

Vasculitis asociadas a anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos: avances en patogenia y tratamiento

FRANCISCO SILVA, MARCELA CISTERNAS

Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis: advances in pathogenesis and treatment

ANCA (anti-neutrophil cytoplasmic antibodies) associated vasculitis or AAV are a group of diseases with predominant inflammation of small vessels and the presence of detectable ANCA in serum. Due to these common features, it is considered that AAV share pathogenic mechanisms. Consequently, a similar therapeutic approach has been developed. A new nomenclature has been recently proposed, with AAV including “granulomatosis with polyangiitis” (GPA, formerly Wegener’s granulomatosis), “microscopic polyangiitis” (MPA), “eosinophilic granulomatosis with polyangiitis” (EGPA, formerly Churg-Strauss disease) and renal limited vasculitis. Research on AAV has shown significant advances in the last two decades, including advances in the knowledge of pathogenic mechanisms such as the pro-inflammatory role of ANCA, AAV murine models and genetic links. Evidence on previous immunosuppressive therapies has improved significantly and new, promissory drugs have been introduced, Rituximab being the most important. We review the advances of pathogenic mechanisms and treatment for these diseases.

(Rev Med Chile 2013; 141: 765-773).

Key words: Churg-Strauss syndrome; Vasculitis, Wegener granulomatosis.

La frecuente presencia de los anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) y el compromiso inflamatorio de la pared de vasos pequeños en múltiples órganos son las características centrales del grupo de vasculitis asociadas a ANCA (VAA). Recientemente su nomenclatura ha sido actualizada^{1,2}, e incluye a la “granulomatosis con poliangiitis” (GPA, previamente granulomatosis de Wegener), la poliangiitis microscópica (MPA), la “eosinofilia y granulomatosis con poliangiitis” (EGPA, previamente enfermedad de Churg-Strauss) y la vasculitis limitada a riñón. El presentar características serológicas e histológicas comunes, ha llevado a considerar que tienen una patogenia compartida, por lo que se han planteado estrategias terapéuticas similares.

La investigación y el conocimiento sobre estas vasculitis han alcanzado grandes avances en las

últimas dos décadas, debido principalmente al trabajo de grupos colaborativos de los Estados Unidos de Norteamérica (VCRC)³ y europeos (EUVAS y GFEV)^{4,5}. Así, hoy contamos con sólidos estudios prospectivos, como el CYCAZAREM, NORAM, MEPEX, RAVE, RITUXVAS y otros (definición de acrónimos en Tabla 1), que han permitido establecer pautas de consenso internacionales para el manejo de estas patologías.

En este artículo se presenta una actualización de conceptos sobre la patogenia y el tratamiento de las VAA.

Patogenia

La etiología de las vasculitis VAA es desconocida y la investigación sobre su patogenia se centra en el propio papel de los ANCA. La sola

Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Fuente de apoyo financiero:

Concurso INICIO N° 33/2010 VRAID, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Recibido el 7 de diciembre de 2011, aceptado el 2 de septiembre de 2012.

Correspondencia a:

Dr. Francisco Silva
Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Pontificia Universidad Católica de Chile.
Marcoleta 352,
Santiago Centro, Región Metropolitana, Chile.
Fono: (562) 354 3078.
E-mail: fsilval@uc.cl

presencia de estos auto-anticuerpos implica pérdida de tolerancia, déficits de regulación y participación de linfocitos T y B en su producción. Múltiple evidencia *in vitro* e *in vivo* apoya el papel

patogénico de ANCA y del neutrófilo⁶⁻¹¹. En esta sección se presentan algunos aspectos del modelo patogénico, con foco en aquellos con implicancia terapéutica (Figura 1).

Tabla 1. Ensayos multicéntricos incluidos en la presente revisión

Acrónimo	Título corto del ensayo	Año	Ref
Inducción			
CYCLOPS	C yclophosphamide Daily O ral Versus P ulsed	2009	[29]
NORAM	N on-Renal Wegener's granulomatosis treated A lternatively with M ethotrexate	2005	[31]
RAVE	R ituximab for A NCA-Associated V asculitis	2010	[33]
RITUXVAS	RITUX imab vs cyclophosphamide for ANCA-associated renal VAS culitis	2010	[34]
MEPEX	M ethyl prednisolone or P lasma EX change for severe renal vasculitis	2007	[35]
Mantención			
CYCAZAREM	C yclophosphamide vs AZA thioprine for REM ission in generalised vasculitis	2003	[39]
IMPROVE	I nternational M ycophenolate mofetil to R educe O utbreaks of V asculitides	2010	[44]
MAINRITSAN	MAI ntenance RIT uximab after Remission In S ystemic A NCA-associated vasc.	curso	

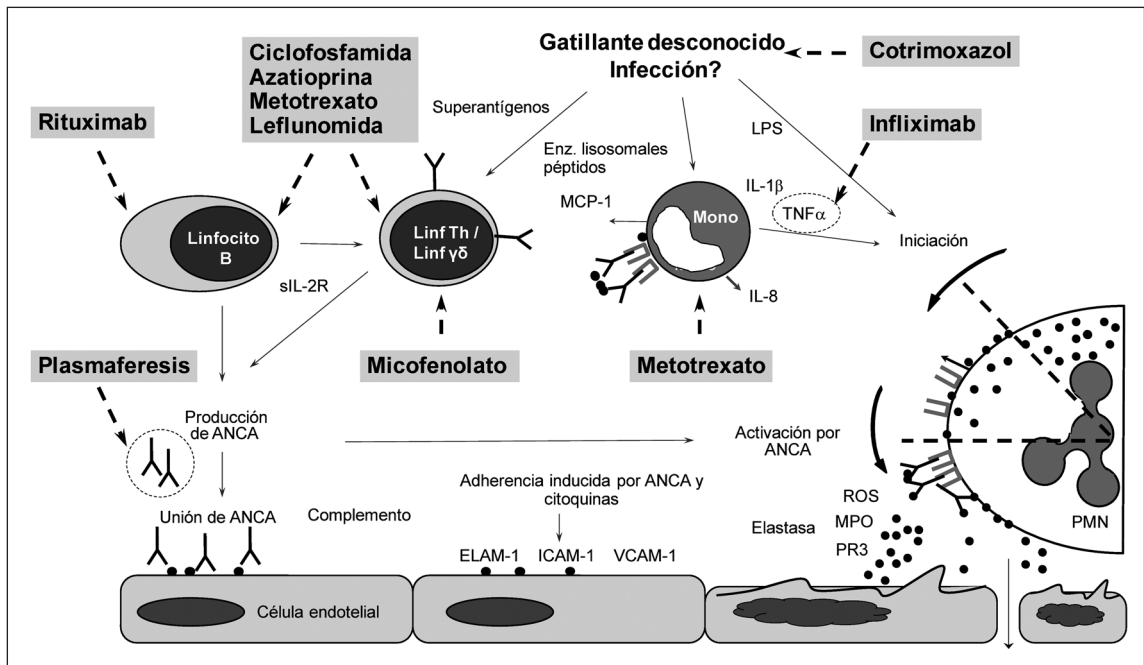


Figura 1. Patogénesis de la Vasculitis asociadas a ANCA y mecanismos frecuentemente aceptados de acción de fármacos. Notas: La mayoría de la evidencia proviene de estudios en Granulomatosis con Poliangiitis (GPA, ex E. de Wegener). Flechas continuas representan estímulo; flechas discontinuas representan inhibición. LPS: lipopolisacrido; IL-1β: interleuquina 1β; MCP-1: proteína quimiotáctica de monocitos 1; TNFα: factor de necrosis tumoral alfa; ANCA: anticuerpos anti citoplasma de neutrófilos; ELAM-1: selectina E; ICAM-1: molécula de adhesión intercelular 1; VCAM-1: molécula de adhesión celular vascular; ROS; agentes oxidantes; MPO: mieloperoxidasa; PR3: proteinasa 3; PMN: polimorfonuclear.

Papel de las infecciones

La infección es una de las condiciones clínicas que determina mayor liberación de citoquinas y activación celular, pudiendo gatillar los primeros eventos de una vasculitis. Los pacientes con vasculitis activa presentan niveles elevados de factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y sobreexpresión de antígenos de ANCA en la superficie de los neutrófilos, permitiendo la interacción con los ANCA circulantes. Esta interacción, incrementaría los efectos pro-inflamatorios del anticuerpo, con perpetuación de la cascada inflamatoria sobre el endotelio. Se ha descrito la presencia de ANCA en pacientes con algunas infecciones y sin vasculitis clínica, que desaparecerían en relación al tratamiento antimicrobiano¹². En GPA, las infecciones pueden inducir recaídas y estas aumentan en pacientes portadores nasales de estafilococo dorado¹³. Lo anterior sugiere que los ANCA podrían ocurrir transitoriamente en el contexto de una infección, y que la persistencia de la respuesta de los ANCA en pacientes con vasculitis pudiera ser el resultado de un mimetismo molecular con antígenos presentes en las infecciones.

Generación de ANCA: modelos animales

Los modelos murinos confirman la generación de ANCA post inmunización con mieloperoxidasa (MPO) con desarrollo de vasculitis^{14,15}. Ratones MPO $^{-/-}$, después de ser inmunizados con MPO, generan anticuerpos de alta avidéz¹⁵. La transferencia de esplenocitos de esos animales a ratones Rag $^{-/-}$, o de IgG conteniendo anticuerpos anti-MPO a ratones normales, desarrolla una glomerulonefritis necrotizante y crescéntica, inflamación granulomatosa y vasculitis necrotizante sistémica. El agregar lipopolisacárido aumenta la injuria renal y los niveles de TNF α ; y la intensidad de la injuria es reducida por anticuerpos anti-TNF α . La presencia de una significativa infiltración de neutrófilos en las lesiones confirma el papel central de esas células en la patogenia de la enfermedad¹⁶.

Generación ANCA: papel de los linfocitos

La importancia de los linfocitos B es obvia si se considera su papel como células productoras de anticuerpos, y por tanto, de ANCA. Evidencia directa de su participación incluye el que las células B son encontradas en los tejidos afectados por la GPA, por ej., en el infiltrado intersticial de glomerulonefritis o en lesiones nasales¹⁷ y que la proporción de células B circulantes esta aumen-

tada en pacientes con GPA activa comparada con enfermedad en remisión o controles sanos¹⁸.

Mecanismos patogénicos de los ANCA

Evidencia de patogenicidad

Recientemente un modelo murino fue generado inyectando células troncales irradiadas en ratón NOD-scid-IL2R $\gamma^{-/-}$. En este ratón quimérico, se comparó el efecto de infundir IgG humana de pacientes PR3-ANCA (+) con la de controles con glomerulonefritis no vasculítica o voluntarios sanos. Los ratones IgG PR3-ANCA (+) desarrollaron hematuria, GNF proliferativa paucimmune y vasculitis hemorrágica en pulmones; ninguno de estos hallazgos aparecieron en los controles. Esta evidencia apoya la patogenicidad de IgG de pacientes GPA PR3-ANCA (+)¹⁹.

Efectos derivados de la interacción ANCA-neutrófilo

Como parte de la respuesta inmune normal, la estimulación del neutrófilo por citoquinas (TNF α , IL1, IL6, IL18) lleva a degranulación y a presentación de componentes en la superficie celular paso necesario para que los ANCA se constituyan en patogénicos, a través de la activación del neutrófilo²⁰. Además se ha reconocido la expresión constitutiva (sin estímulo) de PR3, en una fracción fija de neutrófilos circulantes, lo que está genéticamente determinado, es estable en el tiempo y es una característica no observada en otros componentes de los gránulos azurófilos^{21,22}. Así, la interacción de los ANCA con los neutrófilos puede ocurrir a través de los antígenos presentados en la membrana del neutrófilo (principalmente PR3) mediante la porción Fab², y por la unión del fragmento Fc del ANCA con receptores Fc en la superficie celular. Esta interacción induce la cascada respiratoria²³. A nivel intracelular, los ANCA desencadenan la inducción de múltiples vías²⁴: proteína G y GTPasa (a través de fragmento Fab)²⁵ y tirosina quinasas (a través del receptor Fc)²⁶, que convergen en la GTPasa p21^{RAS}, molécula que participa en muchos procesos celulares del neutrófilo, incluyendo la activación respiratoria. Se ha demostrado cambios en la expresión genética que reflejan la actividad de la enfermedad in vivo²⁷.

Facilitación de la adhesión neutrófilo-endotelio por ANCA

Los neutrófilos expuestos a ANCA se adhieren a células endoteliales activadas con TNF α a través

de moléculas de adhesión, tales como CD11b²⁸. Esta adherencia ha sido estudiada en modelos de flujo capilar, donde se ha demostrado que pre-tratar neutrófilos con ANCA induce estabilidad de la adhesión e incremento en la transmigración²⁹.

El daño endotelial, manifestado como necrosis fibrinoide, permite la exposición de la membrana basal, con adherencia plaquetaria, trombosis y oclusión de vasos. La sobre-expresión de moléculas de adhesión y la liberación de proteínas quimo-atrayentes desde la célula endotelial probablemente promueve la adhesión y transmigración de leucocitos, contribuyendo aún más al daño endotelial.

Manifestación de las vasculitis en órganos

Las VAA presentan a nivel tisular dos tipos de lesiones que condicionan su expresión clínica: inflamación de la pared vascular o granulomas³⁰. La primera se observa en todas las formas, mientras que la segunda es predominante en GPA y EGPA. Si bien ambas lesiones pueden observarse concomitantemente en biopsias, es el compromiso de la pared de vasos el que explica manifestaciones como la hemorragia alveolar y la glomerulonefritis, mientras que los granulomas predominan en los nódulos pulmonares, estenosis subglótica y tumor retro-orbitario. El modelo actual de patogenia basado en ANCA explica grandemente el compromiso vascular pero no el desarrollo de granulomas. Mayor estudio de las múltiples tipos celulares que conforman el granuloma y de su interacción son necesarios³⁰.

Tratamiento

Estadios de la enfermedad

Para sistematizar el tratamiento, las manifestaciones de las VAA se han clasificado, de acuerdo al grado de compromiso clínico, en localizadas, con síntomas restringidos a la vía aérea superior y/o inferior, y sistémicas, precoces o tardías. La forma sistémica precoz está definida como una forma de vasculitis limitada a un órgano, con síntomas constitucionales, creatinina menor de 1,7 mg/dl si hay compromiso renal, paO₂ mayor de 70%, o capacidad de difusión de monóxido mayor de 70%, en caso de compromiso pulmonar. La forma sistémica tardía está definida por un compromiso de órganos vitales grave³¹.

Tratamientos para inducción de remisión

Ciclofosfamida. Es reconocido que la ciclofosfamida, junto con los corticoides, es el principal pilar en la inducción de remisión de las vasculitis. La introducción en la década 1970-79 de esta terapia combinada, mejoró sustancialmente el pronóstico de los pacientes. Sin embargo, su uso aún plantea problemas: alta tasa de efectos adversos, falta de respuesta en 10% de los pacientes y tasa de recaídas de hasta 50%³².

El estudio CYCLOPS (2009)³³ incluyó 149 pacientes, de 15 países, y comparó la eficacia de ciclofosfamida oral (2 mg/kg) diaria vs endovenosa (15 mg/kg) administrados cada dos semanas los primeros tres pulsos, y luego cada tres semanas hasta completar 10 pulsos. Ambos grupos recibieron corticoides desde el comienzo y azatioprina una vez obtenida la remisión. No hubo diferencias en la tasa de remisión o recaídas, ni en la duración de tratamiento para alcanzar remisión. Las dosis acumuladas de ciclofosfamida fueron menores en la forma endovenosa (8,2 vs 15,9 g; p < 0,001) así como las tasas de leucopenia.

Desde los primeros reportes sobre el uso de ciclofosfamida por Hoffman y cols., se reconoció que su uso prolongado se asocia a riesgo aumentado de toxicidad, principalmente infecciones, cistitis hemorrágica y cáncer de vejiga³⁴. Recientemente, un estudio de cohorte de 805 pacientes con AAV, demostró que la dosis acumulada de ciclofosfamida era un predictor independiente de cáncer del tracto urinario y/o cistitis hemorrágica³⁵. La toxicidad de la ciclofosfamida ha motivado la búsqueda de drogas efectivas que, teniendo mecanismos de acción más específicos, permitan reducir el perfil de riesgo³⁵.

Metotrexato. Esta droga ha sido principalmente estudiada para tratar formas menos graves de vasculitis (localizadas y sistémicas precoces). Las primeras publicaciones que demostraron su beneficio en inducción de remisión de GPA, datan de hace 40 años. Luego el primer estudio abierto fue realizado por el NIH en 1992³⁶ con 29 pacientes utilizando 20-25 mg semanal de metotrexato más corticoides. Alcanzada la remisión por un año, se disminuyó la dosis en 2,5 mg mensual. Al momento del ingreso, 12/29 pacientes tenían un sedimento de orina activo, y 6 de ellos creatinina entre 1,5 y 2,8 mg/dl, lográndose remisión completa en 22/29 pacientes (69%). Nueve pacientes

experimentaron efectos adversos: neumonitis por metotrexato en 2 y neumonía por *Pneumocystis jiroveci* en 3.

Otros estudios abiertos con metotrexato fueron publicados posteriormente, siempre en pacientes con vasculitis localizada y/o en forma sistémica precoz. Las tasas de remisión completas variaron entre 71 y 90%, sin embargo, se incluyeron pacientes con debut de la enfermedad, recaídas o fallas a tratamiento convencional, por lo que no son comparables.

El primer estudio aleatorizado con metotrexato es el NORAM (2005), que demostró que este medicamento no era inferior a la ciclofosfamida en la inducción de remisión de pacientes con formas localizadas o sistémicas precoces³⁷. Cincuenta pacientes con VAA recién diagnosticadas, creatinina menor de 1,8 mg/dl y sin compromiso crítico de órganos fueron asignados a recibir metotrexato oral 20-25 mg semanal vs 50 pacientes que recibieron ciclofosfamida oral, 2 mg/kg/día, por 12 meses. Las tasas de remisión y efectos adversos fueron similares (89,9% vs 93,5%).

Rituximab. El primer estudio retrospectivo con un significativo número de casos de vasculitis tratados con rituximab fue publicado el año 2009³⁸. Incluía 65 pacientes, con esquema de 4 infusiones de 375 mg/m² semanal o dos infusiones de 1 g cada una, separadas por dos semanas. Se observó remisión total en 75% y parcial en 23%. Más de la mitad de los pacientes presentó recaída posterior y posterior a retratamiento con rituximab, hubo remisión completa en más de 80%.

Recientemente dos estudios aleatorizados con rituximab para inducción de remisión, fueron publicados en forma simultánea. El primero de ellos, RAVE (2010)³⁹, comparó ciclofosfamida oral (2 mg/kg/día) versus 4 pulsos de rituximab semanales de 375 mg/m², en 197 pacientes con VAA con creatinina menor a 4 mg/dl (80% GPA y 20% MPA), debutando con la enfermedad o en recaída. Todos recibieron 3 g de metilprednisolona y luego prednisona con disminución gradual en 6 meses. Conseguida la remisión, el grupo tratado con ciclofosfamida recibió azatioprina, mientras que el grupo tratado con rituximab recibió placebo. No se observó diferencias significativas en conseguir remisión (índice de actividad BVAS-WG=0 y sin corticoides a 6 meses), tasas de recaídas o efectos adversos.

El segundo de los estudios, RITUXVAS (2010)⁴⁰ comparó la eficacia de 4 pulsos semanales de rituximab de 375 mg/m², asociado a 2 pulsos de ciclofosfamida vs pulsos de ciclofosfamida por 3 a 6 meses. Se estudiaron 44 pacientes debutando con vasculitis, todos recibieron corticoides hasta por 12 meses. Tampoco hubo diferencias en la remisión, muertes, recuperación de función renal, efectos adversos serios o dosis acumulada de corticoides. Es de notar que la mortalidad observada en el grupo RITUXVAS fue de 18%, vs de 1,5% en el RAVE, lo que podría estar dado por el hecho de combinar ciclofosfamida con rituximab o bien porque los pacientes con hemorragia alveolar o falla renal con creatinina mayor de 4 fueron excluidos en el RAVE e incluidos en el RITUXVAS.

A pesar que en forma global no hay diferencia significativa entre ciclofosfamida y rituximab para inducir remisión, en el RAVE se observó que en pacientes enrolados por recaída de la enfermedad, rituximab fue más eficaz en conseguir remisión que la ciclofosfamida.

Plasmaféresis. Su uso en inducción de remisión de vasculitis es controversial aún. El estudio MEPEX (2007)⁴¹, comparó el uso de siete sesiones de plasmaféresis vs 3 pulsos de metilprednisolona agregados a tratamiento convencional (ciclofosfamida oral y prednisolona oral), en pacientes con falla renal y creatinina mayor a 5,8 mg/dl. El estudio demostró una mejor preservación de la función renal en los pacientes con plasmaféresis a 3 meses y reducción de diálisis a 1 año. Sin embargo, la sobrevida a 12 meses fue similar comparando plasmaféresis vs metilprednisolona (76% vs 73%).

Drogas anti-TNF. A pesar que evidencia experimental sustentaba su uso, el estudio WGET con etanercept⁴² no demostró eficacia. Este estudio evaluó aleatoriamente etanercept versus placebo agregado a terapia estándar en 180 pacientes con GPA. Además, el grupo tratado con etanercept tuvo una significativa mayor incidencia de tumores sólidos, desalentando el uso de esta familia de drogas⁴³. Sin embargo, posteriormente, un estudio prospectivo no controlado, con infliximab demostró acortamiento del período necesario para conseguir remisión, con reducción de la dosis

acumulada de corticoides⁴⁴. Varios reportes de casos, confirman esta observación, sin evidenciar un incremento en la tasa de cánceres. Estas diferencias entre dos anti-TNF pueden deberse a la combinación utilizada etanercept-ciclofosfamida, o a diferencias intrínsecas entre ambas las drogas (receptor soluble versus anticuerpos).

Mantención de remisión

Para evitar los efectos adversos del uso prolongado de ciclofosfamida, se prefieren otras drogas para la mantención de remisión. Las alternativas incluyen: azatioprina, metotrexato, leflunomida y micofenolato. No hay estudios comparativos, de cuatro ramas, para determinar la eficacia comparativa.

Azatioprina. En el CYCAZAREM (2003)⁴⁵, una vez obtenida la remisión, los pacientes fueron asignados a continuar con ciclofosfamida (n = 73) o azatioprina (n = 71), sin diferencias significativas en las tasas de recaída.

Metotrexato. Los primeros estudios abiertos con esta droga demostraron tasas de recaídas de 10%, con muy baja frecuencia de efectos adversos, significativamente menores que con cotrimoxazol (tasa de recaída mayor a 50%)⁴⁶.

Otros estudios mostraron tasas de recaída con metotrexato similares a la ciclofosfamida⁴⁷. El estudio NORAM demostró tasas de recaída a 18 meses mayores para el grupo metotrexato que el grupo ciclofosfamida (70% vs 47%).

Un estudio abierto aleatorizado del grupo GFEV (2008)⁴⁸, comparó azatioprina (2 mg/kg/día) con metotrexato (25 mg semanal) en mantención de remisión, demostrando iguales tasas de recaídas (33%) y de efectos adversos.

Leflunomida. Un estudio aleatorizado multicéntrico (2007)⁴⁹, comparó leflunomida (30 mg/día) con metotrexato (20 mg semanal) en mantención de remisión. Las tasas de recaídas "mayores" fueron significativamente más frecuentes en el grupo metotrexato, lo que obligó a suspender el estudio, pero la tasa de efectos adversos fue mucho mayor con leflunomida.

Dado que en artritis reumatoide la combinación de metotrexato con leflunomida es efectiva, un estudio alemán evaluó 51 pacientes de una cohorte de 864 con GPA, que recibieron terapia combinada con leflunomida y metotrexato. En 43/51 pacientes la combinación indujo remisión,

con 51 eventos adversos en 36 pacientes, principalmente infecciones menores.

Micofenolato mofetil. El estudio IMPROVE⁵⁰ comparó micofenolato con azatioprina, para mantención de remisión. Ochenta pacientes recibieron azatioprina (2 mg/kg/día) y 76 Micofenolato (2 g/día), y fueron seguidos por 39 meses, analizando los resultados con intención de tratar. La tasa de recaída fue significativamente mayor con micofenolato, y la tasa de efectos adversos fue similar.

Rituximab. Los estudios con este agente para mantención de remisión están en curso. Un estudio de la Clínica Mayo, de 108 pacientes tratados con al menos un pulso de rituximab para inducción de remisión en vasculitis, fueron seguidos por 10 años⁵¹. Cincuenta y tres requirieron subsecuentes pulsos, recibiendo una mediana de 4 pulsos. Todas las recaídas se observaron una vez reconstituidos los linfocitos, y precedidas por la elevación de título del ANCA. Treinta y cuatro por ciento de los pulsos fueron administrados por recaídas y 66% en forma "preventiva", ante la reconstitución de los linfocitos B CD20 o por la elevación de ANCA.

Hay también un estudio prospectivo en curso denominado MAINRITSAN, para comparar rituximab (500 mg cada 6 meses) vs azatioprina, para la mantención de remisión.

Conclusión

Múltiple evidencia apoya el papel de los ANCA en la patogenia de las VAA, destacando el desarrollo de modelos murinos de la enfermedad basados en los antígenos más relevantes, PR3 y MPO. En VAA de forma limitada o sistémica precoz, el metotrexato es una buena opción para conseguir remisión; en casos con compromiso pulmonar agregado o alto nivel de actividad, otras alternativas deben ser consideradas. En VAA con compromiso sistémico grave, la ciclofosfamida sigue siendo la terapia estándar para la inducción de remisión. Sin embargo, el nivel de toxicidad asociada a su uso a largo plazo, ha motivado la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas. Rituximab es una nueva opción terapéutica con eficacia similar demostrada, cuya toxicidad a largo plazo debe evaluarse en seguimientos a largo plazo.

Referencias

- Falk RJ, Jennette JC. ANCA disease: where is this field heading? *J Am Soc Nephrol* 2010; 21 (5): 745-52.
- Jennette JC. Nomenclature and classification of vasculitis: lessons learned from granulomatosis with polyangiitis (Wegener's granulomatosis). *Clin Exp Immunol* 2011; 164 Suppl 1: 7-10.
- Vasculitis Clinical Research Consortium. Disponible en: <http://rare diseasesnetwork.epi.usf.edu/vcrc/index.htm>.
- The European Vasculitis Study Group. Disponible en: <http://www.vasculitis.org/>.
- French Vasculitis Study Group. Disponible en: <http://www.vascularites.org/index.php>
- Lynch JP, 3rd, E. White H, Tazelaar and C.A. Langford, Wegener's granulomatosis: evolving concepts in treatment. *Semin Respir Crit Care Med* 2004; 25 (5): 491-521.
- Kallenberg CG. Pathogenesis of PR3-ANCA associated vasculitis. *J Autoimmun* 2008; 30 (1-2): 29-36.
- Savage CO, Harper L, Holland M. New findings in pathogenesis of antineutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14 (1): 15-22.
- Finkielman 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 (9): 611-9.
- Sebastian JK, Mahr AD, Ahmed SS, Stone JH, Romay-Penabad Z, Davis JC, et al. Antiendothelial cell antibodies in patients with Wegener's granulomatosis: prevalence and correlation with disease activity and manifestations. *J Rheumatol* 2007; 34 (5): 1027-31.
- Kallenberg CG. Antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated small-vessel vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 2007; 19 (1): 17-24.
- Choi HK, Lamprecht P, Niles JL, Gross WL, Merkel PA. Subacute bacterial endocarditis with positive cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-proteinase 3 antibodies. *Arthritis Rheum* 2000; 43 (1): 226-31.
- Stegeman CA, Tervaert JW, Sluiter WJ, Manson WL, de Jong PE, Kallenberg CG. Association of chronic nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and higher relapse rates in Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med* 1994; 120 (1): 12-7.
- Little MA, Smyth CL, Yadav R, Ambrose L, Cook HT, Nourshargh S, et al. Antineutrophil cytoplasm antibodies directed against myeloperoxidase augment leukocyte-microvascular interactions in vivo. *Blood* 2005; 106 (6): 2050-8.
- Xiao H, Heeringa P, Hu P, Liu Z, Zhao M, Aratani Y, et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies specific for myeloperoxidase cause glomerulonephritis and vasculitis in mice. *J Clin Invest* 2002; 110 (7): 955-63.
- Xiao H, Heeringa P, Liu Z, Huugen D, Hu P, Maeda N, et al. The role of neutrophils in the induction of glomerulonephritis by anti-myeloperoxidase antibodies. *Am J Pathol* 2005; 167 (1): 39-45.
- Voswinkel J, Mueller A, Kraemer JA, Lamprecht P, Herlyn K, Holl-Ulrich K, et al. B lymphocyte maturation in Wegener's granulomatosis: a comparative analysis of VH genes from endonasal lesions. *Ann Rheum Dis* 2006; 65 (7): 859-64.
- Popa ER, Stegeman CA, Bos NA, Kallenberg CG, Tervaert JW. Differential B- and T-cell activation in Wegener's granulomatosis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103 (5 Pt 1): 885-94.
- Little MA, Al-Ani B, Ren S, Al-Nuaimi H, Leite M Jr, Alpers CE, et al. Anti-proteinase 3 anti-neutrophil cytoplasm autoantibodies recapitulate systemic vasculitis in mice with a humanized immune system. *PLoS One*. 7 (1): e28626.
- Flint J, Morgan MD, Savage CO. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitis. *Rheum Dis Clin North Am* 2010; 36 (3): 463-77.
- Halbwachs-Mecarelli L, Bessou G, Lesavre P, López S, Witko-Sarsat V. Bimodal distribution of proteinase 3 (PR3) surface expression reflects a constitutive heterogeneity in the polymorphonuclear neutrophil pool. *FEBS Lett* 1995; 374 (1): 29-33.
- Schreiber A, Busjahn A, Luft FC, Kettritz R. Membrane expression of proteinase 3 is genetically determined. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (1): 68-75.
- Jennette JC, Xiao H, Falk RJ. Pathogenesis of vascular inflammation by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (5): 1235-42.
- Williams JM, Savage CO. Characterization of the regulation and functional consequences of p21ras activation in neutrophils by antineutrophil cytoplasm antibodies. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (1): 90-6.
- Kettritz R, Choi M, Butt W, Rane M, Rolle S, Luft FC, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase controls antineutrophil cytoplasmic antibodies-induced respiratory burst in human neutrophils. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13 (7): 1740-9.
- Hewins P, Williams JM, Wakelam MJ, Savage CO. Activation of Syk in neutrophils by antineutrophil cytoplasm antibodies occurs via Fc gamma receptors and CD18. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 (3): 796-808.
- Yang JJ, Preston GA, Alcorta DA, Waga I, Munger WE,

- Hogan SL, et al. Expression profile of leukocyte genes activated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA). *Kidney Int* 2002; 62 (5): 1638-49.
28. Calderwood JW, Williams JM, Morgan MD, Nash GB, Savage CO. ANCA induces beta2 integrin and CXC chemokine-dependent neutrophil-endothelial cell interactions that mimic those of highly cytokine-activated endothelium. *J Leukoc Biol* 2005; 77 (1): 33-43.
 29. Radford DJ, Luu NT, Hewins P, Nash GB, Savage CO. Antineutrophil cytoplasmic antibodies stabilize adhesion and promote migration of flowing neutrophils on endothelial cells. *Arthritis Rheum* 2001; 44 (12): 2851-61.
 30. Bacon PA. The spectrum of Wegener's granulomatosis and disease relapse. *N Engl J Med* 2005; 352 (4): 330-2.
 31. Jayne DR, Rasmussen N. Treatment of antineutrophil cytoplasm autoantibody-associated systemic vasculitis: initiatives of the European Community Systemic Vasculitis Clinical Trials Study Group. *Mayo Clin Proc* 1997; 72 (8): 737-47.
 32. Nachman PH, Hogan SL, Jennette JC, Falk RJ. Treatment response and relapse in antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated microscopic polyangiitis and glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7 (1): 33-9.
 33. de Groot K, Harper L, Jayne DR, Flores Suárez LF, Gregorini G, Gross WL, et al. Pulse versus daily oral cyclophosphamide for induction of remission in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2009; 150 (10): 670-80.
 34. Hoffman GS, Kerr GS, Leavitt RY, Hallahan CW, Lebovics RS, Travis WD, et al. Wegener granulomatosis: an analysis of 158 patients. *Ann Intern Med* 1992; 116 (6): 488-98.
 35. Le Guenno G, Mahr A, Pagnoux C, Dhote R, Guillevin L. Incidence and predictors of urotoxic adverse events in cyclophosphamide-treated patients with systemic necrotizing vasculitides. *Arthritis Rheum* 2005; 48 (5): 1435-45.
 36. Hoffman GS, Leavitt RY, Kerr GS, Fauci AS. The treatment of Wegener's granulomatosis with glucocorticoids and methotrexate. *Arthritis Rheum* 1992; 35 (11): 1322-9.
 37. De Groot K, Rasmussen N, Bacon PA, Tervaert JW, Feighery C, Gregorini G, et al. Randomized trial of cyclophosphamide versus methotrexate for induction of remission in early systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2005; 52 (8): 2461-9.
 38. Jones RB, Ferraro AJ, Chaudhry AN, Brogan P, Salama AD, Smith KG, et al. A multicenter survey of rituximab therapy for refractory antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2009; 60 (7): 2156-68.
 39. Stone JH, Merkel PA, Spiera R, Seo P, Langford CA, Hoffman GS, et al. Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2010; 363 (3): 221-32.
 40. Jones RB, Tervaert JW, Hauser T, Luqmani R, Morgan MD, Peh CA, et al. Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis. *N Engl J Med* 2010; 363 (3): 211-20.
 41. Jayne DR, Gaskin G, Rasmussen N, Abramowicz D, Ferrario F, Guillevin L, et al. Randomized trial of plasma exchange or high-dosage methylprednisolone as adjunctive therapy for severe renal vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18 (7): 2180-8.
 42. Etanercept plus standard therapy for Wegener's granulomatosis. *N Engl J Med* 2005; 352 (4): 351-61.
 43. Stone JH, Holbrook JT, Marriott MA, Tibbs AK, Sejismundo LP, Min YI, et al. Solid malignancies among patients in the Wegener's Granulomatosis Etanercept Trial. *Arthritis Rheum* 2006; 54 (5): 1608-18.
 44. Booth A, Harper L, Hammad T, Bacon P, Griffith M, Levy J, et al. Prospective study of TNFalpha blockade with infliximab in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 (3): 717-21.
 45. Jayne D, Rasmussen N, Andrassy K, Bacon P, Tervaert JW, Dadoniene J, et al. A randomized trial of maintenance therapy for vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *N Engl J Med* 2003; 349 (1): 36-44.
 46. de Groot K, Reinhold-Keller E, Tatsis E, Paulsen J, Heller M, Nolle B, et al. Therapy for the maintenance of remission in sixty-five patients with generalized Wegener's granulomatosis. Methotrexate versus trimethoprim/sulfamethoxazole. *Arthritis Rheum* 1996; 39 (12): 2052-61.
 47. Langford CA, Talar-Williams C, Barron KS, Sneller MC. A staged approach to the treatment of Wegener's granulomatosis: induction of remission with glucocorticoids and daily cyclophosphamide switching to methotrexate for remission maintenance. *Arthritis Rheum* 1999; 42 (12): 2666-73.
 48. Pagnoux C, Mahr A, Hamidou MA, Boffa JJ, Ruivard M, Ducroix JP, et al. Azathioprine or methotrexate maintenance for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2008; 359 (26): 2790-803.
 49. Metzler C, Miehle N, Manger K, Iking-Konert C, de Groot K, Hellmich B, et al. Elevated relapse rate under oral methotrexate versus leflunomide for maintenance of remission in Wegener's granulomatosis. *Rheumatology* 2009; 48 (12): 1435-45.

- logy (Oxford) 2007; 46 (7): 1087-91.
50. Hiemstra TF, Walsh M, Mahr A, Savage CO, de Groot K, Harper L, et al. Mycophenolate mofetil vs azathioprine for remission maintenance in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: a randomized controlled trial. *Jama* 2003; 304 (21): 2381-8.
51. Cartin-Ceba R, Golbin J, Keogh K, Peikert T, Fervenza F, Ytterberg S, et al. Rituximab for Remission Induction and Maintenance in ANCA-Associated Vasculitis: A Single-Center Ten Year Experience in 108 patients *Arthritis & Rheumatism* 2010; 62 (Supplement 10): S 283.