

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ  
КАТЕДРА ПО РЕВМАТОЛОГИЯ  
КЛИНИКА ПО РЕВМАТОЛОГИЯ

---

**Д-р Цветелина Димитрова Йонева**

**АНСА ВАСКУЛИТИ –  
КЛИНИКОИМУНОЛОГИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И  
ПРОТИЧАНЕ  
СРЕД БЪЛГАРСКАТА ПОПУЛАЦИЯ**

**ДИСЕРТАЦИЯ**

**ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР“**

Научен ръководител: доц. д-р Иван Йорданов Шейтанов, д.м.

Консултант: проф. д-р Рашо Колев Рашков, д.м.н.

София, 2025 г.

# СЪДЪРЖАНИЕ

<b>ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ</b> .....	<b>5</b>
<b>I. УВОД</b> .....	<b>7</b>
<b>II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР</b> .....	<b>9</b>
1. Васкулити – обща характеристика и място на ANCA асоциираните васкулити .....	9
2. Класификация на ANCA асоциираните васкулити .....	13
3. Епидемиология на ANCA асоциираните васкулити .....	17
4. Етиология .....	20
5. Патогенеза на AAB.....	26
6. Хистопатологични находки при ANCA асоциираните васкулити.....	40
7. Клинични форми на органно засягане.....	44
8. Диагностична стойност на антинеутрофилните цитоплазмени антитела.....	51
9. Белези за активност и лоша прогноза.....	61
10. Прогноза на ANCA асоциираните васкулити.....	68
11. Лечение на ANCA асоциираните васкулити.....	71
12. Етнически и географски различия при ANCA асоциираните васкулити .....	82
13. Изводи от литературния обзор.....	84
14. Заключение.....	85
<b>III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ</b> .....	<b>88</b>
<b>IV. МАТЕРИАЛ и МЕТОДИ</b> .....	<b>90</b>
<b>V. РЕЗУЛТАТИ</b> .....	<b>96</b>
<b>1. Нозологична структура на васкулитите, наблюдавани в Клиниката по ревматология</b> .....	<b>96</b>
1.1. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с васкулит в текущата ревматологична практика .....	96
1.2. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с васкулит с некрози.....	99
1.3. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с ANCA асоциирани васку- лити в практиката на Клиниката .....	100

<b>2. Честота на сериозни инфекции в хода на ANCA асоциираните васкулити</b> .....	<b>101</b>
2.1. Рискови фактори за сериозни инфекции .....	103
2.2. Основни патогенни микроорганизми .....	103
2.3. Асоциация между перинуклеарните ANCA и инфекциите .....	104
<b>3. Анализ на клиничното протичане и органната локализация при различните AAV в българската популация</b> .....	<b>105</b>
3.1. Сравнителен анализ на засягането на горните дигателни пътища и белия дроб при отделните ANCA асоциирани васкулити .....	105
3.2. Сравнителен анализ на бъбречното засягане при отделните ANCA асоциирани васкулити .....	117
3.3. Клинични прояви извън ГДП, бял дроб и бъбрек при AAV .....	131
<b>4. Профилограми на протичане на отделните AAV и на PAN</b> .....	<b>137</b>
4.1. Профилограми на протичане при GPA.....	139
4.2. Профилограми на протичане при MPA.....	139
4.3. Профилограми на протичане при EGPA .....	140
4.4. Профилограми на протичане при PAN.....	140
<b>5. Честота на известните антитела в българската популация с AAV</b> .....	<b>141</b>
5.1. Анализ на антителата, разпределени по диагнози .....	141
5.2. Връзка между тежест на болестта и ANCA .....	143
5.3. Анализ на антигенната специфичност на ANCA .....	144
5.4. Честота на други антитела, типични за колагенози и ANCA васкулити .....	146
5.5. Сравнение на антителата при PAN и MPA .....	148
<b>6. Имунологични асоциации на клиника, локализации и протичане при различните антитела в българската популация</b> .....	<b>148</b>
6.1. Разлики в протичането между пациентите с anti-PR3 и с anti-MPO .....	148
6.2. Анализ на групата с anti-PR3 + antiMPO.....	152
6.3. Лабораторни показатели при трите групи болни .....	153
6.4. Грануломатозно възпаление и васкулитни прояви при отделните ANCA .....	154
<b>7. Анализ на различни терапевтични режими при болни с ANCA асоцииран васкулит</b> .....	<b>154</b>
7.1. Анализ на видовете режими на лечение.....	154
7.2. Анализ на проведеното лечение за индукция на ремисия по диагнози .....	157
7.3. Анализ на проведеното лечение според типа на антителата.....	160

7.4. Анализ на органна локализация и проведено лечение .....	161
7.5. Анализ на лекуваните с ритуксимаб пациенти.....	162
<b>8. Анализ на клиничната картина и причините за смърт при починалите пациенти .....</b>	<b>170</b>
8.1. Фактори, които се асоциират със смъртността.....	173
8.2. Анализ на основните причини за смърт .....	176
8.3. Анализ на пациентите, при които е постигната ремисия .....	177
8.4. Предиктори на смъртен изход.....	179
<b>9. Роля на някои биомаркери в имунопатогенезата на AAV .....</b>	<b>181</b>
9.1. Роля на LAMP 2 .....	182
9.2. Нива на плазминоген .....	188
9.3. TNF $\alpha$ и ANCA васкулити .....	198
9.4. Роля на indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) във възпалителния отговор при AAV .....	204
<b>10. Практически насоки и подход при болните с AAV в ревматологичната практика.....</b>	<b>207</b>
<b>VI. ОБСЪЖДАНЕ.....</b>	<b>209</b>
<b>VII. ИЗВОДИ .....</b>	<b>278</b>
<b>VIII. ПРИНОСИ.....</b>	<b>282</b>
<b>X. ЛИТЕРАТУРА .....</b>	<b>284</b>
<b>X. ПРИЛОЖЕНИЯ.....</b>	<b>306</b>

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

### Използвани съкращения на латиница

AAV – ANCA associated vasculitis  
ACLA – anti-cardiolipine antibodies  
ACR – American College of Rheumatology  
AECA – антиендотелноклетъчни антитела  
AGBMA – anti-glomerular basement membrane antibody  
ANA – антинуклеарни антитела  
ANCA – anti-neutrophil cytoplasmic antibodies  
APC – антиген-представяща клетка  
Aza – azathioprine  
BAFF – В-клетъчен активиращ фактор  
BVAS – Birmingham Vasculitis Activity Score  
CHCC – Chapel Hill Consensus Conference  
CRP – С-реактивен протеин  
CSS – Churg–Stauss syndrome  
Cyc – cyclophosphamide  
dsDNA – double-stranded deoxyribonucleic acid antigen  
EGPA – eosinophilic granulomatosis with polyangiitis  
ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay  
ERA-EDTA – Европейска бъбречна асоциация – Европейска асоциация по диализа и трансплантация  
EULAR – European League Against Rheumatism  
EUVAS – European Vasculitis Study Group  
FFS – петфакторен скор  
GPA – granulomatosis with polyangiitis  
HRCT (high resolution computer tomography) – високоразделителна компютърна томография  
HLA – Humal leucocyte antigen  
ICAM-1 – Intercellular Adhesion Molecule-1  
IDO – Indoleamine 2,3-dioxygenase  
IFA (indirect immunofluorescence) – индиректна имунофлуоресценция  
IFN – интерферон  
IL – интерлевкин  
IVIG – интравенозни имуноглобулини  
LAMP-2 – anti-lysosome-associated membrane protein-2  
MHC – главен комплекс на тъканната съвместимост  
MPO – myeloperoxidase  
MRT – магнитнорезонансна томография  
Mtx – methotrexate  
NETS – извънклетъчни неутрофилни капани  
NK – natural killer cell  
NPV – негативна предсказваща стойност (negative predictive value)  
PAN – polyarteritis nodosa  
PPV – позитивна предсказваща стойност (positive predictive value)

PR3 – proteinase-3  
RAVE – rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis  
Rit – rituximab  
RITUXVAS – rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis  
RPGN – бързо прогресиращ гломерулонефрит  
SVV – small vessel vasculitis  
Th – T helper cell  
TNF – tumor necrosis factor  
VCAM-1 – vascular cell adhesion molecule-1  
WG – Wegener's granulomatosis  
ММФ – микофенолат мофетил

### **Използвани съкращения на кирилица**

ААВ – ANCA асоциирани васкулити  
БАЛ – бронхоалвеоларен лаваж  
БН – бъбречна недостатъчност  
ВГ – вегенерова грануломатоза  
ГДП – горни дихателни пътища  
ГИТ – гастроинтестинален тракт  
ГПА – грануломатоза с полиангиит  
ЕГПА – еозинофилна грануломатоза с полиангиит  
ДАХ – дифузна алвеоларна хеморагия  
ИС – имуносупресор  
МПА – микроскопски полиангиит  
ПАН – полиартериитис нодоза  
ПББ – пункционна бъбречна биопсия  
ПНС – периферна нервна система  
ПТМП – пулс терапия с метилпреднизолон  
ПТЦФ – пулс терапия с циклофосфамид  
РФ – ревматоиден фактор  
СЗСТ – системно заболяване на съединителната тъкан  
СЛЕ – системен лупус еритематодес  
ССС – сърдечно-съдова система  
СУЕ – скорост на утаяване на еритроцити  
ХДЛ – хронииодиализа  
ЦНС – централна нервна система  
ЧСС – Чърг–Страус синдром  
ЧМН – черепномозъчни нерви

## I. УВОД

Терминът *васкулит*, или *ангиит*, се отнася до множество заболявания, които се характеризират с възпаление на съдовата стена и с последващо тъканно и органно увреждане. Те се различават значително по своята етиопатогенеза, по клиничната си картина, прогноза и терапевтичен режим. Клиничната изява на васкулитите зависи от типа и размера на засегнатите съдове и от тяхната локализация. Те варират от бенигни и ограничени (напр. кожен васкулит) до животозастрашаващи системни васкулити (напр. пулморенален синдром при микроскопски полиангиит (МПА)). Интересен феномен представляват някои васкулити на малките съдове, които в началото са с леки и неразличими клинични прояви, но впоследствие могат да доведат до различна по тежест клинична картина и поради това имат различна прогноза и изискват различен терапевтичен режим. Например при пациентите с пурпура, причинена от болест на Henoch-Schonlein, клиничното протичане и прогнозата са добри, а терапията е симптоматична, докато при пациентите с пурпура, дължаща се на микроскопски полиангиит, състоянието може да прогресира в животозастрашаващо, ако не се лекува с имunosупресори. Интерес и предизвикателство представлява и диагностиката на васкулитите. Тя е съвкупност от клинична картина, хистологична находка и имунни феномени, които трябва да се имат предвид при определяне на диагнозата васкулит при конкретния пациент. Едновременно с това в диференциалнодиагностичен план трябва да се направи разграничаване и от голямата група на вторичните васкулити, или т. нар. *vasculitis-like* синдроми. Белезите, които варират при отделните форми на васкулит, но едновременно с това могат да се използват при класифицирането им, са етиология, демографски характеристики (възраст, пол, раса, географско разпределение), генетична предиспозиция, патогенеза, тип на засегнатите съдове, вид възпалителен процес, преимуществено органно засягане и клинични прояви. Голямото разнообразие на васкулитите, липсата на анатомопатологично класифициране, на достатъчно познание за патогенезата им, както и припокриването в клиничната изява, от една страна, между част от тях и от друга, с дру-

ги системни аутоимунни заболявания затруднява в голяма степен ранната диагноза. Времето от появата на първите симптоми до поставяне на диагнозата е твърде дълго и често това се оказва животозастрашаващо, тъй като ранното поставяне на диагноза и максимално бързото започване на лечение са особено важни.

Развитието на иновативни технологии в редица дисциплини като клиничната имунология, медицинската генетика, образната диагностика и медицинската фармакология допринасят за непрекъснатото обогатяване на палитрата от диагностични методи за коректно поставяне на диагнозата, оценка на състоянието и навременна терапия при пациентите с ANCA асоциирани васкулити. Разполагаме с ограничени възможности за лечение при широк спектър от разнообразни и променящи се клинични прояви във времето при заболявания с мултиорганно засягане, характеризиращи се с бърз и агресивен ход. Необходимо е по отношение на лечението да се подходи индивидуализирано, като целта е постигането на бърза ремисия при всеки пациент и предотвратяване на уврежданията и лошия изход. Факторите, които са отговорни и биха определили хода на болестта, са трудно определими. Въпреки големия напредък в идентифицирането и разбирането на ANCA васкулитите основният им патогенетичен механизъм не е напълно ясен. Антинеутрофилноцитоплазмените антитела, насочени срещу протеиназа-3 и миелопероксидаза, играят несъмнено основна роля в патогенезата на ANCA асоциираните васкулити. Непрекъснато и интензивно се проучват и установяват нови фактори, които участват в имунопатогенетичните им механизми. Това дава възможности за навлизане на нови биомаркери, като потенциални ефективни средства за измерване на болестната активност. Освен че биха помогнали за оценка на активността на заболяването, те може да са полезни за предсказване на клиничния ход и за определяне на ефективността и отговора на терапията.

## II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

### 1. Васкулити – обща характеристика и място на ANCA асоциираните васкулити

През 1990 г. чрез мултицентрово проспективно проучване (48 центъра, 1020 случая и 807 анализирани случая) експертна група на Американската колегия по ревматология (ACR) определя класификационни критерии за седем първични системни васкулитни синдрома. Критериите съдържат епидемиологични (възраст) и клинични данни, биологични, хистопатологични и ангиографски находки. Тяхната сензитивност и специфичност варират между 71 и 94% (чувствителност) и 84-99% (специфичност). Вече повече от 30 години класификационните критерии на ACR се използват в практиката [1-5]. Те включват грануломатоза с полиангиит или вегенерова грануломатоза (ГПА, GPA, WG), еозинофилна грануломатоза с полиангиит, eosinophilic granulomatosis with polyangiitis или синдром на Чърг-Страус (Churg-Strauss syndrome, EGPA) и нодозен полиартериит, polyarteritis nodosa (PAN), заедно с хиперсензитивен васкулит, пурпура на Henoch-Schönlein, гигантоклетъчен артериит и артериит на Takayasu. Основните критики към този първи опит (J. Jannete и сътр., 1992; J. Rao и сътр., 1998; R. Wats, 1998; N. Basu, 2010) за класификация на системните васкулити са свързани с това, че са включени само седем нозологични единици, без да се добавят микроскопският полиангиит (МПА), както и анти-неутрофилноцитоплазмените антитела (ANCA) в критериите. Липсата на МПА в тези критерии води до невъзможност да бъдат разграничени микроскопският полиангиит и грануломатозата с полиангиит (Прил. 1).

През 1994 г. международна група от мултидисциплинарни експерти (интернисти, ревматолози, нефролози, имунолози и патолози) се събират в Chapel Hill в Северна Каролина, за да изработят прецизна и уни-

версална номенклатура за десет васкулитни синдрома и да ги дефинират като нозологични единици. Те изработват консенсус за класифициране на различните системни васкулити, който макар и обновен, се ползва и до днес. Известен е като Chapel Hill Consensus Conference (CHCC) и основното му предимство е, че категоризира васкулитите, като обединява познанието за тяхната етиология, патогенеза, патоморфология и клинични манифестации [1, 2, 3, 6]. Големите приноси на CHCC от 1994 са както включването на ANCA като основен биомаркер за васкулити и оформянето на подгрупата на ANCA асоциираните васкулити в групата на васкулитите на малките съдове, така и дефинирането на микроскопския полиангиит, което позволява окончателното му отделяне от ПАН.

Впоследствие, през 2012, е проведена нова Chapel Hill Consensus Conference (CHCC 2012). На нея е ревизирана и подобрена номенклатурата от CHCC 1994, като са променени имената и дефинициите на някои васкулити и са добавени нови важни категории васкулити [6, 7] (Прил. 2). Васкулитните синдроми са разделени на три групи и са дефинирани в три секции – васкулити на големи съдове (large vessel vasculitis , LVV), васкулити на средни по размер съдове (medium vessel vasculitis, MVV) и васкулити на малки съдове (small vessel vasculitis, SVV), към които са добавени нови категории [7] (Прил. 3). Основен недостатък на новия консенсус от 2012 г. е, че дефинициите за отделните васкулити се основават предимно на хистологични данни. Това се оказва отчасти неприложимо и с неголяма надеждност в клиничната практика, защото при част от васкулитите се затруднява вземането на материал за хистологично изследване поради различните места на съдовото увреждане и разнообразната изява на засегнатите органи и тъкани. Фазата и активността на болестта също допълнително водят до усложнения в диагностиката. Например в късните стадии на различните васкулити хистологичните

промени в повечето случаи показват общи, неспецифични фиброзни изменения.

Само по себе си наличието на положителни ANCA в голяма степен променя клиничния подход към пациентите със съмнение за васкулит, но от друга страна, ANCA не фигурират нито в ACR критериите, нито в тези на СНСС. Това води до разработването на стъпков алгоритъм, който използва критериите и на двете системи с цел да бъде хармонизирана система за класифициране на EGPA, GPA, MPA и PAN в отделни категории и да се намалят до минимум неклассифицируемите пациенти [8]. Този алгоритъм е създаден от Европейската медицинска агенция и е наречен ЕМЕА алгоритъм за ANCA асоциираните васкулити. Той дефинира сурогатни маркери вместо данните от хистологичните промени, използвани в дефинициите на СНСС класификационните критерии (табл. 1).

**Таблица 1. Пример за сурогатни маркери за васкулити в ЕМЕА алгоритъма**

**Сурогатни маркери за грануломатозна болест (Wegener's granulomatosis)**

ГДП

Кървав назален секрет или крусти за > 1 месец или улцерации

Хроничен синусит, отит или мастоидит за > 3 месеца

Седловидна деформация на носа/деструктивна болест на параназалните синуси

Ретроорбитални маси или възпаление (pseudotumour)

Субглотисна стеноза

ДДП

Rö данни за фиксирани белодробни инфилтрати, нодули или кавитации за >1 месец

Бронхиална стеноза

**Сурогатни маркери за ренален васкулит (glomerulonephritis)**

Хематурия, асоциирана с червени кръвни телца или > 10% дисморфни еритроцити  
или 2 + хематурия и 2 + протеинурия

*Пример за сурогатни маркери за васкулити в ЕМЕА алгоритъма.*

Поради оставащата нужда от класификационни критерии, които да бъдат валидирани в много страни и етноси и да отграничават по-добре трите основни ANCA васкулита, бе създаден проектът „Диагноза и класификация на васкулитите (DCVAS)“, представляващ мултинационално, наблюдационно проучване с цел развитие на нови класификационни критерии и актуализиране на сегашните [9]. Проектът, включващ над 7000 пациенти от 136 сайта от 32 страни в Азия, Австралия, Европа, Северна и Южна Америка, даде възможност за изработване на нови класификационни критерии за AAV, които са публикувани през 2022 г. и обединяват в себе си информативността, носена от ANCA, образните и хистологичните изследвания, които на този етап се прилагат рутинно в практиката. За GPA крайните критерии и техните тежести са: кървава носна секречия, образуване на кори в носа или синоназална конгестия (+3); хрущялно засягане (+2); проводима или сензонеурална загуба на слуха (+1); ANCA или антипротеиназа-3 ANCA позитивност (+5); белодробни възли, маса или кавитация при изображения на гръдния кош (+2); гранулом или гигантски клетки при биопсия (+2); възпаление или консолидация на назалните/параназалните синуси при изображения (+1); пауцимунен гломерулонефрит (+1); перинуклеарен ANCA или антимиелопероксидазна ANCA позитивност (-1); и брой еозинофили  $\geq 1 \times 10^9 /L$  (-4). След изключване на мимики на васкулит се счита, че пациент с диагноза васкулит на малки или средни съдове може да бъде класифициран като имащ GPA при общ резултат  $\geq 5$  точки. Тези критерии са с 93% чувствителност (95% CI 87% до 96%) и специфичност 94% (95% CI 89% до 97%) [10].

Крайните критерии за MPA и тяхната тежест са: перинуклеарни ANCA или антимиелопероксидаза-ANCA позитивност (+6), олигоимунен гломерулонефрит (+3), белодробна фиброза или интерстициална белодробна болест (+3), синоназални симптоми или признаци (-3), цитоплазмена

ANCA или антипротеиназа-3 ANCA позитивност (-1) и брой на еозинофили  $\geq 1 \times 10^9/L$  (-4). След изключване на мимиките на васкулит пациент с диагноза васкулит на малки или средни съдове може да бъде класифициран като имащ MPA с кумулативен резултат от  $\geq 5$  точки – 91% чувствителност (95% CI 85% до 95%), специфичност 94% (95% CI 92% до 96%) [11].

Крайните критерии и тежестта им за EGPA са, както следва: максимален брой еозинофили  $\geq 1 \times 10^9/L$  (+5), обструктивно заболяване на дихателните пътища (+3), назални полипи (+3), цитоплазмени ANCA или антипротеиназа-3-ANCA позитивност (-3), екстраваскуларно еозинофилно преобладаващо възпаление (+2), мононеврит мултиплексна/моторна невропатия, която не се дължи на радикулопатия (+1) и хематурия (-1). След изключване на мимиките на васкулит пациент с диагноза васкулит на малки или средни съдове може да бъде класифициран като имащ EGPA, ако кумулативният резултат е  $\geq 6$  точки – чувствителност 85% (95% CI 77% до 91%), специфичност 99% (95% CI 98% до 100%) [12].

Критериите и тяхната тежест за трите ANCA васкулити са обобщени в Прил. 4.

## **2. Класификация на ANCA асоциираните васкулити**

Според последните класификационни критерии на СНСС 2012, ANCA асоциираните васкулити попадат в групата на васкулитите на малките съдове (SVV) (фиг. 1) [7]. Това са васкулити с преимуществено засягане на съдовете с малък калибър, които се дефинират като интрапаренхимни артерии, артериоли, капиляри и венули. Средните съдове на кръвното русло – артерии и вени, също могат да бъдат ангажирани. Васкулитите на малките съдове се разделят и на две големи категории – та-

кива с оскъдно количество имунни комплекси в съдовата стена (raise immunity) и такива с отлагане на много имунни комплекси.



Фигура 1. Схематично представяне на ANCA асоциираните васкулити

ANCA асоциираните васкулити спадат към групата на некротизиращите васкулити с минимални или без имунни депозити. Те засягат предимно малките съдове (капиляри, вени, артериоли или малки артерии), асоциирани с ANCA, със специфичност към миелопероксидазата на човешките неутрофили (MPO-ANCA, или pANCA) или протеиназа-3 (PR3-ANCA, или cANCA). Съществуват и т.нар. ANCA негативни AAV. Те са аналог на серонегативния ревматоиден артрит (RA) или системен лупус еритематозус (SLE) и се дефинират като такива, когато пациентът покрива критериите за AAV, но не се откриват ANCA антитела в серума. Основните клинично-патологични варианти на AAV са microscopic polyangitis, granulomatosis with polyangitis (Wegener's), eosinophilic granulomatosis with polyangitis (Churg-Strauss) и single-organ vasculitis (SOV) [3, 7].

Интерес представлява фактът, че в началото един от ААВ – **микроскопският полиангиит (МРА)**, не фигурира в класификационните критерии, създадени от АСР през 1990 г. Тогава се е смятало, че МРА и РАН са различни форми на една и съща болест, тъй като клиничните им манифестации са твърде близки. Впоследствие се установява, че те са съвсем различни васкулити. Разликата идва основно от това, че МРА е васкулит на малките съдове, което обяснява клиничните му манифестации, като бързо прогресиращ гломерулонефрит, белодробен капилярит, често с хеморагии, които не се срещат при РАН. След откриването на ANCA (van de Woude et al., 1985), които се наблюдават само при пациенти с васкулити на малките съдове и са по-скоро изключващ критерий за РАН, МРА се отдиференцира окончателно. Chapel Hill International Consensus изгражда нова номенклатура и ясно отграничава МРА от РАН. В тази номенклатура МРА е дефиниран като некротизиращ васкулит с малко или без имунни депозити, с преимуществено засягане на малки съдове (капиляри, венули, артериоли). Може да е налице и некротизиращ васкулит на малки и средни по калибър артерии. Чести са некротизиращият гломерулонефрит и белодробният капилярит [7].

Друг представител на групата на ААВ – грануломатоза с полиангиит, **granulomatosis with polyangitis (GPA)**, или грануломатозата на Вегенер, носеща името на своя откривател, описал я за пръв път през 1936 г. като болест, която се характеризира с некротизиращи грануломи в горните и долните дихателни пътища, огнищен гломерулонефрит и некротизиращ системен васкулит. Според СНСС GPA представлява некротизиращо грануломатозно възпаление на горния и долния респираторен тракт и некротизиращ васкулит на малките и средните артерии. Чести са некротизиращият гломерулонефрит, очният васкулит и белодробният капилярит, усложнени с хеморагии. Налице са и грануломатозно и негрануломатозно възпаление извън съдовете за разлика от МРА, където

такова няма. Среща се и ограничена форма на GPA, когато болестта е изявена само в горният респираторен тракт или в очите. Тези пациенти може да нямат признаци на системен васкулит, но се приема, че когато показват клинични и патологични промени като при GPA и особено ако са ANCA позитивни, трябва да бъдат класифицирани като GPA и третирани съобразно терапевтичния подход при системната форма [7, 10].

Продължават да се трупат нови данни за тази група васкулити и с откритието, направено от Churg и Strauss през 1951 г. Те описват интересни находки при 13 починали пациенти от неклассифицирана до момента болест, която се характеризира с астма, еозинофилия, треска и грануломатозен некротизиращ васкулит. Сега вече според СНСС 2012 **eosinophilic granulomatosis with polyangitis (EGPA)** се дефинира като богато на еозинофили грануломатозно възпаление, най-често на респираторния тракт, и некротизиращ васкулит на малки и средни съдове, асоцииран с астма и еозинофилия. Полипите в носната лигавица при тези пациенти са честа находка. Една особеност е, че ANCA се позитивират по-често при пациенти с гломерулонефрит (ГН). Това се подкрепя от данните, че само 25% от пациентите с EGPA без ГН са ANCA позитивни, докато при 75% от тези с бъбречно засягане и при 100% от тези с некротизиращ ГН се откриват ANCA. Преобладаването на еозинофили в кръвта и тъканите е съществен белег за EGPA и поради това заляга и като част от наименованието на самия васкулит. При този вид васкулит се откриват данни за грануломатозно и негрануломатозно възпаление и извън съдовете, което е също богато на еозинофили, с преобладаваща изява в белите дробове, миокарда и гастро-интестиналния тракт (ГИТ) [7, 12, 13].

Четвъртият тип AAV е т.нар. renal limited vasculitis (RLV), или идиопатичен бързопрогресиращ гломерулонефрит (RPGN), който се ха-

рактеризира с появата на “раусi-immune“ гломерулонефрит при липса на друго системно засягане [7].

### **3. Епидемиология на ANCA асоциираните васкулити**

**3.1. Заболяемост:** Има много малко данни за заболяемостта и разпространението на ААВ допреди 1989 г. В последните 25 години са проведени епидемиологични проучвания в Европа, Япония, САЩ, Нова Зеландия и Австралия. Нивата на годишна заболяемост общо за ААВ са между 13 и 20 нови случая/милион [14, 15, 16, 17]. Те нарастват след 1980 г. (за УК от 1,5/млн. в началото на 1980 г. стават 6,1/млн. в края). Тази тенденция се наблюдава и в Швеция, където нарастването е от 3 на 8/млн., като нивата се запазват стабилни до 2000 г., което е свързано с въвеждането на изследването на ANCA. Сравняване на данните за три региона на Европа показва, че общите нива на заболяемост за ААВ са сходни, около 19/млн. Наблюдава се градиент Север:Юг в географската ширина и заболяемостта от ГПА и МПА. ГПА е по-честа в Северна Европа – около 10/млн. нови случая, и наполовина в Южна (Watts et al., 2001) [14]. МПА, обратно, е по-разпространен в Южна Европа, също и в Азия [15]. Проучвания в Нова Зеландия и Австралия показват подобни нива за ГПА, като тези в Северна Норвегия [16]. Има два географски района, които са с изразено по-висока честота на разпространение на ПАН и МПА и това са Япония и Кувейт. В Кувейт появата на ПАН и МПА е 45/млн. [17, 19]. Данните за класическия ПАН са 16/млн. и за МПА 24/млн. [1, 14, 20]. В Япония заболяемостта от МПА е 14,8/млн., което е доста повече, от който и да е район в Европа [17, 18].

**3.2. Болестност:** Преобладаването на ААВ средно е 46-184/милион [14, 20]. Има тенденция за нарастване на случаите за последните 20 години, което е свързано с по-доброто диагностициране и подобрената преживяемост. Болестността от ГПА се е удвоила в Северна

Германия от 58/млн. през 1994 г., на 98/млн. през 2006 г. Като цяло в Северна Европа болестността на ГПА за Норвегия нараства от 30,4/млн. през 1988 г. на 95,1/млн. през 1998 г. и е 160/млн. в Швеция през 2003 г. Има малко данни за преобладаването на МПА и то варира от 25,1 до 94/млн. Данните за ЕГПА сочат подобни данни за всички популации и са доста по-ниски от тези на ГПА и МПА (45,7/млн.) [14, 15].

В заключение, заболяемостта от ГПА за Централна Европа като цяло е около 8 на 1 млн. за 1 год., разликите в другите региони се дължат на генетични обременености, характерни особености на околната среда и климата, или дори на технически различия при събирането им. Годишната заболяемост за МПА е около 3,6 на един милион. Докато заболяемостта остава относително стабилна през годините, то общата болестност се е увеличила в последните години, което е свързано с по-добрата преживяемост, дължаща се на по-ранната диагноза и започване на лечение, както и на подобрените терапевтични възможности.

**3.3. Етнос:** Счита се, че ААВ са по-чести при кавказката раса и относително по-редки в некавказката популация. Първото проучване, което показва разлика в появата на ААВ в различни етнически групи е от Париж, Франция, и то сочи, че ГПА е по-рядка при тези с неевропейско потекло в сравнение с МПА [14]. Проучване директно сравнява две различни етнически групи – бели от кавказката раса от Обединеното кралство и индивиди от Япония. Изнесените данни показват сходни нива на заболяемост общо от ААВ, но ГПА и PR-3-ANCA васкулитите са по-редки в Япония, отколкото в Европа [15]. Сред японската нация преобладават МПА и MPO-ANCA вакулитите, а в Латинска Америка МПА е по-чест в сравнение с ГПА [17]. В Нова Зеландия грануломатозата на Вегенер е два пъти по-често срещана сред белите в сравнение с маорите или азиатците [21]. Според мултиетническо проучване в САЩ ГПА е по-рядка сред афроамериканците [22].

**3.4. Генетични фактори:** Ролята на главния комплекс на тъканна съвместимост – HLA (MHC) системата е доказана при повечето от автоимунните заболявания. HLA асоциации са установени и при AAB, като най-силни са с HLA DPB1\*15 и HLA DPB1\*0401 алелните форми [22, 23]. При пациенти от Великобритания и Западна Европа е установена асоциация между болестта (ГПА или МПА) и ANCA специфичността. Докато PR3-ANCA се асоциира с HLA-DP, SERPINA1 и PRTN3 полиморфизъм, то MPO-ANCA се асоциира с клас II на главния комплекс на тъканна съвместимост – HLA-DQ. Генетичните разлики може да обяснят географските вариации в разпространението на AAB [22, 23]. Това е и една от причините, влияещи върху градиента Север-Юг в разпространението на болестта, което е свързано с генетични различия между европейците, каквито са наблюдавани при СЛЕ. Въпреки че не е провеждано голямо геномно изследване сред европейската популация, няколко проучвания показват, че носителството на дефектен алел в кодиращия регион за alpha-1 anti-trypsin (AAT), който е физиологичният инхибитор на протеиназа-3 е първият генетичен рисков фактор за развитие на PR-3 ANCA позитивни васкулити и може да доведе до повишена експресия на PR-3 и повишен риск от рецидив [14]. Други проучвания намират асоциация между AAB и полиморфизъм в гените за някои цитокини и Fc gamma рецептора за IgG [23].

**3.5. Пол и възраст:** AAV могат да се появят във всяка възраст. Средната възраст на поява на ГПА е 53-68 години, като най-високите нива на заболяемост се наблюдават между 65 и 79 години и нарастват с възрастта [14, 22, 24]. Пациентите с МПА са по-възрастни при поставяне на диагнозата – около 60 год. за Европа и 70 год. за Япония и Нова Зеландия [18, 21]. Има малко епидемиологични данни за ЧЧС, като средната възраст на поява е 50 години. При мъжете както за ГПА, така и за МПА появата на болестта е в по-късна възраст в сравнение с жените [1].

Според последни данни от 2024 г. средната възраст при мъжете в Европа е 51.3 г., при жените – 48.6 г. [25].

Не се наблюдава тенденция за преобладаване на единия над другия пол. При възрастните съотношението мъже:жени е 1,3/1,6 за ГПА, 0,5/0,9 за МПА и за ЕГПА 1,7/1,0 [1, 19, 24].

#### 4. Етиология

Етиопатогенезата на ANCA асоциираните васкулите е многофакторна, като се предполага влиянието на факторите на околната среда, включително инфекции, различни ксенобиотици, в това число и редица лекарства, както и ролята на генетичния терен.

**4.1. Влияние на генетичните фактори за развитието на ANCA и AAV:** Изразеното преобладаване на WG сред кавказката раса предполага, че определени гени могат да играят роля за възприемчивостта към тези болести. Фактът, че болестта се среща при повече от един член в една и съща фамилия показва, че наследствените фактори не трябва да бъдат пренебрегвани и могат да обяснят част от механизмите на изява на клиничните симптоми на болестта. В последните години е установена връзка между HLA-DPB1\* 0401 и грануломатозата на Вегенер (*Jagiello et al., 2004*) [26]. Резултатите от голямо геномно проучване, включващо пациенти от Северна Европа с ГПА и МПА, също потвърждават ролята на генетичните фактори в патогенезата на AAV [23]. То демонстрира, че:

- ГПА и МПА са генетично отделно обособени болестни единици;
- HLA-DP, SERPINA 1 (кодиращ ген за  $\alpha$ -антитрипсин 1) и PRTN3 (кодиращ ген за PR3) се асоциират с PR3-ANCA при GPA, с техните специфични локуси, както следва: HLA-DP (хромозома 6, SNPrs3117242), SERPINA 1 (хромозома 14, SNPrs7151526), PRTN 3 (хромозома 19, SNPrs62132295);

– HLA-DQ (на хромозома 6, SNPrs500634) се асоциира с MPO-ANCA при MPA.

Генетичните асоциации са по-силни за специфичността на ANCA и по-малко за специфичността на клиничните синдроми.

**4.2. Влияние на различни инфекции:** Към момента най-убедителни са доказателствата за етиологична връзка със *Staphylococcus aureus*. За пръв път съмнение за връзката между грануломатозата на Вегенер и носителството на *Staph. aureus* е изказано от самия Wegener. Установено е, че носителството в носоглътката на този грам-положителен бактерия е три пъти по-високо при Вегенеровата грануломатоза в сравнение със здрави индивиди, а също е и рисков фактор за рецидив на болестта [27]. Налице са данни, показващи, че суперантигени, какъвто е стафилококовият протеин А, могат да стимулират автореактивни В-клетъчни клонове, секретирани анти-PR3 антитела в грануломатозни лезии на респираторния тракт при пациенти с грануломатоза на Вегенер (Pora et al., 2003) [28]. Изказана е и друга хипотеза, че един от ензимите на *Staphylococcus aureus* – кисела фосфатаза също може да играе роля на антиген, индуциращ васкулитни промени в организма (Vrons и сътр., 2000) [29]. Друго епидемиологично проучване предполага, че съществува цикличност в появата на ГПА с повтарящ се цикъл за период от 7,6 години, което не се наблюдава при MPA и предполага, че ГПА вероятно се асоциира с циклични инфекции [15, 30]. Докладването на отделни клинични случаи очертава няколко други инфекции, които може да са свързани в появата на ААВ и това са *Rickettsiae*, *Enterococcus*. Нови данни дават доказателства за молекулярна мимикрия между човешкия LAMP-2 епитоп (специфичен за ANCA) и бактериална адхезия на FimH (произхождащ от много грам-негативни организми) [31].

Доста проучвания предполагат и връзка на вирусни инфекции с ГПА. Различни проучвания сочат, че инфекцията с цитомегаловирус или реактивацията ѝ се асоциира с екзацербация на ГПА, но взаимовръзката

на цитомегаловирус, ГПА и имunosупресивната терапия остава неясна [32]. Case-control проучване изключва връзката между parvovirus B19 инфекция и ГПА [33].

**4.3. Влияние на силиций:** Химичният елемент силиций (неорганична минерална форма на силикона) и силиконът (синтетичен полимер със SiO), срещани под различни форми в природата като кварц, гранит, морски пясък или прахови частици, участват в патогенезата на ANCA асоциирания бързо прогресиращ ГН и грануломатоза с полиангиит. [34, 35]. Високите нива на замърсяване на въздуха със силициев прах след земетресението в Кобе, Япония и последващото нарастване на MPO-ANCA асоциираните васкулити предполага причинно-следствена връзка. Други шест case-control проучвания намират сигнификантна връзка между AAB и експозицията на силиций, но с противоречиви резултати за конкретните заболявания ГПА и МПА [36, 37]. Силицият активира Т-клетките по подобен на суперантигените механизъм чрез свърване с Т-рецептора (TCR) V $\beta$  регион, което води до неспецифична активация на множество Т-клетъчни клонове. Като друг механизъм се предполага и установеният факт, че силицият може да предизвика разкъсване на фагозомите на макрофагите с последващо освобождаване на лизозомни ензими като протеиназа-3. В такъв случай този ензим се явява като чужд за собствения организъм и води до инициране на автоимунен отговор [36, 37].

**4.4. Селско стопанство:** Занимаването със селскостопански дейности като земеделие или отглеждането на добитък години преди появата на AAB се свързва със сигнификантно повишен риск от развитие на ГПА или МПА (съотв. 2,7 и 6,3), но не и за СЧЧ. Установява се и сигнификантна асоциация между фермерството и появата на pANCA. Тези данни са изнесени от авторите на проучване, проведено в Обединеното кралство (Lane et al., 2003) [36]. В него авторите се опитват да направят

разлика между дейности, свързани със земеделието или животновъдството, но като цяло изтъкват по-голяма асоциация с отглеждането на животни в сравнение с това на зърнени култури [36].

**4.5. Инхалиране на изпарения, дим и хидрокарбонати:** Case-control (Steenland et al., 2003) проучване от САЩ показва връзка с инхалирането на изпарения и частици от разни материали, напр. бои и лепила при болни с ГПА, в сравнение със здрави контроли и такива с други ревматични болести [38]. Подобни сигнификантни разлики са установени и за различни видове пестициди. Противоречиви засега са данните в литературата, свързани с експозиция на метали и изпарения при заваряване, както и за работа с хидрокарбонати и разтворители [37].

**4.6. Ултравиолетова радиация:** В опити да се обясни връзката между васкулитите и съществуващия градиент в географската ширина, се проучва влиянието на околната ултравиолетова радиация върху заболяемостта от различни автоимунни състояния, включително и ААВ. Установено е, че нараства броят на заболели от ГПА и МПА с промяната в географската ширина по посока север, като само данните за ГПА достигат статистическа значимост. Използването на регресионни методи за анализ постига незначително увеличение на заболяемостта от ЕГПА и ГПА (с 3,4 и 3,5%) за по-големите градуси географска ширина. При пациенти с МПА не се наблюдава такава асоциация при анализите [14, 15].

**4.7. Лекарства, алергии, ваксинации:** Голям брой медикаменти се асоциират с изява на васкулит. Антиуреодните лекарства, особено propylthiouracil, methamisol, carbimasol могат, макар и рядко, да доведат до кожен ANCA васкулит и/или гломерулонефрит [1, 15, 39]. Установено е, че при този тип пациенти преобладава групата на МРО-ANCA в сравнение с PR3-ANCA асоциираните васкулити. Доказателство за това са и данните, получени от преглед на 250 пациенти с МРО-ANCA системни васкулити, при които е установено, че 30 от тях са

приемали hydralazine, propylthiouracil, allopurinol, penicillamine или sulfasalazine [39]. От тях 60% са използвали две или повече от тези лекарства 9 месеца преди появата на болестта.

Левкотриен рецепторните антагонисти (LRA) се свързват с поява на ЧСС при доста пациенти, но скорошни проучвания коментират и връзката с ААВ. Това са пациенти, които са имали активност на астмата си, което изисква интензивно лечение с LRA преди появата на васкулита [40]. Установено е също, че средната годишна заболяемост от СЧЧ на милион пациенти с астма (0-67) съвпада със средната годишна заболяемост на използващите LRA. При друго многоцентрово проучване са изследвани 165 пациенти, лекувани с левкотриен рецепторните антагонисти, които впоследствие са развили СЧЧ. При анализа на получените данни от Националния здравен институт на САЩ (NIH) и Агенцията за контрол на храните и лекарствата (FDA) се установява, че в 88% от тези случаи болестта се свързва с редуциране на дозата на приеманите от пациентите кортикостероиди [41]. Всички тези данни за ролята на различни медикаменти в патогенезата на ААВ въпреки различията в тяхната химическа структура дават аргументи в полза на идеята за ролята им като стимулатори на възможни тлеещи васкулити, а не само като самостоятелно предизвикващи имунопатологичния процес. Установено е също, че интраназалната употреба на кокаин индуцира появата на възпалително-деструктивни лезии, водещи до назална перфорация. Лекарствено индуцирано грануломатозно възпаление с автоимунна реакция се наблюдава също при пациенти с кокаинова деструкция на носната преграда, като при тях са регистрирани положителни ANCA с неутрофилна еластаза и протеиназа-3 насоченост [42]. Като цяло обаче при тези пациенти не са обичайни тежки ААВ и в някои от случаите промените могат да имитират ранните патологични промени при вегенерова грануломатоза и да объркат в диференциалнодиагностичен план клиничния специалист.

Интересни данни показват две независими case-control (Lane et al., 2003, и Cuadrado et al., 1994) проучвания за сигнификантно повече алергии през последната година преди появата на васкулита при пациенти в сравнение със здрави контроли. Това важи особено за ГПА и в по-малка степен за МПА и СЧЧ [36, 43].

Подобни данни се установяват и след проведени ваксинации против грип и хепатит при възрастни, при които са наблюдавани автоимунни реакции както при ААV, но са необходими още данни за потвърждаване на ясна връзка [44]. Има докладвани единични случаи на поява или релапс на ANCA асоциирани васкулити след прилагане на противогрипна ваксина [45]. Наблюдавана е и поява на пурпура и ANCA след ваксинация с комбинирана ваксина против морбили-скарлатина-рубеола.

**4.8. Тютюнопушене:** Цигарите съдържат многобройни активни компоненти, които потенциално могат да реагират с имунната система. Предизвиканият ефект може да бъде локален (в дихателните пътища) или е системен. Малки ретроспективни проучвания дават по-малък брой пушачи при болните от ААВ в сравнение с контролна популация [14]. Анализ на пациентите, включени в четири проучвания, спонсорирани от EUVAS, показва, че пушачите имат по-често гастроинтестинално ангажиране от васкулита в сравнение с непушачите [46]. Парадоксално, но тютюнопушенето като че ли има известен протективен ефект върху развитието на ANCA-асоциирани васкулити [47].

**4.9. Малигненост:** Установено е, че пациентите с грануломатоза на Вегенер са с по-голяма вероятност за предходно или съпътстващо малигнено заболяване. При тях рискът за карцином е двукратно повишен. Най-често срещаните злокачествени заболявания при тези пациенти са свързани с карцином на пикочен мехур, кожни злокачествени заболявания, левкемия и малигнен лимфом [48, 49]. Хеморагичните цистити, предизвикани от химиотерапията, са независим рисков фактор за развитие на карцином на пи-

кочния мехур, лечението с циклофосфамид води от 9 до 45 пъти повишен риск от карцином на пикочния мехур [49]. Всички тези факти говорят за съществуването на асоциация между грануломатозата на Вегенер и малигнеността, независимо от известния риск, свързан с лечението. Tatsis и сътр., 1999, например намират бъбречен карцином при 7 от 23 случая с вегенова грануломатоза, като при пет от тези седем пациенти карциномът е диагностициран преди или едновременно с грануломатозата [48]. Причината за асоциацията на част от ААВ с увеличена малигнизация остава неясна. Установена е обаче експресия на PR3 mRNA в епителни клетки на бъбречните каналчета и гломерулите, което води до задвижване на патологичен процес, свързан с образуване и секреция на анти-PR3 антитела, които се смята, че участват в процеса на разрастване на тубулните епителни клетки и последващо нарушаване на бъбречната функция [49].

**4.10. Covid-19.** В последните години бяха публикувани няколко доклада за случаи и на GPA, и на MPA, възникващи в среда на остра SARS-CoV-2 инфекция [50, 51, 52], както и в пост-COVID фаза [53, 54]. Във всичките случаи е налице засягане на белите дробове и бъбреците, проведената бъбречна биопсия показва раусси-immune полулунен гломерулонефрит, съответстващ на AAV.

## **5. Патогенеза на ААВ**

Патогенезата, и в частност имунопатогенезата, на васкулитните лезии е многофакторен и непрекъснато развиващ се процес, в който участват както клетките на специфичната и неспецифичната имунна защита, така и множество цитокини, хемокини, растежни фактори и системата на комплемента. Главните участници в патогенетичните механизми на васкулитите са отбелязани в Прил. 4.

**5.1. Патогенен В-клетъчен отговор и продукция на ANCA:** В-клетките играят основна роля в патогенезата на ААВ. Те са прекурсори

на автоимунните клонове на антитяло синтезиращите плазматични клетки, продуциращи автоантитела и цитокини. Освен това тези автореактивни В-клетъчни клонове вземат участие в антигенното представяне и част от тях се превръщат в дълго живеещи паметови В-клетки. Csernak и сътр. показват, че при пациентите с грануломатоза на Вегенер ANCA се произвеждат след активиране на В-клетките, което доказва ролята на автореактивните В-лимфоцити на паметта [55]. Установено е, че грануломните лезии съдържат клъстери от клетки, абнормно експресиращи PR3, обградени от инфилтрати, съдържащи зрели В-клетки, антиген-представящи клетки (APCs) и активирани Th1 – CD4+CD28+Т-клетки. Една от хипотезите за секреция на ANCA от В-лимфоцитите е свързана и с идеята за кръстосаната реактивност и участието на PR3 подобни антигенен микробен епитоп [1, 55, 56]. В потвърждение на това са и експерименти, проведени с трансгенни мишки (по гена Rag), които показват, че в синтеза на ANCA играе роля дефект в регулацията на В-клетките и по-специално в пътищата, отговорни за деленето на автореактивните В-клетъчни клонове. Авторите установяват, че експресията на В-клетъчния активиращ фактор или стимулатор (BAFF/Blis) е повишена при болни с вегенерова грануломатоза [56, 57]. BAFF е ключов протеин в В-клетъчната пролиферация и диференциация. Той инхибира В-клетъчната апоптоза и стимулира диференциацията на В-клетките към имуноглобулин продуциращи плазматични клетки, което се смята и като основен механизъм за повишена продукция на ANCA и обезсмъртяване на автоимунния В-клетъчен отговор. В потвърждение на този патологичен механизъм е и фактът, че при осъществяване на В-клетъчната деплеция с rituximab (анти-CD20 моноклонално антитяло, свързано с въздействие върху зрели В-клетъчни клонове) се понижават индиректно и нивата на PR3-ANCA, като част от пациентите достигат до състояние на ремисия. Намерена е и корелативна зависимост със състоянията на релапси при

тези пациенти, които корелират с повишение в нивата на В-лимфоцитите. Подобен е и механизмът, установен при пациенти с ГПА, при които възпалителните инфилтрати показват белези на ектопична тъкан, подобна на лимфен възел с наличие на клъстери на В-клетки и плазмоцити [56, 58]. Как се стига до загубата на толеранс, как се индуцира синтезът на PR3-ANCA от автореактивните плазматични клетки в началото на болестта и как се поддържа процесът все още остават загадка. Важността на В-лимфоцитите за патогенезата на AAV се потвърждава от клиничната ефективност на В-таргетната терапия. Субпопулации на В-лимфоцитите, в най-голяма степен регулаторните В-клетки (Bregs), са изследвани като потенциални биомаркери, тъй като са свързани с инхибирането на автоимунните болести. Eriksson и сътр. установяват, че CD25+В клетките нарастват при клинична ремисия [59]. Bunch и сътр. описват дефицит на CD5+В-клетки при пациенти с AAV, сравнени с контроли [60]. В проучването RAVE (Rituximab versus Cyclophosphamide in ANCA-associated Renal Vasculitis) след първоначално намаление на броя на CD5+В-клетките, при по-нататъшно проследяване те прогресивно нарастват при пациентите на ритуксимаб, но остават ниски в групата на циклофосфамид [61]. Данните също сочат, че възстановяване на периферни В-клетки е имало при всички рецидиви и че пациентите с продължителна В-клетъчна деплеция са с ниски нива на релапси.

**5.2. Патогенен Т-клетъчен отговор, тъканно увреждане и формиране на грануломи:** Т-лимфоцитите също са замесени в патогенезата на ANCA асоциираните васкулити. При пациентите с ГПА се установяват и повишен брой активирани Т-клетки, включително и увеличени нива на разтворимите форми на IL-2 рецептора и CD30, като това повишение корелира с нивото на антинеутрофилноцитоплазмените антитела [62]. Установена е и поляризация като цяло в Th1/Th2 имунния отговор при болните с AAV. Наблюдава се преобладаване на Th2 цитокинов

профил при пациентите с активна генерализирана ГПА и СЧЧ, докато Th1 имунният отговор се установява по-скоро при пациентите с локализирана форма на ГПА и МПА. Има доказателства, че превключването от Th1 към Th2 имуен отговор може да доведе до прогресия на локализираната в генерализирана форма на ГПА [62]. Преобладаването на Th2 имуен отговор е свързано с преимуществена секреция на антитела и при предразположени индивиди – до секреция на ANCA. Един от възможните механизми се свързва със т. нар. суперантигени като стафилококовия ендотоксин, отделящ се по време на инфекция. Това довежда до неконтролируема активация на множество Т-клетъчни клонове с последващо активиране на патологични автореактивни В-лимфоцити и секреция на ANCA. Тази неспецифична активация на голямо количество Т-клетки има за резултат и формиране на грануломи. Последващата стимулация (или т. нар. процес на праймиране) на неутрофилите от повишеното количество на Th1 цитокините, вследствие на предшестващата инфекция – тумор-некротизиращ фактор-алфа (TNF- $\alpha$ ) и интерлевкин-1-бета (IL-1 $\beta$ ), води до транслокация на ANCA антигени (PR3 и MPO) от цитоплазмените гранули на неутрофилите към клетъчната повърхност, където те са достъпни за свързване с вече секретирани ANCA. Това води отново до последваща активация на неутрофилите и продукция на реактивни кислородни радикали, дегранулация с освобождаване на инфламаторни цитокини и съдържимото на гранулите (PR3 и HLE), което предизвиква ендотелноклетъчно увреждане с последващо лизиране на клетки. Неутрофилната активация е последвана от адхезия (чрез променената вече експресия на ICAM-1, VCAM-1), миграцията им през ендотела (чрез PECAM-1) и освобождаване на активни кислородни радикали и протеазни ензими в тъканите. Това от своя страна също потенцира допълнително Т-клетъчната пролиферация и формирането на грануломни огнища (фиг. 2). Грануломите при ААВ приличат на герминативни центрове на

активирани лимфни възли, с клъстери от стимулирани неутрофили, обградени от дендритни клетки, Т- и В-лимфоцити. На този етап от развитието на възпалението преобладават основно Th1 цитокините. Има данни, че серумните нива на разтворимите TNF- $\alpha$  рецептори са повишени при грануломатоза с полиангиит в активен стадий и се нормализират при ремисия. В подкрепа на това твърдение са експерименти, проведени с животински модели, които показват, че антитела срещу TNF- $\alpha$  подчертано намаляват формирането на грануломи. Установено е, че индуцираната от ANCA активация на неутрофилите се повишава значително от TNF- $\alpha$ , което води до засилено освобождаване на кислородни радикали и други токсични компоненти на гранулите [63, 64, 65], последваща сензибилизация на неутрофилите и моноцитите към ефектите на ANCA и до повишена експресия върху клетъчната им повърхност на протеиназа-3 и миелопреоксидаза [66, 67]. Патогенетичната роля на TNF- $\alpha$  в развитието на бързо прогресиращите гломерулонефрити [67-71] е обект на специален интерес. В експериментални модели инжектирането на мишки дори на малки дози TNF- $\alpha$  повишава гломерулното увреждане и води до нефрити [70]. От друга страна, блокадата му води до потискане на острото възпаление на гломерулите и на образуването на полулуния и модулира продукцията на други проинфламаторни цитокини [71]. Noronha и сътр. през 1993 г. установяват наличие на имунореактивни клетки за TNF $\alpha$  в активни васкулитни лезии (в гломерулите, интерстициума и перивазално) при 21 от 22 бъбречни биопсии на пациенти с грануломатоза с полиангиит и микроскопски полиангиит, също така в клетките и в полулунията около некротичните лезии и в съдовете на артериите и артериолите с активни лезии [72]. Пациентите с ANCA гломерулонефрити са със сигнификантно по-високи серумни нива на TNF- $\alpha$  в сравнение със здрави контроли [72].

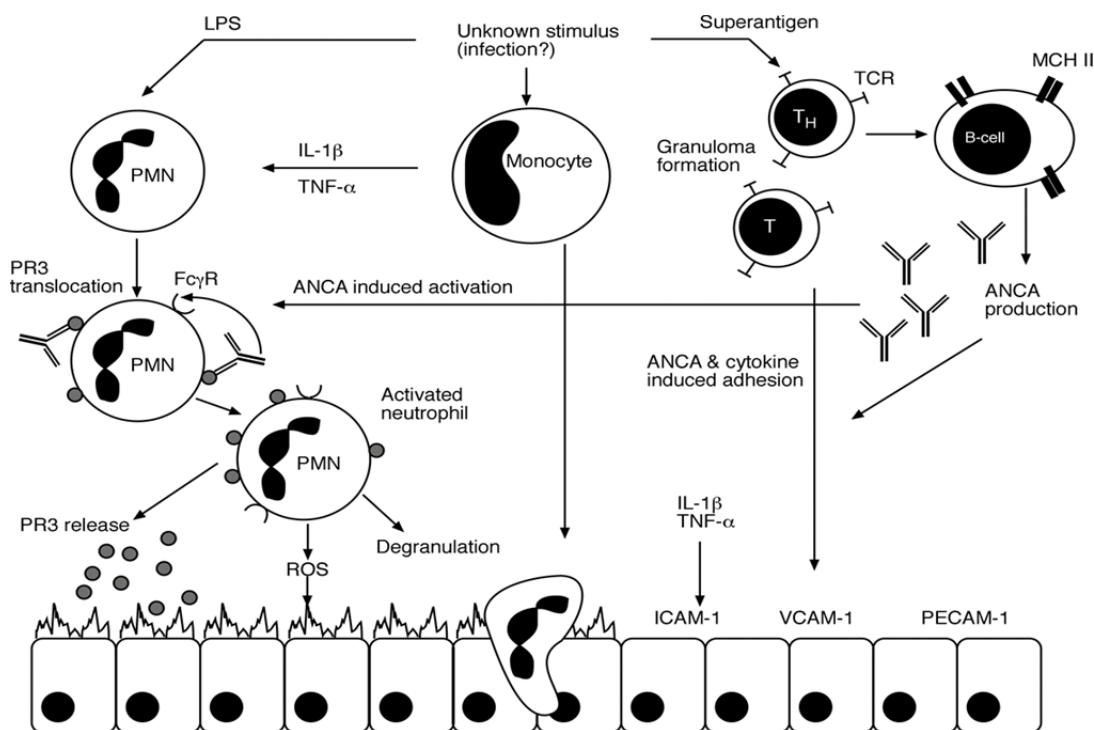
Подобни са и моделите на автоимунен анти-GBM асоцииран гломерулонефрит при скид мишки с липсващи CD4+Т-клетки, които след инжектиране на анти-GBM антитела развиват сигнификантно по-малко полулуния, сравнени с контроли [63] – т.е. това проучване категорично подкрепя становището за участие на Т-клетъчния отговор в патогенезата на гломерулонефритите и грануломните лезии. По тези причини блокадата на TNF- $\alpha$  се смята за възможна терапевтична стратегия при AAV. Повечето описани случаи са на off-label използване на adalimumab, etanercept или infliximab при рефрактерни случаи, където те са добавени към провежданото лечение с кортикостероиди и имunosупресори, като се предполага, че анти-TNF терапията може да е полезна при AAV [73, 74]. Голямо проспективно проучване с infliximab показва, че 88% от пациентите с тежка болест достигат до ремисия [75]. Подобни са данните и от използването на adalimumab като допълнителна терапия към циклофосфамид и КС, където ремисията е около 80% след три месеца лечение [76].

Т-супресията е особено важна за силата на възпалителния отговор. Т-регулаторните клетки модулират узряването и функцията на дендритните клетки, повишената продукция на IDO повишава разграждането на триптофана до kynurenines и други метаболити, което води до супресия на Т-ефекторните клетки. Chavele и сътр. доказват, че разградните метаболити на триптофана може да предизвикат потиснат Т-клетъчен отговор при имунизирани с миелопероксидаза животински модели [77]. IDO се повишава по принципа на обратната връзка от проинфламаторните цитокини в опит да модулира имунния отговор [77-80].

Хроничната инхибиция на IDO и последващото понижено разграждане на триптофана водят до повишена активност на миелопероксидаза и до развитието на тежък гломерулонефрит. Те смятат, че модуляцията на автоимунния MPO-специфичен отговор може да се постигне с регулация на IDO и на разграждането на триптофан. IDO се повишава по

принципа на обратната връзка от проинфламаторните цитокини в опит да модулира имунния отговор [77].

Множество нови данни установяват и участието на провъзпалителния Th17 имуен отговор при ААВ. Установено е сигнификантно повишаване на секрецията *in vitro* на IL-17 от CD4+(Th17) клетките при пациенти с грануломатоза на Вегенер [81]. Авторите изказват становище, че увеличените нива на IL-17 индуцират секрецията на хемокини и проинфламаторни цитокини (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ), способни да повишат експресията на PR3 на повърхността на неутрофилите.



**Съкращения:** ROS-реактивни кислородни радикали; HLE-човешка левкоцитна еластаза; ICAM-интрацелуларни адхезионни молекули; VCAM-съдовоклетъчни адхезионни молекули; PECAM-тромбоцитни ендотелноклетъчни съдови молекули; TCR-T клетъчен рецептор; PMN-полиморфонуклеарни клетки.

Фигура 2. Участие на специфични T-клетъчни субпопулации в патогенезата на ААВ и в частност ГВ. (Mohamad Abdgawad, *History, Classification and Pathophysiology of Small Vessel Vasculitis*)

### 5.3. Участие на неутрофилите в имунопатогенезата на ААВ

Нетозата (NETosis) е уникален механизъм на клетъчна смърт, присъщ единствено на неутрофилите, различен от апоптозата и некрозата. Той

е свързан с процеса на образуването на реактивни кислородни радикали и се характеризира с формирането на т. нар. извънклетъчни неутрофилни „капани“ (NETs). Тези капани се образуват, когато вследствие на активация на неутрофилите от големи антигенни структури, които не могат да бъдат фагоцитирани, или поради стимулация от ANCA, неутрофилите изливат в междуклетъчното пространство съдържимото на гранулите и други вътреклетъчни структури, което води до нарушаване на целостта на клетката и последваща смърт. Структурата на NETs включва хроматин съдържащи филаментозни структури, различни белтъци, включително и ензими като PR3 и MPO [82]. Доказателство за това са установени възпалителни лезии в бъбреците при пациенти с ANCA позитивни ГПА, съдържащи NETs, което предполага, че PR3 индуцираната NETosis играе роля в патогенезата на този вид заболявания [83]. От друга страна „праймирането“ на Т-клетките от тези NETs засилва Т-клетъчния отговор към различни антигени и показва многофакторността в имунопатогенезата на AAV [84].

**5.4. Моноцитна активация и продукция на проинфламаторни цитокини:** Анализ на биопсични проби от бъбречна тъкан на пациенти с AAV показва наличие и на моноцитна инфилтрация на гломерулните полулуния и грануломи [85]. При *in vitro* експерименти е установена ролята на моноцитите в патогенезата на AAV. Доказано е, че анти-неутрофилноцитоплазмените антитела стимулират моноцитите, с последващ синтез от тях на цитокини, хемокини и провъзпалителни молекули: IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 и тромбоксан A2 [62, 65, 86, 87]. Известно е, че TNF- $\alpha$  освен проинфламаторен притежава и силен прокоагулантен ефект [72, 88]. Той и други цитокини (основно интерлевкин-1 $\beta$ ) стимулират ендотелните клетки да синтезират инфламаторни фактори като PAF (активатор на плазминоген) [72] и простагландини, които водят до продукция на прокоагулантни фактори като инхибитора на плазминогенния активатор и/или понижаване на ендотелния повърхнос-

тен тромбомодулин [89]. TNF- $\alpha$  и IL-1 могат да индуцират експресия на ендотелноклетъчни адхезионни молекули като ICAM-1, ELAM-1, VCAM-1 и да улеснят адхезията и закрепянето на полиморфонуклеарите [72, 90]. Имунопатогенетичната роля на TNF- $\alpha$  е добре установена в животински модели на AAV, но данните от клинични проучвания не са достатъчни.

**5.5. Ендотелноклетъчна активация и експресия на адхезионни молекули:** Ендотелната увреда, инвазията на неутрофили и некрозата са хистологични характеристики на AAV. При тази група заболявания в серумите на пациентите се наблюдават повишени нива на ендотелни протеини (тромбомодулин, фактор на фон Вилебранд, vWF), адхезионни молекули (ICAM, VCAM). Woynodt и сътр. установяват сигнификантно повишени циркулиращи ендотелни клетки и фрагменти от некротични ендотелни клетки при пациенти с активни AAV [91]. Механизмът на ендотелноклетъчна некроза не е напълно изяснен. Независимо че са открити антиендотелноклетъчни антитела, тяхното значение е все още недобре изяснено. ANCA антигените, PR3 и MPO могат да се свържат чрез ендотелноклетъчни рецептори към ендотелните клетки [92, 93], което също да доведе до ендотелноклетъчна активация. От друга страна, е възможно ANCA-индуцираното активиране на неутрофилите да води до освобождаване на цитотоксични ензими, които да увредят ендотелните клетки. Има данни, че нивата на циркулиращ *angiopoietin-2* (ang-2), молекула с ключова роля в ендотелната хомеостаза, при пациентите с AAV с бъбречно увреждане корелират с повишен брой циркулиращи ендотелни клетки (ЕК). Данни от *in vitro* проучвания доказват, че съществува ендотелно-специфичен ангиопоетин (Ang) – Tie лиганд-рецептор система, която регулира откъсването на ендотелни клетки от интимата на съдовете и се изказва предположение, че Ang-2 може също да регулира откъсването на ЕК и да участва в имунопатогенетичните увреди на ендотел.

тела при AAV [93]. Не се пренебрегва и ролята на антиендотелноклетъчните антитела (AECA). Установено е, че те могат да доведат до увреждане или лизиране на ендотелните клетки чрез механизми, познати като комплемент-медирана цитотоксичност или антитяло-зависима клетъчна цитотоксичност (ADCC). Използвайки серум от пациенти с бъбречна болест и системен васкулит, Таекама и сътр. показват, че AECA участват в тези процеси, като променят показателите и фенотипната характеристика на култури от човешки умбиликални ендотелни клетки [93]. Holmen и сътр. пък установяват, че серум от болни с WG причинява аглутинация на стимулирани с TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  назални ендотелни клетки [94]. Това вероятно се свързва с още един механизъм на участие на AECA в патогенезата на васкулитите – чрез повишаване на левкоцитната адхезия към ендотелните клетки или чрез директното им стимулиране.

**5.6. Патогномоничност на ANCA:** Въпросът за патогенността на ANCA е отчасти спорен. При една част от пациентите с AAV те липсват, от друга страна, се откриват при болни с други ревматични заболявания. Отговор на въпроса дали ANCA са патогенни се основава на *in vitro* данни, *in vivo* животински модели и клинични проучвания. Те дават убедителни доказателства, че ANCA са патогенни при AAV поради факта, че ANCA-медираното активиране на неутрофилите индуцира преждевременното им дегранулиране в съдовете и ендотелноклетъчно увреждане. В подкрепа на това е и фактът, че докато PR3-ANCA се откриват само при 50% от пациентите с локализирана ГПА, то при тези с генерализирана форма се позитивират в 90% от пациентите. Освен това нивата на ANCA могат да се свържат с активността на болестта и с релапсите [95].

***In vitro* и *in vivo* проучвания, демонстриращи механизма на ANCA медираното съдово увреждане:** *In vitro* проучвания демонстрират, че ANCA играят роля в стимулацията (на „праймирането“) на неутрофилите, като по този начин индуцират дегранулацията на неутро-

филите, освобождаването на свободни кислородни радикали и литични ензими, което води до лизиране на ендотелните клетки [76]. Активацията на ANCA чрез свързване с неутрофилно специфичните антигени PR3 или MPO зависи от Fc рецепторите (FcγRIIIa, FcγRIIb) и β2-интегрин [97]. Други проучвания показват, че анти-MPO ANCA при хора и мишки са способни да предизвикат развитието на раусi-immune гломерулонефрит и васкулит. През 2002 г., Xiao и сътр. показват, че Rag 2<sup>-/-</sup> мишки, които са с пълен дефицит на T- и B-лимфоцити развиват тежък некротизиращ гломерулонефрит и васкулит на малките съдове, когато се инжектират с MPO рестриктирани спленоцити, докато мишките, получаващи нормални спленоцити, остават здрави. По подобен начин Rag 2<sup>-/-</sup> мишки, които са инжектирани с анти-MPO IgG развиват огнищна гломерулна склероза и полулуния, което показва, че антителата са патогенни и участват в процеса на съдова и тъканна увреда [1, 98, 99]. По-трудно се оказва изучаването на патогенността на PR3-ANCA, тъй като човешката и мишата PR3 не показват хомоложност. Патогенността на PR3-ANCA, причиняваща остро белодробно и бъбречно увреждане, е установена в три различни животински модела (хуманизирани миши модели – NOD/SCID) за развитие на васкулит, причинен от anti-PR3, като васкулит се развива и при пълната липса или при малко T- и B-клетки. При тези модели не са наблюдавани грануломи, което подкрепя хипотезата, че патогенезата на некротичното грануломно възпаление в респираторния тракт е различна от тази на системния васкулит и е T-клетъчно зависима [62, 100]. Разработени са миши модели на васкулит с тежък некротичен гломерулонефрит, подобен на този при вегенерова грануломатоза. Развива се болест, което предполага, че PR3-ANCA играе директна роля в патогенезата на PR3-ANCA свързана бъбречна болест [101]. Данните трябва да бъдат потвърдени и от други групи. Относно *in vivo* пручванията, свързани с патогенността на ANCA, Schlieben и сътр.

описват случай на пулморенален синдром при новородено, след пасивен трансплацентарен трансфер на анти-MPO антитела, преминали от майката [102]. Този случай дава основание да се смята, че сами по себе си анти-MPO антителата имат свойството да задвижат имунни механизми, свързани с тъканна увреда.

**Клинични проучвания демонстрират патогенността на ANCA:** В бъбречни биопсии на пациенти с AAV, Вајета и сътр. намират PR3, MPO, еластаза и лактоферин, разположени около лезиите с фибриноидна некроза, като протеиназа-3 и еластаза са в най-голямо количество във вътрешността на лезиите [99].

Освен ANCA са намерени и **други автоантитела**, които също са свързани с патогенезата на AAV. Проучвания с пациенти с MPO-ANCA показват, че в техните серуми се установяват и anti-moesin автоантитела. Смята се, че този вид антитела участват в процесите, свързани с индукция на секрецията на проинфламаторни цитокини и хемокини [103]. При някои от пациентите с AAV са намерени и антиплазминоген антитела, които вероятно са свързани с повишен риск от венозни тромбози и тежко протичане на бъбречното засягане [104, 105]. Тези антитела разпознават структура с протеазен домейн и наличието им корелира с венозни тромбози, което предполага тяхното участие в процеса на коагулация и/или фибринолиза [106, 107]. Съществуващата връзка между антиплазминоген антителата и коагулацията вероятно играе директна роля в гломерулната увреда и фибриноидната некроза, която е най-характерният признак на AAV, където медираната от ANCA активация на неутрофили и моноцити води до увреждане на гломерулите и малките съдове и развитие на фибриноидна некроза [108]. Предполага се, че тези антитела водят до продължаваща и изразена фибриноидна некроза при AAV. Проучване, проведено сред пациенти от Великобритания и Дания

с AAV, показва, че наличието на антитела корелира с намалена бъбречна функция и с характерни хистологични лезии от ПББ [109].

Проучвания демонстрират наличие в циркулацията на антитела срещу лизозом-свързан мембранен протеин-2 (LAMP-2) при пациенти с ANCA асоциирани гломерулонефрити [110, 111]. Връзката между LAMP-2 и ANCA асоциираните васкулити е установена през 1995 г. от Kain и сътр. [112]. В публикация от 2012 г. Kain и сътр. установяват честота на anti LAMP-2 при 81% при пациенти с ANCA асоциирани гломерулонефрити, сигнификантно по-висока от групата на здрави контроли и от две групи контроли с болни със SLE и не-ANCA гломерулонефрити [110]. По-нови публикации показват, че при ANCA негативни пациенти, анти-LAMP-2 антителата се свързват с експресираните гломерулни LAMP-2, вместо с неутрофилните LAMP-2 и така участват в патогенезата на гломерулонефритите [111]. Засега честотата и патогенността на анти-LAMP-2 са все още дискуссионни.

**5.7. Участие на системата на комплемента в патогенезата на AAV:** Проучвания, свързани със системата на комплемента, са показали, че активирането на комплемента по алтернативен път играе роля в патогенезата на AAV. Установено е, че много от факторите, освободени от неутрофилите след стимулацията им от ANCA, са свързани с активирането на комплементната каскада [98]. Наличието на фактор В (продукт от активирането на комплемента по алтернативния път) в плазмата, гломерулите и урината на пациенти с активен AAV се свързва с тежестта на бъбречното увреждане при тези пациенти [113, 114]. Gou и сътр. публикуват, че плазмените нива на C3a, C5a, разтворимите C5b-9 и Bb са повишени при 66 пациенти с активен AAV, сравнени с 54 пациенти в ремисия [113]. Същата група показва положителна корелация между нивата на Bb в урината със серумния креатинин при пациентите с активна

болест и обратнопропорционална корелация с процента на нормалните гломерули при бъбречна биопсия [113].

**5.8. Еозинофили и ANCA асоциирани васкулити:** Еозинофилия, при която броя на еозинофилите е  $> 10\%$  от общия брой на белите кръвни телца в периферната кръв и наличие на еозинофили извън съдовете са два от шестте критерия за поставяне на диагнозата ЕГПА според класификационните критерии на ACR от 1990 г. Въпреки наличието на периферна и тъканна еозинофилия при пациентите с васкулити, липсват достатъчно проучвания демонстриращи директната патогенетична роля на еозинофилите. Също така досега не са описани и животински модели на еозинофилни васкулити. Ролята на еозинофилите в патогенезата на ЕГПА се установява в клинични проучвания, използващи терапии, насочени специфично срещу еозинофилите [115]. При ANCA негативните пациенти еозинофилите са най-важният фактор, вземащ участие в органното ангажиране и увреждане и затова се обръща голямо внимание на механизмите, водещи до активиранто им. Еозинофилите участват в патогенезата на всичките три стадия от развитието на болестта. Първата фаза, където астмата е водещ симптом, е определена като неалергична еозинофилна астма и за нея са типични високи нива на еозинофили в храчка и наличие на еозинофилни гранули. По дефиниция те присъстват и във втората фаза, където е налице кръвна и тъканна еозинофилия. Установени са и продукти на дегранулацията на еозинофилите и неутрофилите във възпалителните и некротични огнища на органи, засегнати от EGPA. Едновременно с това пациентите с активна EGPA имат повишени серумни нива на IgE и имунни комплекси, съдържащи IgE. При тези пациенти след В-клетъчна деплеция и постигане на ремисия се наблюдават понижени нива на IL-5 и брой на еозинофилите, което подкрепя идеята за алергичен компонент и за участието на тези клетки в имунопатогенезата при EGPA [1, 116]. Предполага се, че еозинофилното възпаление

при CSS е резултат от активирането на Т-лимфоцитите. Намерени са повишени маркери на Т-лимфоцитно активиране, като разтворим IL-2 рецептор при пациенти с активна болест и те корелират с маркерите на ендотелно увреждане какъвто е разтворимият тромбомодулин. Т-лимфоцитите при пациентите с CSS освобождават основно Th-2 тип цитокини, като интерлевкин-4, интерлвекин-5, интерлевкин-13 и се счита, че те са отговорни за привличането, активирането и възпрепятстването на апоптозата на еозинофилите [1, 116]. В наскоро публикувано изследване на Fukushi et al. се демонстрира важната роля на еозинофилната ETosis (EETosis) при пациенти с EGPA. Пептидиларгинин деиминаза тип 4 (PAD4) медирано хистоново хиперцитрулиниране участва в отключването на EET. По време на EETosis в извънклетъчния матрикс се освобождава цитоплазмен галектин-10 и се образуват кристали на Charcot-Leyden, класически хистопатологичен белег на еозинофилно възпаление. Fukushi потвърди наличието на EETosis в проби от тъкани на пациенти с активен EGPA [117].

## **6. Хистопатологични находки при ANCA асоциираните васкулити**

Основните хистологични изменения при различните ANCA асоциирани васкулити са представени на таблица 2.

**Таблица 2. Характерни хистологични промени при ААВ**

ГПА (Грануломатоза на Wegener)	Васкулит; Образуване на грануломи; „Географски“ тип некроза.
ЕГПА (Синдром на Churg-Strauss)	Некротичен васкулит с еозинофили в съдовата стена и перивазално; Еозинофилни грануломи.
МПА (Микроскопски полиангиит)	Некротичен васкулит с фибриноидна некроза, без грануломи, без еозинофилия.

**6.1. Грануломатоза с полиангиит; Wegener's granulomatosis (ГПА):** Класически са некротизиращият грануломатозен васкулит на бе-

лите дробове и некротизиращ гломерулонефрит (Godman and Churg, 1954). Счита се, че може да присъстват във всеки орган, като модела на органно засягане се променя с течение на времето.

Хистологичната картина при ГПА е изключително разнообразна и включва широк морфологичен спектър: В белите дробове класическата находка е базофилната некроза, обкръжена от палисадно разположени епителоидни хистиоцити, което е т.нар. грануломатоза тип „географска“ некроза [1]. Васкулитът в белите дробове може да бъде под различни форми: да има само гигантски клетки без некроза или само фибриноидна некроза, или понякога да има инфилтрат от клетки на хронично възпаление. Той не винаги е очевиден, особено в белодробните биопсии, но това не променя диагнозата [1, 118, 119]. При ранните лезии при ГПА в белите дробове често не се наблюдава васкулит, а по-честа е некроза на коллагена с малки неутрофилни абсцеси, които с времето стават некротични с характеристиката на грануломатозно възпаление. Такива находки могат да се наблюдават и при засягане на орбитата. Капиляритът с хеморагии е чест и може да е единствената проява на ГПА в белите дробове [1, 120, 121]. Извън белите дробове грануломният отговор включва обикновено неутрофили и фибриноидна некроза, а в горните дихателни пътища васкулитът е сравнително рядък [1, 120, 122]. По принцип васкулитът при ААV се характеризира с липса или оскъдно количество имунни комплекси, отложени в съдовата стена (pauci-immune). Класическите локации на некротизиращ васкулит на малките съдове при ГПА са бъбреците (олигоимунен некротизиращ гломерулонефрит с полулуния) и белият дроб (остър белодробен капилярит). Кожните манифестации най-често показват левкоцитоклазичен васкулит, който е неразличим от този при ПАН или МПА [1, 122, 123].

Хистопатологичните доказателства за васкулит като олигоимунен гломерулонефрит или некротизиращ васкулит във всеки орган остават

златен стандарт за поставяне на диагнозата и за последваща оценка на пациентите с рецидиви на болестта. Тя е полезна и за отграничаването на активна болест от хронични увреждания като причина за клинично влошаване [124]. При ГПА с бъбречно ангажиране диагностичната стойност на бъбречната биопсия е много висока – 91,5% [125]. Биопсиите на ГДП често (в 68,4% от случаите) показват неспецифично възпаление и по-специфични находки, като грануломи или васкулит се наблюдават рядко [122]. Белодробните биопсии варират в тяхната диагностична чувствителност, като само 12% от трансбронхиалните биопсии са били позитивни за GPA и 66,7% за ЕГПА в проведено проучване. Отворената белодробна биопсия, независимо че е по-инвазивна, е с много по-висока диагностична стойност [118, 121].

**Диференциална диагноза на хистопатологичните находки при ГПА:** За грануломатозните лезии в белия дроб това най-често са други грануломатозни инфекции. И гъбичките, и туберкулозата може да имат подобни хистологични находки, вкл. и васкулит [120]. Това се отнася и за белодробните манифестации на ревматоидния артрит и некротизиращата саркоидоза. Белодробният капилярит при ГПА клинично е неразличим от другите форми на белодробни хеморагични синдроми. В бъбреците морфологичните промени са неразличими от другите *pauci-immune ANCA* асоциирани гломерулонефрити. Васкулитната морфология при ГПА е неразличима от тази при класическия ПАН и МПА.

**При ANCA асоциираните васкулити некротизиращият полунен гломерулонефрит се характеризира с това, че липсват или има оскъдно количество имунни комплекси, отложени в съдовата стена [124, 125].**

**6.2. Микроскопски полиангиит (МПА):** по дефиниция той е диагноза на изключването при пациенти с положителни ANCA и васкулит на малките съдове, без анамнеза за астма/алергичен ринит, без еозинофилия,

без грануломи от биопсията. Той е най-характерната форма на дисеминиран некротизиращ васкулит с фибриноидна некроза, като често е под формата на некротизиращ полулунен гломерулонефрит (в > 90% от случаите), кожен левкоцитоклазичен васкулит и белодробен капилярит [1, 123].

**6.3. Синдром на Чърз-Страус (СЧС):** Той е комбинация от еозинофилни тъканни инфилтрати, некротизиращ васкулит и грануломи с еозинофилен материал в центъра. На практика малко случаи при биопсия показват всичките три характеристики [13]. СЧС може да се раздели на три фази: ранна, или преваскулитна, на явен васкулит и на оздравяващ васкулит [126]. В ранната фаза не се наблюдава васкулит нито клинично, нито в биопсия. Обичайно тя показва само еозинофилни тъканни инфилтрати, което в белите дробове се манифестира като еозинофилна пневмония, но може да се прояви и като еозинофилен гастроентерит или лимфаденит. Във васкулитната фаза картината на некротизиращ васкулит с фибриноидна некроза не може да бъде различена от останалите васкулити, освен по еозинофилния инфилтрат в околните тъкани. Често васкулитът не е некротизиращ, а има само еозинофилни инфилтрати в съдовете без некрози, като може да има и грануломи. Може да бъде наблюдаван еозинофилен капилярит в белия дроб или еозинофилен левкоцитоклазичен васкулит в кожата, но те са редки (около 3% от случаите) [1, 126, 127]. В паренхимните тъкани са чести еозинофилните инфилтрати без васкулит, напр. еозинофилният миокардит. За постваскулитната фаза са характерни съдовите оклузии и загубата на еластичност [1, 127].

**Бъбречната биопсия** е златен стандарт за диагнозата, когато е налице бъбречно участие при AAV. Това важи с особена сила за тези AAV, които са ANCA негативни. EULAR и Европейската бъбречна асоциация-Европейска асоциация по диализа и трансплантация (ERA-EDTA) силно препоръчват провеждането на **биопсия** при диагностицирането и при по-нататъшното наблюдение, и при релапс на болестта [124, 125]. Кла-

сическите хистопатологични находки за ANCA асоциираните гломерулонефрити включват фибриноидна некроза, гломерулни полулуния и липса или оскъдност на имунни депозити в гломерулите (pauci-immune) гломерулонефрити. Някои пациенти с AAV имат атипични патологични находки като интерстициален нефрит и васкулит на vasa recta и липса на гломерулонефрит [114]. Бъбречната биопсия служи не само за диагноза при AAV, но има и прогностична стойност. Verden и сътр. разработват класификационна схема на базата на изхода на болестта и разделят бъбречната хистология при ANCA асоциираните гломерулонефрити на 4 класа (табл. 3): огнищен, полулунен, смесен и склеротичен [128]. Огнищният гломерулонефрит има  $\geq 50\%$  нормални гломерули и се свързва с добра прогноза от страна на бъбрека. Този с полулуния е с  $\geq 50\%$  гломерули с клетъчни полулуния и се свързва с възможност за възстановяване на бъбречната функция. Смесеният клас е с  $< 50\%$  нормални,  $< 50\%$  с полулуния и с  $< 50\%$  склерозирали гломерули и се асоциира с междинен риск за невъзстановяване на бъбречната функция. Склерозиращият клас съдържа  $\geq 50\%$  напълно склерозирали гломерули и се асоциира с по-лоша прогноза (голяма вероятност за бързо намаление на гломерулната филтрация и смърт в рамките на една година). Тази класификационна система е с доказано предиктивна стойност за изхода на болестта за период от 1 до 5 години [103, 114, 128].

## **7. Клинични форми на органно засягане**

Повечето ANCA асоциирани васкулити започват с продромална фаза с температура (45%), загуба на тегло (35-60%), миалгии (40%), артралгии (30-60%), които може да продължат 1-2 години. Клиничните находки са следните:

**Таблица 3. Хистопатологична класификация на AAV асоциираните гломеруло-нефрити, на базата на светлинна микроскопия**

Клас	
Огнищен	≥ 50% нормални гломерули
Полулунен	≥ 50% гломерули с клетъчни полулуния
Склерозиращ	≥ 50% напълно склерозирали гломерули
Смесен	< 50% нормални, < 50% с полулуния, < 50% склерозирали

**7.1. При грануломатоза с полиангиит, *Wegener's granulomatosis*** типичните патологични процеси са грануломатозно възпаление със или без некротизиращ васкулит на малките съдове [1, 129].

**7.1.1. Горни дихателни пътища.** Най-честите симптоми, с които се представя в началото болестта, са от страна на горните дихателни пътища. Тези симптоми се дължат на грануломатозно възпаление в носа (запушен нос, обструкция, изтичане на серозен или кръвенист секрет, крусти, епис-таксис, седловидна деформация), в устната кухина и орофаринкса (улцерозен стоматит, хиперпластичен гингивит), трахея (субглотисна стеноза), във външното ухо (хондрит), средното ухо (среден отит, мастоидит), в орбитите (“pseudotumor”, водещ до проптоза, протрузия на булбуса). Всички тези симптоми в началото не са съпроводени със системни прояви и признаци на васкулит. Това е клиничната изява на локализираната фаза на болестта. Поради това поставянето на диагнозата често се забавя до появата на системни или васкулитни прояви или, когато персистират симптомите въпреки проведеното антибиотично или хирургично лечение. Най-специфични за ГПА са перфорацията на септума, седловидната деформация на носа, деструкцията на конхи или стената на синусите, формирането на грануломни маси в параназалните синуси, слъзните жлези или орбитите, водещи до проптоза, или субглотисна стеноза с инспираторен стридор [1, 129, 130].

**7.1.2. Белодробни прояви.** В белите дробове симптомите могат да се дължат на грануломатозно възпаление и/или некротичен васкулит на малките съдове [1, 119, 123, 124, 131]. Белодробните грануломи (нодули, кавитации, неспецифични инфилтрати) се считат за белег на локализирана (ограничена) форма на болестта. Отличителен белег за тежка генерализирана болест са алвеоларните хеморагии и гломерулонефритът. Типичната проява на белодробния васкулит е пулмоналният капилярит с хеморагии със/без емболии [1, 119, 123, 124].

**7.1.3. Бъбречни прояви.** Най-честите манифестации от страна на малките съдове при ГПА от страна на бъбреците (бързопрогресиращ гломерулонефрит) и бял дроб (пулмонален капилярит), които заедно водят до пулморенален синдром, който трудно може да бъде клинично отдиференциран от други подобни синдроми (МПА, синдром на Goodpasture). Клиничните прояви включват хипертония, сигнификантна протеинурия, нефрозен или нефритен синдром, многообразните манифестации на бъбречната недостатъчност.

Независимо че грануломите основно са в респираторния тракт, всеки орган може да бъде засегнат от едното или от двете – грануломни маси или васкулит. Грануломни маси може да се образуват в кожата, мускулите, надбъбреците, уринарен тракт или яйчници, простата, млечни жлези, мозъчна обвивка [1].

**7.1.4. Признаци на васкулит на малките съдове при генерализираната ГПА от другите органи** според данните на Mahr et al., 2013, Holle et al., 2011, Stone et al., 2003, Hoffman et al., 1992 [1, 129-132] са от страна на:

- *Очите:* „червени очи“, дължащи се на еписклерит, склерит, периферен улцерозен кератит, ретинит, исхемия на очния нерв.
- *Кожен васкулит,* манифестиращ се като левкоцитоклазичен васкулит, пурпура, подкожни нодули, улцерации.

- *Сърдечно-съдова система*, засяга се рядко (< 10%) и най-често под формата на исхемична болест на сърцето, миокардит, перикардит, ритъмни нарушения или увреждане на клапния апарат.

- *Нервна система*: периферна – множествен мононеврит, сензомоторна полиневропатия или централна – мозъчни васкулити, пахименингити, парези на черепномозъчни нерви.

- *Гастроинтестинален тракт (по-рядко)*, характерни са кървене от ГИТ, абдоминална колика, дължащи се на чревен васкулит, доказващ се с ендоскопско изследване и хистологично. В тежките случаи се наблюдава чревна исхемия с некроза и перфорация.

- *Стави*: артралгии/неерозивен артрит.

Дори венозната система може да бъде поразена, като при ГПА нарастват тромбоемболичните събития, като честа находка при хистологично изследване се открива вентулит [133].

Пациентите с локализирана форма на ГПА обикновено прогресират в генерализирана форма с васкулитни прояви, но понякога ГПА (в 30% от случаите) може да започне с фулминантен пулморенален синдром. При около 5% от пациентите персистира фазата на локализираната болест без никаква последваща прогресия [129, 131].

**7.2. Микроскопският полиангиит** е некротизращ васкулит на малките съдове и води до развитието на бързо прогресиращ гломеруло-нефрит и/или белодробен капилярит, с последващи белодробни хеморагии. При него липсва грануломатозно възпаление, тук симптомите се дължат само на васкулита и те са от страна на:

**7.2.1. Бял дроб:** наблюдават се при > 30% от случаите. Най-типични са алвеоларните хеморагии, които се характеризират с диспнея и анемия, хемоптиза, кървава експекторация, обикновено предхождат дифузните белодробни хеморагии и дистрес синдром, дължащи се на частичен или пълен капилярит [134, 135]. Дифузното увреждане на алвео-

лите и интерстициалната белодробна фиброза се срещат главно при пациентите с рАНСА, и то преимуществено анти-МРО положителни и са усложнения на васкулита. Но може и да се наблюдава белодробна фиброза като изолиран процес в белия дроб при пациенти с рАНСА и anti-МРО, без никакви прояви на васкулит [136].

**7.2.2. Бъбрек:** Бъбречното засягане, преимуществено бързо прогресиращият гломерулонефрит (RPGN) е отличителната проява на МПА. Началните бъбречни прояви обикновено са скрити, като наличието на микроскопска хематурия, хиалинни цилиндри със/или без протеинурия предхождат влошаването на бъбречната функция. Бъбрекът участва в > 90% от случаите [1, 134, 136, 137].

**7.2.3. Кожа:** наблюдава се засягане при 30-60% от пациентите [1, 136, 138]. Обрив тип „палпируема пурпура“ по долните крайници е най-честата кожна проява. Може да бъдат наблюдавани също така язви в устната кухина, везикули, некрози, улцерации, възли, Livedo reticularis, еритем по пръстите и едем на лицето [1, 138, 139]. Левкоцитоклазичният васкулит е обичайната хистологична находка.

**7.2.4. Нервна система:** периферна невропатия (10-58%), най-често множествен мононеврит на периферни нерви (69% или ЧМН, порядко симетрична (12%) или асиметрична (19%) полиневропатия, рядко ЦНС – енцефалопатия, съдовомозъчни инциденти. Описан е пахименингит в резултат на некротичен васкулит на дурата [140, 141].

**7.2.5. Гастроинтестинален тракт:** симптоми се наблюдават при 30-60% от болните – абдоминална болка (32-58%) и/или кървене (29%). Може да има исхемия на тънки и дебели черва, улцерации и/или перфорации [1, 141-143].

**7.2.6. Очи:** блефарит, иридоциклит, склерит, васкулит на очното дъно, хориоидит могат да се срещнат при 30% от случаите, като те често остават клинично незабележими [143-146].

**7.2.7. Сърдечно-съдова система (ССС):** рядко (в 3% от случаите), наблюдават се остро настъпила застойна сърдечна недостатъчност, перикардит или инфаркт на миокарда от васкулит на миокардните или малките коронарни артерии [147-149].

Противоречиви са данните за засягането на **ушите, носа и гърлото** при МПА. Наблюдавани са леки, негрануломатозни, неерозивни възпаления в тези органи при 29% от пациентите с МПА [133, 134, 147, 149].

**7.3. Еозинофилия с грануломатоза и полиангиит, синдром на Churg-Strauss:** той се характеризира с еозинофилно и грануломатозно възпаление на респираторния тракт и некротизиращ васкулит на малките съдове (табл. 5).

Най-честите клинични манифестации и специфичните органи прояви са свързани със:

**7.3.1. Респираторен тракт:** Астмата е в дефиницията на заболяването във всички класификационни схеми. Тя се среща при почти всички пациенти (> 90%). Предшества васкулита при ЕГПА средно с 4 години. Параназалните синуси са ангажирани при почти всички пациенти (75%) обикновено това са алергични ринити, полипоза, намален слух от среден отит, максиларни синусити с полипоза. Възпалението обичайно е алергично или грануломатозно, като тежко некротизиращо възпаление се среща много по-рядко в сравнение с ГПА. Освен астма, останалите белодробните прояви са флукутиращи пневмонични инфилтрати (синдром на Löffler), белодробни хеморагии, плеврални изливи, еозинофилна пневмония, които са причинени от еозинофилно или грануломатозно възпаление със или без васкулит [1, 127, 150, 151]. Рентгенографията и компютърната томография (КТ) показват паренхимни инфилтрати при 75%. Най-вероятно те се дължат на еозинофилно или грануломатозно възпаление със/без васкулит. Срещат се и недобре отграничени, малки,

центрилобуларно разположени нодули, промени тип „матово стъкло“, перибронхити. Плеврални изливи се срещат при 10% от пациентите и се дължат или на застойна сърдечна недостатъчност, резултат на ангажиране на сърцето, или на еозинофилен плеврит [103].

**7.3.2. Кожна.** Около 50% от болните с AAV са със засягане на кожата [1, 127, 150]. Характерни са нодули и папули по екстензорната повърхност на ставите и представляват кожни екстравааскуларни грануломи (често с централна некроза), може да се наблюдават и петехиални обриви, палпируема пурпура, еритемомакулопапуларни лезии, разположени по долните крайници [150-153].

**7.3.3. Сърце.** Прояви от страна на ССС се наблюдават при 10-49% от случаите [152, 154, 155]. Дължат се на васкулит на миокардните или коронарните артерии; еозинофилни инфилтрати в миокарда; екстравааскуларни грануломи. Срещат се по-често при ANCA негативните пациенти и при тези с високи нива на еозинофили. Клиничните прояви са ендомиокардити, които могат да се усложнят с рестриктивна или конгестивна сърдечна недостатъчност (СН), миокардни инфаркти, сърдечен арест. СЧЧ засяга типично сърдечните вентрикули и диагнозата се поставя с ехокардиография (ЕхоКГ). Ендомиокардна фиброза, рестриктивна миокардиопатия и насложена интравентрикуларна тромбоза са животозастрашаващи усложнения [152, 155]. Остри или хронични перикардити и перикардни изливи със или без сърдечна тампонада може да са проява на еозинофилна инфилтрация на перикарда [152, 154].

**7.3.4. Нервна система.** Неврологични прояви се наблюдават при > 50% (по-често, отколкото при останалите AAV) [1, 152, 155]. Последица са от васкулит на епинеуралните съдове. Типични са асиметричните множествени мононеврити със смесена моторна и сензорна симптоматика, с внезапно начало с моторен дефицит, понякога силно болезнени. По-рядко се наблюдава дистална симетрична полиневропатия и радикулопатия.

Прояви от страна на ЦНС – обърканост, припадъци, кома, мозъчни инциденти, засягане на черепномозъчните нерви (ЧМН) са редки. Неврологичните прояви са по-чести при ANCA позитивните пациенти [1, 152, 155].

**7.3.5. Гастроинтестинален тракт (ГИТ).** Проявите от страна на ГИТ се срещат при 21-31% от пациентите. Симптомите варират: от коремни болки, гадене, повръщане, ГИ кървене до остър корем. Еозинофилен гастроентерит или колит и васкулит на тънките или дебелите черва може да доведе до чревна исхемия или улцерации и последващи перфорации [155, 156].

**7.3.6. Бъбреци.** Бъбречно засягане има при 1/4 от случаите (доста по-рядко, отколкото при другите AAV). Характеризира се със сравнително по-леко протичане и рядко води до бъбречна недостатъчност (БН). Хистопатологичните находки са като при МПА. Еозинофилно или грануломатозно възпаление на бъбреците е рядка находка при ЕГПА [1, 155-157].

Като допълнение към най-честите клинични манифестации може да се добави, че всеки един орган и система могат да бъде засегнат. Пациентите с ЕГПА имат склонност към тромбоемболични събития, като тези с ГПА [1, 133, 152, 155].

## **8. Диагностична стойност на антинеутофилните цитоплазмени антитела**

Антинеутофилните цитоплазмени антитела представляват аутоантитела с различни специфичности, насочени срещу антигени главно в азурофилните и цитоплазмените гранули на неутрофилите и моноцитите. За пръв път те са описани от D. J. Davies и сътр. през 1982 г. при пациенти с некротизиращ гломерулонефрит чрез индиректна имуофлуоресценция [1, 2, 3, 6, 158, 159]. По-късно ANCA са описани при пациенти със системни васкулити. Van der Woude и сътрудници, които през 1985

г. описват класическия тип светене на тези антитела, първи предполагат, че дифузното зърнисто цитоплазмено светене на човешки неутрофили (cANCA) при имунофлуоресценция е специфичен маркер за вегенерова грануломатоза и може да се свърже с активността на болестта [160, 168]. Впоследствие са били открити и таргетните антигени за ANCA като миелопероксидаза (MPO) и протеиназа-3 (PR-3). PR-3 е специфична серин-протеаза, намираща се в азурофилните гранули на неутрофилите и лизозомните гранули на моноцитите. Този ензим е физиологичен инхибитор на  $\alpha$ 1-антитрипсина [1, 161, 162]. Той притежава непротеолитична активност срещу бактерии и гъби [163]. При възпаление PR-3 се освобождава извънклетъчно, заедно с други компоненти на гранулите и с кислородни радикали и може да разгради колаген, протеогликани и други съставки на съединителната тъкан [164]. Миелопроксидаза се намира също в азурофилните гранули на неутрофилите и лизозомите на моноцитите. Тя катализира  $H_2O_2$ -медираното пероксидиране на хлорния йон в хипохлориста киселина [1, 158, 165], което убива фагоцитираните бактерии и вируси. Хипохлористата киселина и нейните метаболити могат да инактивират в кръвта и тъканите протеазни инхибитори като  $\alpha$ 1-антитрипсин [166]. Церулоплазминът може да инактивира пероксидазната активност на МПО и се явява физиологичен инхибитор на миелопероксидазата [166, 167].

**8.1. За какво ни служат ANCA.** Интерпретацията на положителните ANCA се прави на базата на комплексна оценка от клиничните, хистологичните и лабораторните показатели. ANCA са типична находка при ANCA асоциираните васкулити. Те обаче биха могли да се срещнат и при хронични възпалителни заболявания, инфекциозни заболявания, медикаментозно обусловени състояния, малигнени процеси. При ANCA асоциираните васкулити съгласно международен консенсус те биха могли да се използват: 1. Като скрининг за AAB и в подкрепа на диагнозата;

2. За оценка на активността на болестния процес; 3. Като прогностичен критерий за предвиждане на релапси. Трябва да се отбележи, че различните автори приемат с резерви някои от тези препоръки поради разнопосочните данни, получени при отделните проучвания [124, 158, 168].

Международният консенсус за установяване на ANCA препоръчва: Скринингово изследване с имунофлуоресценция (IF за установяване на pANCA, cANCA и др.). Положителните проби се потвърждават с ELISA за антитела срещу най-често срещаните антигени PR3 и MPO. При положителния тест за cANCA, ако са насочени срещу PR3 или pANCA, ако са насочени срещу MPO, има висока сензитивност и специфичност при диагностициране на AAB (само между 10 и 20% от пациентите са ANCA негативни). Важно е да се отбележи, че липсата им не изключва васкулит (пациентите с по-лека болест, особено при изолирана грануломатоза на горни или долни дихателни пътища обичайно са негативни за ANCA). Положителните ANCA не поставят диагноза васкулит (срещат се и при много инфекции – туберкулоза, лепра), възпалителни чревни заболявания, подостър бактериален ендокардит, SLE, криоглобулинемични васкулити, васкулити, индуцирани от медикаменти). Индиректната имунофлуоресценция (IF) се използва като скрининг, който дава представа за основните видове ANCA. Описани са четири типа на светене върху етанол-фиксираны неутрофили: 1. Класически цитоплазмен тип – cANCA, характеризира се с цитоплазмено зърнисто светене и отговаря главно на антипротеиназа-3 антителата. 2. Перинуклеарен тип – pANCA, с линейно перинуклеарно светене, отговарящо най-вече на антимиелопероксидаза антителата. 3. Атипичен, неспецифичен тип светене или xANCA, обикновено отрицателен при определяне на специфичния субстрат чрез различни имуноензимни методи. 4. Атипичен тип cANCA (acANCA) с дифузна, равномерна цитоплазмена флуоресценция, без изявена зърнистост, кореспондиращ с някоя от по-редките специфичности на ANCA [124, 158, 168].

**8.2. Клинико-имунологични корелации при ANCA асоциираните васкулити с различните видове ANCA.** При васкулитите позитивната cANCA се счита за серумен маркер за грануломатоза с полиангиит, а pANCA за маркер за микроскопски полиангиит [1, 10, 11, 124]. Цитоплазменият тип светене се индуцира от протеиназа-3, перинуклеарното светене се индуцира от миелопероксидаза [1, 10, 11, 124]. Тези зависимости не са абсолютни. Анти-PR3 антителата се считат за сензитивен маркер за активна грануломатоза с полиангиит. Като сензитивността зависи от разликите в методологията на изследване и на различните дефиниции, използвани за диагностицирането на състоянията. Ако са използвани по-либерални критерии, които не изискват хистологично доказателство, каквито са критериите на ACR, сензитивността на cANCA е само 28% [1, 158, 168]. Hagen и сътр. дават данни за 64% сензитивност на cANCA и 66% за анти-PR3 за наличието на ГПА [169]. Повечето от пациентите, които са били негативни за анти-PR3, са имали антитела, насочени срещу MPO или еластаза. Пациентите с активна ГПА, която е ограничена само в горния респираторен тракт, имат анти-PR3 в 2/4 от случаите [1, 170, 171]. Анти-PR3 се откриват и в 50% от случаите с МПА и по-малко при тези с некротизиращ олигоимунен ГН [147, 148, 168, 172, 173]. Когато всички тези данни се комбинират, специфичността на анти-PR3 за васкулит на малките съдове се изчислява на 98% [1, 173].

Анти-MPO антитела са откриват сред около 80% от пациентите с активен идиопатичен олигоимунен гломерулонефрит (NCGN) [168, 172], при 50% от пациентите с активен микроскопски полиангиит [1, 175], 60-70% от пациентите със СЧС [1, 176, 177] и при 20% с ГПА [1, 168, 178, 179]. Анти-MPO също така се открива при пациенти с други автоимунни заболявания, които не принадлежат към групата на идиопатичните васкулити на малките съдове, като анти-гломеруллобазално мембранно заболяване, СЛЕ, лекарствено индуцирани ГН. По тази причина специфич-

ността за анти-MPO, за наличие на васкулит на малките съдове, е по-малка от тази на анти-PR3 и е около 80% [168]. Между всички описани таргетни антигени за антинеутофилните цитоплазмени антитела, само тези, насочени срещу PR3 и MPO са тясно свързани с васкулитите на малките съдове (табл. 4).

**Таблица 4. Имунологична характеристика на ANCA асоциираните васкулити (по McLaren) [1]**

ANCA IIF	WG	MPA	CSS	Ограничен ренален васкулит
cANCA IIF	64%	23%	33%	36%
pANCA IIF	21%	58%	33%	45%
PR-3-ANCA ELISA	75% (65-80%)	40%	10%	45-55%
MPO-ANCA ELISA	20% (10-30%)	50%	60%	
Негативни	5%	10%	30-50%	---

Множество проучвания сравняват клиничните и хистопатологичните асоциации между пациентите с PR3-ANCA и MPO-ANCA. При директното сравняване на клиничните прояви при пациентите според техния ANCA статус Franssen и сътр., Schonermarc и сътр. установяват, че екстрареналните манифестации, формирането на грануломи и релапсите са по-чести при пациентите с PR3-ANCA в сравнение с тези с MPO-ANCA [92, 132, 179, 180, 181]. Анализ на бъбречни биопсии от 173 пациенти, направени при диагностицирането на васкулита, сочи, че бъбречните лезии са по-чести при MPO-ANCA позитивните лезии, сравнени с PR3-ANCA позитивните [182]. По-нови данни от проучване на Европейската група за изучаване на васкулитите и Асоциацията за геномни проучвания (EUVAS-GWAS) при ГПА и МПА потвърждават наличието на генетичен компонент при ААВ. Установени са генетични разлики между ГПА и МПА, които са свързани с ANCA специфичността и отговора срещу автоантигена PR3 (кодиран от

PRTN3), основна характеристика на PR3-ANCA асоциираните васкулити [183]. По този начин въпреки значителното припокриване са налице клинични и патологични разлики между пациентите с PR3-ANCA и тези с MPO-ANCA, което може да бъде резултат от различни патогенетични взаимодействия между ANCA и техните таргетни антигени и органното засягане. При около 10% от пациентите с ГПА не се откриват ANCA, нито с ИФ, нито с ELISA техники. ANCA негативните пациенти обичайно са с локализирана форма на болестта. ANCA негативните пациенти с генерализирана форма на ГПА са по-млади, по-често са жени, по-рядко се включват белите дробове и бъбреците и те имат по-ниски нива на релапси и са с по-добър изход от ANCA позитивните пациенти [183].

Въпреки че е установена тясна връзка между MPO-ANCA и микроскопския полиангиит, имунодиагностичната стойност на тези антитела не е така висока, както при PR3-ANCA и ГПА, понеже рANCA са намерени при различни възпалителни и автоимунни заболявания и не са толкова специфични за васкулит и гломерулонефрит. При МПА и гломерулонефрит в около 60% от случаите се наблюдават рANCA, и то предимно срещу MPO (в 60% от случаите). Могат да се наблюдават и/или антитела срещу минорни антигени, по-често еластаза, лактоферин и катепсин G, но обикновено титърът на anti-MPO е най-висок [1, 158, 159]. В по-редки случаи е възможно да бъдат открити и сANCA и анти-PR3-ANCA. Подобна имунологична картина се наблюдава и при ограничената форма на васкулит с гломерулонефрит. Нов специфичен маркер за огнищния некротизиращ гломерулонефрит са антителата срещу LAMP-2, които Cain и сътр. откриват при 93% от пациентите с посоченото заболяване. LAMP-2 (anty-lysosome-associated membrane protein 2) е гликолизиран мембранен протеин, експресиран в лизозомите и по повърхността на моноцитите, неутрофилите и ендотелните клетки [31, 110, 112, 185].

Що се отнася до клиничко-имунологичните корелации, множество проучвания сравняват органните манифестации между анти-PR3 и анти-MPO позитивните пациенти [168, 174, 175, 178, 180, 186, 187], като те показват, че тези пациенти имат различни спектри на болестни прояви. Ограничено бъбречно засягане се наблюдава при пациентите с анти-MPO, докато анти-PR3 се среща по-често при тези с ангажиране на горния и долния респираторен тракт в комбинация с бъбречно засягане. В допълнение анти-PR3 пациентите имат някои качествени и количествени разлики в сравнение с анти-MPO позитивните. Основната разлика е, че тези с анти-PR3 са с по-широко извънбъбречно органно разпространение, като при тях средният брой ангажирани органи е 3,9 срещу 2,2 при анти-MPO [132]. Грануломите преимуществено се срещат при пациентите с анти-PR3 и много по-рядко сред тези с анти-MPO. Souid и сътр. установяват, че дифузната алвеоларна фиброза и интерстициалната белодробна болест са по-чести усложнения при пациентите с anti-MPO ANCA, като фиброзата и васкулитът може да се развиват независимо един от друг [188]. Белодробна фиброза е описана като изолиран процес при пациенти с анти-MPO-ANCA, без други клинични белези на системен васкулит. Смъртността при пациентите с белодробна фиброза и анти-MPO-ANCA е била подобна на тази при идиопатичната белодробна фиброза, но по-лоша от фиброзата, свързана с други системни заболявания на съединителната тъкан, при които не са открити анти-MPO-ANCA [187, 189].

Честотата на бъбречното ангажиране (т. нар. бъбречна болест) не се различава между анти-PR3 и анти-MPO пациентите и е приблизително 75-90% [159, 172, 173, 180, 190]. Тя може да варира в хода на болестта. Hoffman и сътр. показват, че само 18% от пациентите с вегенерова грануломатоза са имали бъбречна болест в началото на заболяването, но 77% от тях впоследствие са оформили гломерулонефрит [129]. Бъбреч-

ните лезии, асоциирани с анти-PR3 и с анти-MPO, са по същество еднакви [160, 172, 190]. Franssen, Stegeman и сътр. установяват, че при поставянето на диагнозата анти-PR3 позитивните пациенти са имали повече активни лезии като гломерулна некроза, докато анти-MPO позитивните са имали повече хронични лезии като гломерулна склероза [179], което е свързано с по-бързо влошаване на бъбречната функция при пациентите с анти-PR3 преди започване на лечението.

Има натрупани данни за по-честото ангажиране на респираторния тракт при анти-PR3 положителни пациенти [132, 135, 159, 160, 168, 187]. Различава се и моделът на засягане. При анти-PR3 позитивните пациенти са по-чести белодробните кавитации, а при анти-MPO позитивните се наблюдава преимуществено алвеоларният капилярит с хеморагии [187, 188, 190-192]. В ретроспективно проучване Ter Maaten установява, че острата дихателна недостатъчност, причинена от белодробни хеморагии, е по-честа при анти-PR3 пациентите в сравнение с анти-MPO позитивните пациенти, което предполага, по-тежко протичане при анти-PR3 позитивните [191].

Съществуват и други органни манифестации. Докато бъбречното и белодробното ангажиране при МПА се асоциират с рANCA, то васкулитни изменения, свързани със сърцето, се асоциират по-често с ANCA негативните пациенти. Подобни са даните, съобщавани за пациенти със СЧС [1, 191, 193, 194]. Очно засягане е по-често наблюдавано при пациентите с анти-PR3 [168, 175, 187], а честотата на кожните и мускулоскелетните прояви е еднаква при всички ANCA асоциирани васкулити [137, 168, 171, 187].

При синдрома на Churg-Strauss картината е сложна и от клинична, и от имунологична гледна точка. Антитела се наблюдават само при 50% от пациентите с доказано заболяване и съответно при 50% те липсват [1]. При ANCA позитивната група се наблюдават по-често пурпура, бъб-

речно засягане, неврологична симптоматика, гастроинтестинално кървене [193]. ANCA негативните пациенти се отличават с по-често засягане на белодробния паренхим и сърцето. При биопсично изследване се наблюдава еднаква честота на грануломите и при двете групи, докато проявите на васкулит са по-чести при ANCA позитивните пациенти [1]. Данните от клинично наблюдение на кохорта от 93 пациенти със СЧС подкрепят данните за патогенетичната и болест-модифициращата роля на ANCA при СЧЧ. Прояви, свързани с васкулит, като пурпура, алвеоларни хеморагии, множествен мононеврит и гломерулонефрит са намерени по-често при ANCA позитивните пациенти в сравнение с тези без антитела [194, 195]. Съществуват данни, че релапсите при това заболяване се предхождат от покачване на еозинофилните нива и няма данни относно титъра на антителата [1]. Многоцентрови международни изследвания в последните години установяват дали спецификата на ANCA може да разграничи различни подгрупи или фенотипове на болестта. Pappo et al. в ретроспективно европейско проучване при 845 пациенти с EGPA анализират разпространението на ANCA-PR3 и техните клинични асоциации [195]. Интересното е, че в сравнение с MPO-ANCA и ANCA негативни пациенти, болните с PR3-ANCA са имали по-нисък брой на еозинофилиите, показали са по-рядко активна астма в началото на заболяването и са имали по-рядко нужда от системни ГКС. Освен това те имат по-често артралгии, кожни прояви и белодробни възли и по-рядко периферна невропатия. В хода на заболяването при сравнение с MPO-ANCA и ANCA отрицателни пациенти, EGPA ANCA-PR3 пациенти показват по-чести рецидиви и имат значително по-кратък период без рецидив на васкулит в сравнение с ANCA отрицателни пациенти. Тези данни категорично предполагат, че серотипът на ANCA трябва да се вземе предвид при класифицирането на пациентите и че различните фенотипове се нуждаят от специфично терапевтично поведение.

### **8.3. Други състояния, при които могат да бъдат открити ANCA и тяхното клинично значение**

**8.3.1. Хроничновъзпалителни и аутоимунни заболявания:** антитела предимно от типа рANCA могат да бъдат наблюдавани при много от системните аутоимунни заболявания, като лупус еритематозус, ревматоиден артрит, склеродермия, улцерозен колит, болест на Бехчет, или да бъдат лекарствено индуцирани [1, 158, 159, 196, 197]. При хроничните възпалителни заболявания на чревния тракт често се наблюдават ANCA, които могат да бъдат рANCA или атипични. Откриването на ANCA при улцерозен колит варира между 35 и 71%, предимно срещу MPO, но също така и срещу минорни антигени, като най-често се откриват срещу ВРІ и лактоферин, а наличието на антитела срещу катепсин G се свързва с по-изразена рефрактерност на заболяването [1, 158, 198]. Наличие на ANCA се наблюдава и при други аутоимунни гастроентерологични заболявания – при пациенти с първичен склерозиращ холангит, аутоимунен хепатит. През 1997 г. Merkel и сътр. предполагат, че антитела от типа рANCA, могат да се позитивират и при много други системни заболявания на съединителната тъкан, включващи ревматоиден полиартрит, системен лупус еритематозус, синдром на Sjogren, прогресивна системна склероза, антифосфолипиден синдром, полимиозит (PM) и дерматомиозит (DM) [197]. Nighighi и сътр. изследват 323 пациенти и наблюдават рANCA при 15,8%, като от тях 33% са с PSS, 25% са със SLE и 13,4% са с RA. По-малка е честотата при PM и DM (5%). Позитивен за сANCA е бил само един пациент [196].

**8.3.2. Лекарствено индуцирани ANCA:** Съществуват значителен брой публикации, които показват, че ANCA се индуцират от употребата на антиуреодни препарати – пропилтиоурацил, метамизол, карбимазол, както и при употребата на моноциклин. Обикновено при прекратяване на приема на препарата изчезват симптомите и се негативира иму-

нологията [1]. За разлика от идиопатичните васкулити лекарствено индуцираните ANCA васкулити по-често се проявяват само с кожно засягане, като особено е характерен уртикария-васкулитът. Друга характерна особеност на лекарствено индуцираните васкулити за разлика от идиопатичните е отсъствието на зависимост между титъра на ANCA и тежестта на клиничната симптоматика. Спад в титъра на антителата се наблюдава към третия месец след постигане на ремисия, но понякога те персistirат с години. Имунологичната характеристика на лекарствено индуцираните ANCA са обикновено атипичните xANCA или pANCA [1, 158, 198].

**8.3.3. Малигнени състояния и ANCA:** При много малигнени състояния се откриват различни автоантитела. През 1992 г. К. М. O'Neil и сътр. описват случай, при който картината на ANCA позитивен васкулит маскира картината на карцином на панкреаса [199]. Има съобщения за наличие на ANCA при асимптомно протичащ рак на стомаха, както и при недиференциран аденокарцином в областта на медиастиума [200]. Tatsis и сътр. откриват солидни тумори в 5% от случаите, като най-често срещан е карциномът на бъбрека [48]. Описани са случаи на позитивни ANCA при аденокарцином на белите дробове, рак на панкреаса, коло-ректален карцином [200-203].

## **9. Белези за активност и лоша прогноза**

В острата фаза на васкулитите е особено важно да се знае каква е активността на болестта, защото тя определя терапевтичния режим. В следващите етапи на болестта в дългосрочен план, стои въпросът за натрупване на ефекта от активността на болестта и развитието на белези, представляващи трайни увреди. Необходимо е да се отчете и ефектът на приложеното лечение и заедно с останалите показатели се оценява състоянието на пациента. Тежестта на заболяването се определя не само от

началната и последващата активност, но и от натрупването на увреждания. Като двете състояния – активността и трайните увреди, са определящи за прогнозата [204]. Броят на засегнатите органи от болестта е друг важен фактор, свързан с далечната прогноза [205]. Прегледът и изследването на степента на цялостното органно ангажиране дават по-дълбоко познание за общата тежест на болестта в сравнение с определянето на тежестта на определен важен орган, напр. бъбреци. От друга страна, усещането за благополучие на пациента е повлияно и от специфични фактори, които са строго индивидуални, а не само от тези, определящи активността и уврежданията.

**9.1. Инструментите**, които се използват за измерване на активността при ANCA асоциираните васкулити са няколко. Най-широко използвани са Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS) за GPA (Stone и сътр., 2001), Disease Extent Index (DEI) за GPA (De Groot и сътр., 2001) и петфакторния скор (FFS) [1, 204-207]. DEI индексът е създаден за определяне на дългосрочния изход от болестта и включва пълното разпространение на болестта, тъй като GPA за разлика от другите форми на васкулити има грануломатозни прояви в комбинация със съдово възпаление. BVAS/WG [1, 204, 207] е създаден като инструмент за краткосрочно определяне на активността на болестта и е предимно за нуждите на клинични проучвания. BVAS е клиничен индекс за болестната активност при васкулити, базиран на симптоми и признаци от 9 категории: признаци на системност; кожа; мукозни мембрани и очи; уши, нос и гърло; гръден кош; сърце; съдове; гастроинтестинален тракт; бъбреци и нервна система. Проявите се натоварват с определен брой точки и се отбелязват само ако се дължат на активен васкулит. Максималният скор е 63 точки. Той се използва за определяне на терапевтичното поведение и на отговора към терапията. Чрез него се дефинират ремисия, активност и ре-

лапс. BVAS е най-широко използваният инструмент за оценка на ANCA асоциираните васкулити и неговите елементи са дадени в Прил. 6.

Друг важен и широко използван маркер за определяне тежестта на болестта и прогнозата е петфакторният скор (FFS). Той се използва за определяне на терапевтичното поведение и помага за избягването на свръхлекуване при някои пациенти (Прил. 7). FFS отчита пет фактора, като тяхното присъствие е свързано с лоша прогноза. Наличието на всеки един критерий дава по 1 точка, като максималният скор е 5. При ревизирания FFS четири фактора са свързани с лоша и един с добра прогноза. Параметрите, които се свързват с по-висока смъртност, са: протеинурия ( $> 1$  g дн.); бъбречна недостатъчност (креатинин  $> 140$   $\mu\text{mol/L}$ ); кардиомиопатия, дължаща се на васкулит; прояви от страна на ГИТ; ангажиране на ЦНС. В проучване с 342 пациенти с ПАН и СЧС Guillevin и сътр. установяват, че когато FFS = 0, петгодишната смъртност е 12%, когато FFS = 1, смъртността е 26%, и когато FFS  $> 2$ , смъртността е 46% [1, 2, 208, 209]. FFS се използва като прогностичен инструмент основно при EGPA [1, 124, 210].

## ***9.2. Лабораторни тестове и биомаркери при ANCA асоциираните васкулити:***

***9.2.1. Кръвни и серумни маркери:*** Няма златен стандарт за лабораторен тест за измерване на статуса на болестта при системните васкулити. Възпалителните маркери като СУЕ и С-реактивен протеин (CRP), са неспецифични и не могат да разграничат придружаваща инфекция от активност на васкулита. Подобни са и асоциациите с антителата срещу PR3 или MPO, тези маркери са полезни за поставяне на диагнозата при ANCA асоциираните васкулити в комбинация с определени клинични и патологични находки, но те не са така полезни при изследване на активността на болестта при пациентите с вече поставена диагноза и като предиктори на релапс [211]. Някои ранни проучвания предполагат, че

при пациентите, които са ANCA негативни по време на ремисия или при тези, които са позитивни и имат стабилни нива на антителата, нарастването на титъра може да се използва като маркер за предстоящ релапс на болестта, което би трябвало да доведе до промяна в лечението [212]. Boomsma, Stegeman и сътр. показват, че релапсите се случват при тези болни с грануломатоза на Вегенер, които са постоянно или периодично сANCA позитивни [213]. В метаанализ на 9 проучвания Tomasson и сътр. установяват, че повишението в нивата на ANCA или персистиращите позитивни ANCA могат да се свържат с обостряния на васкулита [214]. Има и проучвания, показващи, че нарастването на сANCA, установени с IIF, не винаги е съчетано с паралелно повишение и на анти-PR3. В случаите, когато има нарастване на титъра на сANCA в комбинация с нарастване на анти-PR3 антителата, почти винаги следва екзацербация на болестта [212]. Кетна и сътр. твърдят, че периодични измервания на ANCA могат да бъдат полезни при групата пациенти с бъбречно ангажиране [215]. Те установяват, че повишението в титрите на ANCA клинично значимо корелира с релапсите при пациентите с бъбречно ангажиране, но не намират асоциация при болните без бъбречна болест. От друга страна по-малко от половината от болните с нараснал титър получават релапс на болестта в рамките на една година, което прави трудна преценката дали да лекуваме превантивно тези болни. Това, което със сигурност се знае на този етап, е, че този тип болни трябва да бъдат стриктно наблюдавани за други белези на активност.

Според доста автори пациентите, които имат позитивни PR3-ANCA при диагностицирането, имат повишен риск от релапс в сравнение с положителните MPO-ANCA [216, 291-221]. Важно е да се отбележи, че в повечето проучвания е наблюдавана зависимост между нарастването на PR3-ANCA и релапсите при пациентите, лекувани с циклофосфамид. Такава зависимост не е наблюдавана при тези, лекувани с друга терапия,

напр. метотрексат. По-нови данни за връзка между ANCA и релапсите са установени при лечението с rituximab [216]. Данните за ролята на ANCA като предиктор на релапси са противоречиви [210, 213, 214, 216-218]. Повечето рецидиви са били предшествани от повишение на ANCA, но има данни и за много случили се релапси без съществена промяна в ANCA. Персистиращите позитивни ANCA или сероконверсията от негативни към позитивни ANCA също се свързва с повишен риск от релапс [222, 223].

За MPO-ANCA също има установена връзка между релапсите и нарастването на титъра на антителата, но големи проучвания за MPO-ANCA липсват. Наличните данни предполагат, че пациентите със системни васкулити, които имат постоянно положителни анти-MPO и са в клинична ремисия, рядко получават релапси [214, 217, 221]. Години след спиране на медикамента и пълното отзвучаване на симптомите пациентите с лекарствено индуциран гломерулонефрит може да имат персистиращо високи анти-MPO [198].

Освен класическите ANCA и други антитела могат да бъдат използвани като маркери на болестна активност. LAMP-2 се откриват при 80-90% от пациентите с AAV, като бързо се негативират след започване на имunosупресивното лечение и са редки по време на ремисия, но се връщат при релапси [184, 185, 224] и вероятно ще бъдат нов биомаркер за диагноза и мониториране на болестната активност и основа за решаване на нуждата от имunosупресивно лечение .

Moesin е член на фамилия протеини, която свързва актина към плазматичната мембрана. Проучване при 60 японски пациенти с MPO-AAV намира антимоезин антитела при половината болни. Открити са и при активна болест, и при ремисия, но се асоциират с повече трайни бъбречни увреди (с повишени азотни тела, креатинин, протеинурия) [104, 105, 225]. Плазминогенът е ключов протеин за фибринолитичната

система и антитела, насочени срещу него са открити при 24% и 26% от пациентите съотв. от английската и датската кохорта и само при 2% от здравите контроли. Наличието им корелира с тежестта на гломерулното увреждане и активността на болестта [107, 109]. Подобни данни са установени и за китайска кохорта от 104 пациенти (при 18% от болните с активна болест и само при 2% от тези в ремисия). Установени са и корелации между титъра на антителата, стойностите на СУЕ, бъбречната функция и данните от бъбречната биопсия [105].

Pentraxin-3 е складиран в неутрофилните гранули и се експресира върху повърхността на апоптотичните неутрофили [226]. Антителата срещу пентаксин-3 са измерени при 150 пациенти с ААВ и при здрави контроли. Те са открити при 37% от болните с васкулити и при 5,3% от контролите. Нивата са били по-високи при пациентите с висока активност на васкулита, сравнени с тези в ремисия [226].

Заедно с клиничното фенотипизиране важно е и идентифицирането на нови биомаркери, които са в състояние да разграничат болестната активност от хроничното увреждане. Традиционните биомаркери като протеинурия, креатинин и хематурия са често неспецифични и могат да бъдат по-скоро израз на остатъчни гломерулни увреди, отколкото активен васкулит, особено при пациенти с прогресираща склерозираща гломерулна болест.

CD163 е мембранен протеин, преимуществено експресиран от моноцити/макрофаги, чиято тъканна и уринна концентрация доказано корелира, и то с забележителна специфичност, с бъбречната активност [227]. Резултатите от мултицентрово сътрудничество установиха кои точно са стойностите и нивата на CD163, способни да диференцират васкулитни пристъпи от мимики, включително и от остра бъбречна увреда от други причини. През 2021 г. проспективно проучване на Ahn и сътр. показа, че серумните нива на YK-L 40 са значително повишени при

пациенти с AAV с активно и тежко заболяване, дефинирано от високи BVAS и FFS [228], нивата на YK-L 40 се променят в съответствие с BVAS.

**9.2.2. Уринни биомаркери:** Анализ на седимента на урината и протеинурията е полезен за ранно откриване на релапси при AAV с бъбречно засягане, но те не са специфични, могат да са израз на бъбречна фиброза, а еритроцитурията може да персистира в продължение на месеци или години въпреки клиничната ремисия [113, 229, 230]. Два нови уринни биомаркера показват обещаващи резултати като предиктори на активност на болестта при AAV. Monocyte-chemoattractant protein-1 (MCP-1) е хемокин, който привлича моноцитите в зоните на възпаление. Установено е, че неговото количество нараства при пациенти с AAV и активна болест, в сравнение с други форми на гломерулонефрити със специфичност 94% и чувствителност 89% и повишените нива се свързват с по-лоша прогноза и релапси [229-231].

O'Reilly и сътр. показват, че уринният разтворим CD163 (hemoglobin scavenger receptor), секретирани от моноцитите и макрофагите, е подчертано по-висок при пациенти с активна болест, сравнени с пациенти в ремисия в група от 177 болни с AAV. Те установяват чувствителност 83% и специфичност 96% за откриване на бъбречен васкулит [227]. Следователно тези два маркера (MCP-1 и CD163) могат да се използват за установяване на релапс на бъбречното заболяване при AAV и да разграничат пациентите с недиференцирано остро бъбречно заболяване, когато серологичните маркери или хистопатологичните находки са неспецифични.

Взети заедно с изследването на процента и абсолютния брой на В-лимфоцитите, системата на комплемента (C3, C4, CH50), всички тези нови антитела, изглежда, могат да идентифицират групата пациенти с по-тежка болест и да бъдат полезни за персонализиране на терапията.

## 10. Прогноза на ANCA асоциираните васкулити

Да се направи прогноза на пациентите с васкулити е важна част от менажирането на болестта. Прогнозата трябва да се направи не само от гледна точка на преживяемостта и смъртността, но също така и дали е добра или лоша по отношение на качеството на живот на пациентите. Разполагаме с няколко прогностични инструмента. Основните са Five Factor Score (FFS) и BVAS.

Петфакторният скор (FFS) е прост прогностичен инструмент, който е ефективен не само при ПАН и СЧЧ, но и при останалите ANCA асоциирани васкулити. Две големи проучвания на активността при васкулити показват, че BVAS дава много добра прогностична информация при новооткритите васкулити [204, 207]. Висок BVAS при поставянето на диагнозата е предиктор на последваща лоша прогноза, но също предсказва и отговора към терапията [141, 204]. Счита се, че най-ефективният предиктор за лоша прогноза, с който разполагаме, е Vascular Damage Index (VDI) [1, 204, 205] (Прил. 8). Мултиорганно, мултисистемно ангажиране, установено с VDI, при пациентите в първите две години от болестта е показателно за последващо нарастване на риска от смърт. Пациентите с повече от пет признака на VDI за следващите шест месеца имат риск за смърт 17:1, сравнени с пациентите с пет или по-малко признака, като това се отнася особено за случаите, когато са засегнати сърдечно-съдовата и нервната система [205]. Сравняването на VDI скората при пациенти, които впоследствие са починали, с такива, които са преживели 5 години, показва, че са починали пациентите, които са имали по-голям брой елементи от VDI и засягане на повече органи с трайни увреждания [205, 232]. Освен това натрупването на нови елементи е било характерно за групата на починалите. Признаците за определяне на Vascular Damage Index са показани в Прил. 8.

Като цяло васкулитите се промениха от животозастрашаващи болести с кратка преживяемост към хронични заболявания, макар и с по-

кратка продължителност на живота в сравнение с общата популация. До средата на 1980 г. при нелекуваните болни с ГПА 82% от пациентите са умирали в рамките на една година, а над 90% – на две години [1, 233]. Основните причини за смърт са на първо място, уремия на базата на бързо настъпила бъбречна недостатъчност и на второ място, респираторна недостатъчност [1, 235]. Петгодишната смъртност е 100%. Според Mohammad и сътр., 2009, и Takala и сътр., 2010, нивата на петгодишната преживяемост са между 71 и 84% [24, 233]. Проучване на EULAR, публикувано през 2008 г., констатира, че от трите васкулита най-висока петгодишна преживяемост е наблюдавана при ГПА – 74-91%, за МПА нивата са 45-76% и за ЕГПА – 60-97% [235]. Данни от 2023 г. от европейски регистри на ANCA асоциирани васкулити показват средно ниво на смъртност 28.8% (CI 19.7-42.2) за 1000 пациентогодини и среден проследяващ период 6.2 години [25]. Все още остава висока ранната смъртност през първата година след диагнозата, която се дължи главно на инфекции (пневмония, цитомегаловирусна, сепсис, *Pneumocystis jiroveci*) и на висока активност на васкулита, изискваща интензивно лечение [131, 234] особено при млади мъже. Други лоши прогностични фактори са възраст над 50 години, нарушения в бъбречната функция [24, 234] и сърдечно и гастроинтестинално ангажиране [130, 209, 232]. Дългосрочната прогноза се определя от ендотелната дисфункция при тези състояния и повишения риск от кардиоваскуларни инциденти, но също така и от повишения риск от инфекции, свързани с имunosупресивната терапия и от малигнени заболявания [1, 237]. Рискът от сърдечносъдови инциденти е особено повишен при по-възрастните пациенти с предшестваща хипертония и MPO-ANCA статус [1, 233]. Малигненостите се свързват с употребата на цитотоксични медикаменти, в частност циклофосфамид, и са дозозависими. Наблюдения показват честота на злокачествени заболява-

ния от 1,6-2,4%, особено за карцином на пикочния мехур, левкемия, лимфом, немеланомен карцином на кожата [129, 237-239].

Установено е, че клиничният тип на васкулита (GPA&MPA), серотипът на ANCA (PR3&MPO), наличието на ANCA (положителен & отрицателен) се свързват сигнификантно с повече релапси [124, 217, 235, 239, 240]. Рискови фактори за релапс освен серотипа на ANCA са още участието на органи като ушите, носа и гърлото, носителството на Стафилококус ауреус при PR3-AAV, кардиоваскуларното ангажиране и нарастването на титъра на ANCA при пациентите с бъбречно ангажиране [27, 215]. Систематичен преглед на данните показва по-лоша преживяемост при болните с МПА в сравнение с тези с ГПА [159, 240, 241]. Множество проучвания не намират отчетлива разлика в преживяемостта между пациентите с PR3-AAV и MPO-AAV, но някои намират влошена преживяемост при тези с PR3-AAV [240]. Преживяемостта при болните с PR3-AAV се определя в по-голяма степен от наличието на дифузни алвеоларни хеморагии в началото на болестта и от бъбречните релапси през проследявания (follow-up) период [215, 240, 242]. При пациентите с MPO-AAV преживяемостта по-скоро се определя от настъпването на бъбречна недостатъчност [239, 240, 243]. Самата бъбречна преживяемост при пациентите корелира обратнопропорционално със стойностите на серумния креатинин преди започване на лечението [239, 242, 244, 245], а също и с процента на склерозиралите гломерули, степента на тубулна атрофия и разпространението на артериоларната склероза от бъбречната биопсия при поставянето на диагнозата [240, 244, 246, 247]. Установено е, че степента на протеинурията при диагностициране има отношение към преживяемостта на бъбрека при анти-MPO позитивните пациенти. Пациентите с протеинурия < 2 g на ден имат по-добра дългосрочна прогноза от тези с протеинурия > 2 g на ден [245].

Не се открива разлика в честотата на възникване на инфекции при PR3-AAV и MPO-AAV. Пациентите с MPO-AAV са с по-голям риск от кардиоваскуларни усложнения на 5-ата година от диагнозата, няма разлика при тромбоемболичните събития [248] и при настъпването на злокачествени заболявания при двата вида васкулит [238, 239]. Трябва да споменем и голямо международно многоцентрово проучване, публикувано през 2021 г., което изследва рискови фактори за венозен тромбоемболизъм (VTE), добре известно усложнение на AAV [249]. Авторите установяват, че разпространението на VTE е сравнимо при различните AAV подтипове (GPA, MPA, EGPA) и в значителна степен се асоциира с кожно, белодробно и бъбречно засягане. Рискът от тромбоемболични събития остава висок дори когато пациентите са в ремисия [250].

С подобрената преживяемост и дългосрочна прогноза пациентите придобиват хронична морбидност, с множество придружаващи заболявания и странични ефекти от прилаганото лечение. Не е ясно дали високите нива на сърдечно-съдови заболявания и развитието на малигнени процеси са свързани с болестта, или са резултат от лечението.

## **11. Лечение на ANCA асоциираните васкулити**

Лечението на AAV представлява дългосрочна стратегия, базирана на доказателства и съобразена с формата, тежестта и активността на болестта. Кортикостероидите са неразделна част от това лечение, като обикновено се прилагат във високи дози, но те самостоятелно не са достатъчни за контрол на болестта. Единствено комбинацията на КС с перорален циклофосфамид (CYC), въведена от Fauci и Wolff през 1970 г., е увеличила отчетливо преживяемостта [1, 129]. Тъй като дългосрочната токсичност на пероралния CYC ограничава неговата употреба, са въведени алтернативни протоколи (с венозно приложение – i.v. CYC) или алтернативни имunosупресори (methotrexate, azathioprine, leflunomide, mycophenolate mofetil). Алтернатив-

ните имunosупресори са използвани при по-лека болест и за поддържане на ремисия. За пръв път от 30 години има нов тип лечение, което е още една алтернатива на СУС за индукция и за поддържане на ремисия при генерализирана болест и това е моноклоналното антитяло Rituximab.

**11.1. Подходи за лечение:** те са силно повлияни и са според препоръките на Европейската лига срещу ревматизма и Европейската група за изучаване на васкулити, съвместно с Европейската нефрологична асоциация и Европейската асоциация по диализа и трансплантация – EULAR/EUVAS и EULAR/ERA-EDTA. Според тях първоначалната цел е постигане на ремисия. Следващата цел е поддържане на ремисията, като едно от основните предизвикателства е лечението на рефрактерните случаи. Има създадени дефиниции, определящи каква е фазата на болестта, дефиниции за ремисия и релапс, за отговор към терапията и за рефрактерна болест (Прил. 9, 10).

През 2009 г. EULAR и EUVAS публикуват препоръки за лечение на първичните васкулити на малките съдове, които включват и ААВ [251]. Пет години по-късно те са актуализирани съвместно с ERA-EDTA и са публикувани през 2016 г. [125]. Най-нови данни за използването на rituximab за поддържане на ремисия, употребата на C5A рецептор таргетна терапия, anti-interleukin-5 терапия при EGPA, както и за ролята на плазмаферезата и дозирането на КС доведе до създаването на нови EULAR препоръки през 2022 г. [124].

Лечението на тези болни трябва да се провежда от мултидисциплинарен екип, най-добре в специални центрове с различни експерти. Препоръчва се провеждането на биопсия преди лечението и при всеки последващ рецидив. За индукция на ремисия на новооткритите или живото-застрашаващи ААВ се препоръчва започване на лечение с глюкокортикостероиди (ГКС) в комбинация с циклофосфамид или ритуксимаб. Ритуксимаб се предпочита при рецидивираща болест. Комбинацията от

ГКС (1 mg/kg дневно, макс. доза 75 mg) с циклофосфамид (2 mg/kg, максимум 200 mg дневно) се използва от 1970 г. Поради страничните ефекти на циклофосфамида, които са дозозависими, е проведено проучването CYCLOPS, което показва, че с пулс терапията с циклофосфамид също се постига ремисия, но с по-малко странични ефекти в сравнение с оралното приложение [252]. Това се дължи на редуцията в общата доза СУС и отчетливо се намалява рискът от усложнения на пикочния мехур. Rituximab е одобрен за лечение на ГПА и МПА [124, 125]. Той се предпочита пред циклофосфамид при млади пациенти, при които трябва да се съхрани гонадната функция, и при контраиндикации за приложение на СУС. КС трябва постепенно да се намалят и да се достигне доза от 5 mg дневно преднизолонов еквивалент за 4-5-месечен период. Високата доза ГКС се свързва с повишен риск от инфекции, които са основната причина за смърт в първата година (48%) [125, 241], затова бързото намаляване на дозата е приоритетно [124, 125, 252-254]. Furuta et al. провеждат проучване, сравняващо индукционното лечение с два режима на ГКС (1 mg/kg или 0,5 mg/kg) в допълнение към RTX [254]. Редуцираната доза се оказва с не по-ниска ефективност от високата по отношение на нивата на ремисия за 6 месеца. Както се очаква, ниската доза е имала по-малко сериозни неблагоприятни събития и сериозни инфекции. Трябва да се отбележи, че от изпитването са изключени пациенти с тежко бъбречно засягане и алвеоларен кръвоизлив. Така че високите дози ГКС все още остават основни за управление на животозастрашаващо или органо-застрашаващо бързо прогресиращо заболяване. Прилагането на висока МП в доза 1000 mg интравенозно (ПТ), което се използва в практиката, не се основава на доказателства, проучванията не показват по-добра ефикасност, но се увеличава значително рискът от инфекции [124, 256, 257].

За индукция на ремисия при по-лека болест, при която няма риск от органна недостатъчност, се препоръчва комбинация от глюкокортикостероиди и ритуксимаб [124]. Метотрексат или микофенолат мофетил може да се използват като алтернатива на ритуксимаб. Метотрексат (20-25 mg седмично) може да се използва при пациенти с по-малко тежка болест и с нормална бъбречна функция [124, 258]. При проследяване на пациентите е установено, че пациентите, лекувани с метотрексат, имат по-лош контрол на болестта в проследявания период и по-често имат релапси в сравнение с лекуваните с циклофосфамид [258, 259, 260]. Той се прилага при назална и параназална болест, без костни ерозии и без колапс на хрущял или смущения в обонянието или глухота. Не е подходящ при ангажиране на менинги, на ретроорбиталното пространство, при сърдечно, мезентериално засягане, при остър множествен мононеврит, белодробна хеморагия. МПА засяга бъбреците и в тази ситуация се предпочита мофетил микофенолат. Рандомизирани клинични проучвания, сравняващи циклофосфамид с ММФ при ААV, установяват по-ниски нива на преживяемост в групата, лекувана с ММФ [260-262]. На този етап няма достатъчно доказателства, подкрепящи рутинната употреба на ММФ като първа линия лечение на ААV. Може да се използва като алтернатива на RTX при пациенти с непоносимост или противопоказания за употребата му [124, 262]. Използването на СУС при по-лека болест се свързва с повече усложнения в дългосрочен план и се препоръчва само като алтернатива на Rit, MTX, ММФ [124]. Препоръките за индукция на ремисия са представени в Прил. 11.

За голям релапс и органо- или животозастрашаваща болест се препоръчва лечение като при новооткрита болест – с комбинация от кортикостероиди и циклофосфамид или ритуксимаб, като проучването RAVE, показва, че в този случай ритуксимаб е по-добър [263]. Другото основание е, че с увеличение на кумулативната доза на СУС нараства и рискът от странични ефекти. За лечение на нетежките релапси се препоръчва

интензифициране на имunosупресивното лечение и временно увеличение на дозата на ГКС [124, 125, 263].

Плазмаферезата е подходяща за пациенти с ААВ и нива на серумния креатинин  $> 300 \mu\text{mol/l}$ , дължащо се на бързо прогресиращ гломерулонефрит [124]. Рутинната употреба при дифузни алвеоларни хеморагии не се препоръчва. Три метаанализа на проучването PEXIVAS не показват доказани ползи от използването на плазмафереза по отношение на смъртността, инфекциите и нежеланите събития. Полза е установена единствено по отношение на нивата на бързо настъпващата бъбречна недостатъчност [264, 265, 266, 268]. Препоръчва се и при пациенти с ААВ и положителни ant-GBM антитела [267].

Добавянето на интравенозни имуноглобулини (IvIg) може да подпомогне постигането на ремисия при пациентите, като са с доказано действие и при персистираща ниска болестна активност, особено при болни с повишен риск от инфекции (табл. 13) [269-271]. Преди прилагането им е препоръчително да се установят изходните нива на серумните имуноглобулини поради две основни причини: пациентите с дефицит на IgA може да развият анафилактична реакция и при тях прилагането на IvIg е противопоказано. При пациентите с хипергамаглобулинемия поради състояние на хипервискозитет също не се препоръчва прилагането на IvIg, поради сериозна възможност за тромбози.

Авасоран (инхибитор на алтернативния път на комплемента) е тестван като стероид спестяващ медикамент [272]. Авасоран в комбинация със стандартна терапия не е по-лош от ГКС при постигане на ремисия на шестия месец и дори го превъзхожда при постигането на дълготрайна ремисия на първата година. Пациентите с активен ГН възстановяват по-добре бъбречната функция в сравнение с тези, лекувани с ГКС. В комбинация с RTX или CYC може да бъде част от терапията за индукция на ремисия като част от стратегията за намаление на ГКС експозиция [124].

За поддържане на ремисия се препоръчва използването на Rituximab [124]. Azathioprine, Methotrexate са алтернатива. Това твърдение се отнася за ГПА и МПА. За ЕГПА се предпочита azathioprine. Leflunomide (20-30 mg дневно) може да бъде използван за поддържане на ремисия при пациенти с GPA, но употребата му е свързана с повече странични реакции [125, 273, 274], затова той се счита за втора линия медикамент за поддържане на ремисия при AAV, при непоносимост към другите имunosупресори. Използването на MMF се свързва с повишен риск от рецидиви в сравнение с AZA и MTX и също е медикамент при непоносимост към гореизброените [124, 275, 276]. Добавянето на trimethoprim/sulfamethoxazole (800/160 mg два пъти дневно) към стандартната терапия за поддържане на ремисия може да намали риска от релапс при ГПА [247]. При пациентите с назална болест лечението с локални антибиотици се препоръчва при хронично носителство на *Staphylococcus aureus* [248]. Препоръките за поддържане на ремисия са обобщени в Прил. 12.

Лечението за поддържане на ремисия трябва да продължи 24-48 месеца [124, 125]. Много важно е да се отбележи, че ранното прекъсване на лечението е свързано с повишен риск от релапс. Поради това първоначално трябва да се спре лечението с глюкокортикостероидите и след това да се направи опит за спиране на имunosупресорите. Въпреки провеждането на поддържаща терапия нивата на релапси все още остават високи – средно между 35% и 51% за период от 3 до 5 години [217, 239, 277]. Стратифицирането на пациенти с AAV въз основа на риска от рецидив е от решаващо значение за определяне на най-разумната доза и протокол на администриране на CYC [277]. Скорошен метаанализ идентифицира следните рискови фактори за рецидив след индукция на ремисия с CYC: по-ниско ниво на изходния креатинин, ANCA-PR3 положителност, повишаване на ANCA титъра, извънбъбречно ангажиране

(включително бял дроб, сърдечно-съдова система, горни дихателни пътища и засягане на стомашно-чревния тракт), интравенозно срещу перорално приложение на СУС, по-кратка поддържаща терапия и лечение с микофенолат мофетил (MMF) срещу азатиорпин (AZA) за поддържане на ремисия [277].

За пациентите, рефрактерни на лечение със стандартна терапия, за индукция на ремисия се препоръчва превключване от циклофосфамид към биологично средство – ритуксимаб, или обратно – от ритуксимаб към циклофосфамид. Вземането на решение за промяна на терапията трябва да се прави след пълен клиничен преглед и изследвания по системи, а не само по изследване на ANCA [124]. Данните за ролята на ANCA като предиктор на релапси са противоречиви [213, 214, 217]. Повечето рецидиви са били предшествани от повишение на ANCA, но има данни и за много случили се релапси без съществена промяна в ANCA. Съществуват данни, предшестващи промяната на количеството на ANCA показващи, че възстановяване на периферни В-клетки е установено при всички пациенти с рецидив, както и че при пациентите с продължителна В-клетъчна деплеция са установени ниски нива на релапси [217, 252, 278]. Arnold и сътр. предполагат, че липсата на наивни В-клетки при възстановяване след индукция с RTX е по-точен предиктор на времето до поява рецидив от титрите на ANCA и на CD19+ [279]. В клетъчното възстановяване в рамките на 12 месеца и персистиращата хематурия след лечение с RTX се считат за рисков фактор за рецидив [280]. При пациентите с изолиран МРО-ANCA гломерулонефрит, които рядко рецидивират, някои автори не препоръчват рутинно използване на поддържаща имunosупресивна терапия, пради повишения риск от инфекции и кардиоваскуларни усложнения [281]. Персонализиран подход, основаващ се на фенотипизирането на В-клетки, може да помогне за спестяване на ненужно повторно лечение, като същевременно се пре-

дотвратят пристъпи при пациенти с висок риск. Именно поради това, лечението на пациентите с ААВ изисква редовно наблюдение от специалист, от една страна, за да се контролира активността и да се предотврати трайното увреждане на органите от болестта и страничните ефекти на лечението, а от друга, да се следи състоянието за поява на първи симптоми на рецидив на болестта, за по-бърза и адекватна индивидуална терапия, насочена към всеки един симптом.

**11.2. Rituximab при лечението на ANCA асоциираните васкулити:** Rituximab (Rtx) е химерно моноклонално антитяло, насочено срещу CD20 (повърхностна молекула, свързана със зрелите В-лимфоцити), което води до понижение на процента и абсолютния брой на циркулиращите В-клетки, включително и на тези в грануломите [282, 283, 284]. Това понижение на зрелите В-клетки се осъществява чрез процеси, свързани с индукция на апоптоза, комплемент-зависима цитотоксичност (complement dependent cytotoxicity – CDCC) и антитяло-зависима цитотоксичност (antibody dependent cytotoxicity – ADCC) [280,282]. Комплемент-медираната цитотоксичност се осъществява главно чрез стартиране на активацията на комплемента по класическия път и изразходване съответно на компоненти като C1q и C3. Антитяло-зависимата цитотоксичност се медира от ефекторни клетки, основно НК клетки, като в този случай Rtx играе ролята на мост между автореактивната В-клетка и НК клетката и води до индукция на апоптоза у таргетните В-лимфоцити [280, 282].

**11.2.1. Rituximab при новодиагностицирани ANCA васкулити (ГПА и МПА).** Две рандомизирани контролирани проучвания (RAVE – Rituximab versus Cyclophosphamide in ANCA-associated Renal vasculitis и RITUXVAS – Rituximab versus Cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis) показват, че началната индуктивна терапия с rituximab постига подобни нива на ремисия като циклофосфамид [284]. Данните от RAVE показват, че при наивните пациенти с генерализирани ANCA асоциира-

ни васкулити, RTX без последваща поддържаща терапия е ефективен колкото CYC/AZA за период от 18 месеца [284, 285]. Проучването RITUXVAS заключава, че лечението с rituximab не превъзхожда конвенционалната терапия с циклофосфамид при индукция на ремисия при пациенти с ANCA асоциирани васкулити и бъбречно участие, но е еднакво добро при останалите клинични изяви на болестта. Според съществуващите в момента препоръки Rituximab е ефективен колкото циклофосфамид при нелекувани ANCA асоциирани васкулити. Rituximab се предпочита, когато е наложително избягването на циклофосфамид, например наличие на хронични инфекции, непоносимост или свръхчувствителност към циклофосфамид, висок риск от инфертилитет или малигненост (с ниво на доказателственост 1b) [284]. Той е медикамент на избор при не-застрашаваща органните функции и живота болест [124].

### ***11.2.2. Rituximab при рефрактерна или рецидивираща болест.***

По данни, изнесени от проучването RAVE, се установява, че rituximab е по-ефективен от циклофосфамид при този тип пациенти [276, 286, 299]. Установено е също, че няма разлика в общото ниво на странични реакции и в смъртността между двете изследвани групи. Следователно може да се направи заключение, че rituximab е по-ефективен при рефрактерни и/или релапсиращи ANCA асоциирани васкулити и се препоръчва, когато конвенционалната терапия не е имала ефект (ниво на доказателственост 1b).

### ***11.2.3. Rituximab при различните подгрупи ANCA асоциирани васкулити.***

Установено е, че в голям процент (> 50%) от пациенти с ГПА са с рефрактерни на лечение прояви от страна на главата и шията. След приложение на rituximab над 80% от тези пациенти получават ремисия в рамките на 6 месеца, а неотговорилите са получили ремисия след второто приложение. В други съобщения за серии с около 40 пациенти нивата на докладвана ремисия са > 80%. Повечето автори предпо-

лагат, че поради по-голямата рефрактерност на проявите от страна на главата и шията е прието, че при провал на поне на 2 курса през 6 месеца с rituximab е налице резистентност към препарата и трябва да се преустанови този вид терапия [276, 286, 299]. Като заключение може да се изтъкне, че rituximab е ефективен при рефрактерни на лечение манифестации от страна на главата и шията при грануломатоза на Wegener и се препоръчва, когато конвенционалната терапия не е имала ефект (ниво на доказателственост 2b/4) [284].

Пациентите със синдром на Churg-Strauss са изключени от повечето проучвания с ритуксимаб. При това заболяване ролята на В-клетките в патогенезата е по-слабо застъпена и не е водещ фактор. На преден план излиза еозинофилията, която се дължи на Т-клетъчна дисрегулация, медирана от цитокини като IL-4, IL-5, IL-13 [280, 287, 288]. Проучването REOVAS сравнява използването на RTX с пулс терапия с CYC при пациенти със синдром на Churg-Strauss, като нивата на ремисия са подобни в двете групи [289]. Необходими са допълнителни доказателства за ефикасността на RTX при ЕГПА.

При останалите видове васкулити с грануломатозни прояви също се прилага rituximab с добра прогноза. Това е и поради факта, че в тъканни биопсии са установени CD20+ В-клетките в грануломатозно възпалителни огнища, като вероятно това е свързано с локална секреция на ANCA [280, 284]. Този тип пациенти, които са постигнали пълна ремисия, са били с деплация както на циркулиращите В-клетки, така и на тези в грануломите. Нивата на клиничен отговор варират при различните съобщения, като ефективността на ритуксимаб в тези подгрупи все още не е съвсем ясна. В проучване с 59 пациенти клиничният отговор на грануломните прояви е по-нисък в сравнение с васкулитните прояви, нещо повече, някои локализации като белите дробове са били с по-лош отговор от очните и менингеалните [286, 290]. В друго проучване с 34 паци-

енти с грануломни лезии в горните дихателни пътища 88% са дали добър клиничен отговор след първия курс на лечение, а неотговорилите са се подобрили след втория курс с ритуксимаб. Повторното приложение е предотвратило появата на релапси [286]. Хронични инфекции, най-често със *Staphylococcus aureus*, осигуряват непрекъснато стимулиране на васкулита и пречат за постигане контрол върху болестта [290].

**11.2.4. Rituximab в комбинация с cyclophosphamid.** Въпросът дали може да се комбинират ритуксимаб и циклофосфамид за индукция на ремисия е важен. Комбинираното приложение на циклофосфамид с ритуксимаб се основава на идеята за потискане образуването на автореактивни В-клетъчни клонове, включително и за превенция на синтеза на човешки антихимерични антитела срещу самия медикамент rituximab. В проучването RITUXVAS две дози циклофосфамид (15 mg/kg) са приложени в комбинация с ритуксимаб (375 mg на квадратен сантиметър седмично за 4 седмици) [290]. N. Mansfield и сътр. [284] използват ритуксимаб в комбинация с две дози интравенозен циклофосфамид (10 mg/kg, максимум до – 750 mg) и последващи четири дози от 500 mg при пациенти с умерено и тежко бъбречно засягане. Резултатът от тази комбинация показва много добри резултати. Всички пациенти са влезли в клинична ремисия на заболяването. На този етап се счита, че циклофосфамид може да се добави към ритуксимаб при пациенти с тежки или органо- или животозастрашаващи форми на ANCA васкулити за постигане на бърз контрол на болестта, по-леките не се нуждаят от циклофосфамид [291, 292, 293].

**11.2.5. Rituximab като поддържаща терапия.** Болните с рецидивираща или рефрактерна болест, които са лекувани с ритуксимаб, рецидивират в 75% от случаите за период от 12 месеца. Независимо че лечението на рецидивите с ритуксимаб се счита за успешно, избягването на рецидиви е за предпочитане. През 2014 г. са публикувани данни от първото рандомизирано и контролирано проучване Rituximab versus Azathi-

oprine for Maintenance in ANCA-Associated Vasculitis (MAINRITSAN) [284, 283]. MAINRITSAN показва, че ритуксимаб превъзхожда азатиоприн за поддържане на ремисия при ANCA асоциирани васкулити, което се отнася в най-голяма степен за грануломатоза с полиангиит, особено за пациентите с положителни анти-PR3-ANCA. Лечението с rituximab 500 mg в две инфузии през 6 месеца не се свързва с по-чести странични реакции от азатиоприн. Според Френската група по васкулити [283, 294, 295] RTX е по-добър от други медикаменти като азатиоприн и метотрексат за поддържане на ремисия. EULAR препоръчва режим за поддържане на ремисия от 500 mg на всеки 6 месеца. По-високата доза от 1 g или дозирането на по-кратки интервали (на 4 месеца) са подходящи за често рецидивиращите случаи [124]. Оптималната доза за индукция на ремисия и интервалът на дозиране на поддържащата терапия с RTX остават въпрос на дебат, като рисковете от хипогамаглобулинемия и инфекции остават.

Френски и канадски изследователи след извършен метаанализ на проучвания за индукция на ремисия с режим на дозиране четири седмични дози RTX и две седмични дози RTX не установяват разлики в постигането на пълна ремисия за 6 месеца между двата режима [296, 297]. Merkel и сътр. публикуват интересни данни от реалната практика от регистър за пациенти, лекувани с ритуксимаб. За четири години лечение и наблюдение честотата на инфекциите не се е увеличила с нарастване на времето и броя на приложение, профилът на безопасност е сходен с този от краткосрочните проучвания [298].

## **12. Етнически и географски различия при ANCA асоциираните васкулити**

Установяват се някои различия в протичането на AAV между различните етнически групи. Данните са от изследване на 1,069 пациента, проведено в 128 центъра по целия свят. Анти-MPO антитела се среща

по-често от PR3-ANCA при болните от Южна Европа, Китай, Япония. От друга страна PR3-ANCA е по-честа сред другите етноси [1, 18, 142, 181, 240, 247, 300]. ANCA негативните AAV са по-чести сред белите американци, отколкото сред северните европейци. От пациентите с ГПА и бъбречно участие почти всички пациенти в Европа и САЩ имат PR3-ANCA [270]. В Китай 60% от пациентите с ГПА имат MPO-ANCA, и само 38% PR3-ANCA [301]. Повечето от пациентите със системна форма на болестта са позитивни за ANCA – предимно PR3-ANCA или MPO-ANCA, докато при тези с локализирана (ограничена) форма ANCA не се открива при всички пациенти. Намерени са и разлики в органното ангажиране: системните прояви са по-рядко наблюдавани при пациентите от Южна Европа; бъбречното ангажиране е по-често при японците и китайците; мускулоскелетните прояви са по-редки сред тези в Южна Европа, Китай и Япония, а очните са по-чести в Индия и по-редки в Япония [300, 302]. Като цяло специалистите не се ангажират за категорични асоциации между различните етноси и засягането по системи. Не са наблюдавани сигнификантни разлики с изключение на очните прояви и въвличането на УНГ системата, които са по-редки в Япония в сравнение със Северна Европа.

Друго проучване сред пациенти от Източна Европа с AAV и бъбречно ангажиране сочи, че пациентите с PR3-ANCA са по-млади, преобладават мъжете, като те са с по-висока активност на болестта, определена чрез BVAS. Второ по-честота е ангажирането на белия дроб. Нивата на отговор към лечението са били 60%, като пациентите с по-нисък BVAS (< 15) и отговарящи на индукционна терапия са със сигнификантно подобър шанс за преживяване. Преживяемостта на 1-вата и 5-ата година са съответно 88% и 67%, като нито отговора към терапията, нито преживяемостта са били свързани с ANCA специфичността [301].

### **13. Изводи от литературния обзор**

1. ANCA асоциираните васкулити по своя характер са некротизиращи, което ги прави особено опасни, защото водят до бърза деструкция на съдовата стена и органно увреждане, често с ранно развитие на органна недостатъчност.

2. Въпреки че съществува силна връзка между антинеутрофилноцитоплазмените антитела и този вид васкулити, все още етиологията и патогенетичните механизми не са напълно изяснени и много други антитела и цитокини играят ключова роля. Включват се и генетични, и фактори на околната среда.

3. При голяма част от болните не се установяват антинеутрофилноцитоплазмените антитела, което не изключва диагнозата. В същото време не са установени други сигурни и валидирани биомаркери, които биха я подкрепили.

4. Всеки орган и система могат да бъдат поразени. Могат да протекат с грануломатозни или васкулитни прояви, а често и с двете в един и същ орган.

5. Хистологичната картина е изключително разнообразна, включва широк морфологичен спектър и е различна при отделните органи и видове васкулит, хистопатологични доказателства често липсват. Това е свързано с трудности при поставянето на точна и навременна диагноза.

6. Свързани са с голям риск от развитие на гломерулонефрит с бързо настъпваща бъбречна недостатъчност.

7. Често засягането е многоорганно, ангажират се таргетно жизнено важни органи, като поради некротизиращия характер на васкулита бързо се нарушава функцията, което е свързано с нарушение на качеството на живот на болните и определя висок летален риск.

8. Прогнозата при нелекуваните пациенти е лоша, средната преживяемост след поставяне на диагнозата е пет месеца, 82% от пациентите не преживяват първата година, а 90% умират през втората година .

9. Повлияват се добре от лечението с циклофосфамид и ритуксимаб, но то е свързано с повишен риск от инфекции. Често са налице и придружаващи инфекции, които катализират възпалението, но и се явяват лимитиращ фактор за имunosупресивно лечение.

10. След постигане на клинична ремисия са склонни към рецидивирание. Честотата на рецидивите е между 18 и 40%. Времето до първия рецидив на болните на фона на имunosупресивна терапия е 15-29 месеца. Не са точно дефинирани ползите и рисковете от провеждане на поддържащо имunosупресивно лечение. Няма единно мнение за неговата продължителност.

11. Липсват точни данни за биомаркерите, обективизиращи предикторите на прогресия на заболяването, лоша прогноза, повлияване или неповлияване от лечението, както и точни предиктори на рецидив.

#### **14. Заключение**

На базата на този обзор се установиха редица нерешени проблеми при ANCA асоциираните васкулити:

1. Трудности при класифицирането на болните. Основната трудност при класифицирането на отделните нозологични единици в групата на ANCA асоциираните васкулити е свързана с липсата на точни критерии за оценка. При сегашните критерии често един и същ болен може да бъде класифициран в няколко различни вида васкулит. От друга страна, един и същи пациент може да бъде класифициран различно от различни клинични специалисти и диагнозата може да бъде сменена с развитието на болестния процес. Поради това поставянето на диагнозата според класификационните критерии е доста трудно, защото много често се

наблюдава припокриване със симптомите на някой от другите васкулити (васкулити при системни автоимунни заболявания). В същото време е много важна диференциалната диагноза между отделните ААВ и поставянето на максимално точна диагноза, тъй като различните видове васкулит изискват различни терапевтични подходи.

2. Често ГПА и МПА са трудни за различаване.

3. Обикновено ANCA специфичността не се променя в хода на болестта и поради това се поставя въпросът дали разграничаването на ААВ не би трябвало да бъде по т.нар. ANCA серотип. Какви са очакванията за следващото развитие на болестта в двете групи? Дали терминът ANCA асоцииран васкулит не трябва да бъде допълнен с термини като анти-PR3 асоцииран васкулит или анти-MPO асоцииран васкулит и дали те не са по-полезни, ще покажат бъдещи проучвания на големи кохорти в световен мащаб. На този етап диагнозата и класифицирането се основават на клинични, серологични и хистопатологични критерии и много зависи от индивидуалния подход в клиничния преглед при всеки един пациент, както и от квалификацията и опита на конкретния клиничен специалист. Времето от появата на първите симптоми до поставянето на диагнозата е твърде дълго и често това се оказва животозастрашаващо, тъй като ранното поставяне на диагноза и максимално бързото започване на лечение са особено важни.

4. Съществуват ли разлики между двете групи на анти-PR3 и анти-MPO позитивните пациенти, при които на практика се поставя една и съща диагноза – ААВ? Не е ясно кога и къде в организма за първи път ще започнат проявите на грануломатозно възпаление и има ли клинични, имунологични или лабораторни белези, които да играят ролята на предиктори. Няма категорична връзка между специфичността на ANCA и клиничните синдроми. Това вероятно се дължи на комплексния характер на патогенетичните промени, в които участват както елементи от хумо-

ралния имунен отговор, изразяващи се в системните прояви на ANCA васкулити, така и компоненти от клетъчно медиацията отговор (участието на Т-клетките в патогенезата на грануломатозното възпаление).

5. Това дава неяснота в концепцията относно терапевтичния подход при отделните нозологични единици, съотнесени индивидуално към конкретния пациент. Тази неяснота се допълва и от групата на васкулита при ANCA негативните пациенти – възможността те да бъдат бенигни или животозастрашаващи.

6. Въпреки откриването на нови терапевтични стратегии множество въпроси остават неясни и там. Единият е дали ГКС трябва да останат в ниска доза при пациентите в ремисия, или трябва да бъдат прекратени напълно. Другият е дали пациентите, които никога не са имали рецидив, трябва да бъдат лекувани продължително? На този етап няма достатъчно натрупани данни и за това дали продължителността на поддържащата терапия при MPO-ANCA позитивните пациенти трябва да бъде по-кратка от тази на PR3-ANCA позитивните, поради съществуващите данни за по-ниски нива на релапс при анти-MPO позитивните пациенти. Необходимо е натрупването на още доказателства за безопасност в дългосрочен план при лекуването с ритуксимаб или циклофосфамид.

За българската популация досега не е провеждан анализ на голяма група болни с ANCA асоциирани васкулити. В резултат на този обзор и развитието на познанието за тези заболявания, навлизането на нови биомаркери, нови терапии, нови оценки за прогресия и прогноза, с тази дисертация си поставихме за цел да отговорим на някои от споменатите аспекти, касаещи българската популация, като се надяваме разработката да доведе до подобрене в продължителността и качеството на живот при тези пациенти и да може да даде отговори на част от нерешените въпроси до момента.

### **III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ**

Поставихме си следната цел и задачи:

#### **Цел**

Да се направи нозологична и клинкоимунологична характеристика на болните с ANCA асоциирани васкулити, да се анализират различни терапевтични режими при пациенти с ANCA асоциирани васкулити сред българската популация и резултатите от тях, да се определят лошите прогностични фактори и да се дадат практически насоки за поведение при българската популация.

#### **Задачи:**

1. Да се проучи каква част са AAV от всички васкулити при българската популация и доколко са самостоятелни нозологични единици, и доколко се развиват в хода на друго СЗСТ.
2. Да се изследват честотата и видът на най-честите сериозни инфекции в хода на AAV.
3. Да се анализират клиничното протичане и органната локализация при различните AAV в българската популация.
4. Да се направят профилограми на протичането.
5. Да се проучи честотата на известните антитела и връзката им с активност и тежест.
6. Да се проучат имунологичните асоциации на клиника, локализации с известните антитела в българската популация и прогнозата на болестта.
7. Да се анализират терапевтичните режими и резултатите от терапията при AAV.

8. Да се проучат ролята и значението на някои нови биомаркери при развитието и протичането на AAV.
9. Да се анализират причините за смърт при AAV.
10. Да се определят лошите прогностични фактори при българската популация.
11. Да се изготвят практически насоки и подход при болните с ANCA васкулит в ревматологичната практика.

## IV. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

### 1. Материал

**1.1. Пациенти:** Пациентите са диагностицирани и лекувани в Клиниката по ревматология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски” – София. Анализът е проспективен и ретроспективен. Анализирани са пациентите с васкулити, преминали през Клиниката по ревматология за периода 2010-2018 г., проследени са 1703 дни.

В настоящата работа са включени общо 145 пациенти с ANCA асоциирани васкулити. От тях 80 пациенти с грануломатоза на Вегенер, 52 пациенти с МПА, 8 пациенти със синдром на Чърг-Страус и 5-ма пациенти с данни за васкулит и наличие на ANCA, които не можяхме да класифицираме към никоя от нозологичните единици въз основа на клиничните и проведените лабораторни, имунологични и инструментални изследвания. Средната възраст при поставянето на диагнозата на пациентите с вегенерова грануломатоза бе 50.39 (17-76) год., на тези с микроскопски полиангиит – 50.03 (20-85) год. и на Чърг-Страус синдрома – 52 (40-70) год. Съотношението мъже:жени е 36:44 за грануломатозата на Вегенер (WG), 20:32 за микроскопския полиангиит (MPA) и съответно 2:6 за CSS (табл. 5).

**Таблица 5. Демографска характеристика на пациентите с AAV**

	Грануломатоза с полиангиит (GPA)	Микроскопски полиангиит (MPA)	Еозинофилия с грануломатоза и полиангиит (EGPA)	Некласифицирани
<b>Брой</b>	80	52	8	5
<b>М:Ж</b>	36:44	20:32	2:6	2:3
<b>Възраст</b>	50.39 (17-76)	53.03 (20-85)	52(40-70)	51.75(43-62)

## **2. Методи**

Диагнозата е поставена въз основа на класификационните критерии, създадени от ACR (American College of Rheumatology) (ACR, 1990) и критериите за дефиниция на васкулитите според Chapel Hill Consensus Conference (CHCC). При част от пациентите диагнозата е потвърдена с хистопатологични данни за васкулит от биопсия от подходящ според случая материал: носна лигавица, ФБС, ПББ, КМБ. При поставянето на диагнозата васкулит при системно заболяване на съединителната тъкан са използвани диагностичните критерии за системен лупус еритематодес (СЛЕ) на ARA, 1982 г.; за прогресивна системна склероза на Mathies (ПСС), 1983 г., за полимиозит на Bohan&Peter, 1975 г.; за ревматоиден артрит (РА) на ACR, 1987г.

Всички участници бяха информирани за целите на проучването и подписаха информирано съгласие съгласно декларацията от Хелзинки. Проучването беше одобрено от етичната комисия на УМБАЛ „Св. Ив. Рилски“ – София.

**2.1. Диагнозата и клиничната характеристика** са изградени въз основа на данните от анамнезата, включваща задълбочена информация за давността на оплакванията и поставянето на диагнозата, наличните клинични симптоми, физикалния статус, проведените клинично-лабораторни, имунологични, микробиологични, хистологични и инструментални изследвания, с особено внимание към органното ангажиране и проведеното лечение.

**2.2. Лабораторни методи.** Клиничнолабораторните изследвания са проведени в Клиничната лаборатория на УМБАЛ “Св. Ив. Рилски” – София. Те служат за установяване на активността (ПКК с диференциално броене, СУЕ, С-реактивен протеин), системността и тежестта на заболяването (креатинин, урея, чернодробни ензими, урина – седимент, протеину-

рия, креатининов клирънс). Референтните стойности са съобразени с пола и възрастта на болните.

Имунологичните изследвания са извършени в лабораторията по Клинична имунология на УМБАЛ “Св. Ив. Рилски” – София. Наличието на ANCA бе установено с индиректна имуофлуоресценция (IIF) на етанол фиксирани неутрофили (Inova Diagnostics, Inc., San Diego, CA). **Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) методи:** чрез тях ANCA положителните пациенти са изследвани за двата основни антигена – протеиназа-3 (PR-3) и миелопероксидаза (MPO). Използвана е автоматична Alegria system (ORGENETIC Diagnostika GmbH).

При голяма част от пациентите са проведени допълнително изследване на ANA чрез индиректна имуофлуоресценция на HEp2 клетки, ANA имуоблот, антифосфолипидни антитела, включващи ACL screen; anti-b2GPI-screen; anti-protrombin screen, измерени с автоматична Alegria system, RF по ELISA метод, измерени в UI/ml за изключване на друго системно заболяване на съединителната тъкан. Anti-GBM антителата бяха изследвани чрез имуоблот техника.

При 42 пациенти бяха измерени серумни нива на TNF- $\alpha$  (Human TNF- $\alpha$  DY210-05, DuoSet ELISA метод, R&D Systems, USA and Canada), Plasminogen (PLG) Human Elisa kit, ab 108893, Abcam plc, UK), LAMP-2 (Human Lysosomal-Associated Membrane Protein-2 (hLAMP-2) ELISA, CSB-E09701h, CUSABIO, Houston, TX, USA), и IDO (Human indoleamin 2,3-dioxygenase/IDO, DY6030-05, DuoSet ELISA, R&D Systems, Inc, USA and Canada). Всички кръвни проби на пациентите са взети според одобрени стандартни процедури, като серумите за тестване на цитокини, плазминоген, LAMP-2 са незабавно замразени на  $-80^{\circ}\text{C}$ .

**2.3. Инструментални методи.** Органното ангажиране бе потвърдено с подходящи инструментални изследвания: рентгенографии на околоносни синуси, гръден кош, компютърна томография (КТ) на гръден

кош, глава, корем, високоразделителна КТ на бял дроб, КТ ангиография, магнитнорезонансна томография (МРТ) на глава, гръден кош, корем, ултразвуково изследване на корем, бъбреци, доплер сонография на съдове, електроневромиография (ЕНМГ), аудиограма, спирометрия, белодробен дифузионен капацитет, консултативни прегледи от оториноларинголози, офталмолози, пулмолози, нефролози, невролози.

**2.4. Хистологични изследвания.** Използвани са хистологични резултати от проведени биопсии от подходящ за конкретния случай материал – носна лигавица, ФБС, ПББ, КМБ.

**2.5. Активността на болестта** е оценявана според Birmingham Vasculitis Activity Score версия 3 (BVAS) и субкласифицирана в зависимост от системността и тежестта на заболяването (според European Vasculitis Study Group (EUVAS) на: локализирана, ранна системна, генерализирана и тежка. Болестта е класифицирана като локализирана, когато липсват прояви извън горни и долни дихателни пътища и бял дроб, не са застрашени органните функции и няма общи симптоми. Ранна системна – при извънбелодробни прояви и когато са налице общи симптоми, генерализирана – при извънбелодробни прояви и застрашаване на функцията на органите, и тежка, когато има данни за бъбречна или друга органна недостатъчност. Органна недостатъчност, класифицираща болестта като тежка, е дефинирана, когато са налице следните BVAS манифестации: масивна хемоптиза/алвеоларни хеморагии, респираторна недостатъчност, застойна сърдечна недостатъчност, исхемична абдоминална болка, инсулт. Застрашаване на функциите на органите, което класифицира болестта като генерализирана, се дефинира при наличие на следните BVAS манифестации: внезапно настъпила загуба на зрение, замъглено зрение, промени в ретината (васкулит/тромбози, ексудати/хеморагии), сензонеурална загуба на слух, стенокардна болка, кардиомиопатия, перитонит, кървава диария, менингит, обърканост, припадъ-

ци, парализа на черепномозъчни нерви, периферна сензорна невропатия, множествен мононеврит с моторна симптоматика. Стойностите на серумния креатинин се използват при класифицирането. Демографските, клиничните и лабораторните данни са събрани при поставянето на диагнозата и пациентите са проследени през шестмесечни интервали. За всеки пациент беше определен и FFS. Ремисията е дефинирана като липса на клинични и лабораторни прояви на активност, свързани с васкулита. Пациентите, при които има подобрене в BVAS с  $\geq 50\%$  и с липса на нови манифестации, считаме, че са подобрени и отговарят на проведеното лечение.

**2.6. Статистически методи.** Статистическите обработки са направени със SPSS 13.0. Извършен е описателен анализ с помощта на групировки по един или няколко признака, обобщаващи показатели, относителен дял, средна аритметична и медиана. Направен е също диагностичен анализ за проверка на разлика в изчислени емпирични относителни дялове. Приложените изводи са потвърждавани и с алтернативни оценки на емпиричните нива на значимост (Clopper-Pearson method), които не зависят от традиционните, базиращи се на апроксимации. Извършен е и анализ на средните величини, като статистическата значимост на проявените разлики е тествана с помощта на модели за тестване на средна разлика (t-test, Man-Whitney U test). За оценка на нивото на определени емпирични характеристики са използвани базираните на предположения относно разпределението на тестваните признаци нива.

Проведен е също така диагностичен анализ за оценка на наличието на статистически значими ефекти чрез проверка на статистически хипотези относно присъствие на определена връзка в променливи, измервани на слаби скали с помощта на Хи-квадрат и „точни” емпирични показатели на Фишер (Fisher exact test) за разлика между два наблюдавани относителни дяла. При необходимост допълнително е проведен LSD post hoc

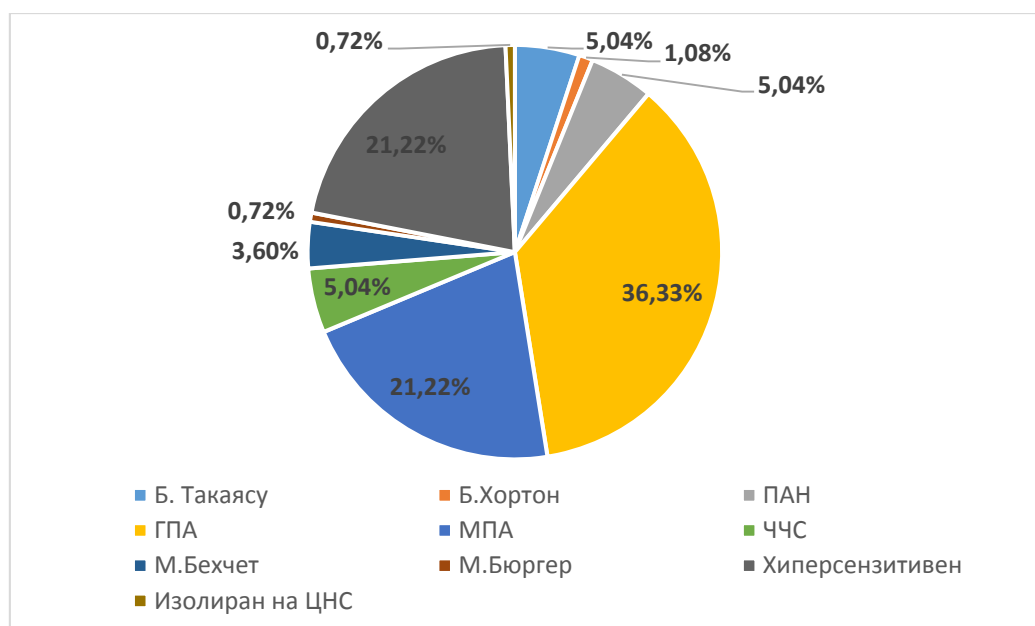
p values – ANOVA анализ. Някои от резултатите са потвърдени с непараметричен тест-аналог (Kruskal-Wallis test). За междугрупови сравнения на средната стойност са използвани дисперсионният анализ Mann-Whitney U test, както и тестът на Kolmogorov-Smirnov за разлика между наблюдаваните средни нива. Корелационните връзки между различните променливи са изследвани чрез коефициентите на корелация на Spearman. За анализ на преживяемостта (до настъпването на смърт) е използван Survival анализ, като са представени описателни криви на Kaplan-Meier относно кумулативната пропорция на преживяване. Чрез Cox регресионен анализ са анализирани определени фактори, свързани с преживяването на пациентите. Receiver operating characteristic (ROC) curve анализ е използван за тестване на потенциалната диагностична стойност на някои биомаркери.

Като гранична стойност за равнището на значимост се приема 0.05, освен ако не е изрично отбелязана друга стойност. Съответните оценки за значимостта на определена емпирична характеристика на гореописаните тестове се сравнява с тази гранична стойност от 0.05. Ако тя е по-малка от 0.05, тестваният ефект се приема за статистически значим, ако е по-голяма от 0.05 се приема за статистически незначим.

## V. РЕЗУЛТАТИ

### 1. Нозологична структура на васкулитите, наблюдавани в Клиниката по ревматология

*1.1. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с васкулит в текущата ревматологична практика.* В настоящата работа бяха анализирани 388 болни с васкулитни прояви, които са преминали през Клиниката по ревматология за периода 2008-2018 г., съответно 137 мъже и 251 жени, на възраст между 17 и 85 год. Съгласно критериите на ACR, 1990, и критериите за дефиниция на васкулитите според СНСС с първични васкулити са 278 болни, като от тях 174 са с AAV. Най-често наблюдаваните диагнози извън AAV са хиперсензитивен васкулит (59 болни), следван от болест на Такаясу и ПАН (с по 14 болни) и най-рядко болест на Бюргер и изолиран васкулит на ЦНС. Процентното разпределение на болните с първични васкулити спрямо всички васкулити е представено на табл. 6, а разпределението на първичните васкулити по нозология – на фиг. 3.



Фигура 3. Разпределение на първичните васкулити по нозология (база 278 пациенти)

**Таблица 6. Разпределение на болните с първични васкулити спрямо всички васкулитни синдроми**

Нозология	Брой	%*	Мъже	Жени
<b>Б. Такаясу</b>	14	3.61%	1	13
<b>Б. Хортон</b>	3	0.77%	0	3
<b>ПАН</b>	14	3.61%	12	2
<b>ГПА</b>	101	26.03%	47	54
<b>МПА</b>	59	15.21%	21	38
<b>ЧСС</b>	14	3.61%	4	10
<b>М. Бехчет</b>	10	2.58%	6	4
<b>М. Бюргер</b>	2	0.52%	2	0
<b>Хиперсензитивен</b>	59	15.21%	27	32
<b>Изолиран на ЦНС</b>	2	0.52%	2	0
<b>Общо</b>	278	71.65%	122	156

*\*База – 388 изследвани пациенти*

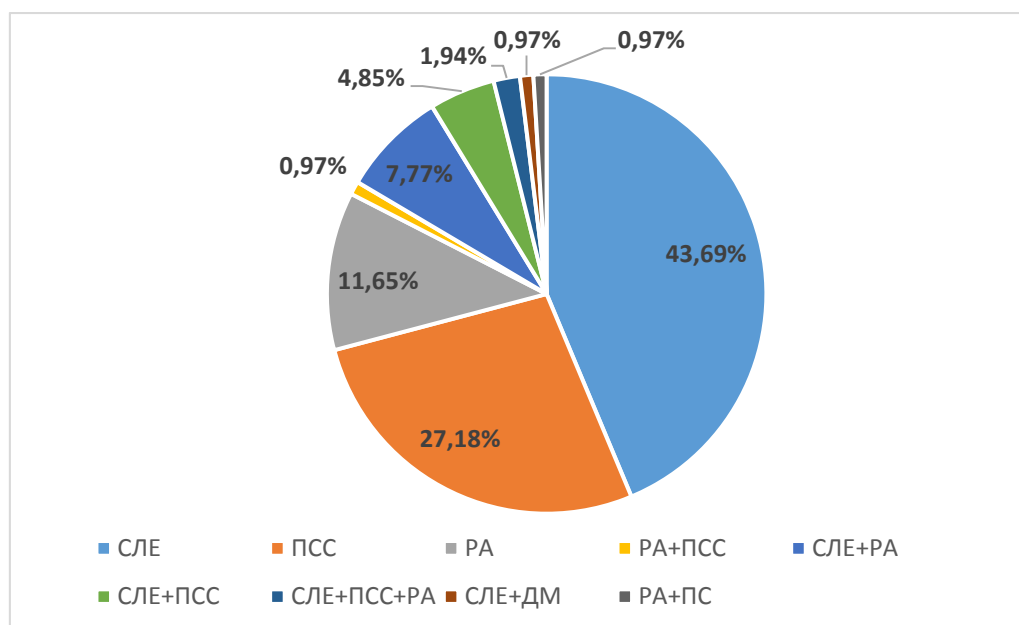
Прояви на васкулит в хода на системно заболяване на съединителната тъкан и/или артрит наблюдавахме при 103 болни (26.55% от всички васкулитни синдроми). При 8 от болните с васкулит не можахме да определим нозологичната принадлежност. Най-голям процент васкулитни прояви открихме при болните със СЛЕ (43.69% от 103 болни), следвани от тези с ПСС (27.18%). Прави впечатление сравнително високият процент на васкулитни прояви при болните с ревматоиден полиартрит (11.65% от васкулитите при други заболявания). В 16.5% от случаите на васкулит при други ревматични заболявания има припокриване между няколко диагнози, най-често между СЛЕ и РА. Най-честата нозологична единица, която се припокрива с други такива е СЛЕ. При всички нозологични единици преобладава женският пол.

Процентното разпределение спрямо общия брой васкулити е показано на таблица 7, а разпределението спрямо васкулитните синдроми при други ревматични заболявания – на фигура 4.

**Таблица 7. Процентно разпределение спрямо общия брой васкулити**

Нозология	Брой	%*	Мъже	Жени
СЛЕ	45	11.60%	4	41
ПСС	28	7.22%	2	26
РА	12	3.09%	3	9
РА+ПСС	1	0.26%	0	1
СЛЕ+РА	8	2.06%	0	8
СЛЕ+ПСС	5	1.29%	1	4
СЛЕ+ПСС+РА	2	0.52%	0	2
СЛЕ+ДМ	1	0.26%	0	1
РА+ПС	1	0.26%	0	1
<b>Общо</b>	<b>103</b>	<b>26.55%</b>	<b>10</b>	<b>93</b>

\*База – 388 изследвани пациенти



*Фигура 4. Разпределение на васкулитните синдроми при други ревматични заболявания (база 103 пациенти)*

## ***1.2. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с васкулит с некрози***

Отделно анализирахме болните, при които в момента на прегледа сме установили некротични кожни лезии и ги обозначихме като васкулит с некрози (ВН), сравнихме ги с болните, които не са имали видими некротични лезии, които обозначихме като васкулит (В) (табл. 8). При направения подбор се установи, че 147 (37.88%) от болните имат васкулит с некротични кожни лезии, при останалите 241 болни не се наблюдават такива.

Некротични лезии по кожата в хода на СЗСТ и/или артрит наблюдавахме при 70 (47,61%) от болните (ВН) , от тях 24 (16.3%) са с поставена диагноза СЛЕ; 28 (19.0%) – с ПСС. Това са диагнозите, при които разликата между двете групи е статистически значима ( $p = 0.0381$  и  $p = 0.0238$ ). Васкулитът често се припокрива с различни други ревматични заболявания. Ние установихме при нашите болни клинично и/или имунологично припокриване на няколко заболявания – на СЛЕ с ПСС при 5 болни (3.4%), на СЛЕ с ревматоиден артрит при 4 болни (2.7%), на СЛЕ с ПСС и ревматоиден артрит при 2 болни (1.4%); като от всичките 18 пациенти с припокриващо заболяване 12 (66.67%) бяха с некрози, а тези, които припокриваха ПСС със СЛЕ, всичките (100%) бяха с некрози.

Васкулит с некротични кожни лезии в хода на обособен васкулитен синдром установихме при 45 (30.61%) от болните. Статистически значима е разликата между болните със и без некротични лезии при хиперсензитивен васкулит с неясна етиология ( $p = 0.0000$ ), където некрозите са 100%. От другата страна са грануломатоза с полиангиит ( $p = 0.0000$ ), микроскопски полиангиит (0.0000), артериит на Takayasu ( $p = 0.0167$ ), болест на Behcet ( $p = 0.0133$ ), при които некрозите се срещат сигнификантно по-рядко.

**Таблица 8. Сравнителна характеристика на ВН и В въз основа на нозологичната принадлежност**

Нозологична единица	ВН N = 147	(%)	В N = 241	(%)	p
СЛЕ	24	16.3%	21	8.7%	0.0381
ПСС	28	19.0%	0	0.0%	0.0238
СЛЕ+ПСС	5	3.4%	0	0.0%	0.0042
СЛЕ+РА	4	2.7%	4	1.7%	0.5034
СЛЕ+ДМ	0	0.0%	1	0.4%	0.4431
ДМ	1	0.7%	0	0.0%	0.1632
РА	6	4.1%	6	2.5%	0.3787
РА+ПС	1	0.7%	0	0.0%	0.1942
СЛЕ+ПСС+РА	2	1.4%	0	0.0%	0.0663
Хиперсензитивен васкулит с установена етиология	12	8.2%	14	5.8%	0.3599
Хиперсензитивен васкулит с неясна етиология	30	20.4%	3	1.2%	0.0000
Нодозен полиартериит	2	1.4%	12	5.0%	0.0669
Грануломатоза на Wegener	17	11.6%	84	34.9%	0.0000
Синдром на Churg-Strauss	3	2.0%	11	4.6%	0.1840
Микроскопски полиангиит	7	4.8%	52	21.6%	0.0000
Артериит на Takayasu	1	0.7%	13	5.4%	0.0167
Темпорален артериит	1	0.7%	2	0.8%	0.2777
Болест на Buerger	2	1.4%	0	0.0%	0.0663
Болест на Behcet	0	0.0%	10	4.1%	0.0133
Аортит тбк	0	0.0%	1	0.4%	0.4431
Изолиран на ЦНС	0	0.0%	2	0.8%	0.2777

От изложеното прави впечатление, че некротичните лезии се срещат най-често при системните заболявания на съединителната тъкан (основно при ПСС и СЛЕ) и хиперсензитивните васкулити с неясна етиология.

### *1.3. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с ANCA асоциирани васкулити в практиката на Клиниката*

**Брой, възраст и пол на болните:** Използвайки критериите на ACR и CHCC, установихме, че през Клиниката са преминали общо 174

болни, които са дигностицирани с AAV. От тях 101 пациенти с грануломатоза на Вегенер, 59 пациенти с МПА, 14 пациенти със синдром на Чърг-Страус. Петима пациенти с данни за васкулит и наличие на ANCA не можахме да причислим към никоя от нозологичните единици въз основа на клиничните и проведените лабораторни, имунологични и инструментални изследвания. Средната възраст при поставянето на диагнозата на пациентите с вегенерова грануломатоза бе 50.13 ( $\pm$  13.40) год., на тези с микроскопски полиангиит 52.78 ( $\pm$  15.61) год. и на Чърг-Страус синдрома – 49,13 ( $\pm$  15.40) год. Преобладава женският пол при всички васкулити, като разликата е най-забележима при Чърг-Страус синдрома. Началото на болестта е в голям възрастов диапазон – между 17 и 85 год., но като цяло се срещат при по-възрастни пациенти (средна възраст 50 години).

**Таблица 9. Демографска характеристика на пациентите с AAV, включени в анализа за нозологична принадлежност**

	Грануломатоза с полиангиит (GPA)	Микроскопски полиангиит (MPA)	Еозинофилия с грануломатоза и полиангиит (EGPA)
<b>Брой</b>	101	59	14
<b>Процент</b>	58.05%	33.91%	8.05%
<b>М:Ж</b>	47:54	21:38	4:10
<b>Възраст</b>	50.13 (17-76)	52.78 (20-85)	49.13 (29-70)
<b>Давност</b>	10.9 мес.	8.69 мес.	31.25 мес.

## **2. Честота на сериозни инфекции в хода на ANCA асоциираните васкулити**

В настоящата работа потърсихме и анализирахме наличието на сериозни инфекции сред пациентите с AAV. Тридесет и три пациенти (23,24%) от болните с AAV са имали поне една сериозна инфекция, а

шест от тях – няколко епизода на инфекции в първите шест месеца след поставянето на диагнозата. Пациентите с грануломатоза на Вегенер и сериозни инфекции са 25 (75,76%), тези с микроскопски полиангиит са 7 (21,21%) и със синдром на Чърг-Страус е 1 (3,03%) пациент. От тях 16 са мъже и 17 са жени. Активността и при двете групи е висока (BVAS 17.61, SD = 5.55 с инфекции и съответно BVAS 16.29 без инфекции, SD = 6.34, p = 0.358 . Голяма част от пациентите с инфекции са лекувани с пулс терапии с МП (ПТМП) – 23 от тях (69,70%), с имunosупресор са лекувани 8 пациенти (24,24%), от тях четирима с циклофосфамид, трима с метотрексат и един с микофенолат мофетил. Шест от пациентите са имали рецидивиращи инфекции на фона на продължително лечение с имunosупресор. Имunosупресорите са вземани винаги в комбинация с висока доза кортикостероиди (започване с 1-2 mg/kg тегло дневно). Пациентите с рецидивиращи инфекции в хода на продължително имunosупресивно лечение са малка част от групата (шест от тридесет и три – 18,18%). Основните характеристики на пациентите със и без сериозни инфекции са дадени на табл. 10.

**Таблица 10. Сравнение на основните характеристики между пациентите със сериозни инфекции и без инфекции**

Характеристики	С инфекции N = 33	Без инфекции N = 109	p
Възраст	47.2	52	0.096
Ж:М	16:17	67:42	0.308
ANCA	29 (87.88%)	95 (87.16%)	0.923
BVAS	17.61 ( $\pm$ 5.55)	16.29 ( $\pm$ 6.34)	0.358
Анемия	22 (66.67%)	77 (70.64%)	0.664
ХБН	11 (33.33%)	63 (57.80%)	<b>0.015</b>
Хемодиализа	6 (18.18%)	21 (19.27%)	0.889
Смъртност	7 (21.21%)	8 (7.34%)	<b>0.025</b>

### ***2.1. Рискови фактори за сериозни инфекции***

Средната възраст при поставяне на диагнозата не се различава при двете групи пациенти. Не установихме сигнификантни разлики по отношение на наличието на антинеутрофилноцитоплазмени антитела, нито в стойностите на хемоглобин. При пациентите с бъбречна недостатъчност се регистрират сигнификантно по-рядко инфекции, сравнени с тези с нормална бъбречна функция (**p = 0.015**). Направихме анализ на групата на пациентите с ANCA васкулити, които провеждат диализно лечение (27 болни). Установихме инфекции при 77.78% от пациентите на диализа, без инфекции в тази група са 6 (22.22%), разликата между тях е със статистическа значимост (**p = 0.0005**). При болните с инфекции в 21,21% е настъпил смъртен изход, пациентите с ифекции са със сигнификантно по-висока смъртност от тези без инфекции (**p = 0.025**).

### ***2.2. Основни патогенни микроорганизми***

Основните патогенни микроорганизми, които са отговорни за инфекциите при нашите болни (бактерии, вируси и гъбички), са показани на фиг. 5. Допълнително при един пациент беше установена рикетсиоза. Най-чести са бактериалните инфекции – 96,6% от случаите, следвани от гъби и вируси. Най-честият причинител, който бе изолиран, е *Staphylococcus aureus* – в 8 от случаите, следван от *Klebsiella* и *Streptococcus* (по 6 случая) (табл. 11). От гъбичните инфекции най-чести са *Candida albicans* и *Aspergillus fumigatus*. Основните органни локализации на инфекции са горните дихателни пътища (нос, уши, синуси), белите дробове и кожата и най-честите материали, от които има изолиран причинител, са носен секрет, храчка и секрет от кожни лезии. Най-честите КТ находки при болните с инфекции са синусити – при 18, белодробни инфилтрати – 16 и нодули – при 14 от болните.

**Таблица 11. Видове патогени**

Патоген	Вид	
Бактерии	Staphylococcus aureus	8
	Streptococcus	6
	Pseudomonas aeruginosa	6
	Klebsiella pneumoniae	4
	M. tuberculosis	2
	Haemophilus influenzae	1
	Mycoplasma pneumoniae	1
	Enterobacter	1
	Borrelia burgdorferi	1
	Гъби	Candida albicans
Aspergillus fumigatus		3
Вируси	Hepatitis C virus	2
	Herpes zoster virus	1
	Herpes simplex virus	1
	Cytomegalovirus	1

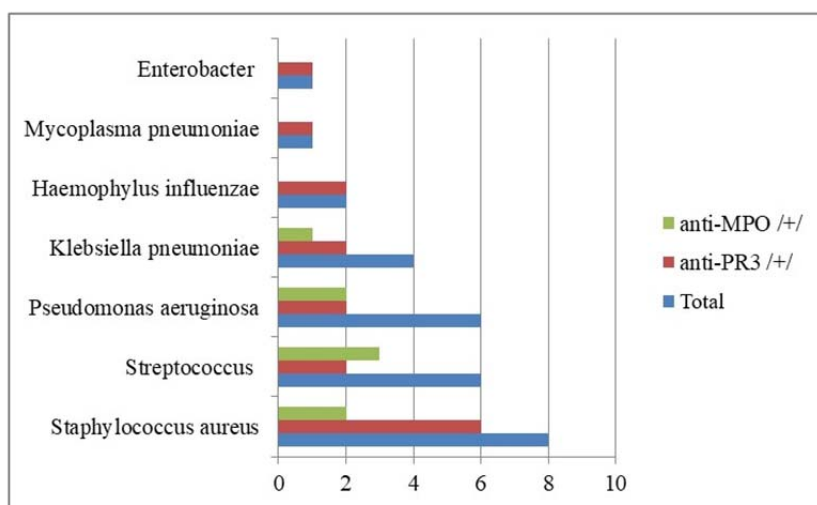
### ***2.3. Асоциация между перинуклеарните ANCA и инфекциите***

Потърсихме връзка между ANCA с перинуклеарен тип светене и наличието на инфекции, резултатите са показани на табл. 12. В групата на пациентите с инфекции 87,88% (29 болни) имат ANCA (табл. 10). От тях 11 болни (37,93%) са с pANCA, 14 са с cANCA (48,28%), а при 4 болни антителата не са типизирани на p- и cANCA. Не установихме сигнификантна разлика между двата вида антитела при болните с инфекции. От пациентите с pANCA и инфекции пет са диагностицирани с грануломатоза на Вегенер и пет с микроскопски полиангиит, т.е. 45,45% от пациентите с грануломатоза на Вегенер са с pANCA. В групата на WG без инфекции pANCA се установяват при пет болни от 53 (в 9,43%), а при 41 (77,36%) се откриват cANCA, т.е. при пациентите с грануломатоза на Вегенер и инфекции pANCA се откриват в 45.45% срещу 9.43% без инфекции, като разликата е статистически значима; при пациентите с WG без инфекции преобладават cANCA – 77.36% срещу 9.43% (**p = 0.0000**).

**Таблица 12. Профил на рANCA (+) и рANCA(-) пациенти**

Характеристика	рANCA (+)	рANCA(-)	р
С инфекции	11 (37,93%)	14 (48,28%)	0,3977
Без инфекции	36 (33,03%)	48 (52,83%)	<b>0,0035</b>
WG с инфекции	5 (45,45%)	14 (44,04%)	0,9206
WG без инфекции	5 (9,43 %)	41 (77,36%)	<b>0,0000</b>

Потърсихме връзка между отделните ANCA и различните бактериални причинители, като не установихме статистически значима разлика ( $p < 0.05$ ) или не свързахме определено антитяло с конкретен бактериален причинител. И все пак anti-PR3 ANCA се установяват по-често при инфекции със стафилокок, клебсиела и хемофилус, anti-MPO ANCA при стрептокок и ентеробактер (фигура 5).



Фигура 5. Анализ на бактериалните причинители при различните антитела

### 3. Анализ на клиничното протичане и органната локализация при различните AAV в българската популация

#### 3.1. Сравнителен анализ на засягането на горните дихателни пътища и белия дроб при отделните ANCA асоциирани васкулити

Установихме, че от пациентите с AAV общо 118 са с ангажиране на респираторния тракт. От тях 78 пациенти с грануломатоза с полиангиит,

29 пациенти с микроскопски полиангиит, 8 пациенти със синдром на Чърг-Страус и 3-ма пациенти с недиференциран васкулит (табл. 13).

**Таблица 13. Демографска характеристика на пациентите с AAV и респираторни прояви**

	<b>GPA</b>	<b>MPA</b>	<b>EGPA</b>	<b>Некласифицирани</b>
<b>Брой</b>	78	29	8	3
<b>М:Ж</b>	35:43	10:19	2:6	1:2
<b>Възраст</b>	50.5 (17-76)	53.4 (20-73)	49.1 (29-70)	49.7 (32-62)
<b>Давност (SD)</b>	11.03 мес. (14.3)	7.8 мес. (7.1)	31.2 мес. (40.2)	42.7 мес. (45.6)

Засягане на горните дихателни пътища беше наблюдавано при 56 от пациентите с грануломатоза с полиангиит, при 3-ма от пациентите с микроскопски полиангиит, при 5-ма от пациентите с Чърг-Страус синдром и при един в групата на недиференцираните AAV (табл. 16). Белодробно ангажиране беше установено при 110 пациенти общо, от тях 72 с грануломатоза с полиангиит, 27 с микроскопски полиангиит, 8 със синдром на Чърг-Страус и при трима с недиференциран васкулит (табл. 17). Средната продължителност от появата на първите симптоми до поставянето на диагнозата е 12.8 месеца. Класифицирахме васкулитите в зависимост от тежестта според определението на EUVAS, което е определящо за по-нататъшното терапевтично поведение. Определихме тежестта при всички AAV (табл. 14) и при тези с ангажиране на респираторния тракт (табл. 15) и в зависимост от наличието или липсата на ANCA. Най-често наблюдаваната форма за GPA е системната, следвана от локализираната и генерализираната. Генерализирана форма с нарушения във функцията на засегнатите органи беше установена в най-голям процент при пациентите със синдром на Чърг-Страус, а тежка форма с органна недостатъчност и застрашаваща пряко живота при микроскопския поли-

ангиит. Тези данни показват, че най-тежко е протичането при микроскопският полиангиит, следвано от Чърг-Страус синдрома. Средната активност, определена според системата на BVAS, е висока при поставянето на диагнозата при всичките групи васкулит – 17.3 т., SD = 6.53 за GPA, следвани от тези с MPA – 16.6 т., SD = 5.41 и EGPA с 14.4, SD = 5.31 и 11.5 т., SD = 6.42 за неклассифицираните васкулити (табл. 14). Профилът на тежестта на заболяването при болните с белодробно ангажиране не се различава съществено от общата група на AAV (табл. 15). При тях стойностите на BVAS са съответно 18.6 т., SD = 5.41 за MPA, следвани от тези с GPA – 16.2 т., SD = 6.53 и EGPA с 14.4, SD = 5.31 и 12.0 т., SD = 6.42 за неклассифицираните васкулити.

**Таблица 14. Профил на тежест на болестта при отделните видове васкулити**

Имунологичен профил	GPA		MPA		EGPA		Неклассифицирани	
	(n = 80)	%	(n = 52)	%	(n = 8)	%	(n = 5)	%
ANCA /+/	71	88.75	46	88.46	5	62.50	5	100.00
ANCA /-/	8	10.00	5	9.62	2	25.00	0	0.00
<b>BVAS</b>	17.3 (± 6.53)		16.6 (± 5.41)		14.4 (± 5.31)		11.5 (± 6.42)	
<b>Форма на болестта</b>								
Локализирана	21	26.25	0	0.00	2	25.00	2	40.00
Ранна системна	23	30.00	8	15.38	2	25.00	2	40.00
Генерализирана	21	26.25	24	46.15	4	50.00	0	0.00
Тежка	14	17.50	20	38.46	0	0.00	1	20.00

**3.1.1. Симптоми и признаци от страна на респираторния тракт.** Анализирахме признаците и симптомите, които участват в изчислението на BVAS от страна на респираторния тракт. При анализа на проявите от страна на ГДП установихме, че общо 64 пациенти са имали такива, което е 44.14% от всички изследвани. Проявите от ГДП се срещат значимо по-често при GPA в сравнение с MPA и CSS, на второ място, значимо по-малко при CSS, отколкото при GPA, на последно, пак

значимо по-малко при MPA от GPA ( $p = 0.0000$ ). Разликата в ангажирането на респираторния тракт между MPA и CSS не е значима ( $p = 0.7199$ ) (табл. 16).

**Таблица 15. Профил на тежест на болестта при болните с белодробно ангажиране според вида васкулит**

Имунологичен профил	GPA		MPA		EGPA		Некласифицирани	
	(n = 78)	%	(n = 29)	%	(n = 8)	%	(n = 3)	%
ANCA (+)	69	88.64	27	93.10	5	62.50	2	66.67
ANCA (-)	8	10.26	1	3.45	2	25.00	0	0.00
BVAS	16.2 ( $\pm 6.53$ )		18.6 ( $\pm 5.41$ )		14.4 ( $\pm 5.31$ )		12.0 ( $\pm 6.42$ )	
Форма на болестта								
Локализирана	21	26.92	0	0.00	2	25.00	0	0.00
Ранна системна	23	29.49	2	6.90	2	25.00	2	66.67
Генерализирана	21	26.92	15	51.72	4	50.00	0	0.00
Тежка	13	16.67	12	41.38	0	0.00	1	33.33

**Таблица 16. Ангажиране на горните дихателни пътища при отделните AAV**

Признак	WG (n,%)	MPA (n,%)	CSS (n,%)	p*
ГДП	56 (86.2%)	3 (4.6%)	5 (7.7%)	<b>0.0000 – 0.0000 – 0.7199</b>

\*WG vs MPA – WG vs CSS – MPA vs CSS Fisher exact two proportions test p values

В следващите анализи са включени само трите основни AAV.

При анализ на отделните признаци не установихме значима разлика между отделните васкулити. Най-често наблюдаваната манифестация е ринореята, като тя е била с кървави примеси при 78.6% от болните с GPA, с ангажиране на параназалните синуси са 47 от пациентите, пак основно от групата на тези с GPA (71.4%). Тези два симптома бяха най-често наблюдаваните при стартирането на ANCA васкулита. Тежки увреждания в областта на ГДП като намален слух, глухота, деформации в областта на лицевия череп, вкл. седловиден нос и перфорация на носната преграда, се установяват само при пациентите с грануломатоза с полиангиит, което потвърждава, че възпалението при този васкулит е деструк-

тивно. Пациентите с микроскопски полиангиит и прояви от страна на ГДП са малко като случаи и голяма част от признаците липсват при тях, което не позволи да се установят значими разлики.

**3.1.2. Белодробни манифестации.** Анализирахме белодробните прояви според BVAS критериите, като ги разделихме на клинични манифестации и на радиографски находки. Отделно анализирахме радиографските находки от конвенционалната рентгенография и HRCT (табл. 17, 18, 19). С белодробни прояви са общо 110 болни, което е 75.9% от всички изследвани, като те се разпределят по следния начин (табл.17).

Белодробните прояви са най-чести при грануломатозата с полиангиит (65.6%), на следващо ниво значимо по-малко са при микроскопския полиангиит (24.5%) и на последно място пак значимо по-малко при синдрома на Чърг-Страус (7.3%) ( $p = 0.0000$ ). Разликата между последните два васкулита също е значима ( $p = 0.0009$ ). При 26 от болните с GPA (36.11%) това са единствените симптоми и не сме наблюдавали прояви от други органи.

**Таблица 17. Ангажиране на белия дроб при отделните AAV**

Признак	WG (n,%)	MPA (n,%)	CSS (n,%)	p*
Бял дроб	72 (65.5%)	27 (24.5%)	8 (7.3%)	<b>0.0000 – 0.0000 – 0.0009</b>

\*WG vs MPA – WG vs CSS – MPA vs CSS Fisher exact two proportions test p values

**Таблица 18. Белодробни признаци и симптоми при отделните AAV.**

Признак	Общо (n,%)	WG (n,%)	MPA (n,%)	CSS (n,%)	p*
Бял дроб	110(100%)	72 (100%)	27 (100%)	8 (100%)	
Алв. хеморагии	7 (8.2%)	2 (2.8%)	5 (18.5%)	0	<b>0.0226-1.0000-0.4596</b>
Кашлица	83 (97.6%)	59 81.9%)	14 (51.9%)	8 (100%)	<b>0.0055-0.4190-0.0395</b>
Диспнея	33 (38.8%)	22 (30.6%)	7 (25.9%)	3 (37.5%)	0.8393-1.0000-0.8486
ДН	14 (16.5%)	5 (6.9%)	7 (25.9%)	2 (25.0%)	<b>0.0257-0.2914-1.0000</b>

\*WG vs MPA – WG vs CSS – MPA vs CSS Fisher exact two proportions test p values

Кашлицата е най-често срещаният симптом при нашите болни – при 83 от пациентите с белодробни прояви, като при 57 (68.57%) тя е имала кървави примеси. Най-голям процент от болните с хемоптиза са в групата на грануломатозата на Вегенер – 42 (49.41%) от болните, следвани от микроскопския полиангиит – 15,79%, и синдрома на Чърг-Страус – 8,77%. С диспнея са 38,8% от всички болни, основно при пациентите с Чърг-Страус синдром (37.5%) и грануломатоза на Вегенер (30,6%). С прояви на дихателна недостатъчност са общо 14 болни (16,5%), като процентно най-много такива болни сме наблюдавали при микроскопския полиангиит – при 25.9%. Дифузните белодробни хеморагии при ANCA асоциираните васкулити са една от основните причини за смъртност при тези заболявания. При нашите болни имаме седем случая на белодробна хеморагия, от тях пет пациенти с микроскопски полиангиит и двама с грануломатоза с полиангиит, те са се изявили се с клиника на остра дихателна недостатъчност, като пет от болните са имали активно кървене от белия дроб, починали са двама от тези болни. Алвеоларна хеморагия бе наблюдавана значимо по-често при микроскопски полиангиит ( $p = 0.0266$ ), същото важи и за дихателната недостатъчност ( $p = 0.0257$ ). Останалите значими разлики са за кашлицата, значимо по-често при GPA в сравнение с MPA ( $p = 0.0055$ ) и при EGPA значимо по-често от MPA ( $p = 0.0395$ ).

**3.1.3. Резултати от изследването на белия дроб с HRCT и конвенционална рентгенография** (табл. 19). HRCT изследването е диагностичен метод с висока сензитивност в откриването на белодробни нодули и маси и в установяването на активна белодробна болест при васкулити. Таблица 19 показва широкият спектър на патологични находки при ANCA асоциираните васкулити. Освен признаците, включени в BVAS, нодули (със или без кавитации), плеврит, инфилтрати и хеморагии в анализа сме включили ретикуларните промени, алвеоларните засенчва-

ния – промени тип „матово стъкло“ и консолидация на белодробния паренхим, наличието на увеличени лимфни възли и интерстициална фиброза. Анализът бе направен въз основа на предоставената от пациентите медицинска документация и на проведените в Клиниката изследвания, което затруднява обработката на данните, тъй като няма еднакъв протокол при провеждане на изследването и интерпретиране на резултатите.

Най-честата СТ находка при трите групи болни са нодуларните лезии – в 54.5% от случаите с белодробно ангажиране, като те са сигнификантно повече при грануломатоза с полиангиит и белодробно ангажиране -68.1% ( $p = 0.0000$ ), доста по-малко при еозинофилната грануломатоза с полиангиит – в 62,5%, и само в 18,5% при микроскопския полиангиит. Нодулите при ANCA асоциираните васкулити могат да бъдат единични или множествени, според големината си са малки ( $< 10$  mm) или големи ( $> 30$  mm). В нашия анализ не сме разделили пациентите според големината на нодуларните лезии, тъй като при повечето от тях не бяха описани размери при разчитането на скенограмите. Там, където има такова, прави впечатление, че големите нодули ( $> 30$  mm) преобладават при болните с грануломатоза и полиангиит, като обичайно са двустранни без предилекция в разположението по отношение на белодробните полета, а при еозинофилната грануломатоза с полиангиит и микроскопския полиангиит те са по-малки по размери ( $< 10$  mm) и са единични. Само при една пациентка с микроскопски полиангиит бе наблюдавана кавитираща нодуларна лезия с размери  $> 30$  mm, като впоследствие се оказа, че тя се дължи на аспергилоза. HRCT находките показват, че 35% от нодулите при нашата група болни кавитират. От всички болни с кавитиращи нодуларни лезии (общо 21), в групата на грануломатоза с полиангиит те са 19 (26.4%), при микроскопския полиангиит са 2 (7.4%) и нито един при еозинофилната грануломатоза с полиангиит. Втората най-често срещана находка са инфилтратите (при 51.8% от болните), като те не са

специфични за тези заболявания и често представляват диференциално-диагностичен проблем със съпътстващите инфекции. При 16 от болните бяха доказани белодробни инфекции. Алвеоларен тип нарушения (промени тип „матово стъкло“) се откриват при 30 болни (27.3%), при 18.1% с ГПА и 44.4% с МПА. Зони на консолидация бяха установени при 14 болни (12.7%), два пъти по-често при пациентите с микроскопски полиангиит. Ретикуларният тип изменения, изобразяващи се под формата на сегментно и лобуларно задебеление на бронхите, септални и субплеврални линии, промени по типа на пчелна пита, тракционни бронхиектазии бяха установени при 16 (14.5%) от болните с ААV, най-често при тези с ЕГПА, при тях и самите промени са изразени в най-голяма степен, следвани от тези с микроскопски полиангиит. При 41 (37.3%) от болните фиброзните изменения са тежки, описани като изразена белодробна фиброза с нарушена архитектура на белодробния паренхим. Белезите на белодробна фиброза бяха разположени предимно в долните и средните белодробни полета, периферно и перибронхиално. Плеврални изливи и задебелявания бяха намерени при 21 болни (19.1%), като са най-често при болните с микроскопски полиангиит (29.60%). Хилусна и медиастинална лимфаденопатия бе установена при 15 от болните.

От анализа на СТ находки при трите васкулита се вижда, че белодробните нодули се срещат значимо по-често при ГПА и ЕГПА ( $p = 0.0000$  и съотв.  $p = 0.0485$ ) в сравнение с МПА; промените тип „матово стъкло“ са значимо по-чести при МПА в сравнение с ГПА ( $p = 0.0150$ ) и ретикуларните промени са значимо по-чести при ЕГПА ( $p = 0.0094$ ). При инфилтратите, плевралните промени и фиброзата разликите, които се наблюдават, не са значими.

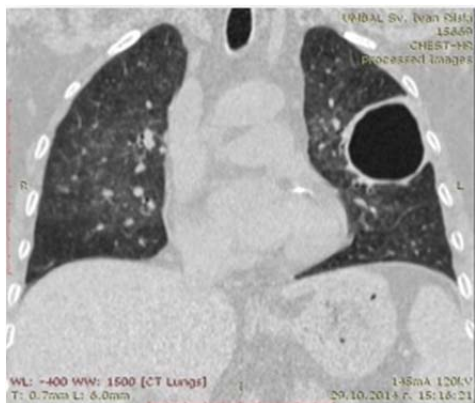
**Таблица 19. СТ белодробни находки при пациентите с AAV**

Находка	AAV (n,%)	WG (n,%)	MPA (n,%)	CSS (n,%)	p*
<b>Белодробни – общо (база)</b>	<b>110 (100%)</b>	<b>72 (100%)</b>	<b>27 (100%)</b>	<b>8 (100%)</b>	
<b>Нодули и маси</b>	60 (54.5%)	49 (68.1%)	5 (18.5%)	5 (62.5%)	0.0000- 1.0000- 0.0485
<b>Кавитиращи нодули</b>	21 (19.1%)	19 (26.4%)	2 (7.4%)	0 (-)	0.0748- 0.2202- 1.0000
<b>Инфилтрати</b>	57 (51.8%)	40 (55.6%)	12 (44.4%)	5 (62.5%)	0.4472- 1.0000- 0.6208
<b>„Матово стъкло“</b>	30 (27.3%)	13 (18.1%)	12 (44.4%)	4 (50.0%)	0.0150- 0.1010- 1.0000
<b>Консолидации</b>	14 (12.7%)	9 (12.5%)	5 (18.5%)	0 (-)	0.6588- 0.6371- 0.4596
<b>Ретикуларни промени</b>	16 (14.5%)	7 (9.7%)	5 (18.5%)	4 (50.0%)	0.3961- 0.0094- 0.1839
<b>Бронхиектазии</b>	2 (1.8%)	0 (-)	2 (7.4%)	0 (-)	0.1257- NaN- 1.0000
<b>Плеврални промени</b>	21 (19.1%)	13 (18.1%)	8 (29.6%)	0 (-)	0.3277- 0.4190- 0.2028
<b>Фиброза</b>	41 (37.3%)	24 (33.3%)	11 (40.7%)	4 (50.0%)	0.6523- 0.5844- 0.9537
<b>Лимфаденомегалия</b>	15 (13.6%)	9 (12.5%)	4 (14.8%)	1 (12.5%)	1.0000- 1.0000- 1.0000

\*WG vs MPA – WG vs CSS – MPA vs CSS Fisher exact two proportions test p values

Конвенционалната рентгенография (фиг. 6) показва засенчвания с инфилтративен характер при 17 болни (20%), нодули се установяват само при 7 болни (8.4%) срещу 68.24% на HRCT изследване, кухинни сен-

ки при 2 болни, белодробни изливи при 4 (4.71%) и белодробна фиброза и сраствания при 9 болни. При двама болни бе установен пулмонит. Изложените данни показват, че конвенционалното рентгеново изследване открива патологични промени при по-малък процент болни (само при 20 болни, 2.35%) в сравнение с HRCT.



Снимка 1. Пациентка с МРА и промени тип „матово стъкло“ и кавитация (аспергилом)



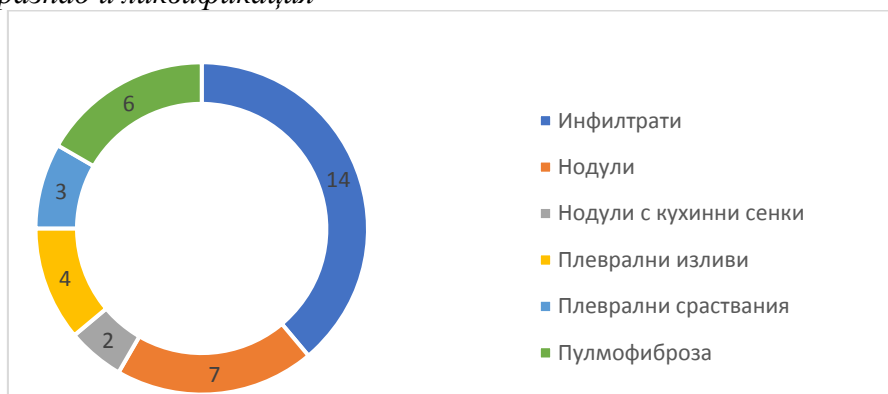
Снимка 2. Пациент с МРА и **алвеоларна хеморагия**



Снимка 3. Пациент с GPA и инкапсулиран излив, лезия с централна зона на разпад и ликвификация



Снимка 4. Пациент с GPA и двустранни нодули с кавитирание



Фигура 6. Рентгенографски находки при AAV

**3.1.4. Проведени биопсии и хистологични находки при тях.** Биопсии от назална лигавица, синуси, туморни формации в областта на главата, горни дихателни пътища и бял дроб са проведени при общо 47 болни. Най-често хистологичните изследвания са на материал от бял дроб – при 23 болни, като при 10 от тях е проведена отворена биопсия (транскутанна торакална биопсия), а при останалите 13 – фибробронхоскопия, следвани от назална лигавица (при 12 болни) и от фаринкс и меко небце (при двама болни). При общо 17 от биопсиите има данни за грануломи или грануломатозно възпаление, което е един от класификационните критерии на ACR за грануломатоза с полиангиит. От тях шест са от белодробни биопсии и 11 са от назални биопсии. От общо 12 проби от назална лигавица при 11 има грануломи (91.66%). Белодробни грануломни лезии бяха установени при 4 болни с грануломатоза с полиангиит, при 1 със синдром на Чърг-Страус и при една болна с микроскопски полиангиит, впоследствие тя се оказа с насложена гъбична инфекция – аспергилоза. Категорични хистологични данни за васкулит са налице при три от биопсиите от горни дихателни пътища, а една е интерпретирана като суспектна. От белодробните биопсии две са с васкулитни промени, при пациенти с микроскопски полиангиит, и две са суспектни за васкулит – при грануломатоза с полиангиит. Данни за некротичен васкулит и некротизиращо възпаление бяха установени при осем от болните, а комбинация от васкулит, некрози и грануломи – при четири болни.

**3.1.5. Клинико-имунологични асоциации с anti-PR3 и anti-MPO.** В групата на пациентите, диагностицирани с AAV и ангажиране на респираторния тракт, 103 са ANCA положителни, 11 са ANCA отрицателни и при 4-ма пациенти не е проведено изследване за ANCA. От ANCA положителните 59 ( 50%) са показали светене, типично за cANCA, а 35 (29.66%) за pANCA. Четиридесет и седем пациенти са положителни за anti-PR3, тридесет и трима за anti-MPO, а пет и за двете.

При девет пациенти с позитивни ANCA не е проведено изследване за антитела срещу съответните антигени. При анализ на болните, при които се установяват специфични антитела (anti-PR3 или anti-MPO), най-честите симптоми от страна на горните дихателни пътища и за двете групи са ринорея и синусит. При болните с тези симптоми достоверно по-често се среща анти-PR3 ( $p = 0.0000$ ) (табл. 20). Ангажиране на средното ухо и мастоидит също има достоверно по-често при тези пациенти ( $p = 0.0000$ ). Трайни структурни и функционални нарушения като деформации в областта на черепа или намален слух се установяват само при anti-PR3 позитивните пациенти. Типичните манифестации от страна на долния респираторен тракт като кашлица и хемоптиза се наблюдават по-често при anti-PR3 позитивните пациенти (съответно 72.3% при anti-PR3 и 60.6% anti-MPO). Дифузната алвеоларна хеморагия е по-честа при anti-MPO (при 18.2%), разликата с anti-PR3 не е статистически значима ( $p = 0.0958$ ). Прави впечатление, че при пациентите с anti-MPO ANCA клиничните симптоми са по-слабо изразени и не корелират с рентгенографските промени, но при тези пациенти се наблюдава значимо по-често дихателна недостатъчност ( $p = 0.0090$ ). Беше проведен анализ на радиографските находки при двете антитела. Нодулите се наблюдават по-често (в 59.6% от случаите) при антипротеиназа-3 позитивните и в 45.4% при антимиелопероксидаза позитивните ( $p = 0.3081$ ). Кавитациите също са по-чести при anti-PR3 ANCA. Учудващо е, че нодулите при болните с положителни MPO-ANCA са били кавитиращи в половината от случаите. Инфилтратите, които са втората най-честа рентгенологична находка се наблюдават еднакво често и при двете групи, следвани от ретикуларните промени, срещащи се по-често при антимиелопероксидаза положителните пациенти и плевралното ангажиране, което е по-често в групата на миелопероксидаза положителните. Промените тип „матово стъкло“ се срещат сигнификантно по-често при миелопероксидаза антитела ( $p =$

0.010). Белодробна фиброза се наблюдава по-често при anti-MPO-ANCA ( $p = 0.5129$ ).

**Таблица 20. Асоциации на клиника и рентгенологични находки с anti-PR3 и anti-MPO**

Клиничен симптом	PR3-ANCA (n = 47)	MPO-ANCA (n = 33)	p*
Кървава/пурпурна ринорея – 48	27 (57.4%)	1 (3.0%)	0.0000
Синузит – 47	24 (51.1%)	6 (18.2%)	0.0058
Глухота, намален слух – 18	7 (14.9%)	0 (-)	0.0550
Деформации – 14	8 (17.0%)	0 (-)	0.0340
Отит, мастоидит – 21	15 (31.9%)	1 (3.0%)	0.0038
Нодули – 52	28 (59.6%)	15 (45.5%)	0.3081
Кавитации – 21	12 (25.5%)	7 (21.2%)	0.8571
Плеврално ангажиране – 21	7 (14.9%)	6 (18.2%)	0.9325
Алвеоларни хеморагии – 7	2 (4.3%)	6 (18.2%)	0.0958
Матово стъкло – 30	10 (21.3%)	17 (51.5%)	0.0100
Фиброза – 41	14 (29.8%)	13 (39.4%)	0.5129
Кашлица – 83	34 (72.3%)	20 (60.6%)	0.3894
Хемоптиза – 51	23 (48.9%)	15 (45.5%)	0.9366
ДН – 14	2 (4.3%)	9 (27.3%)	0.0090
Диспнея – 33	11 (23.4%)	12 (36.4%)	0.3126

\*Fisher exact two proportions test p values

### **3.2. Сравнителен анализ на бъбречното засягане при отделните ANCA асоциирани васкулити**

**3.2.1. Брой, възраст и пол на болните.** Използвайки критериите на ACR и CHCC, установихме, че от всичките болни с ANCA асоциирани васкулити, 95 пациенти имат бъбречно ангажиране, от тях с грануломатоза на Вегенер са 45, с MPA са 50. Средната възраст при поставянето на диагнозата на пациентите с вегенерова грануломатоза бе 50.7 (22-75) год., на тези с микроскопски полиангиит – 53.1 (20-85) год. С грануломатоза с полиангиит са диагностицирани 19 мъже и 26 жени (42.2%:57.8%), а с микроскопски полиангиит съотв. 19 мъже и 31 жени (38.0%:62.0%). Преобладава женският пол и при двата вида васкулит

(табл. 21). Времето в месеци от появата на първите симптоми до изязвата на гломерулонефрита е с три месеца по-дълго при грануломатозата с полиангиит – 11.5 месеца и съотв. 8.6 месеца.

**Таблица 21. Демографска характеристика на пациентите с AAV с бъбречно засягане**

	Грануломатоза с полиангиит(GPA)	Микроскопски полиангиит(MPA)
<b>Брой</b>	45	50
<b>М:Ж</b>	19:26 (42.2%:57.8%)	19:31 (38.0%:62.0%)
<b>Възраст</b>	50.7 (22-75)	53.1 (20-85)
<b>Давност (SD)</b>	11.5 мес. (14.5)	8.6 мес. (7.9)

**3.2.2. Класификация на пациентите с AAV спрямо клиничната изява на заболяването.** Класифицирахме васкулитите в зависимост от тежестта, което е определящо за по-нататъшното терапевтично поведение (табл. 22). Класификацията е направена според определението на EUVAS. Освен това анализирахме активността (BVAS, FFS) при всички AAV с бъбречно ангажиране (табл. 22), както и според наличието или липсата на ANCA.

Най-често наблюдаваната форма бе генерализираната. Тя се установи в приблизително еднакъв процент при пациентите с GPA и MPA (48.88% и съотв. 46.94%). Тежката форма с вече настъпила органна недостатъчност и застрашаваща пряко живота бе диагностицирана при 9 от болните от групата на грануломатоза с полиангиит (24.44%) и при 29 от тази на микроскопски полиангиит (40.00%). Най-рядко срещаната форма бе системната, като за пациентите с грануломатоза на Вегенер (26.67%) системната форма бе по-често срещана от тежката. При микроскопския полиангиит тежката форма е най-честа, разликата между двете диагнози не е значима ( $p = 0.1629$ ). Петфакторният скор също е по-висок при MPA (1.68, SD = 0.71 и съответно 1.31, SD = 0.84). Средната активност, опре-

делена според системата на BVAS е висока при поставянето на диагнозата при двете групи васкулит – 18.24, SD = 5.81 за всички болни. При болните с GPA активността, определена чрез BVAS, е статистически значимо по-висока – 19.87 т., SD = 5.79 в сравнение с MPA – 16.69 т., SD = 5.40 ( $p = 0.0125$ ).

**3.2.3. Имунологична и клиничнолабораторна характеристика на пациентите.** И при двете нозологични групи AAV процентът на пациентите с ангажиране на бъбреците и положителни ANCA е сигнификантно по-висок от ANCA негативните, ( $p = 0.0000$ ) (табл. 22, 23).

**Таблица 22. Профил на тежест на болестта при отделните видове васкулити**

Имунологичен профил	GPA		MPA		Общо		p*
	(n = 45)	%	(n = 50)	%	(n = 95)	%	
ANCA (+)	41	91.11	44	88.00	85	89.47	0.8740
ANCA (-)	3	7.32	5	11.37	8	9.41	0.8304
<b>BVAS</b>	19.87 (5.79)		16.69 (5.40)		18.24 (5.81)		<b>0.0125</b>
<b>FFS</b>	1.31 (0.84)		1.68 (0.71)		1.51 (0.79)		0.0835
<b>Форма на болестта</b>							
Локализирана	0	-	0	-	0	-	-
Ранна системна	12	26.67	7	14.29	19	20.21	0.2164
Генерализирана	22	48.88	23	46.94	45	47.87	0.9396
Тежка	11	24.44	20	40.00	30	31.91	0.1629

\*Fisher exact two test p for all except BVAS&FFA where Yuen's test for means used

Сравнихме честотата на ANCA и на антителата срещу специфичните антигени при болните със и без гломерулонефрит, като и с общата група болни с AAV (табл. 23). Честотата на ANCA при групите с гломерулонефрит е близка до тази в общата група болни (98.88% от случаите с GN са ANCA и 87.59% от всички AAV са ANCA позитивни), същото се отнася за антителата срещу протеиназа-3 (43.82% и

41.83%). Антитела срещу миелопероксидаза наблюдавахме в 44.94% от случаите с GN и в 33.79% от всички AAV. Подобни са данните и при сравнение на болните със и без ГН (98.88% и 82.98%). При сравнение на антителата срещу миелопероксидаза при болните със и без GN установихме сигнификантно по-висока честота на антителата срещу миелопероксидаза в групата на гломерулонефритите в сравнение с тези без ГН ( $p = 0.0078$ ). В групата без ГН несигнификантно често, се срещат антитела срещу протеиназа-3 ( $p = 0.7047$ ). Антинуклеарните антитела се срещат еднакво при двете групи и изненадващо често при всички болни с AAV (в 50.51%). Но те не корелират с антителата срещу dsDNA, които са положителни само в 7.87% от случаите с нефрит (табл. 23).

**Таблица 23. Имунологичен профил на пациентите**

Антитела	Положителни		Не е изследвано	p*
	С GN (n = 98)	Без GN (n = 47)		
<b>ANCA</b>	88 (98.88%)	39 (82.98%)	1	0.37.01
<b>Anti-PR3</b>	39 (43.82%)	21 (44.68%)	10	0.7047
<b>Anti-MPO</b>	40 (44.94%)	8 (17.02%)	10	<b>0.0078</b>
<b>ANA</b>	31 (34.83%)	16 (34.04%)	16	0.9198
<b>Anti-dsDNA</b>	7 (7.87%)	2 (4.26%)	29	0.7590
<b>Anti-GBM</b>	0	0		-
<b>APLA (недефинирано)</b>	4 (4.49%)	2 (4.26%)	53	1.0000

*\*Fisher exact two test p used*

Антифосфолипидните антитела са изследвани при малка част от болните, като тяхната честота е незначителна и не установихме разлика между двете групи. При част от болните са изследвани анти-GBM, те не са се позитивирали при нито един от болните с нефрит.

При анализ на лабораторните показатели при болните със и без нефрит установихме, че при дебюта на болестта по-голямата част от пациентите са били с данни за висока възпалителна активност, като с по-

вишени стойности на СУЕ са 88.64%, на С-реактивен протеин са 84.69% от пациентите, с анемия са 95.92% (табл. 24). Не установихме съществена разлика в описаните резултати между двете групи болни. Острофазовите показатели са повишени в по-висок процент при болните с нефрит в сравнение с тези без нефрит, обратно, броят на тромбоцитите и левкоцитите е по-често повишен при тези без нефрит (табл. 24). Средната стойност на С-реактивния протеин бе по-висока при пациентите без нефрит – 46.73  $\mu\text{mol/l}$  (SD = 47.66) с нефрит и 53.46  $\mu\text{mol/l}$  (SD = 51.27) без нефрит.

**Таблица 24. Клинико-лабораторни показатели при AAV със и без гломерулонефрит**

	С гломерулонефрит		Без гломерулонефрит		p*
	(n = 98)	%	(n = 47)	%	
↑ СУЕ	89	90.82	42	89.36	1.0000
↑CRP	83	84.69	38	80.85	0.7308
↓Hb	94	95.92	46	97.87	0.9067
↑Thr	85	86.73	41	87.23	1.0000
↑Leu	45	45.92	24	51.06	0.6869

*\*Fisher exact two test p used*

Описаните показатели бяха анализирани поотделно и за двата вида васкулит, като данните са илюстрирани на табл. 25.

**Таблица 25. Клиничнолабораторни показатели при GPA и MPA със и без гломерулонефрит**

	GPA		MPA		p*
	(n = 45)	%	(n = 50)	%	
↑ СУЕ	33	73.33	42	84.00	0.3071
↑CRP	31	68.89	38	76.00	0.5852
↓Hb	34	75.56	48	96.00	0.0094
↑Thr	31	68.89	42	84.00	0.1337
↑Leu	20	44.44	19	38.00	0.6681

*\*Fisher exact two test p used*

При пациентите с микроскопски полиангиит по-често има влошени лабораторни показатели, като разликата е значима само по отношение на анемията ( $p = 0.0094$ ).

При анализ на основните клинични показатели, свързани с бъбречното засягане от васкулита, установихме, че от пациентите с нефрит 71 (74.74%) са с повишени стойности на азотни тела в серума при поставяне на диагнозата, като те са повече в групата на микроскопския полиангиит (табл. 26). Артериална хипертония се установява при 13 болни с вегенерова грануломатоза и при 10 с микроскопски полиангиит. Най-характерният белег на некротизиращ бъбречен васкулит – еритроцитурия ( $> 10$  еритроцита на поле) е имало при общо 71 болни (74.74%), а протеинурия ( $> 0.500$  mg/L) при 68 болни (71.58%), те са по-често при микроскопския полиангиит, без разликата да е съществена. Бъбречното заболяване при поставяне на диагнозата в повечето случаи е било тежко (средната стойност на креатинина е  $268.1 \mu\text{mol/l}$ ,  $SD = 255.29$ ). При 33 от болните (34.74%) се е наложило диализно лечение, като не се наблюдава разлика при двата вида васкулити по отношение на необходимостта от диализа. При анализ на тежестта на протеинурията установихме, че белтък между  $0.500$  и  $1.00$  g/l се наблюдава при 11.94% от болните, между  $1.00$  и  $5.00$  g/l при 82.06%, над  $5.00$  и под  $10.00$  g/l – при 2.56%, и над  $10.00$  g/l при 3.13%. При пет от тях диализата е прекратена след проведено патогенетично лечение, като са с грануломатоза с полиангиит (табл. 26). При анализ на антителата установихме, че от болните, провеждащи диализно лечение значително повече са тези с PR3-ANCA ( $p = 0.0000$ ).

**3.2.4. Клинична и хистопатологична изява при AAV.** Анализирахме болните, които при дебюта на болестта освен бъбречни са имали и белодробни прояви, тъй като много често се наблюдават заедно. Общо 66 болни (69.47%) са били с прояви и от двете системи, като статистически повече ( $p = 0.0000$ ) са при грануломатозата с полиангиит. Не се установи

съществена разлика в честотата на белодробната хеморагия, която е типичната проява на белодробен васкулит, случаите при микроскопски полиангиит са по-чести, без значима разлика (табл. 27).

**Таблица 26. Основни клинични прояви и лабораторни показатели при AAV пациенти**

	GPA		MPA		Общо	
	(n = 45)	%	(n = 50)	%	(n = 95)	%
<b>Еритроцитурия</b>	30	66.67	41	82.00	71	74.74
<b>Протеинурия</b>	30	66.67	38	76.00	68	71.58
<b>Креатинин↑</b>	30	66.67	41	82.00	71	74.74
<b>Хемодиализа</b>	14	31.11	19	38.00	33	34.74
<b>Хипертония</b>	13	28.89	10	20.00	23	24.21
<b>Белодробни прояви</b>	42	93.33	24	48.00	66	69.47
<b>Белодробна хеморагия</b>	6	13.33	10	20.00	16	16.84

При близо половината от болните бе регистрирано съдово поражение на бъбреците едновременно с участие и на ЦНС, кожа и сърце (табл. 27).

**Таблица 27. Васкулитни прояви при AAV**

Система	Бял дроб	Кожа	НС	Сърце
Брой	16	42	22	37
%	16.84	42.86	22.45	35.15

Най-честата свързана проява – при 42 от болните (42.86%), повече при болните с грануломатоза с полиангиит (при 24 болни) бе кожният васкулит, който в 9 от случаите е бил с некрози. Втори по честота – при 37 от болните (35.15%), са проявите от страна на ССС. Поражение на бъбреците заедно с нервната система (ПНС и/или ЦНС) бе установено при 22 болни, най-честите прояви са множествен мононеврит и полиневрит. Белодробен алвеолит едновременно с нефрит бе наблюдаван при 16.84% от болните.

От общо 95 болни при 27 нефритът е бил първа проява на болестта (27.55%), като впоследствие са се ангажирали и други органи и системи. Най-често това са стави, ГДП и бял дроб, както и кожни прояви. Последващите симптоми обичайно се явяват в рамките на няколко месеца до една година след отключване на бъбречното заболяване (табл. 27). При 26 болни болестта е започнала едновременно с прояви от други органи и системи (26.53%), при други 26 началото на нефрита е предшествано от друго органно ангажиране (табл. 28). При 19 болни нефритът остава единствена клинична проява на болестта (19.39%) и това са болните, при които най-рано се поставя диагнозата след провеждане на ПББ.

**Таблица 28. Клинични варианти на бъбречното засягане при AAV**

<b>N = 98</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Първа проява гломерулонефрит</b>	27	27.55
<b>Без прояви от други органи и системи</b>	19	19.39
<b>Едновременно с прояви от други органи и системи</b>	26	26.53
<b>Начало след други прояви</b>	26	26.53

**Хистопатологични находки при AAV с бъбречно ангажиране.** При нашите 63 болни с нефрит е проведена пункционна бъбречна биопсия. Резултатите са обобщени според класификационната схема на Verden (4 класа – огнищен, полулунен, смесен и склеротичен) (фиг. 7).

Най-често наблюдаваният тип гломерулонефрит бе полулуният – при 38.10% от всички ПББ, следван от смесения тип (23,81%). В 20.63% от случаите резултатът не може да бъде класифициран, като най-често използваният термин при интерпертацията на резултата е „вторична нефропатия“ или „данни за некротичен гломерулонефрит при грануломатоза на Вегенер“. В 55.55% от случаите има формиране на полулуния, като в 34.92% е установена фибриноидна некроза. Комбинацията от хистологична находка на полулуния и фибриноидна некроза има при 21 биопсии (33.33%), като това са основно болни с микроскопски полиангиит

(комбинация от двете има само при двама болни с грануломатоза с полиангиит). Случаите, при които има данни за фибриноидна некроза, са най-тежките, с високи стойности на креатинин и това са болните, при които се е наложило диализно лечение – 43%. При шест случая е намерен васкулит, без да бъде некротизиращ. Дванадесет от ПББ (19.05%) са били с дифузна гломерулосклероза. Преобладаването на гломерули с полулуния се среща в 47.92% при пациентите с MPO-ANCA и в 35.42% с PR3-ANCA, а на склерозирали гломерули – в 55% MPO-ANCA и в 30% с PR3-ANCA. Изобилие от кръглоклетъчни инфилтрати в интерстициума, съставени основно от моноцити, е установено при 14(22.22%) биопсии, като при осем от тях е наблюдавано интерстициално грануломатозно възпаление. Отлагане на имунни депозити и комплемент, установени с имунофлуоресценция, се открива при 31.8% от проведените биопсии. При почти всички биопсии се отлага C3 фракцията (90.5%). Отлагане на C1q фракцията се наблюдава при 6 от биопсиите, а на C4 – само при 2 от биопсиите.



Фигура 7. Видове хистологични варианти

### 3.2.6. Терапевтични подходи при AAV с бъбречно ангажиране.

Стандартната терапия за индукция на ремисия при AAV е комбинация между висока доза кортикостероиди (КС) (1 mg/kg) дневно за един месец и постепенно намаление на дозата в комбинация с ендоксан ежеме-

сечно поне за шест месеца или ритуксимаб в доза за индукция на ремисия. При нашите болни лечение само с висока доза КС е проведено при трима болни (3.48%), комбинация между висока доза КС и пулс терапия с метилпреднизолон при осем болни (9.28%), комбинирана пулс терапия с метилпреднизолон и циклофосфамид при осем (9.28%), а седем (8.11%) са получили и имunosупресор между пулсните терапии (табл. 29). При общо 38 пациенти е проведено лечение с циклофосфамид в различни режими и с различна продължителност. Ритуксимаб е приложен при 21 болни (23.86%) след недостатъчен ефект от пулс терапия с циклофосфамид или при поява на странични ефекти на циклофосфамид, а без предшестващ циклофосфамид, само в комбинация с КС при 40 болни. Това е и най-често прилаганата терапия – в 46.38% от случаите. При девет болни (10.44%) той е комбиниран с различен от циклофосфамид имunosупресор. Плазмафереза е провеждана изключително рядко – само при трима болни (3.48%), а лечение с интравенозни имуноглобулини – при пет болни (5.8%).

Двадесет и четири болни (27.27%) са били лекувани с перорални имunosупресивни средства – двама с циклофосфамид, девет с мофетил микофенолат, петнадесет с азатиоприн (табл. 29).

**Таблица 29. Проведено лечение**

<b>N = 88 болни</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Само висока доза КС	3	3.48
КС + ПТМП	8	9.28
КС + ПТМП + ПТЦФ без ИС	8	9.28
КС + ПТМП + ПТЦФ + ИС	7	8.11
ПТМП + ПТЦФ + Ритуксимаб	21	24.35
Ритуксимаб + КС	40	46.38
Ритуксимаб + ИС	9	10.44
Плазмафереза	3	3.48
Имуноглобулин	5	5.8

При анализирането на данните за изхода от проведеното лечение установихме, че най-много болни са с положителен резултат след лечение с ритуксимаб (30.65%), а с негативен резултат след самостоятелно лечение с кортикостероид (27.27%), когато не е комбиниран с циклофосфамид, ритуксимаб или микофенолат мофетил (табл. 30). В този случай броят на починалите е най-висок, като разликата е статистически значима, което потвърждава становището, че кортикостероидите самостоятелно не са достатъчни за контрол на ANCA васкулитите. Най-висок е процентът на преживелите болни в групата на лекувани с ритуксимаб.

**Таблица 30. Резултат от проведеното лечение**

Изход	КС самостоятелно N = 11 (11.22%)	Ритуксимаб N = 62 (63.27%)	Циклофосфамид N = 53 (54.08%)	p 1-3	p 2-3	p 1-3
Подобрен и стационариран	4 (36.36%)	19 (30.65%)	11 (20.75%)	0.9807	0.3217	0.4709
Exitus letalis	3 (27.27%)	2 (3.23%)	3 (5.66%)	<b>0.0237</b>	0.8776	0.0950

*\*Fisher exact two test p used*

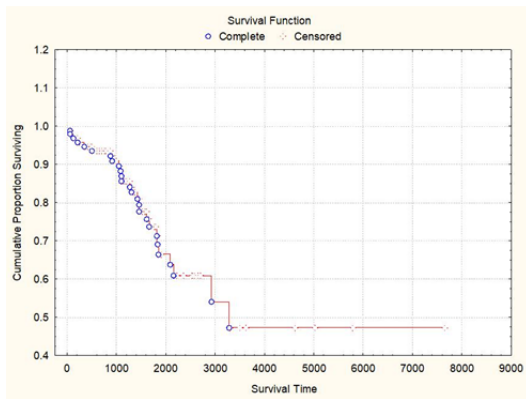
С нужда от диализно лечение в някакъв момент от заболяването бяха 33 пациенти. Използвахме Survival анализ за бъбречната преживяемост до настъпване на краен стадий на бъбречна недостатъчност и необходимост от диализно лечение и преживяемостта при болните на диализно лечение. Представени са описателни показатели и криви на Kaplan-Meier относно кумулативната пропорция на преживяемост. Резултатите са показани на табл. 31. Медианният брой до настъпването на диализа в групата с GN е 402.6 дни, медианната стойност до последен контакт със живите пациенти без диализно лечение е 1545 дни (минимум 50 – макси-

мум 3285), на пациентите с диализно лечение е 1288 дни (минимум 210 – максимум 7660), като округнено тази стойност е 1460 дни.

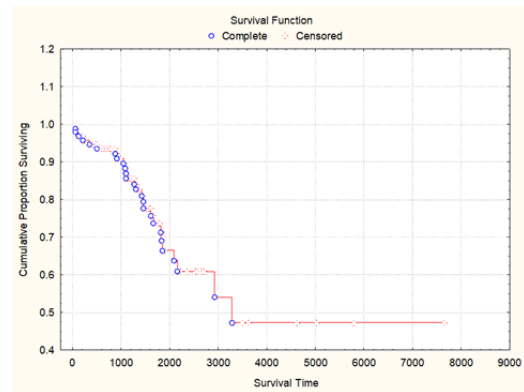
От всички пациенти с бъбречно засягане 11 (11.22%) са починали в рамките на проследявания период. За да се определят значимите фактори, свързани с проява на смърт, бе извършен многомерен логистичен анализ, в който са включени изложените в таблици 23, 24, 26, 29, 30 показатели на наблюдаваните пациенти. За анализ на преживяемостта до настъпване на смърт в рамките на 7 години е използван Survival анализ, като са представени описателни показатели и криви на Kaplan-Meier относно кумулативната пропорция на преживяване. Резултатите са показани на табл. 31. Измерили сме общата преживяемост на групата пациенти с бъбречно засягане. Медианият брой дни до настъпването на смърт в тази група е 420, медианната стойност до последен контакт с живите пациенти е 1580 дни, като округнено тази стойност е 1460 дни. Средното време до настъпване на смърт при общата група болни с AAV е по-голяма, тя е 581.3 дни. Едногодишната преживяемост за болните с бъбречно засягане е 97.8%, петгодишната – 86.2%. При болните, които провеждат диализа, едногодишната преживяемост е 95%, петгодишната е 77% (графика 1 и 2).

**Таблица 31. Преживени дни при пациентите с AAV и бъбречно засягане.**

Пациенти – преживени дни	Брой	Средна	95% дов.интервал долна граница	95% дов.интервал горна граница	Мин	Макс	Q25	Медиана	Q75
Умрели	11	575	259	890	50	1 460	210	420	800
Живи	83	1 791	1 531	2 050	60	7 660	1 580	1 580	2 190
<b>Общо</b>	<b>94</b>	<b>1 648</b>	<b>1 404</b>	<b>1 893</b>	<b>50</b>	<b>7 660</b>	<b>950</b>	<b>1 460</b>	<b>2 095</b>



Графика 1. Функция на преживяемостта при болните с AAV



Графика 2. Функция на преживяемостта при болните със и без диализно лечение

Бяха анализирани следните независими вариабилни фактори (възраст, пол, бъбречно увреждане, високи нива на С-реактивен протеин, серумен креатинин, еритроцитурия, протеинурия, специфичност на ANCA, BVAS скор, вид на проведеното лечение) при преживяемостта на болните с бъбречно ангажиране до настъпването на смърт. След проведения мултивариабилен анализ значимите фактори за преживяемост (Cox regression,  $p < 0.05$ ), които се установяват, са стойност на BVAS ( $p = 0.045710$ ), наличие на анти-MPO ( $p = 0.024527$ ) и проведено лечение с ритуксимаб ( $p = 0.010757$ ). Наличието на протеинурия е много близко до значимост ( $p = 0.054660$ ). Не се установи връзка на преживяемостта на пациентите с възрастта при поставянето на диагнозата, пола, високия креатинин при поставянето на диагнозата, еритроцитурията и повишените острофазови показатели. Същият анализ бе проведен за бъбречната преживяемост (времето до настъпване на диализа) и той не потвърди значими фактори, които биха се свързали с по-бързо настъпване на диализа.

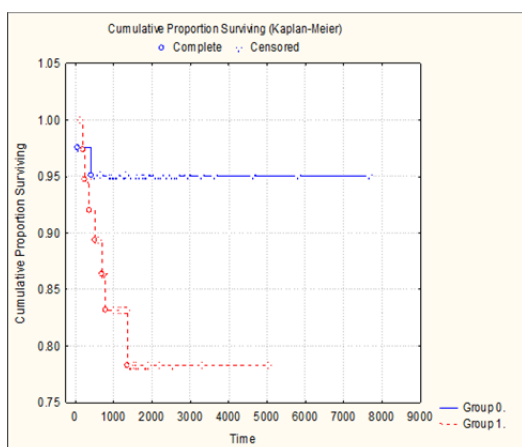
**Таблица 32. Предиктори на изхода на заболяването**

Вариабилни	Beta	S.E	Exp(Beta)	p*
Anti-MPO	1,8	0,8	6,3	0,025
Rituximab	-2,0	0,8	0,1	0,011
BVAS	0,1	0,1	1,2	0,046

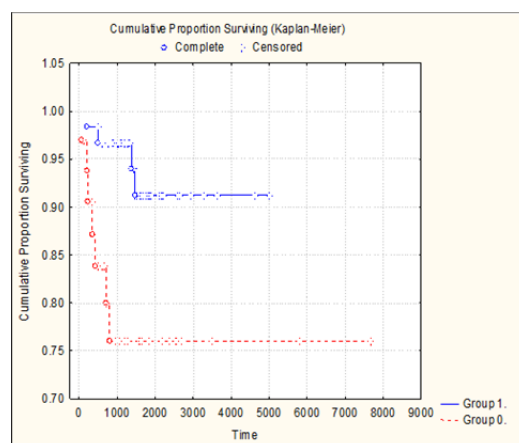
124358+ -\* < 0.05 statistically significant ; only significant shown. Exp(Beta) – hazard ratio. Beta coefficient b, S.E. standard error of coefficient beta, Exp. (B) hazard ratio.

Обобщените данни сочат, че пациентите с по-голяма преживяемост имат по-ниска активност на болестта (по-нисък BVAS скор), нямат протеинурия, нямат антитела срещу миелопероксидаза и са лекувани с ритуксимаб (табл. 32). Независими предиктори за смърт при многомерния логистичен анализ се оказаха антителата срещу миелопероксидаза (HR = 6.3, p = 0.025), BVAS (HR = 1.2, p = 0.046). От друга страна, лечението с ритуксимаб се явява независим предиктор за по-добър шанс за преживяемост (HR = 0.1, p = 0.011). Резултатът от анализа на всички пациенти и на факторите от таблица 31 и 32 за установяване на значими фактори за проявата на смърт и тяхното влияние може да се обобщи така: с нарастване на BVAS с единица шансовете за проява на смърт се увеличават 1.2 пъти; наличието на anti MPO се асоциира с 6.3 пъти по-висок шанс за проява на смърт; шансът за смърт с ритуксимаб е 0.1 от шанса, ако не се лекуват с ритуксимаб.

Проведеният анализ на кумулативната преживяемост показва, че средната петгодишна преживяемост е 95% при болните с бъбречно засягане без anti-MPO срещу 78% при тези с наличие на anti-MPO (графика 3). При пациентите, лекувани с ритуксимаб, средната петгодишна преживяемост е 92% и съответно 76% при тези, които не са получили лечение с ритуксимаб (графика 4).



Графика 3. Кумулативна преживяемост според наличието или отсъствието на anti-MPO



Графика 4. Кумулативна преживяемост според наличието или отсъствието на лечение с Rituximab

### 3.3. Клинични прояви извън ГДП, бял дроб и бъбрек при ААV.

Направихме анализ на органните локализации, които са извън бял дроб и бъбрек, като стави, кожа, очи, сърдечно-съдова, нервна система, гастроинтестинален тракт при всички болни и при трите вида васкулит. Сравнихме тези прояви при двата основни по честота васкулита (GPA и MPA) (табл. 33).

**Таблица 33. Сравнителен анализ на органни локализации при трите вида ААV**

	Общо*	GP** (N = 80)	MPA** (N = 52)	EGPA** (N = 8)	p
<b>Стави</b>	93 (65.49 %)	58 (62.37 %)	26 (27.96 %)	7 (7.53 %)	0.0000
<b>Очи</b>	32 (22.54 %)	25 (78.13 %)	3 (9.38 %)	3 (9.38 %)	0.0000
Намалено зрение	25 (17.61 %)	21 (84.00 %)	1 (4.00 %)	3 (12.00 %)	0.0000
Конюнктивит	11 (7.75 %)	11(100 %)	0 (-)	0 (-)	0.0000
Еписклерит	9 (6.34 %)	7 (77.78 %)	2 (22.22 %)	0 (-)	0.0593
Увеит	4 (2.82 %)	3 (75.00 %)	1 (25.00 %)	0 (-)	0.4795
Слепота	7 (4.93 %)	6 (85.71 %)	1 (14.29 %)	0 (-)	0.0325
Проптоза	7 (4.93 %)	6 (85.71 %)	1 (14.29 %)	0 (-)	0.0325
<b>ССС</b>	54 (38.03 %)	25 (46.30 %)	22 (40.74 %)	5 (9.26 %)	0.6979
Миокардит	5 (3.52 %)	2 (40.00 %)	2 (40.00 %)	1 (20.00 %)	1.0000
Перикардит	12 (8.45 %)	4 (33.33 %)	6 (50.00 %)	1 (8.33 %)	0.6788
БАХ	3 (2.11 %)	0 (-)	1 (33.33 %)	2 (66.67 %)	1.0000
СН	42 (29.58 %)	21 (50.00 %)	16 (38.10 %)	4 (9.52 %)	0.3793
<b>НС</b>	41 (28.87 %)	28 (68.29 %)	7 (17.07 %)	5 (12.20 %)	0.0000
ЧМН	15 (10.56 %)	15 (100 %)	0 (-)	0 (-)	0.0000
Главоболие	5 (3.52 %)	3 (60.00 %)	1 (20.00 %)	0 (-)	0.5186
Инсулт	8 (5.63 %)	6 (75.00 %)	0 (-)	2 (25.00 %)	0.0098
ММН	12 (8.45 %)	5 (41.67 %)	5(41.67 %)	2 (16.67 %)	1.0000
Полиневрит	11 (7.75 %)	8 (72.73 %)	1 (9.09 %)	2 (18.18 %)	0.0093
ЦНС	3 (2.11 %)	2 (66.67 %)	1 (33.33 %)	0 (-)	1.0000
<b>Кожа</b>	59 (41.55 %)	38 (64.41 %)	13 (22.03 %)	6 (10.17 %)	0.0000
Еритемомакуло-папулозен	16 (11.27 %)	12 (75.00 %)	3 (18.75 %) <sup>Д</sup>	1 (6.25 %)	0.0046
Палпируема пурпура	27 (19.01 %)	15 (55.56 %)	5 (18.52 %)	5 (18.52 %)	0.0112
Ливедо	3 (2.11 %)	2 (66.67 %)	1 (33.33 %)	0 (-)	1.0000
Цианоза	3 (2.11 %)	1 (33.33 %)	2 (66.67 %)	0 (-)	1.0000
Еритема нодозум	2 (1.41 %)	2 (100 %)	0 (-)	0 (-)	0.0000
Некрози	21 (14.79 %)	13 (61.90 %)	5 (23.81 %)	2 (9.52 %)	0.0291

**Таблица 33. Продължение**

	Общо*	GP** (N = 80)	MPA** (N = 52)	EGPA** (N = 8)	p
<b>ГИТ</b>	6 (4.23 %)	3 ( 50.00 %)	3(50.00 %)	0 (-)	1.0000
Кървене	5 (3.52 %)	3 (60.00 %)	2 (40.00 %)	0 (-)	1.0000
Перфорация	1 (0.7 %)	1 (100 %)	0 (-)	0 (-)	1.0000
Илеус	2 (1.41 %)	0 (-)	2 (100 %)	0 (-)	0.3173
Асцит	1 (0.7 %)	0 (-)	1 (100 %)	0 (-)	1.0000

\* база - всички пациента; \*\* база – съответният общ брой по реда.

Наличие на мускулоскелетни прояви установихме при деветдесет и трима (65.49%) от пациентите, като те се наблюдават най-често при болните с GPA (62.37%,  $p = 0.0000$ ). Основните симптоми от страна на опорно-двигателния апарат са били артралгии и миалгии и това обичайно са първите симптоми на заболяването заедно с конституционните. Само шестима пациенти са имали артрит, като при двама от тях първоначално е поставена диагноза ревматоиден артрит, за което са получили кортикостероидно лечение и симптомите са отзвучали. Всичките пациенти с периферен артрит са от групата на MPA. В хода на боледуването много рядко тези симптоми са се появявали отново след отзвучаването им, и то пак при болните с микроскопски полиангиит.

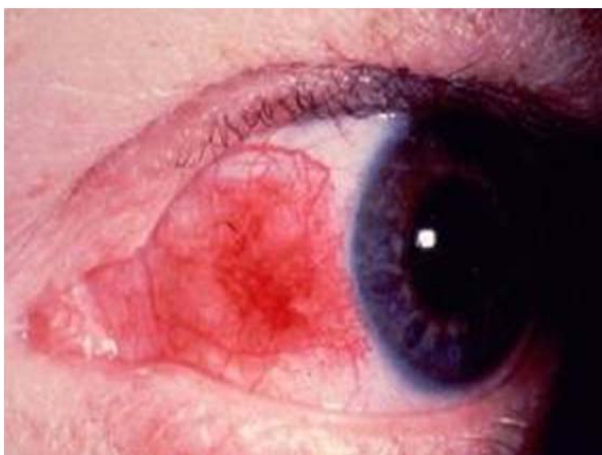
След ставните прояви втори по честота , (при 41.55% от болните). Те отново са най-чести при GPA (64.41 %,  $p = 0.0000$ ). Основните обриви, които сме наблюдавали при нашите болни са палпируема пурпура (левкоцитоклазичен васкулит) (19.01%), което се отнася и за трите вида васкулит, следвани от еритемомакулопапулозни обриви (при 11,27% от всички болни), обичайно по долните крайници, които се разпространяват проксимално. По-рядко сме наблюдавали Livedo reticularis (2.11%), цианоза по пръстите (2.11%) и Erythema nodosum (1.41%). При 14.79% от случаите кожните лезии са били некротични, сигнификантно по-често при грануломатозата с полиангиит (при 61.90% от болните с кожни лезии,  $p = 0.0291$ ). Кожно-

мускулна биопсия бе проведена при 14 болни. Най-честа хистологична находка при описанието на биопсиите е данни за васкулит – при 11 от биопсиите, при три от тях васкулитът е некротизиращ (налице е фибриноидна некроза), при две бяха наблюдавани освен васкулитните промени и грануломи, левкоцитоклазия има при три от пробите. При сравнителния анализ на кожното засягане при GPA и при MPA се установи значима разлика за еритемомакулозния обрив ( $p = 0.0046$ ), палпируемата пурпура ( $p = 0.0112$ ), еритема нодозум ( $p = 0.0000$ ) и некрози ( $p = 0.0291$ ), които са по-чести при GPA. До 1994 г. MPA се считаше за част от PAN. Затова сравнихме болните с PAN с тези с MPA. От общо 13 болни с PAN кожни промени установихме при 8 болни (61.54%), а при MPA при 22.03%, което е сигнификантна разлика ( $p = 0.0124$ ). При PAN трима болни бяха с livedo reticularis, двама с цианоза на пръстите и пурпура, един с erythema nodosum, само един болен бе с некрози (4.99%). При MPA най-честите кожни лезии бяха палпируемата пурпура и еритемомакулозния обрив, livedo reticularis наблюдавахме само при един болен. С кожни некротични лезии са 5 болни (38.46%), което показва, че при MPA, като типичен васкулит на малките съдове, се наблюдават сигнификантно повече некрози в сравнение с васкулитите на средните съдове, какъвто е PAN (снимки 9 и 10). Всички кожни лезии се повлияха добре от КС лечение, рецидив на обрива има при единични случаи.

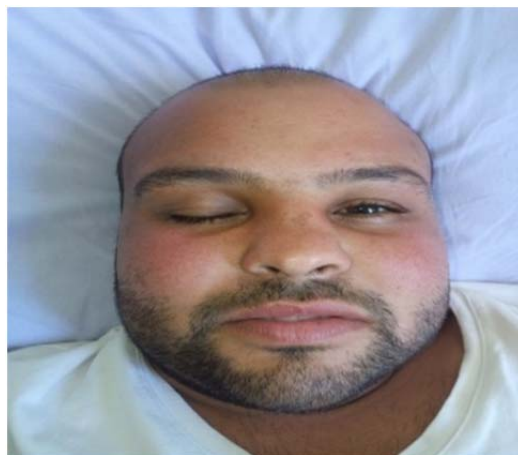


Снимка 5 и 6. Пациент с PAN и кожен некротичен васкулит

Очно засягане наблюдавахме общо при общо 32 болни (22.54%), сигнификантно по-често при GPA ( $p = 0.0000$ ). Очните манифестации при GPA могат да ангажират както окото, така и тъканите около него. Най-честата клинична изява, която сме наблюдавали, е конюнктивит – при 11 болни (7.75%), следван от еписклерит при 9 болни (6.34%), заден увеит – при 4 болни (2.82%), и грануломни маси в областта на орбитите с проптоза – при 7 болни (4.93%). При шест болни има проптоза в комбинация с васкулит. Седем пациенти са със загуба на зрението на едното око (4.93%), а двадесет и пет (17.61%) са с намалено зрение, дължащо се най-често на заден увеит или проптоза с компресия на нервни структури, т.е. 78.12% от болните с очно засягане са с нарушения във функцията, а близо 22% са с перманентна загуба на зрение на засегнатото око. Най-честата диагноза, при която значимо по-често настъпва нарушение във функцията на очите, е GPA ( $p = 0.0000$ ). Анализирайки отделните васкулити, установихме, че при GPA статистически по-често сме наблюдавали конюнктивит (в 100%,  $p = 0.0000$ ), еписклерит ( $p = 0.0000$ ), проптоза ( $p = 0.0325$ ) и слепота ( $p = 0.0325$ ), а при микроскопския полиангиит очното засягане е само при трима болни – при двама от тях има еписклерит, при един увеит. Снимки 11 и 12 показват проптоза и еписклерит при пациенти с GPA.



Снимка 7. Пациент с GPA и еписклерит



Снимка 8. Пациент с GPA и парали-  
тична птоза

Изненадващо при нашите болни ангажирането на ССС се среща често (при 38.03% от болните). Сравнявайки трите васкулита, установихме, че то е еднакво често при GPA и MPA (при 46.30% и съответно 40.74% от болните със засягане на ССС). Анализирайки отделните клинични прояви, установихме, че при GPA по-често се среща, без разликата да е значима, острата застойна сърдечна недостатъчност ( $p = 0.3793$ ), а при EGPA – пулмоналната артериална хипертония, при MPA е най-чест перикардният излив ( $p = 0.6788$ ), миокардит се наблюдава еднакво при GPA и MPA (при 40% от случаите). Наличие едновременно на перикардит и миокардит бе наблюдавано при една от болните с EGPA при диагностицирането на заболяването и при една болна с MPA.

Васкулитът на гастроинтестиналния тракт се среща рядко при болните с AAV. При нашите болни сме наблюдавали гастроинтестинални симптоми при общо шест болни (4.2%), при трима болни с GPA и трима с MPA (50.00%), ( $p = 1.0000$ ). Кървене от червата, дължащо се на активност на васкулит и което не е свързано със страничните ефекти на проведеното лечение, сме наблюдавали при трима болни с GPA и при двама с MPA 60% и 40%, ( $p = 1.0000$ ), една перфорация при болен с GPA и два илеуса при MPA. Асцит е имало при един болен с MPA. Сравнихме данните на болните с AAV с болните с PAN, при които прояви от ГИТ е имало само при един болен (7,69%) и това са множествени руптури на паренхимни органи.

Неврологичното засягане при AAV може да бъде на периферната или на централната нервна система. Анализирайки неврологичните прояви при болните с AAV, установихме, че 41 болни (28.87%) имат такива. GPA е васкулитът с най-често неврологично засягане (при 68.29%), следван от MPA (17.07%) и EGPA (12.20%),  $p = 0.000$ . Засягането на периферната нервна система е под формата на множествен мононеврит или полиневрит, съответно при 12 (8.45%) и 11 болни (7.75%), а на цен-

тралната нервна система като парализа на ЧМН, мозъчносъдов инцидент или данни за васкулит на ЦНС (от проведено MRT изследване), проявяващ се най-често с упорито главоболие и паметови нарушения, съответно при 15 (10.49%), 8 (5.59%), 3 (2.1%) болни. Парализа на ЧМН сме наблюдавали само при пациенти с GPA (15 болни). Нервите, които бяха засегнати, са: n. facialis при шест болни, n. abducens при четири болни, n. trigeminus, n. opticus – по двама болни, и n. hypoglossus, n. acusticum, n. oculomotorius, n. olfactorius по един болен. Множествен мононеврит сме наблюдавали еднакво често при GPA и MPA (по 5 болни, 41.67%). С потвърден с MRT васкулит на ЦНС са трима болни, една жена с дългогодишна грануломатоза с полиангиит, при която е постигната ремисия след лечение и получава рецидив на болестта със симптоми от страна на горни дихателни пътища, бял дроб и еписимптоматика. При друга болна, болестта започва с васкулит на ЦНС и ГДП, впоследствие се включва бъбрек и при мъж с MPA, протичащ с пулмонит, перикардит и ЦНС васкулит с главоболие и паметови нарушения. Всичките болни, когато са били със засягане на мозъка, са имали и други белези на активност на болестта: астенодинамия, редуция на тегло, повишени острофазови показатели и положителни ANCA. При тези болни сме изследвали и други антитела с оглед припокриване с друго заболяване на съединителната тъкан (ANA, antidsDNA, ACLA) и не сме открили такива. При PAN ангажиране на нервната система сме наблюдавали при 84.61% от болните, което е статистически значима разлика с AAV (при 28.67%,  $p = 0.0001$ ). Засягане на ПНС при PAN сме установили при 9 от 13 болни (69.23%). Сравнявайки двете групи болни по отношение на клиничните симптоми, установихме разлики между протичането – болните с PAN са с водещ полиневрит (пет болни), следван от множествен мононеврит (трима) и един болен е със засягане на ЧМН. Един пациент е с инсулт и един има васкулит на ЦНС, докато при AAV водещо е засягането на ЧМН, следвано от множествен мононеврит, полиневритът е на последно място.

#### 4. Профилограми на протичане на отделните AAV и на PAN

Направихме анализ на типа протичане на ANCA асоциираните васкулити по нозологични единици и се изготвиха профилограми (табл. 34). Наблюдават се четири основни типа на протичане, илюстрирани с профилограми.

Таблица 34. Профилограми при отделните нозологични единици

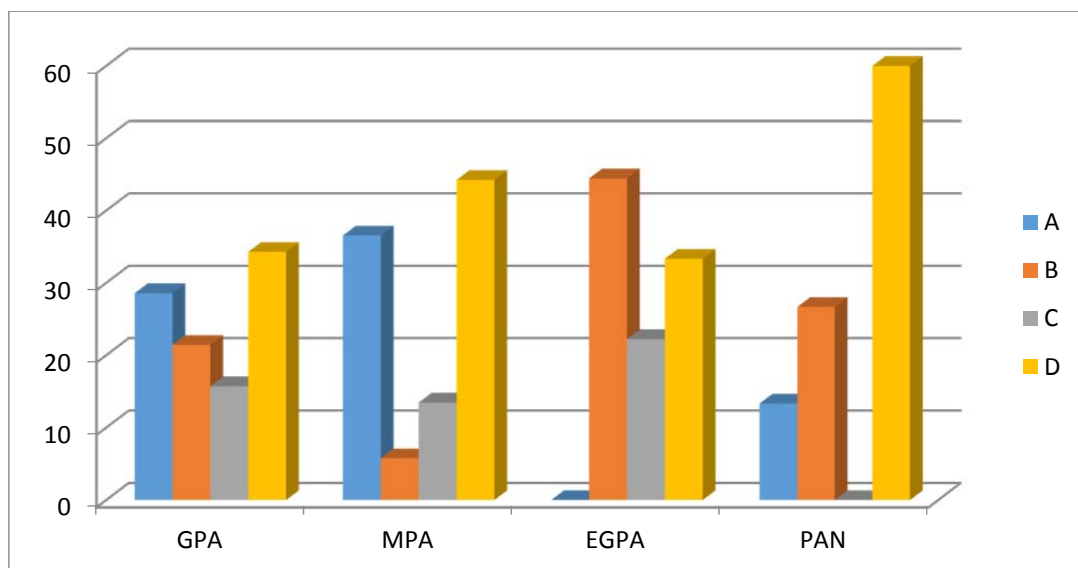
Профи- лограма	GPA %	MPA %	EGPA %	PAN %	p*
1	28.57	36.54		13.33	GPA-MPA: 0.4548 GPA-EGPA: 0.1794 GPA-PAN: 0.5023 MPA-EGPA: 0.0969 MPA-PAN: 0.2596 EGPA-PAN: 0.6885
2	21.43	5.77	44.44	26.67	<b>GPA-MPA: 0.0296</b> GPA-EGPA: 0.1663 GPA-PAN: 1.0000 <b>MPA-EGPA: 0.0024</b> MPA-PAN: 0.1637 EGPA-PAN: 0.4270
3	15.71	13.46	22.22		GPA-MPA: 0.8507 GPA-EGPA: 0.8930 GPA-PAN: 0.2560 MPA-EGPA: 0.7497 MPA-PAN: 0.3680 EGPA-PAN: 0.2585
4	34.29	44.23	33.33	60	GPA-MPA: 0.3033 GPA-EGPA: 1.0000 GPA-PAN: 0.1075 MPA-EGPA: 1.0000 MPA-PAN: 0.4196 EGPA-PAN: 0.5344
p*	1-2: 0.3613 1-3: 0.0884 1-4: 0.6089 2-3: 0.5434 2-4: 0.1111 <b>3-4: 0.0176</b>	<b>1-2: 0.0003</b> <b>1-3: 0.0127</b> 1-4: 0.5488 2-3: 0.3183 <b>2-4: 0.0000</b> <b>3-4: 0.0012</b>	1-2: 0.0833 1-3: 0.4497 1-4: 0.2002 2-3: 0.6056 2-4: 1.0000 3-4: 1.0000	1-2: 1.0000 1-3: 0.4617 <b>1-4: 0.0438</b> 2-3: 0.2196 2-4: 0.1123 <b>3-4: 0.0029</b>	

1 – един пристъп с прогресиращо влошаване; 2 – тласъци с ремисия между тях; 3 – тласъци без ремисия; 4 – един пристъп с ремисия или подобрение

\*Clopper-Pearson exact two proportion test, proportions tested are indicated, significant results are marked in red.

При първата профилограма има фулминантно протичане, като първият пристъп на болестта е най-сериозен, често той не може да бъде овладян и болният се влошава, понякога завършва с летален изход. Понякога болестта протича с ясно обособени тласъци, след всеки от тях се стига до клинична ремисия, като всеки следващ пристъп може да бъде различен и да засегне различни органи и системи, което е илюстрирано на втората профилограма. При третата профилограма се наблюдават пристъпи, при които болните се подобряват от проведеното лечение, но без да се достига клинична ремисия и персистира постоянна лека активност, на фона на която са възможни пристъпи с висока активност. Четвъртият тип протича с един-единствен пристъп, след който болните са добре и са в продължителна клинична ремисия или с много лека активност, често дължаща се на нарушената функция на органите и на настъпилите трайни увреждания след пристъпа. Обозначихме отделните видове профилограми с 1, 2, 3, 4 (табл. 34, фиг. 8).

Анализирахме протичането при отделните видове васкулит.



*A – един пристъп с прогресиращо влошаване, B – тласъци с ремисия между тях, C – тласъци без ремисия, D – един пристъп с ремисия или подобрене*

*Фигура 8. Разпределение на начините на протичане при отделните васкулити по диагноза*

**4.1. Профилограми на протичане при GPA.** При болните с грануломатоза с полиангиит най-често наблюдавахме един пристъп на болестта (в 34.29% от случаите), като 19 болни (28.57%) са постигнали ремисия и след това не сме наблюдавали нови пристъпи. При 28.57% от случаите болестта е протекла фулминантно, като първият пристъп не може да бъде овладян и пациентите продължават да се влошават прогресивно. Дванадесет от тях са починали след такова фулминантно протичане, а останалите са с персистираща висока болестна активност. При 21.43% от пациентите васкулитът протича с обособени тласъци, като след всеки от тях влизат в клинична и имунологична ремисия. При 15.7% типът на протичане е с пристъпи, след които настъпват епизоди на подобрене, без да се достига ремисия и е налице персистираща активност. Всеки следващ пристъп може да включва нови и различни органи и системи. Единствената значима разлика, която установихме, е между болните с един-единствен пристъп, след който има подобрене или ремисия, и те са значимо повече от тези с пристъпи с подобрене, без да се достига ремисия ( $p = 0.0176$ ).

**4.2. Профилограми на протичане при MPA.** При пациентите с микроскопски полиангиит, както и при тези с грануломатоза с полиангиит най-често болестта протича с един пристъп (в 44.23%), при осем от тях е настъпила продължителна ремисия, след която не е наблюдаван нов пристъп. При 36.54% от случаите протичането е фулминантно, с един пристъп, като четирима пациенти са починали след такъв тежък първи пристъп. Всичките болни с фулминантно протичане са с данни за бъбречно засягане, като при четирима пациенти изходът е летален, а при останалите много бързо е настъпила бъбречна недостатъчност. Четирима болни са с пулморенален синдром и при други четирима има комбинация от бъбрек с кожен васкулит. Най-рядко е протичането с обособени тласъци и ремисия (5.77%), а болните с пристъпи и епизоди на подобре-

ние, но без ремисия са 13.46%. Установихме статистически значима разлика между болните с един пристъп и прогресиращо влошаване и тези с няколко тласъка без ремисия, първите са значимо повече ( $p = 0.0187$ ), също така и с тези с тласъци и последваща ремисия ( $p = 0.0003$ ), първите са значимо повече. Болните с един пристъп с ремисия или подобрене са значимо повече от тези с няколко тласъка с ремисия между тях ( $p = 0.0000$ ) и от тези с тласъци без ремисия  $p = 0.0012$ ).

**4.3. Профилограми на протичане при EGPA.** При пациентите с еозинофилна грануломатоза с полиангиит се наблюдават само три профилограми. Най-честа е профилограмата, при която болните имат ясно обособени тласъци, като след тях влизат в клинична ремисия (44.44%). В 33.33% от случаите има един пристъп, последван от трайна ремисия, и при 22.22% има пристъп, след който високата активност е овладяна, но не се постига ремисия. Не се установява разлика между трите профилограми.

**4.4. Профилограми на протичане при PAN.** Направи се профилограма и на протичането на PAN. При него също се наблюдават три типа протичане. Най-често се наблюдава един пристъп с последваща трайна ремисия (при 60% от случаите). При всичките болни ремисията е пълна, без остатъчна лека активност. Следваща по честота е профилограмата, при която има няколко пристъпа с обособена ремисия между тях (26.67%), и най-рядко е фулминантното протичане (13.33%). При един болен изходът е летален след първия пристъп. Болните с един пристъп и ремисия или подобрене са сигнификантно повече в сравнение с тези с няколко тласъка без ремисия между тях ( $p = 0.0029$ ), както и с тези, които са с единствен пристъп и последващо влошаване ( $p = 0.0438$ ).

Сравнявайки профилограмите при отделните диагнози, установихме, че най-тежкия тип протичане (фулминантното) е най-чест при микроскопския полиангиит (36.54%), без разликите да са значими. Слу-

чаите с фатален край при този вид протичане са най-много при болните с грануломатоза с полиангиит. Най-благоприятното протичане (с един пристъп и трайна ремисия) се наблюдава по-често при микроскопсия полиангиит (44.23%), но без да има сигнификантна разлика между трите вида ANCA асоциирани васкулити. Това протичане най-често е наблюдаваното при панартеритис нодоза, което показва, че васкулитите на средните съдове са по-малко опасни от тези на малките съдове. Профилграмите с рецидив на болестта след овладяна активност са най-чести при еозинофилната грануломатоза в сравнение с останалите ANCA васкулити (44.44%), разликата е значима при сравнение с MPA ( $p = 0.0296$ ). Протичането на отделни тласъци без ремисия също е най-често при EGPA (22.22%), без съществени разлики с другите васкулити.

## **5. Честота на известните антитела в българската популация с AAV**

*5.1. Анализ на антителата, разпределени по диагнози.* Анализирайки болните с ANCA васкулити, установихме, че от всичките 145 болни 127 (87.59%) имат антинеутрофилноцитоплазмени антитела. В таблица 35 е показано разпределението на болните със и без антитела по диагнози като процент от общия брой изследвани болни.

От ANCA позитивните болни 55.90% са с GPA, 36.22% са с MPA и 3.94 % с EGPA. Само при 15 от 145 болни (10.34%) не сме установили наличие на антитела, при 3 болни не е провеждано изследване на антитела и диагнозата е поставена по други диагностични критерии. Анализирахме и сравнихме трите васкулита поотделно, и по-специално тези с GPA и MPA, тъй като броят на болните с EGPA е значимо по-нисък. При анализ за наличието на антитела в отделните групи васкулити установихме, че няма разлика в ANCA положителните болни – GPA 89.87% са ANCA позитивни, MPA – 90.19% от случаите, EGPA – 75%. ANCA бя-

ха типизирани според типа светене на cANCA и pANCA при 112 от болните.

**Таблица 35. Разпределение на болните със и без антитела по диагнози**

ANCA	AAV общо (n = 145)	GPA (n = 80)	MPA (n = 52)	EGPA (n = 8)	p*	p GPA vs. MPA
ANCA/+/	127 (87.59%)	71 (88.75%)	46 (88.46%)	6 (75.00%)	0.9658- 1.0000-0.6245	1.0000
ANCA -/-	15 (10.34%)	8 (10.00%)	5 (9.62%)	2 (25.00%)	1.0000- 1.0000-0.4800	1.0000
Не е изследван	3 (2.07%)	1 (1.25%)	1 (1.92%)	1 (12.50%)	1.0000- 1.0000-0.5080	1.0000
pANCA	48 (33.10%)	11 (13.75%)	31 (59.62%)	2 (25.00%)	0.0027- 0.0015-0.9294	0.0000
cANCA	64 (44.14%)	56 (70.00%)	7 (13.46%)	1 (12.5%)	0.0003- 0.0002-0.1630	0.0000
Не е изследван	13 (8.94%)	4 (5.00%)	5 (9.62%)	3 (37.50%)	0.4157- 1.0000-0.0484	0.4999
Anti-PR3	60 (41.38%)	48 (60.00%)	10 (19.23%)	2 (25.00%)	0.0111- 0.0071-0.5832	0.0000
Anti-MPO	49 (33.79%)	12 (15.00%)	35 (67.31%)	1 (12.50%)	0.0040- 0.0001-0.3882	0.0000
Anti-PR3/ anti-MPO	8 (5.52%)	3 (3.75%)	4 (7.69%)	1 (12.50%)	0.7906- 0.8222-0.9638	0.5551
Не е изследван	14 (9.66%)	5 (6.25%)	3 (5.77%)	3 (37.50)	0.5294- 0.5698-0.0626	1.0000

\* Fisher Exact probability test p – за сравнение между всяка от трите групи с общо проявения процент за съответния ред. Маркирани в червено са случаите, където има значим резултат.

При типизирането на ANCA положителните болни, се установи, че при общо 64 (44,14%) се наблюдава цитоплазмен тип светене, при 48 (33.10%) – перинуклеарен тип светене. При пациентите с GPA статистически по-често се откриват цитоплазмени ANCA, при MPA – перинуклеарни ANCA (p = 0.0000). Направихме анализ и на изследваните антитела, насочени срещу специфични антигени и установихме, че е най-висока честотата на антителата, насочени срещу протеиназа-3 – при 60

болни (41.38%), при 49 (33.79%) болни открихме антитела, насочени срещу миелопероксидаза, и при 8 болни (5.52%) има синтез на антитела и срещу двата антигена. Превалират anti-PR3 при пациентите с GPA и anti-MPO при MPA, разликата е статистически значима ( $p = 0.0000$  и за двете антитела). При болните с EGPA се срещат два пъти по-често антитела срещу протеиназа-3. Двете антитела едновременно наблюдавахме по-често при микроскопския полиангиит, като при последващи контролни изследвания остава само едно от двете.

**5.2. Връзка между тежест на болестта и ANCA.** Сравнихме формата на болестта при наличието или липсата на антитела, и в двете групи най-често наблюдавахме генерализирана форма. Не установихме сигнификантна разлика в честотата на положителни ANCA пациенти в отделните групи, като системната форма е с най-голям процент положителни ANCA, а най-рядко се установяват при най-леката форма – локализираната. Тежката форма е на трето място по наличие на антитела.

**Таблица 36. Наличие на ANCA и форма на болестта**

	AAV общо (n = 145)	Локали- зирана (n = 25)	Системна (n = 36)	Генера- лизирана (n = 49)	Тежка (n = 35)	p*
ANCA (+)	127 (87.59%)	21 (84.00%)	33 (91.67%)	42 (85.71%)	31 (88.57%)	0.8644-0.6939- 0.9271-1.0000
ANCA (-)	15 (10.34%)	3 (12.00%)	3 (8.33%)	5 (10.20%)	4 (11.43%)	0.8671-0.9602- 1.0000-1.0000
Не е из- следвана	3 (2.07%)	1 (4.00%)		2 (4.08%)		-

\* Fisher Exact probability test  $p$  – за сравнение между всяка от трите групи с общо проявения процент за съответния ред.

При сравнение на ANCA позитивните с ANCA негативните установихме, че от пациентите с ANCA (общо 127 болни) 21 (16,53%) са с локализирана форма, 33 (25,98%) са със системна, 42 (33,07%) са с генерали-

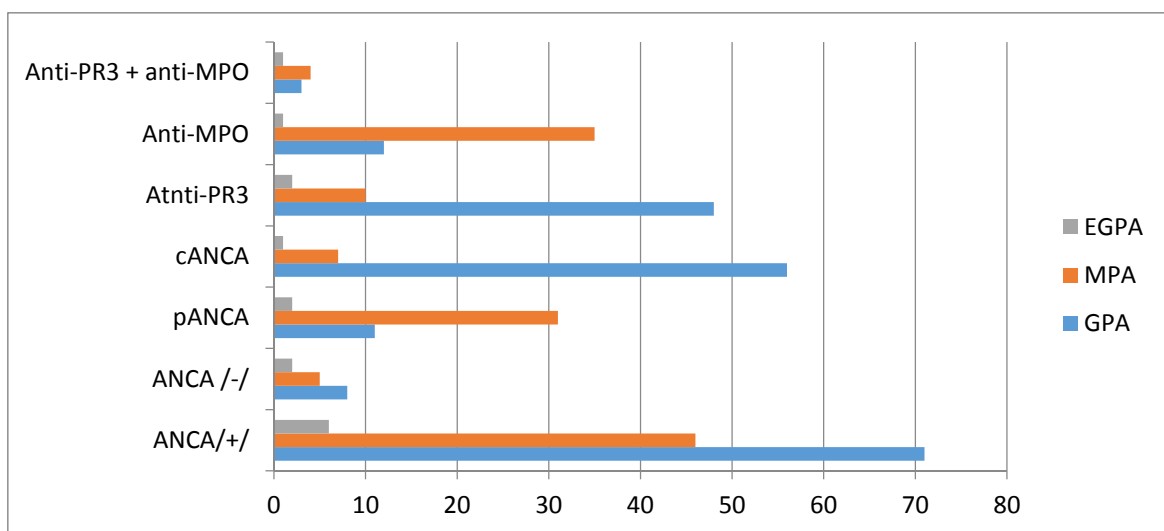
зирана и 31 (24,41%) са с тежка. При ANCA негативните пациенти (общо 15) най-често наблюдаваната форма отново бе генерализираната (33.33%), следвана от тежката (26.67%) и най-редки са най-леките форми – локализирана и системна.

**5.3. Анализ на антигенната специфичност на ANCA.** При болните с наличие на ANCA бе проведено антиген-специфично изследване за anti-PR3 и anti-MPO. Такова не е проведено при 15 от пациентите с ANCA (табл. 37, фиг. 9).

**Таблица 37. Процентно разпределение на различните ANCA**

	Anti-PR-3 n = 60 (55.0%)	Anti-MPO n = 49 (44.9%)	Anti-PR-3, anti-MPO n = 8 (7.3%)	p*
Мъже:жени	28:32	18:31	3:5	0.6914
Възраст	50.03	53.59	55.00	0.5084
BVAS	18.10 (6.11)	16.81 (5.94)	18.13 (6.25)	0.1064
Локализирана	14 (23.33%)	1 (2.04%)	0 (-)	0.0253
Системна	13 (21.67%)	14 (28.57%)	1 (12.50%)	
Генерализирана	19 (31.67%)	20(40.82%)	6 (75.00%)	
Тежка	14 (23.33%)	14 (28.57%)	1 (12.50%)	
Починали	9 (15.00%)	10 (20.41%)	4 (50.00%)	0.1086
Ремисия	16 (26.67%)	10 (20.41%)	1 (12.50%)	

\* *Chi-square p value (Пол, Болест, Резултат); ANOVA Brown-Forsythe p value (Възраст, BVAS).* Маркирани в червено са случаите, където има значим резултат.



**Фигура 9. Процентно разпределение на ANCA при отделните васкулити**

От всички болни, изследвани за антитела срещу специфични антигени, положителни са общо 109 болни, 60 (55.0%) имат антитела срещу протеиназа-3, 49 (44.9%) срещу миелопероксидаза, а 8 болни (7.3%) и срещу двата антигена едновременно. Жените преобладават и в трите групи, като съотношението мъже:жени е 28:32 в групата на anti-PR-3 позитивните и 18:31 в групата на anti-MPO позитивните, средната възраст е съответно 50.03 за първата група и 55.00 за втората. Установява се статистически значима разлика в честотата на антителата при отделните диагнози. В групата на тези с антитела срещу PR3 48 болни (80.00%) са с GPA, 10 болни (16,67%) са с MPA и 2 болни с EGPA (3.33%). В групата на тези с антитела срещу MPO най-много са пациентите с MPA – 35 (71.43%), а с GPA са 12 (24.49%), един болен е с EGPA (2.04%). Средните нива на антителата срещу протеиназа-3 средно са 16.8, а на тези срещу миелопероксидаза – 6.38.

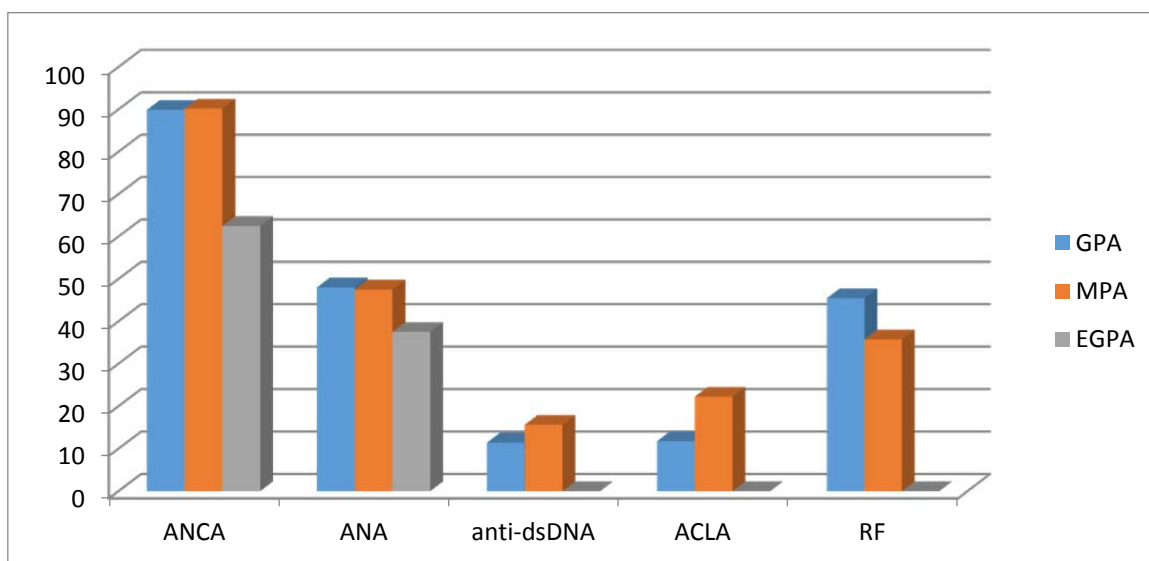
Потърсихме връзка между различните ANCA с тежестта и изхода на болестта, като сравнихме средната стойност на BVAS в двете групи, сравнихме и формата на протичане. Пациентите с наличие на anti-PR3 имат по-висок индекс за активност в сравнение с тези с anti-MPO (средна стойност на BVAS 18.10, SD = 6.11) от тези с anti-MPO (BVAS 16.81, SD = 5.94). В групата на anti-PR3 най-често се наблюдава генерализираната форма (при 31.67% от случаите), а най-рядко системната (21.67%), съответно сред тези с anti-MPO, отново най-честа е генерализираната форма (40.82%), а най-рядко срещаната е локализираната (само един пациент, 2.04%). Болните, които имат едновременно и двете антитела, са с по-тежко протичане и при тях генерализираната форма (в 75%) е най-честа и е по-честа в сравнение с единичните антитела. Генерализираната форма показва статистически значима разлика в сравнение с локализираната и системната форма ( $p = 0.0253$ ), локализирана форма не се установява при нито един болен. BVAS също е най-висок в тази група

(18.13, SD = 6.25). Сравнихме двете групи по брой починали и такива, при които е постигната ремисия. Общо 23 болни са починали. Десет от тях (66.67%) имат антитела срещу миелопероксидаза, 9 (60%) срещу протеиназа-3, като при 4 от болните са налице едновременно и двете антитела. Процентът на починалите е по-висок в групата на болните с anti-MPO (20.41% срещу 15.00%,  $p = 0.1086$ ), а на постигналите ремисия е по-висок в групата на anti-PR3 (26.67% и 20.41%), като разликите не показват статистическа значимост. Наблюдава се висок процент починали при наличие на двете антитела, но поради факта, че имаме малко на брой такива пациенти (с две антитела), анализът не успява да покаже значимост на връзката (въпреки че  $p$  стойността не е много по-голяма от 0.05).

От проведения анализ се потвърждава връзка между наличието на антитела и формата на болестта, при генерализирана форма имаме значително по-честа проява на две антитела ( $p = 0.0253$ ), при локализираната форма имаме значително по-честа проява на anti-PR3 и съответно значително по-рядко на anti-MPO. Наблюдава се значим процент починали при наличие на двете антитела, който е висок, но поради факта, че имаме малко на брой такива пациенти (с две антитела), анализът не успява да покаже значимост на връзката.

**5.4. Честота на други антитела, типични за колагенози и ANCA васкулити.** Анализирайки имунологичния профил на болните, потърсихме кои са другите антитела, типични за друга колагеноза, каквито са антинуклеарните антитела (ANA), антителата срещу двойноверижна ДНА (anti-dsDNA), срещу гломерулната базална мембрана (AGMA), антикардиолипиновите (ACLA), ревматоидни фактори (RF), които се позитивират едновременно с ANCA (фиг. 10). Установи се, че при 50.51% от болните освен ANCA се откриват антинуклеарни антитела (ANA), които са характерни за други СЗСТ като системен лупус еритематозус (СЛЕ) и прогресивна системна склероза (ПСС), но могат да се

позитивират неспецифично и при други автоимунни заболявания. Изненадващо РФ, който не е характерен за системните заболявания на съединителната тъкан и за васкулитите, се позитивира при 40.54% от болните, малко по-често при тези с грануломатоза на Вегенер. Антитела срещу двойноверижна ДНА се позитивират при 13.23% (по-често при МПА), а антикардиолипинови при 16.67% от болните (отново по-често при МПА). Антитела срещу рибонуклеопротеини – анти-RNP и анти-RNP/Sm, намерихме при двама болни. Пациентите с МРА по-често, но без сигнификантна разлика позитивират в сравнение с грануломатозата на Вегенер anti-dsDNA и ACLA. При част от болните (21 болни), при които болестта протича основно с гломерулонефрит и белодробна хеморагия, са изследвани антигломерулобазални антитела. От проведените изследвания всички са негативни, което категорично показва, че тези антитела не участват в патогенезата на ААV и наличието им по-скоро е маркер на друго заболяване, въпреки че ANCA и AGBMA поражават белия дроб и бъбреците по подобен механизъм, увреждайки малките съдове, и имат еднаква клинична картина. Наблюдавахме различни комбинации на припокриване между антителата – най-често припокриване на anti-dsDNA с anti-MPO (при 7 болни), на anti-dsDNA с anti-PR3 (при 5 болни), а при 3 болни има припокриване на anti-MPO, anti-dsDNA и ACLA. Болестта при тези болни е протекла основно с васкулитни прояви – с гломерулонефрит и бъбречна недостатъчност при двама от пациентите, с белодробен васкулит и алвеоларна хеморагия при други двама. Наблюдавахме и други комбинации на имунологично припокриване. Болните с ААV и положителни антикардиолипинови антитела имат най-често припокриване с anti-MPO при 4 болни, с anti-PR3 при 2 болни, с anti-dsDNA при 3 болни и с RF при 2 болни. Ревматоидният фактор най-често припокрива с anti-PR3 (при 7 болни). Всички пациенти с положителен RF са имали артралгии или артрит в хода на болестта.



Фигура 10. Честота на други антитела при AAV

**5.5. Сравнение на антителата при PAN и MPA.** ANCA са маркер за патофизиологично разграничаване на васкулитите на малките съдове и липсват при пациенти с PAN. Анализирахме наличните антитела при болните с PAN, преминали през клиниката (общо 13 болни). От тестваните имунологични показатели при двама от тях установихме анти-нуклеарни антитела и при двама – ревматоиден фактор. При един болен се откриват положителни антитела срещу dsDNA. ANCA в граничен титър има при трима от тях (23.08%), като те не показаха типично светене за AAV. При нито един от тях не се позитивираха антитела срещу протеиназа-3 или миелопероксидаза. Ниски стойности на комплемент установихме при двама от пациентите с PAN.

## 6. Имунологични асоциации на клиника, локализации и протичане при различните антитела в българската популация

**6.1. Разлики в протичането между пациентите с anti-PR3 и с anti-MPO.** Направихме анализ на антиген-специфичните ANCA и съот-

ветното органно ангажиране по системи и клинични симптоми според BVAS (табл. 38).

**Таблица 38. Сравнение на протичането на болестта между пациентите с anti-PR3 и anti-MPO**

	Anti-PR3 (n = 58)	Anti-MPO (n = 47)	Anti-PR3+ Anti-MPO (n = 8)	p*
ГДП	33 (56.9 %)	8 (17.02 %)	2 (25 %)	0.0000-0.0492-0.9640
Бял дроб	48 (82.76 %)	32 (68.09 %)	5 (62.5 %)	0.1273-0.3808-1.0000
Хемоптиза	27 (46.55 %)	15 (31.91 %)	3 (37.5 %)	0.1862-0.9177-1.0000
ДН	3 (5.17 %)	9 (19.15 %)	2 (25 %)	0.0536-0.2026-1.0000
Нодули	34 (58.62 %)	15 (31.91 %)	4 (50 %)	0.0113-0.9355-0.5537
Кавитации	14 (24.14 %)	7 (14.89 %)	2 (25 %)	0.3512-1.0000-0.8435
Инфилтрати	25 (43.1 %)	14 (29.79 %)	2 (25 %)	0.2297-0.5534-1.0000
Матово стъкло	12 (20.69 %)	17 (36.17 %)	2 (25 %)	0.1224-1.0000-0.8321
Фиброза	16 (27.59 %)	13 (27.66 %)	3 (37.5 %)	1.000-0.8697-0.8844
Бъбрек	38 (65.52 %)	39 (82.98 %)	7 (87.5 %)	0.0734-0.3973-1.0000
Протеинурия	25 (43.1 %)	26 (55.32 %)	3 (37.5 %)	0.2941-1.0000-0.5822
Еритроцитурия	27 (46.55 %)	30 (63.83 %)	6 (75 %)	0.1164-0.2579-0.8321
ХБН	28 (48.28 %)	31 (65.96 %)	6 (75 %)	0.1057-0.2981-0.9233
ХДЛ	10 (17.24 %)	7 (14.89 %)	0 (0 %)	0.9535-0.4538-0.5521
Очи	20 (34.48 %)	7 (14.89 %)	4 (50 %)	0.0395-0.6432-0.0693
ССС	21 (36.21 %)	24 (51.06 %)	5 (62.5 %)	0.1830-0.2979-0.8291
СН	18 (31.03 %)	17 (36.17 %)	3 (37.5 %)	0.7286-1.0000-1.0000
ГИТ	3 (5.17 %)	3 (6.38 %)	2 (25 %)	1.0000-0.2026-0.3039
НС	19 (32.76 %)	11 (23.4 %)	3 (37.5 %)	0.4021-1.0000-0.6840
ПНС	7 (12.07 %)	5 (10.64 %)	2 (25 %)	1.0000-0.6530-0.5803
ЦНС	15 (25.86 %)	7 (14.89 %)	2 (25 %)	0.2576-1.0000-0.8435
Кожа	26 (44.83 %)	15 (31.91 %)	3 (37.5 %)	0.2512-0.9908-1.0000
Некрози	8 (13.79 %)	4 (8.51 %)	1 (12.5 %)	0.5909-1.0000-1.0000
Стави	41 (70.69 %)	28 (59.57 %)	6 (75 %)	0.3239-1.0000-0.6624

\* първа спрямо втора група – първа спрямо трета група – втора спрямо трета група (Fisher-Exact two test p values)

## **Връзка на различните антители с органните локализации**

**6.1.1. Манифестации от ГДП.** При анализ на антиген-специфичните ANCA и органно ангажиране се установява, че от 58 пациенти с положителни PR3-ANCA 33 (56.09%) имат прояви от горния респираторен

тракт като синусит, епистаксис, ринит, септални ерозии и перфорации, отити, мастоидити, субглотисна стеноза, което е статистически значима разлика с MPO-ANCA, където болните са само 8 ( $p = 0.0000$ ). При MPO-ANCA се наблюдават само леки прояви като ринорея, синусити и мастоидити.

**6.1.2. Манифестации от бял дроб.** От положителните PR3-ANCA пациенти при 48 (82.76%) се наблюдават белодробни симптоми при съответно 32 (68.09%) с положителни MPO-ANCA ( $p = 0.1273$ ). Най-честите симптоми и при двете групи са кашлица и диспнея. Болните с хемоптиза са повече в групата на PR3-ANCA, а тези, които са били с нарушения в белодробната функция и дихателна недостатъчност, са сигнификантно повече в групата на положителните MPO-ANCA ( $p = 0.0536$ ). При сравнение на находките от образните изследвания се вижда, че грануломатозно възпаление (нодули, кавитации и инфилтрати) се открива два пъти по-често при пациентите с положителни PR3-ANCA, разликата е значима за белодробните нодули ( $p = 0.0113$ ). Промени, говорещи за васкулит, като „матово стъкло“ се срещат малко по-често в групата на анти-MPO положителните ( $p = 0.1224$ ). Не установихме разлика в белодробното ангажиране по типа на интерстициалната белодробна болест при двете групи (1.0000).

**6.1.3. Бъбречни манифестации:** Бъбрекът заедно с белия дроб е най-често засегнатият орган и при двете групи. От всички 113 пациенти с антиген-специфични ANCA общо 84 (74.33%) са имали бъбречни прояви. Това се случва по-често при MPO-ANCA 39 (82.98%) срещу 38 (65.52%) с PR3-ANCA ( $p = 0.0734$ ). Основните бъбречни симптоми, характерни за AAV, като протеинурия и еритроцитурия се срещат по-често при пациентите с MPO-ANCA, без да е налице статистически значима разлика. Бързо настъпване на бъбречна недостатъчност е наблюдавано по-често при MPO-ANCA гломерулонефритите, нуждата от хемодиализно лечение също е по-голяма при тази група болни. При 44 от пациентите-

те е проведена ПББ. От проведените МРО-АНСА биопсии (24 бр.) в 15 случая (62.5%) се откриват полулуния, в 7 (28%) некрози в комбинация с полулуния, в 12 (50%) случая има склероза на гломерули. При биопсиите на PR3-АНСА пациентите (20 бр.) в 8 (40%) от случаите има полулуния, в 5 (25%) комбинация от полулуния и некроза, в 6 (30%) случая се откриват склерозирани гломерули. Разлика в находките има само при склерозата на гломерулите, която се наблюдава по-често при МРО-АНСА биопсиите. При 35 от биопсиите (79.55%) се открива отлагане на депозити от имуноглобулини и комплемент при ИФ изследване. Те се откриват малко по-често при МРО-АНСА – 15 от случаите (62.5%) в сравнение с PR3-АНСА, където са при 10 (50%). Отлагане на С3 има при 15 от биопсиите (34.09%), съотв. при 12 (50%) за МРО-АНСА и 6 (30%) за PR3-АНСА. Не се установява разлика в средните стойности на креатинина при диагностициране на болестта при двете групи болни.

При 21 пациенти (40.38%) с PR3-АНСА има едновременно прояви от страна на бял дроб и бъбрек и само 7 (13.46%) са със самостоятелно бъбречно ангажиране. В групата на МРО-АНСА 21 болни (53.85%) се представят с бъбречна болест, 11 болни (28.20%) с белодробна и бъбречна болест. Пациентите с антитела срещу миелопероксидаза в 30.77% от случаите са били с единствена проява гломерулонефрит.

**6.1.4. Други клинични манифестации.** По отношение на асоциацията на определени антитела с клинични прояви от други системи се установи, че 31 от болните имат очни прояви, те значимо по-често се наблюдават в групата на PR3-АНСА (34.28%), съответно 14.89% на МРО-АНСА ( $p = 0.0395$ ). Васкулитни прояви като конюнктивит, еписклерит, увеит има при 9 болни в първата група и при 3 във втората, грануломите съответно са при 3 и 1 от болните. Прояви от страна на ССС се наблюдават по-често при пациентите с МРО-АНСА (51.06%), при съответно 36.21% за PR3-АНСА,  $p = 0.1830$ . ГИТ се засяга рядко и при двете

групи болни. Нервната система се засяга по-често при PR3-ANCA (32.76%) и съответно в 23.4% при MPO-ANCA ( $p = 0.4021$ ), периферната нервна система се пораждава еднакво при двете групи, ЦНС – по-често при PR3-ANCA. Неврит на черепномозъчни нерви се наблюдава само в групата на PR3-ANCA позитивните болни (в 15.51%) и не се среща при MPO-ANCA позитивните. Периферната нервна система се засяга еднакво често и в двете подгрупи, множествен мононеврит има при трима болни в двете групи, а полиневрит при двама с PR3-ANCA и при един с MPO-ANCA. Кожни обриви се срещат при 44.83% в групата на PR3-ANCA, съответно при 37.5% с MPO-ANCA ( $p = 0.2512$ ). Некрози по кожата се наблюдават еднакво в двете групи. Няма разлика в ставното засягане, което се наблюдава при  $> 50\%$  от случаите ( $p = 0.3239$ ).

**6.2. Анализ на групата пациенти с позитивни anti-PR3 + anti-MPO.** Осем от пациентите (от общо 113) (табл. 38) при поставяне на диагнозата са имали антитела срещу двата вида антигени, което не е типично. Тези болни не са включени в анализа на болните с единични антитела. Бъбрекът е най-често засегнатият орган при тази група болни (в 87.5%), което е подобно на болните с MPO-ANCA. Следващият орган е белият дроб (62.5%), следван от стави, а от останалите системи: кожа, НС и ССС, участват еднакво (при 3 пациенти), ГИТ и очи – при 2 пациенти. При сравнение на тази група болни с останалите две групи се установява, че бъбрекът, очите, ССС, ГИТ и нервната система се засягат по-често в сравнение с болните с едно антитяло, което говори, че те са с по-изразени васкулитни прояви. При сравнение с болните с anti-PR3, тук по-рядко са засегнати ГДП, белият дроб и кожата. При аналогично сравнение с Anti-MPO групата, по-рядко се засяга само белият дроб. Прави впечатление, че в тази група по-често настъпва нарушение във функцията на засегнатите органи и това са болните с най-висок процент бъбречна, дихателна и сърдечна недостатъчност.

**6.3. Лабораторни показатели при трите групи болни.** Сравниме лабораторните находки при пациентите според вида на антителата (табл. 39).

**Таблица 39. Анализ на лабораторните показатели при пациентите с anti-PR3 и antiMPO**

	<b>antiPR3-ANCA (n = 58)</b>	<b>Anti-MPO-ANCA (n = 47)</b>	<b>Anti-PR3/MPO-ANCA (n = 8)</b>	<b>p*</b>
Анемия	40 (68.97%)	36 (76.60%)	6 (75.00%)	0.5157-1.0000-1.0000
Левкоцитоза	36 (62.07%)	19 (40.43%)	4 (50.00%)	<b>0.0443</b> -0.7879-0.9046
Тромбоцитоза	55 (94.83%)	41 (87.23%)	7 (87.50%)	0.3022-0.9809-1.0000
СУЕ	56 (96.55%)	41 (87.23%)	7 (87.50%)	0.1557-0.8050-1.0000
CRP	54 (93.10%)	40 (85.11%)	8 (100%)	0.3124-1.0000-0.5521**
Креатинин (SD)	216.56 (230.27)	254.55 (240.19)	209.5 (198.51)	0.3745-0.9312-0.5870**
BVAS(SD)	18.32 (19.3)	16.98(16.5)	18.13(19.1)	0.2732-0.9344-0.6262
Починали	9 (15.52%)	10 (21.28%)	4 (50.00%)	0.6119-0.0680-0.1988

\* първа спрямо втора група – първа спрямо трета група – втора спрямо трета група (Fisher-Exact two test p values)

\*\* LSD post hoc p values – ANOVA анализ; резултатите потвърдени с непараметричен тест-аналог (Kruskal-Wallis test)

От всички 58 болни с положителни anti-PR3 ANCA, 40 (68.97%) са имали анемия, 36 (62.07%) са с левкоцитоза, 55 (94.83%) са с тромбоцитоза. 56 от болните (96.55%) са били с повишена СУЕ, 54 (93.10%) – с повишен С-реактивен протеин. При сравнение с групата пациенти с положителни anti-MPO ANCA не установявихме сигнификантни разлики за болните с анемия – 36 (76.60%), с повишена СУЕ – 41 (87.23%), и с повишен CRP – 40 (85.11%). Разлика има само за левкоцитоза, която е значимо по-

често при anti-PR3-ANCA ( $p = 0.0443$ ). Данните за болните с двете антитела са сходни с групата на анти-MPO ANCA. С повишени стойности на креатинин са 7 болни (44.23%) от групата на anti-PR3 ANCA и съответно 25 (64.10%) от групата на anti-MPO ANCA. Средната стойност на креатинин е по-висока в anti-MPO ANCA групата, без разликата да е значима ( $p = 0.3745$ ).

**6.4. Грануломатозно възпаление и васкулитни прояви при отделните ANCA.** Антителата срещу PR-3 се считат за диагностичен маркер за грануломатоза. Сравнихме двете групи болни по наличие на васкулитни прояви и грануломатозно възпаление. Установихме сигнификантна разлика в честотата на грануломните маси в областта на горните дихателни пътища при двете антитела (56.9% при anti-PR3 срещу 17.02% при anti-MPO),  $p = 0.0000$ . Разликата е значима и при белодробните нодули, те се откриват при 58.62% PR-3 ANCA и при 31.91% MPO-ANCA ( $p = 0.0113$ ). Не се установява статистически значима разлика при васкулитните прояви от страна на бъбрек, кожа, очи, нервна система, ГИТ при двете групи болни. Белодробен васкулит има при 20.69% PR-3 ANCA и 36.17% MPO-ANCA ( $p = 0.1224$ ). В групата на PR-3 ANCA при 15.38% се установяват едновременно грануломно възпаление и белодробен васкулит срещу 17.95 % в групата на анти-MPO ANCA.

## **7. Анализ на различни терапевтични режими при болни с ANCA асоцииран васкулит**

**7.1. Анализ на видовете режими на лечение.** Нашите пациенти с AAV са получили подходящ за тежестта на тяхното заболяване режим на лечение. При направения анализ се вижда, че с кортикостероиди са лекувани 122 болни (85.91%) при диагностицирането на заболяването в доза 1 mg/kg тегло, с постепенно намаление на дозата в следващите месеци. При 108 болни (75.06%) е провеждана пулс терапия с метилпреднизолон 1 g месечно допълнително към ежедневния прием на кортикос-

тероид. При 98 болни (69.01%) е прилаган имуносупресор за индукция на ремисия. Имуносупресия под формата на ежемесечни пулс терапии с циклофосфамид е проведена при 66 болни, като при 64 от тях те са комбинирани с пулс терапия с метилпреднизолон, 10 болни са лекувани с циклофосфамид през устата, 7 болни (4.93%) с по-мек имуносупресор като метотрексат, а 10 болни (6.34%) с микофенолат мофетил. Всички болни, лекувани с ММФ, са имали еритроцитурия и данни за бъбречна недостатъчност, като четири от тях са включени на хронииодиализа. При пет от болните е предпочетен азатиоприн като единствен имуносупресор в комбинация с кортикостероиди, въпреки че той не фигурира като медикамент на избор в препоръките за индукция на ремисия, а само за поддържане на ремисия. Плазмафереза е проведена при четирима болни (2.82%), от тях трима с микроскопски полиангиит и един с грануломатоза на Вегенер, всички са били с налична бъбречна недостатъчност, двама от тях са останали трайно на хронииодиализа, а една от пациентките е възстановила бъбречната функция. От пациентите с плазмафереза двама са с положителни антитела срещу протеиназа-3, третият е с напълно негативна имунология. Вливане на имуновенин е приложено при 16 болни (11.27%). Имуновенинът е приложен при 6 болни в комбинация само с кортикостероиди, без имуносупресор, комбиниран е с циклофосфамид при 6 болни, с ритуксимаб при 7 болни. При 4 пациенти, двама от които са имали кожни некрози, е проведено лечение с дапсон. Триметоприм/сулфаметаксозол са получили само двама пациенти (1.41%) с грануломатоза на Вегенер и придружаваща инфекция. С ритуксимаб са лекувани 78 болни (54.93%). При 41 болни (37.5%) ритуксимаб е приложен след неуспех с предшестващо лечение с циклофосфамид. При 75 от болните (89.25%) е продължен кортикостероидът след прилагането на ритуксимаб, при 14 (17.95%) е комбиниран с азатиоприн, а при 9 (11.54%) – с микофенолат мофетил. При трима пациенти след лечение с ритукси-

маб за индукция на ремисия е приложен циклофосфамид (двама от тях не са се повлияли от лечението с ритуксимаб и един е получил рецидив в хода на лечението с ритуксимаб).

Анализирахме видовете терапевтични режими според формата на болестта. При анализа на болните с локализирана форма на грануломатоза на Вегенер установихме, че от общо 25 болни само двама са лекувани с метотрексат и толкова с триметоприм/сулфаметаксозол. Всички останали са лекувани с по-тежка имunosупресия: циклофосфамид 5 (24%), ритуксимаб 11 (25%). Пациенти, въпреки че са имали засягане само на горните дихателни пътища и белия дроб са били с тежко грануломатозно възпаление и изразени поражения на засегнатите органи при диагностицирането на болестта, което е наложило по-сериозна имunosупресия. Сравнихме болните, лекувани с циклофосфамид, с тези, лекувани с ритуксимаб (табл. 40).

**Таблица 40. Сравнение между болните, лекувани с циклофосфамид и ритуксимаб**

	<b>CYC (76)</b>	<b>Rit (78)</b>	<b>p</b>
<b>Години (средна)</b>	47.87(13.84)	50.12(13.71)	0.3180
<b>Пол (ж/м)</b>	40/36 (52.63%/47.37%)	41/37 (52.56%/47.44%)	0.9921
<b>WG</b>	52 (68.42%)	46 (58.97%)	0.2248
<b>MPA</b>	22 (28.95%)	32 (41.03%)	0.1183
<b>CSS</b>	2 (2.63%)		0.1491
<b>Anti-PR3</b>	39 (51.32%)	37 (47.44%)	0.6309
<b>Anti-MPO</b>	23 (30.26%)	23 (29.49%)	0.9170
<b>Бъбрек</b>	53 (69.74%)	62 (79.49%)	0.1662
<b>ХБН</b>	35 (46.05%)	52 (66.67%)	<b>0.0108</b>
<b>Креатинин (средна)</b>	206.97(213.13)	310.10(283.57)	<b>0.0130</b>
<b>Нодули/ кавитации</b>	39 (51.32%) 15 (19.74%)	30 (38.46%) 12 (15.38%)	0.1107 0.4779
<b>Бел.васкулит</b>	16 (21.05%)	12 (15.38%)	0.3631
<b>BVAS (средна)</b>	17.07(6.36)	17.36 (5.45)	0.7610

CYC – циклофосфамид; Rit – ритуксимаб; ХБН – хронична бъбрена недостатъчност

При тежките форми на болестта 78 болни са лекувани с ритуксимаб и 76 с циклофосфамид. Не установихме съществена разлика при лекуваните с двата протокола пациенти с грануломатоза с полиангиит, като леко преобладават тези с циклофосфамид (68.42% и съответно 58.97%),  $p = 0.2248$ . При пациентите с микроскопски полиангиит доста по-често е предпочетено лечение с ритуксимаб, което е свързано с по-високата честота на бъбречно заболяване при тези болни (41.03% и съответно 28.95%),  $p = 0.1183$ . Не установихме разлика в режима на лечение при пациентите с позитивни антитела срещу протеиназа-3 ( $p = 0.6309$ ) и миелопероксидаза ( $p = 0.9170$ ). При пациентите с поне един бъбречен симптом предпочитан режим на лечение е този с ритуксимаб (79.49%). Бъбречната функция е била по-тежко нарушена в групата, лекувани с ритуксимаб, където болните с бъбречна недостатъчност са повече, и разликата е значима ( $p = 0.0108$ ). Средната стойност на креатинина при тази група е сигнификантно по-висока в сравнение с тези с циклофосфамид ( $p = 0.0130$ ). Болните с белодробна болест и грануломатозно възпаление са лекувани по-често с циклофосфамид (51.32% и съответно 38.46%), тези с данни за белодробен васкулит също по-често са получили лечение с циклофосфамид (21.05% срещу 15.38%). Не установихме разлика в тежестта на болестта, определена чрез BVAS, при двете групи болни, средният BVAS при лекуваните с циклофосфамид е 17.07,  $SD = 6.36$ , а при тези с ритуксимаб е 17.36,  $SD = 5.45$ ,  $p = 0.7610$ .

**7.2. Анализ на проведеното лечение за индукция на ремисия по диагнози.** Направихме анализ на резултатите от лечението според диагнозата, вида на антителата и органното ангажиране. Резултатите са показани на табл. 41, 42, 43.

**Таблицы 41 и 42. Анализ на проведеното лечение по диагнози**

	<b>WG = 80</b>		<b>MPA = 52</b>	<b>Резултат</b>	<b>p</b>
<b>СYC</b> <b>(n = 33)</b>	22 (27.5%)	1 – 8 (36.4%)	11 (21.2%)	1 – 3 (27.3%)	0.6050
		2 – 7 ( <b>31.8%</b> )		2 – 4 ( <b>36.4%</b> )	0.7933
		3 – 4 ( <b>18.2%</b> )		3 – 1 (9.1%)	0.4972
<b>Rit</b> <b>(n = 37)</b>	16 (20.0%)	1 – 10 ( <b>62.5%</b> )	21 (40.4%)	1 – 12 ( <b>57.1%</b> )	0.7423
		2 – 1 (6.3%)		2 – 3 (14.3%)	0.4433
		3 – 1 (6.3%)		3 – 0 (–)	0.2631
<b>Rit след</b> <b>СYC</b> <b>(n = 41)</b>	30 (37.5%)	1 – 14 (46.7%)	11 (21.2%)	1 – 3 (27.3%)	0.2708
		2 – 11 (36.7%)		2 – 3 (27.3%)	0.5772
		3 – 1 (3.3%)		3 – 2 ( <b>18.2%</b> )	0.1122

1 – подобрен, 2 – ремисия, 3 – ex. letalis

	<b>Rit</b>		<b>СYC</b>		<b>p</b>
<b>WG</b>	46	1 – 24 ( <b>52.2%</b> )	22	1 – 8 (36.4%)	0.2264
		2 – 12 (26.1%)		2 – 7 ( <b>31.8%</b> )	0.6257
		3 – 2 (4.3%)		3 – 4 ( <b>18.2%</b> )	0.0627
<b>MPA</b>	32	1 – 15 ( <b>46.9%</b> )	11	1 – 3 (27.3%)	0.2623
		2 – 6 (18.8%)		2 – 4 ( <b>36.4%</b> )	0.2405
		3 – 2 (6.3%)		3 – 1 ( <b>9.1%</b> )	0.7554

1 – подобрен, 2 – ремисия, 3 – ex. letalis

**Таблица 43. Анализ на проведеното лечение и резултата от него според типа на антителата**

	<b>Anti-PR3</b> <b>(n = 60)</b>	<b>Резултат</b>	<b>Anti-MPO</b> <b>(n = 48)</b>		<b>p</b>
<b>СYC</b> <b>(n = 35)</b>	14 (23.3%)	1 – 1 (7.1%)	14 (29.2%)	1 – 4 (28.6%)	0.1494
		2 – 6 ( <b>42.9%</b> )		2 – 3 (21.4%)	0.2342
		3 – 5 ( <b>35.7%</b> )		3 – 3 ( <b>21.4%</b> )	0.3961
<b>Rit</b> <b>(n = 37)</b>	12 (20.0%)	1 – 7 ( <b>58.3%</b> )	15 (31.3%)	1 – 7 ( <b>46.7%</b> )	0.5543
		2 – 0 (–)		2 – 2 (13.3%)	0.2012
		3 – 1 (8.3%)		3 – 1 (6.7%)	0.8760
<b>Rit след</b> <b>СYC</b> <b>(n = 41)</b>	25 (41.7%)	1 – 12 (48.0%)	8 (16.7%)	1 – 2 (25.0%)	0.2607
		2 – 9 (36.0%)		2 – 4 ( <b>50.0%</b> )	0.4859
		3 – 0 (–)		3 – 1 (12.5%)	0.0824

1-подобрен, 2-ремисия, 3-ех. letalis

При анализ на двата основни AAV (грануломатоза на Вегенер и микроскопски полиангиит) по отношение на проведеното лечение с основните медикаменти за индукция на ремисия се установява, че 33 болни са лекувани с циклофосфамид без ритуксимаб, при 41 болни след циклофосфамид е приложен ритуксимаб, а при 37 – ритуксимаб без предшестващ циклофосфамид. Най-честата причина за заменянето на циклофосфамид с ритуксимаб е била недостатъчна ефективност на терапията и персистираща активност на болестта (при над половината от болните). Втората по честота причина е рецидив на заболяването след постигнато подобрене от лечение с циклофосфамид, което се наблюдава при 6 болни. При останалите са настъпили странични ефекти от лечението с циклофосфамид (панцитопения при трима болни, повишени чернодробни ензими при двама болни) и съдови инциденти в хода на провеждано лечение с циклофосфамид при трима болни. Най-честите причини за директно лечение с ритуксимаб без циклофосфамид е, когато диагнозата се поставя по повод бързо развиваща се бъбречна недостатъчност (при 17 болни, 45.95%), следва наличието на рецидивиращи и трудно повлияващи се инфекции (при 5 болни) или противопоказания за циклофосфамид като ИБС с преживян ИМ и сърдечна недостатъчност.

При пациентите с грануломатоза с полиангиит най-често лечението е започнато с циклофосфамид (при 65%), при 30 от тях (37.5%) циклофосфамидът е заменен с ритуксимаб. Двама от тези болни не са имали ефект от курса с ритуксимаб и се е наложило след него да се продължи отново с циклофосфамид, а при една болна, след като е направила тежък рецидив на заболяването с ангажиране на ЦНС, е възстановен циклофосфамидът. Анализът на изхода от лечението показва, че в тази група най-много (62.5% от болните) са подобрили след лечение с ритуксимаб, следвани от ритуксимаб след циклофосфамид (46.7%) и 36.4% са подобрили клинично от лечение самостоятелно с циклофосфамид. Ремисия са

постигнали най-много болни след проведено лечение с циклофосфамид (31.8%), с ритуксимаб самостоятелно са най-малко 6.3%. Починалите са най-много в групата на циклофосфамида (18.2%) и най-малко – лекуваните с ритуксимаб след циклофосфамид (3.3%).

Болните с микроскопски полиангиит най-често са получавали ритуксимаб като първи избор на медикамент в комбинация с кортикостероиди (почти половината от тях – 40.4%). Това е свързано с по-честото бъбречно ангажиране при тях и невъзможността за лечение с циклофосфамид в достатъчна доза и за достатъчно продължително време. Подобрили са най-много болни, провели лечение с ритуксимаб (57.1%). Ремисия е постигната по-често при тези, лекувани с циклофосфамид (36.4%).

При сравнение общо на лечението с ритуксимаб срещу циклофосфамид при всички пациенти се установява, че повлияването на болните при двата режима на лечение е сравнимо, като лекуваните с ритуксимаб статистически значимо по-често се подобряват (52.63% срещу 33.3%,  $p = 0.0377$ ), но пък лекуваните с циклофосфамид по-често са с ремисия на заболяването – 33.33 % срещу 20.51% ( $p = 0.2318$ ). При пациентите, лекувани с ритуксимаб, починалите са по-малко, сравнени с циклофосфамид (15.15% срещу 5,13%,  $p = 0.3264$ ).

**7.3. Анализ на проведеното лечение според типа на антителата.** Болните, които са имали антитела срещу протеиназа-3 и са лекувани с циклофосфамид и/или ритуксимаб, са общо 51 (85%). От лекуваните с циклофосфамид при 41.7% от пациентите циклофосфамидът е сменен с ритуксимаб на следващ етап. Самостоятелно ритуксимаб е приложен при 20% от болните с anti-PR3. От лечението с ритуксимаб самостоятелно са подобрили 58.3%, с ритуксимаб след циклофосфамид – 48,0%, и от циклофосфамид – 7.1%. Болните, лекувани с циклофосфамид, най-често са с ремисия (42.9%), следвани от тези с циклофосфамид и ритуксимаб (36%), при нито един болен не е постигната ремисия след самостоятелно

лечение с ритуксимаб. Пет от болните (35.7%), лекувани с циклофосфамид, са починали, с ритуксимаб самостоятелно починалите са 8.3% и няма починали при лекуваните с ритуксимаб след циклофосфамид. Пациентите с антитела срещу миелопероксидаза са общо 48. Лекуваните с циклофосфамид и ритуксимаб самостоятелно са съответно 14 (29.2%) и 15 (31.3%), а 8 с ритуксимаб след циклофосфамид – 16.7%. Най-добри резултати от лечението в тази група сме наблюдавали в групата на ритуксимаб, приложен след циклофосфамид (25% са подобрени и 50.0% са в ремисия, един е починал). От болните с анти-MPO 21.4% лекувани с циклофосфамид са починали, 12.5% от тези, лекувани с ритуксимаб след циклофосфамид, и най-малко от лекуваните с ритуксимаб като първа линия на лечение (6.7%). Най-добри резултати от проведеното лечение, оценени като болни с подобрение, се наблюдават при болните с anti-PR 3, лекувани самостоятелно с ритуксимаб ( $p = 0.5543$ ), а като ремисия при болните, лекувани с ритуксимаб след циклофосфамид, в групата на анти-MPO, като разликите не са значими ( $p = 0.4859$ ). И при болните с двете антитела най-много са починалите при лекуваните с циклофосфамид.

#### **7.4. Анализ на органна локализация и проведено лечение**

**Таблица 44. Органна локализация и проведено лечение**

	<b>А</b>	<b>К</b>	<b>О</b>	<b>ГДП</b>	<b>БД</b>	<b>Б</b>	<b>НС</b>
СУС (n = 35)	24 (68.37%)	14 (40.0%)	5 (14.28%)	15 (42.85%)	<b>27</b> <b>(77.14%)</b>	16 (45.71%)	7 (20.0%)
Rit (n = 37)	13 (35.13%)	5 (13.51%)	3 (8.10%)	12 (32.43%)	15 (40.54%)	<b>27</b> <b>(72.97%)</b>	2 (5.40%)
Rit след СУС (n = 41)	14 (34.14%)	12 (29.26%)	4 (9.75%)	21 (51.21%)	<b>30</b> <b>(73.17%)</b>	<b>28</b> <b>(68.29%)</b>	7 (17.07%)

А – артрит, К – кожа, О – очи, ГДП – горни дихателни пътища, БД – бял дроб, Б – бъбрек, НС – нервна система

При анализ на органната локализация на пациентите, лекувани с трите режима, установихме, че с циклофосфамид самостоятелно са лекувани болните, които най-често са имали прояви от страна на бял дроб и стави (77.14% и 68.37%), с ритуксимаб самостоятелно тези с бъбрек и бял дроб (72.97% и 40.54%), а ритуксимаб след неуспех от лечение с циклофосфамид са получили пациентите с прояви от страна на бял дроб и бъбрек (73.17% и 68.29%). При сравнение на органната локализация не се намери разлика в режима на лечение с изключение на бъбрека, където е предпочетено лечение с ритуксимаб (при 72.95%).

Шестнадесет от пациентите, които са лекувани с циклофосфамид, са били със засягане на три системи, девет на четири, осем на две и един пациент на пет системи. Само един пациент с моноорганно засягане е бил лекуван с циклофосфамид. Обратно, при тези, лекувани с ритуксимаб, 14 са с моноорганно засягане, и то на бъбрек, 12 със засягане на две системи, осем на три, двама на четири и един на пет. Лечение с ритуксимаб след циклофосфамид е било провеждано при пациенти основно с полиорганно засягане – 13 на три системи, 10 на четири, осем на две, един на пет. Осем пациенти са с монорганно засягане, като тук преобладават болните с белодробно ангажиране.

**7.5. Анализ на лекуваните с ритуксимаб пациенти.** При 78 болни е проведено лечение с ритуксимаб за различно дълъг период. Протоколът, по който е проведено лечението, е  $375 \text{ mg/m}^2$  телесна повърхност i.v. веднъж седмично за четири седмици. При 19 (24.4%) от пациентите е проведен един курс на лечение, при 27 (34.62%) са проведени два курса, при 15 (19.2%) три курса и при 17 (21.8%) четири или повече курса. При анализ на проведеното преди и на последващото след ритуксимаб лечение се установи, че при 41 болни ритуксимаб е приложен след неуспех с предшестващо лечение с циклофосфамид и кортикостероиди. Девет от пациентите допълнително са лекувани с микофенолат мофетил, четири-

ма с метотрексат, при четирима е проведена плазмафереза, и при осем – лечение с венозни имуноглобулини без задоволителен ефект. Всички пациенти по време на лечението с ритуксимаб са получавали и кортикостероид. От болните 75 (89.25%) са продължили да приемат кортикостероид след прилагането на ритуксимаб, при 15 от тях той е в комбинация с имunosупресор. При трима от пациентите ритуксимаб е заменен с циклофосфамид (поради липса на ефект при двама, при един с рецидив на болестта в хода на лечението с ритуксимаб).

При 41 болни ритуксимаб е приложен след неуспех с предшестващо лечение с циклофосфамид. Причините за заменянето на циклофосфамид с ритуксимаб са описани в анализа на проведеното лечение (раздел 7.2). Най-честите причини за директно лечение с ритуксимаб без предшестващ циклофосфамид са: когато диагнозата се поставя по повод на бързо развиваща се бъбречна недостатъчност (при 17 болни, 45.9%), наличието на рецидивиращи и трудно повлияващи се инфекции (при 5 болни) или противопоказания за лечение с циклофосфамид.

Направихме анализ на тежестта на заболяването, оценена чрез BVAS, на основното органно засягане, на антителата и резултата от лечението. Основните характеристики на пациентите са представени в таблица 45. Средната възраст на пациентите е 50.1 г., SD = 13.8, като варира от 18 г. до 76 г. Преобладаващият пол е мъжкия. Средният BVAS е 17.4, SD = 5.44. Най-високата стойност на BVAS преди лечението е 30.

От пациентите, лекувани с ритуксимаб, 14 са с моноорганно засягане и то на бъбрек, 12 са със засягане на две системи, осем на три, двама на четири и един на пет. Лечение с ритуксимаб след циклофосфамид е провеждано при пациенти основно с полиорганно засягане – 13 с три системи, 10 с четири, осем с две, един с пет (табл. 45).

**7.5.1. Анализ на клиничната картина на пациентите.** При анализ на органната локализация на пациентите, лекувани с ритуксимаб

(табл. 46) се установява, че с ритуксимаб самостоятелно най-често са лекувани тези с прояви от страна на бъбрека, а циклофосфамид е последван от ритуксимаб при пациентите с прояви от страна на бял дроб и бъбрек.

**Таблица 45. Характеристики на пациентите, лекувани с ритуксимаб**

	<b>N = 78</b>	<b>Подобрен</b>	<b>Ремисия</b>	<b>Стационаран</b>	<b>Ex letalis</b>	<b>p</b>
<b>Възраст</b>	50.1 (13.80)	50.3 (13.35)	45.11 (16.28)	50.9 (11.81)	52.7 (8.08)	0.518
<b>Пол М/Ж</b>	37/41	17/21	6/4	11/11	1/3	0.837
<b>Бъбрек</b>	62 (79.5%)	16 (25.8%)	3 (4.8%)	10 (16.1%)	2 (3.2%)	0.585
<b>Бел.васкулит</b>	12 (15.4%)	3 (25.0%)	7 (58.3%)	1 (8.3%)	0 (-)	<b>0.000</b>
<b>Пулморенална</b>	72 (92.3%)	35 (48.6%)	16 (22.2%)	17 (23.6%)	4 (5.6%)	0.886
<b>BVAS</b>	17.4 (5.44)	17.7 (5.03)	19.3 (6.33)	16.2 (4.81)	16.6 (4.53)	0.358
<b>Креатинин</b>	310.1 (284.01)	329.6 (339.83)	362.1 (198.78)	302.3 (206.93)	162.0 (150.10)	0.120
<b>Анти-PR3</b>	37 (47.4%)	<b>16</b> (43.2%)	6 (16.2%)	9 (24.3%)	5 (13.5%)	0.416
<b>Anti-MPO</b>	23 (29.5%)	8 (34.8%)	3 (13.0%)	<b>9</b> (39.1%)	2 (8.7%)	0.472
<b>ANCA(-)</b>	10 (12.8%)	5 (50.0%)	1 (10.0%)	4 (40.0%)	0 (-)	0.550
<b>ANCA(+)</b>	67 (85.9%)	<b>34</b> (50.7%)	16 (23.9%)	14 (20.9%)	3 (4.5%)	0.850

\*Значимият резултат се дължи на проявата на ремисия – много по-често от очакваното при белодр. васкулит, при което би нямало такава значимост.

**Таблица 46. Анализ на органната локализация на лекуваните с ритуксимаб пациенти**

	<b>A</b>	<b>K</b>	<b>O</b>	<b>ГДП</b>	<b>БД</b>	<b>Б</b>	<b>НС</b>
Rit (n = 37)	13	5	3	12	15	<b>27</b>	2
Rit след СУС (n = 41)	14	12	4	21	<b>30</b>	<b>28</b>	7

A – артрит, K – кожа, O – очи, ГДП – горни дихателни пътища, БД – бял дроб, Б – бъбрек, НС – нервна система

Пациентите, които са имали поне един важен бъбречен BVAS елемент (еритроцитурия, повишение в стойностите на креатинина с поне 30%, данни за гломерулонефрит от проведена ПББ) и не са имали прояви от други органи, са 38.46%, тези само с белодробни прояви като нодули, кавитации, инфилтрати, плеврит, алвеоларни хеморагии са 14.10%, а с пулморенална болест са 39.73%. Ремисия е била постигната при общо 16 болни (20.51%).

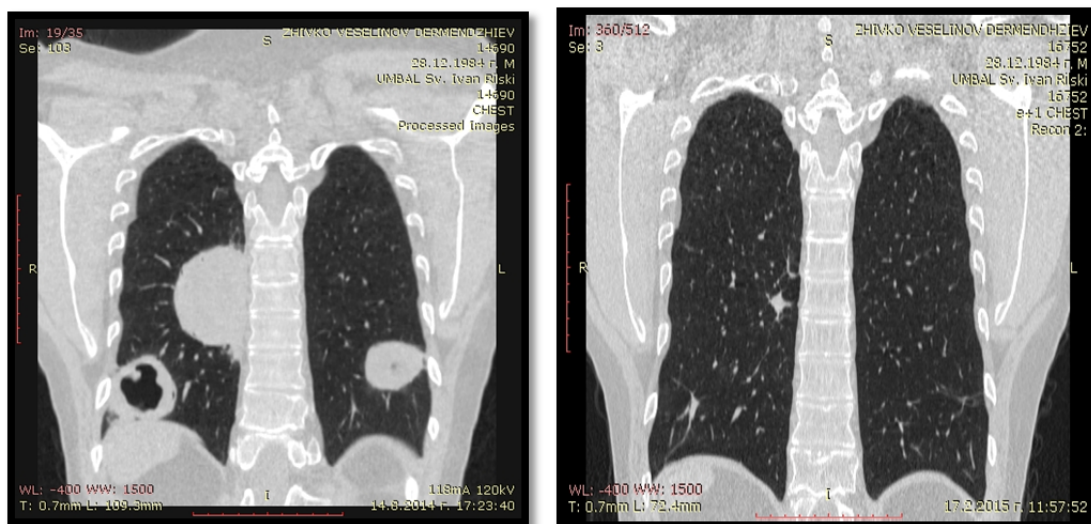
От пациентите с ренален васкулит, лекувани с ритуксимаб (общо 62 болни), с протеинурия са 44 (70.96%), с еритроцитурия 54 (87.09%), с бъбречна недостатъчност 51 болни (82.25%). С начална (I ст.) бъбречна недостатъчност са 17 болни (27.41%) и с напреднала (IV ст.) – 18 болни (29.03%). Средната стойност на креатинина е 310.1  $\mu\text{mol/l}$ , SD = 284.01. Средната стойност на протеинурията е 2.42 (SD = 3.01) G./L. В групата с изолирано бъбречно засягане, се отчита добро повлияване от лечението – 25.8% от болните са подобрили и 4.8% са в ремисия. Починали са двама пациенти. При 2/3 от случаите стойностите на креатинина са с тенденция за понижение след проведеното лечение, при 1/3 от тях той е достигнал нормални стойности и при 1/3 не се е повлиял. Четирима от пациентите в хода на лечението с ритуксимаб са започнали хроничен диализа. Пациентите с протеинурия имат добър ефект от проведеното лечение (1/3 са без протеинурия след курса с ритуксимаб, 1/3 са с намаление на стойностите на протеинурията, 1/3 са без промяна). Добри резултати се наблюдават и по отношение на еритроцитурията – 1/2 от болните след лечение са без еритроцитурия.

От болните, провели лечение с ритуксимаб с белодробно засягане са 42 (53.8%), като 30 са с грануломатозно възпаление (38.5%), 15.4% са с васкулитни прояви. В тази група 12.8% са с изолирано белодробно ангажиране. От тях 4 болни са с изолиран белодробен васкулит, пет болни са с кавитации. След проведеното лечение повече от половината от

всички пациенти с белодробен васкулит са с ремисия (58.3%), подобрени са 25% и няма починали. Що се отнася до кавитациите, от пет болни с кавитации трима са в ремисия, един е имал подобрение и един е без промяна от лечението. При болните с белодробен васкулит и лечение с ритуксимаб значимо по-често се наблюдава ремисия в сравнение с другите органни локализации (при 58.3%,  $p=0.0000$ ).

С пулморенална болест са 25.6% от пациентите на лечение с ритуксимаб. От тях почти половината са се подобрили след лечение (48.6%), при 22.2% е достигната ремисия. Това е групата с най-много починали пациенти – 5.6%.

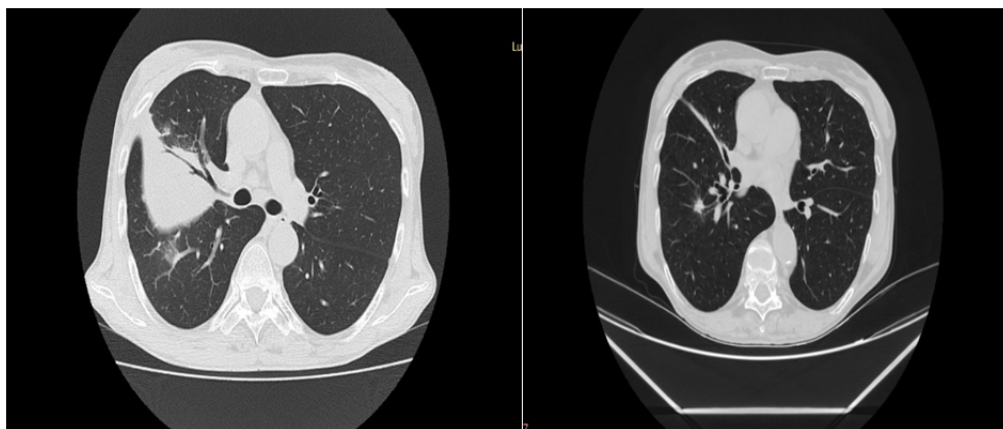
Резултатите от лечението показват, че подобрените болни и тези в ремисия са сигнификантно повече от стабилизираните, влошилите се и починалите (общо 21) ( $p = 0.0000$ ). Снимка 5 и 6 демонстрират СТ на гръден кош преди и лечение с ритуксимаб при пациент на 29 год. Налице е пълна резорбция на белодробните нодули.



Снимка 9 и 10

Снимка 11 и 12 показват находките при 54-годишен пациент, който е с рецидив след ремисия, постигната с циклофосфамид. Налице са инкапсулиран излив вдясно, пулмофиброзни повлекла, мекотъканни ле-

зии вдясно с централна зона на разпад и ликвификация, повлияли се от курс с ритуксимаб.



Снимка 11 и 12

#### **7.5.2. Анализ на пациентите в зависимост от антителата.**

Преди лечението с ритуксимаб 85.9% от пациентите са позитивни за ANCA. Средната стойност на ANCA е 8.32 пъти увеличена над референтните стойности. От тези пациенти 50.7% са с подобрение след ритуксимаб. При ANCA негативните пациенти подобрените са 50%. От 67 ANCA позитивни пациенти след ритуксимаб са останали позитивни 12 пациенти (17.9%). При 82% антителата се негативират след лечение. От пациентите, останали позитивни след терапията, при пет антителата са срещу миелопероксидаза (41.6%), при четирима – срещу протеиназа-3 (33.3%), а при трима не е проведено изследване на специфичността им. От пациентите, които не са се повлияли имунологично, клинично подобрение има при двама, а при останалите десет не се наблюдава и клинично подобрение (83.33%).

**7.5.3. Анализ на резултатите от лечението.** Анализът на резултатите от проведеното лечение според вида на антителата, показва, че при болните с PR3-ANCA най-много са подобрените (58.3%) след самостоятелно приложение на ритуксимаб, болните с ремисия са повече, когато има предхождащо лечение с циклофосфамид (табл. 47). В групата

на PR3-ANCA нивата на ремисия са по-ниски от тези на MPO-ANCA (36.0% и съответно 50%), като те също са в групата на ритуксимаб след циклофосфамид. При болните с anti-MPO-ANCA нивата на ремисия в групата след циклофосфамид са 50%, но в тази група са и най-много починалите болни (12.5%). Осем от болните, подобрени след проведено лечение и на фона на продължаващо лечение с ритуксимаб, са получили рецидив на болестта – четирима с грануломатоза с полиангиит и анти-PR-3 антитела и четирима с микроскопски полиангиит и анти-MPO антитела. При трима от тях антителата са се позитивирали преди клиничния рецидив. Всички те са провеждали лечение с ниска доза ГКС, а един е приемал паралелно и азатиоприн.

**Таблица 47. Анализ на резултатите от лечение според типа на антителата**

	<b>Anti-PR3 (n = 60)</b>	<b>Резултат</b>	<b>Anti-MPO (n = 48)</b>	<b>Резултат</b>	<b>p</b>
Rit (n = 37)	12 (20.0%)	1 – 7 <b>(58.3%)</b> 2 – 0 (–) <b>3 – 1 (8.3%)</b>	15 (31.3%)	1 – 7 (46.7%) 2 – 2 (13.3%) 3 – 1 (6.7%)	0.5543 0.2012 0.8760
Rit след СУС (n = 41)	25 (41.7%)	1 – 12 (48.0%) 2 – 9 (36.0%) 3 – 0 (–)	8 (16.7%)	1 – 2 (25.0%) 2 – 4 (50.0%) 3 – 1 (12.5%)	0.2607 0.4859 0.0824

1 – подобрен, 2 – ремисия, 3 – ex letalis

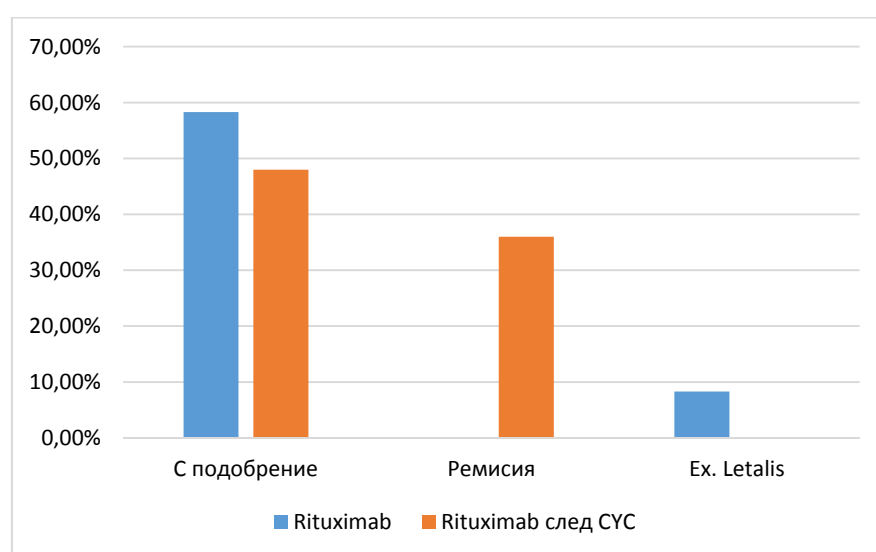
Починали са общо 4 пациенти. Причините са инфекция и неовладяна активност на заболяването. Подробният анализ на тези болни е представен на табл. 48.

Анализ на резултата в зависимост от вида на антителата не установява статистически значима разлика. Резултатите са показани на фигури 11 и 12.

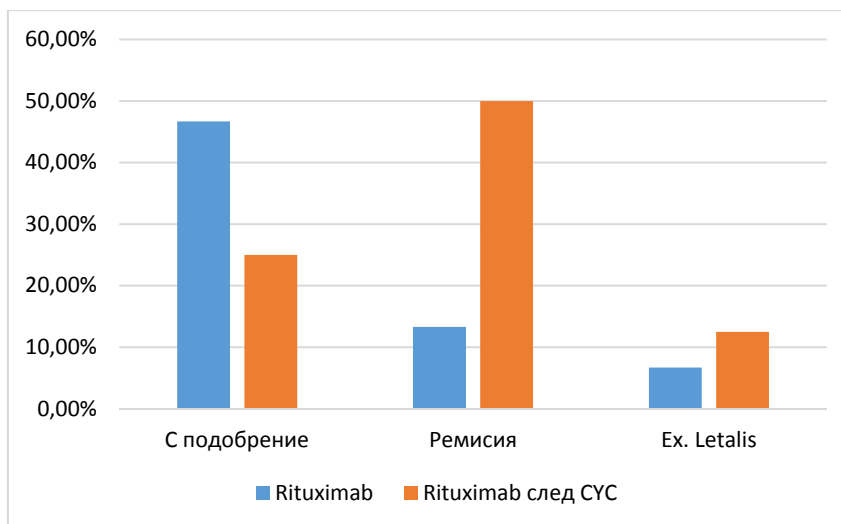
Най-честите странични реакции, които сме наблюдавали в хода на лечението с ритуксимаб, с изключение на интеркурентните инфекции на горни дихателни пътища, бял дроб и бъбреци, са общо неразположение след инфузията – при шест болни, алергична реакция при един болен, активиране на Herpes zoster инфекция при един болен, редукция на тегло при един болен.

**Таблица 48. Анализ на починалите пациенти, лекувани с ритуксимаб**

	Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3	Пациент 4
<b>Диагноза</b>	GPA	MPA	GPA	MPA
<b>Давност на болестта</b>	6 мес.	24 мес.	16 мес.	15 мес.
<b>Възраст</b>	46 год.	51 год.	44 год.	35 год.
<b>Органи</b>	ГДП, очи, бял дроб, бъбрек	Бял дроб, бъбрек	Кожа, ГДП, очи, бял дроб, бъбрек	Бял дроб, бъбрек
<b>Rtx</b>	1	1	1	2
<b>Причина за смърт</b>	Инфекция, активност	Инфекция	Активност	Активност
<b>Време след Rtx</b>	4 мес.	1	6 мес.	10



*Фигура 11. Анализ на резултатите от лечение с ритуксимаб при anti-PR3*



Фигура 12. Анализ на резултатите от лечение с ритуксимаб при anti-MPO

## 8. Анализ на клиничната картина и на причините за смърт при починалите пациенти

Направихме анализ на починалите пациенти, на клиничната им картина и причините за настъпване на смърт, както и на режимите проведено лечение при тези болни. Също така анализирахме каква е преживяемостта и определихме рисковите фактори за неблагоприятен изход.

Общо 142 болни са включени и са проследени за средно 1703 дни. От тези 142 болни по време на проследяването са починали 18 (12.68%). Средното време до настъпване на смъртта е 581.3 дни. Едногодишната и петгодишната преживяемост за всички пациенти е 94.4% и съответно 88.7%. От друга страна, ремисия е била постигната при 35 пациенти (24.65%). От починалите пациенти 9 са мъже и 9 са жени. Средната възраст на починалите е 51.78 г., SD = 14.16. Един пациент е на възраст под 30 години, между 30 и 50 години са 9 пациенти и 8 са над 50 години. Разпределението по диагнози е: с грануломатоза с полиангиит – 9 болни (това са 11.25% от болните с GPA), с микроскопски полиангиит – 7 болни (това са 13.46%) и с еозинофилна грануломатоза с полиангиит – 2 болни (това са 25%). Преживяемостта за периода на

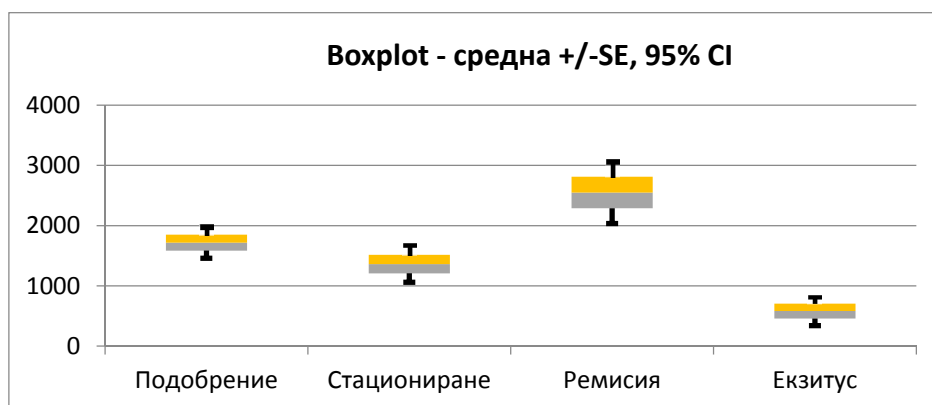
проследяване по диагнози е 2091.1 дни за грануломатоза с полиангиит, 1551.7 за микроскопски полиангиит.

Преживените дни при пациентите с подобрение, стационарните, тези в ремисия и починалите са анализирани от гледна точка на наблюдаваните средни стойности за всички резултати (табл. 49 и фиг. 13). Установи се значима разлика в средния брой преживени дни за всички двойки сравнения с едно изключение – при сравнението на подобрените спрямо стационарните. При пациентите, при които е постигната ремисия, преживяемостта в дни е статистически значимо по-висока от болните, които са подобрени или стационарни.

**Таблица 49. Брой преживени дни до настъпването на смърт**

Резултат	Средна	Ст.грешка	95% CI LB	95% CI UP
Подобрение	1 717.8	132.4	1 458.2	1 977.4
Стационаране	1 361.8	153.8	1 060.3	1663.3
Ремисия	2 549.4	261.8	2 036.3	3 062.5
Екзитус	581.3	123.9	338.4	824.1
Общо	1 703.0	105.0	1 497.2	1 908.8

*Всички разлики в общия брой дни, без тази между Подобрение, са статистически значими ( $p < 0.05$ )*



*Фигура 13. Брой на преживените дни според настъпилия резултат*

Направен е анализ на преживяемостта при пациентите за двете основни диагнози (грануломатоза на Wegener и микроскопски полиангиит), което би обусловило определена разлика спрямо общата функция на

преживяемост, предвид че тези две групи представляват над 90% от всички изследвани. Използван е методът на Каплан-Майер, като е потвърдена значима разлика между двете функции на преживяемост. До около ден 1500 кумулативните нива на преживяемост за двете групи са относително еднакви, след това при МРА започва да се забелязва значително по-ниска преживяемост, което и обуславя по-ниския брой преживени дни при пациентите с тази диагноза (табл. 50 и граф. 5).

**Таблица 50. Обобщени показатели за преживяно време по диагнози**

Средни и медиани за преживяно време по диагнози

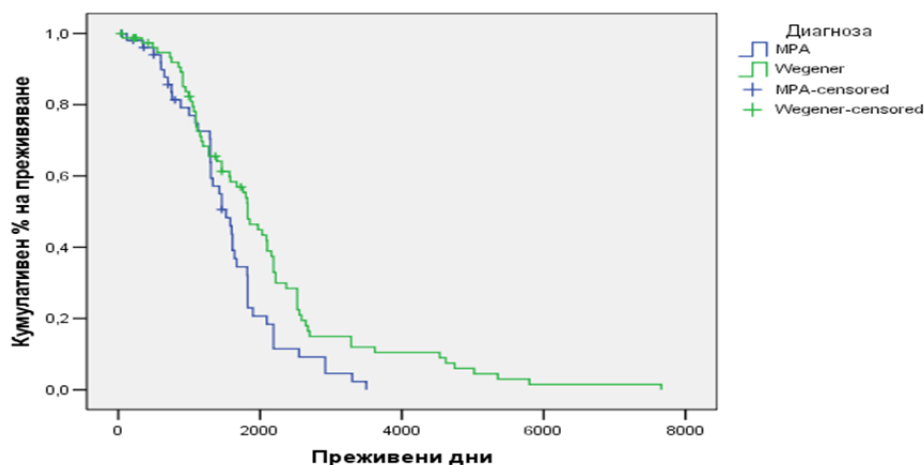
Диагноза	Средна				Медиана			
	Показател	Ст. Грешка	95% Доверителен интервал		Показател	Ст. Грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница			Долна граница	Горна граница
Wegener	2 092.1	166.8	1 765.1	2 419.1	1 825.0	119.7	1 590.4	2 059.6
МРА	1 551.7	109.2	1 337.6	1 765.7	1 520.0	145.0	1 235.9	1 804.1
Общо	1 879.3	112.5	1 658.8	2 099.7	1 640.0	107.6	1 429.1	1 850.9

Персентили

Диагноза	25		50		75	
	Показател	Ст. Грешка	Показател	Ст. Грешка	Показател	Ст. Грешка
Wegener	2 525.0	148.6	1 825.0	119.7	1 100.0	70.6
МРА	1 825.0	126.2	1 520.0	145.0	1 090.0	194.0
Общо	2 190.0	135.8	1 640.0	107.6	1 100.0	76.3

Общо сравнение: р-стойности

	Chi-Square	df	p
Log Rank (Mantel-Cox)	6.2464559	1	0.0124
Tarone-Ware	4.7845494	1	0.0287



Графика 5. Функция на преживяемостта по диагнози

Допълнително са направени два теста за определяне на значимост и при двата се установява, че пациентите с грануломатоза на Wegener преживяват повече от тези с микроскопски полиангит, като разликата е статистически значима ( $p = 0.0124$  и съответно  $p = 0.0287$ ). При пациен-

тите с грануломатоза на Wegener 50% са преживели 5 години, 25% са преживели 6,91 години. За микроскопски полиангиит 25% са преживели 5 години и 50% са преживели 4.16 години.

**8.1. Фактори, които се асоциират със смъртността:** за да определим факторите, които се свързват с повишена смъртност при нашите пациенти, направихме едномерен анализ на някои основни показатели и ги сравнихме с тези при пациентите, при които е постигната ремисия. Тези показатели са представени на табл. 51.

**Таблица 51. Сравнение на основните характеристики на починалите пациенти и на тези в ремисия**

	Починали – N = 18	Ремисия – N = 35	P
<b>М/Ж</b>	9/9	11/24	0.1514
<b>Възраст</b>	51.78 (14.16)	47.29 (15.01)	0.3020
<b>BVAS</b>	20.33 (5.74)	16.83 (7.55)	0.0720
<b>FFS</b>	1.28 (0.87)	0.83 (0.81)	0.0850
<b>Wegener</b>	9 (50%)	22 (62.86%)	0.6154
<b>MPA</b>	7 (38.89%)	10 (28.57%)	0.4955
<b>CSS</b>	2 (11.11%)	2 (5.71%)	0.5411
<b>Брой системи</b>			0.4800
<b>1</b>	1	4	
<b>2</b>	7	5	
<b>3</b>	7	10	
<b>4</b>	2	8	
<b>5</b>	1	8	
<b>Бял дроб</b>	12 (66.67%)	18 (51.43%)	0.4428
<b>Кавитации</b>	6	4	
<b>Алвеолит</b>	6	3	
<b>Бъбрек</b>	9 (50%)	19 (54.28%)	1.0000
<b>Протеинурия</b>	5	18	
<b>Еритроцитурия</b>	9	13	
<b>ANCA</b>	17 (94.44%)	30 (85.71%)	0.8628
<b>Anti-PR3</b>	9 (60%)	16 (45.71%)	0.9858
<b>Anti-MPO</b>	10 (66.67%)	10 (28.57%)	0.0153
<b>Anti-PR3+anti-MPO</b>	4 (26.67%)	0	
<b>CRP</b>	17 (94.44%)	24 (68.57%)	0.2222
<b>Анемия</b>	14 (77.78%)	18 (51.43%)	0.1185
<b>Thr</b>	17 (94.44%)	31 (88.57%)	0.9761

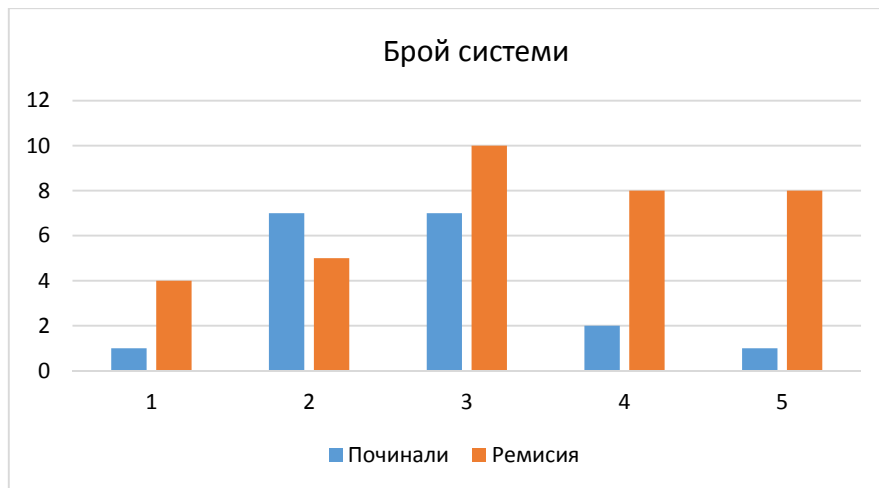
**Таблица 51. Сравнение на основните характеристики на починалите пациенти и на тези в ремисия – продължение**

	<b>Починали – N = 18</b>	<b>Ремисия – N = 35</b>	<b>P</b>
<b>Креатинин</b>	9 (50%)	13 (37.14%)	0.4369
<b>Инфекция</b>	5 (27.78%)	4 (11.43%)	0.1857
<b>СУС</b>	10 (55.56%)	25 (71.43%)	0.5403
<b>Rit</b>	4 (22.22%)	14 (35%)	0.2562
<b>Диализа</b>	3 (16.67%)	4 (11.43%)	0.7140

От всички 17 показателя, които сме изследвали, нито един не показва сигнификантна разлика в двете групи болни. По-изразена разлика се наблюдава единствено при скоровете за активност (BVAS и FFS). Това се разминава леко с изводите от многомерния анализ. Но те не си противоречат, поради по-слабата сила на едномерния при него се проявява само един фактор, а те в действителност са повече (обсъжда се в параграфа за предиктори за смъртен изход).

**8.1.1. Асоциация с активността и органното ангажиране:** При анализ на активността при диагностицирането на болестта за починалите пациенти се установява среден BVAS 20.33, SD = 5.74 и средна стойност на FFS 1.28, SD = 0.87. Трима от починалите пациенти в началото на заболяването не са имали лоши прогностични фактори, техният FFS е 0 т., а шест болни са имали повече от един лош прогностичен фактор.

От починалите само един пациент е бил със засягане само на един орган, повечето (94.44%) са имали засягане на повече от една система: седем болни са имали засягане на два и също толкова на три органа и трима болни над три органа (фиг. 14). Със засягане на бял дроб са 12 болни (66.67%), от тях половината са с белодробни кавитации, а останалите са с белодробен васкулит. С данни за бъбречно засягане са 9 от починалите (50%). Всичките починали пациенти са с нарушена бъбречна функция, като трима (20%) са на диализно лечение. При всички се наблюдава еритроцитурия.



Фигура 14. Сравнение на болните в ремисия и починалите по брой засегнати системи

**8.1.2. Асоциация с ANCA:** с положителни ANCA са 17 от починалите болни, при един не е проведено изследване на ANCA (диагнозата е поставена въз основа на типична хистологична находка от проведена ПББ). На практика не се установяват ANCA негативни починали пациенти. При 14 от болните е проведено изследване за антитела, насочени срещу специфични антигени. Десет от тях (66.67%) са срещу миелопероксидаза, 9 (60%) срещу протеиназа-3, като при четири от болните са налице едновременно и двете антитела. Средните нива на антителата срещу протеиназа-3 средно са 16.8, а на тези срещу миелопероксидаза – 6.38. Антитела срещу dsDNA се откриват при един болен, антифосфолипидни също при един. Не се откриват разлики в смъртността между PR-3 позитивните и MPO позитивните пациенти.

**8.1.3. Асоциация с лабораторни показатели.** При анализ на основните лабораторни показатели се установява, че с повишени стойности на С-реактивен протеин са 17 от починалите (94.44%), толкова са и тези с повишени тромбоцити, с анемия са 14 (77.78%). Средната стойност на CRP е 110.67 mmol/l (SD = 115.52), на хемоглобина – 102.76 gr/l (SD = 100.03). Повишени стойности на креатинин се установяват при 9 от починалите болни (50%). Средната стойност на креатинина е 211.72  $\mu$ mol/l (SD = 122.07).

**8.1.4. Асоциация с проведеното лечение.** Проведеното лечение е според избора на лекуващия лекар. При 10 от починалите болни (55.56%) е проведен курс с циклофосфамид, а при четири (22.22%) – с ритуксимаб в режим за индукция на ремисия. Ритуксимаб е предпочетен при пациенти с нарушена бъбречна функция и такива с придружаващи заболявания, непозволяващи лечение с циклофосфамид. При един болен е проведена допълнително плазмафереза, а при четирима – вливане на имуновенин. Пет от болните са лекувани само с пулс терапия с кортикостероид и не са получили имunosупресивно лечение. Процентът на починалите в групата на лекуваните с циклофосфамид е по-висок в сравнение с лекуваните с ритуксимаб ( $p = 0.040$ ) (табл. 51).

**8.2. Анализ на основните причини за смърт.** При анализа на пациентите разделихме причините за смърт на такива, които са пряко свързани с васкулита, и такива, които са асоциирани с васкулита (табл. 52).

**Таблица 52. Причини за смърт**

Причина	Брой починали	Диагноза
<b>Пряко свързани с васкулита</b>	7	
ГДП и бял дроб	3	GPA
Алвеолит и уремия	1	MPA
Уремия	4	MPA
<b>Активност и инфекция</b>	3	
Сепсис	2	GPA
Аспергилоза	1	GPA
<b>Асоциирани с васкулита причини</b>		
Инфекции	4	
Аспергилоза	1	MPA
Чернодр. абсцес	1	GPA
Хеморагичен колит и перитонит	1	MPA
Холецистит и перитонит	1	GPA
<b>Усложнения</b>	4	
ССЗ	3	CSS+GPA
Полиорганна недостатъчност и уремия	1	MPA

Седем от болните (38.89%) са починали от причина, която е пряко свързана с васкулита и това е активност на васкулита с фатално засягане на поразените органи, най-често белите дробове и бъбреците. От починалите с белодробно ангажиране двама са с некротизиращо грануломатозно възпаление на ГДП и белите дробове, един е с белодробен алвеолит и уремия и четирима от починалите са с уремия на базата на бързо развила се бъбречна недостатъчност. Трима от болните на фона на високата активност на заболяването са насложили инфекция, двама са развили сепсис, един е с аспергилоза и дихателна недостатъчност. Смърт от различни усложнения на васкулита се наблюдава при осем от болните (44.44%). При четирима пациенти причината за смъртта е инфекция на фона на провеждано лечение и овладяна активност на васкулита и при четирима има настъпили усложнения от трайните увреждания на органите, вследствие болестта и страничните ефекти на проведеното лечение.

Водеща причина за смърт при нашите пациенти е уремията, резултат на некротизиращ гломерулонефрит и свързаните с нея увреждания на други органи и системи (33.33% от смъртните случаи). Това са една трета от болните, което показва лошото прогностично значение на бъбречната увреда при ANCA асоциираните васкулити. Микроскопски полиангиит е основната диагноза, довела до уремия. Една трета от починалите са били с инфекции, които са се оказали фатални. Преобладаващата част от болните с инфекции са с грануломатоза с полиангиит. При болните с грануломатоза с полиангиит по-честата причина за смъртен изход са късните усложнения (години след диагностицирането на васкулита), свързани с трайно органно увреждане и по-рядко това е активност на заболяването.

### ***8.3. Анализ на пациентите, при които е постигната ремисия.***

Интерес представлява анализът на болните, които са влезли в продължителна ремисия. Затова направихме анализ на пациентите в ремисия и ги

сравнихме с починалите (табл. 53). В ремисия са 35 болни (24.65%). В тази група преобладават жените. Установихме несъществени разлики по отношение на скоровете за активност в сравнение с починалите. Средният BVAS при тези болни е 16.83, SD = 7.55, а FFS е 0.83, SD = 0.81. Над половината от болните (14) не са имали лоши прогностични фактори при диагностицирането на болестта. Преобладават пациентите с многоорганно ангажиране – над 3 и повече системи. При пациентите с грануломатоза с полиангиит по-често се постига ремисия. Не се открива разлика в процента на белодробно и бъбречно ангажиране при болните с трайна ремисия. При пациентите с изолирано белодробно засягане смърт се наблюдава сигнификантно по-често в сравнение с ремисията ( $p = 0.0168$ ) (табл. 53). С нарушения на бъбречната функция са 37.14%, средната стойност на креатинина е 158.44  $\mu\text{mol/l}$  (SD=160.42), на диализно лечение са четирима болни (11.43%), като при половината от тях след проведената конвенционална терапия диализата е преустановена.

С наличие на ANCA са 30 (85.71%) от болните, преобладават тези с антитела срещу протеиназа-3 (45.71%) и няма такива с антитела срещу двата антигена едновременно. В групата на починалите болни преобладават анти-MPO антителата. Антитела срещу dsDNA сме установили при един от болните, антифосфолипидни също при един. С повишени стойности на C-реактивен протеин, с анемия и повишени стойности на креатинин са по-малък процент от болните в сравнение с починалите. Средната стойност на CRP е 32.09  $\text{mmol/l}$  (SD=54.28), на хемоглобин – 121.37  $\text{g/l}$  (SD=19.86).

При 25 от болните (71.43%) ремисия е постигната след проведено лечение с циклофосфамид, а при 14 (35%) с ритуксимаб в режим за индукция на ремисия. При четирима има вливане на имуновенин. Трима от болните са лекувани само с пулс терапия с кортикостероид и те са имали леки прояви от страна на ГДП и артрит. Това потвърждава важността на

имуносупресивната терапия за прогнозата на AAV. Придружаваща инфекция е налице само при четирима (11.43%) от болните, което е сигнификантно по-малко от починалите и илюстрира защо е важно активното търсене и правилното лечение на инфекциите при тези болни.

**Таблица 53. Сравнение на клиничната картина при болните с трайна ремисия и починалите**

Система	Ремисия, N = 35	%	Ex. letalis, N = 18	%	p
Артрит	24	68.57	11	61.11	0.8127
Кожни прояви	16	45.71	9	50.00	0.9956
ГДП	20	57.14	7	38.89	0.3326
Бял дроб	18	51.43	16	88.89	<b>0.0168</b>
ССС	14	40	11	61.11	0.2430
Бъбрек	19	54.28	12	66.67	0.5673
НС	11	31.43	8	44.44	0.5265

Болните в ремисия и с висока преживяемост са предимно с прояви от страна на ставите и горните дихателни пътища. Оказва се, че и над 50% от тези с белодробни и бъбречни прояви също достигат ремисия.

**8.4. Предиктори на смъртен изход.** За да се определят значимите фактори, свързани с проява на смърт, бе извършен многомерен логистичен анализ, в който са включени изложените в таблици 51 и 53 показатели на наблюдаваните пациенти. Анализът е направен в два варианта – проява или отсъствие на смърт и проява на смърт спрямо проява на ремисия, като оценените значими фактори ( $p < 0.05$ ) са обобщени в табл. 54. Тези анализи са по-силни от едномерните анализи, поради факта, че отчитат взаимното влияние на всички изследвани фактори, а и тяхната вътрешна зависимост към проявата на изследвания резултат.

Резултатът от анализа на всички пациенти и на факторите от табл. 51 и 53 за установяване на значими фактори за проявата на смърт и тяхното влияние може да се обобщи така:

- С нарастване на BVAS с единица шансовете за проява на смърт се променят 1.149 пъти.

**Таблица 54. Модели проява на смърт и проява на смърт спрямо проява на ремисия**

Модел	Фактор	Влияние	"Odds ratio"
Общ – проява на смърт	BVAS	+	1.149
	Наличие на инфекции	+	4.409
	RIT	-	13.355
Проява на смърт спрямо ремисия	BVAS	+	1.135
	Наличие на инфекции	+	3.804
	RIT	-	6.213
	FFS	+	2.76
	Бял дроб	+	2.97

- Наличието на инфекции се асоциира с 4.409 пъти по-висок шанс за проява на смърт.

- Отсъствието на ритуксимаб се асоциира с 13.355 пъти по-висок шанс за проява на смърт.

Само за пациентите с ремисия или смърт резултатите се променят, като могат да се обобщят така:

- С нарастване на BVAS с единица шансовете за проява на смърт са 1.135 пъти по-големи от тези за проява на ремисия.

- Аналогичният показател за FFS е 2.76.

- Наличието на инфекции се асоциира с 3.804 пъти по-висок шанс за проява на смърт спрямо ремисия.

- Аналогичният показател за бял дроб е 2.97.

- Отсъствието на ритуксимаб се асоциира с 6.213 пъти по-висок шанс за проява на смърт спрямо ремисия.

Не се установи връзка на преживяемостта на пациентите с възрастта при поставяне на диагнозата, пола, наличието на ANCA, специфичността на ANCA. Има връзка с диагнозата. Пациентите с грануломатоза на Wegener преживяват повече от тези с микроскопски полиангиит, като разликата е статистически значима.

## 9. Роля на някои биомаркери в имунопатогенезата на AAV

Антинеутрофилоцитоплазмените антитела, насочени срещу протеиназа-3 и миелопероксидаза, играят несъмнено основна роля в имунопатогенезата на ANCA асоциираните васкулити. В последните години се установи, че и други антитела и цитокини също имат отношение към патогенезата, протичането и прогнозата при голяма част от пациентите. Ето защо си поставихме за цел да установим какви са нивата на някои основни участници в патогенезата в серума на болни с AAV и дали тези нива корелират с болестната активност, с органното засягане, по-конкретно с васкулитните лезии и бъбречното увреждане и как се влияят от проведеното лечение и това са нивата на LAMP-2, плазминоген, TNF, както и на ензима индоламин 2,3-диоксигеназа.

В настоящото изследване са включени 47 болни със сигурен AAV (от тях 31 с GPA и 16 с MPA) и 13 здрави контроли. От болните 21 са мъже и съответно 26 жени. Активността на болестта е измерена чрез BVAS. Определихме дали са имали някаква клинична или лабораторна активност извън BVAS по време на изследването. Разделихме болните на такива с активност и без активност, като приехме стойности на BVAS  $\geq 4$  за активност. С активност на васкулит, независимо от кой орган, в момента на изследването са 37 от пациентите (78.72%). Средният BVAS е 8.45 ( $\pm 4.73$ ).

Най-голям е процентът на пациентите с генерализирана форма (38.3%), следван от тези с локализирана (23.4%), пациентите със системна форма са 19.1% и с тежка форма са 19.1%. Активност от страна на горни дихателни пътища се установява при 26 от тях, при осем засягането на горните дихателни пътища е изолирано. Активност от страна на бял дроб има при 30, при 17 болни то е в комбинация с горни дихателни пътища и при 7 с горни дихателни пътища и с бъбрек. При 16 болни се

установяват белодробни нодули, при 5 има данни за белодробен васкулит. Активност от страна на бъбрек има при 26 болни, при 18 допълнително и на бял дроб, при осем болни бъбречното ангажиране е изолирано. При 24 от пациентите с бъбречно ангажиране има протеинурия, всички болни са с нарушение на бъбречната функция със задръжка на азотни тела в серума. Средната стойност на креатинина при тези болни е 247.27  $\mu\text{mol/l}$  (SD = 310.3). При 25 болни с бъбречно засягане е проведена ПББ, полулуния се установяват при 21 от тях (80.77%). При 6 от изследваните болни има анамнеза за съдова тромбоза. При 21 от пациентите има предшестващ проведен курс на лечение с ритуксимаб за индукция на ремисия, а при 12 с циклофосфамид. По време на вземането на кръвните проби 18 от пациентите (38.30%) са с позитивни ANCA. При шест от болните по време на изследването се установяват антитела срещу протеиназа-3, при четири срещу миелопероксидаза, останалите са с нормални стойности (всички пациенти по време на изследването получават терапия според препоръките на лекуващия си лекар). В следващите три години на наблюдение (от 2017 г. до 2019 г.) 18 от болните са в трайна ремисия (38.3%), 18 са подобрили (38.3%), но с персистираща активност, четирима са стационарни (8.5%), двама са с рецидив (4.3%), а петима са починали (10.6%). Характеристиката на болните, техните демографски, клинични данни и проведената терапия са представени на табл. 55.

**9.1. Роля на LAMP 2.** Установихме, че при всички изследвани пациенти плазмените нива са под горните референтни стойности (0.312-20 ng/ml). Средната стойност на LAMP-2 при пациентите с AAV е 1.07 (SD  $\pm$  2.45), медиана 0.00-8.60 ng/ml. Не установихме разлика в нивата между болните и здравите контроли. При здравите контроли средната стойност е 0.99 (SD  $\pm$  1.89), медиана 0.00-8.70 ng/ml (табл. 56).

**Таблица 55. Епидемиологични и клинични данни на пациентите с AAV**

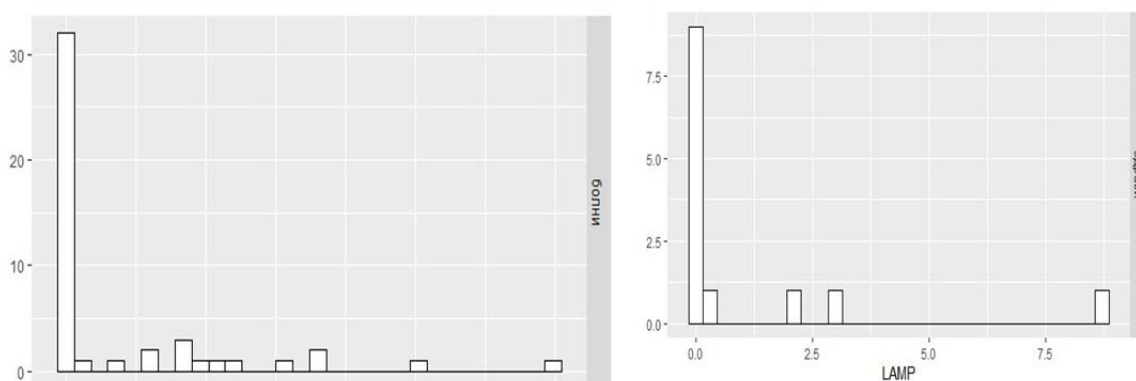
Признаци	N = 47%	Средна стойност ( $\pm$ SD)
М/Ж	21/26 (44.7 %/55.3%)	
BVAS		8.45 ( $\pm$ 4.73)
BVAS < 4	6 (12.8%)	1.17 ( $\pm$ 1.34)
BVAS $\geq$ 4	41 (87.2%)	9.51 ( $\pm$ 4.06)
<b>GPA</b>	31 (66%)	
<b>MPA</b>	16 (34%)	
<b>Форма на болестта</b>		
Локализирана	11 (23.4%)	
Рано системна	9 (19.1%)	
Генерализирана	18 (38.3%)	
Тежка	9 (19.1%)	
<b>Клиника</b>		
ГДП	26 (55.3%)	
Бял дроб	30 (63.8%)	
Бъбрек	26 (55.3%)	
<b>ANCA (ИФ)&gt;1:20</b>	18 (38.3%)	
Anti-PR3	6 (12.8%)	
Anti-MPO	4 (8.5%)	
<b>↑Креатинин</b>	9 (19.1%)	247.2 (310.3)
<b>↑CRP</b>	26 (55.3%)	111.7 (285.0)
<b>Активност</b>	36 (76.6%)	
<b>Лечение</b>		
Rit	21 (44.7%)	
СУС	12 (25.5%)	
Без имunosупресор	14 (29.8 %)	
<b>Изход</b>		
Подобрени	18 (38.3%)	
Ремисия	18 (38.3%)	
Стационаран	4 (8.5%)	
Рецидив	2 (4.3%)	
Exitus	5 (10.6%)	

**Таблица 56. Съпоставка на групата на AAV със здравите контроли относно нивото на LAMP-2**

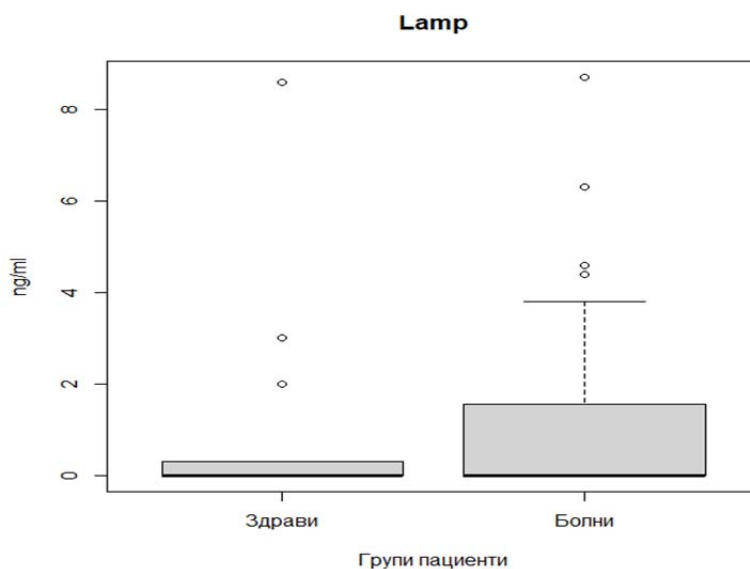
Групи	Средна аритметична	$\pm$ SD	Медиана (диапазон)	95% доверителен интервал	Mann-Whitney (p)*
Здрави контроли	1.07	2.45	0.00 (0.00-8.60)	-0.41-2.55	0.7761
Болни	0.99	1.89	0.00 (0.00-8.70)	0.43-1.54	

*SD – стандартно отклонение; Диапазон минимална-максимална стойност; Доверителният интервал е базиран на t-разпределението на Student Тест за значима разлика между изчислени средни аритметични за двете групи пациенти*

На фигура 15 и 16 е показано разпределението на LAMP-2 в групата болни и тази на здравите контроли. Поради това разделихме групите на такива, при които не се установява LAMP-2 (нива < 0.500 ng/ml), и такива, при които се открива LAMP-2, макар и в референтни граници. Болните, при които се откриват LAMP-2 макар и в референтни стойности, са 14 (29.79%), при здравите контроли са 4 (30.77%). Резултатите от съпоставителния анализ са обобщени на табл. 57.



Фигура 15. Разпределение на LAMP-2 при болните и здравите контроли



Фигура 16. Медиана, средна стойност на LAMP-2

Проследихме нивата на LAMP-2 при отделните диагнози и групата на здравите пациенти (табл. 57). Проведени са съпоставки чрез теста на Mann-Whitney между GPA със здрави контроли; MPA със здрави кон-

троли; GPA с MPA; болни с активност и здрави контроли; болни без активност и здрави контроли; болни с активност и без активност.

**Таблица 57. Резултати от съпоставката на изследваните болни относно нивото на LAMP-2**

Величини	Здрави контроли	GPA	MPA	С активност	Без активност
Средна аритметична	1.07	0.99	0.99	1.12	0.69
Mann-Whitney p*	0.9756 (GPA)	0.4184 (MPA)	0.5305 (здрави)	0.7202 (без активност); 0.6655 (здрави)	0.9678 (здрави)

□ статистически значима разлика при  $p < 0.05$ , значимите резултати са маркирани в червено.

Не се установи разлика в серумната концентрация на LAMP-2 между двете диагнози ( $p = 0.4184$ ). Не се установи значима разлика между болните с GPA и здравите контроли ( $p = 0.9756$ ), както и между болните с MPA и здравите контроли ( $p = 0.5305$ ). При болните, които в момента на изследването са имали активност на заболяването, серумните нива на LAMP-2 са по-високи в сравнение с тези без активност (1.12 ng/ml, и съответно 0.69 ng/ml)  $p = 0.7202$ . Нивата при болните с активност са по-високи в сравнение с всички болни, както и със здравите контроли ( $p = 0.6655$ ), без разликата да е значима.

Анализирахме разликите в основните характеристики на болните, с установими нива на LAMP-2 и такива без LAMP-2 (табл. 58).

В групата на болните с налични нива BVAS е в граници между 0 и 17, средна стойност 9.93 ( $\pm 4.32$ ), повечето от тях са класифицирани с GPA – 57.14%. При анализ на основното органно ангажиране установихме, че бъбречно засягане има при 9 от тях (64.29%), на ГДП при 8 (57.14%) и на бял дроб при 7 (50.00%).

**Таблица 58. Характеристика на болните и процентното разпределение със и без LAMP-2**

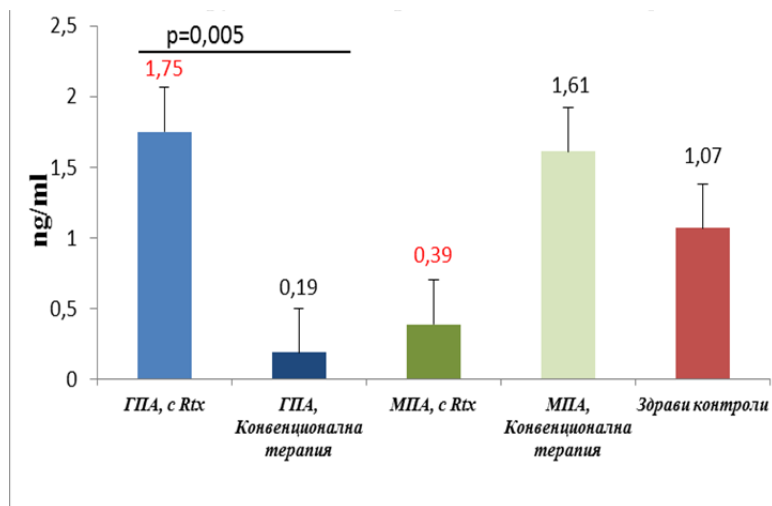
	< 0.5; N = 33/70.21%	≥ 0.5; N = 14/29.79%	p*
М/Ж	13/20 (39.39%/60.61%)	8/6 (57.14%/42.86%)	0.4246
BVAS средна (± SD)	7.82 (±4.88)	9.93 (± 4.32)	0.0971
<b>GPA</b>	24 (72.73%)	8 (57.14%)	0.4801
<b>MPA</b>	9 (27.27%)	6 (42.86%)	0.4801
<b>Клиника</b>			
ГДП	18 (54.55%)	8 (57.14%)	1.0000
Бял дроб	23 (69.70%)	7 (50.00%)	0.3404
Бъбрек	17 (51.52%)	9 (64.29%)	0.6280
<b>ANCA</b>			
Anti-PR3	5 (15.15%)	1 (7.14%)	0.7837
Anti-MPO	3 (9.09%)	1 (7.14%)	1.0000
<b>С активност</b>	24 (72.73%)	12 (85.71%)	0.5585
<b>Лечение</b>			
Rit	16 (48.49%)	5 (35.71%)	0.6280
СУС	7 (21.21%)	5 (35.71%)	0.4984
Без имunosупресор	10 (30.30%)	4 (28.57%)	1.0000
<b>Плазминоген</b>			
Нисък	6 (18.18%)	3 (21.43%)	1.0000
Висок	24 (72.73%)	7 (50.00%)	0.2431

\*Тест на Фишер за разлика между 2 пропорции; BVAS – Mann-Whitney p стойност

С активност на болестта са 12 (85.71%) от позитивните за LAMP-2 срещу 24 (72.73%) за негативните, с позитивни ANCA са само двама пациенти – един с anti-PR3-ANCA и един с anti-MPO-ANCA. LAMP-2 се установява само при 4 от 14 новодиагностицирани болни (28.57%), при тях не е провеждано имunosупресивно лечение, което води до извода, че нивата не се влияят от предишно имunosупресивно лечение.

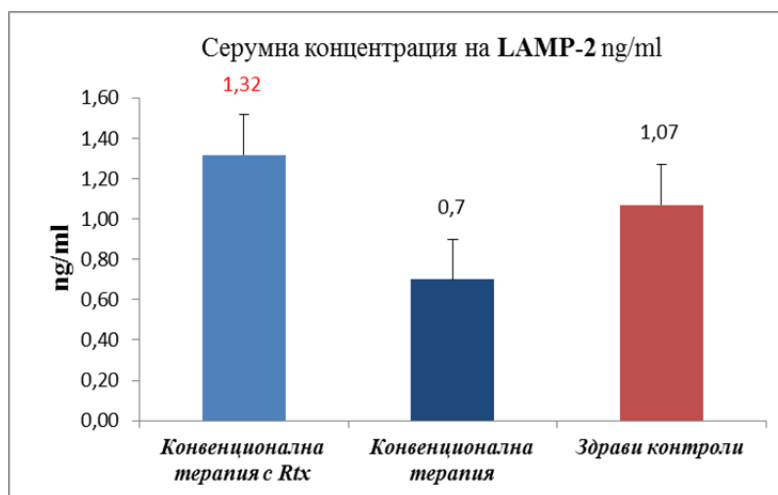
При пет от болните с установими LAMP-2 е проведено лечение с ритуксимаб, при четири с циклофосфамид. Сравнихме нивата на LAMP-2 при пациентите с GPA и MPA според различните терапевтични режими (фиг. 17). Резултатите са противоположни. Установяват се сигнификантно по-високи серумни нива на LAMP-2 при пациентите с GPA, ле-

кувани с ритуксимаб, спрямо тези на конвенционална терапия ( $p = 0.005$ ). В групата на МПА болните, лекувани с ритуксимаб, са с по-ниски серумни нива на LAMP-2, като разликата не е значима.



Фигура 17. Средна серумна концентрация на LAMP-2 при пациенти с ААВ според терапевтичните режими и диагнозата

При лекуваните с ритуксимаб серумните нива на LAMP-2 са по-високи при всички болни, независимо от диагнозата (фиг. 18).



Фигура 18. Серумни нива на LAMP-2 според проведената терапия

От друга страна, при лекуваните с ритуксимаб при по-голям процент болни не се установяват LAMP-2 (48.49% съответно 35.71%), докато при лекуваните с циклофосфамид пропорцията е обратна, при по-голям процент се установяват LAMP-2 (35.71% и съответно 21.21%). Ка-

то по-дългосрочна прогноза в следващите две години на проследяване 46.15% от тези болни са се подобрили и 30.77% са в ремисия, починалите са 15.38%, което илюстрира, че вероятно те нямат лоша прогноза. Не се установява асоциация или положителна корелация между нивата на LAMP-2 и нивата на плазминоген.

При сравнителен анализ на пациентите със и без LAMP-2 не се установява разлика в двете групи по отношение на диагноза, клиника, активност и изход на заболяването. Наблюдава се малко по-висока честота при болните с бъбречно ангажиране (69.23% срещу 50%), като резултатите са много близки. Средните стойности на LAMP-2 са 1.00 ng/ml при пациентите с гломерулонефрит и 0.98 ng/ml без гломерулонефрит.

**9.2. Нива на плазминоген.** Средното ниво на плазминоген при пациентите с AAV е 420.12  $\mu\text{g/ml}$ , (SD = 291.5) а при здравите контроли 237.08  $\mu\text{g/ml}$  (SD = 131.6) ( $p = 0.011$ ), табл. 59, фиг. 19.

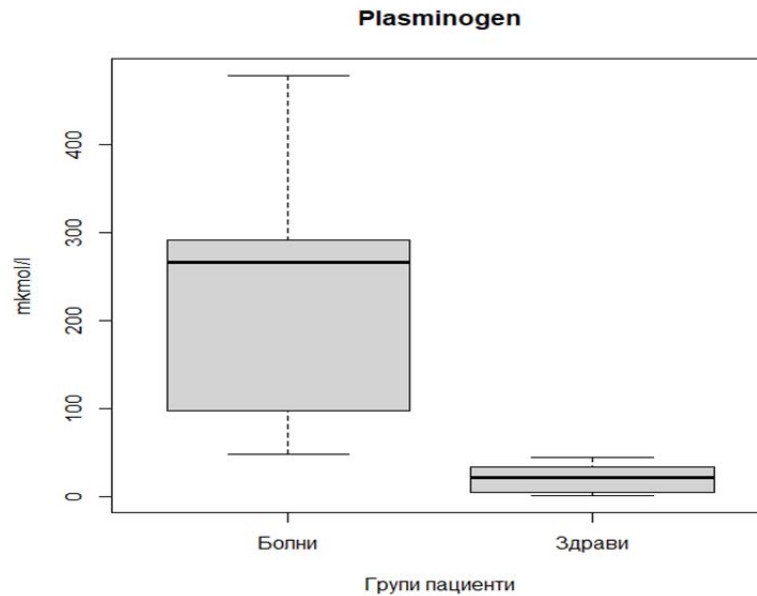
**Таблица 59. Съпоставка на групата на AAV със здравите контроли относно нивото на плазминоген**

Групи	Средна стойност	$\pm$ SD	Медиана (диапазон)	95% доверителен интервал	p
Здрави контроли	237.08	131.6	266.0 (48.0-478.0)	154.3-319.9	0.011
Болни	420.12	291.5	442 (32.0-890.0)	334.5-505.7	

*SD – стандартно отклонение; Диапазон – минимална-максимална стойност; SD – стандартно отклонение; Диапазон – минимална-максимална стойност.*

Счита се, че нормалните серумни нива на плазминоген при здравите са между 60 и 215  $\mu\text{g/ml}$ . С ниски стойности на плазминоген са 8 болни (17.02%) и само 1 (4.76%) от здравите контроли ( $p = 0.0354$ ). Съпоставихме нивото на плазминоген при всички пациенти с AAV с това при здравите контроли чрез теста на Mann-Whitney за разлика между наблюдаваните средни нива. Резултатите показаха значимо по-висока концентрация на плазминоген при групата на болните (442  $\mu\text{g/ml}$  медиана, диа-

пазон 32.0-890.0) в сравнение със здравите контроли (266.0  $\mu\text{g/ml}$  медiana, диапазон 48.0-478.0),  $p = 0.011$ .



Фигура 19. Бокс-плот, показващ разпределение, медиана, средна стойност на плазминоген между болни и здрави контроли

Проследихме нивата на плазминоген при отделните диагнози и групата на здравите пациенти (табл. 60).

Проведени са съпоставки чрез непараметричния тест на Mann-Whitney между: GPA и здрави контроли; MPA и здрави контроли; GPA и MPA; болни с активност и здрави контроли; болни без активност и здрави контроли; болни с активност и без активност. Не установихме разлика в серумната концентрация на плазминоген между двете диагнози ( $p = 0.326$ ). Установихме значима разлика между болните с GPA и здравите контроли ( $p = 0.007$ ), без да има такава между болните с MPA и здравите контроли. Правят впечатление високите средни серумни концентрации на плазминоген при болни, които в момента на изследването са без активност на заболяването (614.67  $\mu\text{g/ml}$ ). Нивата при болните без активност са достоверно по-високи в сравнение с болните с активност ( $p = 0.042$ ), както и със здравите контроли ( $p = 0.0390$ ).

**Таблица 60. Резултати от съпоставката на изследваните болни относно нивото на плазминоген**

Величини	Здрави контроли	GPA	MPA	С активност	Без активност
Плазминоген – средна стойност	237.08	452.84	356.75	376.33	614.67
p Mann-Whitney *		0.007 (ЗК) 0.326 (MPA)	0.089 (ЗК)	0.039 (ЗК) 0.042 (БА)	0.001 (ЗК)

*SD – стандартно отклонение; Диапазон – минимална-максимална стойност*

□ Базата за сравнение е специфицирана след p стойността, в скоби

Разделихме пациентите на три групи – с високи, с ниски и с нормални нива на плазминоген. Характеристиката на болните с различни серумни нива на плазминоген и разпределението им според серумните нива на плазминоген е представено на таблица 61.

**9.2.1. Анализ на пациентите по групи.** С ниски нива на плазминоген са осем болни (17%). Всички болни от групата с ниски нива на плазминоген по време на изследването са били с активност на заболяването. Средната стойност на BVAS в тази група е 10.5, SD = 3.55. Всички пациенти са имали активност от страна на бъбрека по времето на вземането на пробите и всички (100%) са били с нарушена бъбречна функция, средната стойност на креатинин при тях е 495  $\mu\text{mol/l}$ . Протеинурия се установява при 62.5%. При 6 от пациентите с ниски нива на плазминоген е проведена ПББ. В 6 от пробите (100%) се установяват полулуния, в 4 има гломерули с некроза, при 3 гломерулите са с изразена склероза.

Четирима от пациентите (50%) освен бъбречна са имали и белодробна активност. Двама от болните са с белодробни нодули, един е с белодробен васкулит. При нито един от болните с ниски серумни нива не са наблюдавани епизоди на съдови тромбози. Горните дихателни пътища са засегнати при двама от пациентите, двама са с кожни некротични лезии.

**Таблица 61. Характеристика на пациентите с AAV според стойностите на плазминоген**

Признаци	↑ N=32/ 68.1%	p пови- шен (спрямо норма)	↓ N=8/ 17.0%	p пони- жен (спрямо норма)	↑↓ N=7/ 14.9%
М/Ж	13/19 (40.6%/59.4%)	0.6831*	2/6 (25.0%/75.0%)	0.0668*	6/1 (85.7%/14.3%)
BVAS (средна)	7.66 (5.08)	0.5460**	10.5 (3.55)	0.9660**	9.71 (4.03)
BVAS < 4	6 (18.8%)	0.4384	0 (0.0%)	1.0000	0 (0.0%)
BVAS ≥ 4	26 (81.3%)	1.000	8 (100.0%)	1.0000	7 (100.0%)
GRA	23 (71.9%)	0.9313	4 (50.0%)	0.7513	5 (71.4%)
MRA	9 (28.1%)	1.0000	4 (50.0%)	0.7513	2 (28.6%)
<b>Форма на бо- лестта</b>					
Локализирана	10 (31.3%)	0.5355	0 (0.0%)	0.9449	1 (14.3%)
Рано системна	7 (21.9%)	0.3491	2 (25.0%)	0.5094	0 (0.0%)
Генерализирана	11 (34.4%)	0.6831	3 (37.5%)	0.8087	4 (57.1%)
Тежка	4 (12.5%)	0.7398	3 (37.5%)	1.0000	2 (28.6%)
<b>Клиника</b>					
ГДП	19 (59.4%)	1.0000	2 (25.0%)	0.2007	5 (71.4%)
Бял дроб	20 (62.5%)	0.8037	4 (50.0%)	0.3602	6 (85.7%)
Бъбрек	13 (40.6%)	0.4745	8 (100.0%)	0.3883	5 (71.4%)
↑Креатинин	4 (12.5%)	0.7398	3 (37.5%)	1.0000	2 (28.6%)
↑CRP	16 (50.0%)	0.3821	4 (50.0%)	0.3602	6 (85.7%)
ANCA (IIF) > 1:20	13 (40.6%)	0.6831	3(37.5%)	1.0000	2 (28.6%)
Anti-PR3 над 5	3 (9.4%)	1.0000	1 (12.5%)	1.0000	1 (14.3%)
Anti-MPO над 5	2 (6.3%)	1.0000	1 (12.5%)	1.0000	0 (0.0%)
<b>Активност</b>	22 (68.75%)	1.0000	8 (100.0%)	0.9449	6 (85.7%)
<b>Лечение</b>					
Rit	16 (50.0%)	0.3821	3 (37.5%)	1.0000	2 (28.6%)
СУС	8 (25.0%)	0.7906	1 (12.5%)	0.4586	3 (42.9%)
Без имunosупре- сор	8 (25.0%)	1.0000	5 (62.5%)	0.4264	2 (28.6%)
<b>Изход</b>					
Подобрили	12 (37.5%)	0.8037	4 (50.0%)	0.7513	2 (28.6%)
Ремисия	13 (40.6%)	1.0000	2 (25.0%)	0.8548	3 (42.9%)
Стационаран	2 (6.3%)	1.0000	2 (25.0%)	0.5094	0 (0.0%)
Рецидив	1 (3.1%)	0.8561	0 (0.0%)	0.9449	1 (14.3%)
Exitus	4 (12.5%)	1.0000	0 (0.0%)	0.9449	1 (14.3%)

*p* стойности – точен тест на Фишер за разлика между два наблюдавани относителни дялове (изключенията са специфицирани). \*тествани дялове за групата на жените. \*\* Kolmogorov-Smirnov тест за разлика между наблюдавани средни нива.

При един от болните с нисък плазминоген се установяват антитела срещу протеиназа-3, а при един – срещу миелопероксидаза. Ниски нива на плазминоген са установени при пет новодиагностицирани болни, при които не е провеждано имunosупресивно лечение, при двама лекувани с ритуксимаб и само при един с циклофосфамид. При последващото проследяване 50% от пациентите с ниски серумни нива на плазминоген са подобрени (намаление в BVAS  $\geq$  50% и са без нови клинични манифестации), 25% са стационарни (без промяна в BVAS) и 25% влизат в ремисия (BVAS = 0), няма починали и такива с рецидив на заболяването. Тридесет и двама от изследваните пациенти са с високи стойности на плазминоген (68.06%). В тази група преобладават пациентите с грануломатоза с полиангиит (71.9%). С активност на заболяването са били 81.3% от тях. Средната стойност на BVAS в тази група е 7.66, SD = 5.08. Най-често е наблюдавана активност от страна на белите дробове – при 20 от болните (62.5%), следвани от ГДП – при 19 (59.4%). Бъбрекът е засегнат при 13 (40.6%). От болните с бъбречно ангажиране пет (38.4%) са имали повишени стойности на креатинин. Средната стойност на креатинина при тази група е 263  $\mu$ mol/l. Единадесет болни (84.61%) имат протеинурия. При шест болни е проведена бъбречна биопсия. Полулуния са наблюдавани при 100% от биопсиите, некроза на гломерулите също при 100%, със склероза са 4 от биопсиите (66.67%). Девет от болните (69.23%) са имали активност едновременно от страна на бял дроб и бъбреци, двама от тях са с белези на грануломатозно възпаление (нодули) и двама са имали белодробен васкулит (пулмонит). С кожно засягане са 4 болни (30.7%). ANCA позитивни са 40.6%. При 9.38% се откриват anti-PR3 ANCA, при 6.25% anti-MPO ANCA. Голяма част от пациентите са лекувани с ритуксимаб (50%), 25% с циклофосфамид, 25% не са приемали имunosупресивно лечение. В тази група болни по-голямата част (40.6%) са постигнали ремисия, подобрени са 37.5%, починали са 12.5%, един болен е с рецидив на болестта.

Не установихме съществена разлика в изследваните показатели при болните с повишени спрямо нормални нива и между понижените спрямо нормалните нива. Затова обединихме болните с нормални и повишени нива в една група и ги сравнихме с тези с ниски нива. Резултатите са показани на табл. 62.

Изследваните болни с нормални или повишени плазмени нива на плазминоген са 83%, с понижени 17%. Изследвахме връзката между ниските нива на плазминоген и следните величини: BVAS < 4; BVAS  $\geq$  4; anti-PR3; anti-MPO; бял дроб и ГДП, бъбрек, ритуксимаб, циклофосфамид, без имunosупресор. Резултатите са обобщени на табл. 62.

При така проведеня анализ единствената значима разлика, която се установи е при пациентите с бъбречно ангажиране, където с ниски нива на плазминоген са 100% от пациентите в сравнение с обединената група, където са 46.2% ( $p = 0.0164$ ), което потвърждава данните от предишния анализ (табл. 61).

**9.2.1. Нива на плазминоген в зависимост от диагнозата.** При GPA болните с нормални или високи нива на плазминоген са 71.8%, а при МПА преобладават болните с ниски нива на плазминоген (50%). Сравнявайки пациентите с двете диагнози помежду им, установихме, че тези с нормални или високи нива на плазминоген са значимо повече при GPA (71.8%) в сравнение с МПА (28.2%),  $p = 0.003$ . Пациентите с GPA и нарушена бъбречна функция имат сигнификантно по-ниски нива на плазминоген в сравнение с останалите пациенти с GPA-83 (4.6-870), съответно срещу 536 (387-890)  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p = 0.035$ .

**9.2.2. Нива на плазминоген в зависимост от активността на болестта и от нейната форма.** От пациентите с ниски серумни нива на плазминоген 100% са с висока болестна активност, а тези от обединената в 87.2% са с висока активност. Средната стойност на BVAS е по-висока при пациентите с ниски нива (10.5, SD = 3.55), съответно 8.03, SD = 4.92 при тези с нормални и повишени ( $p = 0.2040$ ).

**Таблица 62. Разлики между пациентите с нормални и повишени нива, сравнени с тези с понижени нива**

Признаци	Нормален и повишен↑ N = 39/83.0%	↓ N = 8/17.0%	p
М/Ж	19/20 (48.7%/51.3%)	2/6 (25.0%/75.0%)	0.4016*
BVAS (средна)	8.03 (4.92)	10.5(3.55)	0.2040**
BVAS < 4	6 (15.4%)	0 (0.0%)	0.5443
BVAS ≥ 4	34 (87.2%)	8 (100.0%)	0.6585
<b>GPA</b>	28 (71.8%)	4 (50.0%)	0.4305
<b>MRA</b>	11 (28.2%)	4 (50.0%)	0.4305
<b>Форма на болестта</b>			
Локализирана	11 (28.2 %)	0 (0.0%)	0.2084
Рано системна	7 (17.9%)	2 (25.0%)	1.0000
Генерализирана	15 (38.5%)	3 (37.5%)	1.0000
Тежка	6 (15.4%)	3 (37.5%)	0.3396
<b>Клиника</b>			
ГДП	24 (61.5%)	2 (25.0%)	0.1328
Бял дроб	26 (66.7%)	4 (50.0%)	0.6242
Бъбрек	18 (46.2%)	8 (100.0%)	<b>0.0164</b>
↑Креатинин	6 (15.4%)	3 (37.5%)	0.3396
↑CRP	22 (56.4%)	4 (50.0%)	1.0000
ANCA (IIF) > 1:20	15 (38.5%)	3(37.5%)	1.0000
Anti-PR3 над 5	4 (10.3%)	1 (12.5%)	1.0000
Anti-MPO над 5	2 (5.1%)	1 (12.5%)	1.0000
<b>Активност</b>	28 (71.8%)	8 (100.0%)	0.2084
<b>Лечение</b>			
Rit	18 (46.2%)	3 (37.5%)	0.9536
СУС	11 (28.2%)	1 (12.5%)	0.6291
Без имуносупресор	10 (25.6%)	5 (62.5%)	0.1050
<b>Изход</b>			
Подобрени	14 (35.9%)	4 (50.0%)	0.7277
Ремисия	16 (41.0%)	2 (25.0%)	0.6526
Стационаран	2 (5.1%)	2 (25.0%)	0.2545
Рецидив	1 (5.1%)	0 (0.0%)	1.0000
Exitus	5 (12.8%)	0 (0.0%)	0.6585

*p* – стойности – точен тест на Фишер за разлика между два наблюдавани относителни дяла (изключенията са специфицирани).

\*тествани дялове за групата на жените

\*\* Kolmogorov-Smirnov тест за разлика между наблюдавани средни нива.

При пациентите с нормални серумни нива на плазминоген преобладава генерализираната форма, най-малко са болните с тежка фор-

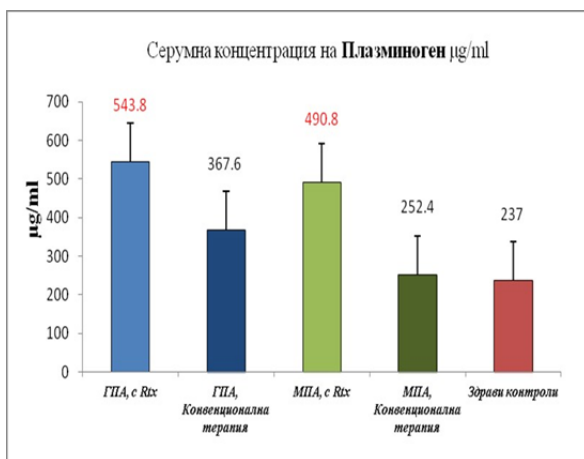
ма (15.4%), а при тези с понижени нива преобладава тежката и генерализираната и няма болни с локализирана форма. Ремисия е постигната при 41% от пациентите в първата група и при 25% във втората група, рецидивите са повече в обединената група, същото се наблюдава и за починалите болни.

**9.2.3. Нива на плазминоген в зависимост от имунния статус и лабораторните показатели.** Нивата на ANCA, anti-PR3, anti-MPO и стойностите на креатинин и С-реактивен протеин са измерени по време на събиране на пробите за плазминоген. Не се установява разлика в процента на позитивните ANCA в двете групи. Наблюдава се незначима разлика при специфичните антитела. Те се срещат по-често в групата с високи нива на плазминоген, като разликата не е значима,  $p = 1.0000$  за anti-PR3 и за anti-MPO. Болните с повишени стойности на креатинин са процентно повече в групата с ниски нива на плазминоген (35.5% срещу 15.4%), няма разлика в процента на болните с повишен CRP в двете групи.

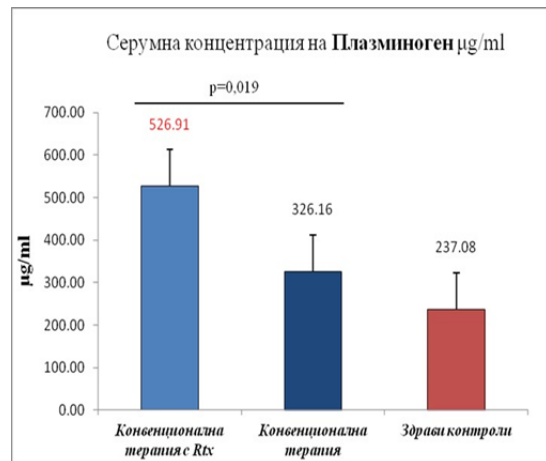
**9.2.4. Нива на плазминоген в зависимост от проведеното лечение.** Преобладаващата част от пациентите, които не са получили имunosупресивно лечение, са с ниски стойности на плазминоген, като разликата не е статистически значима ( $p = 0.1050$ ). Лекуваните с ритуксимаб или циклофосфамид са с преобладаващо високи нива на плазминоген ( $p = 0.9536$  и съответно  $p = 0.6291$ ). Установи се значима разлика в нивата при двата терапевтични режима. Средната стойност на серумните нива на плазминоген при лекуваните с ритуксимаб е 526  $\mu\text{g/ml}$ , а на тези с конвенционална терапия 326.16  $\mu\text{g/ml}$  ( $p = 0.019$ ), (фиг. 20). Тази тенденция се запазва и при отделните диагнози, където серумната концентрация на плазминоген при ГПА и лечение с ритуксимаб е 543.8  $\mu\text{g/ml}$ , без ритуксимаб 367.6  $\mu\text{g/ml}$ , при МПА с ритуксимаб 490.8  $\mu\text{g/ml}$ , без ритуксимаб 252.4  $\mu\text{g/ml}$  (фиг. 21). Достоверната

разлика между двата терапевтични режима е свързана с негативиране на ANCA. При ANCA негативните пациенти след лечение с ритуксимаб серумните нива на плазминоген са достоверно по-високи (522.47  $\mu\text{g/ml}$ ), докато при конвенционалната терапия са 269.5  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p = 0.016$ . Това е свързано вероятно с факта, че при лекуваните с ритуксимаб ANCA негативните пациенти са над 2 пъти повече от ANCA позитивните (52% срещу 22.7%) (фиг. 22).

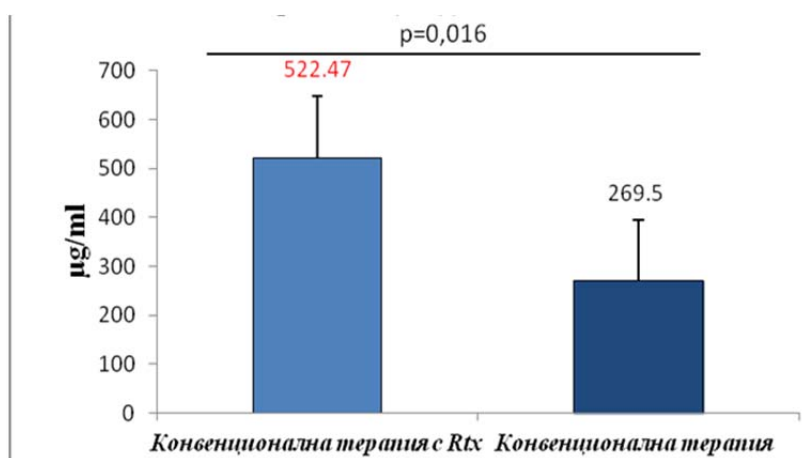
Серумното ниво на плазминоген при пациентите с бъбречно участие, които са провели курс с ритуксимаб е 381.69  $\mu\text{g/ml}$ , и съответно 252.3  $\mu\text{g/ml}$  с циклофосфамид.



Фигура 20. Серумна концентрация при GPA и MPA в зависимост от проведената терапия



Фигура 21. Серумна концентрация на плазминоген при различните терапевтични режими



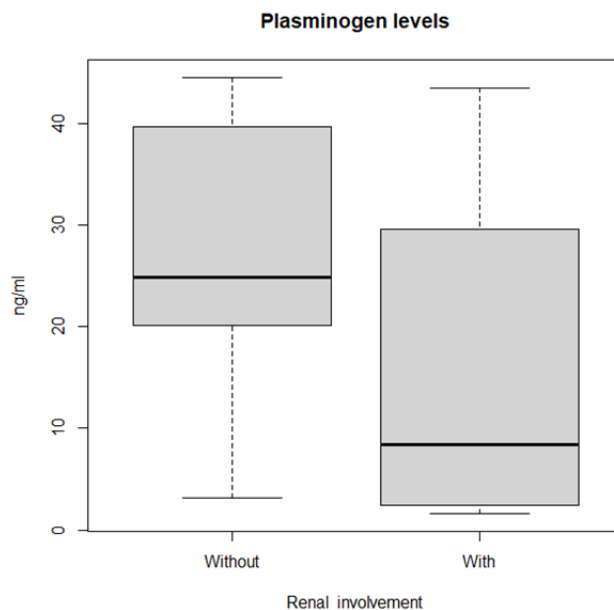
Фигура 22. Серумна концентрация на плазминоген в зависимост от проведената терапия при ANCA(-) пациенти

В продължение на горния анализ проведохме допълнителен анализ, за да установим прогностичната роля на плазминогена относно влиянието върху величините, които показаха значима линейна връзка с плазминоген. Приложена е логистична регресия, за да се изследва силата на плазминогена като предиктор за засягане на ГДП, бъбрек и влияние на проведеното лечение, както и върху изхода от заболяването. За различните терапевтични режими са проведени три бинарни логистични модела, като във всеки от тях са използвани два резултата. Данните са обобщени в табл. 63. Показани са променливата, кодировката и съответните оценени резултати (odds ratio/шансове за проява, както и съответните им доверителни интервали). Не се установи значима корелация между нивата на плазминоген и различните терапевтични режими, както и със засягането на бял дроб и ГДП. Единственият значим резултат, който се установи, е за прогностичната роля за бъбречно засягане,  $p = 0.010$ . С увеличаване нивото на плазминоген в серума с една единица шансовете за непоява на бъбречно ангажиране се увеличават 1.003 пъти, имаме отрицателна обратна връзка и високите нива на плазминоген се свързват достоверно с отсъствието на бъбречно засягане. Не установихме корелация между нивата на плазминоген и изхода на заболяването.

**Таблица 63. Логистична регресия – обобщение**

Променлива	Кодировка	Плазминоген odds ratio (95% CI)	p
Бъбрек	1 – да; 2 – не	1.003 (1.001-1.005)	0.010
ГДП	1 – да; 2 – не	1.000 (0.998-1.002)	0.962
Лечение	1 – CYS; 2 – Rtx	1.000 (0.998-1.003)	0.764
Лечение	1 – CYS; 2 – without	0.999 (0.997-1.002)	0.646
Лечение	2 – Rtx; 3 – without	0.999 (0.997-1.001)	0.398
Изход	1 – exitus; 2 – рецидив	0.999 (0.994-1.004)	0.714
Изход	1 – exitus; 3 – други	1.000 (0.999-1.001)	0.945
Изход	2 – рецидив; 3 – други	1.000 (0.999-1.0010)	0.936

За да потвърдим горните данни, направихме анализ само на болните с GPA с бъбречно засягане (групата на болните с GPA е преобладаващата). Пациентите с GPA и нарушена бъбречна функция имат сигнификантно по-ниски нива на плазминоген в сравнение с останалите пациенти с GPA-83  $\mu\text{g/ml}$  (4.6-870), съответно срещу 536  $\mu\text{g/ml}$  (387-890),  $p = 0.035$ . За да установим предиктивната роля на нивата на плазминоген за бъбречно ангажиране, изчислихме receiver operating characteristic (ROC). Установи се негативна корелация между бъбречното ангажиране и серумните нива на плазминоген, ROC AUC 0.78 (95% CI 0.53-0.91),  $p = 0.035$ , протеинурията при GPA и серумната концентрация на плазминоген, Spearman's  $Rho = -0.4$ ,  $p = 0.015$ , което идентифицира серумния плазминоген като потенциален прогностичен маркер за бъбречно засягане.



Фигура 23. Boxplot на нивата на плазминоген при пациенти с GPA със и без бъбречно засягане \* $p = 0.035$

**9.3. TNF $\alpha$  и ANCA васкулити.** Поради важността на TNF $\alpha$  измерихме серумните му нива и потърсихме корелация с клиничната картина и болестната активност при пациенти с AAV. Потърсихме и асоциация със серумните нива на плазминоген, тъй като антителата срещу плазминоген активно участват в процесите на ендотелна дисфункция и възпаление.

Референтните стойности за TNF $\alpha$  са в диапазона 15,25-1000 pg/ml. Според нашето изследване здравите контроли са с ниски или неустано-

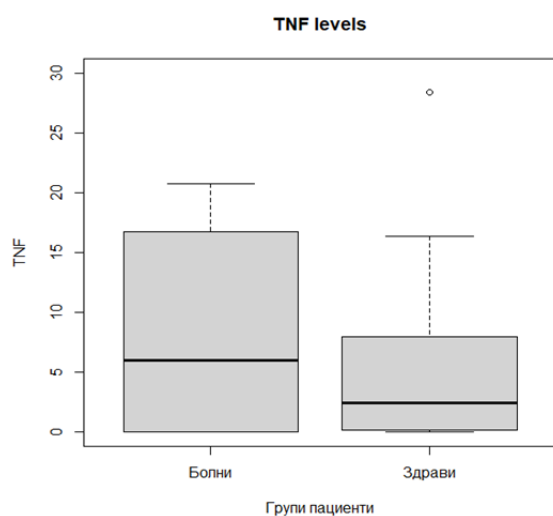
вимии плазмени нива. Средната стойност при тях е 63.7 pg/ml., а при болните с AAV 84.2 pg/ml ( $p = 0.367$ ). По-високи плазмени нива от здравите контроли се наблюдават при 5 пациенти, като стойностите при тях също са в референтните граници (табл. 64).

**Таблица 64. Съпоставка на групата на AAV със здравите контроли относно нивото на TNF $\alpha$**

Групи	Медиана	Ср. аритм.	$\pm$ SD	95% CI – ДГ	95% CI – ГГ	p
Здрави контроли	6.0	63.7	130.9	2.1	63.6	0.367
Болни	2.4	84.2	256.2	4.3	80.9	

*SD – стандартно отклонение; Доверителният интервал е базиран на t-разпределението на Student*

На фигура 24 е показано разпределението при групата болни и тази на здравите контроли.



*Фигура 24. (a) Boxplot на нивата на TNF при пациенти с AAV и здрави контроли;  $p = 0.367$*

Проследихме нивата на TNF $\alpha$  при отделните диагнози и групата на здравите пациенти (табл. 65). Проведени са съпоставки чрез теста на Mann-Whitney между GPA със здрави контроли; MPA със здрави контроли; GPA с MPA; болни с активност и здрави контроли; болни без активност и здрави контроли; болни с активност и без активност.

**Таблица 65. Резултати от съпоставката на изследваните болни относно нивото на TNF $\alpha$**

Величини	Здрави контроли	GPA	MPA	С активност	Без активност
Средна аритметична	63.7	120.90	5.88	109.33	1.42
Mann-Whitney P*	0.441 (GPA)	0.663 (MPA)	0.4199 (Здрави)	<b>0.0185</b> (без активност); 0.7985 (здрави)	<b>0.0402</b> (здрави)

□ статистически значима разлика при  $p < 0.05$ , значимите резултати са маркирани в червено.

Не установихме разлика в серумната концентрация на TNF $\alpha$  между болните и здравите контроли ( $p = 0.367$ ), също и между двете диагнози ( $p = 0.663$ ). Освен това няма разлика между болните с GPA и здравите контроли ( $p = 0.441$ ), между болните с MPA и здравите контроли ( $p = 0.419$ ). Това, което прави впечатление, са по-високите средни серумни концентрации на TNF $\alpha$  при болни, които в момента на изследването са с активност на заболяването. Нивата при болните с активност са достоверно по-високи в сравнение с болните без активност, средна стойност 109.33 pg/ml (минимална-максимална 0-990.7 pg/ml) при активност, SD = 288.09, 95% CI 5.28 и съответно без активност средната стойност е 1.42 pg/ml (минимална-максимална 0-7.95 pg/ml), SD = 288.09, 95% CI-0.2, ( $p = 0.00185$ ). Болните без активност имат значимо по-ниски нива и от здравите контроли ( $p = 0.0402$ ).

**Таблица 66. Съпоставка на болните с активност и без активност относно нивото на TNF-alpha**

TNF	Mean	Median	SD	Min	Max	95% CI LL	95% CI UL	p*
Без активност	1.42	0.25	2.52	0	7.95	-0.27	1.69	<b>0.01815</b>
С активност	109.33	3.83	288.09	0	990.7	5.28	105.04	

SD – стандартно отклонение; Диапазон-минимална-максимална стойност; Доверителният интервал е базиран на t-разпределението на Student. □ Тест за значима разлика между изчислени средни аритметични за двете групи пациенти.

Сравнихме серумните нива на TNF $\alpha$  при болните, които в момента на изследването имат белодробни нодули, и ги сравнихме с останалите. Наблюдавахме по-високи нива на този цитокин при пациентите с белодробни нодули, разликата не е значима ( $p = 0.8556$ ).

**Таблица 67. Съпоставка на болните с белодробни нодули и без нодули относно нивото на TNF $\alpha$**

TNF $\alpha$	Mean	Median	SD	Min	Max	95% CI LL	95% CI UL	p*
Без нодули	67.95	2.93	246.46	0	990.7	-9.41	53.4	0.8556
С нодули	163.63	1.15	351.5	0	979.2	2.75	92.3	0.8556

*SD – стандартно отклонение; Диапазон-минимална-максимална стойност; Доверителният интервал е базиран на t-разпределението на Student*

*□ Тест за значима разлика между изчислени средни аритметични за двете групи пациенти.*

Анализирахме отделно болните с GPA, тъй като само при тях има грануломатозно възпаление. Пациентите с активност и висок BVAS показват значимо по-високи нива на TNF $\alpha$  – 3.2 pg/ml (0-990) срещу 0.1 pg/ml (0-3.35) без активност ( $p = 0.01815$ ). Същите корелации има и между високи и нормални стойности на CRP – 16.7 pg/ml (0-132) срещу 0.5 pg/ml (0-2),  $p = 0.001$ . Установихме сигнификантно по-високи нива на TNF $\alpha$  при болните с белодробно ангажиране в сравнение с останалите болни, ROC area under curve (AUC) бе 0.8 (95% CI 0.66-0.94),  $p = 0.005$ , което го прави потенциален маркер за белодробно ангажиране при болни с GPA.

Разделихме пациентите на две групи – болни с по-високи нива от тези на здравите и такива с по-ниски нива на TNF $\alpha$  (63.7 pg/ml). Характеристиката на болните с различни серумни нива на TNF $\alpha$  и разпределението им според серумните нива на плазминоген е представено на табл. 68.

С по-високи нива от здравите са само пет от пациентите (10.6%). Средният BVAS в тази група е 9.6, SD = 3.05, а при тези без повишени нива BVAS е 8.3, SD = 3.55. Всичките пет пациенти с по-високи нива са с активност на васкулита по време на изследването.

**Таблица 68. Характеристика на пациентите с AAV според стойностите на TNF $\alpha$**

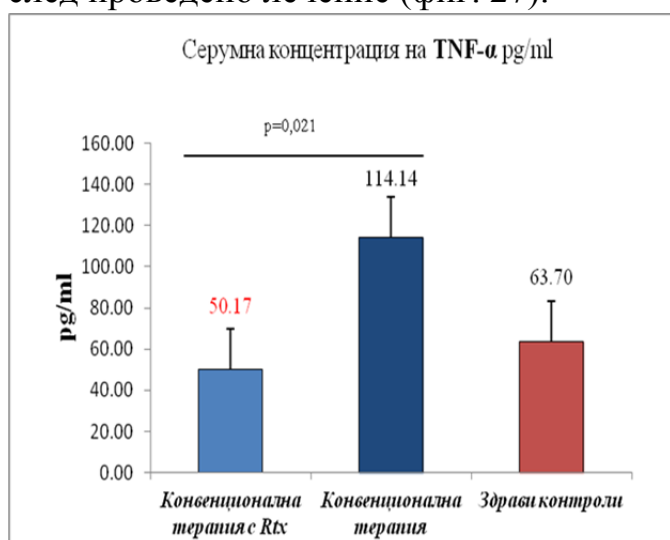
	> 63.7 = 5/10.6%	< 63.7 = 42/89.4%	p
М/Ж	0/5 (0/100%)	21/21 (50/50%)	0.0989
BVAS	9.60 (3.05)	8.31 (4.95)	0.4354
BVAS < 4	0 (0%)	6 (14.3%)	0.8446
BVAS $\geq$ 4	5 (100%)	36 (85.7%)	0.8446
<b>GPA</b>	5 (100%)	27 (64.3%)	0.2661
<b>MRA</b>	0 (0%)	15 (35.7%)	0.2661
<b>Клиника</b>			
ГДП	5 (100 %)	22 (52.4 %)	0.9599
Бял дроб	5 (100 %)	25 (59.5 %)	0.7216
Бъбрек	2 (40 %)	24 (57.1 %)	0.8002
<b>ANCA</b>			
Anti-PR3	1 (20 %)	5 (11.9 %)	1.0000
Anti-MPO	0 (0 %)	4 (9.5 %)	1.0000
<b>Активност</b>	5 (100 %)	31 (73.8 %)	0.4539
<b>Лечение</b>			
Rit	2 (40 %)	19 (42.2 %)	1.0000
СУС	1 (20 %)	11 (26.2 %)	1.0000
Без ИС	2 (40 %)	12 (28.6 %)	0.9912
<b>Изход</b>			
Подобрени	0 (0 %)	18 (42.9 %)	0.1685
Ремисия	2 (40 %)	16 (38.1 %)	1.0000
Стационаран	1 (20 %)	3 (7.1 %)	0.8995
Рецидив	0 (0 %)	2 (4.8 %)	1.0000
Exitus	2 (40 %)	3 (7.1 %)	0.1374
<b>Плазминоген</b>			
Нисък	5 (100 %)	6 (14.3 %)	<b>0.0002</b>
Висок	0 (0 %)	29 (69.0 %)	<b>0.0119</b>

Антитела срещу специфични ANCA се откриват само при един пациент (срещу протеиназа-3). С бъбречно засягане са двама от тях, всички имат засягане на ГДП и бял дроб. При двама от пациентите не е провеждано имunosупресивно лечение, двама са лекувани с ритуксимаб и един с циклофосфамид. Двама от болните са починали, двама са в ремисия и един е стационаран. По-голямата част от пациентите (89.4%) са с по-ниски плазмени нива на TNF $\alpha$  от здравите контроли. В тази група е проведен предварителен курс на лечение с ритуксимаб при 42.2%, с циклофосфамид 26.2%, без терапия с имunosупресор са 28.6%. В групата с ниски нива

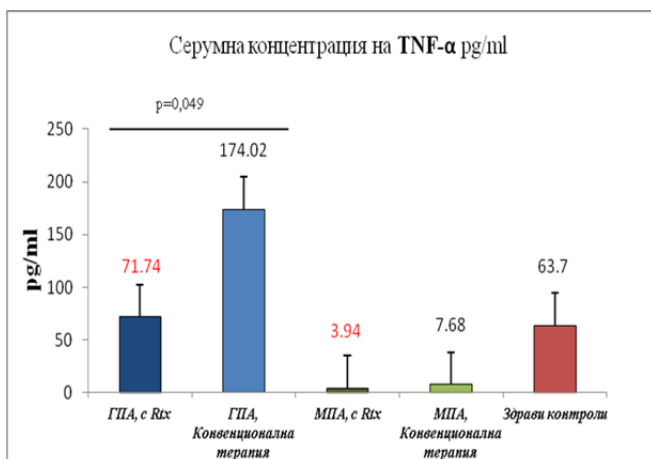
прогнозата на заболяването е по-добра, тук процентът на пациентите, които се подобряват (42.9%) или са в ремисия (38.1%), е по-голям в сравнение с починалите (7.1%) и тези с рецидив на васкулита (4.8%), докато в първата група пациентите с ремисия и починалите са еднакъв брой (40%). Нивата на TNF $\alpha$  са по-ниски при пациентите, които са в ремисия (50.5 pg/ml, SD = 162.4) в сравнение с тези, които са стационарни или впоследствие са починали (252.7 pg/ml, SD = 426.1).

Установихме корелация между плазмените нива на TNF $\alpha$  и плазминогена. Всички пациенти с ниски серумни нива на плазминоген имат по-високи плазмени нива на TNF $\alpha$  ( $p = 0.0002$ ). От пациентите с високи нива на плазминоген при 69% се установяват ниски нива на TNF $\alpha$  ( $p = 0.0119$ ).

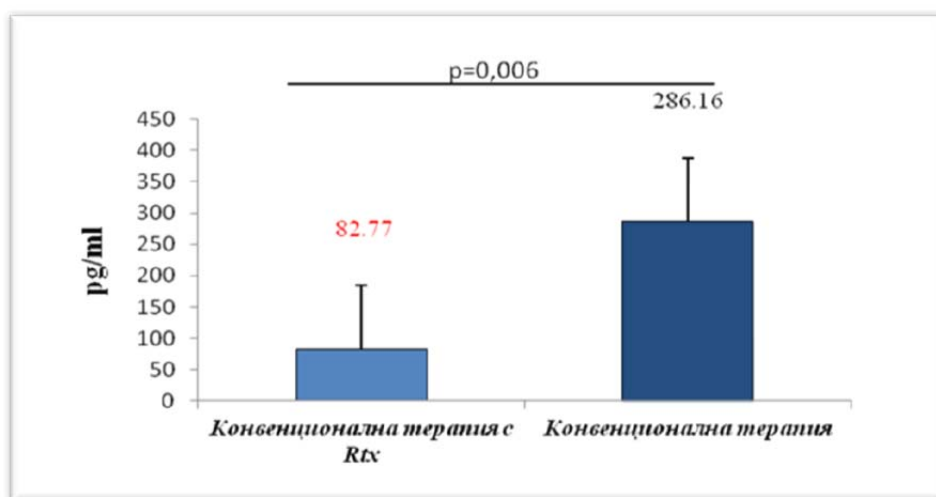
Серумната концентрация на TNF $\alpha$  при болните, лекувани с конвенционална терапия, е 114.14 pg/ml, при лекуваните с ритуксимаб 50.17 pg/ml, ( $p = 0.021$ ) (фиг. 25). Нивата са сигнификантно по-ниски при лекуваните с ритуксимаб. Същите данни се установяват и за пациентите с ГПА, лекувани с конвенционална терапия – 71.74 pg/ml, с ритуксимаб 174.02 pg/ml ( $p = 0.049$ ) (фиг. 26). За пациентите с МРА не се установява разлика в нивата между двата терапевтични режима. Тези данни се потвърдиха и от анализа на болните с ГПА, които са негативирали ANCA след проведено лечение (фиг. 27).



Фигура 25. Серумна концентрация на TNF- $\alpha$  според вида на проведеното лечение



Фигура 26. Серумна концентрация на TNF-α според диагнозата и проведеното лечение



Фигура 27. Серумна концентрация на TNF-α според вида на проведеното лечение при ANCA негативните пациенти

**9.4. Роля на indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) във възпалителния отговор при AAV.** Ензимът indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) се експресира от антиген-представящите клетки (APCs), епителните клетки, съдовия ендотел и туморните клетки.

За да установим дали IDO корелира с активността на AAV и с други проинфламаторни цитокини (TNF $\alpha$ ), както и с наличието на антитела, изследвахме концентрацията му в серума на 47 пациенти с AAV и при 21 здрави контроли. Установихме наличие на IDO в серума на 9 (19.15%) от пациентите с васкулит и на 6 (25%) от здравите контроли. Средната стойност при пациентите с васкулит е 4.54 ng/ml, медиана диа-

пазон (0.00-41.2), SD = 12.6, а при здравите контроли е 3.59 ng/ml, медиана диапазон (0.00-40.00), SD = 3.59. Счита се, че нормалните серумни нива на IDO при здравите са между 0.47 и 30 ng/ml. Съпоставихме нивото му при всички пациенти с AAV с това при здравите контроли чрез теста Mann-Whitney за разлика между наблюдаваните средни нива. Резултатите показаха по-висока концентрация при групата на болните (4.54 g/ml медиана, диапазон 0.00-41.2) в сравнение със здравите контроли (3.59 ng/ml медиана, диапазон 0.00-40.00),  $p = 0.5102$  (табл. 69).

**Таблица 69.** Съпоставка на групата на AAV със здравите контроли относно нивото на IDO

Групи	Средна аритметична	$\pm$ SD	Медиана (диапазон)	95% доверителен интервал	Mann-Whitney (p)*
Здрави контроли	3.59	9.49	0.00 (0.00-40.0)	-0.72-7.91	0.5102
Болни	4.54	12.16	0.00 (0.00-41.2)	0.97-8.11	

*SD – стандартно отклонение; Диапазон минимална-максимална стойност; Доверителният интервал е базиран на t-разпределението на Student. □ Тест за значима разлика между изчислени средни аритметични за двете групи пациенти*

Характеристиката на болните, техните клинични данни и проведената терапия са представени на табл. 70.

**Таблица 70.** Характеристика на болните и процентното разпределение с нормални и високи стойности на IDO

	< 30 ng/ml; N = 43/91.49%	$\geq$ 30 ng/ml; N = 4/8.51%	p*
BVAS (SD)	8.40 (4.92)	9.00 (3.16)	0.4357
GPA	28 / 65.12%	4 / 100.00%	0.3838
MRA	15 / 34.88%	0 / 0.00%	0.3838
С активност	32 / 74.42%	4 / 100.00%	0.5902
<b>Лечение</b>			
Rit	20 / 46.51%	1 / 25.00%	0.7626
СУС	11 / 25.58%	1 / 25.00%	1.0000
Без имunosупресор	12 / 27.91%	2 / 50.00%	0.7244
<b>Anti-TNF</b>			
Нисък	30 / 69.77%	0 / 0.00%	0.0255
Висок	13 / 30.23%	4 / 100.00%	0.0255

\*Тест на Фишер за разлика между 2 пропорции; BVAS – Mann-Whitney p стойност

С повишени концентрации са 4 от болните (8.51%). Всички болни с високи концентрации са с GPA и имат активност на заболяването по време на изследването. При пациентите с MPA не се открива концентрация на IDO в серума. Средният BVAS при болните с повишен IDO е 9.00 ( $\pm 3.16$ ), при останалите е 8.40 ( $\pm 4.92$ ),  $p = 0.4357$ . Само двама от тях са ANCA позитивни, при един от тях се установяват антитела срещу протеиназа-3. Двама от болните са новодиагностицирани и при тях не е провеждана имunosупресивна терапия, при един има предшестваща терапия с ритуксимаб и при един с циклофосфамид. При пациентите, лекувани с ритуксимаб, серумната концентрация на IDO е 2.72 ng/ml, а с конвенционална терапия 3.81 ng/ml,  $p = 0.1404$ . Средната концентрация на IDO за пациенти без ритуксимаб е 6.01 ng/ml, като спрямо пациентите с ритуксимаб е оценена  $p = 0.7670$ .

За да установим дали има корелация между проинфламаторните цитокини и IDO, сравнихме концентрацията на TNF $\alpha$  при болните с повишени и нормални стойности на IDO. Всички пациенти с повишени серумни нива на IDO (100%), имат едновременно и повишени стойности на TNF $\alpha$ . Средната стойност на TNF $\alpha$  при тези с високи нива на IDO е 915.35 pg/ml, а при пациентите с нормални нива е 6.88 pg/ml, което представлява сигнификантна разлика ( $p = 0.0011$ , Mann-Whitney test). Допълнително проведохме анализ за корелация. Корелационният коефициент на Спирман за IDO спрямо TNF $\alpha$  е оценен на 0.5216, неговата  $p$ -стойност е  $= 0.0001$ , което потвърждава положителна, сравнително силна и значима връзка между IDO и TNF $\alpha$ . Също така установихме положителна корелация между IDO и BVAS, коефициент на Спирман 0.4,  $p = 0.0220$ .

Проследихме нивата на IDO при отделните диагнози и групата на здравите пациенти (табл. 71). Проведохме съпоставки чрез непараметрич-

ния тест на Mann-Whitney на GPA със здрави контроли; MPA със здрави контроли; GPA с MPA; болни с активност и здрави контроли; болни без активност и здрави контроли; болни с активност и без активност.

Установи се значима разлика в серумната концентрация между двете диагнози ( $p = 0.0260$ ) (значимо по-висока концентрация при GPA). Установи се значима разлика между болните с MPA и здравите контроли ( $p = 0.0279$ ), без да има такава между болните с GPA и здравите контроли. Това, което прави впечатление, е, че не се установява IDO при болни, които в момента на изследването са без активност на заболяването (0.00 pg/ml). Нивата при болните с активност са по-високи в сравнение със здравите контроли ( $p = 0.9489$ ), както и на здравите контроли са по-високи в сравнение с болните без активност ( $p = 0.0861$ ). Поради малкия брой на болните не могат да се отчетат значими разлики, макар и да са близки до значимост.

**Таблица 71. Резултати от съпоставката на изследваните болни относно нивото на IDO**

Величини	Здрави контроли	GPA	MPA	С активност	Без активност
Средна аритметична	3.59	6.67	0.00	5.93	0.00
p*	0.0279 (MPA)	0.8548 (Здрави)	0.0260 (GPA)	0.1043 (без активност); 0.9489 (здрави)	0.0861 (здрави)

□ статистически значима разлика при  $p < 0.05$ , значимите резултати са маркирани в червено.

## 10. Практически насоки и подход при болните с AAV в ревматологичната практика

1. Обичайно пациентите с васкулит се представят с многолики и често неспецифични системни прояви. Някои пациенти в началото на заболяването могат да имат изолирани нетипични манифестации.

2. При подозрение за васкулит изследваме ANCA. Скринингово изследване с имунофлуоресценция (IF) за установяване на pANCA,

cANCA и др. Положителните проби се потвърждават с ELISA за антитела срещу PR3 и MPO. Липсата на ANCA не изключва васкулит. Положителните ANCA не поставят диагноза васкулит. Срещат се и при други състояния.

3. Изследваме ANCA заедно с ANA, ACL, RF, K<sub>g</sub>, C3, C4, HBV, HCV, HIV.

4. Трябва да си отговорим на няколко въпроса при среща с вероятен AAV:

- Дали това е васкулит или мимика на васкулит?
- Има ли подлежащо състояние и особено дали има подлежаща инфекция?

- Какво е разпространението на васкулита. Задължително да се тестват ГДП, бял дроб (избор на инструментално изследване е КТ или МРТ), бъбречна функция (седимент, протеинурия, креатининов клирънс), за периферна невропатия ЕНМГ и за ангажиране на ЧМН.

- Какви са формата на васкулита и типът на възпалението?
- Колко е активен васкулитът? Активността определяме чрез BVAS и FFS.

5. Провеждането на биопсия е от изключителна важност за диагнозата. Васкулитът не винаги е очевиден и липсата на васкулит в изследвания материал не изключва диагнозата.

6. Изборът на терапията да е според локализацията, BVAS. Препоръчваме rituximab при изолирани васкулитни прояви. Cyclophosphamid – при грануломатозно възпаление. Медикаментът, който свързваме с по-добра прогноза при липса на противопоказания, е ритуксимаб.

## VI. ОБСЪЖДАНЕ

### 1. Нозологична структура на васкулитите

В последните години васкулитите, първични или вторични, в хода на друго заболяване, са обект на множество изследвания. Досега не е правено такава за българските пациенти. До момента липсва единна класификация на васкулитите, което се обяснява с голямото им разнообразие, липсата до голяма степен на анатомопатологична специфичност, на достатъчно познание за патогенезата им, наличието на припокриване в клиничното представяне между тях и с други системни заболявания. В текущата практика в клиниката по ревматология са преминали над 380 болни с васкулитни прояви. Като изключим AAV, най-често васкулитни прояви сме наблюдавали при СЗСТ и при групата на хиперсензитивните васкулити. Най-честите диагнози, при които се срещат васкулитни лезии, са СЛЕ, следвани от ПСС. Повечето проучвания дават данни за честота на васкулит при СЛЕ между 11% и 56% [303, 304, 305], като тук преобладава кожният васкулит – в 60% от случаите [304, 306]. Васкулитът при ПСС се наблюдава рядко, и то при ограничената форма, и се асоциира с антицентромерни антитела [307, 308]. В литературата има единични описания на кожен васкулит с периунгвални инфаркти и дигитални улцерации при идиопатичните възпалителни миопатии [309, 310]. Ние също сме наблюдавали единични случаи. Ревматоидният полиартрит учудващо участва в 3.09% от случаите. Счита се, че за една година < 1% от болните с ревматоиден полиартрит развиват васкулит [311, 312]. В ерата на биологичното лечение и при постигането на добър контрол на болестната активност честотата на ревматоидния васкулит като извънставна проява на РА рязко намалява [313]. От първичните васкулити най-много болни са анализирани с ANCA асоциирани васкулити. От тях с най-висока честота са ГПА > МПА > ЕГПА. В 2.87% от случаите паци-

ентите с прояви на васкулит и антинеутрофилноцитоплазмени антитела не могат да бъдат класифицирани. Следващите по честота васкулити са хиперсензитивните и PAN. При анализ на групата на големите некротизиращи васкулити (AAV и PAN) се вижда, че PAN се среща най-рядко и неговата честота е сравнима с CSS, който е най-рядко срещаният AAV, което потвърждава становището, че PAN е рядко заболяване [1, 19, 20, 24]. Използването на СНСС класификацията и дефинициите на васкулитите, което доведе до отграничаването на PAN и MPA, рязко намалява честотата на нодозния панартерит. При използване на ACR класификацията, честотата на PAN е между 6.6 и 8.0 на милион, а при използването на СНСС класификацията е между 0.4 и 2% [20, 24, 314]. В настоящата работа се установява, че честотата на PAN при нашите болни е чувствително по-ниска от тази на ANCA васкулитите, и когато се класифицира MPA трябва да се използва СНСС класификацията.

Счита се, че AAV като цяло не припокриват с други аутоимунни ревматични заболявания и съществуват твърде малко данни в литературата за това. Най-често това се случва с ревматоиден полиартрит, следван от СЛЕ, склеродермия, синдром на Съогрен [315, 316, 317, 318]. При нашите пациенти с васкулитни синдроми AAV се откриват заедно с РА при трима пациенти, при един със СЛЕ и при един заедно с анкилозиращ спондилит.

Най-острата и опасна клинична проява на съдов конфликт е некротизата. В нито една от съвременните класификации не са включени васкулитите с некрози, въпреки че съдовата патология е с най-драматично протичане в ревматологията. Некрозите се явяват при различни видове васкулитни синдроми, при СЗСТ и при инфекции. Най-типичните представители на некротизиращите васкулити са PAN и групата на ANCA асоциираните васкулити. Васкулитът с некроза е клинична диагноза, характеризираща се с некротични лезии по крайниците и/или във вътреш-

ните органи. В литературата няма анализи на васкулитите с некрози относно нозологичната им принадлежност, клиничното протичане, терапевтичното повлияване. Описани са отделни случаи на васкулити с некротични лезии. На настоящия етап не е ясно кое отличава тези болни от останалите с васкулитна патология. При нашите пациенти най-честите диагнози, при които се срещат некротични лезии, са ПСС, СЛЕ и хиперсензитивните васкулити. В 18.5% васкулитите с некрози не могат да бъдат класифицирани като нозологични единици. Те са с висок риск за живота и произхождат основно от пристъпи на колагенози – СЛЕ и ПСС (33,7%) от болните, като при ПСС болните с некрози са сигнификантно повече. Според Lee and Norris, 1989, некрозите при лупусния васкулит обичайно са тежки и са най-често при левкоцитоклазичния васкулит [303, 319]. Некротизиращ васкулит при ПСС се наблюдава при ограничената форма и протича с гангрена на пръстите и ЦНС ангажиране [308, 320]. Нашите данни показват, че когато има припокриващо заболяване, съществува висок риск от развитие на некрози (в 68.67% от случаите). Хиперсензитивните васкулити и тези с неясна етиология са втората по големина група (26.4%). В групата на васкулитите без нозологична принадлежност сигнификантно по-често се срещат некротични лезии и те често са единствената проява на заболяването. Предполага се, че известен или неизвестен причинител с тропизъм към съдовата стена причинява тежка ендотелна дисфункция и отключва възпалителната каскада в съдовата стена, без да води до останалите типични възпалителни промени, отличаващи обособените васкулитни синдроми. Големите некротизиращи васкулити (грануломатоза на Вегенер и микроскопски полиангиит) участват в 12.6% от случаите с некрози. Честотата на некрозите при PAN е по-ниска в сравнение с AAV, което е свързано с големината на ангажираните съдове, при PAN това са средните, при AAV – малките съдове. Вероятно малките съдове са по-уязвими и при тях възпалението

по-лесно причинява некроза на стената. Класифицирането на васкулитите според използваните класификационни системи е добре известно, но то не дава представа за тежестта на протичането на болестта. От друга страна, появата на некрози е най-тежката форма на ендотелна дисфункция при автоимунните заболявания. Тя представлява отлагане на имунни комплекси и цитокинова буря, поразяващи съдовата стена. Анализът много добре илюстрира защо СЛЕ и ПСС са сред най-тежките заболявания на съединителната тъкан, тъй като те често протичат с тежка ендотелна дисфункция на нивото на най-малките съдове. Припокриващите синдроми вероятно са свързани с голям риск от съдова увреда. При СЛЕ и ПСС е най-голям рискът от развитие на некротични лезии. Голяма е групата на болните с некротични лезии без други прояви и без достатъчно признаци на системен васкулит или СЗСТ. Обособените некротизиращи васкулити на малките и средните съдове правят по-рядко некрози по кожата и лигавиците в сравнение с тези без нозологична принадлежност.

Според това кога е направено първото описание на васкулит, PAN е най-старият некротизиращ васкулит, описан е от Kussmaul и Meyer през 1866 г. [1, 3, 6, 7]. GPA е описана през 1930 г., MPA през 1940 г., а CSS през 1950 г. От нашите пациенти с AAV най-много са диагностицирани с грануломатоза на Вегенер, следвана от МПА, най-малък е броят на пациентите със синдром на Чърг-Страус. Средната възраст при поставянето на диагнозата на пациентите с вегенерова грануломатоза е 50.5 год., на тези с микроскопски полиангиит – 53.4 год., и на Чърг-Страус синдрома – 49.1 години, което е близо до данните от епидемиологичните проучвания. По литературни данни средната възраст на поява на грануломатозата на Вегенер е 50 години и тя е стабилна в повечето епидемиологични проучвания за период от 15 години [1, 2, 24, 314]. Пациентите с MPA са по-възрастни при поставянето на диагнозата в сравнение с WG.

В Европейските проучвания болестта се диагностицира средно на 60-годишна възраст, докато в Япония пациентите са на възраст 70 год. при поставянето на диагнозата [18]. При CSS епидемиологичните данни са доста по-оскъдни, но средната възраст е около 50 год. Според анализ на данните от регистрите за AAV в 6 европейски държави, публикуван през 2023 г. средната възраст на диагностициране е 56 години, най-често срещаният AAV е GPA (52.1% от случаите), следван от MPA (29.9%), EGPA 17.7 % и недиференцирани 0.2% [25]. Преобладават мъжете, съотношението мъже:жени е 51.3:48.6%. При нашите пациенти съотношението е обратно, преобладават жените (мъже:жени е 47:54 за грануломатозата на Вегенер, 21:38 за микроскопския полиангиит и съответно 4:10 за CSS). В българската популация преобладава женският пол при всички ANCA асоциирани васкулити, като пациентите с микроскопски полиангиит са по-възрастни при поставяне на диагнозата в сравнение с другите видове. Средното време от появата на първите симптоми до поставянето на диагнозата е най-дълга при EGPA (31.25 месеца), което е свързано с наличието на предваскулитна фаза (на астмата, предхождаща васкулита), а най-бързо се поставя диагнозата при микроскопския полиангиит (след 8.69 месеца), което вероятно се дължи на факта, че при тези болни бързо настъпва бъбречно увреждане, което води до провеждането на ПББ, която насочва диагнозата към ANCA асоцииран васкулит.

**Заключение:** ANCA асоциираните васкулити са най-честите обособени васкулити, които са преминали през Клиниката по ревматология. Втори по-честота са васкулитните прояви при СЗСТ, най-често при СЛЕ и ПСС. Голяма е групата на болните с некротични лезии без други прояви и без достатъчно признаци на системен васкулит или СЗСТ. Обособените некротизиращи васкулити на малките и средните съдове правят порядко некрози по кожата и лигавиците в сравнение с тези без нозологична принадлежност. За поставянето на диагнозата и започване на подхо-

дящо лечение е особено важно познаването на васкулитните синдроми и широката диференциална диагноза. Повечето от тях отговарят на сегашните налични терапии, особено когато диагнозата е правилна и навременна.

## **2. Честота на някои инфекции и ролята им при развитието на ANCA асоциираните васкулити**

Предполага се, че освен като тригериращ фактор за автоимунните реакции инфекциите също така участват в етиологията на васкулитите. Към момента най-убедителни са доказателствата за етиологична връзка със *Staphylococcus aureus* [27, 28, 29]. За пръв път съмнение за връзката между WG и носителството на *St. aureus* е изказано от самия Wegener [27, 28, 29]. Данните показват, че честотата на инфекциите сред нашите пациенти не е висока (такива сме наблюдавали сред 23,24% от пациентите, което е по-малко от предишни проучвания [321]). Най-често инфекции сме наблюдавали при пациентите с грануломатоза с полиангиит, следвани от тези с МРА и най-рядко при синдрома на Чърг-Страус. Не установихме разлика при двата пола. Най-честите патогенни микроорганизми за инфекциите са *Staphylococcus aureus*, следвани от *Klebsiella* и *Streptococcus*. Основните органни локализации са горните дихателни пътища, белите дробове и кожата. Белодробните инфекции са често срещани при ААV, обичайно в > 50% от случаите [335]. Известно е, че индукционната терапия с циклофосфамид в комбинация с висока доза кортикостероиди е предиспозиция за развитие на инфекции [252, 298, 322]. Очаква се сред пациентите, лекувани с имunosупресори, честотата на инфекциите да бъде по-висока [155, 208, 252, 277, 298]. Това не се потвърди при нашия анализ. От болните с установени инфекции само 24,24% са лекувани с имunosупресор. Това е свързано с факта, че поставянето на диагнозата често съвпада с диагностицирането на инфекциите

и самото наличие на инфекции не позволява провеждането на имуносупресивно лечение при тези болни. При нашите болни по-голямата част от инфекциите са диагностицирани в началото на заболяването, което не е позволило провеждането на системно лечение с циклофосфамид (само четирима от болните са лекувани с циклофосфамид, останалите са лекувани с по-меки имуносупресори като метотрексат или ритуксимаб). Всички пациенти с инфекции са лекувани с кортикостероиди. Основен рисков фактор за появата на инфекции сред нашите болни с AAV са крайната степен на бъбречна недостатъчност и хемодиализното лечение. Пациентите с начална бъбречна недостатъчност не са показали по-висок риск от инфекции, при тях сериозните инфекции се срещат даже сигнификантно по-рядко. От друга страна, бързо настъпилата и напреднала бъбречна недостатъчност повишава риска от инфекции и е лош прогностичен фактор [132, 157]. Болните с инфекции в групата на провеждащите ХДЛ, са значимо повече от тези без инфекции. Не установихме сигнификантна разлика в активността на заболяването при двете групи болни според BVAS ( $p = 0.358$ ). Счита се, че пациентите с AAV и тежки инфекции имат по-лоша прогноза [234, 236, 321]. Инфекциите са отговорни за 50% от смъртните случаи при пациентите с AAV в 4 клинични проучвания за периода 1995-2005 г., проведени от Европейска група за изучаване на васкулитие [321, 323]. Това показват и данните при нашите болни. Смъртността при нашите болни с AAV и инфекции е около три пъти по-висока от тези без инфекции, което представлява значима разлика ( $p = 0.025$ ). Предишни проучвания показват, че по-високата възраст при поставяне на диагнозата и влошената бъбречна функция намаляват преживяемостта на пациентите [322]. Нивото на сериозни инфекции е по-голямо сред пациентите с крайна степен на бъбречна недостатъчност и то е сериозен рисков фактор и предиктор за лоша прогноза при тези

болни. Счита се, че бъбречната недостатъчност влошава имунитета и сама по себе си е рисков фактор за инфекции [322, 323].

ANCA могат да бъдат открити при пациенти с инфекции случайно, независимо от наличието на васкулит. Те се откриват при инфекции със *Staphylococcus aureus*, бактериален ендокардит [158, 168, 324], лепроза [325], туберкулоза [326], вирусни инфекции [327, 328], амебиаза [329]. Установяват се при пациенти с доста широк спектър от други автоимунни заболявания, които не принадлежат към групата на идиопатичните васкулити на малките съдове, като антигломерулобазално мембранно заболяване, СЛЕ, лекарствено индуцирани ГН, възпалители чревни заболявания, първичен склерозиращ холангит, автоимунен хепатит [158, 180]. Ние установихме антинеутрофилноцитоплазмени антитела при 87,88% от болните с инфекции. ANCA се считат за един от основните маркери на AAV, като cANCA са специфични за грануломатозата на Вегенер, pANCA са по-малко специфични. pANCA се откриват и при доста неавтоимунни състояния като инфекции, също и при здрави хора [1, 158, 168, 171, 180]. cANCA силно се асоциират с грануломатозата на Вегенер (според McLaren в 64% от случаите), обичайно pANCA са при 21% от болните [1]. Потърсихме връзка между перинуклеарните антинеутрофилноцитоплазмени антитела и инфекциите. Не открихме преобладаване на някое от антителата според типа на светене при ИФ, p-/c-светенето беше почти поравно, което говори всъщност за по-голям процент pANCA в сравнение с очакваното. Намерихме категорична асоциация между pANCA и GPA с инфекции. При нашите болни 45,45% от пациентите с WG и антинеутрофилноцитоплазмени антитела са с наличие на pANCA, което е в пъти повече от обичайното за това заболяване (21%) [1]. При пациентите с WG без инфекции преобладават cANCA, при тези с инфекции се установяват значимо повече pANCA ( $p = 0.0000$ ). Не установихме връзка между конкретен бактериален причи-

нител и определено специфично антитяло, но anti-PR3 е по-честа при стафилокок, клебсиела и хемофилус, anti-MPO при стрептокок.

**Заключението** е, че при нашата група пациенти с AAV инфекции са по-чести на горните дихателни пътища, белите дробове и кожата. Най-честите бактериални причинители са Staphylococcus aureus, следвани от Klebsiella и Streptococcus. Не се наблюдава сигнификантна разлика в активността на заболяването при болните с инфекции. Установява се асоциация между перинуклеарните антинеутофилноцитоплазмени антитела и GPA с инфекции, което потвърждава връзката между pANCA и инфекциите.

### **3. Анализ на клиничното протичане и органната локализация при различните AAV в българската популация**

Васкулитите са болести, които протичат с разнообразна клинична картина. При една част от тях се манифестират прояви, подсказващи системно участие – кожен обрив, периферна невропатия, артрит, симптоми от вътрешните органи – бял дроб, бъбреци, стомашно-чревен тракт, сърце и др. Друга част от васкулитите протичат с изолирано органно засягане – на кожа, периферни нерви или отделни вътрешни органи. ANCA асоциираните васкулити по своя характер са некротизиращи, водят до бърза деструкция на съдовата стена и органно увреждане, често с ранно развитие на органна недостатъчност и това ги прави особено опасни. Всеки един орган и система могат да бъдат поразени в зависимост от това кои съдове са засегнати, но най-често това са белите дробове и бъбреците. Според анализа на формата на протичане на болестта според EUVAS [129, 204] почти всички болни с GPA и MPA стартират най-често като ранна системна форма, следвани от генерализирана и тежка. Тези данни показват, че при голяма част от нашите пациенти болестта протича тежко и агресивно, с ранно настъпване на поражения в

множество органи и застрашаване на функциите им, като най-тежко е протичането при микроскопския полиангиит, следван от Чърг-Страус синдрома. Установихме по-висока честота на генерализираната и тежката форма при МРА в сравнение с общата група, което е свързано с алвеоларните хеморагии, които са най-типичната белодробна находка при тези болни. Средната активност, определена според BVAS системата, е висока при поставянето на диагнозата при трите васкулита.

Докато пациентите с GPA обичайно имат ангажиране на горния или долния респираторен тракт, много често и на двете [129, 131, 132], то при тези с МРА горният респираторен тракт се ангажира рядко, като проявите са леки [123, 134, 136]. При МРА по-често е засягането на белия дроб, обичайно манифестиращо се с белодробна хеморагия [123, 134, 135, 191]. Обичайно при AAV първите манифестации са от ГДП и те предшестват поставянето на диагнозата. При анализа на **проявите от страна на ГДП** установихме, че общо 64 пациенти са имали такива, като основната част са с грануломатоза на Вегенер. Проявите от ГДП се срещат значимо по-често при GPA в сравнение с МРА и CSS. Данните от последните анализи за европейската популация показват ангажиране на ГДП между 33.7% и 67.0%, като най-високи са за полския регистър и най-ниски за чешкия. Нашите данни са най-близки до тези на скандинавския регистър, които показват засягане на 41.2% от случаите [25]. Най-често наблюдаваната от нас манифестация е ринорея, често с кървави примеси, следвана от възпаление на параназалните синуси. Тези резултати са близки до резултатите от предишни проучвания на оториноларинголози, където 85.37% от пациентите с GPA са с прояви от страна на УНГ системата, подобни са данните на Matexaris и сътр., Morales и сътр., показващи, че епистаксиса, крустите в носа и средният отит са най-често наблюдаваните находки от страна на ГДП при AAV и са значително по-чести при грануломатозата с полиангиит) [330, 331, 332].

Загуба на слуха и субглотисна стеноза сме наблюдавали само при пациентите с грануломатоза с полиангиит. Нашите данни потвърждават резултатите от предишни проучвания, че пациентите с грануломатоза с полиангиит са по-склонни към изява на симптоми от страна на УНГ системата от тези с микроскопски полиангиит [1, 20, 129, 130, 132, 247, 332]. Потвърждава се и становището, че при МПА засягането на горните дихателни пътища е изключително рядко, тъй като при този васкулит липсва грануломатозно възпаление.

**Белодробното ангажиране** е характерно за всички AAV, по-типично за грануломатоза с полиангиит и не толкова за микроскопския полиангиит [1, 131, 135, 332]. Грануломатозата на Wegener може да засегне всички отдели на респираторния тракт, което да се прояви с най-различни симптоми, като около 30% от случаите протичат безсимптомно [333]. При анализирането на резултатите установихме, че белодробните прояви са най-чести при пациентите с грануломатоза с полиангиит, следвани от микроскопски полиангиит и ЧСС. Разликите между GPA и другите два васкулита са значими. Разликата между MPA и CSS, при който белодробното засягане е най-рядко, също е значима. Най-честият симптом, който сме наблюдавали при пациентите с белодробни прояви, е кашлица, тя е била с кървави примеси при над половината от случаите. Според характеристиката на европейските пациенти с AAV от 2023 г. 65.1% имат белодробно ангажиране, което е много близко до това на нашите пациенти [25]. Дифузните белодробни хеморагии при ANCA асоциираните васкулити се дължат на белодробен капилярит и са една от основните причини за смъртност при тези заболявания [119, 135, 334]. Свързаната с тази проява смъртност по принцип е висока и е шест пъти по-висока от тази при васкулитите без белодробна хеморагия [148, 333, 334]. Смъртността при болните с алвеоларна хеморагия според едни автори е около 25%, като според други е наблюдавана 60% смъртност [33,

234, 241, 324]. От предишни публикации честотата на белодробните хеморагии е 7-45% за грануломатозата на Вегенер и 10-30% за микроскопския полиангиит [334, 335], с най-чести клинични прояви хемоптиза и диспнея. При нашите болни белодробна хеморагия сме наблюдавали сигнификантно по-често при пациентите с микроскопски полиангиит ( $p = 0.0226$ ). Нодулите са най-честата манифестация при пациентите с грануломатоза с полиангиит и се срещат в около 40-70% от случаите [335, 336]. Могат да бъдат с кавитации или без, като около 25% от кавитациите се наблюдават при нодули, по-големи от 2 cm [335, 336]. Според дебелината на стената са тънкостенни (1-3 mm) или дебелостенни ( $> 3$  cm). Нямаат зонална предилекция и се разполагат обичайно перибронховаскуларно, субплеврално, центрилобуларно или ангиоцентрално или са случайно разпределени. Характерно за тях е наличието на т.нар. "hallo sign", дължащ се на обграждащите го алвеоларни хеморагии. Според нашите резултати при проведеното КТ изследване на гръден кош най-честата находка са нодулите. Те са сигнификантно повече в случаите с вегенерова грануломатоза и белодробно ангажиране, доста по-малко при еозинофилната грануломатоза с полиангиит и много рядко при микроскопския полиангиит. Нивата на кавитиране, които ние установихме, са по-ниски (19.1% от случаите) от данните от предишно проучване, където кавитации се срещат в около 30-50% от нодулите [335]. Причина за тези резултати може да е ранното диагностициране и лечение на тези болни, преди да се оформят кавитации в нодулите, но е възможно и да има пропуски при диагностицирането им. Не при всички наши болни рутинно е провеждано HRCT. То е с по-висока сензитивност при откриването на белодробни нодули и маси и вероятността пациентът да има активна белодробна болест, сигнификантно нараства при това изследване [333, 334, 335]. Според Cordier и сътр. кавитации се установяват при 30-50% от нодулите при AAV [337]. Кавитиращите белодробни лезии имат широка

палитра от диференциални диагнози – неоплазии, емболизъм с инфаркти, були/кисти, широк спектър от инфекции – от аеробни и анаеробни бактерии до микобактерии и фунги [336]. Дори при пациентите с доказана грануломатоза с полиангиит кавитациите не винаги се дължат на активност на васкулита. Болните са имunosупресирани и много често кавитациите, свързани с активност за заболяването, са суперинфектирани, затова винаги трябва активно да се търси инфекция. Развитието на новопоявили се кавитации ни задължава да направим изследване за прояви на активност на болестта от страна на други органи и системи и да изключим инфекция. Втората най-често срещана находка са инфилтратите, като те не са специфични за тези заболявания и често представляват диференциалнодиагностичен проблем със съпътстващите инфекции. Другият типичен белег на васкулит – алвеоларният тип нарушения и промените тип „матово стъкло“, които са израз на васкулит на малките съдове, се срещат значимо по-често при микроскопския полиангиит. Консолидацията на белодробния паренхим при AAV обичайно е вторична, свързана е с алвеоларно засягане и е резултат на белодробен инфаркт или организирана пневмония [336, 339]. Не установихме разлика във вторичните васкулитни белодробни промени при двата основни вида васкулит. Ретикуларните промени показват, че е настъпила необратима белодробна фиброза [33, 335, 339]. Белодробна фиброза сме наблюдавали и при двата вида васкулит, малко по-често при микроскопския полиангиит. Според Нотта и сътр. белодробното ангажиране при МПА може клинично, радиографски и функционално да имитира идиопатична белодробна фиброза, като смъртността при двете състояния е подобна [189]. Установихме, че пациентите с AAV, при които има засягане на дихателните пътища в голям процент са ANCA позитивни, като при грануломатоза с полиангиит процентът на ANCA позитивните пациенти е най-висок. Що се отнася до антипротеиназа-3 и антимиелопероксидаза

позитивните пациенти всички видове прояви от горните дихателни пътища се срещат сигнификантно по-често при антипротеиназа-3 позитивните. В литературата няма достатъчно данни за характеристиките на засягането на ГДП при MPO-ANCA позитивните пациенти. Ikeda и сътр. установяват висока честота на ангажиране на ГДП при болни с MPO-ANCA (67%), които са подобни на тези с PR3-ANCA (89%) [340]. В ретроспективно проучване сред японски пациенти при MPO-ANCA позитивните случаи засягането на носа и синусите е по-рядко в сравнение с тези с PR3-ANCA [341]. HRCT изследване при нашите болни не показва сигнификантни разлики по отношение на грануломатозното възпаление, като повече болни с нодули със и без кавитации се наблюдават в групата на протеиназа-3 позитивните болни. Обратни са данните за плевралното засягане, то е по-често при миелопероксидаза позитивните. Разликата между двете групи е съществена по отношение на съдовите прояви (промените тип „матово стъкло“). Те се срещат значимо по-често при миелопероксидаза позитивните. Подобни данни са описани и при друго проучване [340]. Ter Maaten и сътр. намират по-високи нива на белодробна недостатъчност, резултат от белодробни хеморагии и по-лоша прогноза при anti-PR3 в сравнение с anti-MPO положителните пациенти, което не съвпада с нашите данни [191]. Белодробната фиброза е по-честа при MPO-ANCA позитивните случаи, каквито са и повечето литературни данни [188, 189, 218, 341]. При нашите болни наличието на анти-MPO се свързва с по-тежко протичане и по-лоша прогноза. Дихателна недостатъчност сме наблюдавали статистически по-често при антимиелопероксидаза положителните, при тях има и повече екзитуси. Триадата от лезии на горните дихателни пътища, некротизиращ грануломатозен васкулит на белите дробове и некротизиращ гломерулонефрит, описана от Godman и Churg през 1954 г., остава класическа за характеризиране на грануломатозата на Wegener. Счита се, че тя може да присъства във все-

ки орган, като моделът на органно засягане се променя с течение на времето. Хистологичната картина при ГПА е изключително разнообразна. В белите дробове класическата находка е базофилната некроза [1, 94]. Васкулитът в белите дробове може да бъде под различни форми, да е без некроза или да има само фибриноидна некроза, или понякога да има инфилтрат от клетки на хронично възпаление. Той не винаги е очевиден, особено в белодробните биопсии, но това не променя диагнозата [1, 94]. При нашите болни най-често е провеждана белодробна биопсия. Най-честите хистологични находки включват комбинация от васкулит и некротизиращо възпаление, в половината от случаите се откриват некрози, което е показателно за този тип васкулити и е улеснило значително клиницистите.

**Заключение:** Грануломатозата с полиангиит и микроскопският полиангиит са две много близки състояния, често мъчно се различават едно от друго и поставянето на точна диагноза може да бъде трудно. Най-важната разлика между тях е в характера на засягане на респираторния тракт, където при ВГ има грануломатозно възпаление, но то не винаги се проявява клинично и рентгенологично. Манифестации от страна на ГДП се наблюдават основно при болните с грануломатоза с полиангиит, по-рядко при еозинофилна грануломатоза с полиангиит и в единични случаи при микроскопски полиангиит. Деструкция и смущения във функцията на засегнатите органи се наблюдават само при пациентите с грануломатозата с полиангиит. Най-честият белодробен симптом при всички състояния е кашлицата, като хемоптиза се среща основно при грануломатоза с полиангиит. Васкулитът, който най-често и най-бързо води до дихателна недостатъчност е микроскопският полиангиит, което е свързано с наличието на белодробен капилярит. Най-честата рентгенографска находка са нодулите. Те налагат широка диференциална диагноза и задължително изключване на инфекция. Засягане на гор-

ния респираторен тракт се среща по-често при anti-PR3 в сравнение с anti-MPO позитивните пациенти. Моделът на белодробно ангажиране се различава при двете групи. Белодробните нодули и кавитации се срещат по-често при anti-PR3 позитивните пациенти, докато алвеоларен капилярит с белодробни хеморагии се открива по-често при anti-MPO позитивните пациенти. Дихателната недостатъчност се асоциира с MPO-ANCA. Провеждането на биопсия е много полезно за поставянето на точна диагноза, най-достоверни са белодробните находки при GPA.

**Бъбречното засягане при AAV** е една от най-често срещаните, от най-клинично значимите и може би най-тежката клинична проява. Среща се по-често при MPA (88-90%), по-малко често при GPA (71-80%) и най-рядко при EGPA (25-45%) [1, 134, 157, 301]. Бъбречното засягане се характеризира с бързо прогресираща бъбречна недостатъчност, с микро- или макрохематурия, протеинурия, както и активен уринен седимент [157, 258]. Около 35% от пациентите се нуждаят от диализно лечение [157, 342]. По тези причини бъбречното засягане при AAV се свързва с повишена морбидност и смъртност [157, 262, 343]. Прояви на бъбречно засягане наблюдавахме при 65.51% от нашите болни, преобладават жените. Бъбречното засягане при нашите болни стои по средата между това на японските и тези от европейските страни, където е то средно 50.2% [25, 328]. То е най-високо според чешкия регистър (93.4%) и най-ниско според Френската група за изучаване на васкулити (27.9%). GeVas (Joint Vasculitis Registry in German-speaking Countries) установява 64.3% бъбречно засягане, което се доближава най-много до нашите данни [25]. Водещата диагноза според нашите данни е микроскопският полиангиит (при 50 болни, което е 96,15% от болните с MPA). Тези данни са близки до данните от проведено проучване сред японски пациенти на Sada [344]. Sada et al. съобщават за 63.6% бъбречно засягане сред японска кохорта болни [344], където при пациентите с MPA то е 91%. Близки са и резултатите от изследване на Serra et al.

(1984), Savage et al. (1985), Jennette et al. (1988), Guillevin et al (1999) сред европейски страни, които сочат 100% бъбречно засягане при МПА [134, 147, 157, 160, 184]. При другия основен васкулит – грануломатозата с полиангиит, бъбречното ангажиране варира между 49 и 77% по данни на Mahr et al. (2013), Holle et al. (2011), Stone et al. (2003), Hoffman et al (1992) [129, 130, 131,132]. Нашият анализ установи, че 56.25 % от болните с GPA имат бъбречно ангажиране. Някои автори считат, че бъбречното заболяване засяга около 80% от болните с AAV и честотата му не се различава съществено при двата основни вида васкулит, както и че няма разлика между пациентите с anti-PR 3 и anti-MPO [180, 240]. Началните бъбречни прояви обичайно са тихи и безсимптомни, като микроскопската хематурия със или без протеинурия често води до увреждане на бъбречната функция. Първите и най-чести симптоми, които сме наблюдавали, са еритроцитурия и протеинурия. Те са малко по-чести при микроскопския полиангиит. При голяма част от пациентите бъбречното засягане още в началото на болестта е сериозно и води до бързо настъпване на бъбречна недостатъчност. При диагностицирането на васкулита най-честата форма на заболяването, която наблюдавахме, е генерализираната форма с нарушения в бъбречната функция. Тежката форма е по-честа при болните с MPA (около 3 пъти в сравнение с GPA). Активността, определена чрез BVAS, е висока при диагностицирането и тя е по-висока от стойността за всички болни с AAV. BVAS е статистически значимо по-висока в сравнение с МПА. Това се дължи на по-честото ангажиране на дихателните пътища при пациентите с ГПА, което резултира в по-висок BVAS. Над 70% от болните са с повишени стойности на азотни тела в серума при поставяне на диагнозата, като те са повече в групата на микроскопския полиангиит, което показва, че протичането на болестта при тази диагноза е по-агресивно. Необходимост от диализно лечение са имали над една трета от пациентите, не е наблюдавана разлика при двата вида васкулит. Тези данни се доближават до данните от

проучване на Andreiana и сътр. сред източноевропейска кохорта болни, където 27% от пациентите имат нужда от диализно лечение [301]. Данните от шест Европейски регистъра от 2023 г. показват по-ниска средна честота на диализа – 13.2%, в сравнение с нашите данни [25]. Типичната презентация на AAV е засягането на белия дроб под различна форма в комбинация с бъбречен васкулит. С прояви и от двете системи са 69.47% от болните, като сигнификантно повече са при грануломатозата на Вегенер. Не се открива съществена разлика в честотата на белодробната хеморагия, но случаите при микроскопския полиангиит са по-често срещани. При серии от болни е описана по-висока честота на белодробно засягане при пациенти с тежка бъбречна болест [135, 301, 343, 345], като не е установена категорична асоциация между тях. Гломерулонефритът при AAV е типична проява на некротизращ васкулит. Другите органи, при които сме наблюдавали едновременно съдово поражение наред с гломерулите, са кожата, сърцето, белият дроб, ЦНС. То е регистрирано при по-малко от половината от болните. Явно гломерулонефритът представлява самостоятелна съдова патология, която е достатъчна да определи характера на болестта и не съществува изразена тенденция за едновременно съдово засягане на множество органи. При една трета от болните болестта започва с бъбречни симптоми, нефритът е единствена клинична проява на болестта и това са болните, при които най-бързо е поставена диагнозата. Това се обяснява с факта, че бъбречните симптоми сами по себе си са тежки, което е причина за бързото им уточняване и ранно диагностициране. Провеждането на бъбречна биопсия е съществен фактор за това, като диагностичната стойност на бъбречната биопсия е много висока – 91,5% [103, 125, 128, 178, 190]. Бъбречната биопсия е златен стандарт за диагнозата, когато има бъбречно участие при AAV. Това важи с особена сила за тези AAV, които са ANCA негативни. Класическите хистопатологични находки за ANCA асоциираните гломерулонефрити включват наличието на фибриноидна некроза, гломерулни полулуния

и липса или оскъдност на имунни депозити в гломерулите (pauci-immune гломерулонефрити) [1, 128, 190, 347]. Някои пациенти с AAV имат атипични патологични находки като интерстициален нефрит при липса на гломерулонефрит [347, 343]. Бъбречната биопсия служи не само за диагноза при AAV, но има и прогностична стойност. Огнищният гломерулонефрит има  $\geq 50\%$  нормални гломерули и се свързва с добра прогноза от страна на бъбрека. Този с полулуния е с  $\geq 50\%$  гломерули с клетъчни полулуния и се свързва с възможност за възстановяване на бъбречната функция. Смесеният клас е със  $< 50\%$  нормални,  $< 50\%$  с полулуния и с  $< 50\%$  склерозирани гломерули и се асоциира с междинен риск за невъзстановяване на бъбречната функция. Склерозирацията клас съдържа  $\geq 50\%$  напълно склерозирани гломерули и се асоциира с по-лоша прогноза (голяма вероятност за бързо намаление на гломерулната филтрация и смърт в рамките на една година) [114, 128, 241]. Тази класификационна система е с доказано предиктивна стойност за изхода на болестта за период от 1 до 5 години [114, 128, 242]. Обобщените резултати според класификационната схема на Berden [128] показват, че при нашите пациенти най-често наблюдаваният тип гломерулонефрит е полулуният, следван от смесения тип. При пациентите в Централна Източна Европа полулуният ГН е наблюдаван при повече от половината от пробите [301], подобни са данните и на Berden (52 и 55%) [128]. Нашите резултатите за смесения вариант са малко по-високи от тези на Berden (23.8% vs 16%) [128] и по-ниски от тези на източноевропейската кохорта. Наблюдавали сме гломерулна склероза при 19%, което е малко по-често от споменатите проучвания, където тя е съответно 11% и 13% [128, 301]. Независимо че ANCA асоциираните гломерулонефрити по дефиниция са олигоимунни, при голяма част от тях се открива отлагане на комплемент и имунни депозити (при 38.8%). В Limburg Renal Registry [343] при повече от половината биопсии се установява отлагане на C3 фракцията. Подобни са данните на Weidner et al. (2004), Neumann et al.

(2003) [346, 348]. Според наличните литературни данни полулунният гломерулонефрит се асоциира с MPO-ANCA (47.9% и съответно 35.4% при PR3-ANCA), същото се отнася и за склерозиращия тип (MPO-ANCA в 55% от случаите и в 30% с PR3-ANCA) [170, 168, 179, 180, 347]. Hauer, Вајета и сътр. при проучването на биопсиите на пациенти с ANCA ГН установяват важна разлика в броя на нормалните гломерули при PR3-ANCA сравнени с MPO-ANCA (31-40% и съответно 26-28%) [190] и обратното за склерозиралите гломерули (25% за MPO-ANCA и 15% за PR3-ANCA). В допълнение към бъбречната склероза и белодробната фиброза се асоциира по-често с MPO-ANCA. Тези данни са сходни с данните на Ando и сътр. (2013) [342] и Нотта и сътр. (2004) [189], което говори, че е възможно MPO-ANCA да имат по-изразен профибротичен ефект. Souid и сътр. установяват, че дифузната алвеоларна фиброза и интерстициалната белодробна болест са по-чести усложнения при пациентите с anti-MPO ANCA, като фиброзата и васкулитът може да се развиват независимо един от друг [188]. Анализ на бъбречни биопсии от 173 пациенти, направени при диагностицирането на васкулита, сочи, че бъбречните лезии са по-чести при MPO-ANCA позитивните пациенти, сравнени с PR3-ANCA позитивните [182]. Това потвърждава мнението, че MPO-ANCA са по-опасни по отношение на бъбречното засягане и се свързват с по-агресивен ход на болестта и по-честа необходимост от провеждане на хемодиализа [247, 347, 348, 349]. При нашите болни и при двете нозологични групи AAV процентът на пациентите с ангажиране на бъбреците и положителни ANCA е сигнификантно по-висок от ANCA негативните, което показва, че вероятно при пациентите с бъбречно засягане антителата са основен патогенетичен фактор и че при диагностицирането на тези заболявания е от особена важност изследването на ANCA. Изненадващо често сме наблюдавали едновременно позитивиране на ANCA и ANA, без да корелират с антитела срещу dsDNA. При нито един случай на ANCA GN не сме установили anti-GBM, явно те

нямат отношение към патогенезата и въпреки подобната клинична картина са различни автоимунни заболявания. Предишни публикации сочат, че при пациентите с ANCA гломерулонефрити протеинурията при диагностицирането на ГН и в проследявания период е основният рисков фактор за развитие на бъбречна недостатъчност [179, 346, 349]. Ние изследвахме преживяемостта и предикторите на лош изход при групата болни с бъбречно засягане. Едногодишната преживяемост в нашето проучване е 97.8%, петгодишната е 86.2% и тя е сравнима с тази в предишни проучвания на пациенти с васкулити на малките съдове с бъбречно засягане, където тя варира от 59 до 95% при различни групи пациенти [129, 179, 245, 301, 347, 348]. При проведения Cox HR модел установихме, че лечението с ритуксимаб за индукция на ремисия е независим предиктор за добър изход, а наличието на anti-MPO и високият BVAS – за лош изход. По литературни данни високият BVAS също е основен предиктор за лош изход [235, 241, 301, 347, 349]. Andreiana и сътр. установяват шесткратно увеличение на шанса за смъртен изход при повишение на BVAS с 1 [301]. Тези данни подкрепят тезата за прогностичната стойност на BVAS и за връзката между началното бързо органно увреждане и дългосрочната прогноза, дори когато заболяването се доминира от засягането на един орган. Предишни проучвания показват свързани със специфичността на ANCA разлики в дългосрочната прогноза и преживяемост [179, 348], други не установяват такава зависимост [301]. Ние намерихме негативна връзка между антителата срещу миелопероксидаза и преживяемостта, шансовете за лош изход са шесткратно по-големи при тези пациенти. Друг основен независим предиктор, който установихме, е лечението с ритуксимаб, което подобрява значимо прогнозата на заболяването. Той показва особената значимост на добрия отговор към индукционната терапия. В предишни публикации е установено, че отговорилите на терапията пациенти имат шест пъти по-висок шанс за живот от неотговорилите [301]. При 1/3 от нашите болни

болестта прогресира до краен стадий бъбречна недостатъчност и трайна зависимост от диализа. Възрастта, бъбречната функция и протеинурията при изявата на болестта са посочени като основни предиктори при определяне на дългосрочната прогноза по отношение на зависимостта от диализа и преживяемостта при болните с AAV [347, 348, 349]. Очакванията ни за положителна връзка с някои от гореизброените фактори не се оправдаха. Не успяхме да идентифицираме рискови фактори при диагностицирането на болестта за настъпването на краен стадий бъбречна недостатъчност. Напредъкът в лечението на AAV в последните две десетилетия доведе до подобрене в изхода от заболяването. Въвеждането на B-клетъчната терапия за индукция на ремисия е особено важно за това подобрене. Проучването RITUXVAS показва, че при болните с тежко бъбречно увреждане ритуксимаб в комбинация с два пулса с циклофосфамид води до ремисия толкова ефективно, колкото и стандартната терапия с циклофосфамид [291]. В проучването RAVE ритуксимаб е еднакво ефективен с циклофосфамид при новодиагностицирани случаи и го превъзхожда при рецидивиращите [263]. В нашия случай лечението с ритуксимаб е довело до най-висок процент болни, които са се подобрили или са постигнали ремисия и най-нисък процент на починали болни и при извършения мултивариантен анализ той се явява независим предиктор за добра прогноза. От друга страна, при самостоятелното лечение с кортикостероид, когато не е комбиниран с циклофосфамид, ритуксимаб или микофенолат мофетил, броят на починалите е най-висок, като разликата е статистически значима, което потвърждава становището, че кортикостероидите самостоятелно не са достатъчни за контрол на ANCA васкулитите и особено за ANCA GN [251, 284].

**Заключение:** Бъбречното засягане при AAV е второто по честота. Началните прояви обичайно са тихи и безсимптомни, като микроскопската хематурия със или без протеинурия често води до увреждане на

бъбречната функция. При голяма част от пациентите бъбречното засягане още в началото на болестта е сериозно и води до бързо настъпване на бъбречна недостатъчност. При пациентите с AAV с бъбречно засягане и олигоимунни гломерулонефрити не се установяват полезни прогностични РФ, които биха ни помогнали при диагностицирането за предсказване за бързо настъпване на крайна бъбречна недостатъчност. Такива прогностични фактори се установяват за общата преживяемост на пациентите. Високата активност и специфичността на ANCA, както и отговорът към индукционната терапия оказват съществена роля в дългосрочната прогноза.

Анализирайки клиничната картина при болните, установихме, че голяма част имат **прояви, които са извън типичната клинична триада** при AAV (горни дихателни пътища, бял дроб и бъбрек). Най-хетерогенната нозологична единица при нашите AAV е GPA. Установихме, че при пациентите с GPA значимо по-често се срещат прояви от страна на ОДА, очите, кожата, нервната система в сравнение с тези с MPA. Не установихме разлика в процентното засягане на сърдечно-съдовата система и гастроинтестиналния тракт между двата основни ANCA васкулита. Голяма част от пациентите (65%) имат мускулоскелетни прояви, основно под формата на артралгии и миалгии. Опорно-двигателният апарат е третата по честота на засягане система след респираторния тракт и бъбреците. Истински артрит сме наблюдавали рядко, основно при пациентите с микроскопски полиангиит, като той се е повлиял бързо от лечение с кортикостероиди, в някои случаи е имало рецидиви. Данните на повечето автори сочат, че между 55 и 80% от пациентите с GPA имат прояви от опорнодвигателния апарат при диагностициране на заболяването [1, 14, 132, 187]. Кожните прояви са типичен модел на васкулит. Въпреки широкия спектър на заболявания като цяло кожните манифестации при васкулитите са ограничени до няколко класи-

чески презентации: уртикариални папули, макулозна пурпура, палпируема пурпура, ливедо ретикуларис, подкожни нодули, некрози и язви [6, 187]. По литературни данни кожни лезии се срещат при около 3-60% от пациентите с МРА [14, 15, 137, 147], при около половината болни с EGPA (Davis et al., 1997; Keogh et Specks, 2003; Sinico et al., 2005) [1, 151, 152, 153, 194, 187] и при 13-29% с GPA (Hoffman et al., 1998, Stone et al., 2003) [1, 129, 132], което е подобно на другите системни васкулити на малките съдове. Кожно-лигавични прояви са установени средно при 43% от европейските болни с AAV [24]. Те са най-малко според чешкия регистър (11.1%) и съответно най-много според френския регистър (52.8%). Над 40% от нашите болни са с кожно ангажиране при диагностицирането на болестта и при част от тях кожната биопсия е насочила мисленето на лекаря в насока васкулит. Най-честата хистологична находка е кожен васкулит, при част от случаите е описана фиброидна некроза, рядко комбинация на васкулит с грануломно възпаление. По литературни данни най-описваната хистологична находка при AAV е левкоцитоклазичният васкулит и това се отнася и за останалите васкулити на малките съдове [1, 129, 139, 187]. Основните обриви, наблюдавани от нас, са палпируема пурпура, която е клиничната презентация на левкоцитоклазичния васкулит, следвана от еритемомакулозни обриви. По редки са livedo reticularis, цианоза по пръстите и erythema nodosum. При 35.59% от болните с кожни прояви сме наблюдавали некротични лезии и те са сигнификантно по-често при болните с GPA. Установяват се сигнификантни разлики във вида на кожните лезии при пациентите с PAN, където най-често срещаната кожна проява е livedo reticularis, и при AAV, където сигнификантно са повече некротичните лезии. Досега в литературата няма достатъчно данни за това колко са некрозите при кожните лезии при васкулитите и те не намират място при диагностицирането на AAV. Смята се, че очните манифестации са много по-чести при пациен-

тите с GPA (39-52%, Mahr et al., 2011; Hoffman et al., 1992) в сравнение с MPA, където те са при около 30% от пациентите и в повечето случаи са клинично безсимптомни (Serra et al., 1984; Lane et al., 2005) [1, 20, 129, 139, 149, 157, 186]. При нашите болни очите се засягат при 22.54%, най-честата изява е конюнктивит, следван от еписклерит, заден увеит и проптоза – само при 7 болни. Най-честата диагноза, при която има очно ангажиране, е GPA, при нея сигнификантно по-често настъпват нарушения във функцията на очите и това са основно болните с проптоза и отлагане на грануломи около очите. Подобни данни са описани и при други автори, според Holle и сътр. периорбиталните маси се асоциират във висок процент с трайни увреждания [131]. От нашите болни с очно засягане 78.13% са с нарушения в зрението, близо 22% са с перманентна загуба на зрението на засегнатото око, което отново потвърждава становището, че при ANCA васкулитите органното увреждане е бързо и необратимо. Ангажирането на ССС при системните васкулити може да се изяви в началото на заболяването или по-късно в хода на протичането и то сигнификантно повишава смъртността [1, 187, 235]. По литературни данни засягането на сърдечно-съдовата система не е често наблюдавано при AAV (< 10% при GPA и MPA) (Guilelevian et al., 1999, Wang et al., 2002) [147, 148]. Изненадващо при нашите болни и при трите васкулита то се среща доста по-често (в 37.76%), като е най-често при GPA. Не сме установили сигнификантна разлика по отношение на клиничните прояви, при GPA се среща по-често острата застойна сърдечна недостатъчност в сравнение с MPA, където по-чести са миокардит и перикардит. Според обобщените данни от европейските регистри ССС се ангажира при 16.3% от болните, което е по-малко от наблюдаваното от нас. До нашите данни се доближава единствено френският регистър (24.5% от пациентите са със СС прояви) [25]. Васкулитът на гастроинтестиналния тракт се среща рядко при болните с AAV (между 3 и 7%, Holle et al.,

2003, Mahr et al., 2013, Stone 2003) с ограничен репертоар от клинични симптоми – коремна болка, кървене от ГИТ, перфорация, дължащи се на исхемия или некроза на червата, като трябва да се изключи заболяване, свързано със страничните ефекти на лечението [1, 130, 131, 132]. ГИ засягане при ANCA васкулитите, освен че е рядко, е и несигурно, ако не се потвърди хистологично [1, 187]. Hoffman et al. (1992) анализират 158 пациенти с GPA и не установяват интестинални симптоми [260]. Пациентите с EGPA имат по-често засягане на ГИТ в сравнение с останалите AAV и според Kurita et al. това е третата най-често засегната система след бял дроб и кожа и тънките черва са най-често засегнати [1, 156]. Ние не сме наблюдавали засягане на ГИТ при пациентите с EGPA. ГИ симптоми сме установили само при шест от болните, които са ГИ кървене, чревна перфорация и субилеус и те са при GPA и MPA. Не установихме разлика при GPA и MPA по отношение на гастроинтестиналните прояви. Перфорациите и улцерациите се считат за по-характерни прояви за PAN в сравнение с MPA, което не се потвърди при нашите болни [24, 134, 156]. Данните от европейските регистри от 2023 г. също сочат, че проявите от ГИТ са най-рядко наблюдаваните (13.4%) от всички системи при AAV [25]. За скандинавските държави засягането на ГИТ е най-рядко от представените регистри (2.1%). Ангажирането на нервната система, макар че не е често, е изключително важно поради необходимостта от агресивно лечение. То може да бъде на периферната (множествен мононеврит, сензомоторна полиневропатия) или на централната нервна система (церебрален или спинален васкулит, парализа на ЧМН или пихменингит), като само хистологичното изследване може да потвърди наличието на васкулит [1, 187]. Периферната невропатия е честа и важна клинична проява на системните некротизиращи васкулити. Васкулитната невропатия е резултат на исхемично увреждане на съдовата стена на vasa nervorum от възпалителния процес. Неврната система се засяга при

28.27% от нашите болни, което е по-рядко от литературните данни (10-58% при MPA (Savage et al., 1985; Jennette et al., 1989), 28-40% при GPA (Mahr et al., 2013; Holle et al., 2011) и 66-76% EGPA (Chumbley et al., 1977; Guillevin et al., 1999) [130, 131, 134, 147, 152, 150, 160]. При нашите пациенти GPA е васкулитът, при който сме наблюдавали най-често неврологично засягане (при 68.29% от случаите), следван от MPA (40.74%) и EGPA (12.20%). От периферната нервна система най-често се засягат черепномозъчните нерви, следвани от множествен мононеврит и полиневрит. Трина болни имат органични промени (MRT данни) за цереброваскулит, който сме свързали с други белези на клинична и имунологична активност на васкулита. Според обобщените данни от европейските регистри НС се засяга по-често (34.4% от случаите), най-често според френския регистър (46.9%) и най-рядко според скандинавския (13.7%), нашите данни са най-близки до полския регистър (28.6% неврологично засягане) [25]. Според наблюденията ни при PAN нервната система се засяга сигнификантно по-често, като полиневритът е най-честата клинична проява, следван от множествения мононеврит, което се различава съществено от находките при AAV, където най-често се засягат краниалните нерви.

**Заключение:** Нашите резултати показват, че симптомите извън ГДП, бял дроб и бъбрек при пациентите с AAV не са за подценяване и трябва активно да се търсят. Понякога болестта започва с манифестации от нервна система, очи или сърдечно-съдова система. Настъпването на остра застойна сърдечна недостатъчност без предшестваща причина може да е белег на AAV, същото се отнася и за бързото намаление или загуба на зрение. Необходимо е активно да се търси засягане на периферната нервна система дори при липса на манифестна клиника. Налице са сигнификантни разлики в находките между AAV и PAN, което потвърждава, че тези най-тежки васкулити в ревматологичната практика, прили-

чащи си по това, че поразяват едни и същи органи, всъщност водят до различни по характер поражения и имат различна прогноза. Изключително важно е изследването на СУЕ, CRP и кръвна картина, което би установило възпалителен процес. Същото се отнася за активното търсене на ANCA.

#### **4. Профилограми на протичане на отделните AAV и на PAN**

Изготвихме профилограми на протичане при ANCA асоциираните васкулити, които обобщават еволюцията на заболяването при нашите болни, подобни на профилограмите, изготвени от Р. Рашков, 1990 г. за болните със СЛЕ в България [350]. Те показват, че при грануломатозата на Вегенер, микроскопският полиангиит и панартеритис нодоза най-често се наблюдава един пристъп с последваща трайна ремисия и прогнозата на тези заболявания като цяло се е подобрила. За съжаление, втората по честота профилограма е тази с един пристъп, който не може да бъде овладян и често завършва с фатален край, тя най-често се установява при микроскопския полиангиит, където е при една трета от случаите. При синдрома на Чърг-Страус няма случаи с такова протичане, но тук са най-честите случаи на персистираща активност в сравнение с другите ANCA васкулити. Очевидно е, че голяма част от болните с грануломатоза с полиангиит и микроскопски полиангиит са в групата с най-благоприятно протичане и с по-лесно повлияваща се активност на болестта. Пациентите с МРА са на двата полюса на протичане, благоприятното протичане е значимо по-често от пристъпите без ремисия, но също така и притичането с един пристъп с последащо влошаване е също значимо често наблюдавано. При панартеритис нодоза активността се овладява по-лесно в сравнение с ANCA асоциираните васкулити (в 60% от случаите). Болестта рецидивира най-често при еозинофилната грануломатоза с полиангиит и най-рядко при микроскопския полиангиит.

Грануломатозното възпаление е свързано значимо с по-голям риск от рецидив в сравнение с чистия васкулит при нашите пациенти с ANCA васкулити.

## **5. Честота на известните антитела в българската популация с AAV**

ANCA са много важна и почти задължителна част от диагнозата на ANCA асоциираните васкулити. За пръв път те са описани от D. J. Davies и сътр. през 1982 г. при пациенти с некротизиращ гломерулонефрит чрез индиректна имуофлуоресценция [1, 2, 3, 6, 158, 159]. Впоследствие са били открити и таргетните антигени за ANCA като миелопероксидаза (MPO) и протеиназа-3. Свързването на ANCA с васкулитите е съществено за разбирането на патогенезата им и е важен диагностичен инструмент. В последните години са натрупани убедителни доказателства, че ANCA са патогенни при AAV [59, 63, 96, 99, 100, 102]. В подкрепа на това е и фактът, че докато PR3-ANCA се откриват само при 50% от пациентите с локализирана ГПА, то при тези с генерализирана форма се позитивират в 90% от случаите. Освен това нивата на ANCA могат да се свържат с активността на болестта и с релапсите [3, 95, 175]. Изследването на честотата на ANCA и връзката им с определени клинични прояви при болните с AAV е обект на редица изследвания. В публикуваните до момента данни (Guillevin et al., 1999, Jennette et al., 1989, Wieslander et al., 1994) ANCA се откриват при около 65-75% от болните с MPA [1, 147, 164, 168]. Според публикации (Hoffman et al., 1992, Mahr et al., 2013) ANCA позитивни са между 82 и 88% от болните с GPA, а според Chumbley et al., 1977, Lanham et al., 1984, Guillevin et al., 1999, Gayraud, Guillevan et al., 2001, честотата при EGPA е между 40 и 75% [1, 13, 129, 130, 141, 147, 150, 152]. Получените данни при нашите пациенти показват, че пациентите с GPA в 88.75% са ANCA позитивни, тези с MPA са

позитивни в 88.46% от случаите, а с EGPA в 75% от случаите, само при 10.34% не се установяват антитела, при трима болни не е провеждано изследване на антитела и диагнозата е поставена по други диагностични критерии. От публикуваните данни от 2023 г. за европейските пациенти се вижда, че само 9% са ANCA негативни [25]. Данните за нашите ANCA негативни пациенти са близки с цитираните по-горе. Това показва, че наличието на антитела е много съществен фактор за поставянето на диагнозата ANCA асоцииран васкулит при българските условия и негативните антитела могат да доведат до отхвърляне на диагнозата и често антителата вземат превес срещу клиниката. Това съвпада и с данните от европейските кохорти болни през последните години. Когато пациентите боледуват от системен васкулит на малките съдове и не могат да бъдат класифицирани в нито един от ГПА, ЕГПА, IgA васкулит (HSP), криоглобулинемичен или вторичен васкулит, те би трябвало по принципа на изключването да бъдат класифицирани като МПА [6,7]. Установено е, че в тази група пациенти с МПА позитивните за PR3-ANCA имат некротични лезии в респираторния тракт, докато пациентите с MPO-ANCA имат по-често полипоза или бронхиална обструкция. Нещо повече, еозинофилията е по-честа при пациентите с MPO-ANCA асоциирания МПА [13, 115].

Анти-PR3 антителата се считат за сензитивен маркер за активна грануломатоза на Вегенер. Пациентите с активна GPA, която е ограничена само в горния респираторен тракт, имат анти-PR3 в 1/3 от случаите [125, 170, 171]. Анти-PR3 се открива и в 50% от случаите с МПА, по-малко при тези с некротизиращ олигоимунен ГН [147, 148]. Когато всички тези данни се комбинират, специфичността на анти-PR3 за васкулит на малките съдове става 98% [149]. Анти-MPO антитела се откриват сред около 80% от пациентите с активен идиопатичен олигоимунен гломерулонефрит (NCGN) [172], при 50% от пациентите с активен мик-

роскопски полиангиит [173], при 60-70% от пациентите с ЕГПА и при 20% с ГПА [173, 176]. Анти-МРО също така се откриват при пациенти с други аутоимунни заболявания, които не принадлежат към групата на идиопатичните васкулити на малките съдове, като анти-гломерулобазално мембранно заболяване, СЛЕ, лекарствено индуцирани ГН. По тази причина специфичността на анти-МРО за наличие на васкулит на малките съдове, е по-малка от тази на анти-PR3 и е около 80% [1, 168]. Между 60% и 95% от ANCA при GPA са cANCA и PR3-ANCA [1, 168, 169]. Когато резултатите от IIF се комбинират с тези от ELISA (cANCA/PR-3-ANCA за GPA и pANCA/MPO-ANCA за MPA), диагностичната им специфичност нараства до 99% (Hagen et al., 1998) [169]. При анализ на антителата, насочени срещу специфични антигени, установихме, че най-висока е честотата на антителата, насочени срещу протеиназа-3 (при 41.38%), при 33.79% от болните се откриват антитела, насочени срещу миелопероксидаза, и при 5.52% антитела срещу двата антигена. Според Gisslander et al. 51.2% от европейските болни с AAV са с PR3-ANCA, 41.8% са с MPO-ANCA [25], което показва по-високата честота от нашите резултати. Получените резултати за нашите болни показват, че 60.0% от тези с GPA са anti-PR3 позитивни, а 67.3% от пациентите с MPA са anti-MPO позитивни. При пациентите с EGPA преобладават антителата срещу протеиназа-3, което е сходно с резултатите от други проучвания. И двата вида антитела се срещат по-често при женския пол, като пациентите с anti-PR3 са по-млади от тези с anti-MPO. Anti-PR3 преобладават при Wegener's granulomatosis, anti-MPO при микроскопски полиангиит, като болните с този васкулит и anti-PR3 са само 19.2%, а с грануломатоза с полиангиит и anti-MPO са 15%. Установява се статистически значима връзка между GPA и anti-PR3 и между MPA и anti-MPO, което категорично потвърждава корелацията на антителата с двата васкулита. Тези данни категорично предполагат, че серотипът на ANCA

трябва да се вземе предвид при класифицирането на пациентите. Наличието на антитела е много съществен критерий за поставянето на диагноза ААV при българските условия и негативните антитела често водят до отхвърляне на диагнозата ААV. Нашето проучване не установи статистически значима разлика в процента положителни ANCA пациенти, разделени според тежестта на болестта, като системната форма на васкулитите е с най-голям процент на положителни ANCA, а най-нисък при най-леката форма – локализираната. Тежката форма е на трето място по наличие на антитела. Тези данни са подобни на данните при ANCA негативните, което показва, че наличието или липсата на антитела не е определящ фактор за тежестта на болестта, но е определящ за системността. Резултатите от нашето проучване показват, че локализираната форма протича значително по-често с anti-PR3. Потвърди се връзка между тежестта и наличието на двете антитела едновременно, при генерализирана форма имаме значително по-често две антитела едновременно, в тази група е най-висок процентът на починалите, тук е установен най-висок BVAS в сравнение с другите групи. Предишни проучвания показват строга връзка между anti-PR3 и активостта на ААV (BVAS) [1, 175, 289]. Такава тенденция се наблюдава и при нашите болни, пациентите с anti-PR3 са с по-високи стойности на BVAS, като разликата не е съществена. Не се установи корелация между изхода на болестта и отделните антитела. Процентът на починалите е по-висок в групата на болните с anti-MPO, а на постигналите ремисия в групата на anti-PR3, но разликите не са съществени. Наличието на ANCA при поставянето на диагнозата води до повишен риск от смърт според някои автори [149, 235, 340]. Множество проучвания не намират отчетлива разлика в преживяемостта между пациентите с PR3-AAV и MPO-AAV, но някои намират влошена преживяемост при тези с PR3-AAV [240]. Според С. Franssen и сътр. пациентите с anti-MPO са с по-лоша преживяемост в сравнение с anti-PR3 [180].

При нашата група болни процентът на починалите е по-висок в групата на anti-MPO, а на постигналите ремисия е по-висок в групата на anti-PR3, като разликите не показват статистическа значимост. Прави впечатление високият процент на починалите, при които се открива комбинация на двете антитела (anti-PR3 и anti-MPO), което не се наблюдава при болните в ремисия и това определя лошата прогностична стойност на тази комбинация.

Антинуклерните антитела, които са типични за някои колагенози, се смята, че не участват в патогенезата на системните васкулити, макар че те се позитивират неспецифично заедно с антикардиолипиновите при някои васкулити, какъвто е гигантоклетъчният артериит [1, 351]. В литературата няма достатъчно данни за честотата на ANA и антикардиолипиновите антитела при AAV, както и за РФ. Според проучване на Martinez et al., 2015, от 13 изследвани пациенти при нито един не са открити позитивни ANA [352]. Нашите ANCA позитивни пациенти са с висока честота на ANA и те се откриват в половината от случаите. РФ се позитивира при 40.54% от болните, малко по-често при тези с грануломатоза с полиангиит, като всички болни с РФ са имали клинично изявен артрит. Това потвърждава ролята на РФ в патогенезата на ставното възпаление. В настоящата работа антитела, които са специфични за системния лупус еритематодес (антитела срещу двойноверижна ДНК – anti-dsDNA), се позитивират при 13.23%, а антитела срещу различни рибонуклеопротеини – RNP и RNP/Sm, намерихме само при двама болни. Антикардиолипинови (ACLA) се установяват при 16.67% от болните. Пациентите с микроскопски полиангиит позитивират по-често в сравнение с грануломатозата на Вегенер anti-dsDNA и ACLA, без сигнификантна разлика. Антитела срещу гломерулнообазалната мембрана не се позитивират при нито един от пациентите с AAV и бъбречно засягане. Тези антитела вероятно не играят роля в патогенезата на гломерулонефри-

тите при AAV. Наблюдават се различни комбинации на припокриване между антителата, като най-честото припокриване на anti-dsDNA е с anti-MPO и с anti-PR3. Ниският процент на припокриване между антителата потвърждава водещата роля на ANCA при AAV и това, че останалите антитела вероятно са свидетел на заболяването и имунен феномен в определен период от протичането на болестта. При продължителното проследяване на болните за период от над 5 години не се наблюдава развитие на припокриващи прояви. Счита се, че AAV като цяло не припокриват с други автоимунни ревматични заболявания и съществуват твърде малко данни в литературата за това. Най-често това се случва с ревматоиден полиартрит, следван от СЛЕ, склеродермия, синдром на Съогрен [315, 317, 310, 318]. При нашите пациенти с AAV се открива клинично и имунологично припокриване само при четирима пациенти – с РА при трима пациенти, при един със СЛЕ.

Интерес представлява фактът, че в началото един от AAV, микроскопският полиангиит (MPA), не фигурира в класификационните критерии, създадени от ACR през 1990 г. [6, 7]. Тогава се е смятало, че MPA и PAN са различни форми на една и съща болест, тъй като клиничните им манифестации са твърде близки. Впоследствие се установява, че те са съвсем различни васкулити. Разликата идва основно от това, че MPA е васкулит на малките съдове, което обяснява клиничните му манифестации, като бързо прогресиращ гломерулонефрит, белодробен капилярит, често с хеморагии, които не се срещат при PAN [3, 7]. След откриването на ANCA (van de Woude et al., 1985), които се наблюдават само при пациенти с васкулити на малките съдове и са изключващ критерий за PAN, MPA се отдиференцира окончателно. Въпреки че според съвременните класификационни критерии полиартериитис нодоза (PAN) и микроскопският полиангиит (MPA) са разделени като васкулити от две съвсем отделни групи, все още MPA понякога се включва при PAN. ANCA антителата са маркер за клинично и

патофизиологично разграничаване на васкулитите на малките съдове и липсват при пациенти с PAN [6]. В настоящата работа установихме ANCA, и то без типичното светене, при трима болни с PAN, без да се позитивират антитела срещу протеиназа-3 или миелопероксидаза. Това потвърждава твърдението на СНСС, 1994, че ANCA не са свързани с PAN и наличието им е по-скоро изключващ критерий за диагнозата PAN [1, 6].

**Заключение:** В текущата ревматологична практика откриването на ANCA се явява съществен критерий за поставянето на диагнозата ANCA асоцииран васкулит. Съществува връзка между PR3-ANCA и GPA и между MPO-ANCA и MPA. Нашето проучване не установи статистически значима разлика в процента положителни ANCA пациенти, разделени според тежестта на болестта. Подобни са данните при ANCA негативните, което показва, че наличието или липсата на антитела не е определящ фактор за тежестта на болестта. Потвърди се връзка между генерализираната форма и наличието на двете антитела едновременно, както и между локализираната форма и анти-PR3. РФ се позитивира често и се асоциира с артритни промени. Антигломерулобазалномембранни антитела не се позитивират при нито един от пациентите с AAV. Комбинацията на ANCA с anti-dsDNA и ACLA се асоциира с тежки васкулитни прояви. ANCA антитела не се установяват при PAN и наличието им по-скоро изключва диагнозата.

## **6. Имунологични асоциации на клиника, локализации и протичане при различните антитела в българската популация**

През последните години беше установено, че съществуват различия между пациентите с PR3-AAV и тези с MPO-AAV, като те са описани преди повече от 10 години. Сегашни проучвания показват, че класификационните системи, които се основават на специфичността на ANCA, по-добре отразяват спектъра на ANCA асоциираните васкулити.

Проучванията, които специфично сравняват клиничните прояви и изхода от болестта между PR3-AAV и MPO-AAV са относително редки [240, 243, 247]. Те показват, че PR3-AAV се срещат по-често в северната част на света, докато MPO-AAV са по-чести в южните райони на Европа и Азия [300, 301, 302]. Двата серотипа трудно се различават помежду си по клиничните прояви, но все пак съществуват различия помежду им. ANCA асоциираните васкулити като системни васкулити поразяват множество органи и системи. Счита се, че повече по брой органи се засягат при PR3-ANCA асоциираните васкулити, а изолираното бъбречно ангажиране е по-често при пациентите с MPO-ANCA асоциираните васкулити. Комбинацията от засягане на ГДП, бял дроб и бъбрек е по-честа при PR3-ANCA васкулитите [14, 180]. Възпалението на ГДП при PR3-ANCA обичайно е грануломатозно, често некротизиращо с бързо настъпващи деструкции в сравнение с MPO-ANCA (Tervaert et al., 1991, [Martinez et al., 2003) [148, 352]. Направихме сравнение между клиничните прояви при PR3-AAV и MPO-AAV по системи и типични симптоми, за да установим има ли клинични различия между тях. При нашите 58 пациенти с положителни PR3-ANCA повече от половината имат прояви от горния респираторен тракт, като синусит, епистаксис, ринит, септални ерозии и перфорации, отити, мастоидити, субглотисна стеноза. Те са наблюдавани значимо по-рядко при MPO-ANCA, като при тези болни не е имало деструкции и тежки прояви от страна на органите. Белият дроб участва по-често при пациентите с PR3-ANCA, но без да е налице статистическа значимост. Белодробното ангажиране е различно по природата при двата вида васкулит (GPA и MPO). По литературни данни рентгенографски нодули и кавитации се откриват по-често при PR3-ANCA, докато инфилтрати и промени тип „матово стъкло“ при MPO-ANCA (Homma et al., 2013, Tervaert, 1990, Hruskova et al., 2013) [173, 189, 240, 335, 337]. Находките от образните изследвания на нашите болни показ-

ват, че нодули, кавитации и инфилтрати, белег на грануломатозно възпаление, се откриват два пъти по-често при пациентите с положителни PR3-ANCA, а промени, говорещи за наличие на васкулит като „матово стъкло“, се срещат еднакво често и в двете групи. Разликата е значима само по отношение на белодробните нодули, които са по-чести при PR3-ANCA. Белодробната хеморагия, типичен белег на белодробен капиллярит, е описана по-често при MPO-AAV (Tervaert et al., 1990), но следващи проучвания показват по-висока честота при PR3-AAV [159, 192]. При нашите болни значимо по-често наблюдавахме белодробна хеморагия при болните с MPO-ANCA, данните ни потвърждават тези на Tervaert et al., 1990. Подобни данни установихме и за нарушенията в белодробната функция, които са значимо по-чести при MPO-ANCA. Като цяло MPO-ANCA се свързват с по-висока честота на ILD при пациенти с AAV основно сред азиатското население [342, 302]. Ние не откриваме статистически значима разлика в белодробното ангажиране по типа на интерстициалната белодробна болест при двете групи наши болни, което не съвпада с данните на предишни проучвания [136, 188, 189, 218, 302, 342].

Бъбречната болест е честа проява на AAV и се наблюдава еднакво често при MPO-AAV и PR3-AAV [159, 172, 173, 180, 190]. Ние установихме, че пациентите с MPO-ANCA по-често имат гломерулонефрит от тези с PR3-ANCA, без резултатът да е значим. Основните симптоми, характерни за AAV, като протеинурия и еритроицтурия се срещат по-често при пациентите с MPO-ANCA, без да се установява статистически значима разлика. Бързо развитие на бъбречна недостатъчност се наблюдава по-често при MPO-ANCA гломерулонефритите, нуждата от диализно лечение също е по-голяма при тази група болни. Проведените ПББ показват по-голям процент на полулунен гломерулонефрит при MPO-ANCA, без да е налице статистическа значимост. Няма разлика и в оста-

налите находки освен в гломерулната склероза, която се наблюдава по-често при MPO-ANCA. Данните на Hauer et al., 2002, Franssen et al., 1998, също са показали, че фиброзата и склерозата са по-чести сред болните с MPO-ANCA [179, 190]. Според Limburg Renal registry, C3 депозитите преобладават при MPO-AAV, сравнени с PR3-AAV [240]. Нашите данни потвърждават техните. Установихме отлагане на депозити от имуноглобулини и комплемент при IIF малко по-често при MPO-ANCA в сравнение с PR3-ANCA. Също така отлагането на C3 е по-често при MPO-ANCA. Установихме, че сърдечно-съдовата система се засяга по-често без статистическа значимост при MPO-ANCA васкулитите, подобно на досегашните данни, които са оскъдни [346]. Нервната система се засяга по-често при PR3-ANCA, периферната система се поражда еднакво при двете групи, засягането на ЦНС е по-често при PR3-ANCA, като неврит на ЧМН сме наблюдавали само при PR3-ANCA. Засягането на НС е еквивалентно при пациентите с PR3-ANCA и MPO-ANCA (по 7%) според Suppiah et al., 2011, Cattaneo et al., 2007) [232]. Кожни лезии сме наблюдавали малко по-често в групата на PR3-ANCA. Некрозите по кожата са сравнително рядко и в двете групи, по-често без значимост в разликата. Според досегашните известни данни между 20 и 40% от болните имат кожни лезии при стартирането на болестта, без разлика от ANCA серотипа (Chen et al., 2013) [89], те са подобни на нашите. Не установихме разлика в ставното засягане, което се наблюдава при > 50% от случаите. Очни прояви значимо по-често сме наблюдавали в групата на PR3-ANCA. Тези данни са сходни с данните на Seo et al. от 2004 г. и на Rotshshield et al., публикувани през 2013 г. [145, 168, 175, 187].

В групата на пациентите, които са положителни за двете антитела, по-често, отколкото при наличие на едно антитяло, сме наблюдавали нарушение във функцията на засегнатите органи и това е групата с най-висок процент болни с бъбречна, дихателна и сърдечна недостатъчност.

Смъртността при тези болни е по-висока процентно в сравнение с групите с единично антитяло, което показва, че комбинирането на антителата е свързано с по-тежък и агресивен ход на васкулита. В литературата няма данни за AAV, положителни за двете антитела едновременно. В едно проучване на болни с AAV при китайски пациенти от 89 болни един е имал двете антитела [148]. Не намерихме сигнификантни разлики между пациентите с положителни PR3-ANCA и Anti-MPO-ANCA по отношение на лабораторните показатели с изключение на броя левкоцити, които са сигнификантно по-често повишени при PR3-ANCA, и това се свързва с по-честото засягане на ГДП и белия дроб в тази група. Средната стойност на креатинина е по-висока, но не значимо, в групата на MPO-ANCA.

Както е налице съществено клинично припокриване между отделните ANCA асоциирани системни васкулити, такава е налице и между PR3-ANCA и MPO-ANCA положителните случаи. Трудно е да се направи граница и да се различат васкулитите според ANCA специфичността. Клиничните прояви на AAV и грануломатозата на Wegener може да се разделят на предимно васкулитни, каквито са гломерулонефрит, алвеоларни хеморагии, кожен, очен васкулит, неврит, и на такива, дължащи се на грануломатозно възпаление: ретроорбитални и белодробни маси, синузити, субглотисна стеноза, трахеобронхиално и менингеално ангажиране. Грануломите са характерни за грануломатоза с полиангиит и са изключващ критерий за микроскопски полиангиит, където се наблюдава само васкулит. Антителата срещу PR-3 се считат за диагностичен маркер за грануломатоза. Ние установихме определени различия в клиничните манифестации и протичането между тях, като те са изразени за симптомите, свързани с формирането на грануломи, което е сигнификантно по-често при PR3-ANCA и несъществени за васкулитните прояви, като механизмът на тези различия остава неизвестен. Вероятно той е свързан с реактивността на PR3 с T-

лимфоцитите, които играят съществена роля във формирането на грануломи. Когато са налице едновременно грануломатозно възпаление и васкулитни прояви, не се установява разлика между двете антитела.

Множество анализи на пациенти с GPA и MPA показват, че ANCA специфичността се асоциира по-силно с изхода на болестта като смъртност и рецидиви в сравнение с традиционното разделяне на GPA – MPA. Систематичен преглед на данните показва, че в някои проучвания MPO-ANCA имат по-лоша преживяемост от тези с PR3-ANCA (на Mухtуyаr et al., 2008) [236], от друга страна, множество проучвания не намират разлика и преживяемостта е сходна в двете групи (Hauer et al., 2002, de Joode et al., 2013) [190, 242]. Едно проучване показва по-висока преживяемост при пациентите с PR3-ANCA (Weidner et al., 2004) [348]. Анализът на нашите болни не намира разлика в смъртността при пациентите с PR3-ANCA и MPO-ANCA, което съвпада с повечето анализи.

***Заключение:*** Двата серотипа трудно се различават помежду си по клиничните прояви, но все пак съществуват различия помежду им. ANCA специфичността се оказва важна, но не задължителна за разграничаване на двата васкулита. Разлики се установяват осовно по отношение на грануломното възпаление, без да има такива съществени за васкулитните прояви.

## **7. Анализ на различни терапевтични режими при болни с ANCA асоцииран васкулит**

Приложението на циклофосфамид има революционна роля в лечението на AAV. Този алкилиращ агент е ефективен медикамент при контролиране активността на тази група болести. Негова „мишена“ са дейщите се имунни клетки, като е установено, че влияе както върху хуморалния, така и върху клетъчно-медиация имуноен отговор [252, 263]. Циклофосфамидът има изразен супресивен ефект върху В-лимфоцитите

и по-силен ефект върху CD8<sup>+</sup> Т-цитотоксични клетки в сравнение с CD4<sup>+</sup> Т-хелперни лимфоцити. Токсичните ефекти на циклофосфамид ограничават неговото приложение, като дълготрайното му използване при болни с хроничен рецидивиращ AAV се превръща в предизвикателство. Друг революционен медикамент в лечението на AAV е ритуксимаб – химерично моноклонално антитяло, насочено срещу CD20, клетъчен антиген, който се експресира върху повърхността предимно на В-лимфоцитните клетъчни линии [60, 263, 282, 284]. Свързвайки се с CD20 антигена, ритуксимаб индуцира различни механизми, които водят до селективна деплеция на В-лимфоцитите [282, 284]. Съгласно препоръките на EULAR тежките форми на ANCA асоциираните васкулити се лекуват с циклофосфамид или ритуксимаб [124, 251, 280].

Анализът на проведеното лечение на ANCA асоциираните васкулити при нашите пациенти показва, че пациентите с по-малка тежест на заболяването са лекувани с по-ниска доза КС и по-мек имunosупресор като метотрексат или азатиоприн, понякога и циклофосфамид. Тези с по-тежка болест са лекувани с висока доза КС, пулс терапия с КС в комбинация с циклофосфамид или ритуксимаб, а при най-тежките форми към тях е добавен още един имunosупресор или плазмафереза. С кортикостероиди са лекувани 85.91% от случаите при диагностицирането на заболяването в доза 1 mg/kg тегло, при 75.06% е провеждана пулс терапия с метилпреднизолон за период минимум шест месеца, обикновено и по-продължително. Едновременното приложение на КС и циклофосфамид е най-често прилаганата терапевтична схема. Лечението с циклофосфамид обичайно като ежемесечни ПТ и доста по-рядко като ежедневен прием през устата е провеждано по-рядко при българските пациенти, въпреки че повечето ръководства препоръчват комбинираното лечение с кортикостероиди и циклофосфамид [251, 252, 258]. В наличната литература различни автори съобщават за приложение на комбинирано лечение

между кортикостероиди и циклофосфамид при значителен процент болни с ААV. F. Lurati-Ruiz и сътр. прилагат кортикостероиди и циклофосфамид при 89% от пациентите с ААV [252]. В азиатско изследване 94% от болните с микроскопски полиангиит са лекувани с пулсова терапия, включваща кортикостероид и циклофосфамид [252]. Н. Hashimoto и сътр. използват циклофосфамид при 62.3% от пациентите с МРА и при 96.3% с GPA [143]. Според настоящото изследване циклофосфамидът е използван по-рядко – при 53.52% от болните, в сравнение с данните от литературата. Причините за избягване на циклофосфамид при стартиране на терапията са съответно по-младата възраст на пациентите в наблюдаваната група и наличието на бъбречно ангажиране. Обобщавайки резултатите, установихме че циклофосфамидът е предпочитан медикамент при болни, при които васкулитът протича с ангажиране на горни дихателни пътища и бял дроб (както грануломатозни, така и васкулитни белодробни прояви). Тези резултати са сходни с данните, публикувани от Fauchou и сътр., които показват, че циклофосфамид се използва по-често при прояви от страна на горни дихателни пътища при болни с GPA и белодробни хеморагии при МРА [328]. Фактът, че ангажирането на ГДП беше наблюдавано по-често при пациентите с GPA, обяснява защо циклофосфамид е използван по-често сред тази група болни, сравнявайки го с ритуксимаб. От своя страна ритуксимаб е предпочитан медикамент при ААV с бъбречно ангажиране и тъй като проявите от страна на бъбрека бяха по-чести при пациенти с МРА, става ясно и по-честото приложение на ритуксимаб в тази група. В настоящата работа бързо развиващата се бъбречна недостатъчност е един от основните фактори, определящ директно лечение с ритуксимаб. Ритуксимаб е предпочетен медикамент на първи избор също и при болни с рецидивиращи и трудно повлияващи се инфекции, както и след преживян миокарден инфаркт и рсърдечна недостатъчност. В хода на лечението с циклофосфамид най-

честите причини за заменянето му с ритуксимаб са недостатъчна ефективност на терапията, персистираща активност на болестта, рецидив на заболяването след постигнато клинично подобрене и нежелани лекарствени събития (панцитопения, повишени чернодробни ензими, съдови инциденти).

Съгласно EULAR препоръките лечението на леките форми на AAV (васкулити, които не са животозастрашаващи и не протичат с тежки огранни поражения) включва комбинирана терапия кортикостероиди с ритуксимаб, варианти са метотрексат и/или микофенолат мофетил [125, 251]. От нашите пациенти 4.93% са приемали по-мек имunosупресор като метотрексат, 6.34% – микофенолат мофетил. Пациентите на лечение с ММФ имат поне един признак, говорещ за бъбречно ангажиране. Всички болни, лекувани с ММФ, са с еритроцитурия и данни за бъбречна недостатъчност. Draibe и сътр., Jones и сътр. описват ММФ като ефективен и добре толериран за продължително лечение при AAV с бъбречна болест [354, 355]. Метотрексат може да замести циклофосфамид за индукция на ремисия при пациенти с неживотозастрашаващи форми на васкулитите, също така може и да се използва за поддържане на ремисия [125, 251, 356]. Според Европейското проучване NORAM при болни без бъбречно засягане и метотрексат, и циклофосафамид постигат сходни нива на ремисия [252, 258]. Нашите болни с локализирана форма на грануломатоза с полиангиит са лекувани основно със сериозна имunosупресия: циклофосфамид 24%, с ритуксимаб 25%, с метотрексат само 8%, което показва, че при диагностицирането на заболяването пораженията на горните дихателни пътища и белия дроб са тежки, което е наложило по-сериозна имunosупресия. Според Оно и сътр. симптомите от страна на ГДП при GPA в Япония най-често се лекуват с циклофосфамид [332].

Според EULAR препоръките плазмаферезата намира приложение при пациенти с бързо прогресираща бъбречна недостатъчност [125]. В настоящата работа плазмафереза е проведена при 2.82%. Плазмаферезата като метод на лечение обичайно се прилага при болни с високи серумни нива на креатинин. Проучването Methylprednisolone versus plasma exchange показва, че плазмаферезата води до възстановяване на бъбречната функция при AAV, дебютиращи с бъбречна недостатъчност [265, 266]. В нашето изследване двама от болните въпреки проведената плазмафереза остават трайно на хронична хемодиализа, един от болните се подобрява, но персистира бъбречната недостатъчност и една болна възстановява бъбречната функция.

Интравенозните имуноглобулини намират приложение в лечението на AAV като адитивна терапия към конвенционалните имunosупресори. Jaуene и сътр., Fortin и сътр. установяват, че прилагането на интравенозни имуноглобулини намалява активността на васкулита при болни с персистираща активност на болестта [270, 271]. Лечение с инфузии на имуновенин е проведено при 11.27% от нашите болни. Имуновенинът е приложен без имunosупресор, комбиниран с циклофосфамид или с ритуксимаб. След проведено лечение с имуноглобулини резултатите не са много добри, преобладават починалите пациенти.

Тежките форми на болестта са лекувани основно с циклофосфамид или ритуксимаб, със или без циклофосфамид. Пациентите с грануломатоза с полиангиит малко по-често с циклофосфамид, а тези с микроскопски полиангиит с ритуксимаб, което е свързано с по-високата честота на бъбречно заболяване при тези болни. Пациентите с GPA и с MPA със симптоми от страна на бъбреците са лекувани по-често с ритуксимаб, и обратно, тези със симптоми от страна на белите дробове – по-често с циклофосфамид, което важи и за грануломатозните, и за васкулитните белодробни прояви. Избягването на циклофосфамид в нашите условия се асоциира с по-

младата възраст на пациентите и с наличието на бързопрогресиращ гломерулонефрит. Не установихме разлика в режима на лечение при пациентите с позитивни антитела срещу протеиназа-3 и миелопероксидаза. Тежестта на болестта е била еднаква при пациентите, лекувани с двата режима.

Обобщените резултати за изхода от лечението показват, че лекуваните с ритуксимаб пациенти статистически значимо по-често са се подобрили в сравнение с циклофосфамид, но пък лекуваните с циклофосфамид по-често са достигнали до ремисия на заболяването, без статистическа значимост. Пациентите, лекувани с ритуксимаб са с по-ниска смъртност, сравнени с циклофосфамид, без резултатът да е със статистическа значимост. При GPA най-много болни са подобрили след лечение с ритуксимаб, но пък ремисията е най-честа след циклофосфамид и най-рядко след самостоятелно лечение с ритуксимаб. Починалите са най-много в групата на циклофосфамида. При MPA най-много болни са подобрили след лечение с ритуксимаб. Ремисия е постигната по-често при тези, лекувани с циклофосфамид. Разликите между отделните групи не са достоверни. Според нашите резултати ремисия се постига най-добре след лечение с циклофосфамид, когато болните нямат противопоказания и го понасят добре за достатъчно дълъг курс на лечение. От друга страна, това е и групата с най-много починали пациенти, като най-честата причина за смърт са възникнали инфекции в хода на лечението. Най-малко са починалите при лекуваните с ритуксимаб и при болните с микроскопски полиангиит, и при тези с грануломатоза с полиангиит. Тези данни потвърждават данните от проучването RAVE и тези на Jones и сътр., Stone и сътр. според които ритуксимаб не превъзхожда циклофосфамид за лечение на тежки ANCA асоциирани васкулити [299, 263].

Болните с антитела срещу протеиназа-3 най-често са лекувани с циклофосфамид, последван от ритуксимаб. От тях най-много подобрили са тези, лекувани с ритуксимаб самостоятелно, най-честа е ремисията

при лекуваните с циклофосфамид. Пациентите с антитела срещу миелопероксидаза също най-често са лекувани с циклофосфамид и ритуксимаб самостоятелно. Най-добри резултати от лечението в тази група са наблюдавани в групата, лекувани с ритуксимаб. В групата на ритуксимаб след циклофосфамид са най-много болните с ремисия на болестта. Пациентите, лекувани самостоятелно с циклофосфамид, имат най-високи нива на починали. Общата смъртност и при двата режима е 8,1%, което е доста по-добър резултат от този на Jones и сътр., където смъртността е 18% [299]. Пациентите, които са лекувани с циклофосфамид, са били със засягане основно на три и повече системи и само един пациент е с моноорганично засягане. Обратно, при лекуваните с ритуксимаб преобладават тези със засягане на един орган, и то на бъбрек. Лечение с ритуксимаб след циклофосфамид е провеждано при пациенти основно с полиорганично засягане. Когато има мултиорганично засягане и комбинация между грануломатозно възпаление и васкулит, е предпочетено лечението с циклофосфамид, а при изолиран васкулит – с ритуксимаб.

Публикуваните данни за серии от болни, лекувани с ритуксимаб, включват над 250 болни [216, 222, 223, 254, 283, 290, 292, 357]. В нашата серия са лекувани и анализирани 78 пациенти, като 52.5% от тях преди това са лекувани с циклофосфамид. Най-често смяната е поради недостатъчна ефективност на терапията или рецидив на заболяването. Основните причини за предпочитането на ритуксимаб при започване на лечението при нашите болни са младата възраст на пациентите и бързо развиваща се бъбречна недостатъчност, както и наличието на рецидивирани и трудно повлияващи се инфекции или противопоказания за лечение с циклофосфамид.

Анализът на резултатите от лечението показва, че подобрените болни и тези в ремисия са сигнификантно повече от стабилизирани, влошилите се и починалите. При болните, провели курс на лечение с ри-

ритуксимаб, 21.8% са с много добър терапевтичен отговор и са в пълна ремисия, което е по-малко от германския регистър, където тя е при 40%, частична ремисия е постигната при 50%, което е подобно на германския регистър GRAID от 2012 г., където ремисията е 52.7% [356], както и тези на Stone и сътр., където 63% от 99 пациенти достигат ремисия [263], и тези на Wendt и сътр., описващи серия от 16 болни с рефрактерни на лечение AAV, от които 12 постигат пълна ремисия [284]. От друга страна, в ретроспективно проучване на Holle и сътр. при резистентни на лечение пациенти с GPA ремисия са постигнали 9.3%, а отговор към лечението е документиран при 61.3% [357]. Основната част от нашите пациенти, които са лекувани с ритуксимаб, са с моноорганно засягане, и то на бъбрек. Нашите данни показват, че ритуксимаб има ефект върху всички бъбречни симптоми – при 2/3 от случаите стойностите на креатинина са с тенденция за понижение, при 2/3 от пациентите протеинурията е изчезнала или е намаляла (1/3 са без протеинурия след курса с ритуксимаб, 1/3 имат намаление на протеинурията, 1/3 са без промяна). Добри резултати се наблюдават и по отношение на еритроцитурията – половината от болните след лечение са без еритроцитурия. Stone и сътр. показват, че в тяхната група болни 52% са с бъбречно ангажиране и 61% постигат ремисия след ритуксимаб [263]. Болните с изолирано белодробно ангажиране също имат добър ефект от лечението с ритуксимаб – повече от половината от пациентите са с ремисия (58.3%), 25% от пациентите са подобрили и толкова са стабилизирани, няма починали. Подобни са данните и на Stone, където 57% от болните, които имат белодробно засягане, постигат ремисия [263]. От болните с пулморенална болест почти половината са подобрили от ритуксимаб (48.6%), при 22.2% е достигната ремисия, но в тази група са и най-много починалите – 5.6% от болните. При проучването на Holle и сътр. пълна ремисия/подобрене са отчетени

при 89.2% от пациентите с бъбречно заболяване и само при 44.4% от тези с орбитални маси [357].

Когато сравнихме двата терапевтични режима (с ритуксимаб и циклофосфамид) при пациентите съответно с GPA и MPA установихме, че по-голям процент от болните, лекувани с ритуксимаб, имат клинично подобрене, като то е малко повече при пациентите с GPA. По отношение на клиничната ремисия, тя е по-честа при пациентите, лекувани преди това с с циклофосфамид, по-често при пациентите с MPA. Това потвърждава резултатите от проучването RAVE, както и тези на R. Jones et al., J. Stone et al., които твърдят, че ритуксимаб не превъзхожда по ефективност циклофосфамид при лечение на тежки ANCA асоциирани васкулити [235, 263, 357].

Ритуксимаб оказва своя ефект основно чрез действие върху В-клетките, водейки до тяхната супресия. Според изследване на Jones и сътр. всичките им пациенти след лечение с ритуксимаб стават ANCA негативни [261]. Според Stone и сътр. 47% са негативните след лечение, като за anti-PR3 са малко повече – 50%, а за anti-MPA – 40% [263]. Тези данни се различават от нашите. 85.90% от нашите пациенти са имали ANCA преди приложението на ритуксимаб, след ритуксимаб при 82% антителата се негативират. Не установихме разлика между вида на антителата при останалите позитивни. При голяма част от пациентите, които не са се повлияли имунологично, не се наблюдава и клинично подобрене, което показва, че клиничната активност при нашите болни корелира с имунологичната, което се различава от данните на Stone и сътр., където негативирането на ANCA не се асоциира с достигането на ремисия. При анализ на вида на антителата се установи, че по-добри резултати от лечението се наблюдават при анти-PR3 позитивните, където повече болни са подобрени или са постигнали ремисия, но от друга страна, тук са повече починалите пациенти. В групата на анти-MPO са повече стацио-

нираните болни, разликите не са значими. Ремисията е по-честа след предхождащо лечение с циклофосфамид.

Според данни на германския регистър GRAID от 2012 г. [358] от 58 пациенти, лекувани с ритуксимаб, починали са четири (6.90%), процентът на починали наши пациенти е 6.41%. Осем от болните, подобрени след проведено лечение и на фона на продължаващо лечение с ритуксимаб, са получили рецидив на болестта, без да има разлика в двете диагнози, както и в антителата. При трима от тях антителата са се позитивирали преди това.

Поносимостта на ритуксимаб е добра. Страничните реакции са редки, включват реактивация на Herpes zoster инфекция, инфузионна реакция, алергичен обрив след инфузията и при нас те не се различават от данните на другите проучвания [216, 222, 263, 357, 358].

**Заклучение:** Избягването на циклофосфамид при българските пациенти се асоциира с по-младата възраст на пациентите и с наличието на гломерулонефрит. Предпочитан медикамент при моноорганно засягане е ритуксимаб. Циклофосфамид, прилаган достатъчно дълго време, е медикаментът, който най-често води до ремисия и при GPA, и при MPA. Ритуксимаб не превъзхожда циклофосфамид по отношение на клиничното подобрене, но статистически значимо подобрява преживяемостта. В България не се прилага комбинация на циклофосфамид с ритуксимаб. Режимът на прилагане на ритуксимаб след неуспех или противопоказания за циклофосфамид се оказва по-удачен при пациентите с ГПА. Наличието или липсата на ANCA преди лечението не влияе върху ефективността на лечението. Нашите данни потвърждават, че използването на ритуксимаб при AAV води до клинично подобрене и е добре поносимо при българските пациенти. Те дават още доказателства, че ритуксимаб може да бъде ефективен при трудни за лечение пациенти, неповлияли се от предишно лечение и такива, които са показали непоноси-

мост. Медикаментът е ефикасен и добре понасящ се от проблемните пациенти. Той показва достатъчно добър ефект и при белодробни, и при бъбречни прояви, и при моноорганно засягане. Ефектът върху антителата е по-добър в сравнение с наблюдаваното досега в практиката. Негативирването на ANCA се асоциира с клинично подобрене след лечение с ритуксимаб и ефективността на ритуксимаб е по-висока при anti-PR3 положителните.

## **8. Анализ на клиничната картина и причините за смърт при починалите пациенти**

Благодарение на съвременното лечение васкулитите от живото-застрашаващи състояния станаха хронични заболявания с чести рецидиви. Но болните с AAV продължават да бъдат с по-кратка продължителност на живота в сравнение с общата популация. Ние направихме анализ на смъртността и причините за смърт при нашите болни с AAV и определихме факторите, които предсказват лоша прогноза. Проучване на EULAR, публикувано през 2008 г., сочи, че от трите васкулита най-висока петгодишна преживяемост е наблюдавана при GPA – 71-84%, за MPA нивата са 45-76% и за EGPA – 60-97% [235]. За срока на проведеното от нас наблюдение общата преживяемост при нашите болни е 88.7%, което е близко и малко по-високо от данните на EULAR от 2008 г. Това потвърждава, че преживяемостта като цяло се е увеличила за последните десет години. По диагнози тя е 88.75% за GPA, 86.54% за MPA и 75% за EGPA. Едногодишната и петгодишната преживяемост са съответно 94.4% и 88.7%. Преживяемостта на нашите пациенти е сравнима с малки предишни проучвания, където данните за едногодишната преживяемост са между 82% и 97%, за петгодишната – между 45% и 91%, и за десетгодишната – 88% за пациентите с GPA и MPA [141, 209]. Преглед на литературните данни показва по-лоша преживяемост при болните с MPA в

сравнение с GPA [236, 246]. В нашата група GPA е по-често срещаният васкулит. Данните ни показват също разлика в преживяемостта при отделните ANCA васкулити. Тази разлика започва да се наблюдава след четвъртата година, когато преживяемостта при микроскопския полиангиит значително намалява. Чрез метода на Каплан-Майер се потвърждава значима разлика между преживяемостта при двата основни вида васкулит, пациентите с грануломатоза с полиангиит преживяват повече от тези с микроскопски полиангиит. Наличието на ANCA при поставянето на диагнозата води до повишен риск от смърт според някои автори [235, 236, 244, 276]. От друга страна, някои проучвания не намират разлика в преживяемостта между пациентите с PR3-AAV и MPO-AAV [240]. Ние не установихме разлика в преживяемостта при пациентите с различни видове антинеутрофилноцитоплазмени антитела, подобно на наблюденията на Lane и сътр., 2005, Hogan и сътр., 1995, Weidner и сътр., 2004 [149, 244, 348]. Според Franssen и сътр. пациентите с anti-MPO са с по-лоша преживяемост в сравнение с anti-PR 3 [180, 349]. Ние не открихме съществена разлика при нашите пациенти, но прави впечатление високият процент на починалите, при които се открива комбинация на двете антитела (anti-PR3 и anti-MPO), което не се наблюдава при болните в ремисия и това определя лошата прогностична стойност на тази комбинация. По литературни данни смъртността при пациентите с anti-PR3 се определя основно от наличието на дифузна белодробна хеморагия и от бъбречните релапси във времето, а на тези с anti-MPO – от бързо настъпила бъбречна недостатъчност [242, 246, 349]. Със засягане на бял дроб са 66.67% от починалите болни, от тях половината са с белодробни кавитации, а останалите са с белодробен васкулит. С некротизиращ гломерулонефрит са 9 от починалите (50%). Всички починали пациенти с ГН са с нарушена бъбречна функция, 20% от тях са на диализно лечение. Рискът от смърт е еквивалентен при пациентите с мултисистемни мани-

фестации и тези с ограничение на болестта в един орган, такива са данните и на други автори [244]. Пациентите с васкулит в множество органи заедно с бъбречен васкулит имат риск от смърт, подобен на тези с ограничен само в бъбрека васкулит.

Множество проучвания установяват връзка между активността на болестта, измерена чрез BVAS, и дългосрочната прогноза [141, 234, 241, 282]. Нашият анализ показва, че средните стойности на BVAS и на FFS при починалите са по-високи в сравнение с пациентите в ремисия, разликата е налице, но не е съществена ( $p = 0.0720$  и съответно  $p = 0.0850$ ). Според Holle and Gross, 2011, също и на Flossmann и сътр., 2010 [131, 241] по-високата ранна смъртност през първата година от болестта се дължи главно на инфекции и на високата активност на васкулита, което потвърждават и нашите данни. Водещата причина за неблагоприятен изход при нашите болни е неовладяната активност на болестта, основно от страна на белите дробове и бъбреците, следвана от насложена инфекция, обичайно в първите шест месеца от започване на лечението. Това подчертава още веднъж дилемата на клиницистите как да лекуват – от една страна, е необходимостта от ранно и агресивно лечение, от друга – голямата вероятност за развитие на животозастрашаваща инфекция в хода на лечението. Дългосрочната прогноза се определя от ендотелната дисфункция и е свързана с повишен рист от кардиоваскуларни инциденти, но също така и от повишен риск от инфекции вследствие имunosупресивната терапия [1, 155, 208, 209, 232]. Установихме, че рискът от смъртен изход остава висок и след първата година от заболяването. Инфекциите остават преобладаващата причина и след първата година. Четирима от починалите пациенти са с настъпили късни сърдечно-съдови усложнения, а при един те са в комбинация с уремия.

Болните от нашата кохорта с постигната ремисия са 24.65%, което е доста по-малко от това в контролираните проучвания, където тя е 75-

85% [241, 252, 258, 291] и от това в проследяващите проучвания (75-85%) [248, 263, 276, 349]. Това вероятно е свързано с разликата в протоколите. Проведеното лечение при нашите пациенти не е според определен протокол. Най-честа е ремисията при грануломатоза с полиангиит. Не се намери разлика в нивата на ремисия при пациентите с белодробно и с бъбречно ангажиране. Оказва се, че дори и пациентите, които са със сериозни белодробни и бъбречни прояви, каквито са белодробната хеморагия, множествените кавитации и бързо прогресиращата и тежка бъбречна недостатъчност, също се повлияват добре от правилно проведената терапия. С наличие на ANCA са 85.71% от болните с ремисия, преобладават антителата срещу протеиназа-3 и няма такива с антитела срещу двата антигена едновременно. В групата на починалите болни се наблюдава обратна тенденция – преобладават анти-MPO антителата.

При сравнение на типа васкулит при групите на починалите и тези в ремисия болни се установява, че при GPA, без да има статистическа значимост е по-честа ремисията от смъртността, а при MPA е по-висока смъртността (също без значимост), което предполага, че MPA е по-опасният от двата вида васкулит. Не се наблюдава разлика в органното ангажиране при двете групи. Средната стойност на креатинина е по-висока в групата на починалите, същото се отнася и за средната стойност на С-реактивния протеин. Антитела се срещат по-често при починалите пациенти, като разликата е съществена за тези срещу миелопероксидаза, което показва, че те са по-опасните. Комбинацията на двете антитела също влошава прогнозата. Болните с повишен С-реактивен протеин, анемичен синдром, повишен креатинин са повече в групата на починалите, като разликата не е съществена. Няма разлика по отношение на повишените тромбоцити, те са високи и в двете групи. Инфекции са наблюдавани по-често в групата на починалите.

Ние открихме четири основни предиктора за лоша прогноза при поставянето на диагнозата при нашите пациенти. Това са високите стойности на BVAS и FFS, които показват висока активност на заболяването при поставянето на диагнозата, наличието на инфекции, както и белодробното ангажиране. Наличието на инфекции се асоциира с 4.409 пъти по-висок шанс за проява на смърт, белодробното засягане се асоциира с 2.97 пъти по-висок шанс за проява на смърт спрямо ремисия. Тези два показателя вероятно са свързани, пациентите с лезии в белите дробове много по-често развиват опортюнистични инфекции. Данните, които посочват Solans-Laqué и сътр., касаещи испанска кохорта болни, са сходни [359]. Лечението с ритуксимаб се асоциира с по-голяма вероятност за благоприятен изход. Вероятно ритуксимаб по-бързо потиска активността на васкулита и предотвратява настъпването на трайни органни поражения. В предишни анализи най-честите причини, които се асоциират със смъртен изход, са по-високата възраст на пациентите, мъжкият пол, високата активност на болестта, бъбречната недостатъчност [132, 141, 179]. Според някои автори рискът за смърт не е по-висок при пациентите с всякакви белодробни симптоми в сравнение с тези без такива [141]. От друга страна, белодробната хеморагия се счита за независим рисков фактор за смъртен изход [141]. Не установихме връзка на преживяемостта на пациентите с възрастта при поставянето на диагнозата, пола, наличието на ANCA, специфичността на ANCA. Независими предиктори за смъртен изход са високата активност на болестта, наличието на инфекции и липсата на лечение с ритуксимаб.

**В заключение** – нашите пациенти с грануломатоза на Wegener преживяват повече от тези с микроскопски полиангиит. Водещата причина за смърт при нашите пациенти е уремията, резултат на некротизиращ гломерулонефрит и свързаните с нея увреждания на други органи и системи, следват инфекциите и сърдечно-съдовите усложнения. Не се установи връзка на преживяемостта на пациентите с възрастта при пос-

тавянето на диагнозата, пола, наличието на ANCA, специфичността на ANCA. Предиктори на смъртен изход са високата активност на васкулита (определена чрез BVAS и FFS), белодробното засягане и наличието на инфекции. Лечението с ритуксимаб се асоциира с по-ниска вероятност от смърт.

## **9. Роля на някои биомаркери в имунопатогенезата на ANCA асоциираните васкулити**

Въпреки големия напредък в разбирането на ANCA васкулитите основният им патогенетичен механизъм не е напълно ясен. Антинеутрофилноцитоплазмените антитела, насочени срещу протеиназа-3 и миелопероксидаза, играят несъмнено основна роля в патогенезата на ANCA асоциираните васкулити. Продължават интензивно да се проучват и да се установяват нови фактори, които участват в имунопатогенетичните им механизми. Това дава възможност за навлизане на нови биомаркери като потенциални ефективни средства за измерване на болестната активност.

Налице са проучвания , които демонстрират наличие в циркулацията на антитела срещу **лизозом-свързан мембранен протеин-2 (LAMP-2)** при пациенти с ANCA асоциирани гломерулонефрити [110, 111, 112]. Но честотата и патогенността на анти-LAMP-2 засега са все още дискуссионни. LAMP-2 (antyl-lysosome-associated membrane protein 2) е гликолизиран мембранен протеин, експресиран в лизозомите и по повърхността на моноцитите, неутрофилите и ендотелните клетки [184]. Както протеиназа-3, LAMP-2 може да бъде включен в клетъчната мембрана. Връзката между LAMP-2 и ANCA асоциираните васкулити е установена през 1995 г. от Kain и сътр. Той идентифицира LAMP-2 като таргет за антинеутрофилноцитоплазмените антитела при 14 от 16 пациенти с олигоимунен некротизиращ гломерулонефрит [31]. Като основен елемент от лизозомната мембрана той играе роля в автофагията, участва в HLA class II антигенното предс-

тавяне, в матурацията на фагозомите, в очистването на вътреклетъчните патогени [31, 112]. Пак Kain и сътр. през 2008 г. установяват, че имунизацията на плъхове с anti-LAMP-2 IgG може да предизвика олигоимунен гломерулонефрит, те идентифицират антитела срещу експресиран в плазмената мембрана на ендотелните клетки на гломерулите LAMP-2 [31, 112]. Също така може да активира човешките неутрофили толкова ефективно, колкото антипротеиназа-3 (anti-PR3) и за разлика от anti-PR3, anti-LAMP-2 са достатъчни за индуциране на апоптоза на ендотелните клетки *in vitro* [31]. Налице са доказателства, че молекулярната мимикрия може да инициира формирането на anti-LAMP-2 [31, 184]. Открит е специфичен аутоантитяло свързващ епитоп P41-9 на LAMP-2, който е хомоложен на бактериален адхезионен протеин FimH, експресиран върху някои грам-негативни бактерии [31]. В публикация от 2012 г. Kain и сътр. провеждат изследване в три европейски центъра сред пациенти с ANCA асоциирани гломерулонефрити и установяват честота на anti LAMP-2 при 81% от пациентите, сигнификантно по-висока от групата на здрави контроли и от две групи контроли на болни със SLE и не-ANCA гломерулонефрити [110]. Kain и сътр. също така считат, че LAMP-2 антителата са с висока честота при нелекуваните пациенти, но бързо се повлияват от проведеното лечение и изчезват при ремисия и могат да се използват за мониториране на активността на болестта [110, 112, 185]. Според Xiaowei LI антителата срещу LAMP-2 вероятно ще бъдат нов биомаркер за диагноза и мониториране на болестната активност и основа за решаване на нуждата от имunosупресивно лечение [360].

Всичко изложено дотук предполага, че LAMP-2 може да играе важна роля в имунопатогенезата на AAV, като на този етап данните са противоречиви. В настоящата работа изследвахме LAMP-2 като предполагаем маркер за активност. Данните при нашите 47 пациенти с ANCA асоциирани васкулити показват, че той се установява при малка част от

болните (27.66%), и то в ниски титри, което предполага, че не играе ключова роля в патогенезата. Установява се само при 23.40% от пациентите, които са с активност на заболяването по време на изследването, което означава, че няма отношение към активността, освен това няма разлика в нивата при лекуваните и нелекуваните болни. Не установихме сигнификантна разлика в честотата и в средните му стойности при болните с олигоимунни гломерулонефрити. Нашите данни се различават от тези на Kain и сътр., които установяват anti-LAMP-2 при 80-91% от 64 пациенти с новодиагностицирани AAV [110], които бързо изчезват след проведено имunosупресивно лечение и се завръщат при рецидив. Ние не установихме разлика в стойностите между лекуваните и нелекуваните пациенти, както и при болните с болестна активност и без активност. Нашите данни са аналогични с тези на Roth и сътр., където от 329 ANCA позитивни пациенти само при 21% има LAMP-2 антитела и от 104 ANCA негативни пациенти при 29% [361], както и с тези на Miseev и сътр., където само 10.1% от изследваните болни с AAV са позитивни, и то в ниски титри и те не корелират с активността на болестта [224]. Според Kain и сътр. [112] 14 от 16 пациенти с олигоимунен гломерулонефрит са с антитела срещу LAMP-2, честотата им е най-висока при нелекувани пациенти с олигоимунен гломерулонефрит. Нашите данни сочат по-често бъбречно засягане при групата с LAMP-2, без да има значимост в разликата. Пак Kain и сътр. [110] считат, че анти-LAMP-2 изчезват бързо след индуцирането на имunosупресивна терапия и се появяват при рецидив на болестта. При нас LAMP-2 се среща по-често при болните, които са с активност в момента на вземането на пробата, разликата не е значима, не се установява разлика в средните стойности на BVAS и плазмените нива. Установихме, че нивата на LAMP-2 са сигнификантно по-високи при пациентите с GPA и MPA с висока болестна активност и

лечение с ритуксимаб в сравнение с тези на конвенционална терапия, като тази разлика е по-осезаема при болните с GPA.

**Заклучение:** Предположението, че LAMP-2 биха играли роля в имунопатогенезата на ANCA васкулитите не беше потвърдено от нашето проучване и резултатите не показват корелация между плазмените му нива и изследваните клинични и имунологични параметри.

**Плазминоген/плазмин** системата играе важна роля в разтварянето на фибрина и в разграждането на някои екстрацелуларни матриксни протеини [104], чрез тях оказва влияние върху възпалителните процеси [107, 361, 363]. В последните години беше доказана ролята на антителата срещу плазминоген в имунопатогенезата на част от пациентите с ANCA васкулити с бъбречно увреждане и активността на заболяването [104, 105, 107, 109]. Доказано е, че наличието на тези антитела, както и ниските нива на плазминоген корелират с венозни тромбемболични събития и с образуването на микротромби в малките артерии при пациентите с вегенерова грануломатоза, като те не са свързани с протромботични рискови фактори [104, 105, 362]. От друга страна, е установена корелация между антителата срещу плазминоген и епизоди на дълбоки венозни тромбози при ANCA позитивни пациенти [108, 363, 364] и е описана връзка между антиплазминоген антителата и гломерулната увреда с развитие на фибриноидна некроза, която е характерният признак на AAV [107]. При пациенти с PR3-ANCA са установени антиплазминоген антитела [106], което предполага, че има връзка между антителата срещу плазминоген и протеиназа-3 и тя е част от патогенетичния механизъм на ANCA асоциираните васкулити. Anneles и сътр. доказват ролята на антителата срещу плазминоген и корелацията им с нарушената бъбречна функция и с характерните хистологични лезии от ПББ при пациенти с AAV [107]. Други проучвания демонстрират, че плазминогенът и плазминогенният активатор играят протективна роля по отношение на гломерулно увреждане, причинено от остър възпа-

лителен процес [362, 365]. В същото време дефицитът или ниските нива на плазминоген и/или комбинацията с дефицит или намалена активност на плазминогенни активатори (тъканен плазминоген активатор, tPA, и урокиназа плазминоген активатор, uPA) се асоциира с тежки функционални нарушения и хистологични промени с гломерулно увреждане [107]. Трябва да се има предвид, че плазминогенът има нееднозначно действие, той участва не само в коагулационната каскада, но и във възпалителния отговор, в клетъчната пролиферация и миграция, в ангиогенезата и в други феномени [363]. Основната цел на нашето проучване е да установим наличието на връзка между серумните нива на плазминоген с протичането, органното засягане и активността при пациенти с ANCA асоциирани васкулити. Сравнявайки серумните нива на плазминоген при пациенти с AAV със здрави контроли установихме, че нивата при болните са значимо по-високи от нивата при здравите. Сравнявайки серумните нива при отделните диагнози, както и при болните с активност и без активност установихме корелация между ниските нива на плазминоген и активността на васкулита. При болните без активност нивата на плазминоген са значимо по-високи в сравнение с тези с активност, както и при сравнението им със здравите контроли. Прави впечатление, че при болните с ниска болестна активност не се измерват понижени нива на плазминоген, както и че всички пациенти с активност на болестта по време на изследването имат ниски серумни нива на плазминоген. Освен това болните, при които установихме ниски нива на плазминоген, имат по-високи стойности на BVAS в сравнение с тези с високите нива. Тези данни съвпадат с резултатите на Jian Hao и сътр., които откриват същата корелация между антителата срещу плазминоген и активността на болестта [105]. Активността, измерена чрез BVAS, е по-висока при пациентите с ниски стойности на плазминоген. Пациентите с високи стойности на плазминоген по-често са с ремисия в сравнение с тези с ниските нива. Установяването на значими разлики между ниските

нива на плазминоген и активността при болните поставя плазминогена като потенциален биомаркер за активност при AAV. По отношение на двете основни диагнози 71.8% от пациентите с GPA са с високи нива, докато при MPA те са само 28.2%. Това вероятно се дължи на факта, че една трета от болните с GPA са с локализирана форма, тоест те нямат васкулит, а само грануломатозно възпаление, като по този начин се потвърждава мнението за протективната роля на плазминогена в ендотелната дисфункция и съдовото увреждане [106, 362]. Също така болните с високи нива на плазминоген са с преобладаващо ангажиране на ГДП и бял дроб, докато тези с ниски нива са с преобладаващо бъбречно участие. По отношение на диагнозата в групата с високи нива преобладават тези с грануломатозно възпаление, а в групата с понижени нива – тези с васкулит. При групата с ниски нива статистически по-често участва бъбрек, а при тази с високи – ГДП, като в тази група най-рядко има бъбречно засягане. Не се установи разлика в белодробното ангажиране между двете групи. Единствената достоверна разлика между двете групи, която установихме, е по отношение на бъбречното участие. Всъщност 100% от нашите пациенти с ниски нива на плазминоген имат бъбречно ангажиране, освен това то е тежко – 100% са с нарушена бъбречна функция, средната стойност на креатинина при тях е висока в сравнение с болните с нормални и високи нива. Допълнителният регресионен анализ доказва категорично прогностичната роля на плазминогена за бъбречно ангажиране. Не установихме разлика в находките от бъбречните биопсии при двете групи болни. По известни данни антитела срещу плазминоген се установяват при около 18-25% от пациентите с AAV и те се асоциират с бъбречно участие [104, 107]. Тези антитела участват в процеса на ендотелна дисфункция и във възпалителния отговор, които съпътстват ANCA васкулитите [105]. Според Bautz и сътр., 2008 г., съществува връзка между антипротеиназа-3, по-точно между комплементарен PR3 пептид (сPR3) и антиплазминоген антителата [106]. Ролята на плазми-

ногена в имунопатогенезата на GPA е тясно свързана с теорията за комплементарния пептид, която постулира, че първоначалният имунен отговор се развива срещу cPR3. Полученият анти-cPR3 има антиген-свързващ регион, който прилича на PR3, така че антителата, насочени срещу cPR3, атакуват и PR3 [106, 365, 366]. Тази теория се подкрепя от някои проучвания, показващи, че антиплазминогенните антитела се откриват главно при AAV с анти-PR3 антитела, но не и при здрави хора или такива с AAV и с анти-MPO антитела [106, 366]. Други данни оспорват допълнителната теория, предполагайки, че антиплазминогенните антитела се откриват и при AAV с анти-MPO антитела [104, 106]. Berden и сътр. докладват наличие на антиплазминоген антитела и при anti-PR3 пациенти и при anti-MPO пациенти и по-важното е, че антителата срещу плазминоген корелират с намалената бъбречна функция и с процента на гломерулите с фибриноидна некроза и клетъчни полулуния при пациентите с AAV [104]. Ние не установихме корелация между нивата на плазминоген и специфичните антитела. Нашите данни сочат, че при пациентите с ниски нива на плазминоген, процентът на позитивните антитела срещу специфични антигени е по-висок в сравнение с високите нива на плазминоген, но като цяло ANCA позитивните болни са малко и не може да се направят изводи за съществуваща връзка. Като цяло в групата с ниски нива на плазминоген преобладават MPO-ANCA, а в групата с високи нива PR3-ANCA, което противоречи на теорията на Bautz [106]. Това показва, че вероятно антителата срещу плазминоген има и при PR3-ANCA и при MPO-ANCA. Не установихме значима разлика в нивата на плазминоген при PR3-ANCA и MPO-ANCA позитивните пациенти. Данните ни показват съществуването на асоциация между проведеното лечение и нивата на плазминоген. Пациентите, които са получили имunosупресивна терапия, са с по-високи нива на плазминоген. При пациентите, при които е проведено лечение, по-рядко се наблюдават случаи с ниски нива на плазминоген, докато при нелекуваните те

преобладават. Установи се значима разлика между различните терапевтични режими. Серумната концентрация на плазминоген е достоверно висока при болните, провели курс на лечение с ритуксимаб, в сравнение с конвенционалната терапия. Тази тенденция се запазва и при отделните диагнози, като разликата е по-голяма при болните с МРА, без да е достоверна. Броят на пациентите с високи серумни нива на плазминоген, които са лекувани с ритуксимаб, е почти два пъти по-висок от тези, лекувани с конвенционална терапия и тези без терапия. При предшестваща терапия с ритуксимаб нивата на плазминоген в серума са сигнификантно по-високи, което корелира с отрицателния титър на ANCA. Предполага се, че лечението с ритуксимаб води до повишение на нивата на плазминоген. Лечението с ритуксимаб при един пациент доведе до осемкратно повишение на стойностите на плазминоген, нормализиране на стойностите на CRP и овладяване на клиничната активност. Животински модели демонстрират, че антитела срещу плазминоген участват в патогенезата на гломерулонефритите [84] и във формирането на полулуния в гломерулите [84, 367], което е резултат от понижена фибринолитична активност, вследствие дисрегулация на плазминоген/плазмин системата. Установена е повишена склонност за формиране на полулуния в гломерулите при мишки с дефицит на плазминоген [84, 365]. Резултатите от нашето проучване показват, че пациентите с GPA и нарушена бъбречна функция имат сигнификантно по-ниски нива на плазминоген в сравнение с останалите пациенти с GPA и че съществува негативна корелация между протеинурията при GPA и серумната концентрация на плазминоген, което идентифицира серумния плазминоген като потенциален прогностичен маркер за бъбречно засягане. След проведения регресионен анализ се установи отрицателна обратна връзка между високите нива на плазминоген и отсъствието на бъбречно засягане. С увеличаване нивото на плазминоген в серума с една единица шансовете за липса на бъбречно ангажиране се увеличават 1.003 пъти, което се свързва досто-

верно с отсъствието на бъбречно засягане. Това би идентифицирало плазминогена като потенциален маркер за бъбречно участие при AAV. Потвърждава се твърдението на Kitching и сътр. за протективната роля на плазминогена и системата плазминоген/плазмин върху възпалението и бъбречното увреждане при некротизиращите гломерулонефрити чрез участието им в лизирането на микротромбите [365]. Установихме положителна връзка между процента на болните, при които е постигната ремисия, и нивата на плазминогена. При пациентите с високи нива на плазминоген ремисията е по-честа, но това не се отнася за починалите пациенти и вероятно ниските нива нямат лоша прогностична стойност. Тези данни предполагат, че ниските нива сами по себе си не се свързват с лоша прогноза и въпреки тежкото протичане дългосрочната прогноза е добра. Не се установява връзка на ниските нива на плазминоген със съдови тромбози при нашата кохорта болни. Освен за бъбречно участие ниският плазминоген може да бъде и маркер за активност на AAV (при 100% се наблюдава активност на заболяването).

***Заклучение:*** Антителата срещу плазминоген имат важно отношение към бъбречната увреда при AAV, към активността и прогнозата. Ниският плазминоген може да бъде и маркер за активност на AAV. При комбинираната терапия с Rtx сигнификантно се увеличават нивата на плазминоген в серума, което корелира с отрицателния титър на ANCA антителата. Има клиничен смисъл проследяването им при терапия с ритуксимаб, циклофосфамид за преценка на продължителността на терапията.

Образуването и развитието на грануломни некротични лезии при ANCA асоциираните васкулити е комплексен процес, в който участва не само хуморалният, но и клетъчно-медиераният имунитет. **Тумор-некротичен фактор-алфа** е основен цитокин, участващ във възпалителния отговор и водещ до продукцията на множество други проинфламаторни и регулаторни

цитокини и хемокини [69, 72, 73]. Патогенезата на некротичното грануломатозно възпаление в респираторния тракт е различна от тази на системния васкулит и е Т-клетъчно зависима [62, 66, 68]. От проведени клинични и експериментални проучвания вече има натрупани множество неоспорими доказателства за ролята на TNF $\alpha$  в патогенезата на AAV. В подкрепа на това твърдение са експерименти, проведени с животински модели, които показват, че антителата срещу TNF $\alpha$  подчертано намаляват формирането на грануломи. Патогенетичната роля на TNF $\alpha$  в развитието на бързопроресиращите гломерулонефрити [68, 69, 70, 71, 72, 73] е обект на специален интерес. В експериментални модели инжектирането на мишки дори на малки дози TNF $\alpha$  повишава гломерулното увреждане и води до нефрити [70, 73]. От друга страна, блокадата му води до потискане на острото възпаление на гломерулите и на образуването на полулуния и модулира продукцията на други проинфламаторни цитокини [70, 71]. Пациентите с ANCA гломерулонефрити са със сигнификантно по-високи серумни нива на TNF $\alpha$  в сравнение със здрави контроли [72]. Подобни са и моделите на аутоимунен анти-GBM асоцииран гломерулонефрит при скид мишки с липсващи CD4+Т-клетки, при които е установено, че след инжектиране на анти-GBM антитела се развиват сигнификантно по-малко полулуния, сравнени с контроли [67], т.е. данните от това проучване категорично подкрепят становището за участие на Т-клетъчния отговор в патогенезата на гломерулонефритите и грануломните лезии. Известно е, че TNF $\alpha$  освен проинфламаторен притежава и силен прокоагулантен ефект [72, 90]. Поради тези причини блокадата на TNF $\alpha$  се смята за възможна терапевтична стратегия при AAV. Повечето описани случаи са на off-label използване на adalimumab, etanercept или infliximab при рефрактерни случаи, където са добавени към провежданото лечение с кортикостероиди и имunosупресори, като те предполагат, че анти-TNF терапията може да е полезна при AAV [73, 75, 76]. TNF $\alpha$ , заедно с други цитокини (основно интерлевкин

1 $\beta$ ), стимулират ендотелните клетки да синтезират инфламаторни фактори като PAF (активатор на плазминоген) [72] и простагландини, които водят до продукцията на прокоагулантни фактори като инхибитора на плазминогенния активатор и/или понижаване на ендотелния повърхностен тромбомодулин [89]. TNF $\alpha$  и IL-1 могат да индуцират експресия на ендотелноклетъчни адхезионни молекули като ICAM-1, ELAM-1, VCAM-1 и да улеснят адхезията и закрепянето на полиморфонуклеарите [72, 90]. Имунопатогенетичната роля на TNF $\alpha$  е добре установена в животински модели на AAV, но данните от клинични проучвания не са достатъчни. Ние не установихме статистически значими разлики в нивата на TNF $\alpha$  при пациентите в сравнение със здравите лица, както и между болните с GPA и с MPA. Средните нива при болните са малко по-високи от тези на здравите контроли, без да е налице значима разлика, което не съвпада с данните на Noronh и сътр., 1993 г. [72]. Те установяват, че пациентите с ANCA гломерулонефрити са със сигнификантно по-високи серумни нива на TNF $\alpha$  в сравнение със здрави контроли [72]. Всички наши пациенти, при които има повишени нива на TNF $\alpha$ , са с GPA, всички имат грануломатозно възпаление, двама допълнително и васкулит. Моноцитите/макрофагите са главният източник на TNF $\alpha$  и IL-1. Тези клетки участват активно при формирането на грануломите, където преобладава Th1 клетъчният имунен отговор и TNF $\alpha$  и IL-1 са налични в експериментални модели на белодробни грануломи [87]. Намираме корелация между засягането на ГДП и бял дроб и плазмените нива на TNF $\alpha$  при болните с GPA. Те са сигнификантно по-високи при болните с белодробно ангажиране в сравнение с тези без белодробно ангажиране. Noronh и сътр. намират повишени плазмени нива при пациенти с гломерулонефрит и позитивни TNF $\alpha$  клетки при проведените бъбречни биопсии, без да се откриват оформени грануломи. Като цяло е налице определена поляризация в Th1/Th2 имунния отговор при болните с AAV. Установено е преимуществено преобладаване на Th2 цитокинов профил при пациентите

с активна генерализирана ГПА и СЧЧ, докато Th1 имунния отговор се установява по-скоро при пациентите с локализирана форма на ГПА и МПА. Има доказателства, че превключването от Th1 към Th2 имуен отговор може да доведе до прогресията на локализираната в генерализирана форма на ГПА [87]. Преобладаването на Th2 имуен отговор е свързано с преимуществена секреция на ANCA у предразположени индивиди. Вероятно по време на изследването при тези пет пациенти преобладава Th1 имунният отговор, повечето са със системна форма на васкулита, само при двама е генерализирана и само при един има налични антитела в серума. Няколко публикации докладват по-голямо присъствие на MPO и/или PR3 върху външната мембрана на неутрофилите след инкубиране с TNF $\alpha$  [65, 74]. Установено е, че индуцираната от ANCA активация на неутрофилите се повишава значително от TNF $\alpha$ , което води до засилено освобождаване на кислородни радикали и други токсични компоненти на гранулите [64, 65], последваща сензибилизация на неутрофилите и моноцитите към ефектите на ANCA и до повишена експресия върху клетъчната им повърхност на протеиназа-3 и миелопреоксидаза [66]. Ние не установихме връзка между нивата на TNF $\alpha$  и наличието на специфични антитела. Установихме корелация между активността и нивата на TNF $\alpha$ , всички пациенти с повишени стойности са с данни за активност на васкулита. Също така установихме сигнификантно повишени нива при болните, които са в състояние на болестна активност по време на изследването. Нивата на болните, които нямат активност, са сигнификантно по-ниски дори и от здравите лица. Предшестващото лечение оказва влияние върху нивата на цитокините. При пациентите на терапия с ритуксимаб статистически значимо се понижават нивата на TNF $\alpha$  в сравнение с нивата при пациентите на конвенционална терапия, което е свързано с по-големия процент на ремисия при тях. Открива се обратнопропорционална корелация с нивата на плазминоген, пациентите с високи нива на TNF $\alpha$  имат нисък плазминоген и висока активност.

Тези данни са в подкрепа на това, че този цитокин има отношение към ендотелните клетки и важна роля в продукцията на прокоагулантни фактори [72, 88, 89, 90].

**В заключение** можем да кажем, че изследваният от нас цитокин-TNF $\alpha$  вероятно има участие в патогенезата на AAV, има отношение към активността, към формирането на грануломи и към прогнозата на болестта. Необходими са допълнителни изследвания при по-голям брой болни, за да се установи ролята на TNF $\alpha$  и IL- $\beta$  в патогенезата и дали инхибирането му би било ефективна терапевтична стратегия. Лечението с ритуксимаб статистически значимо понижава нивата на TNF $\alpha$ , което е свързано с по-голям процент на ремисия и по-малко смъртни случаи.

Патогенезата на AAV е свързана главно с образуването на ANCA, където основно участие вземат В-лимфоцитите. Но Т-лимфоцитите също са замесени в патогенезата на ANCA асоциираните васкулити, като Т-супресията е особено важна за силата на възпалителния отговор [58, 62, 77, 79, 80]. **Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)** е ензим, който се експресира от антиген-представящите клетки (APCs), епителните клетки, съдовия ендотел и туморните клетки и катализира началните и следващите скорост лимитирани процеси в разграждането на есенциалния amino acid tryptophan [368, 369]. Медираните от IDO катаболни продукти, наречени kynurenines, играят важна имunosупресивна роля на първо място чрез регулация и анергия на Т-ефекторните клетки и индукция на пролиферацията на Т-регулаторните клетки. Този ендегенен толерогенен път оказва медиращ ефект върху силата на имунния отговор при много стресови ситуации, тумори, инфекции, трансплантация. IDO чрез регулация на катаболизма на триптофан модулира имунната система, така че тя да забави или потисне възпалението, да потисне противотуморния имунитет, алергичните реакции, автоимунитета и отхвърлянето на трансплантирани тъкани [369]. Блокирането му може да бъде нова терапевтична стратегия при автоимунни

заболявания. Ние установихме повишена серумна концентрация на IDO само при шест от болните, всичките шест са с активност на болестта, което потвърждава мнението за обратната връзка на IDO със засиления имуноен отговор [77, 370]. Установихме положителна корелация между серумните нива на IDO и TNF $\alpha$ , 83.33% от пациентите имат едновременно и повишени серумни нива на TNF $\alpha$ . Проведохме анализ за корелация. Корелационният коефициент на Спирман потвърди положителна, силна и значима връзка между IDO и TNF $\alpha$ . Също така установихме положителна корелация между IDO и BVAS. Това се потвърждава и от липсата на IDO в серума на болни, които в момента на изследването са без активност на заболяването. Проведеният непараметричен тест за съпоставки показва наличие на значима разлика в серумната концентрация между болните с GPA и MPA, между здравите контроли и болните с MPA, без да има такава между болните с GPA и здравите контроли. Нивата при болните с активност са по-високи в сравнение със здравите контроли и с болните без активност. Поради малкия брой на болните не могат да се отчетат значими разлики, макар и да са близки до значимост. Положителните корелации, които установихме, потвърждават имunosупресивната функция на IDO и ролята му в потискането на възпалителните механизми, които се стимулират от TNF $\alpha$ . Половината от пациентите с по-висока серумна концентрация на IDO са без предшестваща имunosупресивна терапия. Явно при липсата на такава терапия, също и при липсата на външна супресия на имунния отговор, организмът включва собствени компенсаторни механизми. От друга страна, се наблюдават по-ниски серумни нива при пациентите с добавен ритуксимаб. Предполага се, че по-силният имunosупресивен ефект, който постига ритуксимаб в сравнение с конвенционалната терапия и който е основно върху В-клетките, отменя необходимостта от включване на други имunosупресорни механизми, какъвто е пътят на разграждане на триптофана и Т-клетъчната супресия. При пациентите на комбинирана терапия с ритукси-

маб се понижават нивата на  $\text{TNF}\alpha$  в сравнение с нивата на този цитокин при пациентите на конвенционална терапия, имуносупресивният ензим IDO също се понижават при тези пациенти. Това потвърждава данните на Munn и сътр. и Manches и сътр., че неговата продукция зависи и се регулира от нивата на проинфламаторните цитокини [79, 80]. Предполага се, че при пациенти с AAV, които са в клинична ремисия, появата на леко възпаление води до повишена продукция на IDO и той може да е ефективен ранен маркер за включване на имуносупресивна терапия или промяна в съществуващата [77, 370].

**Заключение:** Нашите данни показват, че пътят на разграждането на триптофана има значение за силата на възпалителния имунен отговор при AAV, като той в никакъв случай не е единствен и достатъчен за неговата регулация. Серумните нива на IDO вероятно биха могли да се използват като маркер за мониториране на имуносупресивната терапия.

## VII. ИЗВОДИ

1. В текущата ревматологична практика ANCA васкулитите са най-често наблюдавани сред първичните васкулитни синдроми, най-често поставяната диагноза е GPA, следвана от MPA и CSS. PAN се установява сравнително рядко и неговата честота е сравнима с CSS.

2. Васкулитите с некрози и висок риск за живота произхождат основно от пристъпи на колагенози – СЛЕ и ПСС. Следва групата на болните с некротични лезии без други прояви и без достатъчно признаци на системен васкулит или СЗСТ.

4. AAV са самостоятелни единици и не се припокриват клинично и имунологично с други СЗСТ.

5. Най-често наблюдаваните инфекции са на горните дихателни пътища, белите дробове и кожата. Най-честите бактериални причинители са *Staphylococcus aureus*, следвани от *Klebsiella* и *Streptococcus*. Напредналата бъбречна недостатъчност и диализното лечение се свързват с по-висок риск от сериозни, животозастрашаващи инфекции.

6. Инфекциите рязко влошават протичането и прогнозата. Смъртността при болните с AAV и инфекции е около три пъти по-висока от тези без инфекции.

7. При GPA съществува асоциация между перинуклеарните анти-неутрофилноцитоплазмени антитела и васкулитите с инфекции.

8. Най-важната разлика между грануломатозата с полиангиит и микроскопския полиангиит е в характера на засягане на респираторния тракт, където при едното заболяване има грануломатозно възпаление, то не винаги се проявява клинично и рентгенологично.

9. Моделът на белодробно ангажиране се различава при двете групи. Белодробните нодули и кавитации се срещат по-често при anti-PR3 позитивните пациенти, алвеоларен капилярит се открива по-често при

anti-MPO позитивните пациенти. Не се установява разлика при белодробните хеморагии.

10. ANCA асоциираният GN е опасна проява на болестта и е определящ за тежестта на протичане. Над 70% от болните са с повишени стойности на азотни тела в серума при поставяне на диагнозата. Необходимост от диализно лечение са имали една трета от пациентите, без да се наблюдава разлика при двата вида васкулит. Полулунният GN е най-често наблюдаваната хистологична находка. Преобладаващото антитяло при бъбречно засягане е anti-MPO ANCA и то се свързва с по-лоша бъбречна прогноза и с бъбречна склероза и белодробна фиброза.

11. Гломерулонефритът е самостоятелна съдова патология и не съществува изразена тенденция за едновременно съдово засягане на множество органи.

12. Понякога болестта започва с манифестации от нервната система, очите или сърдечно-съдовата система и те не са за подценяване и трябва активно да се търсят. Налице са сигнификантни разлики в находките между AAV и PAN, което потвърждава, че тези тежки васкулити в ревматологичната практика, приличащи си по това, че поражават едни и същи органи, водят до различен тип поражения и клиника.

13. Ходът на болестта при GPA и PAN се е подобрил, при тях заболяването най-често протича с един пристъп, последван от ремисия или стабилно подобрене. Най-сериозно е протичането при MPA.

14. Васкулитите на средните съдове са с по-леко протичане от това на AAV.

15. В текущата ревматологична практика откриването на ANCA се явява съществен критерий за поставянето на диагнозата ANCA асоцииран васкулит. Те се установяват при почти 90% от българските пациенти. Съществува връзка между PR3-ANCA и GPA и между MPO-ANCA и

MPA. Наличието или липсата на антитела не е определящ фактор за тежестта на болестта.

16. В настоящата работа антигломерулобазалномембранни антитела не се позитивират при нито един от пациентите с AAV. Комбинацията на ANCA с anti-dsDNA и ACCLA се асоциира с тежки васкулитни прояви.

17. ANCA специфичността не е определяща за васкулитните прояви. Формирането на грануломи е сигнификантно по-често при PR3-ANCA.

18. Циклофосфамид, прилаган достатъчно дълго време, е медикаментът, който най-често води до ремисия и при GPA и при MPA.

19. Ритуксимаб не превъзхожда циклофосфамид по отношение на клиничното подобрене, но статистически значимо подобрява преживяемостта. Наличието или липсата на ANCA преди лечението не влияе върху ефективността на лечението. Негативирането на ANCA се асоциира с клиничното подобрене след лечение с ритуксимаб при ANCA положителните. Ефективността на ритуксимаб е по-висока при anti-PR3 положителните.

20. Петгодишната преживяемост при българските пациенти с AAV е сравнима с тази на европейските пациенти. Пациентите с грануломатоза на Wegener преживяват повече от тези с микроскопски полиангиит. Водещата причина за смърт при нашите пациенти е уремията и свързаните с нея увреждания на други органи и системи, следват инфекциите и сърдечно-съдовите усложнения.

21. Предиктори на смъртен изход са високата активност на васкулита (определена чрез BVAS) и наличието на инфекции. Не се установи връзка на преживяемостта на пациентите с възрастта при поставянето на диагнозата, пола, наличието на ANCA, специфичността на ANCA. Лечението с ритуксимаб се асоциира с по-ниска вероятност от смърт. Постигането на ремисия все още е далеч от желаното.

22. Освен ANCA някои молекули, цитокини и други антитела също може да влияят върху имунопатогенезата, съдовата увреда и протичането и изхода на васкулитите. Установихме корелация между ниските нива на плазминоген с активността на васкулита и с бъбречното засягане. TNF $\alpha$  вероятно има отношение към активността, към формирането на грануломи и към прогнозата на болестта. Имуносупресивният ензим IDO и пътят на разграждането на триптофана имат значение за силата на възпалителния имунен отговор при AAV. LAMP-2 се среща при малка част от болните, и то в ниски титри, което не предполага да играе водеща роля в протичането.

23. Приложението на анти-CD20 моноклоналното антитяло Rituximab, оказва **благоприятно влияние** върху нивата на ключови имунологични показатели, свързани с процеса на съдова увреда, имащи съществена роля в имунопатогенезата на AAV. Терапията с Rtx сигнификантно увеличава нивата на плазминоген в серума, което корелира с отрицателния титър на ANCA. При пациентите на терапия с Rtx статистически значимо се понижават нивата на TNF $\alpha$ , което е свързано с по-големия процент на ремисия при този тип пациенти. Имуносупресивният ензим IDO също се повлиява значимо при пациенти с GPA на комбинирана терапия с Rtx.

## **VIII. ПРИНОСИ**

### **1. С оригинален характер**

1. За първи път в България са анализирани и е направена оценка на клиничните и имунологичните характеристики на различните видове ANCA асоциирани васкулити, като е използван пълноценно пълен набор от инструментални изследвания.

2. За първи път при българската популация е направена комплексна оценка на протичането при множество органи и системи и е определен моделът на органно ангажиране при отделните васкулити.

3. Направен е анализ на васкулитите според специфичността на ANCA и са установени определени различия в клиничните манифестации за българските болни с AAV.

4. За пръв път у нас е направен анализ на различните терапевтични режими, на причините за прилагането и на резултата от лечението сред голяма група болни с AAV.

5. За първи път в България е описан и анализиран собствен опит на лечение на AAV с биологичен медикамент (ритуксимаб) и е сравнена ефикасността му със стандартна терапия. Установено е превъзходството му при PR3 положителните пациенти и по отношение на преживяемостта.

6. За пръв път е изследвана петгодишната преживяемост сред българските пациенти с AAV и е установено, че тя е сравнима с тази на европейските пациенти. Установено е, че пациентите с грануломатоза с полиангиит преживяват повече от тези с микроскопски полиангиит. Основната причина за смърт е уремията.

7. За първи път у нас са потърсени и са идентифицирани предиктори за смърт и съответно за по-добра преживяемост при болни с AAV. Като предиктори за смърт са определени високата активност на васкули-

та и наличието на инфекции. Изолираното белодробно ангажиране и лечението с ритуксимаб се асоциират с по-ниска смъртност.

## **2. Научно-приложни**

1. Изследвани са серумни нива на плазминоген и е потвърдена корелацията с активността на васкулитните прояви и с бъбречното засягане.

2. Изследвани са серумни нива на TNF $\alpha$  и е потвърдена връзката му с активността, формирането на грануломи и белодробното засягане при група български пациенти с AAV.

3. Изследван е имуносупресивният ензим IDO и е потвърдена ролята му като модулатор на възпалителния имунен отговор при AAV.

4. Изследвани са серумните нива на LAMP-2 и не е потвърдена неговата роля в конкретно органно засягане, активността, имунния статус при AAV.

5. За пръв път е установено, че приложението на анти-CD20 моноклоналното антитяло Rituximab оказва благоприятно влияние върху нивата на плазминоген в серума, което корелира с отрицателния титър на ANCA, значимо понижава нивата на TNF $\alpha$  в сравнение с конвенционална терапия.

## **3. Приноси с потвърдителен характер**

1. Потвърдена е необходимостта от участието на интердисциплинарен екип и използването на пълен набор от инструментални и клиничко-лабораторни средства за диагностицирането, лечението и наблюдението на болните със системни васкулити.

2. Потвърдена е важната роля и връзката между серумните нива на определени биомаркери, асоциацията им с конкретно органно засягане и връзката им с конкретно лечение, с оглед избор на своевременна подходяща терапия и мониторинг.

3. Потвърдена е необходимостта от бързо и адекватно лечение според активността и формата на заболяването.

## IX. ЛІТЕРАТУРА

1. Gene V, Ball S. Louis Bridges, Vasculitis, 2008:3-21.
2. Hochberg MC, Silman A et al. Rheumatology, 2011:1501-1510.
3. Larbi Th, Hamzaoui S, Abdallah M et al. Current Classification, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012:7-13.
4. Basu N, Watts R, Bajema I et al. EULAR points to consider in the development of classification and diagnostic criteria in systemic vasculitis. Ann Rheum Dis. 2010 Oct;69(10):1744-50.
5. Bloch DA, Michel BA, Hunder GG et al. The American College of D68-1072 Bruce IN, Bell AL (1997) A comparison of two nomenclature systems for primary system vasculitis. Br J Rheumatol 1990;36:453-458.
6. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K et al. Nomenclature of systemic vasculitides: the proposal of an international consensus conference. Arthritis Rheum 1994; 37: 187-92.
7. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, et al. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. Arthritis Rheum. 2013;65(1):1-11.
8. Liu LJ, Chen M, Yu F. Evaluation of a new algorithm in classification of systemic vasculitis. Rheumatol 2008;47:708-712.
9. Suppiah R, Robson JC, Grayson PC. American College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology Classification Criteria for Microscopic Polyangiitis Arthritis Rheum 2022; 74: 400-406.
10. Robson JC, Grayson PC, Ponte C et al. American College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology classification criteria for granulomatosis with polyangiitis. Ann Rheum Dis. 2022 Mar;81(3):315-320. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-221795.
11. Suppiah R, Robson JC, Grayson PC et al. American College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology classification criteria for microscopic polyangiitis. Ann Rheum Dis. 2022 Mar;81(3):321-326. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-221796
12. Grayson PC, Ponte C, Suppiah R et al. American College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology Classification Criteria for Eosinophilic Granulomatosis with Polyangiitis. Ann Rheum Dis. 2022 Mar;81(3):309-314. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-221794.
13. Lanham J, Elkon K, Pusey G. Systemic vasculitis with asthma and eosinophilia. 1984 Medicine (Baltimore); 63:65-81.
14. Watts RA, Mahr A, Mahammad A. Classification, epidemiology and clinical sub-grouping of ANCA-associated vasculitic. Nephrol Dial Transplant 2005; 30:i14-122.
15. Koldingness W, Nossent H. Epidemiology of ANCA associated vasculitis. Norsk Epidemiology 2008;18:37-48.
16. Hissaria P, Cai FZJ, Ahern M et al. Wegener's granulomatosis: epidemiological and clinical features in a South Australian study. Intern Med J. 2008; 38: 776-780.
17. Fujimoto S, Uezono S, Hisanaga S et al. Incidence of ANCA-associated primary renal vasculitis in the Miyazaki Prefecture: the first population-based, retrospective,

- epidemiologic survey in Japan. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006 Sep;1(5):1016-22. doi: 10.2215/CJN.01461005.
18. Fujimoto S, Watts RA, Kobayashi S et al. Comparison of the epidemiology of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis between Japan and the UK. *Rheumatol (Oxford)*. 2011; 50: 1916-1920.
  19. El-Reshaid K, Kapoor MM, el-Reshaid W et al. The spectrum of renal disease associated with microscopic polyangiitis and classic polyarteritis nodosa in Kuwait. *Nephrol Dial Transplant*. 1997 Sep;12(9):1874-82. doi: 10.1093/ndt/12.9.1874.
  20. Mahr A, Guillevin L, Poissonnet M et al. Prevalences of polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis, Wegener's granulomatosis, and Churg-Strauss syndrome in a French urban multiethnic population in 2000: a capture-recapture estimate. *Arthritis Rheum*. 2004 Feb 15;51(1):92-9. doi: 10.1002/art.20077.
  21. O'Donnell JL, Stevanovic VR, Frampton C et al. Wegener's granulomatosis in New Zealand: evidence for a latitude-dependent incidence gradient. *Intern Med J*. 2007; 37: 242-246.
  22. Cao Y, Schmitz JL, Yang J et al. DRB1\*15 allele is a risk factor for PR3-ANCA disease in African Americans. *J Am Soc Nephrol*. 2011; 22: 1161-1167.
  23. Watts RA, MacGregor AJ, Mackie SL. HLA allele variation as a potential explanation for the geographical distribution of granulomatosis with polyangiitis. *Rheumatol (Oxford)*. 2015; 54: 359-362 .
  24. Mohammad AJ, Jacobsson LT, Mahr AD. Incidence and survival rates in Wegener's granulomatosis, microscopic polyangiitis, Churg-Strauss syndrome and polyarthritis nodosa. *Rheumatol*, 2009;48,1560-5.
  25. Gisslander K, Rutherford M, Aslett L, et al. Data quality and patient characteristics in European ANCA-associated vasculitis registries: data retrieval by federated querying. *Ann Rheum Dis* 2024;83:112-120.
  26. Jagiello P, Gencik M, Arning L et al. New genomic region for Wegener's granulomatosis as revealed by an extended association screen with 202 apoptosis-related genes. *Hum Genet*. 2004 Apr;114(5):468-77. doi: 10.1007/s00439-004-1092-z
  27. Stegeman CA, Tervaert JW, Sluiter WJ et al. Association of chronic nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and higher relapse rates in Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med*. 1994 Jan 1;120(1):12-7. doi: 10.7326/0003-4819-120-1-199401010-00003.
  28. Popa E, Stegeman C, Kallenberg CGM. *Staphylococcus aureus* and Wegener's granulomatosis. *Arthritis Research*. 2002;4:77-925.
  29. Brons RH, Bakker HI, Van Wijk RT et al. Staphylococcal acid phosphatase binds to endothelial cells via charge interaction; a pathogenic role in Wegener's granulomatosis? *Clin Exp Immunol*. 2000;119(3):566-73. doi: 10.1046/j.1365-2249.2000.01172.x.
  30. Harper L, Weidanz F. Small vessel vasculitides. *Med* 2006; 34 (11): 456-463.
  31. Kain R, Exner M, Brandes R et al. Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nat Med*. 2008 Oct;14(10):1088-96. doi: 10.1038/nm.1874.
  32. Meyer M, Hellmich B, Kotterba S. CMV infection in systemic necrotizing vasculitis: causative agent or opportunistic infection? *Rheumatol Int*. 2000;20:35-8.

33. Nikkari S, Vainoinpaa R, Toivanen P. Wegener's granulomatosis and parvovirus B19 infection. *Arthritis and Rheumatism*, 1995;38:1175-6.
34. Gregorini G, Ferioli A, Donato F. Association between silica exposure and necrotizing crescentic glomerulonephritis with pANCA and anti-MPO antibodies: a hospital based case-control study. *Advances in Exp Med and Biology* 1993; 336:435-40.
35. Nuyts G, van Vlem E, de Vos A. WG is associated to exposure to silicon compounds: a case-control study. *Nephrology Dialysis Transplantation* 1995;10:1162-5.
36. Lane SE, Watts RA, Bentham G et al. Are environmental factors important in primary systemic vasculitis? A case-control study. *Arthritis Rheum* 2003; 48 (3): 814-823.
37. Duna GF, Cotch MF, Galperin C et al Wegener's granulomatosis: role of environmental exposures. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16 (6): 669-674.
38. Steenland K, Whelan E, Deddens J et al. Ethylene oxide and breast cancer incidence in a cohort study of 7576 women (United States). *Cancer Causes Control*. 2003 Aug;14(6):531-9. doi: 10.1023/a:1024891529592.
39. Choi HK, Merkel PA, Walker AM, Niles JL. Drug-associated antineutrophil cytoplasmic antibody-positive vasculitis: prevalence among patients with high titers of antimyeloperoxidase antibodies. *Arthritis Rheum* 2000; 43 (2): 405-413.
40. Guilpain P, Pagnoux C, Lhote F et al. Antileukotrienes and Churg-Strauss syndrome]. *Presse Med* 2007; 36 (5 Pt 2): 890-894.
41. Weller P, Palut M, Taggart V. The relationship of asthma therapy and Churg-Stauss syndrome: NIH workshop summary report. *Journal of Allergy and clinical Immunology*, 2001;108:175-83.
42. Wiesner O, Russel K, Lee A. Antineutrophil cytoplasmic antibodies reacting with human neutrophil elastase as a diagnostic marker for cocaine induced lesions but not autoimmune vasculitis. *Arthritis and Rheumatism*. 2004;50:2954-65.
43. Cuadrado MJ, D'Cruz D, Lloyd M et al. Allergic disorders in systemic vasculitis: a case-controlled study. *Br J Rheumatol* 1994; 33 (8): 749-753.
44. Wraith DC, Goldman M, Lambert PH. Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence? *Lancet* 2003; 362 (9396): 1659-1666.
45. Birck R, Kaelsch I, Flores-Suares LF. ANCA-associated vasculitis following influenza vaccination: causal association or mere coincidence?. *J Clin Rheumatol*, 2009; 15:289-91.
46. Basu N, Mohammad A, Watts R et al. The effect of smoking on the clinical expression of ANCA-associated vasculitis. *Arthritis Rheum*. 2013; 65: S1192-3 87.
47. Haubitz M, Waywardt A, De Groot K et al. Smoking habits in patients diagnosed with ANCA associated small vessel vasculitis. *Annals of Rheumatic Disease* 2005;64:1500-02.
48. Tatsis E, Reinhold-Keller E, Steindorf K. Wegener's granulomatosis associated with renal cell carcinoma. *Arthritis and Rheumatism*. 1999;42:751-6.
49. Hellmich B, Kausch I, Doehn C. Urinary bladder cancer in WG: Is it more than cyclophosphamide? *Annals of Rheumatic Disease*. 2004;63:1183-5.
50. Izcı Duran T, Turkmen E, Dilek M et al. ANCA-associated vasculitis after COVID-19. *Rheumatol Int*. 2021 Aug;41(8):1523-1529. doi: 10.1007/s00296-021-04914-3.
51. Maritati F, Moretti MI, Nastasi V, et al. ANCA-Associated Glomerulonephritis and Anti-Phospholipid Syndrome in a Patient with SARS-CoV-2 Infection: Just a Coin-

- idence? *Case Rep Nephrol Dial.* 2021 Jul 22;11(2):214-220. doi: 10.1159/000517513.
52. Allena N, Patel J, Nader G et al. A Rare Case of SARS-CoV-2-Induced Microscopic Polyangiitis. *Cureus.* 2021 May 26;13(5):e15259. doi: 10.7759/cureus.15259.
  53. Selvaraj V, Moustafa A, Dapaah-Afriyie K et al. COVID-19-induced granulomatosis with polyangiitis. *BMJ Case Rep.* 2021 Mar 18;14(3):e242142. doi: 10.1136/bcr-2021-242142.
  54. Morris D, Patel K, Rahimi O et al. ANCA vasculitis: A manifestation of Post-Covid-19 Syndrome. *Respir Med Case Rep.* 2021;34:101549. doi: 10.1016/j.rmcr.2021.101549.
  55. Csernok E, Moosig F, Gross W. Pathways to ANCA production: from differentiation of dendritic cells by proteinase-3 to B lymphocyte maturation in Wegener's granuloma. *Clin REV Allergy and Immunol* 2008; 34, 300-306.
  56. Voswinkel J, Mueller A, Kraemer J et al. B lymphocyte maturation in Wegener's granulomatosis: a comparative analysis of VH genes from endonasal lesions. *Ann Rheum Dis,* 2006;65, 859-864.
  57. Krumbholz M, Specks U, Wick M et al. BAFF is elevated in serum of patients with Wegener's granulomatosis. *J Autoimmun.* 2005 Dec;25(4):298-302. doi: 10.1016/j.jaut.2005.08.004.
  58. Mueller A, Holl-Ulrich K, Lamprecht P. Germinal centre-like structures in WG granuloma: the morphological basis for autoimmunity? *Rheumatol* 2008;47:111-3.
  59. Eriksson P, Furuta S, Tervaert JW et al. B cell abnormalities in Wegener's granulomatosis and microscopic polyangiitis: role of CD25+-expressing B cells. *J Rheumatol* 2010; 37: 2086–2095.
  60. Bunch DO, McGregor JG, Khandoobhai NB et al. Decreased CD5(+) B cells in active ANCA vasculitis and relapse after rituximab. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013; 8: 382–391.
  61. Unizony S, Lim N, Phippard DJ et al. Peripheral CD5+ B cells in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67: 535–544.
  62. Lamprecht P, Bruhl H, Erdmann A et al. Differences in CCR5 expression on peripheral blood CD4+CD28- T-cells and in granulomatous lesions between localized and generalized Wegener's granulomatosis. *Clin Immunol.* 2003 Jul;108(1):1-7. doi: 10.1016/s1521-6616(03)00121-9.
  63. Ruth AJ, Kitching AR, Kwan RY et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies and effector CD4+ cells play nonredundant roles in anti-myeloperoxidase crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol,* 2006;17, 1940-1949.
  64. Falk RJ, Terrell RS, Charles LA et al. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990 Jun;87(11):4115-9. doi: 10.1073/pnas.87.11.4115.
  65. Vassalli JD, Sappino AP, Belin D. The plasminogen activator/plasmin system. *J Clin Invest.* 1991 Oct;88(4):1067-72. doi: 10.1172/JCI115405.
  66. Csernok E, Ernst M, Schmitt W et al. Activated neutrophils express proteinase 3 on their plasma membrane in vitro and in vivo. *Clin Exp Immunol.* 1994 Feb;95(2):244-50. doi: 10.1111/j.1365-2249.1994.tb06518.x.
  67. Ruth AJ, Kitching AR, Kwan RY et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies and effector CD4+ cells play nonredundant roles in anti-myeloperoxidase crescentic

- glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Jul;17(7):1940-9. doi: 10.1681/ASN.2006020108.
68. Mukhtyar C, Luqmani R. Current state of tumour necrosis factor {alpha} blockade in Wegener's granulomatosis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64 (Suppl 4): iv31–iv36 .
  69. Jarrot PA, Kaplanski G. Anti-TNF-alpha therapy and systemic vasculitis. *Mediators Inflamm* 2014; 2014: 493593.
  70. Tomosugi NI, Cashman SJ, Hay H, et al. Modulation of antibody-mediated glomerular injury in vivo by bacterial lipopolysaccharide, tumor necrosis factor, and IL-1. *J Immunol* 1989; 142: 3083–3090.
  71. Karkar AM, Smith J, Pusey CD. Prevention and treatment of experimental crescentic glomerulonephritis by blocking tumour necrosis factor-alpha. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 518–524.
  72. Noronh I, Kruger C, Andrassy K. In situ production of TNF-alpha, IL-1 bet and IL-2R in ANCA positive glomerulonephritis. *Kidney Internat* 1993;43:682-692.
  73. McAddo S, Pusey C. Is there a role for TNF $\alpha$  blockade in ANCA-associated vasculitis and glomerulonephritis? *Nephrol Dial Transplant*.2017;32:i80-i88.
  74. Huugen D, Tervaert JW, Heeringa P. TNF-alpha bioactivity-inhibiting therapy in ANCA-associated vasculitis: clinical and experimental considerations. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006 Sep;1(5):1100-7. doi: 10.2215/CJN.02181205.
  75. Booth A, Harper L, Hammad T, et al. Prospective study of TNFalpha blockade with infliximab in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 717–721.
  76. Laurino S, Chaudhry A, Booth A, et al. Prospective study of TNFalpha blockade with adalimumab in ANCA-associated systemic vasculitis with renal involvement. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 3307–3314.
  77. Chavele KM, Shukla D, Ketepe-Arachi T. Regulation of myeloperoxidase-specific T cell responses during disease remission in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis:the role of Treg and tryptophan degradation. *Arthritis Rheum*.2010;62(5):1539-48.
  78. Munn DH, Sharma MD, Mellor AL. Ligation of B7-1/B7-2 by human CD4<sup>+</sup> T cells triggers indoleamine 2,3-dioxygenase activity in dendritic cells. *J Immunol* 2004; 172: 4100-10.
  79. Manches O, Munn D, Fallahi A et al. HIV-activated human plasmacytoid DCs induce Tregs through an indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent mechanism. *J Clin Invest* 2008; 118: 3431-9.
  80. Abdulahad WH, Stegeman CA, Limburg PC, Kallenberg CG. Skewed distribution of Th17 lymphocytes in patients with Wegener's granulomatosis in remission. *Arthritis Rheum*, 2008;58, 2196-2205.
  81. Brinkmann V, Zychlinski A. Neutrophil extracellular traps:Is immunity the second function of chromatin? *Journal of Cellular Biology* 2012; 198;773-83.
  82. Kessenbrock K, Krumbholz. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis, *Nature Medicine*, 2009, 15;623-5.
  83. Sangaletti S, Tripodo C. Neutrophil extracellular traps mediate transfer of cytoplasmic neutrophil antigens to myeloid dendritic cells towards ANCA induction and associated autoimmunity. *Blood*, 2012;120;3007-18.

84. Ferrario F, Rastaldi MP. Necrotizing-crescentic glomerulonephritis in ANCA-associated vasculitis: the role of monocytes. *Nephrol Dial Transplant*, 1999;14, 1627-1631.
85. Ralston DR, Marsh CB, Lowe MP, Wewers MD. Antineutrophil cytoplasmic antibodies induce monocyte IL-8 release. Role of surface proteinase-3, alpha1-antitrypsin, and Fc gamma receptors. *J Clin Invest*, 1997;100, 1416-1424.
86. Chensue SW, Otterness IG, Higashi GI, Forsch CS. Monokine production by hypersensitivity (*Schistosoma mansoni* egg) and foreign body (Sephadex bead)-type granuloma macrophages. Evidence for sequential production of IL-1 and tumor necrosis factor. *J Immunol*. 1989 Feb 15;142(4):1281-6.
87. Libby P, Ordovas JM, Auger KR et al. Endotoxin and tumor necrosis factor induce interleukin-1 gene expression in adult human vascular endothelial cells. *Am J Pathol*. 1986 Aug;124(2):179-85.
88. Nachman RL, Hajjar KA, Silverstein RL, Dinarello CA. Interleukin 1 induces endothelial cell synthesis of plasminogen activator inhibitor. *J Exp Med*. 1986 Jun 1;163(6):1595-600. doi: 10.1084/jem.163.6.1595.
89. Pober JS, Bevilacqua MP, Mendrick DL et al. Two distinct monokines, interleukin-1 and tumor necrosis factor, each independently induce the biosynthesis and transient expression of the same antigen on the surface of cultured human vascular endothelial cells. *J Immunol* 1986;136:1680-1687.
90. Woywodt A, Streiber F, De Groot K et al. Circulating endothelial cells as markers for ANCA-associated small-vessel vasculitis. *Lancet*, 2003;361, 206-210.
91. Ballieux BE, Zondervan KT, Kievit P et al. Binding of proteinase 3 and myeloperoxidase to endothelial cells: ANCA-mediated endothelial damage through ADCC? *Clin Exp Immunol*, 1994;97, 52-60.
92. Taekema-Roelvink ME, Van Kooten C, Heemskerk E et al. Proteinase 3 interacts with a 111-kD membrane molecule of human umbilical vein endothelial cells. *J Am Soc Nephrol* 2000, 11, 640-648.
93. Holmen C, Christensson M, Pettersson E. Wegener's granulomatosis is associated with organ-specific antiendothelial cell antibodies. *Kidney International*. 2004; 66:1049-60.
94. Sanders JC, Hutima MG, Lallenburg CG. Prediction of relapses in PR3-ANCA-associated vasculitis by assessing responses of ANCA titres to treatment. *Rheumatology (Oxford)*, 2006;45;724-9.
95. Homeister JW, Jennette JC, Falk RJ. Immunologic mechanisms of vasculitis. *The Kidney*. Elsevier, 2013;83: 2817-2846.
96. Reumaux D, de Boer M, Meijer AB, et al. Expression of myeloperoxidase (MPO) by neutrophils is necessary for their activation by anti-neutrophil cytoplasm autoantibodies (ANCA) against MPO. *J Leukoc Biol* 2003;73:841-9.
97. Xiao H, Schreiber A, Heeringa P, et al. Alternative complement pathway in the pathogenesis of disease mediated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Am J Pathol* 2007; 170: 52-64.
98. Bajema IM, Hagen EC, De Heer et al. Colocalization of ANCA-antigens and fibrinoid necrosis in ANCA-associated vasculitis. *Kidney Int*, 2001;60, 2025-2030.
99. Salama AD, Little M. Animal models of anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis. *Current opinion in Rheumatology*, 2012;24;1-7.

100. Primo VC, Marusic S, Sklin et al. Anti-PR3 immune responses induce segmental and necrotizing glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol* 2010, 159, 327-337.
101. Schlieben DJ, Korbet SM, Kimura et al. Pulmonary-renal syndrome in a newborn with placental transmission of ANCA. *Am J Kidney Dis* 2005, 45, 758-761.
102. Quintana LF, Pérez NS, De Sousa E, et al. ANCA serotype and histopathological classification for the prediction of renal outcome in ANCA-associated glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29: 1764-1769.
103. Berden AE, Nolan SL, Morris HL, et al. Anti-plasminogen antibodies compromise fibrinolysis and associate with renal histology in ANCA-associated vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 2169–2179.
104. Hao J, Wang C, Gou SJ, et al. The association between anti-plasminogen antibodies and disease activity in ANCA-associated vasculitis. *Rheumatology (Oxford)* 2014; 53: 300–306.
105. Bautz DJ, Preston GA, Lionaki S et al. Antibodies with dual reactivity to plasminogen and complementary PR3 in PR3-ANCA vasculitis. *J Am Soc Nephrol*. 2008; 19: 2421–2429.
106. Anneles B, Sarah N, Hannah M. Anti-plasminogen Antibodies Compromise Fibrinolysis and Associate with Renal Histology in ANCA –Associated Vasculitis. *J Am Soc Nephrol*.2010;21(12):2169-2179.
107. Heeringa P, Tervaert JW. Pathophysiology of ANCA-associated vasculitides: Are ANCA really pathogenic? *Kidney Int*. 2004; 65: 1564-1567.
108. Rondeau E, Mougnot B, Lacave R et al. Plasminogen activator inhibitor 1 in renal fibrin deposits of human nephropathies. *Clin Nephrol*. 1990; 33:55–60.
109. Kain R, Tadema H, McKinney EF, et al. High prevalence of autoantibodies to hLAMP-2 in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 556–566.
110. Peschel A, Basu N, Benharkou A, et al. Autoantibodies to hLAMP-2 in ANCA-negative pauci-immune focal necrotizing GN. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25: 455-463.
111. Kain R, Matsui K, Exner M et al. A novel class of autoantigens of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in necrotizing and crescentic glomerulonephritis: the lysosomal membrane glycoprotein h-lamp-2 in neutrophil granulocytes and a related membrane protein in glomerular endothelial cells. *J Exp Med* 1995; 181: 585-597.
112. Gou SJ, Yuan J, Chen M, et al. Circulating complement activation in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Kidney Int* 2013; 83: 129-137.
113. Rowaiye W, Kuzstal M, Klinger M. The kidneys and ANCA-associated vasculitis: from pathogenesis to diagnosis. *Clinical Kidney Journal*. 2015;8:343-350.
114. Khoury P, Grayson PC, Klion AD. Eosinophils in vasculitis: characteristics and roles in pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol*. 2014 Aug;10(8):474-83. doi: 10.1038/nrrheum.2014.98.
115. Schonermarck U, Csernok E, Trabandt A. Circulating cytokines and soluble CD23, CD26 and CD30 in ANCA AAV. *Clin Exp Rheumatol*. 2000;18:457-63.
116. Fukuchi M, Kamide Y, Ueki S et al. Eosinophil ETosis-mediated release of galectin-10 in eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *Arthritis Rheum* 2021; 73: 1683-93.
117. Travis WD, Hoffman GS, Lravit RY. Surgical pathology of the lung in Wegener's granulomatosis. Review of 87 open lung biopsies from 67 patients. *Am J Surg Pathol*, 1991;15:315-33.

118. Travis W, Carpenter H, Lie J. Diffuse pulmonary hemorrhage. An uncommon manifestations of Wegener's granulomatosis. 1987. *Am J Rheumatol*; 11:702-8.
119. Geraint D. A clinicopathological classification on granulomatous disorders. *Postgraduate Med J*. 2000;76:457-465.
120. Schabel A, Holl-Ulrich k, Dalhoff K. Efficacy of transbronchial biopsy in pulmonary vasculitis. *Eur Respir J*, 1997;10:2738-43.
121. Devaney K, Travis W, Hoffman G. Interpretation of head and neck biopsies in Wegener's granulomatosis. 1990. *Ame J Surg Pathol*; 14:555-64.
122. Jennete J, Falk R. Microscopic poliangiitis. 2001. *Seminars in Diagnostic Pathology*; 18:3-13.
123. Hellmich B, SanchezAlamo B, Schirmer JH, et al. EULAR recommendations for the management of ANCA-associated vasculitis: 2022 update. *Ann Rheum Dis* 2024;83:30–47.
124. Yates M,Watts RA, Bajema I. EULAR/ERA-EDTA recommendations for the management of ANCA-assssociated vasculitis. *Ann Rheum Dis*, 2016;0:1-12.
125. Churg A. Recent advances in the diagnosis of CSS. 2001. *Modern Pathology*; 14:1284-93.
126. Guillevin L, Gayraud M, Lhote F. Churg-Strauss syndrome.Clinical study and long-term follow-up of 96 patients. *Medicine (Baltimore)*1999;78:26-37.
127. Berden AE, Ferrario F, Hagen EC, et al. Histopathologic classification of ANCA-associated glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 1628–1636.
128. Hoffman GS, Kerr GS, Leavitt RY. Wegener's granulomatosis: an analysis of 158 patients. *Ann Inter Medi*, 1992:116;488-98.
129. Mahr A, Katsahian S, Varet H. Revisiting the classification of clinical phenotypes of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-assosiated vasculitis: a cluster analysis. *Ann Rheumat Dis*, 2013:72;1003-10.
130. Holle JC, Gross WL, Latza U. Improved outcome in 445 patients with Wegener's granulomatosis in a German vasculitis center over four decades. *Arthritis Rheum*, 2011:63;257-66.
131. Stone JH. Limited versus severe Wegener's granulomatosis :baseline data on patients in the Wegener's granulomatosis etanercept trials, 2003. *Arthritis Rheum*; 48;2299-309.
132. Allenbach Y, Seror R, Pagnoux C. High frequency of venous thromboembolic events in Churg-Strauss syndrome, Wegener's granulomatosis and microscopic polyangiitis but not polyarteritis nodosa. *Ann Rheum Dis*, 2009:68;546-7.
133. Savage CO, Winearls CG, Evans DJ. Microscopic polyarteritis:presentation, pathology and prognosis. *QIM*, 1985:56;467-83.
134. Haworth SJ, Savage CO, Carr D et al. Pulmonary haemorrhage complicating Wegener's granulomatosis and microscopic polyarteritis. *Br Med J (Clin Res Educ)* 1985;290:1775-8.
135. Hiromura K, Nojima Y, Kitahara T. Four cases of anti-myeloperoxidase antibody-related rapidly progressive glomerulonephritis during the course of idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin Nephrol*, 2000:53;384-9.
136. Penas PF, Porras JI, Fraga J. Microscopic polyangiitis. A systemic vasculitis with a positive pANCA. *Br J Dermatol*, 1996:134;542-7.

137. Homas PB, David-Bajar KM. Microscopic polyangiitis. Report of a case with cutaneous involvement and anti-myeloperoxidase antibodies. *Arch Dermatol*, 1992;128;1223-8.
138. Nagai Y, Hasegawa M, Igarashi N et al. Cutaneous manifestations and histological features of microscopic polyangiitis. *Eur J Dermatol*, 2009; 19:57-60.
139. Kono H, Inokuma S, Nakayama H. pachymeningitis in microscopic polyangiitis (MPA): a case report and a review of central nervous system involvement in MPA. *Clin Exp Rheumatol*, 2000;18;397-400.
140. Gayraud M, Guillevin L, le Toumeli P. French Vasculitis Study Group. Longterm follow-up of polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis, and Churg-Strauss syndrome:analysis of four prospective trials including 278 patients, 2001. *Arthritis Rheum*, 44;666-75.
141. Oh JS, Lee CK, Kim YG et al. Clinical features and outcomes of microscopic polyangiitis in Korea. *J Korean Med Sci*. 2009;24(2):269-74.
142. Hashimoto H, Yoshida M, Kobayashi S et al. An epidemiologic nationwide survey of ANCA related vasculitis in Japan: annual report 1998 of the Research Group for Intractable Vasculitis, Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan. 1999: 213-29.
143. Caster JC, Shetlar DJ, Pappola MA. Microscopic polyangiitis with ocular involvement. *Archives of Ophthalmology*, 1996;114;346-8.
144. Rothschild PR, Pagnoux C, Seror R et al. Ophthalmologic manifestations of systemic necrotizing vasculitides at diagnosis: a retrospective study of 1286 patients and review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 42: 507–514, 2013.
145. Schmidt J, Pulido JS, Matteson EL. Ocular manifestations of systemic disease: anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Curr Opin Ophthalmol* 2011;22: 48-495.
146. Guillevin L, Durand-Gasselien B, Cevallos R et al. Microscopic polyangiitis:clinical and laboratory findings in eighty-five patients. *Arthritis Rheum* 1999;42:421-30.
147. Wang L, Thelmo WL, Axiotis CA. Microscopic polyangiitis with massive myocardial necrosis and diffuse pulmonary hemorrhage. *Virchows Archiv*, 2002;441:202-4.
148. Lane SE, Watts, RA. Primary systemic vasculitis:clinical features and mortality. *QJM*, 2005;98;97-111.
149. Chumbley LC, Harrison EG Jr, DeRemee RA. Allergic granulomatosis and angiitis (Churg–Strauss syndrome). Report and analysis of 30 cases. *Mayo Clin Proc* 1977;52:477–84.
150. Keogh KA, Specks U. Churg-Strauss syndrome:clinical presentation, antineutrophil cytoplasmic antibodies, and leucotriene receptor antagonists. *Am J Med* 2003; 115:284-90.
151. Guillevin L, Cohen P, Gayraud M et al. Churg-Strauss syndrome. Clinical study and long-term follow-up of 96 patients. *Medicine (Baltimore)*. 1999 Jan;78(1):26-37. doi: 10.1097/00005792-199901000-00003.
152. Davis MD, Daoud MS, McEvoy et al. Cutaneous manifestations of Churg-Strauss syndrome:a clinicopathologic correlation. *J Am Acad Dermatol*, 1997;37:199-203.
153. Ramakrishna G, Connolly HM, Tazelaar HD. Churg-Strauss syndrome complicated by eosinophilic endomyocarditis. *Mayo Clinic Proceedings*, 2000;104;1411-8.

154. Dunogue B, Pagnoux C, Guillevin L. Churg-Strauss Syndrome: Clinical Symptomes, Complementary Investigations, Prognosis and Outcomes and Treatment. *Respir Crit Care Med*. 2011; 298-309.
155. Kurita M, Niwa Y, Hamada E. et al. Churg-Strauss syndrome with multiple perforating ulcers of the small intestine, multiple ulcers of the colon, and mononeuritis multiplex. *J Gastroenetrology*, 1994;29:208-13.
156. Serra A, Cameron JS, Turner DR. Vasculitis affecting kidneys:presentation, hisptopathology and long-term outcome. *QJM* 1984; 53:181-207.
157. Христова М, Балева М. Диагностична стойност на антинеутрофилните цитоплазмени антитела. *Мед. преглед*, 2011;47:22-28.
158. Goldschmeding R, Cohen Tervaert JW. Different immunological specificities and disease associations of cANCA and pANCA. *Neth J Med*, 1990;36:114–116.
159. Jennette JC, Wilkman AS, Falk RJ. Anti-neutrophil autoantibody-associated glomerulonephritis and vasculitis. *Am J Pathol*, 1989;135:921–930.
160. Sinico RA, Gregorini G, Radice A. Clinical significance of antibodies to myeloperoxidase in significance of antibodies to myeloperoxidase in vasculitic syndromes,, in *Renal Involvement in Systemic Vasculitis Contributions to Nephrol*, 1991: 31-37.
161. Kam CM, Kerrigan JE, Dolman KM et al. Substrate and inhibitor studies on proteinase 3. *FEBS Lett*. 1992 Feb 3;297(1-2):119-23. doi: 10.1016/0014-5793(92)80340-m.
162. Gabay JE, Scott RW, Campanelli D. Antibiotic proteins of human polymorphonuclear leukocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989; 86:5610 5614.
163. Wieslander J, Wiik A. ANCA antigens: Proteinase 3, in *Manual of Biological Markers of Disease*, edited by Van Venrooy WJ, Maine RN, Dordrecht, Kluwer Academic, 1994, B7.1:1-9.
164. Harrison JE, Schultz J. Studies on the chlorinating activity of myeloperoxidase. *J Biol Chem*, 1976;251:1371–1374.
165. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med*. 1989;320:365–376.
166. Griffin SV, Chapman PT, Lianos EA, Lockwood CM. The inhibition of myeloperoxidase by ceruloplasmin can be reversed by antimyeloperoxidase antibodies. *Kidney Int*. 1999;55:917–925.
167. Jennette JC, Falk RJ. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated diseases: A review. *Am J Kidney Dis*. 1990;6:517–529.
168. Hagen EC, Daha MR, Hermans et al. Project for ANCA Assay Standardization. Development and standardization of solid phase assays for the detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): A report on the second phase of an international cooperative study on the standardization of ANCA assays. *Kidney Int*. 1998;53:743–753.
169. Nölle B, Specks,U, Lüdemann J et al. Anticytoplasmic autoantibodies: Their immunodiagnostic value in Wegener's granulomatosis. *Ann Intern Med*. 1989;111:28–40.
170. Rao JK, Allen NB, Feussner JR, Weinberger M. A prospective study of antineutrophil cytoplasmic antibody (cANCA) and clinical criteria in diagnosing Wegener's granulomatosis. *Lancet*. 1995;346:926–931.
171. 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;318:1651–1657.

172. Cohen Tervaert JW, Goldschmeding R, Elema JD et al. Autoantibodies against myeloid lysosomal enzymes in crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int.* 1990;37:799–806.
173. Kallenberg CGM, Cohen Tervaert JW. Antineutrophil cytoplasmic antibodies: New tools in the diagnosis and follow-up of necrotizing glomerulonephritis. in: Andreucci VA, Fine LG (Eds.) *International Yearbook of Nephrology.* Springer-Verlag, London; 1992:313–335.
174. Gaskin G, Savage COS, Ryan JJ et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies and disease activity during long-term follow-up of 70 patients with systemic vasculitis. *Nephrol Dial Transplant.* 1991;6:689–694.
175. Cohen Tervaert JW, Goldschmeding R, Elema JD et al. Anti-myeloperoxidase antibodies in the Churg-Strauss syndrome. *Thorax.* 1991;46:70–71.
176. Guillevin L, Visser H, Noël LH et al. Antineutrophil cytoplasm antibodies in systemic polyarteritis nodosa with and without hepatitis B virus infection and Churg-Strauss syndrome. *J Rheumatol.* 1993;20:1345–1349.
177. Cohen Tervaert JW, Limburg PC, Elema JD et al. Detection of autoantibodies against myeloid lysosomal enzymes: A useful adjunct to classification of patients with biopsy-proven necrotizing arthritis. *Am J Med.* 1991;91:59–66.
178. Franssen CFM, Stegeman CA, Oost-Kort WW et al. Determinants of renal outcome in anti-myeloperoxidase-associated necrotizing crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol.* 1998; 9: 1915-1923.
179. Franssen C, Gans R, Kallenberg C. Disease spectrum of patients with ANCA of defined specificity: distinct difference between patients with anti-proteinase 3 and anti-myeloperoxidase autoantibodies. *J Int Med.* 1989; 244:209-16.
180. Schonemarck U, Lamprecht P, Csernok E. Prevalence and spectrum of rheumatic disease associated with proteinase-3-ANCA and myeloperoxidase-ANCA. *Rheumatol (Oxford)* 2001;40:178-84.
181. Couser, WG. Rapidly progressive glomerulonephritis: Classification, pathogenetic mechanisms, and therapy. *Am J Kidney Dis.* 1988;11:449–464.
182. Lyons PA, Rayner TF, Trivedi S, et al. Genetically distinct subsets within ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2012; 367: 214–223.
183. Flint Sh, Savage C. Anti-LAMP-2 Autoantibodies in ANCA-Associated Pauci-Immune Glomerulonephritis. *JASN* 23:378-380,2012.
184. Kain R, Rees AJ. What is the evidence for antibodies to LAMP-2 in the pathogenesis of ANCA associated vasculitis? *Curr Opin Rheumatol.* 2013;25(1):26-34.
185. Falk, RJ, Hogan S, Carey TS, Jennette JC, the Glomerular Disease Collaborative Network. Clinical course of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and systemic vasculitis. *Ann Intern Med.* 1990;113:656–663.
186. Geffriaud-Ricouard C, Noël LH, Chauveau D et al. Clinical spectrum associated with ANCA of defined specificities in 98 selected patients. *Clin Nephrol.* 1993;39:125–136.
187. Souid M, Terki N, Nochy D. Myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (MPO-ANCA)-related rapidly progressive glomerulonephritis (RPGN) and pulmonary fibrosis with dissociated evolution. *Clin Nephrol.* 2001;55:337-7.
188. Homma S, Matsushita H, Nakata K. Pulmonary fibrosis in MPO ANCA associated vaskulitides. *Respirol.* 2004;9:190-6.
189. Hauer J, Bajema I, van Houwelingen H. Renal histology in ANCA-associated vasculitis: differences between diagnostic and serologic subgroups. *Kidney Int.* 2002;61:80-9.

190. Ter Maaten JC, Franssen CFM, Gans ROB, Hoorntje SJ. Respiratory failure in ANCA-associated vasculitis. *Chest*. 1996;110:357–362.
191. Bosch X, López-Soto A, Mirapeix A et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies-associated alveolar capillaritis in patients presenting with pulmonary hemorrhage. *Arch Pathol Lab Med*. 1994;118:517–522.
192. Sable-Fourtassou R, Cohen P, Mahr A. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and the CSS. *Ann Int Med*. 2005;143:632-8.
193. Sinico R, Di-Toma L, Maggiore U. Prevalence and clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in Churg-Strauss syndrome. *Arthritis Rheum*. 2005;52:2926-35.
194. Papo M, Sinico RA, Teixeira V et al. French Vasculitis Study Group and the EGPA European Study Group. Significance of PR3-ANCA positivity in eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss). *Rheumatology (Oxford)*. 2021 Sep 1;60(9):4355-4360. doi: 10.1093/rheumatology/keaa805.
195. Haghigi A, Forghanizadeh J. Antineutrophil Cytoplasmic Antibody (ANCA) in Connective Tissue Disease. *JACM* 2005;6(3):216-9.
196. Merkel PA, Polissin RP, Chang Y et al. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibodies in a large inception Cohort of patients with connective tissue disease. *Ann Intern Med* 1997; 126: 866-73.
197. Csernok E, Lamprecht P, Gross WL. Clinical and immunological features of drug-induced and infection-induced proteinase 3-antineutrophil cytoplasmic antibodies and myelo-peroxidase-antineutrophil cytoplasmic antibodies and vasculitis. *Curr Opin Rheumatol.*, 2010,22(1), 43-48.
198. O'Neil KM, Jones DM, Lawson J M. Wegener's granulomatosis masquerading as pancreatic carcinoma. *Dig Dis Sci*, 1992,37(5), 702-704.
199. Watz H. et al. Bronchioloalveolar carcinoma of the lung associated with a highly positive pANCA-titer and clinical signs of microscopic polyangiitis. *Pneumologie*, 2004, 58(7), 493-498.
200. Christi SU et al. Pancreatic tail tumor as an unusual first manifestation of Wegener's disease. *Z Gastroenterol*, 2004,42(6), 513-516.
201. Walcher J, Witter T, Rupprecht HD. Hepatocellular carcinoma presenting with paraneoplastic demyelinating polyneuropathy and PR3-antineutrophil cytoplasmic antibody. *J Clin Gastroenterol*, 2002,35(4), 364-365.
202. Diez-Porres L et al. ANCA-associated vasculitis as paraneoplastic syndrome with colon cancer: a case report. *Lupus*, 2005,14(8), 632-634.
203. Luqmani RA. Disease assessment in systemic vasculitis. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;30 Suppl 1:i76-82. doi: 10.1093/ndt/gfv002.
204. Exley A, Bacon P, Luqmani R. Examination of disease activity in systemic vasculitis from the novel perspective of damage using the vasculitis damage index (VDI). *Br J Rheumatol*, 1998;37:57-63.
205. Holle JU, Lamprecht P. ANCA-associated vasculitides. Classifying the disease and its activity according to EULAR/EUVAS recommendations. *Z Rheumatol*. 2009;68(1):75-80. German. doi: 10.1007/s00393-008-0418-y.
206. Luqmani RA, Bacon PA, Moots RJ et al. Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS) in systemic necrotizing vasculitis. *QJM* 1994, 87:671-678.

207. Guillevin L, Lhote F. Prognostic factors in polyarteritis nodosa and Churg-Strauss Syndrome. A prospective study in 342 patients. *Medicine (Baltimore)*, 1996;75:17-28.
208. Guillevin L, Pagnoux C, Seror R. The Five Factor Score revisited: assessment of prognoses of systemic necrotizing vasculitides based on The French Vasculitis Study Group (FVSG) cohort. *Medicine (Baltimore)*, 2011;90:19-27.
209. Samson M, Puechal X, Devilliers H et al. Long-term outcomes of 118 patients with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (churg-strauss syndrome) enrolled in two prospective trials. *J Autoimmun* 2013;43:60–9. doi:10.1016/j.jaut.2013.03.003.
210. Bordignon J, Fulladosa X, Cruzado J. Current and novel biomarkers in anti-neutrophil cytoplasm-associated vasculitis. *CKJ*, 2016; 9(4):547-551.
211. Rutgers A, Heeringa P, Damoiseaux JG et al. ANCA and anti-GBM antibodies in diagnosis and follow-up of vasculitic disease. *Eur J Intern Med* 2003; 14: 287-295.
212. Boomsma MM, Stegeman CA, van der Leij MJ. Prediction of relapses in Wegener's granulomatosis by measurement of antineutrophil cytoplasmic antibody levels: a prospective study. *Arthritis Rheum* 2000;43:2025-33.
213. Tomasson G, Grayson PC, Mahr AD et al. Value of ANCA measurements during remission to predict a relapse of ANCA-associated vasculitis – a meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)* 2012; 51: 100-109.
214. Kemna MJ, Damoiseaux J, Austen J et al. ANCA as a predictor of relapse: useful in patients with renal involvement but not in patients with nonrenal disease. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26: 537–542.
215. Cartin-Ceba R, Golbin JM, Keogh KA. Rituximab for remission induction and maintenance in refractory granulomatosis with polyangiitis (Wegener's): ten year experience at a single center. *Art Rheumatol*, 2012: 64;3770-8.
216. Walsh M, Flossmann O, Berden A et al. European Vasculitis Study Group. Risk factors for relapse of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum*. 2012;64(2):542-8. doi: 10.1002/art.33361.
217. Eschun G, Mink S, Sharma S. pulmonary interstitial fibrosis as a presenting manifestations in perinuclear antineutrophilic cytoplasmic antibody microscopic polyangiitis. *Chest*, 2003;123:297-301.
218. Csernok E, Hellmich B. Usefulness of vasculitis biomarkers in the era of the personalized medicine. *Autoimmun Rev* 2020;19:102514.
219. Terrier B, Pagnoux C, Perrodeau É, et al. Long-Term efficacy of remission-maintenance regimens for ANCA-associated vasculitides. *Ann Rheum Dis* 2018;77:1150-6.
220. Lionaki S, Blyth ER, Hogan S, et al. Classification of antineutrophil cytoplasmic autoantibody vasculitides: the role of antineutrophil cytoplasmic autoantibody specificity for myeloperoxidase or proteinase 3 in disease recognition and prognosis. *Arthritis Rheum* 2012;64:3452–62.
221. Alberici F, Smith RM, Jones RB, et al. Long-term follow-up of patients who received repeat-dose rituximab as maintenance therapy for ANCA-associated vasculitis. *Rheumatology (Oxford)* 2015;54:1153-60. doi:10.1093/rheumatology/keu452 .
222. McClure ME, Wason J, Gopaluni S, et al. Evaluation of PR3-ANCA status after rituximab for ANCA-associated vasculitis. *J Clin Rheumatol* 2019;25:217–23.
223. Miseev S, Zykova A, Bulanov N. Is There a Role for LAMP-2 Autoantibodies in Patients with Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-associated Vasculitis? *J Rheumatol* 47:636-638,2020.

224. Suzuki K, Nagao T, Itabashi M et al. A novel autoantibody against moesin in the serum of patients with MPO-ANCA-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29: 1168–1177.
225. Simon A, Subra JF, Guilpain P et al. Detection of anti-pentraxin-3 autoantibodies in ANCA-associated vasculitis. *PLoS One* 2016; 11: e0147091.
226. O'Reilly VP, Wong L, Kennedy C et al. Urinary soluble CD163 in active renal vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27: 2906-16.
227. Anh SS, Yoon T, Park YB et al. Serum chitinase-3-like 1 protein is a useful biomarker to assess disease activity in ANCA-associated vasculitis: an observational study. *Arthritis Res Ther* 2021; 23: 77.
228. Oomatia A, Moran SM, Kennedy C et al. Prolonged duration of renal recovery following ANCA-associated glomerulonephritis. *Am J Nephrol* 2016; 43: 112–119.
229. Ohlsson S, Bakoush O, Tencer J, et al. Monocyte chemoattractant protein 1 is a prognostic marker in ANCA-associated small vessel vasculitis. *Mediators Inflamm.* 2009;2009:584916. doi: 10.1155/2009/584916.
230. Lieberthal JG, Cuthbertson D, Carette S et al. Urinary biomarkers in relapsing anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *J Rheumatol* 2013; 40: 674–683.
231. Suppiah Judge A, Bart R. A model to predict cardiovascular events in patients with newly diagnosed Wegener's granulomatosis and microscopic polyangiitis. *Arthritis Care and Research (Hoboken)*, 2011;63;588-96.
232. Takala JH, Kautianen H. Survival of patients with diagnosed Wegener's granulomatosis in Finland in 1981-2000. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 2010; 39;71-6.
233. Little MA, Nightingale P, Verburgh CA, et al. Early mortality in systemic vasculitis: relative contribution of adverse event and active vasculitis. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(6):1063-1069.
234. Mukhtyar C, Flossmann O, Hellmich B. Outcomes from studies of ANCA associated vasculitis: a systemic review by the European League Against Rheumatism systemic vasculitis task force. *Ann Rheum Dis*, 2008;67:1004-10.
235. Bligny D, Mahr A, Toumelin PL, et al. Predicting mortality in systemic Wegener's granulomatosis: a survival analysis based on 93 patients. *Arthritis Rheum* 2004; 51 (1): 83-91.
236. Knight A, Askling J, Ekbom A. Cancer incidence in a population-based cohort of patients with Wegener's granulomatosis. *Int J Cancer*, 2002;100;82-5.
237. Fauchou M, Sorensen IJ. Malignancies in Wegener's granulomatosis: incidence and relation with cyclophosphamide therapy a cohort of 293 patients. *J Rheumatol*, 2008;35;100-5.
238. Westman K, Bygren W, Olsson PG. H. Relapse rate, renal survival, and cancer morbidity in patients with Wegener's granulomatosis or microscopic polyangiitis with renal involvement. *J Am Soc Nephrol*, 1998;9:842-52.
239. Hilhorst M, van Paassen P, Tervaert JW. Limburg Renal Registry. Proteinase 3-ANCA Vasculitis versus Myeloperoxidase-ANCA Vasculitis. *J Am Soc Nephrol*. 2015 Oct;26(10):2314-27. doi: 10.1681/ASN.2014090903.
240. Flossmann O, Berden A, de Groot K et al. Long-term patient survival in ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(3):488–94. doi: 10.1136/ard.2010.

241. De Joode AA, Sanders JS, Stegeman CA. Renal survival in proteinase 3 and myeloperoxidase ANCA associated vasculitis. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2013;8:1709-17.
242. Franssen CF, Rastaldi MP, Arends B. Differences between anti-myeloperoxidase- and antiproteinase 3-associated renal disease. *Kidney Int* 1995;47:193-199.
243. Hogan SL, Nachman PH, Wilkman AS the Glomerular Disease Collaborative Network. Prognostic markers in patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated microscopic polyangiitis and glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*. 1996;7:23–32.
244. Wilkowsky MJ, Velosa JA, Holley KE et al. Risk factors in idiopathic renal vasculitis and glomerulonephritis. *Kidney Int*. 1989;36:1133–1141.
245. Gans ROB, Kuizinga MC, Goldschmeding R et al. Clinical features and outcome in patients with glomerulonephritis and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Nephron*. 1993;64:182–188.
246. Franssen CFM, Stegeman CA, Kallenberg CGM et al. Antiproteinase 3- and antimyeloperoxidase-associated vasculitis. *Kidney Int*. 2000; 57: 2195-2206.
247. Harper L. Morbidity in patients with ANCA-associated vasculitis. *Presse Med* 2013;42:612-16.
248. Moiseev S, Kronbichler A, Makarov E et al. Association of venous thromboembolic events with skin, pulmonary and kidney involvement in ANCA-associated vasculitis: a multinational study. *Rheumatology (Oxford)* 2021; 60: 4654-61.
249. Hilhorst M, Winckers K, Wilde B. Patients with antineutrophil cytoplasmic antibodies associated vasculitis in remission are hypercoagulable. *J Rheum* 2013;40:2042-46.
250. Mukhytar C, Guillevin L, Cid MC. EULAR recommendations for the management of primary small and medium vessel vasculitides. *Ann Rheum Dis*, 2009;68:310-7.
251. De Groot K, Adu D, Savage COS. The value of pulse cyclophosphamide in ANCA-associated vasculitis: Meta-analysis and critical review. *Nephrol Dial Transplant*, 2001;16:2018-27.
252. Waki D, Nishimura K, Tokumasu H et al. Initial high-dose corticosteroids and renal impairment are risk factors for early severe infections in elderly patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated vasculitis: A retrospective observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2020 Feb;99(8):e19173. doi: 10.1097/MD.00000000000019173.
253. Furuta S, Nakagomi D, Kobayashi Y et al. Effect of reduced-dose vs high-dose glucocorticoids added to rituximab on remission induction in ANCA-associated vasculitis: a randomized clinical trial. *JAMA* 2021; 325: 2178-87.
254. Chanouzas D, McGregor JAG, Nightingale P et al. Intravenous pulse methylprednisolone for induction of remission in severe ANCA associated Vasculitis: a multi-center retrospective cohort study. *BMC Nephrol*. 2019 Feb 18;20(1):58. doi: 10.1186/s12882-019-1226-0.
255. Robson JC, Dawson J, Cronholm PF et al. Patient perceptions of glucocorticoids in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Rheumatol Int*. 2018 Apr;38(4):675-682. doi: 10.1007/s00296-017-3855-6.
256. Chanouzas D, McGregor JAG, Nightingale P, et al. Intravenous pulse methylprednisolone for induction of remission in severe ANCA associated vasculitis: a multi-center retrospective cohort study. *BMC Nephrol* 2019;20:58. doi:10.1186/s12882-019-1226-0.

257. De Groot K, Rasmussen N, Bacon RA. Randomized trial of cyclophosphamide versus methotrexate for induction of remission in early systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2005;52:2461-9.
258. Faurschou M, Westman K, Rasmussen N European Vasculitis Study Group. Brief Report: long-term outcome of a randomized clinical trial comparing methotrexate to cyclophosphamide for remission induction in early systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum*. 2012 Oct;64(10):3472-7. doi: 10.1002/art.34547.
259. Hoffman GS, Leavitt RY, Kerr GS. The treatment of Wegener's granulomatosis with glucocorticosteroids and methotrexate. *Arthritis Rheum* 1992;35:1322-9.
260. Hu W, Liu C, Xie H et al. Mycophenolate mofetil versus cyclophosphamide for inducing remission of ANCA vasculitis with moderate renal involvement. *Nephrol Dial Transplant*. 2008 Apr;23(4):1307-12. doi: 10.1093/ndt/gfm780
261. Tuin J, Stassen PM, Bogdan DI, et al. Mycophenolate mofetil versus cyclophosphamide for the induction of remission in nonlife-threatening relapses of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: randomized, controlled trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 2019;14:1021–8. doi:10.2215/CJN.11801018.
262. Stone JH, Merkel PA, Spiera R. Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2010; 363:221-32.
263. Zhu Y, Rao J, Liu L, et al. The therapeutic effect of plasma exchange on ANCA-associated vasculitis: A metaanalysis. *Clin Nephrol* 2021; 95: 312-22.
264. Bellos I, Michelakis I, Nikopoloulos D. The role of plasma exchange in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: a meta-analysis. *Clin Rheumatol* 2021; 40: 1447-56.
265. Yamada Y, Harada M, Hara Y et al. Efficacy of plasma exchange for antineutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Res Ther* 2021; 23: 28.
266. Levy JB, Turner AN, Rees AJ, et al. Long-Term outcome of anti-glomerular basement membrane antibody disease treated with plasma exchange and immunosuppression. *Ann Intern Med* 2001;134:1033–42. doi:10.7326/0003-4819-134-11-200106050-00009.
267. Walsh M, Catapano F, Szpirt W et al. Plasma exchange for renal vasculitis and idiopathic rapidly progressive glomerulonephritis: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis*. 2011 Apr;57(4):566-74. doi: 10.1053/j.ajkd.2010.10.049.
268. Muso E, Ito-Ihara T, Ono T. Intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy in MPO-ANCA related polyangiitis with rapidly progressive glomerulonephritis in Japan. *Jpn Infect Dis* 2004;57:S17-18.
269. Jayne DRW, Chapel H, Adu D. Intravenous immunoglobulin for ANCA-associated systemic vasculitis with persistent disease activity. *QJM* 2000;93:433-9.
270. Fortin PM, Tejani AM, Bassett K. Intravenous immunoglobulin as adjuvant therapy for Wegener's granulomatosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;1:CD007057.
271. Jayne DRW, Merkel PA, Schall TJ et al. Avacopan for the treatment of ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2021; 384: 599-609.
272. Mertz C, Miehle N, Manger K. Elevated relapse rate under oral methotrexate versus leflunomide for maintenance of remission in Wegener's granulomatosis. *Rheumatology (Oxford)* 2007;46:1087-91.

273. Metzler C, Fink C, Lamprecht P, et al. Maintenance of remission with leflunomide in Wegener's granulomatosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2004 Mar;43(3):315-20. doi: 10.1093/rheumatology/keh009.
274. Hiemstra TF, Walsh M, Mahr A et al. European Vasculitis Study Group (EUVAS). Mycophenolate mofetil vs azathioprine for remission maintenance in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2010 Dec 1;304(21):2381-8. doi: 10.1001/jama.2010.1658.
275. Pagnaux C, Wei SL, Chin H. Predictors of treatment resistance and relapse in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated small vessel vasculitis: comparison of two independent cohorts. *Arthritis Rheum* 2008;58:2908-18.
276. He P, Hu JP, Tian XJ, et al. Prevalence and risk factors of relapse in patients with ANCA-associated vasculitis receiving cyclophosphamide induction: a systematic review and meta-analysis of large observational studies. *Rheumatology (Oxford)* 2021; 60: 1067-79.
277. Pullertis R, Ljevac M, Vikgren J. Off-trial evaluation on the B cell-targeting treatment in the refractory cases of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA)-associated vasculitis: long-term follow-up from a single center. *Scand J Immun* 2012;76:411-20.
278. Arnold J, Vital EM, Dass S et al. A personalized rituximab retreatment approach based on clinical and B-cell biomarkers in ANCA-associated vasculitis. *Front Immunol* 2021; 12: 803175.
279. Alberici F, Jayne D. Impact of rituximab on the treatment of ANCA-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 2014;29:1151-1159.
280. Kauffmann M, Bobot M, Robert T, et al. Disease activity and adverse events in patients with ANCA-associated vasculitides undergoing long-term dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2021;16:1665–5. doi:10.2215/cjn.03190321.
281. Weiner GJ. Rituximab mechanism of action. *Semin Hematol* 2010;47:115-123.
282. Tervaert WJC. Rituximab in ANCA-associated vasculitis: a revolution? *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:3077-79.
283. Guerry MJ, Brogan P, Bruce IN et al. Recommendations for the use of rituximab in anti-neutrophil cytoplasmic-associated vasculitis, *Rheumatology* 2012; 51: 634-643.
284. Bénard V, Farhat C, Zarandi-Nowroozi M et al. Comparison of Two Rituximab Induction Regimens for Antineutrophil Cytoplasm Antibody-Associated Vasculitis: Systematic Review and Meta-Analysis. *ACR Open Rheumatol*. 2021 Jul;3(7):484-494. doi: 10.1002/acr2.11274.
285. Martinez Del Pero M, Chaudhry A, Jones RB et al. B-cell depletion with rituximab for refractory head and neck Wegener's granulomatosis: a cohort study. *Clin Otolaryngol* 2009; 34: 328–335.
286. Thiel J, Hassler F, Salzer U, et al. Rituximab in the treatment of refractory or relapsing eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss syndrome). *Arthritis Res Ther* 2013; 15:R133.
287. Cartin-Ceba R, Keogh KA, Specks U, et al. Rituximab for the treatment of Churg-Strauss syndrome with renal involvement. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26:2865–2871.
288. Thiel J, Troilo A, Salzer U et al. Rituximab as Induction Therapy in Eosinophilic Granulomatosis with Polyangiitis Refractory to Conventional Immunosuppressive

- Treatment: A 36-Month Follow-Up Analysis. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017 Nov-Dec;5(6):1556-1563. doi: 10.1016/j.jaip.2017.07.027.
289. Aries PM, Helmmich B, Voswinkel J, et al. Lack of efficacy of rituximab in Wegener's granulomatosis with refractory granulomatous manifestations. *Ann Rheum Dis* 2006;65:853-8,55.
  290. Jones R, Tervaert Jan W, Hauser T et al. Rituximab versus Cyclophosphamide in ANCA-Associated Renal Vasculitis. *N Engl J M*, 2010; 363:211-20.
  291. McAdoo SP, Medjeral-Thomas N, Gopaluni S et al. Long-term follow-up of a combined rituximab and cyclophosphamide regimen in renal anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transplant.* 2019 Jan 1;34(1):63-73. doi: 10.1093/ndt/gfx378. Erratum in: *Nephrol Dial Transplant.* 2018 May 1;33(5):899. doi: 10.1093/ndt/gfy075.
  292. Cortazar FB, Muhsin SA, Pendergraft WF 3rd et al. Combination Therapy With Rituximab and Cyclophosphamide for Remission Induction in ANCA Vasculitis. *Kidney Int Rep.* 2017;3(2):394-402. doi: 10.1016/j.ekir.2017.11.004.
  293. Guillevin L, Pagnoux C, Karras A et al. Rituximab versus Azathioprine for Maintenance in ANCA – Associated Vasculitis, *N Engl J Med*, 2014;371:1771-1781.
  294. Roubaud-Baudron C, Pagnoux C, Méaux-Ruault N, et al. Rituximab maintenance therapy for granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis. *J Rheumatol* 2012; 39:125-130.
  295. Charles P, Néel A, Tieulié N, et al. Rituximab for induction and maintenance treatment of ANCA-associated vasculitides: a multicenter retrospective study on 80 patients. *Rheumatol* 2013; 53:532–539.
  296. Benard V, Farhaat C, Zarandi-Nowroozi et al. Comparison of two rituximab induction regimens for antineutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis: systematic review and meta-analysis. *ACR Open Rheumatol* 2021; 3: 484-94.
  297. Merkel PA, Niles JL, Mertz LE et al. Long-term safety of rituximab in granulomatosis with polyangiitis and in microscopic polyangiitis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2021; 73: 1372-8.
  298. Jones RB, Ferraro AJ, Chaudhry AN et al. A multicenter survey of rituximab therapy for refractory antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 2156–2168.
  299. Fiona P, Craven A, Merkel P. Global Ethnic and Geographic Differences in the Clinical Features of ANCA-Associated Vasculitis. *ACR meeting Abstract* 2016.
  300. Andreiana L, Stancu S, Avram A, et al. ANCA positive crescentic glomerulonephritis outcome in a Central East European cohort: a retrospective study. *BMC Nephrol* 2015;16:90.
  301. Chen M, Liu S, Merkel PA. Characteristic of Chinese patients with Wegener's granulomatosis with anti-anti-myeloperoxidase antibodies. *Kidney Int* 2005; 68:225-9.
  302. Cardinali C, Caproni M, Bernacchi E. The spectrum of cutaneous manifestations in lupus erythematosus-the Italian experience. *Lupus*, 2000;9:417-23.
  303. Cieslic P, Hrycek A, Clucinski P. Vasculopathy and vasculitis in systemic lupus erythematosus. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej*, 2008.118:57-63.
  304. Drenkard C, Villa AR, Reyes E, et al. Vasculitis in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 1997;6(3):235-42. doi: 10.1177/096120339700600304.

305. Appel GB, Pirani CL, D Agati V. Renal vascular complications of systemic lupus erythematosus. *J Am Soc Nephrol*,1994,4:1499-515.
306. Oddis CV, Eisenbeis CH, Reidbord HE et al. Vasculitis in systemic sclerosis:association with Sjogrens syndrome and CREST syndrome variant. *J Rheumatol*, 1987.14:942-8.
307. Quemeneur T, Mouthon L, Cacoub P et al. Systemic vasculitis during course of systemic sclerosis: report of 12 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*, 2013.92:1-9.
308. Feldman D, Holchberg MC, Zizic TM et al. Cutaneous vasculitis in adult polymyositis/dermatomyositis. *J Rheumatol*, 1983.10:85-9.
309. Kadoya A, Akahoshi T, Sekiyama N et al. Cutaneous vasculitis in a patient with dermatomyositis without muscle involvement. *Int Med*, 1994. 33:809-12.
310. Panush RS, Katz P, Longley S et al. Rheumatoid vasculitis: diagnostic and therapeutic decision. *Clin Rheumatol*,1983.2:321-30.
311. Watts RA, Carruthers DM, Symmons DP et al. The incidence of rheumatoid vasculitis in the Norwich Health Authority. *Brit J Rheumatol*, 1994. 33:832-3.
312. Nyhall-Wahlin BM, Petersson IF, Jacobsson C, et al. Extra-articular manifestations in a community-based sample of patients with rheumatoid arthritis: incidence and relationship to treatment with TNF inhibitors. *Scandinavian J Rheumatol*, 2012.41:434-7.
313. Gibson A, Stamp LK, Chapman PT. The epidemiology of WG and MPA in a Southern Hemisphere region. *Rheumatol (Oxford)* 2006;45:624-628.
314. Hervier B, Hamidou M, Haroche J et al. Systemic lupus erythematosus associated with ANCA-associated vasculitis: an overlapping syndrome? *Rheumatol Int*. 2012;32(10):3285-90.
315. Curtiss P, Liebman T, Khorolsky C et al. Systemic lupus erythematosus and antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: An emerging overlap syndrome with cutaneous manifestations. *JAAD Case Rep*. 2018 May 7;4(5):493-496.
316. Draibe J, Salama AD. Association of ANCA associated vasculitis and rheumatoid arthritis: a lesser recognized overlap syndrome. 2015 Springer plus 4, Article 50.
317. Martín-Nares E, Zuñiga-Tamayo D, Hinojosa-Azaola A. Prevalence of overlap of antineutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis with systemic autoimmune diseases: an unrecognized example of poliautoimmunity. *Clin Rheumatol*. 2019 Jan;38(1):97-106.
318. Lee LA, Norris DA. Mechanism of cutaneous tissue damage in lupus erythematosus. *Immunology Series*. 1989,46:359-86.
319. Herrick AL, Oogarah P et al. Vasculitis in patients with systemic sclerosis and severe digital ischaemia requiring amputation. *Ann Rheum Dis*, 1994b.53:323-6.
320. Mohammad JA, Segelmarg M, Smith R. Severe infection in antineutrophil Cytoplasmic Antibody-associated Vasculitis. *J Rheumatol*. 2017,44:1468-1475.
321. Weidanz F, Day CJ, Hewins P et al. Recurrences and infections during continuous immunosuppressive therapy after beginning dialysis in ANCA-associated vasculitis. *Am J Kidney Dis*. 2007,50:36-46.
322. Dalrymple LS, Go AS. Epidemiology of acute infectious among patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008,3:1487-93.

323. Tiliakos AM, Tiliakos NA. Dual ANCA positivity in subacute bacterial endocarditis. *J Clin Rheumatol*, 2008, 14(1):38-40.
324. Medina F, Camargo A, Moreno J, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies in leprosy. *Br J Rheumatol*, 1998, 37(3):270-273.
325. Flores-Suarez LF, Cabiedes J, Villa AR, et al. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with tuberculosis. *Rheumatol (Oxford)*, 2003, 42(2):223-229.
326. Lamprecht P, Gutzeit O, Csernok E, et al. Prevalence of ANCA in mixed cryoglobulinemia and chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Rheumatol*, 2003, 21(6 Suppl 32):S89-94.
327. Hermann J, Demel U, Stünzner D, et al. Clinical interpretation of antineutrophil cytoplasmic antibodies: parvovirus B19 infection as a pitfall. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64(4):641-643.
328. Pudifin DJ, Duursma J, Gathiram V, et al. Invasive amoebiasis is associated with the development of antineutrophil cytoplasmic antibody. *Clin Exp Immunol*, 1994, 97(1):48-51.
329. Metaxaris G, Prokopakis EP, Karatzanis AD, et al. Otolaryngologic manifestations of small vessel vasculitis. *Auris Nasus Larynx* 2002;29:353-6.
330. Morales-Angulo C, Garcia-Zornoza R, Obeso-Aguera S, et al. Ear, nose and throat manifestations of Wegener's granulomatosis (granulomatosis with polyangiitis]. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2012;63:206-11.
331. Ono N, Niuro H, Ueda A, et al. Characteristics of MPO-ANCA-positive granulomatosis with polyangiitis: a retrospective multi-center study in Japan. *Rheumatol Int* 2015;35:555-9.
332. Green RJ, Ruoss SJ, Kraft SA et al. Pulmonary capillaritis and alveolar hemorrhage. Update on diagnosis and management. *Chest* 1996;110:1305-16.
333. Collard HR, Schwarz MI. Diffuse alveolar hemorrhage. *Clin Chest Med*. 2004;25:583-92.
334. Lohrmann C, Uhl M, Kotter E et al. Pulmonary manifestations of Wegener granulomatosis: CT findings in 57 patients and a review of the literature. *Eur J Radiol* 2005;53:471-47.
335. Pretorius ES, Stone JH, Hellman DB, Fishman EK. Wegener's Granulomatosis: CT evolution of pulmonary parenchymal findings in treated disease. *Crit Rev Comput Tomogr*. 2004;45(1):67-85.
336. Cordier JF, Valeyre D, Guillevin L, et al. Pulmonary Wegener's granulomatosis. A clinical and imaging study of 77 cases. *Chest*. 1990;97(4):906-12.
337. Popa ER, Tervaert JW. The relation between *Staphylococcus aureus* and Wegener's granulomatosis: current knowledge and future directions. *Intern Med*. 2003 Sep;42(9):771-80. doi: 10.2169/internalmedicine.42.771.
338. Ananthakrishnan L, Sharma N, Kanne JP. Wegener's granulomatosis in the chest: high-resolution CT findings. *AJR Am J Roentgenol*. 2009;192(3):676-82. doi: 10.2214/AJR.08.1837.
339. Ikeda S, Arita M, Misaki K, et al. Comparative investigation of respiratory tract involvement in granulomatosis with polyangiitis between PR3-ANCA and MPO-ANC. A positive cases: a retrospective cohort study. *Pulmonary Med*, 2015;15:78.

340. Tsuchida Y, Shibuya M, Shoda H et al. Characteristics of granulomatosis with polyangiitis patients in Japan. *Mod Rheumatol*. 2014. doi:10.3109/14397595.2014.937475.
341. Ando M, Miyazaki E, Ishii T et al. Incidence of myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic antibody positivity and microscopic polyangiitis in the course of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Med*. 2013 Apr;107(4):608-15. doi: 10.1016/j.rmed.2013.01.006.
342. Van Paassen P, van Breda Vriesman PJ, van Rie H, Tervaert JW. Signs and symptoms of thin basement membrane nephropathy: a prospective regional study on primary glomerular disease-The Limburg Renal Registry. *Kidney Int* 2004;66: 909–913.
343. Sada KE, Yamamura M, Harigai M et al. Classification and characteristics of Japanese patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis in a nationwide, prospective, inception cohort study. *Arthritis Res Ther*. 2014 Apr 23;16(2):R101. doi: 10.1186/ar4550.
344. Lauque D, Cadranet J, Lazor R et al. Microscopic polyangiitis with alveolar hemorrhage. A study of 29 cases and review of the literature. *Groupe d'Etudes et de Recherche sur les Maladies 'Orphelines' Pulmonaires (GERM'O'P)*. *Med* 200;79:222–33.
345. Neumann I, Regele H, Kain R et al. Glomerular immune deposits are associated with increased proteinuria in patients with ANCA-associated crescentic nephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 2003 Mar;18(3):524-31. doi: 10.1093/ndt/18.3.524.
346. Cordova-Sanchez BM, Mejia-Vilet JM, Morales-Buerostro LE. Clinical presentation and outcome prediction of clinical, serological, and histopathological classification schemes in ANCA-associated vasculitis with renal involvement. *Clin Rheumatol* 2016 Jul;35(7):1805-16.
347. Weidner S, Geuss S, Hafezi-Rachti S et al. ANCA-associated vasculitis with renal involvement: an outcome analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(6):1403–11.
348. Slot MC, Tervaert WJ, Franssen FM. Renal survival and prognostic factors in patients with PR3-ANCA associated vasculitis with renal involvement. *Kidney Int*. 2003 Feb;63(2):670-7.
349. Рашков Р, Шейтанов Ъ. Системни заболявания на съединителната тъкан (колагенози), С., 1999;5-65.
350. Duhaut P, Berruyer M, Pinede L et al. Anticardiolipin antibodies and giant cell arteritis: a prospective, multicenter case-control study. *Groupe de Recherche sur l'Artérite à Cellules Géantes*. *Arthritis Rheum*. 1998 Apr;41(4):701-9.
351. Martínez Téllez G, Torres Rives B, Rangel Velázquez S et al. Antineutrophil cytoplasm antibody: positivity and clinical correlation. *Reumatol Clin*. 2015 Jan-Feb;11(1):17-21. English, Spanish. doi: 10.1016/j.reuma.2014.02.010.
352. Grant SC, Levy RD, Venning MC et al. Wegeners granulomatosis and the heart. *Brit Heart J*, 1994;71:82-86.
353. Draibe J, Poveda R, Fulladosa X et al. Use of mycophenolate in ANCA-associated renal vasculitis: 13 years of experience at a university hospital. *Nephrol Dial Transplant*. 2015 Apr;30 Suppl 1:i132-7. doi: 10.1093/ndt/gfv061.

354. Jones RB, Hiemstra T, Ballarin J, et al. Mycophenolate mofetil versus cyclophosphamide for remission induction in ANCA-associated vasculitis: a randomised, non-inferiority trial. *Ann Rheum Dis* 2019. doi:10.1136/annrheumdis-2018-214245.
355. Reinhold-Keller E, de Groot K. Use of methotrexate in ANCA-associated vasculitis. *Clin Exp Rheumatol*.2010;28:178-82.
356. Holle JU, Dubrau C, Herlyn K, et al. Rituximab for refractory granulomatosis with polyangiitis: comparison of efficacy in granulomatous versus vasculitis manifestations. *Ann Rheum Dis* 2012;71:327-33.
357. Roll P, Ostermeier E, Haubitz M. Efficacy and Safety of Rituximab Treatment in Patients with Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-associated Vasculitis: result from a German Registry (GRAID). *J Rheumatol*, 2013;39:11.
358. Solans-Laqué R, Fraile G, Rodriguez-Carballeira M et al. Spanish Registry of systemic vasculitis (REVAS) from the Autoimmune Diseases Study Group (GEAS) of the Spanish Society of Internal Medicine (SEMI). Clinical characteristics and outcome of Spanish patients with ANCA-associated vasculitides: Impact of the vasculitis type, ANCA specificity, and treatment on mortality and morbidity. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Feb;96(8):e6083. doi: 10.1097/MD.00000000000006083.
359. Xiaowei LI. Advances in Anti-LAMP-2 autoantibody and ANCA-associated pauci immune glomerulonephritis. *Clin J Nephrol, Dialys Transplant*, 22:455-460,2020.
360. Roth AJ, Brown MC, Smith RN et al. Anti-LAMP-2 antibodies are not prevalent in patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibody glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*. 2012 Mar;23(3):545-55. doi: 10.1681/ASN.2011030273.
361. Carmeliet P, Collen D. Gene targeting and gene transfer studies of the biological role of the plasminogen/plasmin system. *Thromb Haemost*, 1995;74(1):429-36.
362. Hertig A, Rondeau E. Role of the coagulation/fibrinolysis system in fibrin-associated glomerular injury. *J Am Soc Nephrol*. 2004 Apr;15(4):844-53. doi: 10.1097/01.asn.0000115400.52705.83.
363. Tomasson G, Monach PA, Merkel PA. Thromboembolic disease in vasculitis. *Curr Opin Rheumatol*. 2009 Jan;21(1):41-6. doi: 10.1097/BOR.0b013e32831de4e7.
364. Kitching AR, Holdsworth SR, Plopis VA et al. Plasminogen and plasminogen activators protect against renal injury in crescentic glomerulonephritis. *Jexp Med*. 1997;185(5):963-8.
365. Weidner S, Hafezi-Rachti S, Rupperecht H. Thromboembolic events as a complication of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 2006; 55: 146–149.
366. Naish P, Penn GB, Evans DJ, Peters DK. The effect of defibrination on nephrotoxic serum nephritis in rabbits. *Clin Sci*. 1972;42(5):643-6. doi: 10.1042/cs0420643.
367. Wu H, Gong J, Liu Y. Indoleamine 2,3 dioxygenase regulation of immune response. *Mol Med Rep*.2018:4867-4873.
368. Mbongue J, Nickolas D, Torrez T. The Role of Indoleamine 2,3-dioxygenase IN Immune Suppression and Autoimmunity. *Vaccines*. 2915:703-729.
369. Brandacher G, Margreiter R, Fuchs D. Clinical relevance of indoleamine 2,3-dioxygenase for alloimmunity and transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*, 2008; 13: 10-5.

## Х. ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение 1. Класификационни критерии за васкулити (ACR, 1990)

БОЛЕСТ	КРИТЕРИИ
<u>Гигантоклетъчен (темпорален) артериит</u> (необходими са 3 от 5 критерия за класификация)	Възраст $\geq$ 50 год. Нововъзникнало главоболие Промени в а. temporalis Повишена СУЕ Абнормна биопсия на темпорална артерия
<u>Артериит на Takayasu</u> (3 от 6 критерия)	Възраст $\leq$ 40 год. Клаудикацио на крайници Намален пулс на брахиална артерия Разлика в АН на двете ръце $>$ 10 mm Hg Шум на а. subclavia или аорта Промени в ангиография
<u>PAN</u> (3 от 10 критерия)	Загуба на тегло $\geq$ 4 kg Livedo reticularis Тестикуларна болка или чувствителност Миалгии, мускулна слабост или чувствителност Мононевропатия или полиневропатия Диастолно АН $>$ 90 mm Hg Повишени урея или креатинин Хепатит В вирус Артериографски нарушения Биопсия от малка или средна артерия, съд. полинуклеари
Грануломатоза на Wegener (2 от 4 критерия)	Назално или орално възпаление Промени в рентгенографията на бял дроб Уринен седимент Грануломатозно възпаление при биопсия
<u>Синдром на Churg-Strauss</u> (4 от 6 критерия)	Астма Еозинофилия Мононевропатия или полиневропатия Белодробни инфилтрати, които не са фиксирани Промени в параназалните синуси Екстраваскуларна еозинофилия
<u>Пурпура на Henoch-Schönlein</u> (2 от 4 критерия)	Палпируема пурпура Възраст $\leq$ 20 год. Коремна ангина Гранулоцити в съдовата стена при биопсия
<u>Хиперсензитивен васкулит</u> (3 от 5 критерия)	Възраст $\geq$ 16 год. Анамнеза за употреба на медикаменти Палпируема пурпура Макулопапулозен rash Биопсия, вкл. артериола или венула

Приложение 2. Дефиниция на васкулитите, приета от International Chapel Hill Consensus Conference, 2012

CHCC, 2012 наименование	Дефиниция
<p><b>Васкулити на големи съдове</b></p> <p><i>Артериит на Takayasu (ТАК)</i></p> <p><i>Гигантоклетъчен артериит (GCA)</i></p>	<p>Васкулит, поразяващ големите артерии по-често от останалите васкулити. Големи артерии са аортата и главните ѝ клонове. Може да бъде ангажирана всякаква по размер артерия.</p> <p>Артериит, често грануломатозен, преимуществено засягащ аортата и/или главните ѝ клонове. Началото обикновено е при млади жени под 50-годишна възраст.</p> <p>Артериит, често грануломатозен, на аортата и главните ѝ клонове, с предилекция към каротидните и вертебралните артерии. Често засяга темпоралната артерия. Началото обичайно е при пациенти над 50 год. и е асоциирано с ревматична полимиалгия.</p>
<p><b>Васкулити на средни по размер артерии</b></p> <p><i>Polyarteritis nodosa (PAN)</i></p> <p><i>Болест на Kawasaki (KD)</i></p>	<p>Васкулит с преимуществено засягане на средни артерии, дефинирани като главни висцерални артерии и клоновете им. Може да се засегне всякаква по размер артерия. Типични са аневризми и стенози.</p> <p>Некротизиращ артериит на средни или малки артерии без гломерулонефрит или васкулит на артериоли, капиляри или вентули. Не се асоциира с ANCA.</p> <p>Артериит, който се асоциира с кожно-лигавичен синдром и лимфаденомегалия и преимуществено засяга средните и малките артерии. Коронарните артерии често са ангажирани. Среща се при малки деца и подрастващи.</p>
<p><b>Васкулити на малки съдове</b></p> <p><i>ANCA асоциирани васкулити (AAV)</i></p> <p><i>Микроскопски полиангиит (MPA)</i></p>	<p>Васкулити преимуществено засягащи малките съдове, дефинирани като интрапаренхимни артерии, артериоли, капиляри и вентули. Може да бъдат засегнати средни артерии и вени.</p> <p>Некротизиращ васкулит с малко или без имунни депозити на малките съдове, асоцииран с миелопероксидаза (MPO) ANCA или протеиназа-3 (PR3) ANCA. Не всички пациенти имат ANCA. Добавя се с представка ANCA реактивността.</p> <p>Некротизиращ васкулит, с малко или без имунни отлагания, преимуществено на малки съдове (капиляри, вентули, артериоли). Може да има некротизиращ васкулит на малки и средни артерии. Често се открива некротизиращ гломерулонефрит и белодробен капилярит. Липсва грануломатозно въз-</p>

<p><b>Грануломатоза с полиангиит (Грануломатоза на Wegener, GPA)</b></p>	<p>паление. Некротизиращо грануломатозно възпаление на горните и долните дихателни пътища и некротичен васкулит на малки и средни съдове (капиляри, артериоли, венули, артерии и вени). Чест некротизиращ гломерулонефрит.</p>
<p><b>Еозинофилна грануломатоза с полиангиит (Синдром на Churg-Strauss, EGPA)</b></p>	<p>Богато на еозинофили и некротизиращо грануломатозно възпаление, често включва респираторния тракт и некротизиращ васкулит на малки и средни съдове, асоцииран с астма и еозинофилия. ANCA се срещат по-често, когато има гломерулонефрит.</p>
<p><b>Имунокомплексен васкулит Immune complex vasculitis</b></p>	<p>Васкулит с умерено до маркирано отлагане на имуноглобулини и/или комплемент, предимно засягащ малки съдове (капиляри, венули, артериоли и малки артерии). Гломерулонефритът е често явление.</p>
<p><b>Антигломерулнобазална болест Anti-glomerular basement membrane vasculitis (anti-GBM disease)</b></p>	<p>Васкулит, засягащ гломерулните капиляри, белодробните капиляри или и двете с отлагания в ГБМ от антигломерулобазалномембранни антитела. Белодробното засягане води до белодробни хеморагии, а бъбречното – до гломерулонефрит с некрози и полулуния.</p>
<p><b>Криоглобулинемичен васкулит Cryoglobulinemic vasculitis (CV)</b></p>	<p>Васкулит с имунни депозити от криоглобулини, поразяващ малки съдове (основно капиляри, венули и артериоли), който се свързва със серумна криоглобулинемия. Най-често се засягат кожа, гломерули и нерви.</p>
<p><b>IgA васкулит (Henoch-Schönlein) (IgAV)</b></p>	<p>Васкулит на малки съдове (предимно капиляри, венули и артериоли) с отлагане на IgA имунни депозити. Засяга основно кожа и ГИТ, често води до артрит. Може да има неразличим от IgA нефропатия гломерулонефрит .</p>
<p><b>Хипокомплементен уртикариален васкулит, Нурокомплементен уртикариален васкулит (HUV) (anti-C1q vasculitis)</b></p>	<p>Васкулит, придружаван от уртикария и хипокомплементемия, засяга малки съдове и се асоциира с анти C1q антитела. Чести прояви са гломерулонефрит, артрит, обструктивна белодробна болест и очни възпаления.</p>
<p><b>Васкулити на различни съдове</b></p>	<p>Васкулити без засягане на преобладаващ тип съдове, т.е. могат да бъдат поразени съдове от всякакъв размер (малки, средни и големи) и тип (артерии, вени и капиляри).</p>
<p><b>Болест на Behçet (BD)</b></p>	<p>Васкулит, който може да ангажира артерии и вени, характеризира се с рецидивирани орална и/или</p>

<p><b>Синдром на Cogan (CS)</b></p> <p><b>Изолиран васкулит</b></p>	<p>генитална афтоза, придружени от кожни, очни, ставни, гастроинтестинални и/или ЦНС възпалителни лезии. Може да се открият и васкулит на малките съдове, тромбангиит, тромбози, артериит, артериални аневризми.</p> <p>Васкулит, характеризиращ се с очно възпаление, вкл. интерстициален кератит, увеит, еписклерит и възпаление на вътрешното ухо – сензонеурална загуба на слуха и вестибуларни нарушения. Васкулитните прояви вкл. артериит (на малки, средни или големи артерии), аортит, аортни аневризми, аортни и митрални валвулити.</p> <p>Васкулит на артерии или вени от всякакъв размер в определен изолиран орган, при който не са налице признаци, че се касае за изолирана проява на системен васкулит. Засегнатият орган или тип съд трябва да бъде отбелязан в името на васкулита.</p> <p>Може да бъде уни- или полиогнищен. Някои пациенти, които в началото са били диагностицирани като изолиран васкулит, по-късно развиват прояви, които дават основание да бъде класифициран като системен васкулит.</p>
<p><b>Васкулит, свързан със системно заболяване</b></p> <p><b>Васкулит, свързан с вероятна диагноза</b></p>	<p>Васкулит, който е асоцииран със системно заболяване или е вторичен при системно заболяване. Името (диагнозата) трябва да има представка, уточняваща системното заболяване.</p> <p>Васкулит, който е асоцииран с вероятна специфична етиология. Името (диагнозата) трябва да имат представка уточняваща връзката (Хепатит С вирус асоцииран криоглобулинемичен васкулит).</p>

Приложение 3. Васкулити според СНСС Nomenclature of Vasculitides

<p><b>Васкулити на големите съдове (LVV)</b>                  Takayasu arteritis (ТАК)                  Giant cell arteritis (GCA)</p>
<p><b>Васкулити на средните по размер съдове (MVV)</b>                  Polyarteritis nodosa (PAN)                  Kawazaki disease (KD)</p>
<p><b>Васкулити на малките съдове (SVV)</b>  <u>ANCA associated vasculitis (AAV)</u>                  Microscopic polyangitis (MPA)                  Granulomatosis with polyangitis (Wegener's) (GPA)                  Eosinophilic granulomatosis with polyangitis (Churg-Strauss) (EGPA)  <u>Immune complex SVV</u>                  Anti-glomerular basement membrane (anti-GBM) disease                  Cryoglobulinemic vasculitis (CV)                  IgA vasculitis (Henoch-Schönlein) (IgAV)                  Hypocomplementic urticarial vasculitis (HUV) (anti –C1)</p>
<p><b>Variable vessel vasculitis (VVV)</b>                  Behçet's disease (BD)                  Cogan's syndrome (CS)</p>
<p><b>Single-organ vasculitis (SOV)</b>                  Cutaneous leucocytoclastic angitis                  Cutaneous arteritis                  Primary central nervous system vasculitis                  Isolated aortitis                  Други</p>
<p><b>Васкулити, асоциирани със системни заболявания</b>                  Lupus vasculitis                  Rheumatoid vasculitis                  Sarcoid vasculitis                  Други</p>
<p><b>Васкулити, асоциирани с вероятна етиология</b>                  Hepatitis C virus-associated cryoglobulinemic vasculitis                  Hepatitis B virus-associated vasculitis                  Syphilis-associated vasculitis                  Drug-associated immune complex vasculitis                  Drug-associated ANCA-associated vasculitis                  Cancer-associated vasculitis                  Други</p>

**Приложение 4. Классификационные критерии за AAV според ACR/European Alliance of Associations for Rheumatology 2022 [10]**

<b>Variables</b>	<b>GPA</b>	<b>MPA</b>	<b>EGPA</b>
Clinical criteria			
Nasal passage involvement	+3	-3	
Cartilaginous involvement	+2		
Conductive or sensorineural hearing loss	+1		
Obstructive airway disease			+3
Nasal polyp			+3
Mononeuritis multiplex			+1
Laboratory criteria			
PR3-ANCA (or CANCA) positivity	+5	-1	-3
MPO-ANCA (or PANCA) positivity	-1	+6	
Serum eosinophil $\geq 1000/\mu\text{L}$			+5
Hematuria			-1
Histological criteria	+2		
Granuloma, granulomatous inflammation, or giant cells		+1	
Pauci-immune glomerulonephritis		+3	+2
Extravascular eosinophilic-predominant inflammation			
Radiological criteria	+2		
Pulmonary nodules, mass, or cavitation on chest imaging			
Fibrosis or ILD on chest imaging			
Nasal/paranasal sinusitis or mastoiditis on imaging	$\geq 5$	$\geq 5$	$\geq 6$
The cut-off of total scores for the classification			

Приложение 5. Основни участници в имунопатогенезата на васкулитните лезии

<b>Клетки</b>	Т-лимфоцити В-лимфоцити NK клетки Моноцити/макрофаги Еозинофили Неутрофили Тромбоцити Ендотелни клетки	<b>Предполагаемите имунни механизми включват:</b> 1. Формиране на патогенни имунни комплекси и депозити в съдовете; 2. Автоантитела като анти-неутрофилноцитоплазмени и антиендотелноклетъчни; 3. Клетъчен имуноен отвор, включващ клетките на специфичната и неспецифичната имунна защита, промяна в експресията на множество адхезионни молекули, както и секреция на цитокини и хемокини; 4. Образзуване на грануломи; 5. Увреждане на ендотелноклетъчната функция.
<b>Адхезионни молекули, свързани с клетките на специфичната и неспецифичната имунна защита</b>	$\beta$ -integrin E-selectin ICAM-1 VCAM-1 Fc $\gamma$ receptor	
<b>Растежни фактори</b>	Vascular endothelial growth factor Platelet-derived growth factor Granulocyte-colony stimulating factor Macrophage-colony stimulating factor	
<b>Цитокини и хемокини</b>	Tumor necrosis factor (TNF) Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) Interleukin (IL)-1, IL-R1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, IL-8	
<b>Автоантитела</b>	Антинеутрофилноцитоплазмени (ANCA) Антиендотелноклетъчни антитела (AECA)	
<b>Комплемент</b>	C3, C4, C5b9	

Приложение 6. Критерии, включени в Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS)

<i>Засегнати системи от тялото</i>	<i>Симптоми</i>
<b>1. Общи</b> Миалгии Артралгии/артрит Температура $\geq 38.0^{\circ} \text{C}$ . Загуба на тегло	Мускулни болки Болки или възпаление в ставите  Поне 2 kg от теглото за 4 седмици
<b>2. Кожни</b> Инфаркт Purpura Улцерации Гангрена Друг кожен васкулит	Некрози или splinter хеморагии Петехии, палпируема пурпура, екхимози Отворени язви по повърхността на кожата Екссесивна некроза Livedo reticularis, erythema nodosum, подкожни възли
<b>3. Мукозни мембрани/очи</b> Лигавични язви  Генитални язви Проптоза  (Епи)склерит Конюнктивит Блефарит Кератит Намалено зрение Внезапна загуба на зрение Увеит Васкулит на ретината Тромбоза на съдовете на ретината Ексудати в ретината Хеморагии в ретината	Афтозен стоматит, дълбоки улцерации и/или “strawberry” гингивална хиперплазия Улцерации по гениталиите или перинеума Протрузия на очните ябълки от възпалителни маси в орбитите, може да е придружено от диплопия или миопия Възпаление, дължащо се на васкулит, потвърдено от офталмолог, да се изключи инфекция  В сравнение с предишно изследване Изисква офталмолог Възпаление на ирис, цилиарно тяло, хориоидея Потвърдени от офталмолог, офталмоскопия или fluorescein ангиография
<b>4. Уши, нос, гърло</b> Кръвенисти секрети от носа (крусти) язви и/или грануломи Околоносни синуси Субглотисна стеноза Загуба на слуха  Сензонеурална загуба на слуха	Чувствителност или болка, патологични находки от CT, MRI, X-ray Стридор или дрезгавост и стеноза под глотиса от ларингоскопия Дължаща се на среден отит от отоскопия или аудиометрия От увреждане на слуховия нерв или кохлеарно увреждане
<b>5. Гръден кош</b> Хриптене	Хрипове при аускултация

<p>Възли или кавитации Плеврит</p> <p>Инфилтрат Ендобронхиално ангажиране Масивна хемоптиза/алвеоларна хеморагия Респираторна недостатъчност</p>	<p>Нови лезии от рентгенография Болка или триене, новопоявил се излив от рентгенография Установен с рентгенография, СТ Ендобронхиален псевдотумор или улцерации Кървене от белия дроб</p> <p>Тежка диспнея, изискваща вентилация</p>
<p><b>6. Кардиоваскуларни</b> Загуба на пулс Клапна болест</p> <p>Перикардит Исхемична болка Кардиомиопатия Застойна сърдечна недостатъчност</p>	<p>На който и да е съд, установена клинично Клапни увреждания на АоК, МК или ТрК, установени ехокардиографски Болка или триене Дължаща се на ангина или инфаркт Потвърдена ехокардиографски Анамнеза или клинични данни</p>
<p><b>7. Абдоминални</b> Перитонизъм/перитонит Кървава диария</p> <p>Исхемична коремна болка</p>	<p>Остра коремна болка с перитонизъм С остро начало, да се изключи инфекцията или ВЧЗ Болка от исхемия, потвърдена чрез образно изследване или хирург</p>
<p><b>8. Бъбреци</b> Хипертония Протеинурия Хематурия Повишение на креатинина &gt; 30% или спад на CrCl &gt; 25% Сигнификантно повишение на серумния креатинин</p>	<p>Диастола &gt; 95 mm Hg, акцелерирана или не &gt; 1+ при анализ на урина; &gt; 0,2 g/24 ч 10 или повече еритроцита на поле</p>
<p><b>9. Нервна система</b> Главоболие Менингит Органичен с-м (Organic syndrome)</p> <p>Припадъци</p> <p>СМИ Лезии на гр. мозък</p> <p>Парализа на ЧМН Сензорна периферна невропатия Моторна мононевропатия/множествена</p>	<p>Ново, необичайно, персистиращо Тежко главоболие с вратна ригидност Нарушена ориентация, памет, интелектуални нарушения при липса на метаболитни, лекарствени, токсични причини Тонични и клонични гърчове, промени в поведението Цереброваскуларни инциденти Трансверзален миелит със слабост на долни крайници или сензорна загуба и контрол на тазови резервоари На n. facialis, recurrens, oculomotorius Да се изключат метаболитни, токсични причини, недостиг на витамини, инфекции, вродени заболявания</p>

*Приложение 7. FFS (The Five Factor Score)*

<b>Оригинален</b>	<b>Ревизиран</b>	<b>Смъртност за период от 5 год.</b>
Креатинин > 140 $\mu\text{mol/l}$	Креатинин > 150 $\mu\text{mol/l}$	При FFS = 0 смъртността е 9%; При FFS = 1 смъртността е 21%; При FFS > 2 смъртността е 40%.
Протеинурия > 1 g/24 ч	Кардиомиопатия	
Кардиомиопатия	ГИ ангажиране	
ГИ ангажиране	Възраст > 65 год.	
ЦНС ангажиране	Без прояви от УНГ	

*Петфакторен скор (FFS) – оригинален и ревизиран вариант. Отчита 5 фактора, които са свързани с лоша прогноза. Наличието на всеки един критерий дава по 1 точка, като максималният скор е 5. При ревизирания 4 фактора са свързани с лоша и 1 с добра прогноза.*

**Приложение 8. Критерии, включени във Vascular Damage Index при системните васкулити**

<b>Симптоми и синдроми при засягане на различните системи според VDI</b>	
<p><b>1. Мускулоскелетни</b>  Мускулна атрофия или слабост  Деформиращ/ерозивен артрит  Остеопороза/колапс на прешлен  Аваскуларна некроза  Остеомиелит</p>	<p><b>7. Периферносъдова болест</b>  Липса на пулс  Стеноза  Клаудикацио &gt; 3 месеца  Загуба на тъкан  Усложнена венозна тромбоза</p>
<p><b>2. Кожа/лигавици</b>  Алопеция  Кожни разязвявания  Улцерации в устната кухина</p>	<p><b>8. Гастроинтестинални</b>  Инфаркт на черво/резекция  Мезентериална недостатъчност  Хроничен перитонит  Езофагална стриктура</p>
<p><b>3. Очни</b>  Катаракта  Промени в ретината  Атрофия на нерв  Влошено зрение/диплопия  Слепота  Деструкция на орбитата</p>	<p><b>9. Бъбречни</b>  Гломерулна филтрация &lt; 50%  Протеинурия ≥ 0,5 g/24 ч  Краен стадий на БН</p>
<p><b>4. ГДП</b>  Загуба на слух  Хронична ринорея, крусти  Колапс на септума, перфорация  Хроничен синусит  Субглотисна стеноза</p>	<p><b>10. Невропсихиатрични</b>  Когнитивни нарушения  Големи психози  Припадъци  Мозъчни инциденти  Лезия на ЧМН  Периферна невропатия  Трансверзален миелит</p>
<p><b>5. Бял дроб</b>  Белодробна хипертония  Белодробна фиброза  Плеврална фиброза  Хронична астма  Хроничен задух  Влошена белодробна функция</p>	<p><b>11. Други</b>  Отпадане на гонадната функция  Аплазия на костен мозък  Диабет  Цистит  Малигненост</p>
<p><b>6. Сърце</b>  Ангина/ангиопластика  Миокарден инфаркт  Кардиомиопатия  Клапна болест  Перикардит &gt; 3 месеца или  Перикардиотомия  Диастолно АН &gt; 95</p>	

**Приложение 9. Дефиниции за тежестта на болестта, използващи се за субкласифициране на пациенти с GPA и MPA според EUVAS**

<i>Клинична подгрупа</i>	<i>Васкулит извън ГДП и бял дроб</i>	<i>Застрашена функция на орган</i>	<i>Други</i>	<i>Серумен креатинин</i>
<b>Локализирана</b>	не	не	Без общи симптоми ANCA обичайно (-)	< 120
<b>Ранна системна</b>	да	не	С общи симптоми ANCA (+/-)	< 120
<b>Генерализирана</b>	да	да	ANCA (+)	< 500
<b>Тежка</b>	да	недостатъчност	ANCA (+)	> 500
<b>Рефрактерна</b>	да	да	Рефрактерна на стандартна терапия	всякакъв

**Приложение 10. Дефиниции на състоянието на болестта според EULAR**

<i>Фаза на болестта</i>	<i>Дефиниция</i>
<b>Активна болест</b>	Наличие на типични признаци, симптоми или характерни белези (напр. ГН или белодробни нодули) на активен AAV
<b>Ремисия</b>	Липса на типични признаци, симптоми или други характерни белези за активен AAV за определен период от време със или без имunosупресивна терапия.
<b>Постоянна ремисия</b>	Липса на типични признаци, симптоми или други характерни белези за активен AAV със или без имunosупресивна терапия. Връщане или нова болестна активност, без застрашаване на функции, която се контролира само от повишение на дозата на ГКС
<b>Отговор към терапията</b>	≥ 50% намаление на скората за активност и липса на нови манифестации
<b>Релапс</b>	Връщане или нова болестна активност след период на ремисия
<b>Рефрактерна болест</b>	Липса на промяна или засилване на признаците, симптомите или други характерни белези на активен AAV след определен период на лечение със стандартна терапия за индукция на ремисия. Трябва да бъдат изключени трайни увреди, инфекции, странични ефекти от лечението или коморбидности като потенциални причини за персистираща или влошена болест.

Приложение 11. Препоръки за индукция на ремисия при GPA

Протокол	Форма на васкулита <sup>c</sup>	Доза	Доказателственост	Степен на препоръка
<i>Cyclophosphamide (per os)</i>	Генерализирана	2 mg/kg	I-b	A
<i>Cyclophosphamide (Pulse)</i>	Генерализирана	15-20 mg/kg	I-a	A
<i>Rituximab</i>	Генерализирана/ Тежка	375 mg/m <sup>2</sup> седмично	I-b	A
<i>Methotrexate<sup>a</sup></i>	Системна	0,3 mg/kg седмично	I-b	A
<i>Trimetoprim/sulfametahoxazole</i>	Ограничена	2 x 960 mg	II-a	B
<i>Плазмафереза<sup>b</sup></i>	Тежка	40-60 ml/kg (4-7x)	I-b	A

<sup>a</sup> Плюс prednisone (започване с доза 1 mg/kg)

<sup>b</sup> Плюс cyclophosphamide и prednisone

<sup>c</sup> За дефиниция на формата виж Табл. 14.

Приложение 12. Препоръки за поддържане на ремисия при GPA

Протокол	Доза	Доказателственост	Степен на препоръка
<i>Azathioprine<sup>a</sup></i>	2 mg/kg дн.	I-b	A
<i>Methotrexate<sup>a</sup></i>	0.3 mg/kg седм.	I-b	A
<i>Leflunomide<sup>a</sup></i>	30-40 mg дн.	I-b	A
<i>Trimetoprim/sulfametahoxazole<sup>a</sup></i>	2 x 960 mg дн. <sup>b</sup>	I-b	A
<i>Mycophenolate mofetil<sup>a</sup></i>	2 g дн.	I-b	A
<i>Deoxypergualin</i>	0.5 mg/kg дн.	III	C

<sup>a</sup> Prednisone трябва да се намали до < 7.5 mg

<sup>b</sup> Редуцира релапсите само при болест на ГДП