

Evaluación de la actividad de las vasculitis

Carlos Alberto Cañas, César Jiménez, José Félix Restrepo, Federico Rondón, Mario Peña, Cilia Rojas, Rafael Valle, Antonio Iglesias

Objetivo: realizar una revisión de la literatura reciente con respecto a la utilidad de marcadores de actividad de las vasculitis. **Fuente de datos:** se realizó una búsqueda en la base de datos Medline (1989 a 1996), que comprendía tópicos relacionados con criterios de actividad clínica y de laboratorio de las vasculitis, además de los estudios que se han adelantado con respecto a las moléculas de adhesión, las citoquinas, los ANCA, los anticuerpos anti-célula endotelial, el factor reumatoideo, la proteína C reactiva y los marcadores de daño endotelial en lo que respecta a su participación patogénica y su posible aplicabilidad clínica. **Selección del estudio:** se estudiaron 450 resúmenes, de los cuales 90 informaban sobre tópicos relacionados con el tema. **Extracción de los datos:** los artículos se clasificaron de

acuerdo con sus objetivos y estrategias de ejecución, según se trataran de revisiones, artículos originales o informes de casos. Recopilamos y analizamos los artículos originales y luego elaboramos la revisión, los resúmenes y las conclusiones. **Síntesis de datos:** los estudios recientes con respecto a los niveles séricos de moléculas de adhesión, citoquinas y diversos autoanticuerpos, que permiten entender la patogénesis de las vasculitis, también hacen plantear al clínico y a los investigadores su posible utilidad como elementos clasificatorios de diagnóstico, actividad y daño, en una forma más precisa, con un enfoque creíble, estandarizado, reproducible y de fácil ejecución. **Conclusión:** los criterios de actividad y daño de las vasculitis, son elementos que facilitan la labor del médico que trata este tipo de pacientes, dado que le permiten definir el tipo y grado de inmunosupresión, la diferenciación de recaídas y de reacciones adversas medicamentosas o infecciones concomitantes. También son útiles al investigador que evalúa las respuestas de medicamentos o los aspectos biológicos y bioquímicos de estas enfermedades.

Introducción
Las vasculitis sistémicas constituyen un grupo heterogéneo de procesos clínico-patológicos caracterizados por inflamación y daño de vasos sanguíneos (vénulas, capilares, arteriolas de mediano y gran calibre), que producen manifestaciones clínicas generales, o locales de acuerdo con los órganos o sistemas comprometidos por la necrosis o las trombosis secundarias. Pueden corresponder a un proceso primario como la arteritis de Takayasu, la poliarteritis nodosa (PAN), la granulomatosis de Wegener (GW), la enfermedad de Degos, o ser secundaria a una serie de enfermedades como el lupus eritematoso sistémico (LES), la artritis reumatoidea (AR), el síndrome de Sjögren primario, la enfermedad mixta del tejido conectivo; a la idiosincrasia ante algunos medicamentos como los antibióticos, los yoduros, los anticonceptivos, etc.; a infecciones como las ocasionadas por la *Pseudomelia aeruginosa*, los virus de las hepatitis B o C; o a diversas neoplasias (1).

Drs. Carlos Alberto Cañas y César Jiménez.: Residentes de Reumatología; Dres. José Félix Restrepo y Federico Rondón.: Profesores Asistentes; Dr. Mario Peña.: Profesor Emérito y Titular; Dra. Cilia Rojas.: Profesor Asistente. Dr. Antonio Iglesias.: Profesor Asociado, Unidad de Reumatología. Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia; Dr. Rafael Valle.: Unidad de Reumatología, Hospital Militar Central, Santafé de Bogotá.

El cuadro clínico de las vasculitis depende del tipo de vaso comprometido (pequeño, mediano o gran calibre), de los órganos o sistemas afectados, de la extensión del proceso patológico, del tiempo de duración y de los tratamientos recibidos. El reconocimiento de éstos elementos, su confirmación con algunas pruebas paraclínicas, permiten el diagnóstico definitivo de cada una de las entidades. Para facilitar este proceso el Colegio Americano de Reumatología en 1990 definió los criterios clasificatorios para las vasculitis primarias (2).

El clínico que ya tiene un diagnóstico definido debe hacer entonces un análisis que le permita plantear el tipo de tratamiento que debe indicar, así como definir un pronóstico. En este punto hace unos cinco años nació la inquietud de realizar criterios para la valoración de los estados de actividad y de daño de las vasculitis por parte de la comunidad científica que estudia este tipo de patologías. El estado de actividad debe definir en un momento la condición clínica que potencialmente podría revertirse con tratamiento inmunosupresor. El estado de daño mediría la consecuencia cicatricial del proceso inflamatorio, la cual es irreversible (3).

La necesidad de conocer el grado de actividad de una vasculitis antes o durante el tratamiento, para conocer la falta de respuesta, su mejoría o la eventual recaída, al igual que diferenciar las manifestaciones clínicas dadas por la enfermedad, de las ocasionadas por reacciones medicamentosas o procesos infecciosos, se empezó a plantear luego de conocer un aumento

significativo de la sobrevida de los pacientes con GW al incluir en su terapéutica la ciclofosfamida (4). En diferentes momentos del seguimiento terapéutico de un paciente debemos incluir, retirar, aumentar o disminuir la dosis de un inmunosupresor, reconocer las recaídas, tratar enfermedades infecciosas, para lo cual es de bastante ayuda aplicar criterios clínicos o marcadores bioquímicos universalmente validados.

El concepto se ha ampliado, y la aplicación de estos marcadores se ha venido realizando y probando en vasculitis diferentes de la GW. Los marcadores de laboratorio son muy atractivos para los fines anotados, pero tienen problemas dado que factores como la hipertensión o las infecciones, pueden elevarlos perdiendo su especificidad. Algunos son muy específicos, como los anticuerpos anticitoplasmáticos del neutrófilo (ANCA) y muy pocas vasculitis son ANCA positivas. En este caso los criterios clínicos son muy útiles.

En resumen, las bases para una valoración son: 1) Cuantificación de la actividad y del daño dado por las vasculitis con parámetros establecidos, con el fin de minimizar los efectos tóxicos de los medicamentos al reducir las dosis o definir el retiro, si el paciente está mejor, aumentar las dosis o inducir nuevas estrategias terapéuticas si los parámetros buscados están alterados en forma reciente.

2) Opinión reproducible entre diferentes médicos, requerimiento esencial para poder llevar a cabo trabajos prospectivos (5).

Material y métodos

Se realizó una búsqueda en la base de datos del Medline (1989 a 1996), que comprendió diferentes tópicos con relación a los criterios de actividad clínica y de laboratorio de las vasculitis, además de los estudios que se adelantaban con respecto a las moléculas de adhesión, las citoquinas, los ANCA, los anticuerpos anti-célula endotelial, el factor reumatoideo, la proteína C reactiva y los marcadores de daño endotelial con relación a su participación patogénica y su posible aplicabilidad clínica. Se estudiaron 450 resúmenes encontrando 90 que informaban sobre el tema y procedimos a recopilar y analizar los artículos originales. Procedimos entonces a elaborar la revisión y a efectuar los resúmenes y conclusiones.

Criterios clínicos de actividad y de lesión

Basándose en los métodos utilizados para el desarrollo en el LES, como son el BILAG (6), y el SLEDAI (7), para valoración de actividad, y el "DISLE" (*damage index in systemic lupus erythematosus*), en daño (8), se han planteado varias propuestas de criterios de actividad en vasculitis, como el "*Systemic Necrotizing Vasculitis Damage Index*" (SNVDI) (9), y el *Birmingham Vasculitis Activity Score* (BVAS) (10).

El BVAS es un índice clínico basado en el compromiso de nueve órganos. La actividad se define además según si el compromiso del órgano es de inicio reciente o si ha sido permanente. Cada sistema tiene un puntaje reflejo de su contribución en la morbilidad. Por ejemplo, el compromiso renal tiene un valor ma-

yor que el cutáneo. Provee un instrumento útil para examinar el valor de un examen de laboratorio como indicador de actividad o de respuesta a un medicamento o tratamiento. Es similar al BILAG o al SLEDAI en el LES (Tabla 1).

El BVAS no sólo da una calificación, sino que establece varios parámetros útiles para definir la situación de un paciente determinado. Define como remisión la ausencia de algún ítem del BVAS; recaída mayor, como la presencia de un ítem mayor del BVAS, o de varios ítem menores, hechos que ameritan un incremento en la medicación inmunosupresora, y recaída menor, la existencia de un ítem menor, o síntoma relacionado con manifestaciones sistémicas.

En cuanto a los índices de lesión, es aceptado internacionalmente el "Vasculitis Damage Index" (VDI) (11), validado recientemente (12). En el VDI define arbitrariamente como daño los eventos que han persistido por más de tres meses en un órgano determinado.

El grupo europeo de estudio de vasculitis "ECSYVASTRIAL" (European Union Study Group of Therapeutic Trial in Systemic Vasculitis) ha acogido los anteriores criterios de actividad y daño para aplicar en la práctica clínica y en protocolos de investigación. Estos criterios los definen como "VITAL" (Vasculitis Integrated Assessment Log), el cual es una "paquete" de medidas de valoración (5).

Marcadores bioquímicos

Basándose en el estudio de las sustancias que participan en la inflamación se ha planteado que la identificación en los tejidos y

el nivel circulante, ayudan a la comprensión de la patogenia de las enfermedades inflamatorias, y sirven como indicadores de actividad. Como el estudio de estos marcadores potenciales en los tejidos es poco práctico se impone su medición en sangre aunque no todas esas sustancias se liberan a la circulación.

En el proceso inflamatorio autoinmune participan, entre otros elementos bioquímicos, diversos tipos de anticuerpos, complejos inmunes, moléculas de adhesión, citoquinas y factores de crecimiento, algunos de los cuales son

detectables en la sangre. No sólo su presencia es importante, sino también su variabilidad. Un buen marcador de actividad debe incrementarse pronto al iniciarse el proceso inflamatorio, y disminuir prontamente al frenarse la actividad de la enfermedad. Además, los títulos deben ser bajos si la enfermedad está leve o moderadamente activa, y altos como consecuencia de una activación mayor o grave.

En lo que se refiere a las vasculitis los principales marcadores propuestos son: los reactantes de fase aguda, las moléculas de ad-

	Puntaje		Puntaje
1. Sistémico	3 (máximo total)	Nódulos o fibrosis	2
Ninguno	0	Derrame pleural	4
Malestar	1	Infiltrado	4
Mialgia	1	Hemoptisis	4
Artralgia/artritis	1	Hemoptisis masiva	6
Fiebre (<38,5 grados)	1	ICC/cardiomiopatía	6
Fiebre (>38,5 grados)	2		
↓ peso (1-2 kg) en último mes	2	6. Cardiovascular	6 (máximo)
↓ peso (>2 kg) en último mes	3	Ninguno	0
		Soplos arteriales	2
2. Cutáneo	6 (Máximo total)	Nueva disminución de pulsos	4
Ninguno	0	Incompetencia aórtica	4
Infarto	2	Pericarditis	4
Púrpura	2	Infarto del miocardio reciente	6
Otra vasculitis de piel	2		
Úlcera	4	7. Abdominal	9 (máximo total)
Gangrena	6	Ninguno	0
Gangrena digital múltiple	6	Dolor abdominal	3
		Diarrea sanguinolenta	6
3. Mucosas/ojos	6 (máximo total)	Perforación de vesícula	9
Ninguno	0	Infarto intestinal	9
Úlceras orales	1	Pancreatitis	9
Úlceras genitales	1		
Conjuntivitis	1	8. Renal	12 (máximo total)
Epi/escleritis	2	Ninguno	0
Uveitis	6	Hipertensión (diast>90)	4
Exudados en retina	6	Proteinuria (>1+ o >200 mg/24 h)	4
Hemorragias retinales	6	Hematuria (>1+ o >10 g/cc)	8
		Creatinina (1,4-2,8 mg/dL)	8
4. ORL	6 (máximo total)	Creatinina (2,9-5,6 mg/dL)	10
Ninguno	0	Creatinina (> 5,7 mg/dL)	12
Rinorrea/obstrucción	2	>creatinina >30%	12
Sinusitis	2		
Epistaxis	4	9. Sistema nervioso	9 (máximo total)
Costras	4	Ninguno	0
Secreción ótica	4	Confusión/demencia	3
Sordera reciente	6	Convulsiones (no asoc. a hipertensión)	9
Dolor de garganta/laringitis	2	ACV	9
Compromiso subglótico	6	Lesión espinal	9
		Neuropatía periférica	6
5. Tórax	6 (máximo total)	Mononeuritis múltiple motora	9
Ninguno	0		
Disnea	2		
Máximo puntaje 63			
En el artículo de validación del VBAS (10), se informa que en 210 pacientes evaluados con estos criterios, se dio un puntaje de «0 score» en 107 pacientes inactivos, de «7,5 (4-30)» a 22 pacientes con enfermedad activa sin tratamiento, de «10 (1-29)» a 69 pacientes tratados activos y de 20,5 (9-30) a 12 pacientes con enfermedad fulminante o estado previo a la muerte.			

Tabla 1. Valoración de la actividad de las vasculitis, Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS).

hesión, las citoquinas, los cANCA, anticuerpos anti-célula endotelial (AECAs), los marcadores de activación o daño endotelial linfocitotóxica y el factor reumatoideo

Reactantes de fase aguda

La síntesis de numerosos "reactantes de fase aguda" (fibrinógeno, proteína C reactiva, haptoglobina) usualmente aumenta en procesos infecciosos, inflamatorios, neoplásicos o traumáticos. El incremento de la producción de tales proteínas o su expresión en pruebas de laboratorio como la velocidad de sedimentación globular (VSG), a menudo han sido utilizadas como medidores de la actividad de las enfermedades. Tales marcadores tienen el inconveniente de carecer de especificidad y cada vez se nota que son menos sensibles con el desarrollo de nuevos marcadores de actividad. Esto se aprecia especialmente en las vasculitis, donde la VSG presenta discordancia con el grado de actividad en más de 20% de los pacientes con GW (13), de 20 a 48% con polimialgia reumática y arteritis de células gigantes (14-16). Cada vez se informan más casos de polimialgia con VSG normal. También se puede presentar una VSG normal en 14 a 56% de los casos de arteritis de Takayasu (17,18)

Moléculas de adhesión

Los estudios recientes, sugieren que los fragmentos de moléculas de adhesión pueden ser más útiles que los marcadores no específicos de inflamación, como los reactantes de fase aguda. Estas moléculas tienen mucho que ver con el desarrollo de los procesos inflamatorios, encargadas

de la unión entre dos células, o entre una célula y componentes del tejido conectivo extracelular. Se han agrupado en tres clases: selectinas, integrinas y miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas.

Selectinas

Inicialmente fueron relacionadas con la adhesión de linfocitos a los nódulos linfáticos periféricos (19). Son las moléculas encargadas del rodamiento de los leucocitos sobre la superficie endotelial (20). Comprenden tres proteínas: la selectina L (CD62L), que se expresa en los leucocitos (linfocitos, monocitos y granulocitos), la selectina E (CD62E, molécula de adhesión leucocitaria endotelial o ELAM-1), en las células endoteliales y la selectina P (CD62P) en las plaquetas, las células endoteliales y los megacariocitos (21). Son proteínas compuestas por cuatro tipos de dominios: uno del tipo "lectina C" que está en el extremo libre de la molécula, varios del tipo "factor de crecimiento epidérmico" (seis en la E, dos en la L y nueve en la P) que se localizan en el intermedio de la fracción extracelular, uno del tipo "proteína reguladora del complemento" que se continúa con el dominio transmembranoso y una cola terminal carboxilo intracelular (22).

La selectina P se encontró inicialmente en las plaquetas a nivel intracelular, dentro de los gránulos secretorios que se expresan en la superficie durante su activación. Posteriormente se identificó en las células endoteliales en los cuerpos de Weibel Palade. Una vez en la membrana, la selectina P interacciona con sus ligandos (algunas glico-

proteínas portadoras de sialilatos, como la denominada sialil Lewis, y el CD15 (23).

La selectina E se expresa en las células endoteliales activadas por la interleucina 1 (IL-1) o por el factor de necrosis tumoral (TNF- α). Reconoce a través de su dominio lectina C ligandos con oligosacáridos Lewis y sialil-Lewis (la ausencia de sialil-Lewis en la superficie de los neutrófilos genera un rodamiento defectuoso cuya manifestación clínica es la presencia de infecciones recurrentes) (23). La selectina E se encuentra en concentraciones altas en los procesos inflamatorios de la piel y de la membrana sinovial. Participa en la adhesión de neutrófilos, monocitos y algunas poblaciones de linfocitos T con células endoteliales venulares. La glicoproteína de membrana CLA-1 (*cutaneous lymphocytic antigen-1*), que se encuentra en la superficie de algunos linfocitos, también ha sido informada como un ligando de la selectina E (24).

La selectina L se expresa en la mayoría de los linfocitos, neutrófilos y monocitos. Tiene como ligando Gly-CAM, CD34 y MadCAM-1, expresados en células linfoides de las mucosas y en células endoteliales. El Gly-CAM (*Glycan Cell adhesion molecule*), forma parte de un complejo molecular de mucina que transporta glicano. El CD34 es una molécula parecida a la sialomucina. La MadCAM (*mucosal vascular adhesion cell adhesion molecule-1*), es una adhesina que puede unirse a otras moléculas como la integrina $\alpha 4$ - $\beta 7$, y se expresa principalmente en las células endoteliales del tejido linfático asociado con mucosas (21).

Un resumen de las selectinas y sus ligandos más importantes se indican en la Tabla 2.

Integrinas

Son heterodímeros compuestos de una cadena alfa y otra beta. Se han descrito 20 proteínas de este tipo, resultantes de la combinación de 14 formas de cadenas alfa y ocho de cadenas beta. Se agrupan en ocho subfamilias, denominadas: $\beta 1$, a $\beta 8$. Las más importantes desde el punto de vista de la inflamación son las $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$ y $\beta 7$ (25).

Integrinas $\beta 1$: también conocidas como moléculas VLA (*very late activation*), porque fueron identificadas por primera vez en linfocitos T estimulados in vitro por períodos de dos a cuatro semanas. Luego se encontraron estas moléculas en todos los tipos de leucocitos excepto en los neutrófilos. Medían la unión de dichas células a componentes de la matriz extracelular (fibronectina, colágeno, laminina y vitronectina). La VLA 4 que se ha encontrado en los linfocitos y en los monocitos se une además a VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecules-1*), de las células endoteliales activadas por citoquinas (26). Participan además en el proceso de migración leucocitaria. Al actuar con sus ligandos se generan señales intracelulares que determinan cambios en la morfología celular y regulación de la expresión de genes (por ejemplo, de ligandos) (26).

Integrinas $\beta 2$: se han descrito en este grupo tres moléculas, que comparten la misma cadena beta (CD 18), se diferencian en su cadena alfa (CD11a, CD11b y CD 11c), y se denominan respectivamente: LFA-1, Mac-1, y gp 150/95. La LFA-1 se encuentra en linfocitos, monocitos y

macrófagos, e interactúa con tres ligandos: ICAM-1, ICAM-2 e ICAM-3 (ICAM: *intercellular adhesion molecule-1*), de las superfamilias de las inmunoglobulinas. La Mac-1 se une al ICAM-1, al fibrinógeno y es además receptor del complemento (CR3). La gp 150/95 también se une al fibrinógeno y a la fracción C3bi del complemento (22). Una mutación en el gen que codifica para CD 18 genera el síndrome de deficiencia de adhesión leucocitaria (LAD), el cual se caracteriza por infecciones bacterianas y micóticas recurrentes. En estos pacientes los neutrófilos y los monocitos no se adhieren ni migran a través de las células endoteliales, aunque su rodamiento es normal (27).

Integrinas $\beta 3$: hacen parte de este grupo las moléculas de adhesión plaquetaria y el receptor para la vitronectina.

Integrinas $\beta 7$: se expresan en leucocitos localizados en el tejido linfoide de la mucosa intestinal. Estas moléculas dirigen la migración hacia las placas de Peyer, al interactuar con el ligando MadCAM, se expresa en el endotelio de vénulas postcapilares. Una de estas moléculas, la $\beta 7 \alpha 4$ (L-PAM-1), se une además al VCAM-1 y a la fibronectina (28).

En la Tabla 3 se indican las integrinas, el sitio donde se expresan, sus ligandos más importantes y su función.

Superfamilia de las inmunoglobulinas

El tercer grupo de las moléculas de adhesión son proteínas que se caracteriza por poseer una o más regiones o dominios de inmunoglobulinas, que consisten en un asa donde hay un puente disulfuro. Existen siete miembros de esta familia que tienen bastante importancia en la inflamación: ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, VCAM-1, PECAM-1, MadCAM y el CD44 (22).

La ICAM-1 se expresa en las células endoteliales activadas, y es ligando de las integrinas leucocitarias. Mediadores de la respuesta inflamatoria como las citoquinas, inducen una mayor expresión de ICAM-1 en las células endoteliales y otras células como fibroblastos queratinocitos, etc. Los ligandos de la ICAM-1 son la LFA-1 y la Mac-1. Puede medirse en forma circulante.

La ICAM-2 se expresa en las células endoteliales y en los linfocitos no activados. Su principal ligando es la LFA-1. Su expresión no aumenta en presencia de mediadores de la respuesta inflamatoria. No existe en la circulación.

La ICAM-3 se expresa en las células linfoides y en las células endoteliales activadas. Su ligando al igual que las ICAM-2 es solamente las LFA-1.

La VCAM-1 se aumenta drásticamente en presencia de citoquinas mediadoras de la respues-

Selectina	Nombre alterno	Localización	Ligando
L-selectina	LAM-1, CD62L	Leucocitos	GlyCAM, CD34, MadCAM-1
E-selectina	ELAM-1, CD62E	Célula endotelial	Sialyl-Lewis, CLA
P-selectina	PADGEM, CD62P	Célula endotelial, plaquetas	Sialyl-Lewis, Lig de select P-1

Tabla 2. Selectinas, localización y ligandos más importantes.

Evaluación de actividad de las vasculitis

Subfamilia $\beta 1$			
Molécula	Expresión	Ligando	Función
CD49a/CD29 VLA-1	Todos los leucocitos excepto el neutrófilo	Colágeno Laminina	Adhesión
CD49b/CD29 VLA-2	Linfocito B Monocitos	Colágeno Laminina	Adhesión
CD49c/CD29 VLA-3	Linfocito B	Fibronectina Laminina	Adhesión
CD49d/CD29 VLA-4	Linfocito T	Fibronectina VCAM-1	Adhesión Activación
CD49e/CD29 VLA-5	Monocitos, linfocitos y plaquetas	Fibronectina	Activación
CD49f/CD29 VLA-6	Monocitos, linfocitos y plaquetas	Laminina	Adhesión
Subfamilia $\beta 2$			
CD11a/CD18 LFA-1	Linfocito T, linfocito B, monocito, granulocitos	ICAM-1 ICAM-2 ICAM-3	Adhesión Activación
CD11b/CD18 Mac-1	Monocito, granulocitos	ICAM-1 C3b	Adhesión Activación
CD11c/CD18 p150/95	Monocito, granulocitos	Fibrinógeno C3bi Fibrinógeno	Adhesión Activación
Subfamilia $\beta 3$ Glicoproteínas I, II y III de adhesión y agregación plaquetarias			
Subfamilia $\beta 7$ B7 a4 (L-PAM-1)			
	Leucocitos de tejido linfoide intestinal	MadCAM VCAM-1 Fibronectina	Adhesión Activación

Tabla 3. Integrinas, localización, ligandos más importantes y función.

Molécula	Expresión	Ligando	Función
CD2	Linfocito T, NK	LFA-3 CD59	Adhesión Activación
CD4	Linfocito T	MCMH-II	Adhesión
CD8 Activación	Linfocito T	MCMH-I	Activación Adhesión
CD28	Linfocito T	B7-1 (CD80) B7-2 (CD86)	Activación
CD31 PECAM-1	Linfocitos Plaquetas	CD31	¿Activación?
CD54 ICAM-1	Amplia Mac-1	Cel. Endoteliales LFA-1	Adhesión
CD102 ICAM-2	Cel. endoteliales Linfocitos	Activación LFA-1	Adhesión Activación
CD50 ICAM-3	Cel. endoteliales Linfocitos	LFA-1 Activación	Adhesión
CD106 VCAM-1	Cel. endoteliales Macrófagos	VLA-4 L-PAM-1	Adhesión Activación
Mad CAM-1	Cel. endoteliales	Selectinas L L-PAM-1	Adhesión Activación

Tabla 4. Superfamilia de las inmunoglobulinas, localización, ligandos más importantes y función.

ta inflamatoria. Al unirse a sus ligandos VLA-4 y alfa4-beta7, favorece la interacción selectiva de linfocitos y monocitos con las células endoteliales, facilitando la diapédesis, a través del endotelio. La VCAM-1 también se expresa en células dendríticas, en algunos macrófagos, en células sinoviales y en precusores de las células de músculo esquelético. La presentación del VCAM en la superficie celular se realiza más tardíamente en los procesos inflamatorios, y está más implicado en la infiltración linfocitaria de la fase crónica. Hoy en día se implica además en la génesis de la aterosclerosis. Se puede medir esta molécula a nivel sanguíneo.

La PECAM-1 (CD31) está involucrada también en la migración de los linfocitos a través de las células endoteliales venulares. La MadCAM-1 se expresa en las células endoteliales del tejido linfoide de las mucosas principalmente. Su ligando es la selectina L.

El CD44 es un receptor del ácido hialurónico y del colágeno. Parece que participa en los fenómenos de metástasis de células tumorales. Se encuentra en los linfocitos, los monocitos, los neutrófilos y en las células endoteliales principalmente (21, 22).

En la Tabla 4 se resumen las moléculas más importantes de la superfamilia de las inmunoglobulinas, la localización, los ligandos más importantes y la función.

Patogénesis de la inflamación y su relación con las moléculas de adhesión

Hasta hace relativamente poco, sólo las sustancias quimoatrayentes como ciertas fracciones

del complemento, o ciertos péptidos de origen microbiano, eran considerados responsables del llamado y la infiltración de las células inflamatorias en los tejidos. Hoy, este conocimiento es mucho más amplio y se incluyen diferentes tipos de "moléculas de adhesión", que se expresan en los leucocitos y en las células endoteliales, ya sea en forma constitucional o inducida. Varias citoquinas son importantes mediadoras de la activación y la expresión posterior en la membrana celular de dichas moléculas. Por ejemplo; el leucocito que está circulando en función de patrullaje, es activado por las citoquinas circulantes liberadas en un sitio distante; se generan cambios en el citoesqueleto y se expresan algunos tipos de moléculas de adhesión como la selectina L, que determinan el rodamiento del leucocito por la superficie endotelial (20). A su vez en la célula endotelial se expresa un ligando para dicha molécula como es el GlyCAM-1. El leucocito se dirige a su blanco por el llamado gradiente quimioatractivo.

Una vez en el sitio de la inflamación, dichas células se detienen como consecuencia de otros procesos que determinan la expresión de otras moléculas de adhesión como la integrina $\beta 2$ y LFA-1, la cual se une con su ligando en el endotelio, el ICAM-1, fijándose en forma más fuerte la célula inflamatoria al endotelio y a algunas formas de tejido conectivo de la matriz extracelular que puede estar expuesto. Se inician en este momento otros cambios estructurales que permiten la diapédesis hacia el tejido. En estos procesos participan varias citoquinas

liberadas como consecuencia de la reacción inflamatoria. Ya en su posición final el granulocito o monocito se transforma en célula liberadora de mediadores de la inflamación, generando más quimioatracción y daño en las células y en la matriz del tejido blanco. En esta posición la expresión de moléculas como la CD44 que se une al tejido extracelular es importante para su permanencia, y para detener su migración (29).

Se sabe que los glucocorticoides, los antiinflamatorios no esteroideos, las sales de oro, el metotrexato y la colchicina, actúan en parte inhibiendo dichas moléculas de adhesión.

Moléculas de adhesión en la patogénesis de las vasculitis

Los estudios de la participación de las moléculas de adhesión en el proceso inflamatorio de las vasculitis se basan en su aumento de expresión y por ende de detección en los vasos comprometidos. La medición de las moléculas solubles hace presumir también su papel patogénico, principalmente cuando se nota su elevación o descenso relacionado con actividad o inactividad respectivamente. Por ejemplo las ICAM-1 y VCAM-1 aumentan su expresión en las células endoteliales en diferentes tipos de vasculitis cutáneas y sistémicas, y la E-selectina se correlaciona con la infiltración leucocítica (30). En el caso particular de la PAN y la vasculitis asociada a enfermedades autoinmunes se ha encontrado un incremento de la ICAM-1 y su ligando VLA-4 en el endotelio de vasos de nervio y músculo esquelético (31). En el endotelio de arteria temporal cuando se

presenta la vasculitis de células gigantes se ha detectado un aumento de las ICAM-1 y LFA-1 (32). La VCAM-1 a nivel endocapilar glomerular se encuentra elevada en la GW y en la poliarteritis microscópica, correlacionándose con el grado de actividad de dichas enfermedades (33).

Como puede verse cada tipo de vasculitis parece relacionarse con un grupo específico de moléculas de adhesión. Una de las teorías que puede llegar a explicar el porqué del desarrollo de este compromiso orgánico selectivo o regional, es la expresión particular de dichas moléculas en endotelios particulares de un determinado órgano (34). Situación parecida se ha informado en el depósito de células de melanoma en pulmones de animales de experimentación (35), o como lo trata de demostrar *in vitro* un modelo patogénico de artritis reactiva, donde por su selectividad de expresión, las moléculas de adhesión parecen estar más comprometidas en el desarrollo de sinovitis, que los factores anteriormente informados de la presencia local de antígenos artritogénicos (36). Otro aspecto importante que se investiga es la participación de las moléculas de adhesión en la activación de células inflamatorias y en el aumento de la síntesis de citoquinas proinflamatorias (37, 38).

Moléculas de adhesión como marcadores de actividad de las vasculitis

La liberación de las moléculas de adhesión desde la membrana celular hacia la sangre y los fluidos (selectinas y moléculas de la superfamilia de las inmuno-

globulinas), se efectúa por lisis enzimática o por generación de variantes sin dominio transmembrana ni citoplasmático (39). Se ha encontrado aumentada la selectina E circulante en la PAN (40), en la enfermedad de Kawasaki (41), y en la arteritis de células gigantes en fase activa (42). No se ha encontrado correlación con actividad en la GW (43), en la vasculitis reumatoidea (44), ni en la vasculitis lúpica (45). Las ICAM-1 y VCAM-1 han demostrado su valor en la evaluación de la actividad de la GW (46-48); sin embargo, en un estudio (47) no se encontró correlación entre GW y VCAM-1. La VCAM-1 parece ser buen parámetro de actividad en LES, mas no la ICAM-1 (49), la cual sí se eleva en vasculitis reumatoidea (50, 51). La selectina E parece tener importancia por ser la primera molécula de adhesión que desciende al mejorar el paciente (estudio en seis pacientes) con vasculitis ANCA positivas. En este sentido faltan estudios con un número mayor de pacientes (52).

Citoquinas

Las citoquinas regulan la diferenciación, replicación, supervivencia y muerte celulares durante el desarrollo, ayudan a mantener la homeostasis en el organismo maduro y orquestan los mecanismos de defensa del huésped ante un factor lesivo. La regulación de la función celular por las citoquinas depende de la presencia de sus receptores, el tipo de señales intracelulares inducidas y sus controles endocrinos, paracrinós y autocrinos.

En los fenómenos inflamatorios autoinmunes existe una disre-

gulación mediada por estas citoquinas. Así, se han dividido la citoquinas en aquellas que promueven la inflamación (IL-1, 2, 3, 7 y 15, FNT alfa y los interferones alfa, beta y gamma), y las que la detienen, también llamadas citoquinas inmunorreguladoras (EL-4,10,13 y el factor de crecimiento transformante-beta) (53).

Citoquinas en la patogénesis de las vasculitis. El compromiso sistémico de las vasculitis está mediado en forma importante por citoquinas proinflamatorias como son la IL-1, el FNT-alfa y la IL-6 que generan síntomas como fiebre, malestar o pérdida de peso (54). El estudio de estas moléculas a nivel local, hace plantear su posible papel patogénico. Por ejemplo, se ha encontrado aumento de liberación local de FNT-alfa e IL-1 beta en glomérulos de pacientes con glomerulonefritis de la GW, ANCA-positiva (55). Por hibridación *in situ* y TR-PCR se ha detectado en arteritis de células gigantes, concentraciones elevadas de RNA que corresponde a la síntesis de IL-1 beta, IL-6, FNT-alfa, GM-CSF, TGF beta e interferon gamma (56).

Su papel en los tejidos es diverso, siendo la regulación positiva de la expresión de moléculas de adhesión por parte de la IL-1. el FNT-alfa, la IL-4 y el interferon gamma, un elemento importante en la respuesta inflamatoria (57). Este fenómeno se ha informado por ejemplo en la enfermedad de Kawasaki (58). Los factores estimulantes de colonias prolongan la vida media de leucocitos en dichos infiltrados inflamatorios (59). La IL-8 y el factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF)

contribuyen al desarrollo de la neovascularización (34).

Algunas citoquinas estudiadas en vasculitis y su papel patogénico se indican en la Tabla 5 (60, 61).

Las citoquinas como marcadores de actividad. Los niveles de IL-2, IL-2R e interferon alfa se han encontrado elevadas en pacientes con GW, y se postula su posible papel como marcadores de actividad (62,63). Igualmente en la PAN se ha informado que el interferon alfa y la IL-2 se elevan en fase activa y disminuyen con el tratamiento efectivo (63). Otros posibles marcadores podrían ser el FNT-alfa, la IL-1-beta y el interferon gama, aunque sus niveles no se elevan en fase activa sino en forma discreta (63). En la enfermedad de Kawasaki se han investigado la IL-1. el FNT-alfa, la IL-6 y el interferon gama (64,65). En la arteritis temporal el FNT-alfa y la IL-6(66). Los niveles de TGF-beta se correlacionan con actividad en las "vasculitis ANCA positivas" (67).

*ANCA*s

Uno de los descubrimientos más importantes para comprender la patogénesis de algunas vasculitis, es la presencia de ANCA's circulantes. Posteriormente se identificaron: dos mayores autoantígenos la proteinasa 3 (PR3) y la mieloperoxidasa (MPO). La presencia de PR3-ANCA's es altamente sensible y específica en la GW y la de MPO-ANCA's en una proporción variable lo es con la poliarteritis microscópica y la glomerulonefritis rápidamente progresiva (68-69). Los cANCA's son parte importante hoy en día para el diagnóstico de la GW (70). El papel patogénico de los ANCA's se ha estudiado a diferentes niveles. Por ejemplo se

sabe que la estimulación de los neutrófilos *in vitro* con diferentes citoquinas, hace que el antígeno PR3 se exprese en la membrana, promoviendo la síntesis de anticuerpos (71). Una vez inducida la formación de los ANCAs, diferentes tipos de células como leucocitos y células endoteliales, se activan, pero no está claro cómo influyen en su actividad. *In vitro* se ha demostrado como los ANCAs inhiben su función enzimática, efecto que si se presentara *in vivo*, no tendría una explicación patogénica, a la luz de los conocimientos actuales (72).

En cuanto a su efecto en la activación leucocitaria, se sabe que se ejerce principalmente sobre los neutrófilos y linfocitos T. En los neutrófilos se promueve la degranulación y la activación de los radicales libres de oxígeno (73). En los linfocitos T, la activación parece deberse a un estímulo derivado de la unión de estas células con el antígeno PR3 expresado en los neutrófilos activados a nivel de la membrana. Posteriormente se lleva a cabo la infiltración linfocitaria, característica, por ejemplo, de la GW (74).

La PR3 también se expresa en las células endoteliales activadas y su unión con los ANCAs, aumenta la expresión de diversas moléculas de adhesión (selectina E, ICAM-1 y VCAM-1), y la liberación de IL-8, conocida citoquina quimiotáctica (75, 76). Los ANCAs también tienen un efecto citotóxico sobre la célula endotelial promoviendo su daño (77, 78).

Los cANCAs se han convertido además en marcadores de actividad en GW, y sus títulos se correlacionan con el grado de

Citoquinas	Fuente celular	Función/papel potencial en daño vascular
IL1 alfa y beta	Monocito Macrófago tisular Célula endotelial otras	Induce ELAM-1, ICAM-1 en células endoteliales, disminuye actividad fibrinolítica, activa células T
TNF alfa	Monocitos Macrófago tisular	Similar a IL-1
Gama-interferón	Célula T	Induce HLA clase II, ELAM-1, ICAM-1 en célula endotelial
IL-8	Célula endotelial Monocito Macrófago tisular Fibroblasto	Quimioatracción para neutrófilos Regula ELAM-1
IL-2	Célula T	Activación célula T
IL-4	Célula T	Activación célula T
IL-6	Monocito Macrófago Célula endotelial Músculo liso Célula T	Estimula proliferación de célula T Estimula producción de Igs Estimula proliferación de fibroblastos
PAF (factor activador de plaquetas)	Plaquetas Macrófago Monocito Neutrófilo Eosinófilo	Liberación de enzimas lisosómicas del neutrófilo, radicales libres de oxígeno y enzimas proteolíticas

Tabla 5. Citoquinas comprometidas en la patogénesis de las vasculitis.

compromiso, siendo muy sensible para indicar el compromiso renal (79). Se ha informado que sus títulos descienden rápidamente con la respuesta al tratamiento con ciclofosfamida, y su presencia puede indicar la necesidad de utilizar el medicamento (80). Igualmente los ANCAs han servido de índice de actividad en poliangeitis microscópica, en Churg-Strauss y en vasculitis inducidas por medicamentos (81).

AECAs

Los anticuerpos anti-célula endotelial también se han propuesto como elementos patogénicos de las vasculitis, y como posibles marcadores de actividad. En el LES se ha demostrado que las IgG anticélula endotelial, están dirigidas contra antígeno de membrana de 66 kDA, y su presencia se correlaciona con la aparición de

nefritis, vasculitis e hipocomplementemia; contra antígeno de 55 kDA con trombocitopenia; y contra antígeno de 18 kDA con pleuritis (82).

Los AECAs en la GW parecen facilitar la activación de las células endoteliales, el reclutamiento de leucocitos y su adhesión a la superficie endotelial (83). Como marcadores se han propuesto en el LES con vasculitis y nefritis (84).

Marcadores de activación o daño endotelial

En la actualidad se están desarrollando trabajos para conocer el potencial de ciertos marcadores de activación o daño endotelial como índices de actividad en vasculitis. Estos incluyen el factor de Von Willebrand y la trombosmodulina, entre otros. La trombosmodulina en la GW se correlaciona bien con los ni-

Evaluación de actividad de las vasculitis

veles de cANCA (85). Un estudio previo había demostrado su utilidad en pacientes con LES. En un informe el factor de Von Willebrand (86) no se correlacionó con reactantes de fase aguda, pero actúa como marcador específico de daño vascular y es útil en el monitoreo de las vasculitis de pequeño y gran calibre (87)

Un estudio multicéntrico denominado Sumavin (*surrogate markers for vascular injury in patients with systemic vasculitis*), coordinado por el Dr. Gary Hoffman de la Cleveland Clinic Foundation, está valorando estos marcadores. En dicho trabajo también se incluye el estudio

de varias moléculas de adhesión (ELAM-1, VCAM-1, ICAM-1, PECAM-1), el FAP, productos de activación del complemento, endotelina, autoanticuerpos contra receptores Fe y el inhibidor del activador del plasminógeno tisular.

Linfocitotoxinas

Como ya se mencionó, la participación de las células T en la patogénesis de las vasculitis es un hecho importante. Estos leucocitos participan en la estimulación celular que lleva a la producción de anticuerpos, y además poseen un efecto citotóxico directo (88). Se ha llegado a plantear que las linfocito-

toxinas podrían servir para la medición de la actividad en las vasculitis (89).

Factor reumatoideo

La medición de los niveles de factor reumatoideo podría ser útil como índice de actividad en las vasculitis seropositivas (factor reumatoideo positivas) (90). En la Tabla 6 se realiza un resumen de los marcadores bioquímicos antes planteados.

Conclusión

El desarrollo de parámetros clínicos y bioquímicos para valorar el grado de actividad de las vasculitis, es útil para el clínico, para el enfoque inicial del pa-

Vasculitis	M. De adhesión				Citoquinas							Otros marcadores					
	ICAM-1	ICAM-3	VCAM-1	SELE-E	IL-1	IL-2	IL-2R	IL-6	INF- α	TNF- α	TGF- β	ANCAS	AECA	FvW	Trombo modulina	Linfo	FR
Granulom. de Wegener	↑(43, 46, 47)		↑(43, 46, 48)	NO(43)			↑ (62) NO (80)					↑(69, 79, 80)			↑(85)		
PAN Churg-Strauss				↑(40, 42)	↑(63)	↑(63)			↑(63)	↑(63)		(69)					
Vasculitis ANCA+	↑(52)		↑(48)	↑(52)							↑(67)						
Poliangitis microscóp.												↑(69)					
Arteritis temporal				↑(42)			↑(66)		↑(66)								
Kawasaki	↑(41)			↑(41, 42)	↑(64)		↑(64)		↑(64)								
Vasculitis reumatoidea	↑(50) no (51)	↑(50)	NO(51)	NO(44)													
Vasculitis asociada a LES	NO (49)		↑(49)	NO(45)								↑(84)		↑(86)			
Vasculitis por drogas											↑(69)						
Vasculitis FR+																	↑(90)
"Vasculitis"			↑(42)	NO (85)							↑(85)		↑(87)	↑(85)		↑(89)	

‡: correlación con actividad. NO: No correlación con actividad

Tabla 6. Marcadores bioquímicos de las vasculitis.

ciente, conocer qué grado de inmunosupresión se debe indicar, además de realizar su seguimiento. y para el ajuste de dosis de medicamentos, su retiro o su cambio. Para los investigadores comprometidos en estudios multicéntricos, son de especial utilidad, ya que se plantean parámetros de seguimiento unificados. Desde el punto de vista clínico los criterios más recomendados, y que están validados son los que determina el BVAS, basados en el compromiso de nueve órganos. Los marcadores bioquímicos que más se aproximan a los objetivos planteados son las moléculas de adhesión, las citoquinas, los ANCAs, los AECAs, los marcadores de activación o daño endotelial, las linfocitotoxina y el factor reumatoideo, con sensibilidad y especificidad mejores que los clásicos reactantes de fase aguda.

Abstract

Objective: to review the recent medical literature in the topics related with the utility of biochemical markers in the activity of vasculitis.

Data sources: Medline (1989-1996) using topics related with activity criteria in clinical and laboratory aspects. Recent studies were reviewed in adhesion molecules, citokines, ANCA, antiendothelial cell antibodies, rheumatoid factor, C reactive protein and endothelial damage markers in the patogénesis and the posible clinical utility.

Study selection: the initial search retrieved 450 abstracts, then 90 were selected since they contained the specific topics of the proposed revision.

Data extraction: the articles were classified according to objectives

and type of investigation, as follow reviews, original works and case reports. Then we studied the original articles and we made the review and conclusions.

Data synthesis: the recent studies related with blood levels of adhesion molecules, citokines, and some autoantibodies, help the physician understand the patogénesis of vasculitis, and to consider the posible classification utility and to improve the diagnosis of activity and damage.

Conclusion: The activity and damage criteria in vasculitis, are elements that help the physician make clinical judgments at the onset of patient care, for example type and dosing of immunosuppressors, adverse reactions to medications, differences in recurrences or intercurrent infections. Also its markers are useful to the investigator for the evaluation of response to medication.

Referencias

- Iglesias A, Salazar M, Egea E, Vásquez G, Valle R. Análisis histórico de las vasculitis, su clasificación y propuesta para su entendimiento. *Biomédica* 1993; **13**: 32-56.
- The American College of Rheumatology-1990 criteria for the classification of vasculitis. *Arthritis Rheum* 1990; **33**: 1065-1136.
- Fries JF, Hochberg MC, Medsger TA, Hunder GG, Bombardier C. and the American College of Rheumatology diagnostic and therapeutic criteria committee. Criteria for rheumatic disease. *Arthritis Rheum* 1994; 454-462.
- Fauci AS, Wolff SM, Johnson JS. Effects of cyclophosphamide upon the immune response in Wegener's granulomatosis. *N Engl J Med* 1971; **285**: 1494-1496.
- VITAL assessment of vasculitis. Workshop report. *Clin Exp Rheumatol* 1995; **13**: 275-278.
- Hay EM, Bacon PA, Gordon C, Isenberg PA, Maddison P, Snath ML, Symmons DPM, Viner M, Zoma A. The BILAG index: a reliable an valid instrument for clinical disease activity in systemic lupus erythematosus. *QJMed* 1993; **86**: 447-458.
- Gladman DD, Goldsmith C, Urowitz ME, Bacon PA, Bombardier C, Isenberg D, Kalunian K, Liang M, Maddison P, Nived O, Richter M, Snaith M, Symmons DPM, Zoma A. Crosscultural validation and reliability of 3 disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1992; **19**: 608-611.
- Gorges L, Goldman D, Peri M. The ACR/SLICC damage index in systemic lupus erythematosus, (abstract) *Arthritis Rheum* 36 (suppl 9), S68, 1993.
- Abu-Shakra M, Smythe H, Lewtas J, Badley E, Weber D, Keystone E. Outcome of polyarteritis nodosa and Churg-Strauss syndrome. An analysis of twenty-five patients. *Arthritis Riman* 1994; **37**:1798-1803.
- Luqmani RA, Bacon PA, Moots RJ, Janssen BA, Pall A, Emery P, Savage C, Adu D. Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS) in systemic necrotizing vasculitis. *QJM* 1994; **87**: 671-678.
- Exley A, Bandury P, Carruthers D, Moots R, Luqmani R, Kitas G, Bacon P. The Vasculitis Damage Index (abstract). *Arthritis Rheum* 1995; **38**: S340.
- Exley AR, Bacon PA, Luqmani RA, Kitas GD, Gordon C, Savage COS, Adu D. Development and initial validation of the vasculitis damage index for the standardized clinical assessment of damage in the systemic vasculitides. *Arthritis Rheum* 1997; **40**: 371-380.
- Hoffman GS, Kerr GS, Leavitt RY, Hallahan CW, Lebovics RS, Travis WD, Rottem M, Fauci AS. Wegener's granulomatosis: analysis of 158 patients. *Ann Intern Med* 1992; **116**: 488-498.
- Ellis ME, Ralston S. ESR in the diagnosis and management of polymyalgia rheumatica/giant arteritis syndrome. *Ann Rheum Dis* 1993; **42**: 168-170.
- Kyle V, Hazelman BL. Treatment of polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. II. Relation between steroid dose and steroid associated diseases. *Ann Rheum Dis* 1989; **48**: 662-666.
- Wilke WS, Hoffman GS. Treatment of glucocorticoid-resistant giant cell arteritis. *Rheum Dis Clin North A* 1995; **21**: 59-71.
- Cañas CA, Jimenez CA, Ramirez LA, Uribe O, Tobón I, Torreñegra A, Cortina A, Muñoz M, Gutiérrez O, Restrepo JF, Peña M, Iglesias A. Arteritis de Takayasu en Colombia. *Acta Med Col* 1997; **22**: 85-92.
- Kerr GS, Hallahan CW, Giordano J, Leavitt RY, Fauci AS, Rottem M, Hoffman GS. Takayasu's arteritis. *Ann Intern Med* 1994; **120**: 919-929.
- Gallatin M, St John TP, Sieglman M, Reichert R, Butcher EC, Weissman IL. Lymphocyte homing receptors. *Cell* 1986; **44**: 673-680.
- Ley K, Gaechtgens P, Kennie C, Singer MS, Lasky LA, Rosen SD. Lectin-like cell adhesion molecule 1 mediates leukocyte rolling mesenteric venules *in vivo*. *Blood* 1991.

Evaluación de actividad de las vasculitis

21. **Carlos TM, Harlan JM.** Leukocytes-Endothelial adhesion molecules. *Blood* 1994; **84**: 2068-2101.
22. **González-Amaro R, Portales-Pérez DP, Baranda L, Sánchez-Madrid F.** Antígenos de diferenciación leucocitaria. *Rev Mex Reumat* 1996; **11**: 42-51.
23. **McEver RP, Beckstead JH, Moore KL, Marshall-Carlson L, Bainton DF.** GMP-140, a platelet (-granule membrane protein, is also synthesized by vascular endothelial cells and is localized by vascular endothelial cells and is localized in Weibel-Palade bodies. *J Clin Invest* 1989; **84**: 92-98.
24. **Berg EL, Robinson MK, Mansson O, Butcher EC, Magnani JL.** A carbohydrate domain common to both sialyl Le(a) and sialyl Le(x) is recognized by the endothelial cell leukocyte adhesion molecule ELAM-1. *J Biol Chem* 1991; **266**: 14869-14872.
25. **Smyth SS, Juneckis CC, Parise LV.** Regulation of vascular integrins. *Blood* 1993; **81**: 2827-2835.
26. **Etzioni A.** Adhesion molecules - Their role in health and disease. *Pediatr Res* 1996; **39**: 191-198.
27. **Sligh JE, Hurwitz MY, Zhu C, Anderson DC, Beauder AL.** An initiation codon mutation in CD18 in association with the moderate phenotype of leukocyte adhesion deficiency. *J Biol Chem.* 1992; **267**: 714-718.
28. **Salmi M, Andrew DP, Butcher EC, Jalkanen S.** Dual binding capacity of mucosal immunoblasts to mucosal and synovial endothelium in human. Dissection of the molecular mechanism. *J Exp Med* 1995; **181**: 137-149.
29. **Mojcik C, Shevach EM.** Adhesion molecules. *Arthritis Rheum* 1997; **40**: 991-1004.
30. **Bradley JR, Lockwood CM, Thiru S.** Endothelial cell activation in patients with systemic vasculitis. *QJM* 1994; **87**: 741-745.
31. **Panegyres PK, Faulk RJ, Russ G, Appleton St, Wangel AG, Blumberg PC.** Endothelial cell activation in vasculitis of peripheral nerve and skeletal muscle. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991; **55**: 4-7.
32. **Wawryk SO, Ayberk H, Boyd AW, Rode J.** Analysis of adhesion molecules in the immunopathogenesis of giant cell arteritis. *J Clin Pathol* 1991; **44**: 497-501.
33. **Pall AA, Howie AJ, Adu D, Richards GM, Inward CD, Milford DV, Richards NT, Michael J, Taylor CM.** Glomerular vascular cell adhesion molecule-1 expression in renal vasculitis. *J Clin Pathol* 1996; **49**: 238-242.
34. **Cid Maria C.** New developments in the pathogenesis of vasculitis. *Curr Op Rheum* 1996; **8**: 1-11.
35. **Zhu D, Cheng C, Pauli B.** Mediation of lung metastasis of murine melanomas by a lung-specific endothelial cell adhesion molecule. *Proc Natl Acad USA* 1991; **88**: 9568-9572.
36. **Salmi M, Andrew DP, Butcher EC, Jalkanen S.** Dual binding capacity of mucosal immunoblasts to mucosal and synovial endothelium in human. Dissection of the Molecular Mechanism. *J Exp Med* 1995; **181**: 137-149.
37. **Flipo RM, Cardon T, Copin MC, Vandecandelaere M, Duquesnoy B, Janin A.** ICAM-1, E-selectin and TNF alpha expression in labial salivatory glands of patients with rheumatoid vasculitis. *Ann Rheum Dis* 1997; **56**: 41-44.
38. **Kuryliszyn-Moskal A, Bernacka K, Klimiuk PA.** Circulating intercellular adhesion molecule 1 in rheumatoid arthritis-relationship to systemic vasculitis and microvascular injury in nailfold capillary microscopy. *Clin Rheumatol* 1996; **15**: 367-373.
39. **Gearing AJH, Newman W.** Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today* 1993; **14**: 506-512.
40. **Coll-Vinent B, Cid MC, Grau JM, López-Soto A, Oristrell J, Font C, Bosch X, Mirapeix E, Urbano-Márquez A.** Soluble intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1, E-selectin, and L-selectin in polyarteritis nodosa. *Arthritis Rheum* 1995; **38** (suppl): S156.
41. **Kim DS, Lee KY.** Serum soluble E-selectin levels in Kawasaki disease. *Scand J Rheumatol* 1994; **23**: 283-286.
42. **Gearing AJH, Newman W.** Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today* 1993; **14**: 506-512.
43. **Mrowka C, Sieberth HG.** Detection of circulating adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin in Wegener's granulomatosis, systemic lupus erythematosus and chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1995; **5**: 288-296.
44. **Vosluyt AE, Martin S, Melchers I, Zwinderman AH, Weichselbraun I, Breedveld FC.** Levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 and -3 but no circulating endothelial leukocyte adhesion molecule are increased in patient with rheumatoid vasculitis. *Br J Rheumatol* 1995; **34**: 311-315.
45. **Janssen BA, Luqmani RA, Ordon C, Hemingway IH, Bacon PA, et al.** Correlation of blood levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 with disease activity in systemic lupus erythematosus and vasculitis. *Br J Rheumatol* 1994 **33**: 1112-1116.
46. **Stegeman CA, Cohen JW, Huitema MG, de Jong PE, Kallenberg CGM.** Serum levels of soluble adhesion molecules intercellular adhesion molecule 1, vascular cell adhesion molecule 1 and E-selectin in patients with Wegener's granulomatosis. Relationship to disease activity and relevance, during follow-up. *Arthritis Rheum* 1994; **37**: 1228-1235.
47. **Mrowka C, Sieberth HG.** Circulating adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin in systemic vasculitis: marked differences between Wegener's granulomatosis and systemic lupus erythematosus. *Clin Invest* 1994; **72**: 762-768.
48. **Rastaldi MP, Ferrario F, Tunesi S, Yang L, D'Amico G.** Intraglomerular and interstitial leukocyte infiltration, adhesion molecules, and interleukin-1 alpha expression in 15 cases of antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated renal vasculitis. *Am J Kidney Dis* 27: 48-57, 1996.
49. **Janssen BA, Luqmani RA, Ordon C, Hemingway IH, Bacon PA, et al.** Correlation of blood levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 with disease activity in systemic lupus erythematosus and vasculitis. *Br J Rheumatol* 1994; **33**: 1112-1116.
50. **Vosluyt AE, Martin S, Melchers I, Zwinderman AH, Weichselbraun I, Breedveld FC.** Levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 and -3 but no circulating endothelial leukocyte adhesion molecule are increased in patient with rheumatoid vasculitis. *Br J Rheumatol* 1995; **34**: 311-315.
51. **Blann AD, Henick A, Jayson MIV.** Altered levels of soluble adhesion molecule in rheumatoid arthritis, vasculitis and systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1995; **34**: 814-819.
52. **Yaquod M, West DC, McDicken I, Bell GM.** Monitoring of endothelial leukocyte adhesion molecule-1 in anti-neutrophil-cytoplasmic-antibody-positive vasculitis. *Am J Nephrol* 1996; **16**: 106-113.
53. **Lotz M.** Cytokines and their receptors. In: Koopman ED. *Arthritis and Allied Conditions. A textbook of rheumatology.* Williams & Wilkins. 13th edition 1997:439-478.
54. **Arai K, Lee F, Miyajima A, Miyatake S, Arai N, Yokota T.** Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annu Rev Biochem* 1990; **59**: 783-836.
55. **Noronha IL, Kruger C, Andrassy K, Ritz E, Waldherr R.** In situ production of TNFalpha; IL-1-beta and IL-2R in ANCA-positive glomerulonephritis. *Kidney Int* 1993; **43**: 582-692.
56. **Wayand C, Hicok KC, Hunder GG, Goronzy JJ.** Tissue cytokine patterns in patients with polymyalgia rheumatica and giant-cell arteritis. *Ann Intern Med* 1994; **121**: 482-491.
57. **Mantovani A, Dejana E.** Cytokines as communication signal between leukocytes and endothelial cells. *Immunol Today* 1989; **10**: 370-375.
58. **Leung DYM, Kurt-Jones E, Newburger JW, Cotran RS, Burns JC, Pober JS.** Endothelial cell activation and increased interleukin-1 secretion in the pathogenesis of acute Kawasaki disease. *Lancet* 1990; **339**: 1298-1302.
59. **Mantovani A, Bussolino F, Dejana E.** Cytokine regulation of endothelial cell function. *Faseb J* 1992; **6**: 2591-2599.
60. **Haynes BF.** Vasculitis: Pathogenic mechanisms of vessel damage. In Gallin J, Goldstein MI, Snyderman R, eds. *Inflammation: Basic principles and clinical correlates.* New York: Raven Press. 1992: 921-941.

61. **Sundy JS, Haynes BF.** Pathogenic mechanisms of vessel damage in vasculitis syndrome. *Rheum Dis Clin North A* 1995; **21**: 861-881.
62. **Schmitt WH, Heesen C, Csernok E, Rautmann A, Gross WL.** Elevated serum levels of soluble interleukin-receptor in patients with Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum* 1992; **35**: 1088-1096.
63. **Grau GE, Roux Lombard P, Gyster C, Lambert PH, Dayer JM, Guillevin L.** Serum cytokines changes in systemic vasculitis. *Immunology* 1989; **68**: 196-198.
64. **Leung DY.** The potential role of cytokine-mediated vascular endothelial activation in the pathogenesis of Kawasaki disease. *Acta Paediatr Jpn* 1991; **33**: 739-744.
65. **Nonoyama S.** Immunological abnormalities and endothelial cell injury in Kawasaki disease. *Acta Paediatr Jpn* 1991; **33**: 752-755.
66. **Roche EN, Fulbright JW, Wagner AD, Hunder GG, Gorony JJ, Weyand CM.** Correlation of interleukin-6 production and disease activity in polymyalgia rheumatica and giant-cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1993; **36**: 1288-1294.
67. **Csernok E, Szymkowiak CH, Mistry N, Dalia MR, Gross WL, Kekow J.** Transforming growth factor-beta (TGF- β) expression and interaction with proteinase 3 (PR3) in anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1996; **105**: 104-111.
68. **Gross WL, Hauschild S, Mistry N.** The clinical relevance of ANCA in vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1993; **93** (suppl): 7-11.
69. **Jennette JC, Wilkman AS, Falk RJ.** Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and vasculitis. *Am J Pathol* 1989; **135**: 921-930.
70. **Takizawa M.** Clinical significance of anti-neutrophil cytoplasmic antibody and pathogenetic role of adhesion molecules for Wegener's granulomatosis. (Abstract Medline) Hokkaido Igaku Zasshi 1996; **71**: 517-529.
71. **Csernok E, Ernst M, Schmitt W, Baiston DF, Gross WL.** Activated neutrophils express proteinase 3 on their plasma membrane in vitro and in vivo. *Clin Exp Immunol* 1994; **95**: 244-250.
72. **Kallenberg CGM, Brouwer E, Mulder AHL, Stegeman CA, Weening JJ, Cohen Tervaert JW.** ANCA-pathophysiology revisited. *Clin Exp Immunol* 1995; **100**: 1-3.
73. **Falk RJ, Tarell RS, Charles LA, Jennette JC.** Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. *Proc Nat Acad Sci USA* 1990; **87**: 4115-4119.
74. **Brouwer E, Stegeman CA, Huitema MG, Limburg PC, Kallenberg CGM.** T cell reactivity to proteinase 3 and myeloperoxidase in patients with Wegener's granulomatosis. *Clin Exp Immunol* 1994; **98**: 448-453.
75. **Mayet WJ, Meyer ZUM, Buschenfelde KH.** Antibodies to proteinase 3 increase adhesion of neutrophils to human endothelial cells. *Clin Exp Immunol* 1993; **94**:440-446.
76. **Berger SP, Sellen MAJ, Hiemstra PS, Heemskerk E, van der Woude FJ, Daha MR.** The neutrophil enzymes proteinase 3 and elastase enhance the production of IL-8 by endothelial cells in culture. *Clin Exp Immunol* 1995; **103**(suppl): 35.
77. **Mayet WJ, Schwarting A, Mayer zum B, chenfelde KH.** Cytotoxic effects of antibodies to proteinase 3 (cANCA) on human endothelial cells. *Clin Exp Immunol* 1994; **97**: 458-465.
78. **Ballieux BEPB, Hiemstra PS, Klar-Mohamad N, et al.** Detachment and cytotoxicity of human endothelial cells by proteinase 3. *Eur J Immunol* 1994; **24**: 3211-3215.
79. **Cohen Tervaert JW, van der Woude FJ, Fauci, et al.** Association between active Wegener's granulomatosis and cytoplasmic antibodies. *Arch Intern Med* 1989; **149**: 2461-2465.
80. **Reinhold-Keller E, Kekow J, Schnaber A, Schmitt WH, Heller m, Beigel A, Duncker G, Gross WL.** Influence of disease manifestation and antineutrophil cytoplasmic antibody titer on the response to pulse cyclophosphamide therapy in patients with Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum* **37**: 919-924.
81. **Jennette JC, Falk RJ, Wilkman AS.** Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies as a serologic marker for vasculitides. *Ann Acad Med Singapur* 1995; **24**: 248-253.
82. **Li JS, Liu MF, Lei HY.** Characterization of antiendothelial cell antibodies in the patients with systemic lupus erythematosus: a potential marker for disease activity. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; **79**: 211-216.
83. **Del Palma N, Guidali L, Sironi M, Shoenfeld Y, Mantovani A, Tincani A, Balestrieri G, Radice A, Sinico RA, Meroni PL.** Antiendothelial cell IgG antibodies from patients with Wegener's granulomatosis bind to human endothelial cells in vitro and induce adhesion molecule expression and cytokine secretion. *Arthritis Rheum* 1996; **39**: 758-766.
84. **D'Cruz DP, Houssiau FA, Ramirez G, Baguley E, McCutcheon J, Vianna J, Haga HJ, Swana GT, Khamastha MA, Taylor JC, et al.** Antibodies to endothelial cells in systemic lupus erythematosus: a potential marker for nephritis and vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1991; **85**: 254-261.
85. **Boehme MW, Schmitt WH, Youinou P, Stremmel WR, Gross WL.** Clinical relevance of elevated serum thrombomodulin and soluble E-selectin in patients with Wegener's granulomatosis and other vasculitis. *Am J Med* 1996; **101**: 387-394.
86. **Boehme MWJ, Nawroth PP, Kling E, et al.** Serum trombomodulin. A novel marker of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1994; **37**: 572-577.
87. **Ates E, Bakkaloglu A, Saatci U, Soylemezoglu O.** Von Willebrand factor antigen compared with other factors in vasculitic syndromes. *Arch Dis Child* 1994; **70**:40-43.
88. **Griffith ME, Coulthart A, Pusey CD.** T cell responses to myeloperoxidase (MPO) and proteinase 3 (PR3) in patients with systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1996; **105**: 253-258.
89. **Pruzanski W, Sarraf D, Klein M, Lau CY, Richardson JE, Keystone EC.** Lymphocytotoxicity in vasculitis. Correlation with clinical manifestations and laboratory variables. *J Rheumatol* 1986; **13**: 1066-1071.
90. **Jodo S, Atsumi T, Takeda T, Ogura N, Amasaki Y, Ichikawa K, Tsutsumi A, Mukai M, Onishi K, Fujisaku A, et al.** The association of disease activity of rheumatoid factor positive vasculitis and the level of rheumatoid factor. (Abstract Medline) Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi 1995; **18**: 272-281.