

Artritis séptica. Rentabilidad diagnóstica y nuevos tratamientos

Carlos Marras Fernández-Cid, Nuria Lozano Rivas y Pedro Castellón de Arce

Servicio de Reumatología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. España.

La artritis séptica continúa siendo un gran reto para los médicos debido al aumento de resistencias antibióticas de ciertos microorganismos y a las persistentes dificultades para realizar un diagnóstico precoz y un adecuado tratamiento de las infecciones articulares. En este artículo se revisan las pruebas diagnósticas actuales y su contribución a una rápida evaluación de la infección articular, y se resalta las posibilidades terapéuticas y cuáles y cuándo deben aplicarse para disminuir el riesgo de secuelas que aparecen después de las artritis infecciosas.

Palabras clave: Artritis séptica. Artritis infecciosa. Diagnóstico. Tratamiento.

Septic Arthritis: Practical Diagnosis and New Treatments

Septic arthritis remains a major challenge to physicians because the increasing frequency of certain microorganisms to become in antibiotic-resistant and persistent difficulties regarding both early diagnostics and proper treatment of subjects with joint infections. This paper will review current diagnostics test and their contribution to the rapid evaluation of joint infection. Importantly, updated therapeutic suggestions will be presented which, when appropriately applied, should diminish the risks of sequelae following infectious arthritis.

Key words: Septic arthritis. Infectious arthritis. Diagnostics. Treatment.

Introducción

A pesar de los avances evidentes en el diagnóstico y el tratamiento, la artritis bacteriana continúa siendo la forma más destructiva y peligrosa de artritis y una emergencia médica, dada la alta tasa de morbilidad (mortalidad hospitalaria, 7-15%) que origina¹.

Desde las series de Mandell en los años sesenta, la frecuencia de ingreso hospitalario por artritis séptica es de un 0,2-0,7%. En una revisión del año 2007 de ingresos por artritis séptica en nuestro hospital, el número fue de 29 casos en 36.000 ingresos, una tasa de 0,8 artritis sépticas cada 1.000 ingresos hospitalarios (centro universitario de tercer nivel); estas tasas de ingreso son similares a otras publicadas recientemente, un 0,5-0,9% aproximadamente².

En los últimos años ha sido un gran reto para nosotros a causa de:

- El enorme potencial de ciertos microorganismos de modular su genotipo y, por lo tanto, convertirse en resistentes a los antibióticos.
- La utilización cada vez más frecuente de tratamientos inmunomoduladores, que hacen al huésped más susceptible a ciertas infecciones.
- El incremento de la cirugía protésica.
- Por último, lo que es el ánimo de esta revisión: las dificultades para realizar un diagnóstico precoz y un adecuado tratamiento de los sujetos con infección articular.

Rentabilidad diagnóstica

El diagnóstico de artritis séptica puede ser difícil de realizar, incluso en manos de médicos experimentados. No obstante, las monoartritis agudas se presentan con frecuencia en el ámbito de médicos poco familiarizados con el diagnóstico y el tratamiento de estas entidades, por lo que sería interesante establecer una serie de guías clínicas basadas en la evidencia científica que puedan ser de utilidad para reconocer la artritis séptica y utilizar tratamientos racionales.

La clásica presentación de una artritis séptica es una articulación inflamada (habitualmente rodilla) de forma

Correspondencia: Dr. C. Marras.
Servicio de Reumatología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca.
Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar. Murcia.
Correo electrónico: cmarras.2002@yahoo.es

aguda (menos de 2 semanas) con disminución importante de la movilidad. La presentación puede ser subaguda en caso de microorganismos de mas baja virulencia o crónica en casos de infecciones protésicas o tuberculosas. Los organismos implicados en la mayoría de estos casos son estafilococos y estreptococos². Las formas oligoarticular y poliarticular aparecen con frecuencia mucho menor, es asimétrica, a menudo en pacientes con predisposición a infecciones y de más difícil diagnóstico; los gérmenes habituales son meningococos y gonococos².

Factores de riesgo

En estudios recientes que realizan una revisión sistemática de la literatura existente, estratifican convenientemente los factores de riesgo, que aumentan la probabilidad de diagnosticar una inflamación articular aguda como artritis séptica^{3,4}. Estos factores de riesgo son: edad mayor de 80 años; diabetes mellitus; artritis reumatoide; cirugía articular reciente; prótesis articulares; infecciones cutáneas, e infección por VIH. La combinación de alguno de estos factores, como la infección cutánea y la prótesis articular, incrementa sensiblemente la probabilidad de artritis séptica.

En un estudio prospectivo, se examinó qué factores predisponían a un peor pronóstico de la enfermedad, y fueron: la edad, la preexistencia de una enfermedad articular y la presencia de material sintético dentro de la articulación⁵.

Síntomas de artritis séptica

Ningún síntoma tiene especificidad diagnóstica en la artritis séptica. El dolor articular se presenta en el 85% de los casos; historia de inflamación, en el 78%; la fiebre aparece en un 50% de los pacientes, y otros signos clínicos como enrojecimiento o rigidez articular, en menos del 27%³.

Laboratorio

Los valores séricos de leucocitos, de velocidad de sedimentación globular (VSG) y de proteína C reactiva (PCR), tienen una limitada capacidad diagnóstica: su elevación suele ser muy frecuente, pero es muy poco específica para discriminar convenientemente entre artritis séptica y otros tipos de inflamación articular.

Un valor progresivamente elevado de leucocitos en líquido sinovial incrementa la probabilidad de infección articular. En estudios retrospectivos, se ha evidenciado que recuento leucocitario > 50.000 tenían un incremento de probabilidad de diagnóstico del 7,7%, y cifras > 100.000,

un incremento del 28%. Otros autores muestran que el porcentaje de polimorfonucleares debe ser del 90% para incrementar la probabilidad de artritis séptica⁶.

Se ha estudiados otros marcadores bioquímicos séricos y en líquido sinovial, como el factor de necrosis tumoral (TNF), las interleucinas (IL) 6 y 8, la procalcitonina en sangre y la glucosa en líquido sinovial, y en ninguno de ellos se ha encontrado suficiente sensibilidad o especificidad para su utilización habitual en el diagnóstico diferencial entre la artritis infecciosa o la no infecciosa⁷.

Aunque mucho se ha publicado sobre el valor de la concentración de ácido láctico en el diagnóstico de artritis séptica, en estudios bien diseñados se ha demostrado alta sensibilidad (aumentado en líquido sinovial en la sepsis), pero poca capacidad para diferenciar una artritis séptica de otras artritis inflamatorias. Está por determinar en estudios más amplios si la técnica de determinación de lactato en líquido sinovial (cromatografía en gas) puede aumentar la especificidad de diagnóstico^{8,9}.

Las alteraciones de la concentración de glucosa y proteínas en líquido sinovial son inespecíficas y no deben realizarse sistemáticamente.

Cultivo de líquido sinovial

El estándar en el diagnóstico de la artritis séptica sigue siendo extracción, examen, tinción de Gram y cultivo del líquido sinovial.

El cultivo del líquido y/o del tejido sinovial es el único método diagnóstico definitivo de una artritis infecciosa. No obstante, las decisiones terapéuticas no pueden retrasarse hasta que obtengamos los resultados del cultivo. Una evaluación rápida de una articulación inflamada de forma aguda sería examinar el líquido sinovial buscando cristales y bacterias mediante tinción de Gram. Si hay cristales y la tinción de Gram es negativa, podemos ahorrar el tratamiento con antibióticos (una excepción sería que el riesgo de infección fuera elevado, como concomitancia de bacteriemia, neumonía, pielonefritis, etc.).

Si el examen microscópico no demuestra la aparición de cristales, se debería tratar al paciente como una artritis séptica aunque el Gram sea normal (la tinción de Gram tiene una sensibilidad de menos del 60% para la detección de bacterias en líquido sinovial)^{7,10}.

El líquido debe ser cultivado sistemáticamente; una articulación dañada por gota o pseudogota puede ser colonizada por microorganismos¹¹ (la presencia de cristales no descarta artritis séptica; los cristales se pueden encontrar incluso en líquido sinovial de pacientes asintomáticos con historia de gota). Se deben realizar también hemocultivos simultáneos al cultivo de líquido sinovial, ya que un tercio de los casos de artritis séptica se acompañan de bacteriemia, incluso cultivo de secreciones uretrales, de la orofaringe y de lesiones cutáneas, si el cuadro clínico lo justifica.

El cultivo de tejido sinovial está indicado primariamente para detectar micobacterias y hongos.

La política local del laboratorio de microbiología puede ser la que dicte la técnica de cultivo para líquido sinovial. Se acepta de forma general que las muestras de líquido fresco aspirado deben ser enviadas inmediatamente al laboratorio para su análisis, aunque no hay ningún estudio que respalde la importancia de este factor. Hay discrepancias en la técnica de cultivo; algunos estudios indican que la inoculación directa de la muestra en botellas de hemocultivo mejoraría la rentabilidad diagnóstica. Un análisis de 47 episodios de artritis bacteriana mostró que aplicando un cultivo en medios líquidos se obtuvieron resultados positivos en 10 (21%) casos que habían sido negativos en medios sólidos convencionales¹². Esta técnica ofrece ventajas cuando el paciente ya estaba tomando antibióticos, y es capaz de detectar gérmenes no habituales, anaerobios incluidos. La ventaja de utilizar un gran volumen de líquido inoculado y de medio de cultivo consiste en que se puede detectar cantidades insignificantes de patógenos y diluir los inhibidores que existen¹³. No se recomienda la inoculación en frascos de hemocultivos fuera del laboratorio, por el alto riesgo de contaminación; la muestra obtenida debe preservarse de forma aséptica y transportarse inmediatamente al laboratorio.

En los últimos tiempos se han desarrollado test diagnósticos prometedores para la detección bacteriana en muestras de sinovial, como son las técnicas de reacción en cadena de polimerasa para la detección de ADN bacteriano. La reacción en cadena de polimerasa se ha utilizado para determinar infección por *Chlamydia*, *Yersinia*, *Borrelia*, *Neisseria* y *Ureaplasma* en líquidos sinoviales. No obstante, se debe tener precaución al interpretar los resultados de los análisis de reacción en cadena de polimerasa. Puede aparecer contaminación con otros cúmulos de ADN y causar un falso positivo. El test tampoco es capaz de distinguir entre organismos vivos y muertos. Actualmente, se han desarrollado técnicas de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real, que permiten la detección del ARNm bacteriano a las pocas horas y que, a diferencia de los test anteriores, es capaz de diferenciar fragmentos bacterianos vivos en líquido sinovial. Cuando la reacción en cadena de polimerasa se convierte en una técnica más experimentada y estandarizada, puede resultar de utilidad en el diagnóstico de infecciones causadas por bacterias de lento crecimiento y difícil cultivo en métodos habituales, así como para las infecciones tratadas parcialmente con antibióticos^{14,15}.

Pruebas de imagen

No existe ningún estudio que investigue de forma prospectiva cuál es el método de imagen óptimo para el diagnóstico de artritis séptica. Las pruebas de imagen

suelen ser utilizadas para confirmar o desechar una sospecha clínica.

La radiología convencional puede ayudar a evidenciar una enfermedad articular previa o la asociación con otra enfermedad (osteomielitis, artrosis), y en las primeras etapas se puede apreciar un aumento de partes blandas y desplazamiento de las líneas grasas, que indican una distensión de la cápsula articular. Cuando la infección progresa, se puede detectar pinzamiento del espacio articular debido a la destrucción del cartílago.

La ecografía es capaz de detectar con claridad el derrame articular en estadios muy precoces de la enfermedad y es de gran ayuda para realizar punción/aspiración guiada de diversas articulaciones, especialmente las más profundas como las caderas y los hombros¹⁶.

La técnica de resonancia magnética (RM) se está convirtiendo progresivamente en un método diagnóstico útil para la determinación precoz de infecciones osteomusculares y su extensión. Puede ser de gran utilidad en el diagnóstico de infecciones articulares de difícil acceso, como caderas, hombros y sacroilíacas, demuestra una gran resolución para distinguir anomalías de tejidos blandos y es capaz de diferenciar entre infección ósea o de tejidos blandos^{17,18}.

La gammagrafía ósea es capaz de detectar áreas localizadas de inflamación. La técnica realizada con tecnecio-99 metildifosfonato incrementa la captación del isótopo en áreas de actividad osteoblástica y vascularización aumentada. Las realizadas con galio o indio también muestran incremento de la captación del isótopo en áreas de concentración aumentada de leucocitos, macrófagos y tumores malignos. Aunque estos isótopos son más específicos y sensibles en la detección de infección activa que el ^{99m}Tc, no muestran detalles de la infección, y es difícil de diferenciar entre inflamación ósea, articular o de tejidos blandos.

La gammagrafía obtiene resultados positivos en un 60% de los pacientes con artritis séptica, pero pueden aparecer falsos positivos en pacientes con sinovitis secundaria a inflamación articular¹⁹.

Tratamiento

Elección de antibiótico

La velocidad y el acierto en la elección del antibiótico son un paso decisivo para la evolución de la enfermedad; por lo tanto, es suficiente con tener la sospecha de artritis séptica para iniciar el tratamiento mientras esperamos la confirmación diagnóstica. Cualquier retraso en el inicio del antimicrobiano puede desembocar en una destrucción articular irreversible y en un incremento de la mortalidad (tabla 1). Es imperativo comenzar con antibióticos de amplio espectro de forma parenteral antes de conocer el tipo de microorganismo y sus patrones

Tabla 1. Tratamiento empírico ante la sospecha de artritis séptica

Grupo de pacientes	Antibióticos
Bajo riesgo de SARM	Cloxacilina ± gentamicina. Cefuroxima. Clindamicina en alérgicos a betalactámicos
Alto riesgo de SARM	Vancomicina ± cefalosporina de segunda o tercera generación
Estreptococos grupos A o B	Penicilina o clindamicina en alergia a betalactámicos
Gramnegativos	Ceftriaxona (excepto <i>Pseudomonas</i>)
Sospecha de gonococo o meningococo	Ceftriaxona
ADVP	Discútase con microbiología

ADVP: adictos a drogas por vía parenteral; SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

de resistencia. El tratamiento antibiótico intravenoso debe continuarse entre 1 y 3 semanas (tema debatido ampliamente en la literatura) y debe ser continuado por vía oral unas 2-4 semanas más, dependiendo fundamentalmente de la evolución clínica, las características de inmunosupresión del huésped y la presencia de materiales sintéticos intraarticulares.

Debemos tener en mente el incremento de resistencias de *Staphylococcus aureus* a la mayoría de los antibióticos que utilizamos habitualmente, y debemos considerar, según la aparición de estos estafilococos resistentes a meticilina (SARM) y multirresistentes, la utilización de otras estrategias antibióticas, como vancomicina o linezolid.

La artritis séptica por SARM tiende a afectar a pacientes ancianos, con múltiples comorbilidades; aunque no hay diferencias con la piógena no resistente en cuanto al tiempo de antibióticos o necesidad de intervenciones quirúrgicas, los pacientes con infección por SARM tienen un incremento de mortalidad y reciben con más probabilidad un tratamiento empírico antibiótico inapropiado²⁰.

Drenaje articular y cirugía

El éxito del tratamiento de una artritis infecciosa incluye retirar todo el material purulento del espacio articular. Esto puede llevarse a cabo mediante cirugía o aspiración articular cerrada. Hay controversia acerca de cuál es el método de drenaje que se debe emplear. Existen muy pocos estudios que comparen estos métodos de drenaje articular, y de éstos el más demostrativo es un estudio retrospectivo²¹. Los resultados indican que la aspiración mediante aguja y lavado articular cerrado es preferible en las fases iniciales porque es una técnica

sencilla, barata y útil. En ciertas circunstancias, es preferible utilizar la cirugía, como en infecciones originadas en articulaciones profundas como caderas y hombros.

Tampoco existe ningún estudio que delimite de forma concreta si el lavado articular cerrado es más útil que el lavado mediante artroscopia, aunque éste parece ser más ventajoso en casos que se precise un drenaje articular mayor y al mismo tiempo una revisión de la articulación, para la eliminación de bridas y abscesos²².

Movilización en artritis séptica

La cuestión de si se debe inmovilizar una articulación infectada permanece sin resolver, dado que no existen datos de estudios controlados. Las recomendaciones actuales establecen mantener la articulación afectada móvil, en lugar de inmovilizada. Se recomiendan movimientos pasivos de la articulación, desde el inicio de la enfermedad, con el objeto de abolir contracturas articulares y prevenir la atrofia muscular.

También se recomiendan movimientos activos de la articulación en el momento en que haya una mejoría clínica que lo permita²³.

Futuras opciones de tratamiento

La prevalencia de multirresistencias a los antibióticos entre las bacterias que usualmente causan la infección articular está en el horizonte inmediato del manejo adecuado de la artritis séptica. Además de un uso racional del arsenal antimicrobiano del que se dispone actualmente, aparecerán nuevos antibióticos capaces de resolver en parte el problema de las resistencias, y se están investigando estrategias de vacunación adecuadas.

Recientemente, se están desarrollando tres aproximaciones a la inmunización. La primera, mediante la vacunación con polisacáridos de estafilococo solas o combinadas con transportadores proteínicos; resultados en animales de experimentación muestran que esta estrategia disminuye claramente la severidad de la infección por *S. aureus*²⁴. Un obstáculo potencial de estas inmunizaciones es la multitud de polisacáridos capsulares diferentes (n = 11) en varias cepas de estafilococos, aunque los polisacáridos 5 y 8 comprenden el 75% de las infecciones.

Otra estrategia explorada recientemente, es bloquear la generación patológica de superantígenos por diversos mecanismos inmunológicos como el bloqueo de moléculas de coestimulación²⁵.

El estafilococo se une a numerosos componentes de la matriz extracelular, como colágenos, lamininas, sialoproteínas, fibronectina, fibrinógeno y vitronectina. Anticuerpos dirigidos contra adhesinas del estafilococo po-

drían interferir la unión bacteriana al tejido del huésped, impidiendo la posterior colonización. Experimentos que inmunizan al huésped con proteínas unidas a fibronectina han proporcionado una protección parcial contra la endocarditis experimental en roedores. Recientemente se ha demostrado que la inmunización con adhesina recombinante unida a colágeno disminuye la sepsis y la artritis séptica inducida por *S. aureus*^{26,27}.

Conclusiones

La artritis séptica sigue siendo una entidad con cifras preocupantes de morbilidad y mortalidad, cuyo manejo se realiza fundamentalmente de forma empírica, dada la poca cantidad de estudios con evidencia científica que avalen una u otra actuación. El diagnóstico se fundamenta en la manipulación correcta del líquido sinovial por médicos entrenados en ello y el estándar sigue siendo el cultivo, aunque la esperanza parece estar en las nuevas técnicas de identificación del material bacteriano por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. El tratamiento sigue descansando en la utilización de antibióticos según factores de riesgo y resultados del cultivo; el peligro inminente reside en la aparición incrementada de resistencias con gran capacidad patógena. No hay evidencia de que sea preferible un método de drenaje articular a otro, pero el lavado articular mediante artroscopia parece ser la elección de futuro. Existen modelos experimentales de artritis séptica bien diseñados, sobre los que se están realizando estudios acerca de la prevención y la modulación de la infección producida por los gérmenes implicados en esta enfermedad.

Bibliografía

- Gupta MN, Sturrock RD, Field M. A prospective 2 year study of 75 patients with adult onset septic arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2001;40:24-30.
- Ahuja A, Feinstein DE, Kataria R, McGarvey ML, Pritchard CH, Braitman L, et al. Septic arthritis: Case series from two teaching hospitals. *Ann Rheum Dis*. 2007;66 Suppl 2):535.
- Margaretten ME, Kohlwes J, Moore D, Bent S. Does this adult patient have septic arthritis? *JAMA*. 2007;297:1478-88.
- Mathews CJ, Kingsley G, Field M, Jones A, Weston VC, Phillips M, et al. Management of septic arthritis: a systematic review. *Ann Rheum Dis*. 2007;66:440-5.
- Kaandorp CJ, Krijnen P, Moens HJ, Habbema JD, Van Schaardenburg D. The outcome of bacterial arthritis: a prospective community-based study. *Arthritis Rheum*. 1997;40:884-92.
- Shmerling RH, Delbanco TL, Tosteson AN, Trentham DE. Synovial fluid tests: what should be ordered? *JAMA*. 1990;264:1009-14.
- Soderquist B, Jones I, Fredlund H, Vikerfors T. Bacterial or crystal-associated arthritis? Discriminating ability of serum inflammatory markers. *Scand J Infect Dis*. 1998;30:591-6.
- Gratacós J, Vila J, Moya F, Marcos MA, Collado A, Sanmartí R, et al. D-lactic acid in synovial fluid: a rapid diagnostic test for bacterial synovitis. *J Rheumatol*. 1995;22:1504-8.
- Brook I, Reza MJ, Bricknell KS, Bluestone R, Finegold SM. Synovial fluid lactic acid: a diagnostic aid in septic arthritis. *Arthritis Rheum*. 1978;21:774-9.
- Faraj AA, Omonbude OD, Godwin P. Gram staining in the diagnosis of acute septic arthritis. *Acta Orthop Belg*. 2002;68:388-91.
- Weston VC, Jones AC, Bradbury N, Fawthrop F, Doherty M. Clinical features and outcome of septic arthritis in a single UK health district 1982-1991. *Ann Rheum Dis*. 1999;58:214-9.
- Von Essen R, Holta A. Improved method of isolating bacteria from joint fluids by the use of blood culture bottles. *Ann Rheum Dis*. 1986;45:454-7.
- Von Essen R. Culture of joint specimens in bacterial arthritis. Impact of blood culture bottle utilization. *Scand J Rheumatol*. 1997;26:293-300.
- Van der Heijden I, Wilbrink B, Vije AM, Schouls L, Breedveld F, Tak P. Detection of bacterial DNA in serial synovial samples obtained during antibiotic treatment from patients with septic arthritis. *Arthritis Rheum*. 1999;42:2198-203.
- Kobayashi N, Bauer TW, Sakai H, Togawa D, Lieberman IH, Fujishiro T, et al. The use of newly developed real-time PCR for the rapid identification of bacteria in culture-negative osteomyelitis. *Joint Bone Spine*. 2006;75:745-7.
- Zieger MM, Dorr U, Schulz RD. Ultrasonography of hip joint effusions. *Skeletal Radiol*. 1987;16:607-11.
- Modic MT, Pflanze W, Feiglin DH, Belhobek G. Magnetic resonance imaging of musculoskeletal infections. *Radiol Clin North Am*. 1986;24:247-58.
- Tehranyzadeh J, Wang F, Mesgarzadeh M. Magnetic resonance imaging of osteomyelitis. *Crit Rev Diagn Imaging*. 1992;33:495-534.
- Thomas PA, Mullan B. Avid In-111 labeled WBC accumulation in a patient with active osteoarthritis of both knees. *Clin Nucl Med*. 1995;20:973-5.
- Al-Nammari SS, Bobak P, Venkatesh R. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* versus methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* adult haematogenous septic arthritis. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2007;127:537-42.
- Godenberg DL, Brandt KD, Cohen AS, Cathcart ES. Treatment of septic arthritis: comparison of needle aspiration and surgery as initial modes of joint drainage. *Arthritis Rheum*. 1975;18:83-90.
- Vispo Seara JL, Barthel T, Schmitz H, Eulert J. Arthroscopic treatment of septic joints: prognostic factors. *Arch Orthop Traum Surg*. 2002;122:204-11.
- Tarkowski A. Infectious arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2006;20:1029-44.
- Lee JC. The prospects for developing a vaccine against *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*. 1996;4:162-6.
- Nilsson IM, Verdrengh M, Ulrich RG, Tarkowski A. Mucosal tolerance to a bacterial superantigen indicates a novel pathway to prevent toxic shock. *Infect Immun*. 2002;70:2282-7.
- Schennings T, Heimdahl A, Coster K, Flock JL. Immunization with fibronectin binding protein from *Staphylococcus aureus* protects against experimental endocarditis in rats. *Microbial Pathogenesis*. 1993;15:227-36.
- Nilsson IM, Patti JM, Bremell T, Höök M, Tarkowski A. Vaccination with a recombinant fragment of collagen adhesin provides protection against *Staphylococcus aureus*-mediated septic death. *J Clin Invest*. 1998;101:2640-9.