



## Revisión

# Utilidad de los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo en reumatología

Luis Felipe Flores-Suárez

*Clinica de Vasculitis Sistémicas Primarias, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, México D.F., México*

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

### Historia del artículo:

Recibido el 22 de febrero de 2012

Aceptado el 17 de marzo de 2012

On-line el 4 de junio de 2012

### Palabras clave:

Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo

Vasculitis

Utilidad diagnóstica

Reumatología

## R E S U M E N

Las vasculitis primarias son patologías complejas, con manifestaciones clínicas variadas y proteas, las que pueden ser comunes a las que se presentan en múltiples enfermedades. Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo (ANCA) constituyeron una revolución en el diagnóstico y la investigación de estas enfermedades, al ser el primer, y hasta ahora único, biomarcador para tres de estas patologías que afectan vasos de calibre pequeño. Desde su descripción, mucho se ha avanzado, pero aún hay aspectos poco claros o mal entendidos en cuanto a su mejor uso en la clínica. Ello puede llevar a errores como hacer de esta prueba un sinónimo de la existencia de vasculitis, o a sobreestimar su relevancia. Esta revisión abordará aspectos como su nomenclatura, el empleo en el diagnóstico y seguimiento de las vasculitis, su presencia en otras enfermedades, algunos comentarios respecto de sus métodos de detección, y finalmente, observaciones respecto de otros potenciales biomarcadores en las vasculitis.

© 2012 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Antineutrophil cytoplasm autoantibodies: Usefulness in rheumatology

### A B S T R A C T

The primary vasculitides are complex diseases with varied clinical manifestations, which may be common to those present in multiple diseases. The antineutrophil cytoplasm autoantibodies (ANCA) led to a revolution in the diagnosis and research of these diseases, being the first and so far, the only biomarkers for three of these diseases, which affect small caliber vessels. From their description, much progress has been made, but there are still gray or misunderstood areas regarding their best use in the clinic. This can lead to errors as making a positive test synonym for vasculitis, or to overestimation of its importance. This review will address aspects such as nomenclature, employment in the diagnosis and monitoring of vasculitis, their presence in other diseases, their methods of detection, and finally, some comments on other potential biomarkers in vasculitis.

© 2012 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

«Que algo no funcione como tú esperabas no quiere decir que sea inútil».

Thomas Alva Edison.

Después de más de 25 años, no hay duda alguna de la utilidad de los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo (ANCA). Sin embargo, y como en cualquier actividad humana, su uso, lo que incluye su indicación, realización e interpretación, es lo que determina su real utilidad. Es tal su relevancia que constituyen, hasta la fecha, el único biomarcador en un grupo de enfermedades heterogéneas, de difícil diagnóstico y de complejidad en su tratamiento y seguimiento. Al cabo de más de 150 años del reconocimiento de la

primera de estas patologías<sup>1</sup>, y del tiempo que ha transcurrido entre la firme descripción de los ANCA como marcador diagnóstico en una entidad considerada todavía rara, la granulomatosis con poliangeitis (Wegener) (GPA)<sup>2</sup>, no existe por el momento otra prueba que nos ayude en la misma magnitud. Como todo estudio de laboratorio, está sujeto a muchas variables, entre las que se encuentran su metodología de detección y donde se efectúa, además de lo anotado líneas arriba que en conjunto la hacen verdaderamente útil o no. En este manuscrito me circunscribiré a elaborar sobre los aspectos relatados en el resumen.

## Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo en el diagnóstico

Es una verdad incontrovertible: los ANCA son útiles en el diagnóstico de ciertas vasculitis primarias, de hecho, las más frecuentes con excepción, en ciertas latitudes, de la arteritis de células

Correo electrónico: felipe98@prodigy.net.mx

**Tabla 1**

Indicaciones clínicas para solicitar la realización de anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo

|  |
|--|
| Glomerulonefritis, especialmente rápidamente progresiva    |
| Hemorragia pulmonar, especialmente síndromes neumorrenales |
| Vasculitis cutánea con afección sistémica                  |
| Nódulos pulmonares múltiples                               |
| Enfermedad crónica, destructiva de vías aéreas superiores  |
| Sinusitis u otitis crónicas                                |
| Estenosis traqueal, estenosis subglótica                   |
| Mononeuritis múltiple o neuropatías periféricas            |
| Masas retroorbitarias                                      |

Modificado de Savige et al.<sup>8</sup>.

gigantes. Desde el artículo original de van der Woude y Wiik, fue evidente que en una condición infrecuente como la GPA, los ANCA detectados por inmunofluorescencia indirecta eran altamente específicos para esa enfermedad<sup>2</sup>. A esa publicación siguió la identificación de la asociación del patrón perinuclear (P-ANCA) con nefritis paucimunes<sup>3,4</sup> y la identificación de los antígenos relevantes para cada patrón de inmunofluorescencia<sup>5,6</sup>, el desarrollo de métodos de fase sólida para tales antígenos, y con ambas herramientas, la corroboración de su utilidad conjunta a través del estudio del grupo europeo publicado en 1998<sup>7</sup>. Uno de los aspectos relevantes fue establecer que 3 patologías —GPA, poliangeitis microscópica (MPA) y vasculitis limitada a riñones (en presencia o no de glomerulonefritis rápidamente progresiva)— se encuentran fuertemente asociadas a estos anticuerpos y que la realización de ambas pruebas incrementa de forma importante la sensibilidad y la especificidad de las mismas, en comparación con controles enfermos que en el diagnóstico diferencial pueden mostrar características clínicas semejantes a las observadas en estas patologías. Con ello, se establecieron ciertas indicaciones por un grupo de expertos, las cuales han servido como guía general para la solicitud de estos anticuerpos (tabla 1)<sup>8</sup>, si bien, en tal recomendación, se establece que la IFI es una prueba de escrutinio a la cual puede continuar la realización de ELISA, en caso de ser la primera positiva. Esto a pesar de que en las patologías antes citadas, que establecen *per se* una posibilidad preprueba positiva mayor, quedó demostrado que la realización simultánea de ambos métodos ofrece un mejor desempeño.

Lo anterior deriva en una pregunta fundamental: ¿quién solicita ANCA? En 2 estudios publicados hace una década se mostró que la solicitud indiscriminada conlleva un alto porcentaje de resultados falso positivos, con bajos valores predictivos positivos y negativos, lo que se relacionó directamente con distintas especialidades médicas. En el primer estudio, incluso se mostró que ciertos especialistas que solicitaron ANCA tuvieron pobre retorno (*yield*) en su petición de esta prueba<sup>9</sup>. Posteriormente, otra publicación, en la que se consideraron como ANCA positivos solo aquellos resultados confirmados en ELISA, y efectuando un tamizaje de solicitudes de acuerdo con indicaciones precisas, se logró el descenso de resultados falso positivos y un incremento, sobre todo, de valores predictivos negativos<sup>10</sup>. Este bajo desempeño de los ANCA, incluso en centros especializados, ha sido observado en nuestro entorno también. Resultados publicados hasta ahora en forma de resumen con datos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición en México<sup>11</sup>, durante un período de 12 meses, analizaron el desempeño de cada método, comparándose los resultados en contra de diagnósticos definidos (tabla 2), particularmente los grupos de vasculitis primarias asociadas a ANCA, y otro importante y muy solicitado mediante el método de IFI (solo el 3% de las solicitudes dentro de este grupo comprendieron también el método de ELISA para determinar especificidades antigénicas), englobando enfermedades gastrointestinales y hepáticas que se han asociado a positividad de esta prueba por IFI. En relación con el grupo de vasculitis, se observa claramente la dispersión de cifras, similar a la de los

**Tabla 2**

Propiedades de la prueba de ANCA (por IFI, ELISA y juntos) en pacientes con diagnóstico confirmado de vasculitis asociada a ANCA como solicitada por cualquier servicio en un centro de tercer nivel de atención de la ciudad de México

| Método                   | Sensibilidad | Especificidad | VPP | VPN |
|--------------------------|--------------|---------------|-----|-----|
| IFI <sup>a</sup>         | 86%          | 18%           | 13% | 86% |
| ELISA <sup>b</sup>       | 54%          | 82%           | 64% | 69% |
| IFI + ELISA <sup>c</sup> | 86%          | 23%           | 14% | 92% |

IFI: inmunofluorescencia indirecta.

Resumido de Flores-Suárez et al.<sup>11</sup>.<sup>a</sup> Cualquier patrón.<sup>b</sup> Especificidad positiva contra cualquier antígeno (PR-3 o MPO).<sup>c</sup> Resultado positivo con cualquier método.

estudios presentados antes, si bien con menores valores predictivos positivos, pero similares negativos. Incluso, tomando en cuenta la prueba específica usando el test ELISA directo, los resultados son moderados, sugiriendo que en un centro de tercer nivel de atención, como se le conoce en nuestro país, es conveniente redefinir el uso de estas pruebas en su forma actual. A partir de estos datos, se ha sugerido que el establecimiento de «políticas» de tamizaje y la sujeción a determinadas indicaciones es favorable cuando se decide solicitar ANCA. Estudios recientes apuntan a que ello es posible sin sacrificar la precisión de las pruebas en relación con la potencial pérdida de pacientes con las patologías claramente asociadas con estos anticuerpos. En un centro de tercer nivel neozelandés se evaluaron 1.127 pruebas, de las que solo un tercio fueron guiadas por las indicaciones propuestas en 1999. De ese porcentaje así solicitado, todas las pruebas fueron positivas y en todos los casos, excepto en uno que tuvo endocarditis infecciosa, el diagnóstico fue una vasculitis asociada con ANCA. Del resto de las indicaciones, entre ellas la enfermedad ocular u orbitaria, la enfermedad hepática o inflamatoria intestinal, la granulomatosis eosinofílica con poliangeitis (Churg–Strauss)—que no está en las indicaciones propuestas—, muy pocos casos fueron positivos, concluyéndose que en tales situaciones los ANCA son poco útiles como prueba diagnóstica. Más aún, seguir las indicaciones propuestas para su solicitud lleva a que, de forma excepcional, se deje de diagnosticar una vasculitis primaria<sup>12</sup>. En forma prospectiva, el grupo de Oxford demostró que la aplicación de las guías permitió incrementar el retorno de pruebas positivas, mientras que de aquellas pruebas rechazadas que no cumplían este control ningún caso de vasculitis primaria asociada a ANCA fue detectado en el seguimiento posterior de 8 meses<sup>13</sup>.

### Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo en otras patologías y otros antígenos de los neutrófilos

Pero ¿hay otras patologías ANCA positivas? ¿En ellas el término ANCA es correcto? La tabla 3 cita otras enfermedades donde se han reportado ANCA positivos, remarcando particularmente aquellas

**Tabla 3**

Otras enfermedades descritas con resultados positivos para ANCA

- Otras vasculitis (arteritis de células gigantes, vasculitis asociada a IgA [púrpura de Schönlein–Henoch], enfermedad de Takayasu, vasculitis crioglobulinémica idiopática)
- Enfermedades del tejido conjuntivo (AR, LEG, escleroderma)
- Enfermedades gastrointestinales y hepáticas (CUCI, Crohn, colangitis esclerosante, cirrosis biliar primaria)
- Infecciones (tuberculosis, lepra, infección por el VIH, infección o crioglobulinemia por virus hepatitis C)
- Neoplasias (linfoproliferativas, mieloides, carcinomas)
- Enfermedades diversas (sarcoidosis, nefropatía por IgA, eritema elevatum diutinum)
- Asociadas a fármacos (propiltiouracilo, metilmazol, hidralazina, cocaína, cocaína adulterada con levamisol)

<sup>\*</sup> Excepcional.

donde su indicación es más frecuente, su asociación con manifestaciones clínicas similares a las vistas en las vasculitis ANCA positivas está presente o aquellas que son de particular interés en ciertos medios, particularmente el nuestro, donde existe una alta prevalencia de enfermedades infecciosas<sup>14</sup>. En relación con el grupo de enfermedades inflamatorias intestinales, la mayor parte de la información es retrospectiva, pero la reactividad hallada se dirige a muchos antígenos de los neutrófilos y no contra mieloperoxidasa (MPO) o proteinasa 3 (PR-3). En todo caso, en general, cuando se tiene un resultado positivo de ANCA en estas enfermedades, ello es más frecuente en que en colitis ulcerativa que en enfermedad de Crohn, a pesar de lo cual su actividad con estas condiciones es cuestionable<sup>15</sup>. Es interesante que en la enfermedad de Crohn con afección colónica los ANCA se encuentran positivos en mayor frecuencia que en aquellos sin dicha afección<sup>16</sup>.

En cuanto a su relación con fármacos u otro tipo de sustancias, particularmente cocaína, los ANCA vistos en ellas reconocen más de un antígeno y además pueden tener en su suero otros autoanticuerpos. De hecho, estas características, donde los ANCA pueden tener reacción contra varias enzimas de los neutrófilos en conjunto con anticuerpos contra histonas, anti-beta 2 glicoproteína 1 y/o anticuerpos anticardiolipina, identifican a estos pacientes<sup>17,18</sup>.

Me referiré a una situación identificada recientemente, particularmente en vista de su probable incremento en los tiempos por venir y en contextos sociales particulares. En 2006, aunque reportado hasta 2009, pacientes con vasculitis cutánea con localizaciones peculiares y alteraciones en las mucosas, en algunos casos con neutropenia grave, que presentan ANCA, incluyendo reactividad contra PR-3, MPO y muchos otros antígenos neutrofilicos (elastasa, catexina G, lactoferrina), y en varios de ellos también contra cardiolipinas, anticoagulante lúpico, niveles marginalmente bajos de complemento o crioglobulinas, han tenido el común denominador del uso de cocaína adulterada con levamisol. Este último causa agranulocitosis, artralgias, anemia hemolítica, hepatoesplenomegalia y de forma característica, lesiones vasculíticas con una distribución peculiar en orejas y mejillas, y en caso de las extremidades, con extensas y profundas úlceras. Histológicamente, lo más frecuentemente observado es microangiopatía trombótica, pero en algunos casos se ha documentado vasculitis leucocitoclástica. La suspensión del uso de la cocaína y las medidas de soporte en casos no tan graves han sido usualmente suficientes para obtener mejoría, pero en casos serios se ha llegado a usar esteroides<sup>19-23</sup>. Debe citarse, desde luego, que en estos casos es fundamental descartar infecciones, pero un abordaje diagnóstico adecuado y completo, y las características señaladas deben hacer pensar y buscar exhaustivamente el antecedente de uso de cocaína, que, por lo señalado, es altamente factible se encuentre adulterada con levamisol. Nosotros hemos visto 2 casos (manuscrito en preparación), de los cuales uno de ellos, a pesar de 2 internamientos previos, lamentablemente falleció al no sospecharse esta entidad. Por ende, en pacientes con dichas peculiaridades, estamos obligados a suponer este problema. Otras patologías donde recientemente se ha descrito positividad para ANCA, sumadas a las de la tabla 3, son la neutropenia cíclica<sup>24</sup> y el eritema elevatum diutinum<sup>25</sup>. En la primera, aunque el patrón inmunofluorescente es citoplasmático, la reactividad parece ser contra un antígeno de 60 kD que espera caracterización precisa, y en el segundo caso es el isotipo IgA el que se ha descrito en algunos pacientes con esta condición.

Esto lleva al siguiente apunte: los neutrófilos (y los monocitos también) son una gran maquinaria llena de proteínas y enzimas en las que, de forma esquemática, fallas en mecanismos reguladores en conjunto con fenómenos aberrantes de índole inmunitaria pueden disparar una respuesta autoinmunitaria que, en el terreno apropiado, puede constituirse en patología autoinmunitaria. Actualmente, sabemos que el vínculo de anticuerpos contra PR-3 y MPO se da con las patologías específicas que

conocemos y que, al momento, los MPO-ANCA tienen un potencial patogénico importante. A pesar de ello, el término ANCA ha permeado en la rutina diagnóstica y en la petición al laboratorio de pruebas en patologías autoinmunitarias. Como tal, cuando los clínicos de distintas especialidades se enfrentan a un resultado de ANCA como se entiende comúnmente ahora, particularmente en casos imprecisos o vagos, ello puede tornarse incluso riesgoso, por las implicaciones diagnósticas y, por tanto, terapéuticas que ello conlleva. Como consecuencia, desde hace algunos años, diversos autores, pero particularmente Allan Wiik, han nombrado a la reactividad positiva en IFI, pero que reconoce antígenos distintos a MPO o PR-3, como anticuerpos neutrófilo específicos (NSA, por neutrophil specific antibodies)<sup>26</sup>. En lo personal, al compartir los neutrófilos con los monocitos tal reactividad, he preferido proponer el término de anticuerpos que reconocen neutrófilos. (NERA, por neutrophil recognising autoantibodies)<sup>27</sup>. En todo caso, independientemente del término, el propósito es evitar interpretaciones erróneas del término ANCA, el que debería reservarse a aquellos que reconocen MPO o PR-3 y que tienen, como se ha demostrado, asociaciones específicas, particularmente con GPA, MPA, vasculitis renal limitada y entre un 30-50% de pacientes con síndrome de Churg-Strauss (SCS)<sup>28,29</sup>. Esta propuesta permitiría incluir la asociación de dichos anticuerpos que reconocen otros antígenos distintos de PR-3 y MPO, pero que dan un patrón inmunofluorescente teniendo neutrófilos como sustrato, con patologías como las hepáticas, intestinales o aquellas que se relacionan con el uso de fármacos o drogas.

En 2008, Kain et al. describieron una alta frecuencia de anticuerpos contra la proteína-2 de la membrana lisosomal (LAMP-2), que habían ya descrito desde 1995 como uno de los antígenos reconocidos por ANCA. Fue en el artículo publicado hace 4 años donde, al extender sus observaciones, describieron la presencia de anticuerpos contra LAMP-2 en 78 de 84 pacientes con glomerulonefritis necrosante paucimune focal y segmentaria, con una reactividad por IFI con patrón citoplasmático, y los 6 pacientes en los que no se hallaron anticuerpos contra LAMP-2 correspondieron a enfermos en remisión<sup>30</sup>. Esta cifra fue mayor que en la que en esos pacientes encontraron con positividad contra PR-3 y MPO. Adicionalmente, dichos anticuerpos generados en conejos a partir de la inmunización con LAMP-2 humana fueron capaces de producir, en ratas Wistar-Kyoto, lesiones glomerulares similares a las vistas en pacientes, después de su inyección. Dichos anticuerpos fueron capaces de activar neutrófilos y células endoteliales *in vitro*, favoreciendo la apoptosis de estas últimas, y también reconocieron, en forma cruzada, un epítipo presente en una adhesina de las fimbrias de gramnegativos (FimH). Al inmunizar a ratas con FimH recombinante, demostraron que dichos anticuerpos también reconocieron LAMP-2 humana, sin reconocer MPO o PR-3. Finalmente, de forma retrospectiva, mediante información obtenida de los médicos de primer contacto de 9 de sus más recientes 13 pacientes con la patología renal, establecieron la presencia de alguna enfermedad por gramnegativos 12 semanas antes del establecimiento de la entidad nefrológica. Con esos datos, propusieron que en patología renal como la observada, los ANCA dirigidos contra LAMP-2 son más prevalentes y específicos que aquellos contra MPO y/o PR-3, su potencial papel patogénico y, además, el apoyo que sus experimentos dan a la hipótesis de reactividad cruzada, previa existencia de infecciones en la generación de estas enfermedades. Desde luego, ello fue muy llamativo en vista de la ausencia de reactividad contra este antígeno en descripciones originales de la búsqueda de antígenos responsables de la reactividad contra neutrófilos desde hace casi 30 años.

Estas observaciones no han sido confirmadas en 2 grupos de pacientes en EE. UU. Al expandir la búsqueda de anti-LAMP-2 en las cohortes del Hospital General de Massachusetts y de la Universidad de Carolina del Norte en Chapel Hill, Roth et al.<sup>31</sup> hallaron reactividad contra LAMP-2 en el 21% de los ANCA de sus

grupos, lo cual tampoco fue específico, pues el 16% de los pacientes con infecciones de vías urinarias también presentaron anticuerpos contra este antígeno. Adicionalmente, los niveles de anticuerpos con PR-3 y MPO en dichos sueros fueron mucho mayores que los encontrados contra LAMP-2. Por ende, la controversia en el caso de las vasculitis primarias asociadas a ANCA persiste, y al momento no es recomendable buscar anticuerpos contra este antígeno de forma rutinaria, además de que su asequibilidad comercial no está disponible y quizá no brinde mayores ventajas en el contexto clínico. En contraparte, existe un reciente reporte de la presencia de anti-LAMP-2 en vasculitis asociada a IgA (Schönlein-Henoch)<sup>32</sup> que ameritan más estudios para confirmarse como biomarcador en esta vasculitis.

### Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo en el seguimiento y métodos de detección

Una de las propiedades más deseables de una prueba serológica es su desempeño en el seguimiento de los pacientes. Un cúmulo sustancial de información emergió desde fines de los años ochenta, cuando el grupo de Groningen apoyó que en los ANCA particularmente empleando ELISA de captura podría ser un método de detección confiable para predecir recaídas y guiar decisiones terapéuticas<sup>33,34</sup>. Esto no pudo ser reproducido por otros grupos ni siquiera al evaluar otros isotipos de inmunoglobulinas distintas de IgG o subclases de IgG<sup>35,36</sup>. A partir de 22 artículos con información completa y comparable, una revisión demostró años atrás que apoyar el empleo de los ANCA con esta intención era inaceptable<sup>37</sup>. Esto se vio reforzado por el conocido trabajo prospectivo a partir de la cohorte del estudio de etanercept en GPA, donde, con datos de 156 pacientes, se determinó el tiempo de remisión relacionado con el decremento de ANCA, medido mediante 2 ELISA contra PR-3 madura y su promolécula, así como las recaídas que siguieron a remisiones sostenidas y la relación de estas con incrementos en los niveles de ANCA<sup>38</sup>. Las definiciones de aumentos y descensos de ANCA fueron arbitrarias, como ha sucedido en todos los estudios al respecto. De aquellos pacientes PR3-ANCA positivos en el reclutamiento y que lograron remisión posterior, hubo un incremento en un tercio de los pacientes con cualquiera de los 2 métodos empleados. Sin embargo, este incremento no fue seguido de recaídas clínicas, e incluso en algunos casos hubo pacientes en quienes la aparición de manifestaciones clínicas sucedió hasta un año después del incremento en los niveles de PR3-ANCA. Asimismo, hubo pacientes en quienes existió recaída clínica sin incremento previo de PR3-ANCA. Por otra parte, en aquellos pacientes negativos al momento del reclutamiento y que permanecieron sin elevación de los ANCA, la mitad presentaron recaída sin elevación previa de ANCA con ninguno de los 2 métodos empleados para su detección. Un metaanálisis más reciente concluye que el valor de las mediciones seriadas de ANCA en pacientes que se encuentran en remisión es igualmente limitado. Ni su incremento ni su persistencia en sujetos que han alcanzado remisión son de gran valor predictivo de recaídas<sup>39</sup>.

He mencionado varias veces IFI y ELISA. ¿Hay un solo ELISA? ¿Esto influye en el desempeño de los ANCA, tanto en diagnóstico como en seguimiento? El espacio no permite profundizar en la materia, pero sí es posible comentar que existen discrepancias entre distintos ELISA, ya sea directos o de captura, utilizados para detectar anticuerpos contra MPO o PR-3, lo cual puede verse influido por los puntos de corte escogidos<sup>40</sup>. Un corte sobre 2 desviaciones estándar usando como controles a sujetos sanos da una alta especificidad, pero incluso el 20% de los pacientes con enfermedades que pueden potencialmente confundirse con una vasculitis asociada a ANCA pueden dar resultados positivos. Si este punto de corte se eleva, aunque algunos pacientes, sobre

todo aquellos con manifestaciones menos floridas, como una GPA limitada, en los que sea indispensable realizar otros estudios para buscar otras causas de sus síntomas o bien buscar a toda costa la demostración histológica, pudieran perder la positividad en el ELISA, la posibilidad de que su resultado sea positivo teniendo otra patología dentro del diagnóstico diferencial se reduce del 20 al 5%. Además, ello brinda en comparación con sujetos sanos, una especificidad casi absoluta<sup>27</sup>. Por ende, conocer ciertos detalles de los estudios ofrecidos comercialmente y probarlos localmente es de gran importancia. Las comparaciones de distintas modalidades de ELISA arrojan resultados similares, si bien, en un inicio, en su empleo en el seguimiento, tanto mediante método directo como de captura, este último, al ser más sensible, parecía ser superior en predicción de recaídas. Incluso otros desarrollos en inmunoensayos enzimáticos se han probado, pero, en general, casi todas las pruebas tienen buena especificidad y variable sensibilidad. Un desarrollo reciente se refiere a la fijación mediante moléculas (cuya composición no fue descrita en detalle en la publicación) de los antígenos blancos, lo que parece incrementar la sensibilidad de este ensayo de fase sólida, manteniendo epítopos relevantes en los antígenos así fijados para el reconocimiento por los anticuerpos específicos<sup>41</sup>. Los estudios con plataformas como Luminex son, desde luego, muy atractivos, pero por el momento extremadamente costosos para su implementación regular y por ello no recomendables en uso rutinario<sup>42</sup>.

Varias son las causas de variabilidad en cuanto al empleo de los ANCA en el seguimiento de pacientes; entre ellas, la definición de incremento de niveles, la frecuencia con la que se deben efectuar mediciones con el fin de cumplir el objetivo de predicción, las definiciones del estado clínico (si bien esto cada vez está más salvado con empleo de medidas como BVAS), el método que se emplea en cada centro, con sus características inherentes, lo que es más que deseable sea conocido por los clínicos, y, como hemos visto, las características de los antígenos y conjugados que para la detección se emplean<sup>43</sup>.

Con todo ello, existen evidencias que permiten afirmar que en pacientes PR3-ANCA positivos, es más seguro efectuar el cambio de terapia de inducción a remisión a la fase de mantenimiento cuando los anticuerpos son negativos. La sobrevida libre de enfermedad fue superior a aquellos pacientes PR3-ANCA positivos cuando se cambió de ciclofosfamida a azatioprina<sup>44</sup>. De este mismo estudio, y otros posteriores, uno de ellos con información de las cohortes de los estudios terapéuticos del grupo europeo de vasculitis, se desprende que aquellos pacientes PR3-ANCA positivos son más propensos a recaer que los MPO-ANCA positivos y, por tanto, es quizá deseable un seguimiento más estrecho en los primeros<sup>45</sup>. Otra situación consiste, desde luego, en individualizar y conocer el comportamiento serológico de cada paciente. Así, existen pacientes con variaciones mínimas de sus niveles de ANCA, pero hay otros que, al menos en el momento de presentar manifestaciones clínicas de actividad, sí presentan elevación de los niveles de ANCA y llevan un comportamiento hasta cierto punto constante o estereotipado entre clínica y serología. El seguimiento preciso puede ayudar a conocer si un paciente tiende a elevar sus niveles poco antes o durante las recaídas, o si bien ello tiene poca influencia sobre su comportamiento clínico. Por ende, este último sigue siendo el determinante principal de cambios en decisiones terapéuticas, a pesar incluso de que, como se ha descrito recientemente, el desarrollo en marcadores «tradicionales» de inflamación, como la proteína C reactiva (PCR) altamente sensible, que desde luego no es específica en estas patologías, puede elevarse concurrentemente a la presencia de recaídas de forma constante<sup>46</sup>. En el momento actual, incluso en las situaciones que comenté anteriormente, los hallazgos clínicos siguen siendo los determinantes principales de las modificaciones terapéuticas en estas patologías.

## Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo en situaciones clínicas definidas: un ejemplo

Al menos el 10% e incluso hasta el 30% de los pacientes con vasculitis ANCA positiva desarrollan insuficiencia renal que amerita sustitución de la función renal. Se sabe que el desenlace de quienes reciben trasplante y la supervivencia del mismo es igual al que sucede en otras patologías<sup>47</sup>. A pesar de los esquemas de tratamiento inmunosupresor, hasta el 20% de los pacientes postrasplantados renales presentan recaída en el injerto, lo cual en promedio ocurre entre 2 y 3 años. Una de las preguntas más frecuentes se relaciona con la asociación entre los niveles de ANCA y momento del trasplante. A pesar de las nociones extendidas, se sabe que en el momento de lograrse remisión clínica no es conveniente retrasar la decisión de trasplante y que hay éxito en pacientes trasplantados, independientemente de los niveles de ANCA<sup>48</sup>. Desde luego, de acuerdo con lo comentado antes, es mejor si el procedimiento se realiza con niveles negativos de anticuerpos, pero la positividad no necesariamente implica peor pronóstico en términos de supervivencia renal. En todo caso, las recaídas en pacientes trasplantados también se han observado preferiblemente cuando el suero es positivo para ANCA. Por otra parte, también ocurren recaídas extrarrenales en estos pacientes, pudiendo ser hasta en la mitad de los casos y no relacionadas en el tiempo con recaídas en el injerto.

¿Hay diferencia entre MPA y GPA en términos de estas características en trasplantados renales? Recientemente, se ha reportado que la función renal postrasplante es menor en pacientes con GPA que con MPA, si bien ello no es significativo<sup>49</sup>, aunque esta situación amerita un seguimiento, particularmente en tiempos en que los regímenes inmunosupresores en trasplante han cambiado y favorecen el uso de MMF y tacrolimus.

En resumen, aunque parece deseable trasplantar a pacientes cuando sean negativos para ANCA, su presencia no debe determinar el momento del trasplante, y menos aún retrasarlo, siendo la actividad clínica la principal determinante, y manteniéndose vigilancia apropiada en cuanto a posibles recaídas, a pesar de que los regímenes de inmunosupresión para evitar el rechazo sean adecuados y los niveles de fármacos sean óptimos en este grupo de pacientes.

## Otros biomarcadores en vasculitis

He comentado acerca de la utilidad de los ANCA y a lo largo de los años ha quedado claro que son un importante biomarcador diagnóstico en 3 vasculitis de pequeño calibre, particularmente en 2 (GPA y MPA), y además ha permitido esclarecer que estas 2 patologías son responsables de la mayoría de 3 entidades sindrómicas: glomerulonefritis rápidamente progresiva, síndrome neuromorrenal y hemorragia alveolar difusa. Además, a pesar de que existe razonable evidencia del papel patogénico de ellos en las mismas, las expectativas iniciales de los ANCA como un marcador biológico inequívoco que permita predecir recaídas, guiar decisiones terapéuticas y sea suficientemente específico para explicar manifestaciones de la enfermedad, en comparación con lo visto en otras enfermedades o complicaciones de su tratamiento, entre ellas infecciones, siguen sin cumplirse.

En esta parte final deseo comentar brevemente sobre los avances en la búsqueda de otros biomarcadores que deben complementar o superar a los ANCA en estos aspectos. Estas patologías tienen participación de muchos actores, ya sea como disparadores, como víctimas o ambos. En la medida en la que se ha conocido más ello, surgen opciones de búsqueda de moléculas relevantes en estas condiciones, lo que mientras más sensible y específico sea, será consecuentemente más útil. En la [tabla 4](#) enlisto varios que se han descrito a lo largo de la última década.

**Tabla 4**

Otros biomarcadores potenciales en vasculitis (particularmente las de vasos de pequeño calibre)<sup>50-60</sup>

- PCR de alta sensibilidad
- Células endoteliales circulantes
- Micropartículas endoteliales
- VCAM-1, ICAM-1, E y P-selectinas
- IL-2, IL-2sR
- IL-18
- TNF- $\alpha$
- Osteopontina
- Grelina
- Leptina
- Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos
- Procalcitonina
- Anticuerpos antiendotelio
- Anti-LDL oxidada
- BAFF
- IL-23
- IL-17
- Eotaxina-3 (en síndrome de Churg-Strauss)
- TREM-1 (relación TREM-1/creatinina)
- Angiopoyetina 2
- MMP-3

Uno de los blancos es el endotelio. Si bien las células endoteliales circulantes aumentan en fases de actividad de las enfermedades asociadas con ANCA, ello parece ser en etapas claramente establecidas de daño<sup>50</sup>, mientras que las micropartículas endoteliales, las que derivan de lesión temprana, parecen aumentar rápidamente, en algunos casos incluso antes de manifestaciones clínicas, y regresan a la normalidad cuando se encuentra la enfermedad en remisión<sup>51</sup>. La participación de los linfocitos B en la patogenia ha llevado naturalmente a buscar marcadores relacionados. Recientemente se ha descrito que los niveles del factor activador de células B (BAFF, por sus siglas en inglés) en suero fueron mayores en pacientes con GPA que en controles sanos, pero ello se correlacionó negativamente con niveles de ANCA e incluso los niveles de BAFF fueron más altos en pacientes ANCA negativos que en los positivos, además de que no se halló correlación con otras medidas de actividad, como índices clínicos o PCR, ni tampoco aumentaron los niveles en el momento de la reactivación, incluso siendo esta última, grave en algunos pacientes<sup>52</sup>. Esto fue estudiado por otro grupo, donde los pacientes con GPA tuvieron niveles de BAFF elevados en comparación con aquellos con poliangeitis microscópica o Churg-Strauss. En ese mismo estudio, marcadores de activación endotelial como VCAM-1 también aumentaron en recaídas, pero en términos de los niveles de BAFF no hubo mayor diferencia entre distintos estadios padecimientos de la afección<sup>53</sup>. Esto último resulta de alguna forma sorprendente, pero cabe la posibilidad de que sea un mecanismo contrarregulador a una mayor activación linfocitaria. En cuanto a marcadores de activación de células T, los niveles de IL-17 e IL-23 también se han detectado aumentados, estando los de la última citocina relacionados con mayores índices de actividad y de ANCA<sup>54</sup>. De forma interesante, la caída de los niveles de ambas no fue importante después de terapia, por lo que los niveles persistentes de estas IL podrían identificar un subgrupo con mayor tendencia a recaer.

Uno de los puntos más importantes es la distinción entre manifestaciones clínicas por la enfermedad o por infección. Recientemente, un grupo japonés publicó que la medición del receptor activador en células mieloides 1 (TREM-1, por sus siglas en inglés) soluble en pacientes con vasculitis MPO-ANCA positiva activos, en remisión, e inactivos infectados podría ser útil para distinguir entre infección y actividad. La relación entre TREM-1/creatinina fue mayor en los pacientes en remisión con infecciones, similar a lo visto en pacientes con pielonefritis y diferente del resto de los grupos, incluyendo uno con insuficiencia renal crónica<sup>55</sup>. Finalmente, otros autoanticuerpos en estas patologías podrían ser

importantes para explicar determinados fenómenos patogénicos que a la larga tengan contraparte clínica. La presencia de anticuerpos contra plasminógeno, estudiados en cohortes británica y holandesa, y presentes en ambas en una cuarta parte de pacientes, explicarían de forma al menos parcial las complicaciones trombóticas en estos pacientes. En quienes tuvieron tales anticuerpos, sus biopsias renales presentaron más necrosis fibrinoide y medias lunas celulares en los glomérulos, lo cual correlacionó con menor función renal<sup>56</sup>. En Churg-Strauss, por otro lado, los niveles de eotaxina 3 se han visto elevados en actividad, y además, aparentemente solo ocurre en esta patología y no en otros síndromes hipereosinofílicos, por lo que parece un marcador específico, sensible y prometedor en esta enfermedad<sup>57</sup>.

El desarrollo de nuevas tecnologías, como el ELISA en microarreglos proteínicos, o la tecnología Luminex, podrían en poco tiempo, identificar biomarcadores útiles en estas entidades. La primera ha sido empleada en los sueros de pacientes de la cohorte del estudio RAVE y en el futuro cercano se tendrán resultados (Monach PA, comunicación personal). Mientras tanto, este mismo autor y el grupo del estudio RAVE han reportado que marcadores de inflamación vascular, como la E-selectina, no correlacionaron con niveles de actividad, mientras que otros de regeneración tisular, como la metaloproteínasa de matriz 3 (MMP-3), parecen ser biomarcadores que pueden ser mejores para distinguir actividad de remisión, aunque la correlación con PCR y velocidad de sedimentación globular fue débil<sup>58</sup>. La angiopoyetina 2, que inicialmente parecía ser una molécula prometedora dado un reporte inicial, no mostró en ese mismo grupo de pacientes ser de utilidad mayor para discriminar actividad de remisión<sup>59,60</sup>. Una debilidad de ambos estudios provenientes de la cohorte RAVE fue el intervalo entre las evaluaciones, que fue de 6 meses, con todas las variables prácticas inherentes que ello implica para poderlos dimensionar de forma justa en la práctica clínica habitual, además de que se requiere confirmación en otras cohortes y su precisa definición entre las diferentes subpoblaciones de pacientes, así como eventualmente su factibilidad para aplicarse en escenarios clínicos rutinarios.

## Conclusiones

En conclusión, existen varios métodos para detectar los ANCA, que a pesar de no estar estandarizados (y difícilmente lo estarán en el futuro cercano), en combinación, independientemente de si el ELISA es directo, de captura o con tecnologías más recientes, pero sobre todo, con una indicación clínica bien orientada y con especificidad para PR-3 o MPO, son de enorme utilidad diagnóstica en 3 vasculitis de pequeños vasos: GPA, MPA (y su variante limitada a riñones) y SCS. En esta última, si bien presentes en el 30-50% de los casos, parecen definir subtipos clínicos de diferente pronóstico. Debo indicar que, al ser entidades clínico-patológicas, y a pesar de que los ANCA son excelentes marcadores para apoyar y/o establecer el diagnóstico si se cumple con una probabilidad preprueba alta, es deseable tener confirmación histológica, particularmente en casos más difíciles<sup>61</sup>. Existen condiciones variadas donde los hasta ahora llamados ANCA, pero dirigidos contra otros antígenos, o asociados a otros anticuerpos, también están presentes, incluyendo patologías de reciente descripción. Es probable que estos autoanticuerpos deban denominarse de otra forma y para ello se han propuesto otros términos, reservando el de ANCA a los vistos en vasculitis primarias. Esto hace, desde mi perspectiva, importante el efectuar aún IFI, en una analogía con lo que ocurre con los anticuerpos antinucleares, pues la detección de estos anticuerpos permite ampliar las posibilidades diagnósticas a la luz de lo expuesto. En el momento actual, los ANCA no se relacionan confiablemente con la presencia o predicción de recaídas, y existen situaciones clínicas particulares donde su utilidad aún está por conocerse. En todo caso, el clínico

está obligado a conocer las peculiaridades del sitio donde solicita ANCA—la comunicación con el laboratorio es esencial—, y estos últimos tienen la obligación de establecer sus puntos de corte y revisar la metodología que emplea para su detección en forma periódica. Por último, el avance en la descripción de nuevos biomarcadores en las vasculitis con las que se asocian los ANCA, y los diagnósticos diferenciales que caben en su caso, son necesarios y permitirán, de mejor forma, afinar la indiscutible utilidad y definir los límites de los ANCA como una prueba adecuadamente empleada por los reumatólogos.

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes y que todos los pacientes incluidos en el estudio han recibido información suficiente y han dado su consentimiento informado por escrito para participar en dicho estudio.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. Kussmaul A, Meier R. Ueber eine bisher nicht beschriebene eigenthuemliche Arterienkrankung (Periarteritis nodosa), die mit Morbus Brightii uns rapid fortschreitender allgemeiner Muskellaehmung einhergeht. *Deutsches Arch Klin Med.* 1866;1:484–518.
2. Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, Van Es LA, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tools for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet.* 1985;1:425–9.
3. Falk RJ, Jennette JC. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *New Engl J Med.* 1988;318:1651–7.
4. Nässberger L, Sjöholm AG, Bygren P, Thysell H, Højer-Madsen M, Rasmussen N. Circulating anti-neutrophil cytoplasm antibodies in patients with rapidly progressive glomerulonephritis and extracapillary proliferation. *J Intern Med.* 1989;225:191–6.
5. Niles JL, McCluskey RT, Ahmad MF, Arnaut MA. Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine protease. *Blood.* 1989;74:1888–93.
6. Csernok E, Lüdemann J, Gross WL, Bainton DF. Ultrastructural localization of proteinase 3, the target antigen of anti-cytoplasmic antibodies circulating in Wegener's granulomatosis. *Am J Pathol.* 1990;137:1113–20.
7. Hagen EC, Daha MR, Hermans J, Andrassy K, Csernok E, Gaskin G, et al. Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. *Kidney Int.* 1998;53:743–53.
8. Savage J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, et al. International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol.* 1999;111:507–13.
9. McLaren JS, Stimson RH, McRorie ER, Coia JE, Luqmani RA. The diagnostic value of anti-neutrophil cytoplasmic antibody testing in a routine clinical setting. *QJM.* 2001;94:615–21.
10. Mandl LA, Solomon DH, Smith EL, Lew RA, Katz JN, Shmerling RH. Using antineutrophil cytoplasmic antibody testing to diagnose vasculitis: can test-ordering guidelines improve diagnostic accuracy. *Arch Intern Med.* 2002;162:1509–14.
11. Flores-Suárez LF, Villa AR. Low yield of ANCA testing in a general referral centre: need for review including ANCA nomenclature [abstract]. *Ann Rheum Dis.* 2008;67 Suppl II:226–7.
12. Robinson PC, Steele RH. Appropriateness of antineutrophil cytoplasmic antibody testing in a tertiary hospital. *J Clin Pathol.* 2009;62:743–5.
13. Arnold DF, Timms A, Luqmani R, Misbah SA. Does a gating policy for ANCA over-look patients with ANCA associated vasculitis? An audit of 263 patients. *J Clin Pathol.* 2010;63:678–80.
14. Schmitt WH, Van der Woude FJ. Clinical applications of antineutrophil cytoplasmic antibody testing. *Curr Opin Rheumatol.* 2004;16:9–17.
15. Reumaux D, Sendid B, Puolain D, Duthilleul P, Dewit O, Colombel JF. Serological markers in inflammatory bowel diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2003;17:19–35.

16. Preda CM, Vermeire S, Rutgeerts P, Joossens S, Diculescu M, Marica C, et al. Prevalence and significance of perinuclear anti-neutrophil antibodies (pANCA) in Romanian patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Rom J Gastroenterol.* 2005;14:357–60.
17. Trimarchi M, Gregorini G, Fchetti F, Morassi ML, Manfredini C, Maroldi R, et al. Cocaine-induced midline destructive lesions: clinical, radiographic, histopathologic, and serologic features and their differentiation from Wegener's granulomatosis. *Medicine.* 2001;80:391–404.
18. Wiik A. Drug-induced vasculitis. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20:35–9.
19. Chung C, Tumei PC, Birnbaum R, Tan BH, Sharp L, McCoy E, et al. Characteristic purpura of the ears, vasculitis, and neutropenia—a potential public health epidemic associated with levamisole-adulterated cocaine. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65:722–5.
20. Bradford M, Rosenberg B, Moreno J. Bilateral necrosis of earlobes and cheeks: another complication of cocaine contaminated with levamisole. *Ann Intern Med.* 2010;152:758–9.
21. Farhat EK, Muirhead TT, Chaffins ML, Douglass MC. Levamisole-induced cutaneous necrosis mimicking coagulopathy. *Arch Dermatol.* 2010;146:1320–1.
22. De la Hera I, Sanz V, Cullen D, Chico R, Petiti G, Villar M, et al. Necrosis of ears alter use of cocaine probably adulterated with levamisole. *Dermatology.* 2011;223:25–8.
23. Graf J, Lynch K, Yeh C-L, Tarter L, Richman N, Nguyen T, et al. Purpura, cutaneous necrosis, and antineutrophil cytoplasmic antibodies associated with levamisole-adulterated cocaine. *Arthritis Rheum.* 2011;63:3998–4001.
24. Rodrigues CE, Velloso ER, Pereira RM, Bonfá E, Teixeira FK, Bueno C, et al. A novel 60 kDa reactivity in cyclic neutropenia: high titer cytoplasmic ANCA immunostaining pattern and negative anti-proteinase-3 antibody. *Joint Bone Spine.* 2011;78:319–20.
25. Crichlow SM, Alexandroff AB, Simpson RC, Saldanha G, Walker S, Harman KE. Is IgA antineutrophil cytoplasmic antibody a marker for patient with erythema elevatum diutinum. A further three cases demonstrating this association. *Br J Dermatol.* 2011;164:675–7.
26. Wiik A. Neutrophil-specific autoantibodies in chronic inflammatory bowel diseases. *Autoimmun Rev.* 2002;1:67–72.
27. Flores-Suárez LF. Laboratory investigation in the diagnosis of vasculitis. *Curr Rheum Rep.* 2009;11:395–401.
28. Sinico RA, Di Toma L, Maggiore U, Bottero P, Radice A, Tosoni C, et al. Prevalence and clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in Churg-Strauss syndrome. *Arthritis Rheum.* 2005;52:2926–35.
29. Sablé-Fourtassou R, Cohen P, Mahr A, Pagnoux C, Mouthon L, Jayne D, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and the Churg-Strauss syndrome. *Ann Intern Med.* 2005;143:632–8.
30. Kain R, Exner M, Brandes R, Ziebermayr R, Cunningham D, Alderson CA, et al. Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nat Med.* 2008;14:1088–96.
31. Roth AJ, Brown MC, Smith RN, Badhwar AK, Parente O, Chung HC, et al. Anti-LAMP-2 antibodies are not prevalent in patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibody glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23:545–55.
32. Kawakami T, Takeuchi S, Arimura Y, Soma Y. Elevated anti-lysosomal-associated membrane protein-2 antibody levels in patients with adult Henoch-Schönlein purpura. *Br J Dermatol.* 2012;166:1206–12.
33. Tervaert JW, Huitema MG, Hené RJ, Sluiter WJ, The TH, Van der Hem GK, et al. Prevention of relapses in Wegener's granulomatosis by treatment based on antineutrophil cytoplasmic antibody titre. *Lancet.* 1990;336:706–11.
34. Boomsma MM, Stegeman CA, Van der Leij MJ, Oost W, Hermans J, Kallenberg CG, et al. Prediction of relapses in Wegener's granulomatosis by measurement of antineutrophil cytoplasmic antibody levels. *Arthritis Rheum.* 2000;43:2025–33.
35. Esnault V, Ronda N, Jayne DR, Lockwood CR. Association of ANCA isotype and affinity with disease expression. *J Autoimmun.* 1993;6:197–205.
36. Nowack R, Grab I, Flores-Suárez LF, Yard B, Van der Woude FJ. A.N.C.A-titers even of IgG-subclasses, and soluble CD14 fail to predict relapses in patients with ANCA-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transpl.* 2001;16:1631–7.
37. Birck R, Schmitt WH, Kaelsch AI, Van der Woude FJ. Serial ANCA determinations for monitoring disease activity in patients with ANCA-associated vasculitis: systematic review. *Am J Kidney Dis.* 2006;47:15–23.
38. Finkelman JD, Merkel PA, Schroeder D, Hoffman GS, Spiera R, St Clair EW, et al. Antiproteinase 3 antineutrophil cytoplasmic antibodies and disease activity in Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med.* 2007;147:611–9.
39. Tomasson G, Grayson P, Mahr A, Lavalley M, Merkel PA. Value of ANCA measurements during remission to predict a relapse of ANCA-associated vasculitis—a meta-analysis. *Rheumatology.* 2012;51:100–9.
40. Holle JU, Hellmich B, Backes M, Gross WL, Csernok E. Variations in performance characteristics of commercial enzyme immunoassay kits for detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies: what is the optimal cut off. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:1773–9.
41. Hellmich B, Csernok E, Fredenhagen G, Gross WL. A novel high sensitivity ELISA for detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies against proteinase-3. *Clin Exp Rheumatol.* 2007;25:S1–5.
42. Damoiseaux J, Vaessen M, Knapen Y, Csernok E, Stegeman CA, Van Paassen P, et al. Evaluation of the FIDIS vasculitis multiplex immunoassay for diagnosis and follow-up of ANCA-associated vasculitis and Goodpasture's disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1109:454–63.
43. Flores-Suárez LF. Do serial ANCA titres predict relapse in ANCA-associated vasculitis. *Presse Med.* 2005;19:1541–4.
44. Slot MC, Tervaert JW, Boomsma M, Stegeman CA. Positive classic antineutrophil cytoplasmic antibody (C-ANCA) titer at switch to azathioprine therapy associated with relapse in proteinase 3-related vasculitis. *Arthritis Rheum.* 2004;51:269–73.
45. Walsh M, Flossmann O, Berden A, Westman K, Höglund P, Stegeman C, et al. Risk factors for relapse of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum.* 2012;64:542–8.
46. Kälisch AI, Csernok E, Münch D, Birck R, Yard BA, Gross W, et al. Use of highly sensitive C-reactive protein for followup of Wegener's granulomatosis. *J Rheumatol.* 2010;37:2319–25.
47. Schmitt WH, Van der Woude FJ. Organ transplantation in the vasculitides. *Curr Opin Rheumatol.* 2003;15:22–8.
48. Geetha D, Seo P. Renal transplantation in the ANCA-associated vasculitides. *Am J Transplant.* 2007;7:2657–62.
49. Geetha D, Haas M, Kraus ES, Rabb H, Seo P. Renal transplant in Wegener's granulomatosis compared to microscopic polyangiitis. *J Rheumatol.* 2010;37:1705–8.
50. Woywodt A, Goldberg C, Kirsch T, De Groot K, Erdbruegger U, Haller H, et al. Circulating endothelial cells in relapse and limited granulomatous disease due to ANCA associated vasculitis. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:164–8.
51. Erdbruegger U, Grossheim M, Hertel B, Wyss K, Kisch T, Woywodt A, et al. Diagnostic role of endothelial microparticles in vasculitis. *Rheumatology.* 2008;47:1820–5.
52. Schneeweis C, Rafalowicz M, Feist E, Buttgerit F, Rudolph PE, Burmester GR, et al. Increased levels of BlyS and VCAM-1 in anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis (AAV). *Clin Exp Rheumatol.* 2010;28(1 Suppl 57):62–6.
53. Bader L, Koldingsnes W, Nossent J. B-lymphocyte activating factor levels are increased in patients with Wegener's granulomatosis and inversely correlated with ANCA titer. *Clin Rheumatol.* 2010;29:1031–5.
54. Nogueira E, Hamour S, Sawant D, Henderson S, Mansfield N, Chavele KM, et al. Serum IL-17 and IL-23 levels and autoantigen-specific TH-17 cells are elevated in patients with ANCA-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:2209–17.
55. Hirayama K, Nagai M, Ebihara I, Shimohata H, Kobayashi M, Koyama A. Serum ratio of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 to creatinine is a useful marker of infectious complications in myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26:868–74.
56. Berden AE, Nolan SL, Morris HL, Bertina RM, Erasmus DD, Hagen EC, et al. Anti-plasminogen antibodies compromise fibrinolysis and associate with renal histology in ANCA-associated vasculitis. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21:2169–79.
57. Zwerina J, Bach C, Martorana D, Jatzwauk M, Hegasy G, Moosig F, et al. Eotaxin-3 in Churg-Strauss syndrome: a clinical and immunogenetic study. *Rheumatology.* 2011;50:1823–7.
58. Monach PA, Tomasson G, Specks U, Stone JH, Cuthbertson J, Krischer J, et al. Circulating markers of vascular injury and angiogenesis in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum.* 2011;63:3988–97.
59. Kümpers P, Hellpap J, David S, Horn R, Leitolf H, Haller H, et al. Circulating angiopoietin-2 is a marker and potential mediator of endothelial cell detachment in ANCA-associated vasculitis with renal involvement. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:1845–50.
60. Monach PA, Kümpers P, Lukasz A, Tomasson G, Specks U, Stone JH, et al. Circulating angiopoietin-2 as a biomarker in ANCA-associated vasculitis. *PLoS One.* 2012;7:e30197.
61. Zazueta-Montiel B, Flores-Suárez LF. Rutas y retos diagnósticos en vasculitis primarias. *Reumatol Clin.* 2011;7:S1–6.