Wegener (GW), poliangeítis microscópica (PAM) y la glomerulonefritis rápidamente progresiva inmunonegativa (GNRP) y el antecedente de una infección, sugieren que la infección podría ser un desencadenante de la aparición de las vasculitis. En 1983 Fauci y Pinching ya describen que la mayoría de vasculitis van precedidas de una infección de uno u otro tipo^{6,7}. La asociación más consistentemente descrita es la del *Staphylococcus aureus*, presente en las fosas nasales, y la enfermedad de

Wegener. Stegeman y cols.⁸ describen la asociación entre portadores crónicos de *Staph A* junto a una mayor susceptibilidad a padecer recaídas en los enfermos de GW, al mismo tiempo que el tratamiento con Septrin reduce el índice de recaídas al eliminar el *Staph A* de las fosas nasales de estos enfermos⁹. Falk y cols. observan que aproximadamente el 90% de pacientes con vasculitis asociada a ANCA inician su sintomatología con un síndrome gripal que precede a los síntomas de vasculitis¹⁰. Otras asociaciones descritas hacen referencia a infecciones del tracto respiratorio o bronquiectasias y GNRP^{11,12}, ANCA-MPO, o infecciones cutáneas por *Staph A* de la *Pioderma gangrenosum* y PAM, c-ANCA¹³. La participación de la autoinmunidad en la patogenia de las vasculitis se basa en que los ANCA son autoanticuerpos dirigidos contra estructuras propias. Se basa también en que en las vasculitis los componentes del sistema inmunitario tienen un comportamiento anómalo tanto en suero como en los territorios inflamados. Por último, se basa también en que en esta enfermedad existe una buena respuesta a la medicación inmunosupresora.

PARTICIPACION DEL LEUCOCITO POLIMORFONUCLEAR (PMN) (fig. 1)

Cuando se produce un fenómeno inflamatorio como pueda ser el asociado a una infección, los leucocitos polimorfonucleares estimulados por productos bacterianos (LPS) o diferentes linfoquinas (TNF, IL1, IL6 y IL8) de los macrófagos se transforman en PMN activados^{11,14}. Como resultado de esta activación se produce una liberación extracelular de sus enzimas lisosómicas de las que destacaremos la mieloperoxidasa (MPO) y la proteinasa 3 (PR3). Estas enzimas una vez liberadas al espacio extracelular son neutralizadas en parte por sus inactivadores naturales entre los que destacamos la α -1antitripsina (α 1AT) como inhibidor específico de la PR3¹⁵. En

Correspondencia: Dr. Eduard Mirapeix.
Servei de Nefrologia
Hospital Clinic y Provincial
Villarroel 170
08036 Barcelona

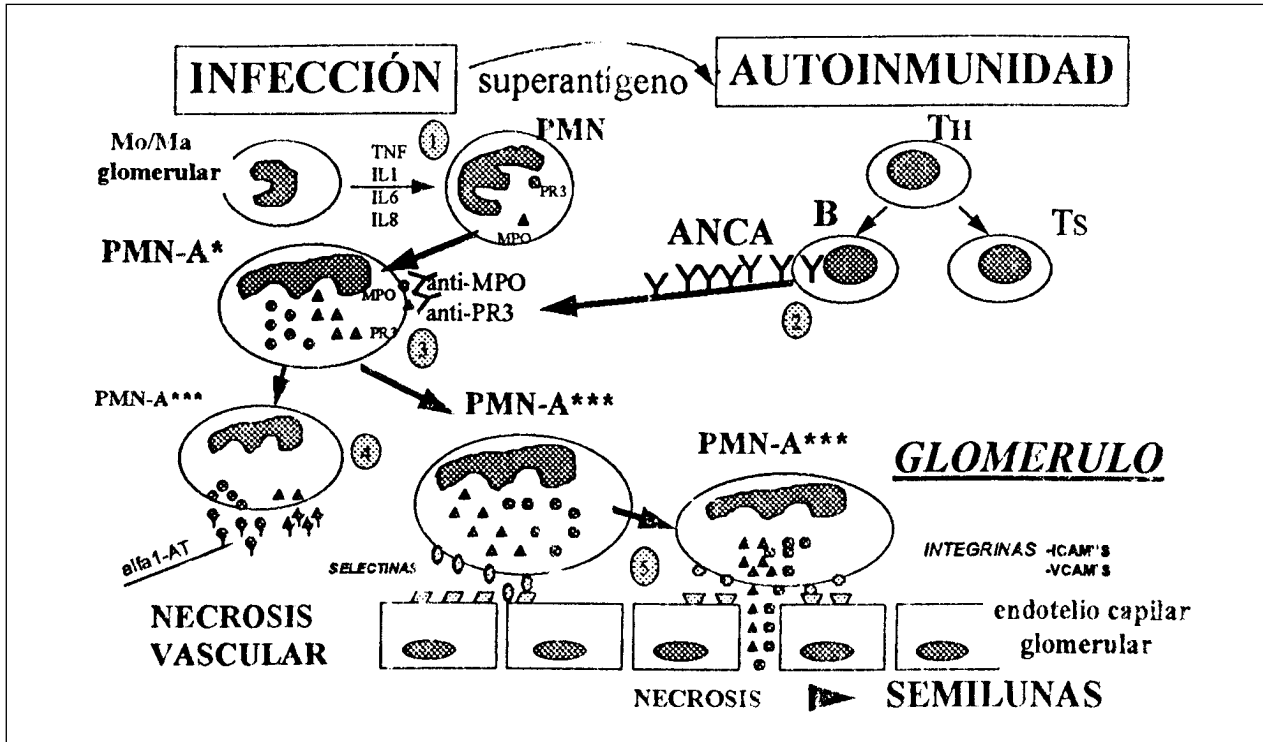


Fig. 1.—Contribución de los anticuerpos anticitoplasmáticos (ANCA) en la patogenia de las vasculitis. 1. Neutrófilos activados por las linfoquinas secretadas por los macrófagos estimulados en el contexto del fenómeno inflamatorio. 2. Autoinmunidad desencadenada por la aparición de superantígenos y aparición de los ANCA anti-PR3 y anti-MPO. 3. Reconocimiento de las enzimas lisosómicas intracelulares trasladadas a la superficie del PMN por parte de los ANCA anti-MPO y anti-PR3. 4. Superactivación del PMN con gran liberación enzimática responsable de la necrosis vascular. 5. Adhesión celular y secreción enzimática en el lecho endotelial glomerular con necrosis y formación de semilunas epiteliales.

condiciones normales la acción inflamatoria de las enzimas liberadas sólo tiene lugar cuando el PMN ha alcanzado el espacio intersticial después de haber migrado del espacio vascular¹.

Durante el proceso de activación de los PMN tiene lugar un proceso que será de gran importancia cuando la activación se haga en presencia de ANCA. En los PMN activados por las linfoquinas inflamatorias, las enzimas lisosómicas intracelulares sufren un proceso de traslocación desplazándose hacia a membrana celular y se expresan en la superficie celular. Este fenómeno ha sido observado *in vitro* para la MPO¹⁶ e *in vivo* e *in vitro* para la PR3^{17,18} y no es específico de las vasculitis ya que se produce en cualquier circunstancia de estimulación leucocitaria como pueda ser una sepsis bacteriana.

En algunos pacientes particularmente susceptibles, la presencia de antígenos bacterianos con características de «superantígeno» o la propia liberación enzimática de los PMN podría inducir a una respuesta autoinmunitaria con producción del co-

respondiente autoanticuerpo ANCA¹⁹. Ambos autoanticuerpos reconocen y se fijan al correspondiente antígeno lisosómico expresado en la superficie del PMN a través del fragmento Fab, mientras que el fragmento Fc de la inmunoglobulina ANCA se une con su correspondiente receptor en la superficie del neutrófilo^{20,21}. La unión del ANCA con sus correspondientes antígenos inducen activación leucocitaria²². La activación de los PMN por el ANCA ocurre *in vitro* cuando la unión del ANCA intacto o su fragmento F(ab')₂ producen una ligazón cruzada de los antígenos correspondientes a la superficie celular²³. Estudios sobre la capacidad de los distintos isotipos de IgG para activar la «respiratory burst» de los PMN indican que esta capacidad parece limitarse a la IgG3^{20,24} del mismo modo que la IgG3 está asociada a fases activas de vasculitis²⁵.

Es en esta circunstancia cuando en el contexto de la autoinmunidad el ANCA anti-MPO y anti-PR3 inicia un proceso de amplificación de la activación leucocitaria que podría tener lugar en pleno torrente

circulatorio o en su fase de contacto endotelial dando lugar a una activación leucocitaria prematura¹. El complejo antígeno-anticuerpo que se forma en la superficie del PMN es internalizado y como consecuencia de ello, esta célula inicia un proceso de gran estimulación debido al cual se sintetizan y liberan gran cantidad de enzimas lisosómicas y de radicales libres de O₂ (ROS) con gran capacidad necrotizante y bactericida. Las enzimas liberados se combinan también con su correspondiente ANCA y particularmente el complejo c-ANCA-PR3 se hace insensible a la acción neutralizante de su inhibidor la α 1AT prolongando sensiblemente su vida media²⁶. Existen dudas entre si el complejo c-ANCA-PR3 es activo o inactivo. En caso de permanecer activo podría contribuir al incremento de la actividad enzimática de la PR3. La liberación masiva de enzimas lisosómicas y la posible prolongación de su vida media al ser reconocidos por su correspondiente ANCA hacen que su capacidad destructiva se haya visto incrementada dando lugar al fenómeno de la necrosis²⁷.

Aparte de su acción enzimática la PR3 puede ejercer otro mecanismo patogénico de forma indirecta demostrada *in vitro* y que consiste en su capacidad de unirse a la célula endotelial y estimular su producción de la linfoquina quimiotáctica IL8, la cual atraerá nuevos PMN al territorio inflamado amplificando ese proceso. La PR3 unida a la célula endotelial también puede ser reconocida por el anticuerpo c-ANCA e iniciar mecanismos de citotoxicidad celular mediada por complemento¹⁴. La MPO también puede unirse *in vitro* a la célula endotelial, ser reconocida por el anticuerpo p-ANCA anti-MPO y mediar mecanismos citotóxicos del mismo modo que se ha descrito para la PR3²⁸. Existen también estudios *in vitro* que demuestran la capacidad del ANCA para estimular la capacidad citotóxica de los PMN activados frente a células endoteliales²⁹.

Los PMN activados, además de su capacidad necrotizante por liberación al medio de sus enzimas lisosómicas, poseen otros mecanismos de lesión tisular más directa al adherirse a la célula endotelial por la aparición o incremento de sus moléculas de adhesión, selectinas e integrinas. Una vez adheridos liberarán su contenido enzimático directamente sobre la superficie del endotelio contribuyendo directamente de una forma muy local a la necrosis vascular.

En el riñón se ha demostrado la existencia de células productoras de citoquinas (TNF, IL1) identificadas como macrófagos o células epiteliales proliferadas *in situ*³⁰ que serán capaces de estimular PMN localmente y atraer PMN activados iniciándose la cadena de reacciones anteriormente descritas

en el territorio vascular glomerular o intersticial. Las biopsias renales de pacientes con vasculitis de Wegener presentan PMN activados y su número correlaciona con el grado de insuficiencia renal³¹. La liberación local glomerular de ROS y enzimas lisosómicas producirá necrosis y verdaderas fracturas del capilar glomerular y de la cápsula de Bowman con la consiguiente extravasación de fibrina e invasión de fibroblastos y leucocitos periglomerulares que participarán en la formación de semilunas epiteliales en los casos de glomerulonefritis³².

PARTICIPACION DE LA INMUNIDAD CELULAR

Existen datos directos e indirectos que implican a los fenómenos de inmunidad celular en la patogenia de las vasculitis y más concretamente en la formación de los granulomas en la GW. El patrón de subclase de IgG ANCA, principalmente IgG1 y IgG4, sugiere una estimulación crónica con respuesta celular tipo T²⁵. Se ha observado que la célula que predomina en la lesión granulomatosa es el linfocito CD4³³. También se ha demostrado que si enfrentamos *in vitro* linfocitos de un paciente afecto de granulomatosis de Wegener (GW) o poliangeítis microscópica (PAM) con antígeno PR3 o MPO purificado, éste es reconocido por el correspondiente receptor de antígeno de la célula CD4 y se produce una respuesta proliferativa linfocitaria semejante a la que se produce en otras enfermedades autoinmunes^{34,35}. En los casos de GW que padecen una recaída mayor los niveles de receptor soluble de IL-2 están elevados indicando una situación de activación linfocitaria de células T³³. El hecho de que algunos pacientes con vasculitis particularmente severas hayan obtenido una respuesta favorable al ser tratados con inmunoterapia anticélulas T (ATG anti-CD4) apoya junto con los datos precedentes el papel de la inmunidad celular en la patogénesis de las vasculitis³⁶.

PARTICIPACION DE LA CELULA ENDOTELIAL (fig. 2)

Modelo en tres fases de circulación leucocitaria en la inflamación

Resulta interesante saber si el endotelio es un elemento pasivo en el proceso inflamatorio vasculítico o responde a los mediadores de la inflamación del modo descrito el llamado «modelo en tres fases» que condiciona y regula el tráfico normal de los leucocitos y de los PMN³⁷. En este mode-

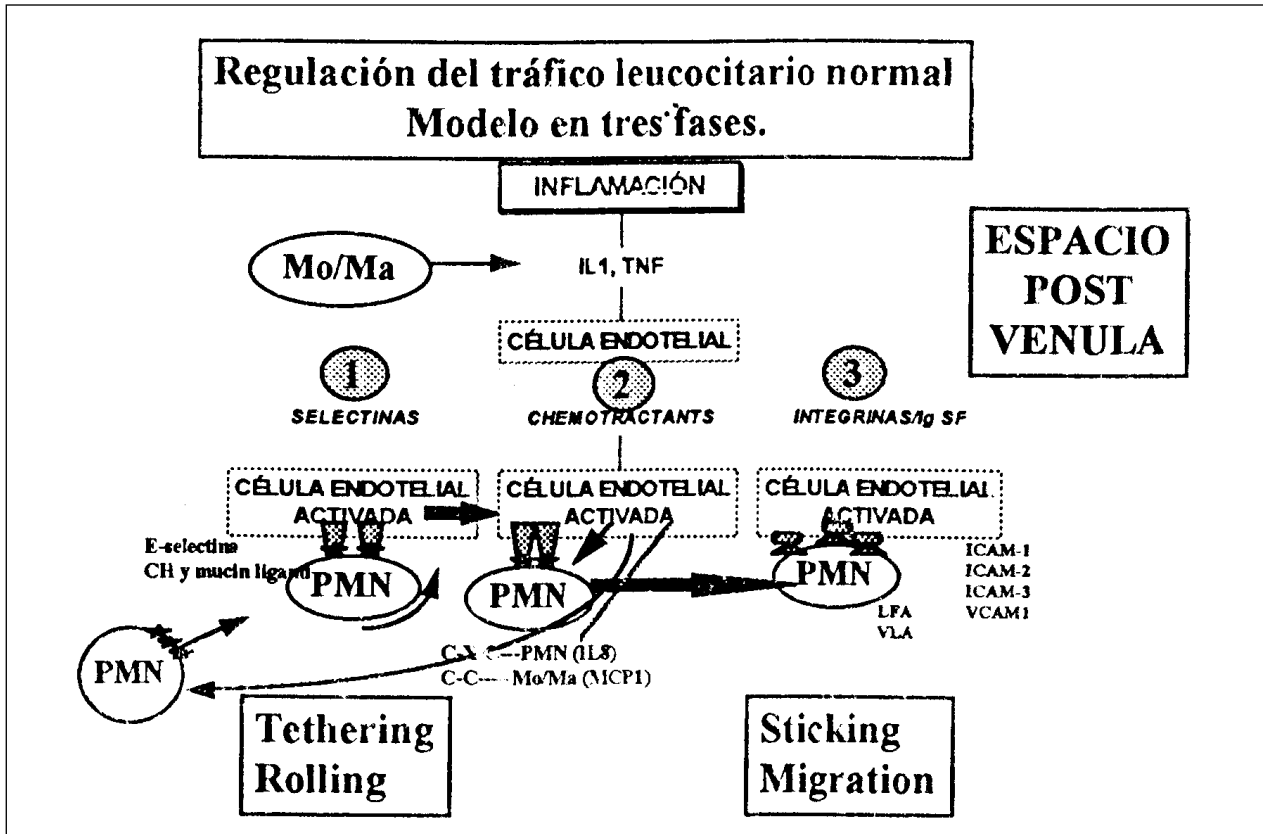


Fig. 2.—Modelo en tres fases que regula el tráfico leucocitario normal. 1. Acción de las selectinas endoteliales que reconocen los carbohidratos y mucín-ligandos de los leucocitos iniciando la primera fase de «rolling y tethering». 2. Segunda fase en la que la célula endotelial activada secreta quimioquinas que atraerán nuevos leucocitos y estimularán las integrinas de los leucocitos adheridos por las selectinas. 3. Tercera fase o de adhesión firme «sticking y migration» en las que las integrinas leucocitarias activadas por los factores quimiotácticos reconocen los ICAMS endoteliales, proporcionando la adhesión firme necesaria para su ulterior migración al espacio intersticial. En condiciones fisiológicas esta secuencia tendría lugar en el espacio postvénula. Durante la inflamación tendría lugar en el espacio vascular.

lo se definen tres fases que se presentan de modo secuencial en la migración leucocitaria fisiológica a través de los vasos sanguíneos³⁸ que en condiciones normales se realiza a baja frecuencia regulando el tráfico fisiológico de los leucocitos. Esta secuencia se acelera y amplifica cuando se produce un fenómeno inflamatorio. En este contexto del fenómeno inflamatorio las células inmunocompetentes de la estirpe monocito/macrófago liberan las linfoquinas inflamatorias tipo IL1, TNF y IL4 que entre otras funciones están las de activar la célula endotelial, la cual expresará selectinas (fase 1), liberará quimioquinas (fase 2) y expresará moléculas de adhesión activadas del tipo superfamilia de las Ig (fase 3). Estas tres fases son consecutivas y cada una es condicional para la fase siguiente (fig. 2).

En un primer episodio llamado de «rolling» los leucocitos se adhieren débilmente al endotelio y ruel-

dan sobre su superficie gracias al reconocimiento entre las *selectinas* endoteliales y los *mucin-like* receptores de los leucocitos. En esta primera fase ya se produce una concentración selectiva de las diferentes estirpes leucocitarias de acuerdo con las múltiples combinaciones posibles que pueden establecerse con las distintas moléculas de adhesión y sus contrarreceptores. La fase de adhesión por selectinas constituye un prerequisite para los pasos siguientes de estimulación mediada por chemottractants y de adhesión por integrinas. En una segunda fase actúan los factores *quimiotácticos* liberados por la célula endotelial activada, los cuales, al mismo tiempo que pueden atraer más leucocitos hacia la zona donde son secretados, estimulan al leucocito adherido por las selectinas y logran que exprese y active sus moléculas de adhesión tipo *integrinas*. En la tercera fase, las integrinas leucocitarias activadas reconocerán a sus contrarreceptores endoteliales *Ig superfa-*

mily lográndose la adhesión firme entre el leucocito y el endotelio. Esta adhesión se realiza de modo intermitente, permitiendo el desplazamiento de los leucocitos a través de los espacios interendoteliales hacia el espacio intersticial.

Dada la enorme multiplicidad de posibles combinaciones entre las diferentes moléculas de adhesión con sus contrarceptores estimulados a su vez por los distintos chemottractants, se piensa que los mecanismos de adhesión y trans migración leucocitaria en el capilar renal y pulmonar en las vasculitis pueden ser diferente del modelo fisiológico propuesto para la migración en la vénula postcapilar y explicar a su vez las diferentes expresiones territoriales de las distintas formas clínicas de vasculitis.

Señales y receptores que intervienen en el tráfico leucocitario^{39,40}

Selectinas. Las selectinas constituyen una familia de múltiples proteínas que tienen distintas funciones y que actúan como señales de tráfico frente a los leucocitos. La L-selectina se expresa en prácticamente todas las células leucocitarias circulantes. La P-selectina se acumula en gránulos preformados en las células endoteliales y en las plaquetas. En caso de inflamación y en respuesta a mediadores de la inflamación esta selectina se expresa en la superficie celular para ser reconocida por PMN y monocitos. La E-selectina se expresa fundamentalmente en la célula endotelial y su expresión está inducida por citoquinas inflamatorias tales como IL1, LPS o TNF. No está presente en el riñón normal pero se expresa «de novo» en el endotelio glomerular, en el epitelio parietal glomerular y tubular en las glomerulonefritis proliferativas y en la glomerulonefritis de la enfermedad de Wegener^{39,41,42}. Se ha sugerido que las selectinas tienen un coeficiente de asociación y disociación muy rápido que permitiría el efecto rolling⁴¹.

Carbohidratos y moléculas mucin-like. Son determinantes ricos en carbohidratos con ácido siálico que constituyen los contrarceptores de las selectinas. Son distintos para cada uno o grupos de selectinas y están presentes en la superficie celular leucocitaria y son reconocida por la correspondiente selectina.

Chemottractants. Las quimoquinas son citoquinas estructuralmente relacionadas entre sí que se secretan localmente en los lugares donde existe lesión tisular y que tienen como función principal el producir la atracción de los leucocitos y contribuir a la activación de los mismos. En la quimiotaxis las células se mueven en la dirección a la concentración creciente del quimiotractante. Existen más de 20 qui-

moquinas descritas que se clasifican en dos grupos. Las C-X-C o α quimoquinas actúan sobre los PMN, y las C-C o β quimoquinas sobre los monocitos o linfocitos. La C-X-C quimoquina más importante es la IL-8 que es específica para los PMN, y la C-C más importante es el MCP-1 para los monocitos. Existe una tercera población de quimoquinas denominadas C-quimoquinas o linphotactinas que estarán destinadas a la atracción de las células T⁴³. La mayoría de quimoquinas las secretan los monocitos estimulados y las células endoteliales activadas atrayendo los leucocitos que se moverán en dirección al gradiente de concentración de la quimoquina correspondiente. Las quimoquinas pueden además adherirse a superficies celulares por interacciones no covalentes y de este modo no diluirse en la circulación sanguínea⁴⁴. Una vez en contacto con la célula, las quimoquinas actúan activando las integritas celulares gracias a la inducción de un cambio estructural. Cuando esta acción tiene lugar sobre los leucocitos circulantes éstos aumentan su adhesividad.

Estudios realizados *in vitro* demuestran que la MCP-1 puede ser sintetizada por las células mesangiales, epitelio tubular proximal y células endoteliales. La interleuquina IL-8 puede ser secretada por las células mesangiales, epitelio tubular proximal, endoteliales y fibroblastos⁴³. La C-C quimoquina MCP-1 está expresada en el riñón con vasculitis cerca de las células de estirpe monocítica CD14/CD68³⁷. Se ha observado que los monocitos están presentes en la proliferación epitelial de ciertas glomerulonefritis son capaces de secretar MCP-1 y por tanto contribuir a la proliferación epitelial⁴⁵. A la MCP-1 se le atribuye un papel importante en el origen del infiltrado intersticial en la nefritis intersticial alérgica y en la GN IgA ya que puede también ser sintetizada y secretada por las células endoteliales y por las células del epitelio tubular⁴⁶. Además de los monocitos la MCP-1 se ha demostrado que puede ser sintetizada *in vitro* por las células endoteliales activadas, lo cual hace pensar que esta célula también puede contribuir a la presencia de macrófagos en las glomerulonefritis humanas a través de la secreción de MCP-1⁴⁷.

Del grupo de las C-X-C quimoquinas la mejor estudiada es la IL-8, que parece tener una especificidad para el polimorfonuclear. Experimentos realizados *in vitro* demuestran que la IL-8 puede estar producida por la célula mesangial, epitelial y endotelial, así como por los fibroblastos renales. Bajo el estímulo del TNF la célula del epitelio cortical renal humano también es capaz de liberar IL-8⁴³.

Receptores para chemottractants. Están presentes en PMN, monocitos y otros leucocitos participando

en múltiples funciones celulares. Los receptores más conocidos pueden agruparse en cuatro clases diferentes denominadas compartidos, específicos, promiscuos y codificados por virus⁴³. El receptor para la IL-8 (C-X-C) está presente en los PMN y existe una alta especificidad entre los chemottractants y sus correspondientes receptores³⁸.

Integrinas. Tal como se ha comentado al hablar de las selectinas, las integrinas facilitan la adhesión firme y la inmovilización de los leucocitos a la superficie celular que expresa moléculas del tipo de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Son glicoproteínas heterodiméricas con una cadena α y β . Por su naturaleza de activación temporal proporcionan carácter transitorio a su acción adherente y por lo tanto contribuyen a la adhesión y a la de adhesión que permitirá la migración leucocitaria al espacio intersticial. Son activadas por las sustancias chemottractantes y el proceso de activación consiste fundamentalmente en un cambio conformacional de la molécula integrina.

Las mejor conocidas son la LFA-1 que reacciona con el ICAM-1 de la célula endotelial y la VLA-1 que reacciona con el VCAM-1 de la célula endotelial activada. La interrelación entre LFA-1 y ICAM-1 se ha descrito como responsable del infiltrado intersticial en algunas glomerulonefritis experimentales y humanas^{48,49}. En las zonas inflamadas de algunas glomerulonefritis y vasculitis se ha observado infiltración de linfocitos T y monocitos que expresan en su superficie la integrina VLA-4 junto con la presencia de linfoquinas tipo TNF y IL1⁴⁰. En la GNRP la molécula VLA-4 aparece expresada en las células tubulares del cortex renal y en las células que forman la semiluna glomerular⁵⁰.

Miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas (Ig SF). Estas moléculas contienen una o más regiones estructuralmente muy parecidas a las inmunoglobulinas. El ICAM-1 está presente de forma natural en las células endoteliales de los grandes vasos, glomerulos y capilares peritubulares^{39,40,51} y su expresión aumenta por acción de las citoquinas inflamatorias (IL1, TNF o γ IF)⁵² ya que éstas activan la célula endotelial. Reconocen la integrina LFA-1 de los leucocitos. En algunas glomerulonefritis y vasculitis el ICAM-1 está upregulado en el endotelio glomerular, en el mesangio y en el epitelio parietal glomerular⁴¹.

El VCAM-1 es una molécula que no se expresa en el endotelio en reposo⁴⁰ o se expresa débilmente en endotelio peritubular y en la célula epitelial parietal glomerular y tubular^{39,41}. La activación endotelial hace que el VCAM-1 se exprese de novo o se incremente su expresión particularmente en las zonas inflamadas y necróticas⁴¹. Reconocen la integrina VLA-1 de los leucocitos.

ICAM-1 y VCAM-1 aparecen expresadas en la célula parietal glomerular en la mayor parte de las glomerulonefritis y por tanto se supone que pueden jugar un papel importante en la formación de la proliferación epitelial^{32,53}. En los casos de vasculitis se produce un incremento de la expresión de ICAM-1⁵¹ y expresión de novo de VCAM-1 en las zonas inflamadas y necróticas⁵⁴. En la GNRP y otras glomerulonefritis la molécula ICAM-1 y VCAM-1 aparece expresada en las células que forman la semiluna glomerular y en las células tubulares del cortex renal^{40,50,51,55,56}. De modo asociado se produce una infiltración de monocitos y linfocitos T que expresan VLA-4 en su superficie⁴⁰. También se ha identificado por distintos métodos la presencia de TNF y IL1 en el riñón vasculítico y en monocitos circulantes.

ICAM-2 puede ser importante en el tráfico leucocitario en situación de reposo.

Los experimentos realizados *in vitro* y los hallazgos histopatológicos en las distintas formas de vasculitis y glomerulonefritis hacen pensar que la interrelación entre el leucocito activado y la célula endotelial activada se realiza mediante el reconocimiento mutuo de sus moléculas de adhesión. Este reconocimiento se realizará de modo secuencial según el modelo en tres fases descrito anteriormente.

INFLUENCIA DE LOS ANCA EN LA EXPRESION DE LAS MOLECULAS DE ADHESION

Selectinas. La molécula ELAM-1 o E-selectina no se expresa en las células endoteliales (CE) en reposo. Si éstas se activan por la acción de las linfoquinas IL1, TNF o LPS, la E-selectina se expresa en la superficie de la CE para iniciar el reconocimiento leucocitario en su 1ª fase de rolling. El ANCA anti-PR3 puede activar la CE *in vitro* e inducir la expresión de la E-selectina del mismo modo que las linfoquinas mencionadas. Esta inducción se haría gracias a que en el proceso de activación de la CE la PR3, normalmente presente aunque en pequeñas cantidades en el citoplasma de la célula endotelial, se expresa en su superficie pudiendo ser reconocida por el correspondiente anticuerpo ANCA⁵².

La capacidad de las linfoquinas y del ANCA de inducir la expresión de E-selectina en la superficie de la CE podría tener efectos sumatorios constituyendo el ANCA un elemento de amplificación de un proceso normalmente realizado por las linfoquinas. El PMN se activa por las mismas linfoquinas y su activación se amplifica por la acción del ANCA sobre los autoantígenos MPO o PR3 expresados en la superficie celular del PMN. Ambos fenómenos forman una combinación de gran capacidad inflama-

toria-necrotizante tal como se ha demostrado *in vitro* a través del mecanismo de citotoxicidad mediado por anticuerpos^{52,57}. Además de la PR3, la CE y el PMN tienen otros antígenos de membrana que se expresan en común y que son reconocidos por el ANCA de pacientes con GNRP. Su función todavía no se conoce, pero podrían contribuir a la interacción entre endotelio y leucocito⁵⁸.

Chemottractants. El C-ANCA, y en menor grado el P-ANCA, es capaz de incrementar la producción *in vitro* de MCP-1 de los monocitos en cultivo. Conociendo que en los granulomas el monocito libera MCP-1 para atraer nuevos monocitos al territorio granulomatoso, el ANCA actuaría como mecanismo amplificador del proceso de reclutamiento monocitario en los granulomas⁵⁹.

Integrinas/Ig SF. La misma capacidad del ANCA anti PR3 de inducir expresión de E-selectina en la CE activada se ha demostrado para el VCAM-1 en la CE. Esta inducción se haría también gracias a que en el proceso de activación de la CE la PR3, normalmente presente, aunque en pequeñas cantidades, en el citoplasma de la célula endotelial se expresa en su superficie pudiendo ser reconocida por el correspondiente anticuerpo ANCA⁶⁰. Linfoquinas tipo TNF- α y ANCA actuarían concomitantemente y de forma complementaria en la inducción de la expresión de VCAM-1 en la célula endotelial. La aparición de VCAM-1 en la CE activada podría facilitar la trans migración de las células portadoras de su integrina correspondiente VLA-1, como son los monocitos y linfocitos CD4 memoria contribuyendo al origen inmunológico de este proceso.

Todo este conjunto de datos, producto de experimentos realizados *in vitro* y que en conjunto tratan de explicar la acción patogenética del ANCA a través del reconocimiento entre anticuerpo y el correspondiente antígeno expresado en la superficie del PMN o de la célula endotelial, no tiene su correspondiente versión *in vivo* ya que en los tejidos afectados por la vasculitis no se detectan inmunoglobulinas fijadas en ninguna estirpe celular. Existen sin embargo experimentos *in vitro* que demuestran la capacidad del suero de pacientes con GW de reconocer antígenos glomerulares empleando células endoteliales y epiteliales en cultivo⁶¹. En los distintos modelos experimentales que tratan de reproducir vasculitis en animales presensibilizando con antígeno PR3 o MPO con la consiguiente producción de anti-PR3 o anti-MPO, e inyectando posteriormente en la arteria renal el correspondiente antígeno y H₂O₂, se produciría el reconocimiento del ANCA con el antígeno que se ha fijado a la membrana basal glomerular gracias a la distinta carga electroestática. Este reconocimiento tendría lugar en

una primera fase de muy corta duración. Ello iría seguido de un aclaramiento rápido del inmuno complejo formado *in situ* y de una inflamación necrotizante acompañante debido a la intensa infiltración de PMN y macrófagos que liberan sus enzimas lisosómicas *in situ*⁶². Si esta secuencia experimental constituye la explicación de los fenómenos que ocurren en la patología humana está aún por demostrar.

PARTICIPACION DE LA CELULA DEL TUBULO PROXIMAL

Las lesiones renales de los pacientes con vasculitis se caracterizan por la glomerulonefritis necrotizante con proliferación epitelial en forma de semiluna y por la existencia casi constante de infiltración intersticial de células mononucleadas tipo macrófagos y linfocitos junto con polimorfonucleares⁶³. Cada vez existe una mayor evidencia de que la célula del túbulo proximal (TEC) actúa como célula accesoría en la reacción inmunológica renal ya que bajo estímulos apropiados expresa antígenos MHC II, moléculas de adhesión ICAM-1 y VCAM-1, es capaz de secretar citoquinas tales como IL-1, TNF y MCP-1⁶⁴. También es capaz de procesar péptidos inmunogénicos de la sangre y del filtrado glomerular.

De un modo semejante a la situación de la célula endotelial y de los PMN, la célula del túbulo proximal puede expresar PR3 si está bajo la influencia de citoquinas proinflamatorias. Probablemente la PR3 citoplasmática se desplaza a la superficie celular puesto que puede ser reconocida por el ANCA anti-PR3 y presentar *in vitro* una mayor expresión de ICAM-1 y de VCAM-1⁶⁵.

El glomérulo y la célula TEC de los pacientes con vasculitis y glomerulonefritis extracapilar presenta una expresión de novo de VCAM-1 y una sobreexpresión de ICAM-1^{42,50,51,54,56}, asociada a la presencia de células mononucleadas⁴². La interrelación de ANCA y TEC podría ser el paso inicial para la migración de monocitos y células T hacia el tejido tubulointersticial⁶⁵.

ASPECTOS GENETICOS

HLA y vasculitis. La fuerte asociación entre ANCA y vasculitis constituye uno de los elementos que hace pensar en la participación de la autoinmunidad en la patogenia de esta enfermedad. La susceptibilidad a padecer una enfermedad autoinmune está fuertemente influida por los genes del complejo mayor de histocompatibilidad HLA. Es por ello que exista una inclinación a investigar si existe asociación entre al-

gunos de los antígenos de este sistema y una mayor inclinación a padecer la enfermedad.

La información obtenida hasta el momento es altamente contradictoria. Se ha descrito una frecuencia aumentada del antígeno DR2 y granulomatosis de Wegener⁶⁶ y DR2, MT3 y alotipo BfF del complemento con GNRP^{67,68}. Más tarde se describió una frecuencia aumentada de los antígenos DR4, DQw7 y vasculitis⁶⁹. Recientemente se ha descrito una frecuencia disminuida de los antígenos DR1, DR6 en la G de Wegener⁷⁰. Por último, en un artículo que pretende armonizar las anteriores discrepancias, se describe la ausencia de tales asociaciones o la existencia de asociaciones débiles en caso de existir alguna⁷¹.

Polimorfismos de la $\alpha 1$ -antitripsina. La $\alpha 1$ -antitripsina ($\alpha 1$ -AT) es una proteína sintetizada por el hígado y los macrófagos⁷² cuya función consiste en el bloqueo funcional de distintas proteasas séricas de entre las que destacamos la PR3. Su concentración sérica normal es de 1,3 g/l, pero parece que para que ejerza algunas de sus funciones conocidas sólo se precisan concentraciones de 0,3-0,5 g/l^{15,27}. La concentración sérica de la $\alpha 1$ -AT se eleva en los procesos inflamatorios.

La concentración plasmática de $\alpha 1$ -AT está controlada por un conjunto de más de 90 variables alélicas llamadas Pi. Dentro de este polimorfismo la forma más común es la PiM, que se asocia a niveles séricos normales de $\alpha 1$ -AT.

Existen dos variables patológicas clínicamente importantes que son la PiZ y la PiS. Los pacientes que son PiZ homocigotos (PiZZ) presentan un 15% de concentración sérica de $\alpha 1$ -AT respecto a los que son PiM, manifestando una mayor propensión a enfermedad pulmonar y hepática. Los pacientes que son PiS homocigotos (PiSS) presentan niveles séricos de $\alpha 1$ -AT disminuidos pero sólo en un 60-80% y no presentan predisposición a enfermedad pulmonar o hepática. Los pacientes heterocigotos PiSZ presentan disminuciones de concentración sérica de $\alpha 1$ -AT del 38% con predisposición manifiesta a padecer enfermedad pulmonar y hepática⁷².

Existen distintas asociaciones entre formas alélicas Pi y formas de vasculitis. La forma alélica PiZ está presente en el 20% de pacientes con granulomatosis de Wegener, mientras que en la población normal es del 4,7%. Los pacientes con GW y ANCA que son portadores del alelo PiZ presentan formas más severas de vasculitis y con una mayor mortalidad⁷². También se han descrito asociaciones entre formas alélicas y tipos de ANCA. El c-ANCA presenta una mayor asociación con la forma PiZ y el p-ANCA se asocia con el alelo PiS⁷². El alelo Z es más frecuente en los países nórdicos, donde parece

haber mayor frecuencia de G de Wegener que de poliangeítis microscópica, mientras que el alelo S es más frecuente en los países meridionales donde esta última patología parece ser más frecuente⁷² (tabla I).

Tabla I. Asociaciones descritas entre los distintos alelos de la $\alpha 1$ -AT y algunos aspectos clínicos de las vasculitis.

Alelos	Asociaciones
Alelo PiZ	Niveles bajos de $\alpha 1$ -AT Mayor riesgo de enfermedad Se asocia a c-ANCA y G de Wegener Es más frecuente en países nórdicos
Alelo PiS	Niveles intermedios de $\alpha 1$ -AT Riesgo de enfermedad moderado Se asocia a p-ANCA y PAM Es más frecuente en países meridionales

Según distintos autores, un desequilibrio en la relación proteasa/antiproteasa producido por una baja concentración de $\alpha 1$ -AT, sea por alteraciones genéticas que conducen a un déficit de síntesis de la misma o por una deficiencia adquirida, podrían tener un papel facilitador de la enfermedad vasculítica en sus diferentes formas de expresión^{19,73}.

RESUMEN

El hecho de que no se observen inmunoglobulinas o factores del complemento en los tejidos afectados por la lesión vasculítica cuestiona el papel patogénico directo de una inmunoglobulina como es el ANCA. Tampoco ha sido posible hasta hoy diseñar un modelo experimental animal que reproduzca fielmente el proceso de las vasculitis humanas. Existen por otro lado datos incuestionables que asocian la presencia sérica de los ANCA con las vasculitis de vaso pequeño que hacen difícil pensar que dicha asociación es mera coincidencia o que el ANCA es un epifenómeno.

Los datos experimentales que se han expuesto llevan a pensar que el ANCA contribuye a la patogenia de las vasculitis actuando como un elemento amplificador de fenómenos biológicos que están normalmente presentes. Por tanto el ANCA podría tener un papel amplificador de la activación leucocitaria que se produce durante la inflamación. El ANCA podría también tener un papel amplificador de la expresión endotelial de las moléculas de adhesión que se produce durante la inflamación. Las alteraciones genéticas de la alfa1 antitripsina podrían tener un

papel facilitador de la enfermedad vasculítica en sus distintas formas de expresión.

BIBLIOGRAFIA

- Jennette JC: Pathogenic potential of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Lab Invest* 70: 135-137, 1994.
- Mirapeix E: ANCA: Vasculitis y glomerulonefritis. *Medicine* 61: 55-64, 1994.
- Cid MC: New developments in the pathogenesis of systemic vasculitis. *Current Opinion in Rheumatology* 8: 1-11, 1996.
- Kallenberg CGM, Cohen Tervaert JW, Van der Woude FJ, Goldschmeding R, Von dem Borne AE, Weening J: Autoimmunity to lysosomal enzymes: new clues to vasculitis and glomerulonephritis? *Immunology today* 12: 61-64, 1991.
- Kallenberg CGM, Brower E, Weening JW, Cohen Tervaert JW: Antineutrophil cytoplasmic antibodies: Current diagnostic and pathophysiological potential. *Kidney Int* 46: 1-15, 1993.
- Fauci AS, Maynes BF, Katz P y cols.: Wegener's granulomatosis: prospective clinical and therapeutic experience with 85 patients for 21 years. *Ann Intern Med* 98: 76-85, 1983.
- Pinching AJ, Lockwood CM, Pussell BA y cols.: Wegener's granulomatosis: observations on 18 patients with severe renal disease. *Q J Med* 52: 435-460, 1983.
- Stegeman CA, Tervaert JW, Sluiter WJ, Manson WL, de Jong PE, Kallenberg CG: Association of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and higher relapse rates in Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med* 120: 12-17, 1994.
- Stegeman CA, Tervaert JW, de Jong PE, Kallenberg CG: Trimethoprim-sulfamethoxazole (co-trimoxazole) for the prevention of relapses of Wegener's granulomatosis. *N Engl J Med* 335: 16-20, 1996.
- Falk RJ, Hogan S, Carey TS, Jennette JC: The clinical course of patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibody associated glomerulonephritis and systemic vasculitis. *Ann Intern Med* 113: 656-663, 1990.
- Arimura Y, Misoshima S, Kamiya Y, Tanaka U, Nakabayashi K, Kitamoto K, Nagasawa T, Sasaki T, Suzuki K: Serum myeloperoxidase and serum cytokines in anti-myeloperoxidase antibody-associated glomerulonephritis. *Clinical Nephrol* 40: 256-264, 1993.
- McKane WS, Velasco N, Farrington K: ANCA-positive crescentic glomerulonephritis in chronic bronchiectasis. *Nephrol Dial Transplant* 10: 1447-1450, 1995.
- Irvine AD, Bruce IN, Walsh M, Burrows D, Handley J: Dermatological presentation of disease associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies: a report of two contrasting cases and a review of the literature. *Brit J Dermatol* 134: 924-928, 1996.
- Berger SP, Seelen MA, Hiemstra PS, Gerritsma JS, Heemskerck E, Van der Woude FJ, Daha MR: Proteinase 3, the major autoantigen of Wegener's granulomatosis, enhances IL-8 production by endothelial cells in vitro. *J Am Soc Nephrol* 7: 694-701, 1996.
- Segelmark M, Ezouki AN, Wieslander J, Eriksson S: The P1Z gene of α 1-antitrypsin as a determinant of outcome in PR3-ANCA-positive vasculitis. *Kidney Int* 48: 844-850, 1995.
- Falk RJ, Terrell RS, Charles LA, Jennette JC: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. *Proc Natl Acad Sci* 87: 4115-4119, 1990.
- Csernok E, Lüdemann J, Gross WL, Bainton DF: Ultrastructural localization of Proteinase 3, the target antigen of anti-cytoplasmic autoantibodies circulating in Wegener's granulomatosis. *Am J Pathol* 137: 1113-1120, 1990.
- Csernok E, Ernst M, Schmitt W, Bainton DF, Gross WL: Activated neutrophils express proteinase 3 on their plasma membrane in vitro and in vivo. *Clin Exp Immunol* 95: 244-250, 1994.
- Hagen EC: Antineutrophil cytoplasmic antibodies and systemic vasculitis. Tesis doctoral. Bergdrukkerij, Amersfoort, 174-175, 1997.
- Mulder AHL, Heeringa P, Brower E, Limburg PC, Kallenberg CGM: Activation of granulocytes by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): a Fc γ RII-dependent process. *Clin Exp Immunol* 98: 270-271, 1994.
- Reumaux D, Vosseveld P, Roos D, Verhoeven A: Effect of tumor necrosis factor-induced integrin activation on Fc γ receptor II - mediated signal transduction: relevance for activation of neutrophils by anti-proteinase 3 or anti-myeloperoxidase antibodies. *Blood* 86: 3189-3195, 1995.
- Keogan MT, Esnault VLM, Green AJ, Lockwood CM, Brown DL: Activation of normal neutrophils by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. *Clin Exp Immunol* 90: 228-234, 1992.
- Kettritz R, Jennette JCH, Falk RJ: Crosslinking of ANCA-antigens stimulates superoxide release by human neutrophils. *J Am Soc Nephrol* 8: 386-394, 1997.
- Mulder AHL, Stegeman CA, Kallenberg CGM: Activation of granulocytes by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in Wegener's granulomatosis: a predominant role for the IgG3 subclass of ANCA. *Clin Exp Immunol* 101: 227-232, 1995.
- Jayne DR, Weetman AP, Lockwood CM: IgG subclass distribution of autoantibodies to neutrophil cytoplasmic antigen in systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol* 84: 476-481, 1991.
- Dolman KM, Stegeman CA, Van de Wiel BA, Hack CE, Von dem Borne AE, Kallenberg CG, Goldschmeding R: Relevance of classic anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody (c-ANCA) mediated inhibition of proteinase 3- α 1-antitrypsin complexation to disease activity in Wegener's granulomatosis. *Clin Exp Immunol* 93: 405-410, 1993.
- Daouk GH, Palsson R, Arnaut MA: Inhibition of proteinase 3 by ANCA and its correlation with disease activity in Wegener's granulomatosis. *Kidney Int* 47: 1528-1536, 1995.
- Vargunam M, Adu D, Taylor CM, Michel J, Richards N, Neuberger J, Thompson RA: Endothelium myeloperoxidase-antimyeloperoxidase interaction in vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 7: 1077-1081, 1992.
- Ewert BH, Jennette JC, Falk RJ: Anti-myeloperoxidase antibodies stimulate neutrophils to damage human endothelial cells. *Kidney Int* 41: 375-383, 1992.
- Norhona IL, Krüger C, Andrassy K, Ritz E, Waldherr R: In situ production of TNF- α , IL-1 β and IL-2R in ANCA positive glomerulonephritis. *Kidney Int* 43: 682-692, 1993.
- Brouwer E, Huitema MG, Mulder L, Heeringa P, Van Goor H, Cohen Tervaert JW, Weening JJ, Kallenberg CGM: Neutrophil activation in vitro and in vivo in Wegener's granulomatosis. *Kidney Int* 45: 1120-1131, 1994.
- Atkins RC, Nikolic-Paterson DJ, Song Q, Lan HY: Modulators of crescentic glomerulonephritis. *J Amer Soc Nephrol* 7: 2271-2278, 1996.
- Stegeman CA, Cohen Tervaert JW, Huitema MG, Kallenberg CGM: Serum markers of T cell activation in relapses of Wegener's granulomatosis. *Clin Exp Immunol* 91: 415-420, 1993.
- Rasmussen N, Petersen J: Cellular immune responses and pathogenesis in c-ANCA positive vasculitides. *J Autoimmunity* 6: 227-236, 1993.
- Griffith ME, Coulthart A, Pusey CD: T cell responses to myeloperoxidase (MPO) and proteinase 3 (PR3) in patients with systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol* 103: 253-258, 1996.

36. Lockwood CM, Thiru S, Issacs J, Waldmann H: Long term remission of intractable systemic vasculitis with monoclonal antibody therapy. *Lancet* 341: 1620-1622, 1993.
37. Savage CO: The interaction of endothelial cells with inflammatory cells in vasculitis. Sarcoidosis vasculitis and diffuse lung diseases. *ISSN* 13: 214-216, 1996.
38. Springer TA: Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 76: 301-314, 1994.
39. Brady HR: Leucocyte adhesion molecules. *Kidney Int* 45: 1285-1300, 1994.
40. Dal Canton A: Adhesion molecules and renal disease. *Kidney Int* 48: 1687-1696.
41. Bruijn JA, Dinklo JCM: Distinct patterns of expression of intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1, and endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 in renal disease. *Lab Invest* 69: 329-335, 1993.
42. Roy-Chaudhury P, Wu B, King G, Campbell M, Macleod AM, Haites EN, Simpson JG, Power DA: Adhesion molecules interactions in humans glomerulonephritis: importance of the tubulointerstitium. *Kidney Int* 49: 127-134, 1996.
43. Schlöndorff D, Nelson PJ, Luckow B, Banas B: Chemokines and renal disease. *Kidney Int* 51: 610-621, 1997.
44. Furie MR, Randolph GJ: Chemokines and tissue injury. *Amer J Pathol* 146: 1287-1301, 1995.
45. Rovin BH, Rumanick M, Tan L, Dickerson J: Glomerular expression of monocyte chemoattractant protein-1 in experimental and human glomerulonephritis. *Lab Invest* 71: 536-542, 1994.
46. Grandaliano G, Gesualdo L, Ranieri E, Monno R, Montinaro V, Marra F, Schena FP: Monocyte chemotactic peptide-1 expression in acute and chronic human nephritides: a pathogenetic role in interstitial monocytes recruitment. *J Am Soc Nephrol* 7: 906-913, 1996.
47. Kakizaki Y, Waga S, Sugimoto K, Tanaka H, Nukii K, Takeya M, Yoshimura T, Yokoyama M: Production of monocyte chemoattractant protein-1 by bovine glomerular endothelial cells. *Kidney Int* 48: 1886-1874, 1995.
48. Hill PA, Ln HY, Nikolic-Paterson DJ, Atkins RC: ICAM-1 directs migration and localization of interstitial leukocytes in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 45: 32-42, 1994.
49. Hill PA, Lan HY, Nikolic-Paterson DJ, Atkins RC: The ICAM-1/LFA-1 interaction in glomerular leukocyte accumulation in anti-GBM glomerulonephritis. *Kidney Int* 45: 700-708, 1994.
50. Baraldi A, Zambruno G, Furci L, Ballestri M, Tombesi A, Ottani D, Lucchi L, Lusvardi E: $\beta 1$ and $\beta 3$ integrin upregulation in rapidly glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 10: 1155-1161, 1995.
51. Muller GA, Markovic-Lipovski J, Muller CA: Intercellular adhesion molecule-1 expression in human kidneys with glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 36: 203-208, 1991.
52. Mayet WJ, Buschenfelde HM: Antibodies to proteinase 3 increase adhesion of neutrophils to human endothelial cells. *Clin Exp Immunol* 94: 440-446, 1993.
53. Nikolic-Paterson DJ, Main IW, Lan HY, Hill PA, Atkins RC: Adhesion molecules in glomerulonephritis. *Springer Semin Immunopathol* 16: 3-32, 1994.
54. Rastaldi MP, Ferrario F, Tunesi S, Yang LY, D'Amico G: Intraglomerular and interstitial leukocyte infiltration, adhesion molecules and interleukin-1 α expression in 15 cases of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated renal vasculitis. *Amer J Kid Dis* 27: 48-57, 1996.
55. Seron D, Cameron JS, Haskard DO: Expression of VCAM-1 in the normal and diseased kidney. *Nephrol Dial Transplant* 6: 917-922, 1991.
56. Wuthrich RP: Cell adhesion molecules and inflammatory renal diseases. *Nephrol Dial Transplant* 9: 1063-1065, 1994.
57. Savage COS, Pottinger BE, Gaskin G, Pussey CD, Pearson JD: Autoantibodies developing to myeloperoxidase and PR-3 in systemic vasculitis stimulate neutrophil cytotoxicity toward cultured endothelial cells. *Am J Pathol* 141: 335-342, 1992.
58. Kain R, Matsui K, Exner M, Binder S, Schaffner G, Sommer EM, Kerjaschki DJ: A novel class of autoantigens of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in necrotizing and crescentic glomerulonephritis: the lysosomal membrane glycoprotein h-lamp-2 in neutrophil granulocytes and a related membrane protein in glomerular endothelial cells. *J Exp Med* 181: 585-597, 1995.
59. Casselman GL, Kilgore KS, Miller BF, Warren JS: Antibodies to neutrophil cytoplasmic antigens induce monocyte chemottractant protein-1 secretion from human monocytes. *J Lab Clin Med* 126: 495-502, 1995.
60. Mayet WJ, Schwarting A, Orth T, Duchmann R, Buschenfelde HM: Antibodies to proteinase 3 mediate expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1). *Clin Exp Immunol* 103: 259-267, 1996.
61. Abbott F, Jnes S, Lockwood CM, Rees A: Autoantibodies to glomerular antigens in patients with Wegener's granulomatosis. *Nephrol Dial Transplant* 4: 1-8, 1989.
62. Kallenberg CGM, Brower E, Mulder CA, Stegeman JJ, Weening JW, Cohen Tervaert JW: ANCA-pathophysiology revisited. *Clin Exp Immunol* 100: 1-3, 1995.
63. Ferrario F, Castiglione A, Colasanti G y cols.: The detection of human monocytes in human glomerulonephritis. *Kidney Int* 28: 513-519, 1985.
64. Tesch GH, Yang N, Yu H, Lan Y, Foti R, Chadban SJ, Atkins RC, Nikolic-Paterson DJ: Intrinsic renal cells are the major source of interleukin-1 β synthesis in normal and diseased rat kidney. *Nephrol Dial Transplant* 12: 1109-1115, 1997.
65. Schwarting A, Schlaak JF, Wandel E, Meyer KH, Mayet WJ: Human renal tubular epithelial cells as target cells for antibodies to proteinase 3 (c-ANCA). *Nephrol Dial Transplant* 12: 916-923, 1997.
66. Elkon KB, Sutherland DC, Rees AJ, Huges GRV, Batchelor JR: HLA-antigen frequencies in systemic vasculitis. Increase in HLA-DR2 in Wegener's granulomatosis. *Arthr Rheum* 26: 102-105, 1983.
67. Muller GA, Gebhardt M, Kompf J, Baldwin WM: Association between rapidly progressive glomerulonephritis and the propeptid factor BIF and different HLA-D region products. *Kidney Int* 25: 115-118, 1984.
68. Rees AJ: Immunogenetics of renal disease, en *Immunological renal diseases* 117-118, cap. 5, Neilson EG, Couser WG editores. Lippincott-Raven Editores, Philadelphia-New York, 1997.
69. Spencer JW, Burns A, Gaskin G, Pusey ChD, Rees AJ: HLA class II specificities in vasculitis with antibodies to neutrophil cytoplasmic antigens. *Kidney Int* 41: 1059-1063, 1992.
70. Hagen EC, Stegeman CA, D'Amaro J, Schreuder GMT, Lems SPM, Cohen Tervaert JW, Jong GMT, Hene RJ, Kallenberg CGM, Daha MR, Van der Woude: Decreased frequency of HLA-DR13, DR6 in Wegener's granulomatosis. *Kidney Int* 48: 801-805, 1995.
71. Zhang L, Jayne DRW, Zhao MH, Lockwood CM, Oliveira DBG: Distribution of MHC class II alleles in primary systemic vasculitis. *Kidney Int* 47: 294-298, 1995.
72. Griffith ME, Lovegrove JJ, Gaskin G, Whitehouse DB, Pusey CD: C-antineutrophil cytoplasmic antibody positivity in vasculitis patients is associated with Z allele of alpha-1-antitrypsin, and P-antineutrophil cytoplasmic antibody with the S allele. *Nephrol Dial Transplant* 11: 438-443, 1996(b).
73. Esnault VLM: ANCA-positive vasculitis and alpha 1-antitrypsin deficiency: could free ANCA antigens released by neutrophils mediate vasculitic lesions? *Nephrol Dial Transplant* 12: 249-251, 1997.