

Capítulo 4

Anticorpos contra o citoplasma de neutrófilos*

Antineutrophil cytoplasmic antibodies

ARI STEEL RADU¹, MAURICIO LEVI¹

Resumo

A descoberta do marcador sorológico denominado anticorpo anticitoplasma de neutrófilos revolucionou o diagnóstico e o seguimento das vasculites pulmonares, especialmente da granulomatose de Wegener. Seu padrão pode ser citoplasmático e perinuclear. Sua titulação auxilia no diagnóstico e no seguimento das vasculites pulmonares.

Descritores: Vasculite/diagnóstico; Pneumopatias/diagnóstico; Granulomatose de Wegener/diagnóstico; Anticorpos anticitoplasma de neutrófilos/uso diagnóstico; Anticorpos anticitoplasma de neutrófilos/sangue; Marcadores biológicos; ELISA/métodos; Neutrófilos/imunologia

Abstract

The discovery of the serological markers known as antineutrophil cytoplasmic antibodies revolutionized the diagnosis and follow-up treatment of the various forms of pulmonary vasculitis, especially that of Wegener's granulomatosis. The antineutrophil cytoplasmic antibodies pattern can be cytoplasmic or perinuclear. Determination of antineutrophil cytoplasmic antibodies titers aids the diagnosis and follow-up treatment of pulmonary vasculitis.

Keywords: Vasculitis/diagnosis; Lung diseases/diagnosis; Wegener's granulomatosis/diagnosis; Antibodies, antineutrophil cytoplasmic/diagnostic use; Antibodies, antineutrophil cytoplasmic/blood; Biological markers; Enzyme-linked immunosorbent assay/methods; Neutrophils/immunology

INTRODUÇÃO

As vasculites sistêmicas são um grupo de doenças raras. Seu diagnóstico representa um desafio clínico de grande importância, pois permite um tratamento precoce e direcionado para estas situações potencialmente graves. Da mesma forma, o acompanhamento evolutivo destas patologias depende de dados clínicos e/ou laboratoriais que permitam diferenciar atividade de remissão. No entanto, o quadro clínico inicial das vasculites é comumente inespecífico, exigindo a espera de uma confirmação histológica para o seu diagnóstico. Além disso, as recidivas da doença costumam apresentar-se de forma também incomum tanto do ponto de vista clínico quanto laboratorial. Assim sendo, a descoberta de anticorpos contra o citoplasma de neutrófilos (ANCA),^(1,2) um marcador sorológico possivelmente específico para as vasculites sistêmicas, produziu grande impacto na literatura médica internacional. Desde então, vários consensos internacionais foram realizados, com o objetivo de padronizar técnicas e difundir conhecimentos atualizados sobre o papel desses anticorpos nas vasculites e outras doenças.

HISTÓRICO

A primeira descrição deste marcador surgiu no início da década de 1980, com o relato da presença de IgG contra componentes do citoplasma de polimorfonucleares neutrófilos no soro de 8 pacientes.⁽¹⁾ Estes pacientes apresentavam quadro clínico de glomerulonefrite necrotizante segmentar pauciimune associada a manifestações sistêmicas. Neste sentido, um estudo multicêntrico realizado na Holanda e Dinamarca⁽²⁾ demonstrou o valor da detecção de ANCA por imunofluorescência, no diagnóstico e acompanhamento de portadores de granulomatose de Wegener (GW). Esta descoberta marcou o início do estudo dos ANCA nas vasculites e certamente representou um dos maiores avanços no diagnóstico e estudo destas patologias. Os autores detectaram ANCA em 25/27 portadores de GW ativa contra 4/32 com a doença em remissão. Não foi observado qualquer teste falso-positivo no grupo controle, que incluía diversos pacientes com vasculites variadas, glomerulonefrites, doenças do conectivo e doenças granulomatosas. O teste foi considerado altamente específico para GW e parecia ter relação com a atividade da doença.

* Trabalho realizado na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP - São Paulo (SP) Brasil.

1. Doutor em Reumatologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP - São Paulo (SP) Brasil.

PADRÕES DE ANCA

Estes anticorpos foram inicialmente detectados por imunofluorescência (IF). A detecção de ANCA foi considerada específica para a GW ou a poliarterite microscópica.⁽³⁾ No entanto, posteriormente, ANCA foi demonstrado em associação com número crescente de situações clínicas, tais como poliarterite nodosa,⁽⁴⁾ arterite de células gigantes,⁽⁵⁾ vasculite de Churg-Strauss⁽⁶⁾, certas formas de glomerulonefrite necrotizante rapidamente progressiva,⁽⁷⁾ bem como doenças fora do espectro clínico das vasculites.⁽⁸⁻¹⁰⁾ Essas divergências foram parcialmente esclarecidas com a constatação da existência de pelo menos dois padrões de IF distintos: o padrão clássico (cANCA) (Figura 1) e o padrão perinuclear (pANCA). Enquanto o cANCA parece ser específico para GW, o pANCA pode ser observado em grande variedade de situações clínicas. Nos portadores de vasculites observou-se que pANCA ocorre mais freqüentemente em pacientes com doença limitada aos rins ou nos casos de poliarterite microscópica. Apesar destas associações clínicas divergentes, os dois padrões de IF são causados por uma resposta auto-imune igualmente dirigida contra enzimas de grânulos azurófilos de neutrófilos humanos.

O neutrófilo humano possui dois tipos de grânulos citoplasmáticos: os azurófilos ou primários e os grânulos específicos ou secundários que podem ser mobilizados separadamente. Os grânulos azurófilos, cujos constituintes são alvo de reconhecimento pelos ANCA, são extremamente bem equipados para matar e digerir microorganismos. Entre os tipos de enzimas que são encontradas em seu interior temos: hidrolases ácidas, enzimas microbicidas, mieloperoxidase e lisosima, proteinases neutras (elastase, catepsina G e proteinase 3 - PR3).

Estas enzimas podem ser liberadas para o meio extracelular, onde mantêm sua atividade proteolítica ao redor do processo inflamatório. Dentre elas, as proteinases neutras são consideradas as mais ativas, tendo importante ação, tanto na proteólise do colágeno, como na estimulação *in vitro* de linfócitos B para a produção de anticorpos.⁽¹²⁾

O padrão cANCA decorre de anticorpos contra a PR3.⁽¹³⁾ Esta enzima tem alta capacidade de digerir a elastina e produzir enfisema em hamsters.⁽¹⁴⁾ Na verdade, esta proteína de 229 aminoácidos tem estrutura muito semelhante à da elastase e possui também atividade antimicrobiana. Sua atividade

enzimática pode produzir lesão tecidual e degradação de bactérias fagocitadas. Sua localização é intracelular no polimorfonuclear neutrófilo em repouso; no entanto, pode ser liberada após estímulo, permitindo a formação de imunocomplexos com o anticorpo específico. Inicialmente, estudos ultra-estruturais observaram a presença desse antígeno apenas no interior dos grânulos azurófilos, porém outros autores conseguiram demonstrá-lo expresso na membrana celular.⁽¹⁵⁾ O epitopo antigênico encontra-se na superfície da molécula e depende de sua estrutura terciária intacta para o reconhecimento pelo anticorpo.

O padrão pANCA, por sua vez, representa uma maior variedade de especificidades antigênicas como a mieloperoxidase (MPO), elastase, lactoferrina e catepsina G.^(16,17) No entanto, na população com vasculite de pequenos vasos ou com glomerulonefrite, a MPO parece ser o principal alvo dos anticorpos.⁽¹⁸⁾ O padrão perinuclear é, na realidade, conseqüência de um artefato técnico causado pela fixação dos polimorfonucleares neutrófilos com o etanol, levando à redistribuição das enzimas citoplasmáticas solúveis e nucleofílicas. Se o polimorfonuclear neutrófilo for fixado com formalina ao invés de etanol, as proteínas permanecem no citoplasma da célula produzindo IF indireta com padrão clássico. A MPO também tem uma importante atividade bactericida catalisando a formação intracelular de produtos tóxicos como HOCl, H₂O₂ e radicais do oxigênio. Além disso, produtos derivados da MPO podem pavimentar o caminho da proteólise induzida pelas proteases serínicas através da sua capacidade de inativar a alfa1-antitripsina, que é uma importante inibidora de proteases.⁽¹⁹⁾

Mais recentemente, foi descrito o padrão atípico de ANCA que representa reação à lactoferrina,

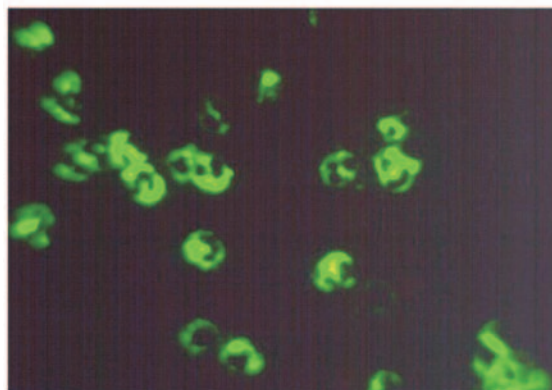


Figura 1 - Anticorpo anticitoplasma de neutrófilo clássico (ANCAc) visualizado através de imunofluorescência.

catepsina G e outros antígenos diferentes da PR3. Este padrão tem importância clínica já que a confusão deste padrão com o padrão cANCA é uma das principais causas de testes falso-positivos. Neste sentido, várias doenças fora do espectro das vasculites podem apresentar ANCA positivo. A artrite reumatóide, a síndrome de Felty, a colangite esclerosante, a hepatite crônica ativa desenvolvem ANCA, geralmente em baixos títulos e IF atípica. Nestes casos o padrão de IF é consequência de múltiplas reatividades a vários antígenos dos grânulos neutrofilicos, bem como a antígenos nucleares e citosólicos.⁽²⁰⁾ Da mesma forma, pacientes com infecções crônicas ou menor defesa contra invasão bacteriana, como portadores de fibrose cística, RCUI e bronquiectasias, produzem ANCA dirigido contra a BPI (*bacterial permeability-increasing protein*), que também é produto de grânulos azurófilos.

TÉCNICAS DE DETECÇÃO

A IF indireta é o teste mais utilizado para detecção de ANCA. Embora seja um teste rápido e barato sua interpretação traz algumas dificuldades. Padrões atípicos são observados com certa frequência e precisam ser diferenciados de ANCA verdadeiro.⁽²¹⁾ Sua detecção é uma das principais causas de ANCA falso-positivos. A presença concomitante de fator antinúcleo dificulta a interpretação dos achados de IF indireta. Pacientes com fator antinúcleo positivo devem ser avaliados com cautela na interpretação dos resultados de ANCA por IF indireta.⁽²²⁾ O método é semiquantitativo, o que dificulta a avaliação de variações no curso da doença e carece de sensibilidade para baixos títulos de anticorpos.⁽²³⁾

Por esses motivos vários ensaios de fase sólida foram desenvolvidos para a detecção de ANCA.⁽²³⁾ A sensibilidade e especificidade do ensaio dependem da pureza do extrato utilizado. Inicialmente foram descritos testes de ELISA utilizando extrato total de polimorfonucleares neutrófilos como antígeno. Estes testes tinham baixa especificidade e foram abandonados. Da mesma forma, a utilização de extratos um pouco mais puros, como grânulos primários isolados de polimorfonucleares neutrófilos, permitiu pouca melhora na especificidade.⁽²³⁾

Os principais epitopos da PR3 e da MPO são conformacionais, motivo pelo qual apenas recentemente investigadores conseguiram produzir PR3 e MPO recombinante com atividade enzimática e epitopos imunorreativos ideais para a ligação com

os ANCA. Testes de ELISA utilizando anticorpos monoclonais contra a PR3 ou a mieloperoxidase passaram a ser amplamente utilizados. Atualmente existem diferentes testes de ELISA com diferentes substratos sendo utilizados nos diversos laboratórios. Isto levou à necessidade de se elaborar um consenso internacional para padronizar as técnicas de detecção de ANCA.⁽²⁴⁾

Hoje está claro que, à semelhança do que é observado com os fatores antinúcleo nas doenças auto-imunes, existe toda uma classe de auto-anticorpos que reagem com enzimas mielóides nas vasculites sistêmicas e glomerulonefrites. Estes anticorpos expressam-se por diferentes padrões de fluorescência quando se utiliza o polimorfonuclear neutrófilo como substrato. Apesar de uma sensibilidade relativamente baixa para a GW e poliarterite microscópica, particularmente nas formas localizadas ou em remissão,⁽²⁵⁾ o teste de IF continua sendo o padrão ouro da investigação inicial destes anticorpos. Na experiência dos autores, a variedade de anticorpos envolvidos nesta resposta auto-imune exige que sua pesquisa seja iniciada por um teste abrangente, como a IF indireta. A especificidade antigênica deve, no entanto, ser confirmada por testes de ELISA. Os testes de ELISA são particularmente úteis nos casos de ANCA em baixos títulos, na diferenciação de fluorescência atípica de ANCA verdadeiro, na presença concomitante de anticorpos anti-nucleares⁽²⁶⁾ e na detecção de aMPO em casos de glomerulonefrites ou síndrome pulmão-rim. Vale ressaltar que muito embora o padrão cANCA seja altamente específico para a presença de anti-PR3, existem algumas exceções como alguns soros anti-MPO que produzem IF clássica por motivos ainda não esclarecidos.⁽¹⁹⁾ Assim sendo, o consenso internacional de ANCA⁽²⁴⁾ sugere que a pesquisa destes anticorpos na monitorização terapêutica e no diagnóstico de casos suspeitos de GW, vasculite de Churg-Strauss, poliarterite microscópica e sua variante renal limitada (GN crescêntica pauciimune) seja sempre realizada com a associação do teste de IF e teste de ELISA anti-PR3 e anti-MPO.

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DOS TESTES

A sensibilidade e especificidade de um teste depende da técnica utilizada para a detecção e da população estudada.

Com relação à técnica, de acordo com o relatado acima, é necessária a detecção de ANCA por IF associada à detecção de anticorpos anti-PR3 e anti-MPO por ELISA, para se obter boa especificidade e sensibilidade no diagnóstico de vasculites sistêmicas. No entanto, em nosso meio, testes de ELISA anticorpos PR3 e anti-MPO nem sempre estão disponíveis. Nestes casos a presença de cANCA pode ser considerada bastante específica, muito embora sua sensibilidade não ultrapasse os 70% a 80%.⁽²⁵⁾ A presença de pANCA pode ser pouco específica mas passa a ter valor clínico na suspeita clínica de vasculite ou em casos de glomerulonefrite crescêntica.

Com relação à população de estudo, é preciso lembrar da grande confusão que existe na literatura no que se refere à classificação das vasculites. Alguns autores consideram a poliarterite nodosa como uma das doenças ANCA-positivas. Outros, no entanto, consideram vasculites ANCA-positivas apenas a própria GW a poliarterite microscópica, a síndrome de Churg-Strauss e formas mais limitadas destas doenças. Estas doenças compartilham um envolvimento predominante-mente capilar e venular, às vezes com envolvimento de arteríolas e a presença precoce de um infiltrado neutrofilico nos vasos. O envolvimento de vasos maiores pode ocorrer em alguns pacientes mas, por definição, envolvimento simultâneo de vasos pequenos não ocorre na poliarterite nodosa. Assim sendo, de acordo com esta definição, casos de poliarterite nodosa clássica não produzem ANCA.⁽²⁶⁾

A maior parte dos estudos de portadores de GW ativa demonstra cANCA em cerca de 70% a 80% dos casos e pANCA em cerca de 10% dos casos. Na poliarterite microscópica ou na glomerulonefrite crescêntica, 60% possuem pANCA e 30% deles cANCA. Pacientes com síndrome de Churg-Strauss têm ANCA c ou p em cerca de 30% dos casos. A sensibilidade do método é ainda menor em casos de doença em fase de remissão ou nas formas localizadas. Assim sendo, um teste de ANCA negativo nunca afasta a presença de vasculite.

Na verdade, existe certa sobreposição entre os pacientes portadores de cANCA e pANCA.⁽²⁷⁾ Nos portadores de vasculites e glomerulonefrites, observou-se que cANCA, se associa com o acometimento de pulmão, vias aéreas superiores e rins, particularmente naqueles com formação de granulomas e extensa doença extra-renal. O padrão pANCA, também pode ser observado nestes doentes, porém

é mais comum nos pacientes com doença limitada aos rins. Entre estes dois extremos encontramos pacientes que podem apresentar tanto cANCA quanto pANCA. Dessa forma, pode se dizer que as enfermidades ANCA-positivas (independentemente do padrão de fluorescência) cursam, clinicamente, dentro de um espectro contínuo que varia de uma doença limitada aos rins até formas sistêmicas generalizadas.⁽²⁸⁾ A presença de um marcador sorológico comum sugere que este grupo de doenças possa compartilhar aspectos fisiopatogênicos. Por outro lado, a relação entre pANCA e doenças fora do espectro das vasculites sistêmicas não está totalmente esclarecida.

ANCA NO ACOMPANHAMENTO TERAPÊUTICO DAS VASCULITES

Além de sua aplicabilidade no diagnóstico das vasculites, tem-se observado que os títulos de ANCA acompanham a atividade de doença.⁽²⁹⁾ Já está estabelecido que os títulos deste anticorpo não se alteram com a presença de infecção intercorrente e que a IF tende a se negatizar na doença em remissão. Estudos prospectivos⁽³⁰⁾ demonstram que um aumento nos níveis séricos de ANCA geralmente precede recidivas da doença. Isto vale para testes de ELISA anti-PR3 e anti-MPO, mas também para os testes de IF (com menor sensibilidade).

No entanto, este não é um achado universal. Existem casos nos quais a recidiva ocorre sem um prévio aumento de ANCA e alguns casos raros nos quais os títulos não caem após remissão da doença, muito embora estes pacientes tenham tendência a pior prognóstico renal ao longo dos anos. Além disso, este aumento dos ANCA pode anteceder muito a recidiva clínica, não justificando um imediato aumento nas doses de drogas imunossupressoras potencialmente tóxicas. Portanto, conclui-se que, muito embora a avaliação seriada de ANCA seja bastante útil no acompanhamento terapêutico dos portadores de vasculites sistêmicas, a decisão terapêutica deve basear-se em aspectos clínicos e laboratoriais associados.

Em resumo: ANCA são um grupo de anticorpos contra enzimas neutrofílicas extremamente úteis no diagnóstico de vasculites sistêmicas de pequenos vasos e certas glomerulonefrites necrotizantes; o padrão clássico é altamente específico para a GW, enquanto que o padrão perinuclear ocorre nas vasculites de pequenos vasos, glomerulonefrites

necrotizantes e outras doenças fora do espectro das vasculites; padrões atípicos ocorrem com certa frequência em uma série de situações clínicas e devem ser diferenciados do ANCA verdadeiro; a detecção de ANCA deve ser realizada com a associação de testes de IF com testes de ELISA anti-PR3 e anti-MPO; ANCAs são úteis no acompanhamento evolutivo das vasculites, porém a decisão terapêutica deve se basear na associação de achados clínicos e laboratoriais.

REFERÊNCIAS

- Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1982;285(6342):606.
- Van Der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, Van Es LA, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet*. 1985;1(8426):425-9.
- Neutrophil cytoplasmic autoantibodies and Wegener's granulomatosis. *Lancet*. 1989;1(8632):269-30.
- Guillevin L, Visser H, Oksman F, Pourrat J. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in polyarteritis nodosa related to hepatitis B virus [letter]. *Arthritis Rheum*. 1990;33(12):1871-2.
- Bosh X, Font J, Mirapeix E, Cid MC, Revert L, Ingelmo L. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in giant cell arteritis [letter]. *J Rheumatol*. 1991;18(5):787-8.
- Gaskin G, Ryan JJ, Rees AJ, Pusey CD. Anti-myeloperoxidase antibodies in vasculitis: relationship to ANCA and clinical diagnosis. *APMIS*. 1990;19(Suppl):33.
- Falk RJ, Jennette JC. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med*. 1988;318(25):1651-7.
- Davenport A, Grant PJ. False positive autoantibodies in HIV infection [letter]. *Lancet*. 1990;336(8710):317-8.
- Meyer O, Papo T, Piette MF, Kahn ME, Godeau P. Detection and clinical implication of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in 33 cases of relapsing polycondritis [abstract]. *Arthritis Rheum*. 1990;33(Suppl 5):89.
- Saxon A, Shanahan F, Landers C, Gans T, Targan S. A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol*. 1990;86(2):202-10.
- Venning MC, Quinn A, Broomhead V, Bird AG. Antibodies directed against neutrophils (cANCA and pANCA) are of distinct diagnostic value in systemic vasculitis. *Q J Med*. 1990;77(284):1287-96.
- Baggiolini M, Bretz U, Dewald B, Feigensohn ME. The polymorphonuclear leukocyte. *Agents Actions*. 1978;8(1-2):3-10.
- Bini P, Gabay JE, Teitel A, Melchior M, Zhou JL, Elkon KB. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in Wegener's granulomatosis recognize conformational epitope(s) on proteinase 3. *J Immunol*. 1992;149(4):1409-15.
- Kao RC, Wehner NG, Skubitz KM, Gray BH, Hoidal JR. Proteinase 3. A distinct human polymorphonuclear leukocyte proteinase that produces emphysema in hamsters. *J Clin Invest*. 1988;82(6):1963-73.
- Csernok E, Ludemann 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(5):1113-20.
- Gallicchio MC, Savige JA. Detection of anti-myeloperoxidase and anti-elastase antibodies in vasculitides and infections. *Clin Exp Immunol*. 1991;84(2):232-7.
- Lesavre P, Chen N, Nusbaum P, Mecarelli L, Noel LH. Antineutrophil cytoplasm antibodies (ANCA) with antilatoferrin activity in vasculitis [abstract]. *Kidney Int*. 1990;37(1):442. [Presented at American Society of Nephrology; 1989 Dec 3-6; Washington, DC].
- Lee SS, Adu D, Thompson RA. Anti-myeloperoxidase antibodies in systemic vasculitis. *Clin Exp Med*. 1990;79(1):41-6.
- Wiik A. Rational use of ANCA in the diagnosis of vasculitis. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(5):481-3.
- Pradhan VD, Badakere SS, Iyer YS, Kumar R, Almeida AF. A study of anti-neutrophil cytoplasm antibodies in systemic vasculitis and other related disorders. *J Postgrad Med*. 2003;49(1):5-9; discussion 9-10.
- Wong RC, Silvestrini RA, Savige JA, Fulcher EM, Benson EM. Diagnostic value of classical and atypical antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) immunofluorescence patterns. *J Clin Pathol*. 1999;52(2):124-8.
- Christenson VD, Dooley MA, Allen NB. Discrimination of antineutrophil antibodies from antinuclear antibodies using immunofluorescence on neutrophils and HL60 cells. *J Rheumatol*. 1991;18(4):575-9.
- Kallenberg CG, Rasmussen N. Solid phase assay for ANCA. *Neth J Med*. 1990;36(3-4):132-6.
- Savige 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(4):507-13.
- Radu AS, Bueno C, Bonfa ESDO, Cossermelli W. Comparação entre as técnicas de imunofluorescência e ELISA com extrato total de neutrófilos e com grânulos primários para a detecção de anticorpos contra o citoplasma de neutrófilos (ANCA). *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo*. 1995;50(2):65-70.
- Merkel PA, Polisson RP, Chang YC, Skates SJ, Niles JL. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibodies in a large inception cohort of patients with connective tissue disease. *Ann Intern Med*. 1997;126(11):866-73.
- Goldschmeding R, Tervaert JW, Gans RO, Dolman KM, Van der Ende ME, Kuizinga MC, et al. Different immunological specificities and disease associations of c-ANCA and p-ANCA. *Neth J Med*. 1990;36(3-4):114-6.
- Falk RJ, Jennette JC. Wegener's granulomatosis, systemic vasculitis, and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Annu Rev Med*. 1991;42:459-69.
- Egner W, Chapel HM. Titration of antibodies against neutrophil cytoplasmic antigens is useful in monitoring disease activity in systemic vasculitides. *Clin Exp Immunol*. 1990;82(2):244-9.
- Boomsa MM, Stegeman CA, Van der Leij W, Oost W, Hermans OJ, Kallenberg CG, et al. Prediction of relapses in Wegener's granulomatosis by measurement of antineutrophil cytoplasmic antibody levels. A prospective study. *Arthritis Rheum*. 2000;43(9):2025-33.