

Anticuerpos Anticélulas Endoteliales en Enfermedades Sistémicas

Germán Gil L.,^a Oscar Neira Q.

Sección de Reumatología, Depto. de Medicina Oriente,
Hospital del Salvador, Universidad de Chile

^a Becado de Reumatología, Escuela de Postgrado,
Universidad de Chile

Summary

Anti-endothelial cell autoantibodies (AECA), first described more than 30 years ago, represent a heterogeneous group of autoantibodies directed against poorly characterized antigens located in endothelial cell membranes, and have been reported in a variety of systemic diseases.

Although most of the target antigens for AECA are still not well identified, and AECA have been considered an epiphenomenon of vascular injury, new evidence suggests a pathogenic role, especially by inducing endothelial cell activation and apoptosis.

The presence of AECA has been correlated with disease activity in SLE and systemic vasculitis such as Wegener's granulomatosis, Takayasu arteritis, and Behçet's disease, and they could be valuable markers of disease activity. Other potential areas of clinical interest in diseases associated to AECA could be the serum thrombomodulin level, as marker of endothelial cell injury in neuropsychiatric lupus, and other vasculitides; and the determination of anti-heat shock protein antibodies including the Hsp60, as a new, non traditional risk factor for atherosclerosis in patient with lupus.

Key words: Anti-endothelial cell autoantibodies, pathogenic, vascular injury, disease activity.

1. INTRODUCCION

Los anticuerpos anticélulas endoteliales (AECA) constituyen un grupo heterogéneo de autoanticuerpos dirigidos contra antígenos localizados en la membrana de las células endoteliales. Fueron inicialmente descritos por Lindqvist & Osterland (1971) y Tan *et al.* (1972) mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) en secciones de tejido de riñón de ratón. Aun cuando algunos autores los han considerado un simple epifenómeno de la injuria vascular, información reciente refuerza la idea de que los AECA juegan un rol en la patogenia de algunas enfermedades del tejido conectivo, vasculitis y glomerulonefritis, especialmente induciendo activación endotelial y apoptosis.^{1,2}

Las células endoteliales (CE) delimitan la luz de los vasos sanguíneos y constituyen la interfase entre la sangre y los tejidos. Los AECA pueden reaccionar con células endoteliales de vasos grandes, como aorta, vena de cordón umbilical o safena; así como en la microvasculatura de piel, riñón, médula ósea y cerebro.³ Inicialmente fueron descritos en el suero de pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) mediante IFI, la que posteriormente fue mejorada usando IgG purificada y fragmentos F(ab')₂ de IgG. Se han reportado AECA de isotipo IgG, IgM e IgA.³

Diferentes patologías que presentan daño vascular mediado por autoinmunidad como el LES, Artritis Reumatoide (AR), Esclerosis Sistémica (SSc), Granulomatosis de Wegener (GW) y Síndrome de Kawasaki (KS) se encuentran asociadas a AECA.^{4,6}

2. METODOS DE DETECCION

Diferentes variables técnicas pueden afectar la detección de AECA, como son: el tipo de las células utilizadas como sustrato, el uso de extractos de membrana celular, el uso de células de cultivo y las condiciones de fijación.²

Correspondencia a: Dr. Germán Gil
Av. Salvador 486, Santiago, Chile.
FAX: 3404349
germangil2002@yahoo.com.mx

Las técnicas disponibles se dividen en aquellas que fijan CE y aquellas que utilizan CE en suspensión.⁶

Técnicas que fijan células:

- IF en secciones de tejido.
- ELISA y Radioinmunoensayo.
- Apoptosis de CE marcadas con Cr⁵¹ o I¹¹¹.

Técnicas que utilizan células en suspensión:

- Análisis por citometría de flujo (FACS)
- Inmunoprecipitación (IP)
- Western Blot (WB) y densitometría.

La IFI es una prueba semicuantitativa y no permite un seguimiento de los niveles de AECA. Las pruebas de citotoxicidad y radioinmunoensayo son de poco uso en la práctica.⁶

La técnica de ELISA que utiliza como sustrato células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) es la más utilizada en la detección de AECA, pero presenta algunas dificultades, como es la presencia de anticuerpos heterófilos contra proteínas de suero fetal bovino que pueden ocasionar falsos positivos.² También se han descrito reacciones cruzadas debido a anticuerpos anti-DNA⁵ y anti-heparán sulfato.^{5,7} Un AECA puede resultar falso-negativo por la falta de expresión de los antígenos en las CE. El análisis de los AECA requiere la disponibilidad de diferentes tipos de CE, incluyendo células microvasculares. Es conveniente confirmar los resultados positivos con técnicas que utilicen células en suspensión, como la citometría de flujo, que se considera el ensayo más confiable para medir autoanticuerpos específicos de membrana de CE; o en su defecto, IP o WB.^{6,8}

El estudio por citometría de flujo utiliza células vivas en suspensión. Líneas celulares híbridas, por ejemplo, la línea EA.hy926, combina HUVEC y células epiteliales A-549 de carcinoma bronquial, que permiten ser cultivadas y almacenadas sin perder su habilidad de reaccionar con los AECA⁶ (Figura 1). A diferencia de ELISA, en que se permeabilizan las membranas celulares y puede haber reactividad a antígenos citoplasmáticos, en la citometría de flujo la reactividad está restringida a estructuras de membrana.⁸

3. PREVALENCIA DE AECA

Los AECA tienen alta prevalencia en vasculitis como granulomatosis de Wegener y poliangeítis microscópica. Los pacientes con GW en remisión y AECA positivos

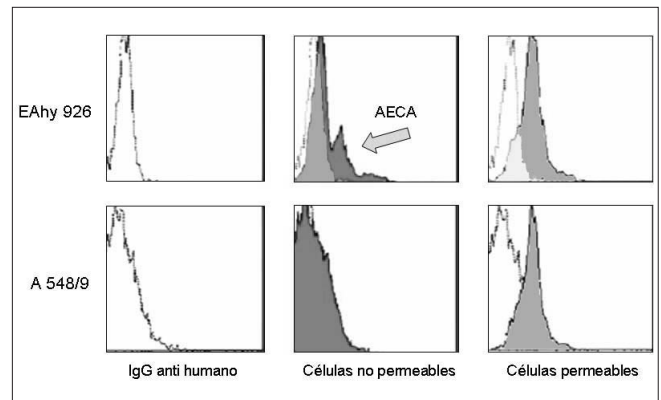


Figura 1. Determinación de AECA con citometría en flujo

Los anticuerpos anticélulas endoteliales (AECA) reconocen las células híbridas EA hy926, pero no sus equivalentes epiteliales A548/9 (columna B). Los AECA se unen a la membrana de células no permeabilizadas, pero penetran en aquellas permeabilizadas (columna C). Adaptado de Pierre Youinou (Ref. 6).

parecen tener mayor riesgo para una recaída subsiguiente, aun cuando presenten ANCA negativo.^{6,9}

La prevalencia de los AECA en el LES varía entre 15% a 85% y se correlaciona con niveles elevados de IL-1. La unión de los AECA al endotelio en pacientes lúpicos se asocia a manifestaciones neuropsiquiátricas, hipertensión pulmonar y nefritis.⁶ También existe correlación en nefritis lúpica proliferativa difusa entre AECA y lesiones más activas en la biopsia renal, proteinuria mayor de 1 g/día y síndrome nefrótico.¹¹ En estos pacientes los AECA tienen importancia patogénica y reaccionan contra antígenos de 40 y 58 kD.

La prevalencia en pacientes con AR y vasculitis es de cerca de 65%, mientras en AR sin vasculitis es de 30%.³ En la enfermedad de Behçet los AECA se relacionan con eventos trombóticos y fenómenos vasculares.¹² Yap *et al.* describen AECA de clase IgA en 32% de pacientes con nefropatía por IgA y 9% en glomerulonefritis primarias.¹¹

Los AECA se han relacionado además con el compromiso pulmonar en miopatías inflamatorias,¹³ con hipertensión arterial pulmonar en SSc,¹⁴ falla renal en LES,³ vasculitis en AR.¹⁵

Adicionalmente los AECA han sido descritos en enfermedades virales, como fiebre de las Montañas Rocosas, en cerca de un 50% y en hepatitis por virus C con crioglobulinemia mixta en 41%. También se han reportado en otras condiciones clínicas, incluyendo: diabetes mellitus, rechazo en trasplante renal y cardíaco, y en la enfermedad coronaria de pacientes con trasplante cardíaco.^{3,4}

Otras condiciones anecdóticas asociadas con AECA son: esclerosis múltiple, vasculitis retinal, angioedema episódico con hipereosinofilia, tromboangeítis oblite-

rante, arteritis de la temporal comprobada por biopsia, enfermedad inflamatoria intestinal, preeclampsia severa, hiperprolactinemia, hemodiálisis, úlceras crónicas en miembros inferiores, aterosclerosis prematura y sordera neurosensorial súbita^{3,4} (Tabla 1).

TABLA 1.
PREVALENCIA DE LOS AECA

Condición clínica	Porcentaje
Lupus eritematoso sistémico	15 – 85 %
Esclerosis sistémica	15 – 84 %
Artritis reumatoide	0 – 87 %
Enfermedad mixta del tejido conectivo	45 %
Poliarteritis nodosa	56 %
Poliangeítis microscópica	2 – 60 %
Polimiositis	44 %
Granulomatosis de Wegener	19 – 80 %
Enfermedad de Behçet	18 – 80 %
Arteritis de Takayasu	95 %
Síndrome antifosfolípido	60 – 63 %
Síndrome de Churg-Strauss	69 %
Síndrome de Kawasaki	65 %
Púrpura trombocitopénico trombótico	13 -100 %
Síndrome hemolítico urémico	93 %
Diabetes mellitus tipo I	35 %

Adaptado de Immunobiology, Julio 2005. Youinou Pierre (4, 6).

4. LIMITACIONES DE LA DETERMINACION DE AECA

Como es posible observar en la Tabla 1, los AECA tienen una elevada prevalencia en diferentes patologías, pero se desconoce su exacta especificidad antigénica y correlación clínica. La alta prevalencia de AECA en enfermedades autoinmunes se asocia al frecuente compromiso vascular de éstas, y es materia de debate su rol, como agente causal, o consecuencia, del daño vascular.³

Otra de las dificultades es la falta de una adecuada estandarización de las técnicas para detección de AECA y la dificultad para comparar resultados.⁵

Los anticuerpos antinucleares (ANA) y el factor reumatoide (FR) se superponen con los AECA; éstos pueden eliminarse en un ELISA usando CE lisadas como agente de captura.⁵ Los falsos positivos pueden también asociarse a reactividad con componentes citoplasmáticos que contaminan la membrana endotelial.

Los AECA falsos negativos pueden deberse a la falta de expresión de antígenos específicos en las CE. El análisis de los AECA requiere de la disponibilidad de diferentes tipos de CE, incluyendo células microvasculares.³ La detección de títulos elevados de AECA en pacientes con vasculitis sistémicas, como granulomatosis de Wegener, poliangeítis microscópica, vasculitis asociadas a LES y a artritis reumatoide y su fluctuación correlacionada a la actividad de la enfermedad sugieren un rol patogénico en el desarrollo de las lesiones vasculíticas.

5. PATOGENIA DE LOS ANTICUERPOS ANTICELULAS ENDOTELIALES

Nuevos Antígenos Endoteliales

Se ha demostrado que las células endoteliales (CE) son blanco del ataque inmunológico y que la expresión de antígenos en su superficie puede ser inducida por diversos estímulos, como citoquinas proinflamatorias, las que juegan un importante rol en la patogenia de las lesiones vasculíticas.

Los antígenos blanco de los AECA son poco conocidos y difíciles de identificar. Se sabe que no están dirigidos contra moléculas HLA clase I o II, ni contra polisacáridos del grupo sanguíneo ABO. Se detalla a continuación un listado de los antígenos endoteliales recientemente caracterizados y sus asociaciones clínicas³ (Tabla 2).

Recientes estudios evidencian que la proteína de shock térmico (Hsp60), una proteína presente en células procariotas y eucariotas, originalmente restringida a la matriz mitocondrial, puede trasladarse y expresarse en la membrana plasmática. La Hsp60 puede detectarse en oligodendrocitos, macrófagos, células B del linfoma, células del carcinoma pancreático, células epiteliales y células endoteliales.¹⁶ Estímulos metabólicos como hipoxia, shock cardíaco, aumento de la presión vascular, citoquinas y reacciones inflamatorias inducen la expresión de Hsp60 en la superficie de las células endoteliales. La Hsp60 es un blanco importante para los AECA, especialmente en vasculitis asociada con enfermedades autoinmunes sistémicas, pues al liberarse puede acelerar la actividad de procaspasa 3, induciendo a las CE a la apoptosis. Por otra parte, la Hsp60 transmite señales a partir de receptores tipo *Toll-like* 4 (TLR4).¹⁶ Este receptor reconoce la Hsp60, la cual estimula a macrófagos y células dendríticas a liberar citoquinas proinflamatorias y expresar moléculas coestimuladoras.¹⁷ La reactividad AECA anti-Hsp60 puede detectarse por ELISA. Se ha demostrado que niveles elevados de anti-Hsp60 se correlacionan con marcadores de inflamación; incluso se han considerado como un nuevo factor de riesgo no tradicional para aterosclerosis

TABLA 2.
CARACTERIZACION DE ANTIGENOS DE AECA

1. LUPUS: existen cerca de 10 autoantígenos reconocidos por los AECA.

Antígeno lúpico clásico:

- a) Proteína P ribosomal PO: proteína de 38 kD. Genera Ac-P ribosomal. Se asocia con nefritis activa y LES neuropsiquiátrico.

Autoantígenos putativos:

- a) Proteína asociada con adenilciclasa (CPA 1): proteína de 70 kD.
- b) Elongación del Factor 1 alfa: proteína de 70 kD
- c) Profilina II: proteína de 15 kD.
- d) Proteína ribosomal L6: proteína de 40 kD.

Proteína específica de las células endoteliales

- a) Inhibidor del activador del plasminógeno: proteína de 50 kD

Otras proteínas:

- a) Heparán sulfato: proteína de 5-12 kD
- b) Fibronectina: proteína de 200 kD
- c) DNA o DNA-Histona.

2. SINDROME ANTIFOSFOLIPIDOS

- a) B2 Glicoproteína: proteína de 50 kD

3. VASCULITIS SISTEMICAS

- a) Proteinasa 3: proteína de 29 kD
- b) Mieloperoxidasa: proteína de 127 kD

4. GLOMERULONEFRITIS CRESCENTICA Y NECROTIZANTE ANCA POSITIVA

- a) Lisosoma humano asociado a proteína de membrana 2: proteína de 170/80-110 kD

5. TRASPLANTE

- a) Vimentina: proteína de 56-58 kD
- b) Proteína Keratina Like: proteína de 50 kD
- c) Glicoproteína CD 36: proteína de 85 kD

6. TROMBOCITOPENIA INDUCIDA POR HEPARINA

- a) PF4/ heparán sulfato

7. ENFERMEDAD DE BEHÇET

- a) Alfa-enolasa

8. ARTERITIS DE TAKAYASU

- a) Anexina V

9. ESCLEROSIS SISTEMICA-CREST

- a) Proteína de 18 kD

en pacientes con lupus, donde además juega un rol significativo el polimorfismo del TLR4.^{16, 18, 19}

Los anticuerpos IgG anti-Hsp60 se han encontrado en pacientes con AR, lupus y diabetes mellitas.¹⁶ Se asocian con mayor frecuencia a trombosis en combinación con anticoagulante lúpico en pacientes con LES. Algunos autores han propuesto que la inducción de la apoptosis por la reacción Hsp60 con los AECA es el primer evento en la trombosis.¹⁹

Activación Endotelial

Por estímulo de los AECA, el endotelio sufre cambios que le permiten participar en la respuesta inflamatoria, lo que se denomina activación de las células endoteliales. Esta acción de los AECA sobre las células endoteliales puede ser clasificada en cuatro diferentes tipos de efectos (Figura 2).

Efecto Pro-Adhesión: Los AECA inducen expresión de moléculas de adhesión, tales como la E-selectina, molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y molécula de adhesión de células vasculares-1 (VCAM-1).

Efecto Pro-Inflamatorio: El incremento de las moléculas de adhesión, así como la liberación de citoquinas quimiotácticas, interferón-gama (IFN-gama), interleuquina-1 (IL-1), IL-6, IL-8 y la proteína quimiotáctica del monocito -1 (MCP-1), contribuyen al proceso inflamatorio.

Efecto Pro-Coagulante: Los AECA pueden inducir exposición de factor tisular en CE y contrarrestar la formación de trombina. La pérdida de trombomodulina (TM), heparán sulfato (HS) y factor de Von Willebrand de la superficie endotelial contribuyen a la formación de

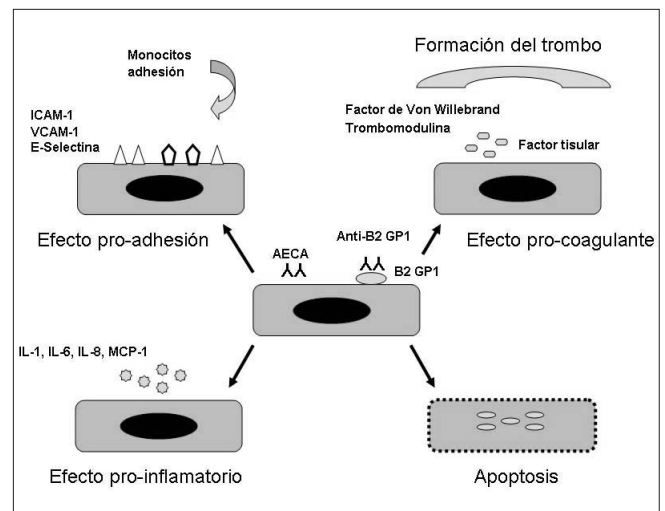


Figura 2. Efectos de los AECA en el Endotelio
Adaptado de Autoimmunity Reviews 2002 Yves Renaudineau *et al* (Ref. 8).

trombos. La TM es liberada de las células endoteliales lesionadas en GW y otras vasculitis sistémicas.

La combinación de estos fenómenos patogénicos es clave en el reclutamiento de leucocitos que infiltran la pared vascular y en los fenómenos trombóticos oclusivos de las vasculitis.

Apoptosis: Las CE vasculares apoptóticas tienen un efecto procoagulante, que en conjunto con anticuerpos antifosfolípidos, anti-B2GPI, oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) intervienen en la patogenia del fenómeno aterosclerótico.⁶

Mecanismos Patogénicos

La patogenicidad de los AECA se ha podido comprobar en un modelo murino de vasculitis inducido por anticuerpos.²⁰ *In vivo* se ha encontrado asociación de AECA murinos con injuria glomerular e *in vitro* se ha demostrado que los AECA activan células endoteliales y expresan moléculas de adhesión en CE de pacientes con GW y esclerodermia.²⁰ En pacientes con GW y poliangeítis microscópica (MPA) los ANCA activan neutrófilos y células endoteliales con traslocación de la PR3 de los gránulos citoplasmáticos a la superficie endotelial exponiendo PR3, que parece ser otro blanco antigénico de AECA. En modelos experimentales de vasculitis los AECA de pacientes con GW al ser inyectados en ratones BALB/c son capaces de inducir lesiones tipo vasculitis.²¹

Los AECA se encuentran frecuentemente asociados con los anticuerpos antifosfolípidos (aPL), unidos a complejos de fosfatidilserina (PS) y B2-glicoproteína I (B2GPI). La PS se encuentra normalmente en la parte interna de la membrana plasmática.^{1, 6} Un fenómeno precoz en las células apoptóticas es la aparición de PS sobre la superficie externa de la membrana celular, lo que puede deberse a inhibición de la función de una translocasa y posiblemente a la activación de una exocramblasa lipídica.²² En la inducción de la apoptosis, la carga negativa de los fosfolípidos de membrana, incluyendo la PS, expresada en la superficie de membrana de la célula endotelial permite la unión de aPL y su cofactor B2GPI.^{1, 23} La unión de B2GPI con las células apoptóticas promueve la fagocitosis por macrófagos, con liberación de TNF-alfa.¹

La apoptosis de células endoteliales ha sido implicada en la patogenia de la isquemia miocárdica, púrpura trombocitopénico trombótico, shock endotóxico, enteritis inducida por radiación y esclerosis sistémica.²⁴

También se ha postulado un rol de los receptores *Toll-like* (TLR) en la patogenia del Síndrome Antifosfolípido. Raschi y cols.²⁵ demostraron el papel de la señal de traducción del MyD88 (molécula adaptadora/factor 88 de diferenciación mieloide) en la activación de las células

endoteliales por los anticuerpos anti B2GPI. Este anticuerpo induce en células endoteliales la traslocación desde el citoplasma al núcleo del NF-KB, fenómeno mediado por receptores TLR/IL-1 en la superficie endotelial, lo que resulta en la expresión de un fenotipo proinflamatorio similar al gatillado por la acción de lipopolisacáridos bacterianos y citoquinas proinflamatorias.²⁵

Por tanto, los anticuerpos anti B2GPI pueden activar células endoteliales en forma directa o indirecta por receptores tipo TLR, especialmente TLR4. Se ha demostrado que el NF-KB es un intermediario esencial en la activación de células endoteliales por anti B2GPI.²⁶ La homología entre la B2GPI y agentes microbianos, principal ligando de TLR, sugiere un rol del sistema inmune innato en la patogenia de este síndrome.¹⁷

Otro marcador de injuria endotelial lo constituye la trombomodulina que se puede determinar por ELISA. Algunos estudios lo consideran como marcador de actividad en GW, lupus neuropsiquiátrico y otras vasculitis; además de ser un marcador de injuria en entidades como tromboembolismo pulmonar, distrés respiratorio, insuficiencia hepática aguda y microangiopatía diabética.^{27, 28}

Recientes estudios han demostrado que el anticuerpo P ribosomal juega un rol en la patogénesis del LES, al inducir la expresión de moléculas de adhesión, activando el endotelio vascular, generando un fenotipo proinflamatorio como mecanismo de daño vascular. Esto se ha estudiado en nefritis y compromiso de SNC del LES.²⁹

La endotelina-1 no siempre es expresión de vasoconstricción; pues también constituye un marcador de injuria vascular, descrito en patologías como lupus eritematoso sistémico, así como en Raynaud primario y secundario.¹⁰ Además, se ha descrito la correlación entre endotelina-1 y AECA en entidades como la enfermedad de Behçet y enfermedad mixta del tejido conectivo.^{10, 30}

6. PERSPECTIVAS

Pese a la controversia existente con respecto a la utilidad de los AECA y a desconocer su especificidad antigénica, hay nueva evidencia de su rol patogénico, lo que permite abrir expectativas de su posible utilidad como marcador de actividad en patologías como nefritis lúpica¹³ y vasculitis como GW, enfermedad de Behçet y arteritis de Takayasu.^{9, 30, 31}

Otras áreas potenciales de interés clínico en patologías asociadas a AECA pueden ser la determinación de trombomodulina como un marcador de injuria celular endotelial en LES neuropsiquiátrico y otras vasculitis,^{27, 28} y los niveles de endotelina-1 en pacientes con enfermedad

mixta de tejido conectivo, donde guardan estrecha relación con los AECA.¹⁰

Por otra parte, la determinación de anticuerpos contra proteínas de shock térmico, incluyendo la Hsp60, podría constituir un nuevo factor de riesgo no tradicional para aterosclerosis en pacientes con lupus.¹⁸

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Williams JM, Colman R, Brookes J, Savage CO, Harper L. Anti-endothelial cell antibodies from lupus patients bind to apoptotic endothelial cells promoting macrophage phagocytosis but do not induce apoptosis. *Rheumatology* 2005; 44:879-884.
- Revelen R, Bordron A, Dueymes M, Youinou P, Arvieux J. False positivity in a cyto-ELISA for anti-endothelial cell antibodies caused by heterophile antibodies to bovine serum proteins. *Clin Chim* 2000; 46:273-278.
- Praprotnick S, Blank M, Meroni PL, Rozman B, Eldor A, Shoenfeld Y. Classification of anti-endothelial cell antibodies into antibodies against microvascular and macrovascular endothelial cells. *Arthritis & Rheum* 2001; 44:1484-1494.
- Youinou Pierre. New target antigens for anti-endothelial cell antibodies. *Immunobiology* 2005; 210:789-797.
- Drouet C, Nisson MF, Ponard D, Arvieux J, Dumestre-Pérard C, Gaudin P, Imbert B, Massot C, Sarrot-Reynaud F. Detection of anti-endothelial cell antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay using antigens from cell lysate: minimal interference with antinuclear antibodies and rheumatoid factors. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10:934-939.
- Youinou P, Le Dantec C, Bendaout B, Devauchelle Y, Jamin C. Endotelio, órgano blanco en las enfermedades autoinmunes sistémicas. En: Anaya JM et al. Autoinmunidad y enfermedad autoinmune. CIB 2005, Cap 13: Págs. 147-160.
- Renaudineau Y, Revelen R, Bordron A, Mottier D, Youinou P, Le Corre R. Two populations of endothelial cell antibodies cross-react with heparin. *Lupus* 1998; 7:86-94.
- Renaudineau Y, Dugue C, Dueymes M, Youinou P. Antiendothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2002; 1:365-372.
- Chan TM, Frampton G, Jayne DR, Perry GJ, Lockwood CM, Cameron JS. Clinical significance of anti-endothelial cell antibodies in systemic vasculitis: a longitudinal study comparing anti-endothelial cell antibodies and anti-neutrophil cytoplasm antibodies. *Am J Kidney Dis* 1993; 22:387-392.
- Filep JG, MD; Bodolay E, MD; Sandor S, MD; Gyimesi E, PhD; Csipo I, Szegei G, MD, DMSc. Plasma Endothelin Correlates with Antiendothelial Antibodies in Patients with Mixed Connective Tissue Disease. *Circulation* 1995; 92:2969-74.
- D'Cruz DP, Haussiau FA, Ramirez G, Baguley E, McCutcheon J, Vianna J, Vianna H, Haga J, Swana GT, Khamashta MA, Taylor JC, Davies DR, Hughes V. Antibodies to endothelial cells in systemic lupus erythematosus: a potential marker for nephritis and vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1991; 85:254-261.
- Aydintung AO, Tokgoz G, D'Cruz DP, Gürler A, Cervera N, Düzgün N, Atmaca LS, Khamashta MA, Hughes RV. Antibodies to endothelial cells in patients with Behçet's disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1993; 67:157-162.
- Salojin KV, Bordron A, Nassonov EL, Shtutmanet V, Guseva N, Baranov A, Targoff I, Youinou P. Anti-endothelial cell antibody, thrombomodulin and Von Willebrand factor in idiopathic inflammatory myopathies. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4:519-521.
- Ihn H, Sato S, Fujimoto M, Igarashi A, Yazawa N, Kubo M, Kikuchi K, Takehara K, Tamaki KI. Characterization of autoantibodies to endothelial cells in systemic association with pulmonary fibrosis. *Clin Exp Immunol* 2000; 119:203-209.
- Heurkens AHM, Hiemstra PS, Lafeber GJ, Daha MR, Breedveld FC. Anti-endothelial cell antibodies in patients with rheumatoid arthritis complicated by vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1989; 78:7-12.
- Jamin C, Dugue C, Alard JE, Jousse S, Saraux A, Guillevin L, Piette JC, Youinou P. Induction of Endothelial Cell Apoptosis by the Binding of Anti-Endothelial Cell Antibodies to Hsp60 in Vasculitis-Associated Systemic Autoimmune Diseases. *Arthritis & Rheumatism* 2005; 52:4028-4038.
- Marinovic MA. Receptores de tipo Toll y su implicancia en autoinmunidad. *Revista Chilena de Reumatología* 2005; 21:65-69.
- Shovman O, Gilburd B, Schoenfeld Y. The Role of Inflammatory Cytokines in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus-Related Atherosclerosis: A Novel Target for Treatment?. *J Rheumatol*, 2006; 33:445-447.
- Dieude M, Seneca JL, Raymond Y. Induction of endothelial cell apoptosis by heat-shock protein 60-reactive antibodies from antiendothelial cell-positive systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis & Rheum* 2004; 50:3221-3231.
- Levy Y, Gilburd B, George J, Del Papa N, Mallone R, Damianovich M, Blank M, Radice A, Renaudineau Y, Youinou P, Wiik A, Malavasi F, Meroni PL, Shoenfeld Y. Characterization of murine monoclonal antiendothelial cell antibodies (AECA) produced by idiotypic manipulation with human AECA. *International Immunology* 1998; 10:861-868.
- Chanseaud Y, Garcia de la Peña-Lefebvre P, Guilpain P, Mahr A, Tamby MC, Uzan M, Guillevin L, Boissier M-C, Mouthon L. IgM and IgG autoantibodies from microscopic polyangiitis patients but not those with other small-and medium-sized vessel vasculitides recognize multiple endothelial cell antigens. *Clinical Immunology* 2003; 109:165-178.
- Robert F, Zwaal A, Schroit Alan J. Pathophysiologic Implications of Membrane Phospholipid Asymmetry in Blood Cells. *Blood* 1997; 89:121-1132.
- Bordron A, Duermes M, Levy Y, Jamin C, Ziporen L, Piette JC, Schoenfeld Y, Youinou P. Anti-endothelial cell antibody binding makes negatively charged phospholipids accessible to antiphospholipid antibodies. *Arthritis & Rheumatism* 1998; 41:1738-1747.
- Jae-Bum Jun, Melanie Kuechle, John M Harlanc, Keith B. Elkond. Fibroblast and endothelial apoptosis in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15:756-760.
- Raschi E, Testoni C, Bosisio D, L, Borghi M, Koike T, Mantovani A, Meroni PL. Role of the MyD88 transduction signaling pathway in endothelial activation by antiphospholipid antibodies. *Blood* 2003; 101:3495-3500.
- Lopez-Pedraza C, Buendia P, Cuadrado MJ, Siendones E, Aguirre MA, Barbarroja N, Montiel C, Torres A, Khamashta M, Velasco F. Antiphospholipid antibodies from patients with the antiphospholipid syndrome induce monocyte tissue factor expression through the simultaneous activation of NF-kB/Rel proteins via the p38 mitogen-activates protein kinase pathway, and of the MEK-1/ERK pathway. *Arthritis & Rheumatism* 2006; 54:301-311.
- 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 systemic vasculitides. *Am J Med* 1996; 101:387-94.
- Kosedra-Dragan M et al. Serum thrombomodulin as marker of endothelial cell injury in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Annals of Rheumatic Diseases, Annual European Congress of Rheumatology. EULAR* 2004. Berlin, 9-12. June 2004. Abstracts. THU0433. Pag 235.
- Norgate KJ, Hamid C, Isenberg D, Pearson J, Frampton G, Murphy J. Anti-Ribosomal P protein Antibodies Expression of cell Adhesion Molecular on Endothelial Cells. *Arthritis & Rheumatism* 2005; 52 No 9. ACR annual scientific meeting. November 12-17, 2005. San Diego, Ca. Supplement abstract 1660. Pag 618.
- El-Desouki E Fouda E, Alaa Eldin E Nafie, Atifet E Ali, Mohamed S Nada, Mohamed A Hosony. Behçet's Disease Antiendothelial Cell Antibody (AECA). Reflects activity and early vasculopathy. *Arthritis & Rheumatism* 2005; 52 No 9. ACR annual scientific meeting. November 12-17, 2005. San Diego, Ca. Supplement abstract 1744. Pag 646.
- Thripthy NK, Sinha N, Nityanand S. Anti-annexin V antibodies in Takayasu's arteritis: prevalence and relationship with disease activity. *Clin Exp Immunol* 2003; 134:360-364.