

Tesi doctoral presentada per En/Na

**Antonio CAMPO VOEGELI**

amb el títol

**" Dermatmiositis y sistema del complemento:  
relación entre actividad de la enfermedad y grado de activación  
del complemento.  
Comparación con marcadores bioquímicos tradicionales "**

per a l'obtenció del títol de Doctor/a en

MEDICINA

Barcelona, 6 de juliol de 2007.

Facultat de Medicina  
Departament de Medicina



UNIVERSITAT DE BARCELONA



# **TESIS DOCTORAL**

***“DERMATOMIOSITIS Y SISTEMA DEL COMPLEMENTO:  
RELACIÓN ENTRE ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD Y  
GRADO DE ACTIVACIÓN DEL COMPLEMENTO  
COMPARACIÓN CON MARCADORES BIOQUÍMICOS  
TRADICIONALES”***

***Doctorando: Antonio Campo Voegeli***



# **1. DERMATOMIOSITIS: ESTADO ACTUAL**

<b>1.1. Generalidades.</b>	pag. 21
<b>1.2. Historia y clasificación de las miopatías inflamatorias.</b>	pag. 25
<b>1.3. Epidemiología.</b>	pag. 25
<b>1.4. Etiología.</b>	pag. 26
<b>1.4.1. Predisposición genética.</b>	pag. 27
<b>1.4.2. Posibles desencadenantes externos o factores ambientales.</b>	pag. 29
<b>1.4.2.1. Rayos ultravioletas y DM.</b>	pag. 29
<b>1.4.2.2. Exposición a agentes infecciosos y DM.</b>	pag. 29
<b>1.4.2.3. Quimerismo y DM.</b>	pag. 34
<b>1.4.2.4. Otros desencadenantes.</b>	pag. 34
<b>1.4.3. Mecanismos inmunológicos implicados.</b>	pag. 35
<b>1.4.3.1. Autoanticuerpos.</b>	pag. 35
<b>1.4.3.2. Fenómenos que indican una respuesta inmune en los órganos afectados.</b>	pag. 35
<b>1.4.3.2.1. Queratinocitos epidérmicos.</b>	pag. 37
<b>1.4.3.2.2. El endotelio vascular.</b>	pag. 38
<b>1.4.3.3. Fenómenos inmunológicos implicados en la presentación de antígenos.</b>	pag. 40
<b>1.4.3.4. Infiltrado inflamatorio cutáneo y muscular.</b>	pag. 41
<b>1.4.3.5. Depósitos de inmunocomplejos y complemento.</b>	pag. 43
<b>1.4.3.5.1. Unión dermoepidérmica.</b>	pag. 43
<b>1.4.3.5.2. Endotelios dérmicos y musculares.</b>	pag. 43
<b>1.4.3.6. Citoquinas, quemocinas y metaloproteinasas.</b>	pag. 45
<b>1.4.3.7. El complejo mayor de histocompatibilidad clase I.</b>	pag. 47
<b>1.4.3.8. Apoptosis.</b>	pag. 48
<b>1.4.3.8.1. Apoptosis como mecanismo de tolerancia inmunológica.</b>	pag. 48

1.4.3.8.2. <i>Apoptosis como forma de muerte celular de fibras musculares.</i>	pag. 48
1.4.3.8.3. <i>Apoptosis como fuente de autoantígenos.</i>	pag. 50
1.4.4. <i>Aplicación de estos conocimientos en un modelo de la patogenia de la dermatomiositis.</i>	pag. 51
<b>1.5. Clínica.</b>	pag. 53
1.5.1. <i>Dermatomiositis idiopática del adulto.</i>	pag. 53
1.5.1.1. <i>Manifestaciones musculares.</i>	pag. 53
1.5.1.2. <i>Manifestaciones cutáneas.</i>	pag. 54
1.5.1.2.1. <i>Manifestaciones cutáneas patognomónicas.</i>	pag. 54
1.5.1.2.1.1. <i>Pápulas y signo de Gottron.</i>	pag. 54
1.5.1.2.1.2. <i>Eritema en heliotropo.</i>	pag. 55
1.5.1.2.2. <i>Manifestaciones cutáneas características.</i>	pag. 55
1.5.1.2.2.1. <i>Eritema difuso de áreas fotoexpuestas.</i>	pag. 55
1.5.1.2.2.2. <i>Alteraciones periungueales.</i>	pag. 56
1.5.1.2.2.3. <i>Manos de mecánico.</i>	pag. 56
1.5.1.2.3. <i>Lesiones compatibles.</i>	pag. 57
1.5.1.2.3.1. <i>Poiquilodermia atrófica vascular (poiquilodermatomiositis).</i>	pag. 57
1.5.1.2.3.2. <i>Calcinosis.</i>	pag. 57
1.5.1.2.4. <i>Otras manifestaciones cutáneas.</i>	pag. 58
1.5.1.2.4.1. <i>Eritema del cuero cabelludo y alopecia.</i>	pag. 58
1.5.1.2.4.2. <i>Edema.</i>	pag. 58
1.5.1.2.4.3. <i>Miscelánea.</i>	pag. 58
1.5.1.3. <i>Manifestaciones no cutáneas ni musculares.</i>	pag. 59
1.5.1.3.1. <i>Síntomas generales.</i>	pag. 59
1.5.1.3.2. <i>Afectación respiratoria.</i>	pag. 59
1.5.1.3.3. <i>Afectación del aparato digestivo.</i>	pag. 60
1.5.1.3.4. <i>Afectación articular.</i>	pag. 60
1.5.1.3.5. <i>Fenómeno de Raynaud.</i>	pag. 61
1.5.1.3.6. <i>Afectación miocárdica y pericárdica.</i>	pag. 61

1.5.1.3.7. <i>Otras manifestaciones.</i>	pag. 61
1.5.2. <i>Dermatomiositis juvenil.</i>	pag. 62
1.5.3. <i>Formas clínicas especiales.</i>	pag. 63
1.5.3.1. <i>Dermatomiositis amiopática (DMA).</i>	pag. 63
1.5.3.2. <i>Dermatomiositis asociada a enfermedad del tejido conectivo o síndrome de solapamiento.</i>	pag. 65
1.5.3.3. <i>Dermatomiositis asociada a malignidad</i>	pag. 65
1.6. <i>Exploraciones complementarias.</i>	pag. 68
1.6.1. <i>Enzimas musculares.</i>	pag. 68
1.6.2. <i>Otras pruebas analíticas.</i>	pag. 69
1.6.2.1. <i>Análisis de orina.</i>	pag. 69
1.6.3. <i>Electromiografía.</i>	pag. 69
1.6.4. <i>Estudios histológicos.</i>	pag. 70
1.6.4.1. <i>Biopsia muscular.</i>	pag. 70
1.6.4.1.1. <i>Otros hallazgos histológicos en biopsias musculares.</i>	pag. 72
1.6.4.2. <i>Biopsia cutánea.</i>	pag. 73
1.6.4.3. <i>Alteraciones histológicas viscerales.</i>	pag. 74
1.6.5. <i>Estudio inmunológico.</i>	pag. 74
1.6.5.1. <i>Autoanticuerpos no específicos.</i>	pag. 74
1.6.5.2. <i>Autoanticuerpos específicos de miositis.</i>	pag. 75
1.6.5.2.1. <i>Anti aminoacil-ARNt sintetasas.</i>	pag. 75
1.6.5.2.2. <i>Anti ARNt.</i>	pag. 76
1.6.5.2.3. <i>Anticuerpos contra partículas de reconocimiento de señales (anti SRP).</i>	pag. 76
1.6.5.2.4. <i>Anticuerpos específicos contra antígenos nucleares.</i>	pag. 77
1.6.5.2.5. <i>Otros autoanticuerpos específicos.</i>	pag. 77
1.6.5.2.6. <i>Anticuerpos en pacientes con DMA.</i>	pag. 77
1.6.6. <i>Otras alteraciones inmunológicas.</i>	pag. 78

<b>1.6.7. Otras exploraciones recomendadas.</b>	pag. 79
<b>1.6.7.1. Radiografía de tórax.</b>	pag. 79
<b>1.6.7.2. Electrocardiograma.</b>	pag. 79
<b>1.6.7.3. Screening neoplásico.</b>	pag. 79
<b>1.6.7.4. RMN y Resonancia Magnética Espectroscópica (RME)     con P-31.</b>	pag. 79
<b>1.7. Evaluación diagnóstica.</b>	pag. 81
<b>1.8. Diagnóstico diferencial.</b>	pag. 83
<b>1.8.1. ES.</b>	pag. 83
<b>1.8.2. Morfea.</b>	pag. 83
<b>1.8.3. LES.</b>	pag. 83
<b>1.8.4. EMTC.</b>	pag. 83
<b>1.8.5. Escleredema.</b>	pag. 83
<b>1.8.6. Neuropatías.</b>	pag. 84
<b>1.8.7. Distrofias musculares y miopatías metabólicas.</b>	pag. 84
<b>1.8.8. Síndrome eosinofilia mialgia.</b>	pag. 84
<b>1.8.9. Miopatías infecciosas.</b>	pag. 84
<b>1.8.10. Enfermedad de Lyme.</b>	pag. 84
<b>1.8.11. Asociación a otras enfermedades.</b>	pag. 84
<b>1.9. Tratamiento.</b>	pag. 85
<b>1.9.1. Fármacos utilizados.</b>	pag. 85
<b>1.9.1.1 Corticosteroides.</b>	pag. 85
<b>1.9.1.1.1. Ajuste de las dosis.</b>	pag. 85
<b>1.9.1.1.2. Resistencia al tratamiento.</b>	pag. 87
<b>1.9.1.1.3. Otras pautas de administración.</b>	pag. 87
<b>1.9.1.1.4. Efectos secundarios.</b>	pag. 87
<b>1.9.1.2. Inmunomoduladores no esteroideos.</b>	pag. 88
<b>1.9.1.2.1. Azatioprina.</b>	pag. 89
<b>1.9.1.2.2. Metotrexate.</b>	pag. 89
<b>1.9.1.2.3. Ciclofosfamida.</b>	pag. 90

1.9.1.2.4. <i>Ciclosporina A.</i>	pag. 90
1.9.1.2.5. <i>Inmunoglobulina endovenosa.</i>	pag. 90
1.9.1.2.6. <i>Micofenolato de mofetilo.</i>	pag. 91
1.9.1.2.7. <i>Otros tratamientos.</i>	pag. 92
1.9.1.2.8. <i>Inmunoterapias futuras.</i>	pag. 92
1.9.1.2.8.1. <i>Anti TNF-<math>\alpha</math>.</i>	pag. 92
1.9.1.2.8.2. <i>Otros tratamientos experimentales o futuros.</i>	pag. 93
1.9.1.3. <i>Tratamiento de las lesiones cutáneas.</i>	pag. 93
1.9.1.4. <i>Tratamiento de la calcinosis.</i>	pag. 95
1.9.2. <i>Otras medidas.</i>	pag. 95
1.9.2.1. <i>Dieta, suplementos y profilaxis antituberculosa.</i>	pag. 95
1.9.2.2. <i>Reposo y rehabilitación física.</i>	pag. 95
1.10. <i>Pronóstico.</i>	pag. 97
1.11. <i>Comentario.</i>	pag. 99

## **2. IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA: MARCADORES DE ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD EN DM: ¿DISPONEMOS DE MARCADORES FIABLES?**

<b>2.1. Criterios diagnósticos como medidas de actividad.</b>	pag. 103
<b>2.1.1. Evaluación clínica.</b>	pag. 103
<b>2.1.2. Enzimas musculares.</b>	pag. 105
<b>2.1.3. Electromiograma.</b>	pag. 107
<b>2.1.4. Biopsia muscular.</b>	pag. 107
<b>2.2. Nuevos marcadores de actividad.</b>	pag. 109
<b>2.2.1. Marcadores de daño muscular.</b>	pag. 109
<b>2.2.1.1. Myoglobina sérica.</b>	pag. 109
<b>2.2.1.2. Factor de crecimiento hepatocitario (HGF).</b>	pag. 109
<b>2.2.1.3. Técnicas de imagen.</b>	pag. 110
<b>2.2.1.3.1. RMN.</b>	pag. 110
<b>2.2.1.3.2. Escintigrafía antimiosina.</b>	pag. 111
<b>2.2.1.4. Oxigenación tisular muscular y capacidad aeróbica.</b>	pag. 111
<b>2.2.1.5. Otros marcadores de daño muscular.</b>	pag. 111
<b>2.2.2. Indicadores de vasculopatía o daño endotelial.</b>	pag. 112
<b>2.2.2.1. Factor von Willebrand (vWF:Ag).</b>	pag. 112
<b>2.2.2.2. Fibrinopéptido A.</b>	pag. 113
<b>2.2.2.3. Trombomodulina de membrana.</b>	pag. 114
<b>2.2.3. Marcadores de activación de la inmunidad.</b>	pag. 114
<b>2.2.3.1. Marcadores de activación de la inmunidad celular.</b>	pag. 114
<b>2.2.3.1.1. Niveles séricos de neopterinina.</b>	pag. 114
<b>2.2.3.1.2. Otros marcadores de activación linfocitaria.</b>	pag. 115
<b>2.2.3.1.3. Función natural killer (NK).</b>	pag. 115
<b>2.2.3.1.3. Fenotipo de linfocitos circulantes.</b>	pag. 116

<b>2.2.3.2. Marcadores de activación de la inmunidad humoral.</b>	pag. 116
<b>2.2.3.2.1. Niveles de autoanticuerpos.</b>	pag. 116
<b>2.2.3.2.1.1. Anticuerpos específicos de miositis (MSA).</b>	pag. 116
<b>2.2.3.2.1.2. Anticuerpos antitropomiosina.</b>	pag. 117
<b>2.2.3.2.1.3. Anticuerpos anti 56kD.</b>	pag. 117
<b>2.2.3.2.1.4. ANA.</b>	pag. 117
<b>2.2.4. Citoquinas, inhibidores y moléculas de adhesión.</b>	pag. 117
<b>2.2.4.1. Antagonista del receptor de IL-1(IL-1Ra).</b>	pag. 117
<b>2.2.4.2. Receptor de la IL-2.</b>	pag. 118
<b>2.2.4.3. IL-1<math>\beta</math>.</b>	pag. 118
<b>2.2.4.4. IL-6.</b>	pag. 118
<b>2.2.4.5. TNF <math>\alpha</math>.</b>	pag. 119
<b>2.2.4.6. sTNFR (receptor soluble del TNF).</b>	pag. 119
<b>2.2.4.7. sVCAM, sE-selectina.</b>	pag. 119
<b>2.2.4.8. ICAM-1, ICAM-3.</b>	pag. 119
<b>2.2.5. Otros marcadores de actividad.</b>	pag. 120
<b>2.2.5.1. Hialuronato.</b>	pag. 120
<b>2.2.5.2. Propéptidos de procolágeno e inhibidores tisulares de la metaloproteínasa.</b>	pag. 120
<b>2.2.5.3. Manganeseo superóxido dismutasa (MnSOD).</b>	pag. 120
<b>2.2.5.4. Neuropéptidos, ACTH y cortisol.</b>	pag. 120
<b>2.2.6. Marcadores específicos de actividad localizada.</b>	pag. 121
<b>2.2.6.1. Marcadores de afectación pulmonar.</b>	pag. 121
<b>2.2.6.1.1. KL-6.</b>	pag. 121
<b>2.2.6.1.2. CD13 aminopeptidasa N.</b>	pag. 121
<b>2.2.6.1.3. Proteína surfactante D.</b>	pag. 121
<b>2.2.6.2. Densitometría ósea.</b>	pag. 122
<b>2.3. Comentario.</b>	pag. 123

<b>2.4. Sistema del complemento y DM. Un posible marcador de actividad.</b>	pag. 125
<b>2.4.1. Indicios de implicación del complemento en la patogenia de la DM.</b>	pag. 125
<b>2.4.2. Medidas de activación del sistema del complemento.</b>	pag. 127
<b>2.4.2.1. Sistema del complemento: generalidades.</b>	pag. 127
<b>2.4.2.2. Medidas del complemento.</b>	pag. 128
<b>2.4.3. Medidas del complemento en otras enfermedades: el LES como ejemplo.</b>	pag. 129
<b>2.4.3.1. LES y complemento.</b>	pag. 129
<b>2.4.3.2. Medidas clásicas del complemento en el LES.</b>	pag. 130
<b>2.4.3.3. LES y PAC.</b>	pag. 131
<b>2.4.3.3.1. PAC y actividad de la enfermedad.</b>	pag. 132
<b>2.4.3.3.2. Identificación de pacientes de riesgo y reagudizaciones.</b>	pag. 133
<b>2.4.3.3.3. PAC en otros fluidos biológicos.</b>	pag. 134
<b>2.4.3.4. Conclusión.</b>	pag. 135
<b>2.4.4. Medidas de activación del complemento en otras enfermedades.</b>	pag. 136
<b>2.4.4.1. Complemento y psoriasis.</b>	pag. 136
<b>2.4.4.2. PAC en distrés respiratorio del adulto (DRA).</b>	pag. 137
<b>2.4.4.3. Otros procesos.</b>	pag. 137
<b>2.4.5. Medidas de activación del complemento en DM: experiencia previa.</b>	pag. 137
<b>2.4.6. Comentario.</b>	pag. 139



3.3.2.1.5.3. <i>Tratamiento realizado, tiempo y dosis de tratamiento.</i>	pag. 155
3.3.2.1.6. <i>Datos analíticos de actividad.</i>	pag. 155
3.3.2.1.7. <i>Clasificación de los pacientes.</i>	pag. 156
3.3.2.1.7.1. <i>DM activa e inactiva.</i>	pag. 156
3.3.2.1.7.2. <i>Reagudización clínica.</i>	pag. 157
3.3.2. <i>Obtención de muestras y procesamiento.</i>	pag. 158
3.3.2.1. <i>Obtención de las muestras.</i>	pag. 158
3.3.2.1.1. <i>Procesamiento de las muestras.</i>	
3.3.2.2. <i>Técnicas específicas.</i>	pag. 158
3.3.2.2.1. <i>Determinación de concentraciones plasmáticas de SC5b-9 y C3a.</i>	pag. 158
3.3.2.2.2. <i>Determinación de otros parámetros bioquímicos de actividad.</i>	pag. 160
3.3.3. <i>Métodos de análisis estadístico.</i>	pag. 161
3.3.3.1. <i>Metodología prevista para evaluación de resultados.</i>	pag. 161
3.3.3.2. <i>Metodología estadística aplicada.</i>	pag. 162
3.3.3.2.1. <i>Comparación medias de niveles plasmáticos entre DM activa, DM inactiva y sujetos controles.</i>	pag. 162
3.3.3.2.2. <i>Valoración de la correlación entre niveles de PAC y otros marcadores bioquímicos de actividad con puntuaciones de actividad clínica de la enfermedad.</i>	pag. 162
3.3.3.2.3. <i>Valoración de la utilidad de las determinaciones puntuales y/o seriadas de PAC en la predicción de reagudizaciones de la enfermedad.</i>	pag. 163
3.3.4. <i>Resultados esperados.</i>	pag.163

## **4. RESULTADOS.**

<b>4.1. Evolución clínica de los pacientes y valores obtenidos.</b>	pag. 167
<b>4.1.1. Evolución clínica individualizada.</b>	pag. 169
<b>4.1.1.1. Paciente n°1.</b>	pag. 169
<b>4.1.1.2. Paciente n°2.</b>	pag. 170
<b>4.1.1.3. Paciente n°3.</b>	pag. 171
<b>4.1.1.4. Paciente n°4.</b>	pag. 172
<b>4.1.1.5. Paciente n°5.</b>	pag. 173
<b>4.1.1.6. Paciente n°6.</b>	pag. 174
<b>4.1.1.7. Paciente n°7.</b>	pag. 175
<b>4.1.1.8. Paciente n°8.</b>	pag. 176
<b>4.1.1.9. Paciente n°9.</b>	pag. 177
<b>4.1.1.10. Paciente n°10.</b>	pag. 179
<b>4.1.1.11. Paciente n°11</b>	pag. 179
<b>4.1.1.12. Paciente n°12.</b>	pag. 180
<b>4.1.1.13. Paciente n°13.</b>	pag. 181
<b>4.1.1.14. Paciente n°14.</b>	pag. 182
<b>4.1.1.15. Paciente n°15.</b>	pag. 183
<b>4.1.1.16. Paciente n°16.</b>	pag. 184
<b>4.2. Controles.</b>	pag. 185
<b>4.3. Comparación de niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 de pacientes con DM activa, inactiva y controles.</b>	pag. 186
<b>4.3.1. Comparación de niveles plasmáticos de C3a-desArg de pacientes con DM activa, inactiva y controles.</b>	pag. 188
<b>4.3.2. Comparación de niveles plasmáticos de SC5b-9 de pacientes con DM activa, inactiva y controles.</b>	pag. 190
<b>4.3.3. Niveles de C3a-desArg y SC5b-9 como marcadores de enfermedad activa.</b>	pag. 182

<b>4.4. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9. Comparación con otros marcadores de actividad.</b>	pag. 191
<b>4.4.1. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 individualizados por paciente. Comparación con otros marcadores de actividad.</b>	pag. 191
<b>4.4.1.1. Correlación entre actividad cutánea muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-des Arg y SC5b-9 por paciente.</b>	pag. 193
<b>4.4.1.1.1. Correlación entre niveles de C3a-desArg con parámetros de actividad clínica por paciente.</b>	pag. 193
<b>4.4.1.1.2. Correlación entre niveles de SC5b-9 con parámetros de actividad clínica por paciente.</b>	pag. 194
<b>4.4.2. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y otros marcadores de actividad por paciente.</b>	pag. 195
<b>4.4.2.1. Correlación entre actividad clínica y niveles de Aldolasa.</b>	pag. 195
<b>4.4.2.2. Correlación entre actividad clínica y niveles de CPK.</b>	pag. 196
<b>4.4.2.3. Correlación entre actividad clínica y niveles de LDH.</b>	pag. 197
<b>4.4.2.4. Correlación entre actividad clínica y niveles de GOT y GPT.</b>	pag. 197
<b>4.4.2.5. Correlación entre actividad clínica y VSG.</b>	pag. 198
<b>4.4.2.6. Correlación entre actividad clínica y niveles de C3 y C4.</b>	pag. 200
<b>4.4.3. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 valorando los pacientes conjuntamente. Comparación con otros marcadores de actividad.</b>	pag. 202

<i>4.4.3.1. Correlación entre actividad cutánea muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 valorando los pacientes conjuntamente.</i>	pag. 202
<i>4.4.3.2. Correlación entre actividad cutánea muscular y global y otros marcadores de actividad valorando los pacientes conjuntamente.</i>	pag. 202
<i>4.5. Determinaciones puntuales y seriadas de C3a-desArg y SC5b-9 como predictores de la reagudización de la enfermedad. Comparación con marcadores tradicionales de actividad.</i>	pag. 203
<i>4.5.1. Identificación de las reagudizaciones clínicas de los pacientes.</i>	pag. 203
<i>4.5.2. Relación de reagudización clínica con incrementos o niveles anormalmente elevados de C3a-desArg y SC5b-9 en los 4 meses previos.</i>	pag. 203
<i>4.5.2.1. Relación con niveles anormalmente elevados de C3a-desArg o SC5b-9. Establecimiento del intervalo de normalidad de dichos parámetros.</i>	pag. 203
<i>4.5.2.1.1. Relación con niveles anormalmente elevados de C3a-desArg.</i>	pag. 204
<i>4.5.2.1.2. Relación con niveles anormalmente elevados de SC5b-9.</i>	pag. 204
<i>4.5.2.2. Relación de reagudización clínica con incrementos en los niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 en los 4 meses previos.</i>	pag. 204
<i>4.5.2.2.1. Incremento en los niveles plasmáticos de PAC en relación a reagudizaciones clínicas.</i>	pag. 204

<b>4.5.2.2.2. Incrementos en los de niveles plasmáticos de PAC no relacionados con reagudizaciones clínicas.</b>	pag. 214
<b>4.5.2.2.2.1. Incrementos de C3a-desArg en pacientes no relacionados con reagudizaciones clínicas.</b>	pag. 214
<b>4.5.2.2.2.2. Incremento de SC5b-9 en pacientes no relacionados con reagudizaciones clínicas.</b>	pag. 215
<b>4.5.2.2.3. Valoración estadística.</b>	pag. 216
<b>4.5.3. Relación entre elevaciones en los marcadores bioquímicos de actividad tradicionales y reagudizaciones.</b>	pag.216

## **5. DISCUSIÓN.**

- 5.1. Comparación de niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 entre pacientes con DM y controles, así como entre DM activa e inactiva.** pag. 221
- 5.2. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9.**
- Comparación con otros marcadores de actividad.** pag. 222
- 5.2.1. Correlación de niveles de C3a-desArg y SC5b-9 con parámetros de actividad clínica por paciente.**
- Comparación con otros marcadores de actividad.** pag. 222
- 5.2.1.1. Correlación de niveles de C3a-desArg con parámetros de actividad clínica por paciente.** pag. 222
- 5.2.1.2. Correlación de niveles de SC5b-9 con parámetros de actividad clínica por paciente.** pag. 224
- 5.2.1.3. Correlación entre actividad clínica y niveles de Aldolasa.** pag. 224
- 5.2.1.4. Correlación entre actividad clínica y niveles de CPK.** pag. 225
- 5.2.1.5. Correlación entre actividad clínica y niveles de LDH.** pag. 226
- 5.2.1.6. Correlación entre actividad clínica y niveles de GOT y GPT.** pag. 226
- 5.2.1.7. Correlación entre actividad clínica y VSG.** pag. 227
- 5.2.1.8. Correlación entre actividad clínica y niveles de C3 y C4.** pag. 228
- 5.2.2. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 valorando los pacientes conjuntamente. Comparación con otros marcadores de actividad.** pag. 228

<i>5.2.2.1. Correlación entre actividad cutánea muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 valorando los pacientes conjuntamente.</i>	pag. 229
<i>5.2.2.2. Correlación entre actividad cutánea muscular y global y otros marcadores de actividad valorando los pacientes conjuntamente.</i>	pag. 230
<i>5.3 Determinación puntuales y seriadas de C3a-desArg y SC5b-9 como predictores de la reagudización de la enfermedad. Comparación con marcadores tradicionales de actividad.</i>	pag. 232
<i>5.3.1. Niveles elevados de PAC como predictores de reagudización.</i>	pag. 232
<i>5.3.2. Incrementos en los niveles de PAC en la predicción de reagudizaciones: comparación con marcadores bioquímicos tradicionales.</i>	pag. 233
<i>5.3.2.1. Incrementos en los niveles de PAC y reagudizaciones.</i>	pag. 233
<i>5.3.2.2. Comparación con otros marcadores analíticos de actividad del proceso.</i>	pag. 236
<b>6. CONCLUSIONES.</b>	pag. 239
<b>7. ANEXO.</b>	pag. 243
<b>8. DOCUMENTACIÓN ADICIONAL.</b>	pag. 261
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.</b>	pag. 265

**1. DERMATOMIOSITIS:**  
**ESTADO ACTUAL**



### **1.1. Generalidades:**

La dermatomiositis (DM) pertenece, junto con la polimiositis (PM) y la miopatía por cuerpos de inclusión (MCI), al grupo de las llamadas miopatías inflamatorias idiopáticas sin afectación de la transmisión neuromuscular<sup>1</sup>. Este grupo está configurado por un conjunto heterogéneo de enfermedades que se caracterizan por presentar inflamación no supurada de la musculatura estriada asociada a debilidad muscular proximal<sup>2,3,4</sup>. DM, PM y MCI comparten características clínicas y paraclínicas comunes y a pesar de que inicialmente se consideraron como procesos patogénicamente similares, el descubrimiento de diferencias tanto clínicas, de laboratorio, de pronóstico, histológicas, inmunopatológicas como terapéuticas ha llevado a considerarlas procesos patológicos diferentes. A pesar de que la etiología de los citados procesos sigue siendo desconocida, por su asociación a otros procesos autoinmunes y por la evidencia de que los pacientes presentan trastornos de la inmunidad tanto humoral como celular, se considera que en su etiopatogenia juega un papel fundamental la autoinmunidad. En los últimos años se han realizado importantes avances en la comprensión de los mecanismos fisiopatogénicos implicados en estos mecanismos autoinmunitarios.

### **1.2. Historia y clasificación de las miopatías inflamatorias:**

Las miopatías inflamatorias fueron descritas por primera vez por Wagner en 1863<sup>5</sup> y por Unverricht en 1887<sup>6</sup>. Durante el siglo XIX se realizaron otras cuatro descripciones de estas entidades. En 1931 Hernrich y Gottron caracterizaron las manifestaciones cutáneas propias de la DM pero no fue hasta 100 años después de su descripción inicial en que Bohan y Peter (1975) proponen la primera clasificación de estas miopatías inflamatorias<sup>7,8</sup>:

Grupo I: PM primaria idiopática

Grupo II: DM primaria idiopática

Grupo III: PM o DM asociada a malignidad.

Grupo IV: PM o DM juvenil asociada a vasculitis.

Grupo V: PM o DM asociada a enfermedad del colágeno.

La clasificación de Bohan y Peter no tenía en cuenta una serie de posibilidades:

- 1- La vasculitis no está limitada a las formas juveniles de DM/PM, pudiendo desarrollarse en formas adultas o en pacientes con miositis asociada a otras enfermedades del tejido conectivo.
- 2- No quedaba suficientemente aclarado el concepto de asociación a otras conectivopatías.
- 3- Una gran parte de los pacientes con DM se presentan inicialmente y durante largos periodos de tiempo, con lesiones cutáneas altamente sugestivas del citado proceso, pero sin evidencia de afectación muscular.
- 4- Por otro lado se planteó si la diferenciación entre DM y PM no era en realidad más académica que práctica, habiendo planteado algunos autores que tanto la PM como la DM amiopática y la DM constituirían formas de expresión diferentes de un mismo proceso patológico.

Estas diferencias de criterio han motivado que haya existido una marcada disparidad de opiniones a la hora de subclasificar las entidades incluidas en este grupo<sup>9, 10, 11</sup>. Mientras que las diferencias entre miopatía por cuerpos de inclusión y DM/PM ya están claramente establecidas, en lo referente a la PM y DM algunos autores las sitúan en categorías separadas mientras que otros las unifican pero diferencian las formas juveniles de las del adulto. Muchos autores consideran a la miositis asociada a neoplasias o a otras enfermedades del tejido conectivo en una categoría aparte mientras que otros consideran innecesaria esta distinción. La clasificación más aceptada actualmente considera las siguientes entidades dentro de este grupo:

## 1- Miopatías inflamatorias idiopáticas

PM primaria idiopática

DM primaria idiopática

PM y DM juvenil

Miositis asociada a enfermedad del colágeno vascular

Miositis asociada a malignidad

MCI

## 2- Otras formas de miopatía inflamatoria:

Miositis asociada a eosinofilia

Miositis ossificans

Miositis localizada o focal

Miositis de células gigantes

## 3- Miopatías causadas por infección

## 4- Miopatías causadas por fármacos y toxinas

En las últimas décadas se han descrito en la bibliografía médica dos nuevas formas especiales de DM,

- Síndrome antisintetasa, entidad asociada a anticuerpos específicos de miositis<sup>12</sup>.

- DM amioipática (DMA): entidad que asocia manifestaciones cutáneas evidentes de la enfermedad durante más de 6 meses, sin evidencia de afectación muscular asociada.

Considerando estas nuevas entidades e igualando el peso específico de las manifestaciones cutáneas y musculares en el diagnóstico, Sontheimer propone otra clasificación de las PM/DM:

## ***1- DM***

DM de inicio en la edad adulta

DM clásica

DM clásica

DM asociada a malignidad

DM como parte de un síndrome de solapamiento

DM clínicamente amiopática

DM amiopática (DMA)

DM hipomiopática

DM de inicio juvenil:

DM clásica

DM clínicamente amiopática

DMA

DM hipomiopática

## ***2- PM***

Polimiositis aislada

PM como parte de un síndrome de solapamiento

PM asociada a malignidad

## ***3- MCI***

### **1.3. Epidemiología:**

La DM y la PM son enfermedades poco comunes. La incidencia se sitúa en función de la zona geográfica valorada, entre 1 y 30 casos por  $10^6$  habitantes y año y la prevalencia se sitúan sobre los 10 casos por  $10^6$  habitantes. Hasta edades de 50 años, la DM es la más y la PM la menos frecuente de las miopatías inflamatorias. Por encima de los 50 años la mayor frecuencia corresponde a la MCI. Hay un mayor predominio de estas entidades en mujeres respecto a los varones (1.5-2:1) pero las diferencias en incidencia por sexos desaparecen al aumentar la edad y cuando la enfermedad se asocia a malignidad. En lo referente a las edades de aparición, existen diferencias significativas entre las diferentes entidades. Mientras que la DM afecta tanto a niños como adultos, la PM se manifiesta habitualmente a partir de la segunda década, siendo excepcional su desarrollo en la infancia<sup>13</sup>. El promedio de edad global de estas miopatías es de 40 años, si bien se considera una enfermedad bimodal, con dos picos de máxima incidencia uno entre los 10 y 15 años y otro entre los 40 y los 60. La MCI y la asociada a malignidad se presentan a partir de la 6ª década<sup>1, 2, 14, 15</sup>. Considerando a la DM aisladamente presenta también con dos picos de máxima incidencia, uno a los 5-9 años y otro a los 10-14<sup>16</sup>. En lo referente a la raza, la afro americana presenta una mayor incidencia. En los casos de DM juvenil se ha demostrado una relación con la infección por el virus Coxsackie B y una mayor incidencia en los meses de primavera en los que la infección por este virus es más prevalente. La relación con la época primaveral se ha observado también en los pacientes con anticuerpos anti-Jo1.

#### **1.4. Etiología:**

La etiopatogenia de la DM/PM sigue siendo desconocida. Se cree que esta enfermedad sistémica, que afecta de forma característica a la piel y el músculo, posee una base autoinmune<sup>3</sup> aunque la identidad del posible error inmunológico implicado sigue siendo un enigma. La hipótesis del origen autoinmune de estas miopatías se apoya en numerosas evidencias. Entre ellos cabe destacar: a/ la asociación de PM/DM con otras enfermedades autoinmunes o del tejido conectivo como son la enfermedad de Graves, el lupus eritematoso sistémico (LES), la esclerosis sistémica (ES), la tiroiditis de Hashimoto, la miastenia gravis, la diabetes mellitus tipo I, la esclerosis múltiple<sup>17</sup>, la dermatitis herpetiforme y el vitíligo; b/ la presencia de varios tipos de autoanticuerpos<sup>18</sup> en el suero de los pacientes; c/ la evidencia de miocitotoxicidad mediada por LT citotóxicos o por una microangiopatía mediada por el complemento, d/ la posible existencia de microquimerismo en las formas de DM juvenil<sup>19</sup>; y e/el efecto beneficioso de la terapéutica inmunosupresora /inmunomoduladora en un número elevado de pacientes con DM/PM.

A pesar de esta clara evidencia de la implicación de mecanismos autoinmunes en la génesis de estas miopatías, no se han identificado con seguridad antígenos diana específicos que se puedan considerar como implicados en la patogenia del proceso ni se conocen todos los agentes iniciadores de la autosensibilización. Tampoco se sabe si la inmunopatogenia es idéntica en todos los pacientes con estas entidades. No se puede descartar que en las distintas formas clínicas del proceso (DM idiopática juvenil, DM idiopática del adulto, DM asociada a malignidad) existan mecanismos etiopatogénicos diferentes o sólo parcialmente superponibles. No se sabe tampoco si los mecanismos patogénicos difieren según los órganos afectados, puesto que las condiciones antigénicas y respuestas inmunológicas de piel y músculo podrían no ser iguales. En la actualidad se va reconociendo cada vez más el papel que juega la piel como componente activo del sistema inmunitario humano. Expuesta a todos los factores exógenos, cualquier fallo de su complejo sistema de defensa, en el cual intervienen queratinocitos, células de Langerhans, linfocitos, macrófagos, células endoteliales y sus medios de comunicación mediante citocinas y receptores, puede dar lugar a cambios desencadenantes de una respuesta inmune general.

Al igual que otros procesos autoinmunes la DM/PM podría ser el resultado de una respuesta inmune aberrante, relacionada con una determinada predisposición genética y

desencadenada por un agente externo. Hay que considerar por ello la posible implicación de:

1. Predisposición genética
2. Posibles agentes externos estimuladores de una respuesta inmune en pacientes genéticamente predispuestos.
3. Mecanismos inmunológicos implicados y manifestaciones de los mismos. Entre los mecanismos inmunológicos posiblemente implicados en la patogenia de estas miopatías se incluyen<sup>20,21</sup>:
  - Autoanticuerpos
  - Fenómenos que indican una respuesta inmune en los órganos afectados.
  - Fenómenos inmunológicos implicados en la presentación de antígenos.
  - Infiltrado inflamatorio cutáneo y muscular.
  - Depósitos de inmunocomplejos y complemento.
    - Citocinas, quemocinas y metaloproteínas.
    - El complejo mayor de histocompatibilidad clase I.
    - Apoptosis.

#### **1.4.1. Predisposición genética**

Existen datos epidemiológicos que sugieren la existencia de factores genéticos implicados en el desarrollo de las miopatías inflamatorias. Observaciones como el desarrollo de DM/PM en gemelos homocigóticos y el mayor riesgo de enfermedad en familiares de pacientes apoyan la existencia de un trasfondo genético en estos procesos<sup>22,23</sup>.

Esta predisposición genética es necesaria para poder explicar porqué ante ciertos estímulos algunos individuos desarrollan enfermedades autoinmunes y otros no. En otras enfermedades en las que los mecanismos de autoinmunidad también parecen estar implicados se han comenzado a identificar fenotipos HLA de riesgo. La explicación a dicha asociación es la posible proximidad de los genes estudiados con otros de predisposición al desarrollo de autoinmunidad y que se heredarían conjuntamente. Así por ejemplo la respuesta inmune frente al antígeno celular Ro en muchos pacientes con síndrome de Sjögren o lupus eritematoso cutáneo subagudo (LECS) parece ir unida a la presencia del HLA DQ y/o DR 3. También en la DM se ha observado asociación a ciertos genes del HLA, aunque las asociaciones descritas son diferentes entre los grupos de estudio, posiblemente como consecuencia de la variabilidad genética

interpoblacional. Así por ejemplo, algunos autores observaron un % aumentado del fenotipo HLA-B8, DR3, DRW52, DQA1 en pacientes con DM; de los fenotipos HLA B18, B35, DR4 en la DM inducida por drogas; del fenotipo HLA-DR-7 en el subgrupo de pacientes con anticuerpos anti Mi-2 y del HLA-DR3 y el HLA-DQA1\* 0501 en pacientes caucásicos con DM juvenil. Un ejemplo de la variabilidad entre grupos étnicos diferentes se observa en pacientes japoneses en los cuales la DM juvenil se asocia no a HLA-DQA1\* 0501 sino a HLA-DRB1\*15021<sup>24</sup>. Más recientemente Rider y colaboradores<sup>25</sup> han confirmado que el HLA-DRB1\*0301 y la homocigosidad para HLADQA1 suponen un factor de riesgo para el desarrollo de miopatías inflamatorias familiares. Hasta el momento no se ha podido identificar relación entre la presencia de DM asociada a malignidad y un determinado fenotipo HLA.

El polimorfismo de otros genes no pertenecientes a los HLA clase II también se ha relacionado con las miopatías inflamatorias. Entre ellos se encuentran los del antagonista del receptor de IL-1<sup>26</sup> y los halotipos Gm/Km<sup>27</sup>, permitiendo algunos de ellos establecer el trasfondo genético de ciertos grupos étnicos que les predispone a padecer estas enfermedades. Otro de los polimorfismos genéticos implicados en la patogenia de la DM es el alelo del factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$  308A. Este alelo se encuentra con mayor frecuencia en niños con DM juvenil no tratada respecto a controles, y se asocia a una mayor producción de TNF- $\alpha$  por células mononucleares de sangre periférica y fibras musculares<sup>28,29</sup>. Se ha identificado una asociación entre este alelo y la fotosensibilidad en DM<sup>30</sup>. La exposición solar, en concreto a UVB, induce la producción celular de TNF- $\alpha$  posiblemente precipitando la enfermedad en pacientes con este polimorfismo.

Finalmente se han observado diferencias en la expresión tisular de genes en pacientes con estas miopatías. Analizando la expresión de genes en músculo a través de la cuantificación de RNA mediante técnicas de microarrays se ha observado que en la PM y MCI se produce una sobreexpresión de genes de varias inmunoglobulinas, mientras que en la DM se sobreexpresan genes inducibles por interferón<sup>31</sup>. Los autores identifican a esta sobreexpresión de genes inducibles por interferón como un dato significativo para la diferenciación de la DM de PM y MCI.

En otros estudios se demuestra la existencia de una sobreexpresión en músculo de pacientes con DM y PM de genes HLA I y II, proteínas inducibles por IFN, proteínas

natural killer, inmunoglobulinas y complemento; así como una expresión disminuida de genes de origen muscular<sup>32</sup>.

#### **1.4.2. Posibles desencadenantes externos o factores ambientales:**

En el intento de investigar los mecanismos autoinmunes responsables de una enfermedad, uno de los primeros pasos consiste en la identificación del/los órgano/s diana. Estos órganos son las estructuras contra las cuales se dirige la respuesta inmune y posiblemente son los que expresan el antígeno diana de dicha respuesta aberrante. Sería lógico pensar que en la DM estas estructuras residan en determinados componentes de la piel y/o el músculo y sobre las cuales ciertos factores desconocidos desencadenarán cambios antigénicos o respuestas inmunológicas cruzadas. La piel está expuesta a una infinidad de factores externos. Entre los posibles factores externos desencadenantes de estas reacciones inmunológicas hay que considerar.

- los rayos ultravioletas
- los agentes infecciosos
- Quimerismo

##### **1.4.2.1. Rayos ultravioletas y DM.**

Si bien la enfermedad autoinmune fotosensible por excelencia es el lupus eritematoso cutáneo subagudo (LECS), también en la DM se ha observado una relación entre la exposición solar y las lesiones cutáneas. Así se estima que en un 75-80% de los pacientes dichas lesiones se ven exacerbadas por la exposición a la radiación solar. Por otro lado las lesiones cutáneas más características de la DM se desarrollan precisamente en las zonas corporales fotoexpuestas como son la cara, el escote y las manos. Asimismo el control clínico de la DM suele ser más difícil y su inicio o la reactivación de la misma es más frecuente en primavera o verano, épocas en las que la exposición a dicha radiación es más importante. Estas observaciones empíricas quedan confirmadas por la presencia de reducción en las mínimas dosis de eritema (MED) a los UVB que se describen en cerca del 50% de los pacientes con esta enfermedad<sup>33</sup>.

Algunos estudios han relacionado diversas variables climáticas y geográficas con la proporción relativa de DM comparada con PM<sup>34,35</sup>. En estos estudios se ha objetivado que la intensidad de la radiación UV en la superficie terrestre es el mayor contribuyente a la proporción relativa de DM respecto a PM y de la proporción de anticuerpos anti-Mi-2. Este hallazgo sugiere que un factor ambiental podría modular la expresión tanto

clínica como inmunológica de la miositis resultante, y que en estos casos se produciría una desregulación inmune mediada por los RUV. Por otro lado se ha observado una fuerte asociación entre la presencia de anticuerpos anti-Mi2 y el HLA-DRB1\*0701<sup>36</sup> lo cual establecería una relación entre una posible predisposición genética, un factor ambiental (RUV) y el desarrollo de la enfermedad.

Hasta la actualidad los trabajos dedicados al análisis de la relación entre Rayos ultravioletas (RUV) y lesiones cutáneas de la DM son muy escasos. No obstante numerosas investigaciones realizadas en piel sana y cultivos celulares confirman una relación entre la luz solar y diferentes tipos de reacciones inflamatorias cutáneas. Por otro lado no se puede descartar que en la DM se desarrollen mecanismos fotoinmunológicos parecidos a los que se creen implicados en el desencadenamiento de otras enfermedades como el LECS.

Un posible mecanismo desencadenante de una respuesta inmune podría ser un cambio de antigenicidad de los queratinocitos provocado por el efecto de los RUV. Los cambios de la antigenicidad del queratinocito se podrían explicar por varios mecanismos. Por un lado se cree que los RUV podrían modificar algunas secuencias del DNA ocasionando así la presencia de secuencias anormales dentro de la célula epidérmica. Por otro lado se sospecha que la exposición a los RUV podría desencadenar mecanismos de translocación que provocarían que determinados antígenos nucleares y citoplasmáticos normalmente escondidos en el interior de la célula se expresasen en la membrana celular de los queratinocitos. En estas situaciones las "proteínas de estrés" podrían desempeñar un papel destacado. Durante situaciones de estrés celular estas proteínas tienen la función de acompañar a determinadas moléculas hacia el núcleo, el retículo endoplasmático o hacia la membrana plasmática. Se cree que estas proteínas, de la misma forma, podrían intervenir en el transporte de antígenos procesados o de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad hacia la superficie celular. Se ha podido comprobar que la RUV y también el calor incrementan la presencia de proteínas de estrés en los queratinocitos humanos. Los hallazgos de ciertos estudios sugieren que la luz ultravioleta ocasiona la translocación de los antígenos nucleares y citoplasmáticos Ro y La hacia la membrana plasmática de los queratinocitos, un fenómeno que se cree implicado en la patogenia del LECS. Otras investigaciones parecen indicar que la luz modula la capacidad de presentación de antígenos por parte de las células de Langerhans epidérmicas y probablemente también de los queratinocitos.

En estos momentos se desconocen los mecanismos por los que los RUV influncian el desarrollo de las lesiones cutáneas de la DM. No obstante no se puede descartar que, al igual de lo que parece ocurrir en el LECS, los RUV podrían provocar, en algunas células de la piel como los queratinocitos, o también en las células endoteliales, la expresión de antígenos desencadenantes de una respuesta inmunológica o de citoquinas, quemocinas o moléculas de adhesión capaces de inducir, modificar o amplificar las respuestas inflamatorias o incluso inducir la apoptosis celular.

Estas suposiciones son apoyadas por recientes descubrimientos. Los datos genéticos de los que disponemos actualmente sugieren que el aumento de la apoptosis de queratinocitos observado en estos procesos fotosensibles (LECS y DM) puede ser consecuencia de los niveles aumentados de TNF- $\alpha$  secundarios a la estimulación por RUV en pacientes con el polimorfismo promotor de TNF (TNF- $\alpha$  308A) sensible a dicha radiación<sup>30</sup>. El aumento de células apoptóticas inducida por RUV se relaciona con un incremento en la concentración de péptidos antigénicos secuestrados<sup>37</sup>. La posible translocación de estos péptidos inicialmente intracelulares podría activar el sistema inmune. Este fenómeno estaría facilitado por la asociación del genotipo anterior a genes productores de bajas cantidades de lecitina ligadora de manosa (manose binding lectin (MBL)), proteína implicada en aclaramiento de componentes de células apoptóticas<sup>38</sup>.

#### **1.4.2.2. Exposición a agentes infecciosos y DM.**

La posible relación etiológica de las miopatías inflamatorias con infecciones virales ha sido preconizada en muchas ocasiones desde que en 1967 Chou<sup>39</sup> describió la existencia de estructuras túbulo-filamentosas similares a las nucleocápsides helicoidales -de myxovirus en un paciente afecto de PM crónica. Esta hipótesis fue también apoyada por la inducción experimental en animales de laboratorio de cuadros de miocarditis y PM mediante virus Coxsackie B1<sup>40</sup>. Numerosas epidemias de DM infantil, generalmente en épocas estivales, se han asociado a infecciones por Coxsackie B apoyándose en argumentos serológicos<sup>41,42</sup>. En general podemos resumir diciendo que varios virus (especialmente coxsackie, influenza, parvovirus, paramyxovirus, citomegalovirus, Epstein-Barr) y también bacterias (*Borrelia burgdorferi*, estreptococos) se han asociado indirectamente con miositis agudas. Otros microorganismos como estreptococo piógenos se han relacionado con exacerbaciones en pacientes con DM juvenil<sup>43</sup>.

Es conocida la asociación temporal de estas infecciones y el desarrollo de importantes ataques de rhabdomiolisis. El hecho de observar una asociación con una infección siempre plantea la cuestión si lo que se ve es una inflamación provocada por el propio proceso infeccioso o si se trata de un evento inmunológico desencadenado por dicha infección. Experiencias previas han demostrado por ejemplo la capacidad de organismos como el citomegalovirus de inducir la liberación de proteínas intracelulares como la calreticulina<sup>44</sup>. Estas proteínas son también liberadas en episodios inflamatorios de ciertas enfermedades autoinmunes y se considera que podrían actuar como autoantígenos en procesos como el LES.

No es fácil establecer una relación directa entre una posible infección y la DM. Basándonos en un análisis de los órganos afectados se podría considerar que la presencia del genoma vírico en las fibras musculares miosíticas, indicaría el origen vírico de la miositis<sup>45,46,47</sup>. Aunque algunos estudios habían señalado la detección de dichas partículas víricas o su ADN en las fibras afectas de estas miopatías, estos hallazgos no han podido ser confirmados al utilizar técnicas altamente sensibles como la PCR<sup>48,49</sup>. Si se ha demostrado en el músculo de niños genéticamente susceptibles la existencia de genes inducibles por interferón, apoyando el posible origen vírico de la desregulación autoinmune.

La ausencia de genoma viral en el seno del tejido muscular de las miopatías inflamatorias no descarta el posible papel desencadenante de dichos virus en la patogenia de estas enfermedades, pudiendo participar en ella como estímulo antigénico inicial. Por ello un reservorio viral diferente al muscular podría explicar las observaciones comentados anteriormente. Una miositis de origen viral podría así desencadenarse por medio de tres mecanismos: a/ un mimetismo molecular entre proteínas virales y celulares; b/ la expresión patológica por parte de las células musculares inicialmente infectadas de antígenos de membranas celulares; c/ una alteración de la actividad inmunosupresora por el virus, induciendo una pérdida de la tolerancia periférica de los linfocitos T (LT) frente a antígenos musculares del huésped. Apoyarían la primera de las hipótesis los hallazgos que sugieren que algunos de los autoanticuerpos detectados en el proceso podrían estar dirigidos contra el RNA viral incorporado en la célula. En concreto el autoanticuerpo anti-Jo está dirigido contra la enzima citoplasmática histidil-t-RNA sintetasa. Se ha observado que esta sintetasa junto con las cadenas ligeras y pesadas de la miosina presenta similitudes con proteínas de superficie de ciertos virus animales<sup>50</sup> como el picornavirus de la encefalomiocarditis o

el coxsackie<sup>51</sup>. Estos virus necesitan en el curso de su ciclo una fase de histidinilización. Los virus histidinilizados podrían ser inmunógenos, induciendo una respuesta autoinmune patógena a través de la estimulación de la síntesis de anticuerpos anti Jo-1. Estos anticuerpos podrían entonces desencadenar una reacción cruzada con las sintetasas del individuo infectado<sup>52</sup>.

De igual forma estudios recientes han demostrado que epitopos de la cadena pesada de la miosina del músculo humano son homólogos a secuencias específicas de aminoácidos de la proteína M5 del estreptococo piógenes. El reconocimiento de estos epitopos en el músculo esquelético desencadenaría una activación específica tisular mediada por LT citotóxicos<sup>53</sup>.

La mejor evidencia de conexión entre las miopatías inflamatorias y los virus son los retrovirus. Al menos seis de ellos se han relacionado con la PM y la MCI<sup>54,55,56</sup>.

En algunos pacientes con miopatías relacionadas con HIV o human T-cell- leukemia virus-1 (HTLV-1), se ha demostrado mediante métodos inmunohistoquímicos la presencia de partículas víricas en las células infiltrantes, pero no dentro de las fibras musculares. En el caso de estas infecciones es posible que los linfocitos infectados desencadenen una reacción inmunológica no específica, que justificaría el carácter más citotóxico propio de la reacción inmunitaria en la PM. Por otro lado se considera que el HTLV-1 podría tener una actividad miolítica propia<sup>57,58</sup>.

Otra posibilidad es considerar el foco cutáneo como el origen de una infección vírica capaz de desencadenar una DM. Se sabe que la infección de las células de la piel por determinados virus provoca diferentes respuestas inmunológicas tanto a nivel local como general. Se sabe por ejemplo que la infección de los queratinocitos por algunos virus como el Herpes simple tipo I puede desencadenar en ellos el fenómeno de apoptosis. Asimismo se sabe que algunos virus modifican la respuesta inmunológica cutánea normal. Se ha demostrado por ejemplo, que en los pacientes con SIDA la respuesta inmunológica a nivel de la piel sufre cambios importantes, tanto a nivel de las células de Langerhans como de los linfocitos. A pesar de todo ello, en la actualidad no existen pruebas que confirman que una infección cutánea por un virus esté en relación con el desencadenamiento de la DM.

#### **1.4.2.3. Quimerismo y DM.**

La similitud que en ocasiones presenta la DM respecto a la enfermedad del injerto contra huésped ha hecho plantear la posibilidad de que en la patogenia de la enfermedad puedan estar implicadas células autoreactivas no propias del individuo.

El tráfico recíproco de células entre las circulaciones materna y fetal es un fenómeno normal durante el embarazo. Se ha descrito la presencia de células fetales en la circulación de mujeres tanto sanas como afectas por enfermedades autoinmunes con embarazos previos. La persistencia de estas células en la circulación incluso durante años<sup>59, 60</sup> puede contribuir al aumento de incidencia de estas enfermedades en mujeres durante y después de sus épocas procreativas.

En lo que respecta a la DM se ha descrito la presencia de células maternas en sangre de pacientes con DM juvenil<sup>19, 61, 62</sup>. La frecuencia de este quimerismo es superior en pacientes con DM juvenil respecto a controles o a hermanos gemelos sanos<sup>63</sup>. En los tres grupos poblacionales la presencia de dicho quimerismo se ha relacionado con el alelo HLA-DQA1\*0501 en los individuos estudiados o en las células maternas transferidas. Por otro lado los LT maternos han demostrado ser reactivos contra las células del huésped. Por ello se ha sugerido un papel de las células quiméricas en la patogenia de la DM juvenil y que el genotipo HLA de la madre facilitaría la transferencia y/o persistencia de las células en la circulación fetal. En definitiva el genotipo HLA podría por ello contribuir a la pérdida de tolerancia y la activación de las células quiméricas iniciando así el proceso patológico<sup>64</sup>. No obstante esta relación no ha sido observada por otros autores<sup>65</sup>.

#### **1.4.2.4. Otros desencadenantes:**

Otros agentes no infecciosos han sido implicados en la patogenia de la DM. Entre ellos se cuentan las vacunas (hepatitis B, triple vírica, fiebre tifoidea, cólera) y fármacos como la D-penicilamina y la hormona del crecimiento<sup>66</sup>. Recientemente se ha publicado un caso de DM grave desarrollada tras la ingesta de suplementos herbales inmunoestimuladores (*Spirulina platensis* y *Aphanizomenon flos-aquae*)<sup>67</sup>. Este paciente presentaba heterocigosidad para el TNF- $\alpha$  (308A), polimorfismo genético que predispondría a una síntesis aumentada de TNF- $\alpha$  ante ciertos estímulos y en consecuencia a un desarrollo de la enfermedad en esas circunstancias.

### 1.4.3. Mecanismos inmunológicos implicados

#### 1.4.3.1. Autoanticuerpos

Una de las características destacadas de las enfermedades autoinmunes es la presencia de autoanticuerpos, sea en un determinado tejido o en el suero. La producción exagerada de los autoanticuerpos se interpreta como el resultado de una pérdida de la autotolerancia inmunológica. Sin embargo en la mayoría de estas patologías no se ha logrado comprobar el papel patogénico de los autoanticuerpos. Existen evidencias del aparente papel que juega la inmunidad humoral en la patogenia de la miopatía propia de la DM y de que la microangiopatía que la caracteriza podría estar mediada por el complemento, pero no se ha podido demostrar que los autoanticuerpos detectados en estos pacientes sean los que activan localmente dicho complemento.

La correlación de la variación de los títulos de alguno de estos anticuerpos con la actividad de la DM parece sugerir su posible implicación en el proceso, si bien por otro lado puede ser un marcador inespecífico de activación inmunológica.

En un elevado porcentaje de los pacientes con miopatías inflamatorias se han encontrado diferentes autoanticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares y citoplasmáticos. Como en el resto de procesos autoinmunes, la presencia de estos anticuerpos y su detección tiene un interés más diagnóstico que etiopatogénico, ya que permiten establecer asociaciones a otros procesos autoinmunes o a ciertos subtipos clínicos<sup>68</sup>. Algunos de estos autoanticuerpos como el ocasionalmente hallado anti Ro/SS-A no son específicos de miositis, puesto que se detectan en otras enfermedades del tejido conectivo.

Existen otros autoanticuerpos, específicos de miositis (MSA), que se detectan incluso meses antes del desarrollo de la clínica y cuyos títulos en ocasiones se correlacionan con la actividad muscular del proceso. Existe una fuerte asociación entre estos autoanticuerpos y ciertos HLA (DR3, DRw52, DR7)<sup>69, 70</sup>, apoyando la teoría de la predisposición genética del proceso. Se han descrito aproximadamente 12 MSA, que a su vez se pueden subdividir en 4 grupos. Los MSA más frecuentes son los dirigidos contra una de las 6 aminoacyl-transfer RNA sintetasas, que catalizan la unión de cada aminoácido con su correspondiente RNA<sub>t</sub><sup>71, 72, 73, 74, 75, 76</sup> para la síntesis proteica.

El segundo grupo de MSA va dirigido contra la llamada partícula de reconocimiento de señales (signal recognition particle, SRP) un complejo de 6 proteínas y una molécula de

RNA que acompañan a las proteínas recién sintetizadas hacia el retículo endoplasmático y que se encuentran en aproximadamente el 20% de los pacientes. El tercer grupo de MSA, denominados anti Mi-1 y anti Mi-2 se dirigen contra un componente proteico nuclear de función desconocida<sup>71, 73, 74, 77, 78, 79, 80</sup>. El resto de MSA constituye el grupo de autoanticuerpos menos estudiados y definidos y serán comentados más adelante.

La importancia y especificidad de estos anticuerpos en la patogenia de la enfermedad no ha sido aclarada, ya que no son específicos de tejido o enfermedad y aparecen globalmente en menos del 25% de los pacientes. Por otro lado pueden detectarse en el suero de pacientes con enfermedad pulmonar intersticial sin miositis<sup>81, 82</sup>. En la actualidad el interés de los MSA reside sobre todo en la observación de que algunos de ellos se encuentran solamente en algunos subgrupos de pacientes que suelen presentar determinados signos clínicos. Por ello, su hallazgo se podría interpretar como un marcador específico, aunque quizá poco sensible, de formas clínicas específicas de la enfermedad.

Cabe mencionar que en un 44% de los casos de dermatomiositis se han detectado anticuerpos anticélula endotelial, cuyo significado en la actualidad se desconoce.

A pesar de que el papel de todos estos autoanticuerpos en la génesis del proceso sigue siendo desconocido, se han producido una serie de avances que nos ayudan a comenzar a comprenderlo. Recientemente se ha demostrado la capacidad de algunas de las sintetasas (hisidil-tRNA sintetasa, asparaginil-tRNA sintetasa) de inducir la migración de ciertos tipos de células implicadas en la respuesta inflamatoria (linfocitos CD4+, CD8+, monocitos activados por IL-2, células dendríticas inmaduras) o la activación receptores de quemocinas. Se considera por ello que estas anti-sintetasas, posiblemente liberadas de células musculares dañadas, podrían perpetuar el proceso inflamatorio a través del reclutamiento de células mononucleares. La selección de estas moléculas como diana para la síntesis de anticuerpos podría ser una consecuencia de las propiedades proinflamatorias de dichas moléculas<sup>83</sup>.

### **1.4.3.2. Fenómenos que indican una respuesta inmune en los órganos afectados**

#### **1.4.3.2.1. Queratinocitos epidérmicos**

Estudios recientes coinciden en afirmar que los queratinocitos pertenecen al grupo de células presentadoras de antígenos. Igual que otras células accesorias de la piel como las células dendríticas y los macrófagos, los queratinocitos se caracterizan por la expresión específica de diversas moléculas de adhesión celular y por la producción de citocinas según su estado de activación. Así, los queratinocitos son capaces de regular directamente o indirectamente la proliferación y la activación de los LT, con todas las consecuencias que ello conlleva.

Los queratinocitos son capaces por ejemplo de expresar en su superficie la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1). Esta expresión en condiciones normales es muy baja, observándose aumentada en algunas regiones de la epidermis de lesiones cutáneas de DM, lupus eritematoso cutáneo (LED) y otras dermatosis inflamatorias. Este fenómeno se puede atribuir a diversas causas. Por un lado se ha demostrado que los RUV son capaces de inducir la expresión de ICAM-1, circunstancia que parece tener importancia en el desencadenamiento del lupus eritematoso cutáneo subagudo. Por otro lado, la epidermis se encuentra bajo los efectos de otras citocinas como el IFN- $\gamma$  procedente de los infiltrados inflamatorios subepidérmicos o el TNF- $\alpha$  liberado por las células endoteliales y mastocitos. Estas citocinas están presentes en la zona de transición dermoepidérmica y son capaces de inducir la expresión de ICAM-1 por los queratinocitos

La expresión de ICAM-1 por parte de las células epidérmicas facilita su interacción con otras células inmunológicamente activas. La molécula ICAM-1 es el ligando del "antígeno asociado a la función linfocitaria" (LFA-1), inducible en todos los leucocitos. La interacción entre células LFA-1 positivas con las células capaces de expresar ICAM-1 que a su vez pueden ser otros leucocitos, células endoteliales, u otros, se considera un paso importante en la inducción del reconocimiento de antígenos específicos, migración leucocitaria hacia los tejidos así como la citotoxicidad inmunológica.

A parte del ICAM-1, los queratinocitos basales expresan también CD40. Esta expresión permitiría su interacción con LT CD4+ activados potenciando su activación y la liberación de citoquinas proinflamatorias para el mantenimiento del proceso inflamatorio cutáneo.

#### **1.4.3.2.2. El endotelio vascular**

El endotelio vascular está íntimamente implicado en el proceso patológico de la DM. No sólo porque constituye la diana inicial de la agresión inmunológica del proceso a nivel muscular, sino porque participa en el proceso inflamatorio a través de su interacción con los componentes del infiltrado inflamatorio.

Debemos tener en cuenta que para que se produzca la infiltración tisular por las células del infiltrado, los leucocitos circulantes deben adquirir un fenotipo adherente y transmigrar a través del endotelio y la matriz extracelular. Tal fenómeno requiere complejas interacciones entre los receptores presentes en la membrana leucocitaria y sus contrareceptores inducibles en las células endoteliales. Las células endoteliales de lesiones cutáneas de DM expresan E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1. Estas moléculas inducen la interacción inicial de los linfocitos, especialmente los LT (LT) que expresan los receptores correspondientes a dichas moléculas de adhesión (VLA-4 +, LFA-1 +). La inmunorreactividad para la VCAM-1 se observa sobre todo a nivel de las células endoteliales de la dermis reticular superior, así como en algunas células inflamatorias. La inmunorreactividad para E-selectina parece ser menos extensa, y se detecta preferentemente en segmentos de vasos de la dermis papilar y dermis reticular superior. A nivel muscular los estudios inmunohistoquímicos realizados en pacientes con DM demuestran también una expresión elevada de ICAM-1, VCAM-1 y de IL-1 $\alpha$  en células endoteliales<sup>84, 85, 86</sup>. Cabe señalar que la expresión de las moléculas de adhesión por parte de las células endoteliales en la piel y el músculo constituye un factor normal de la regulación inflamatoria.

En cuanto al papel del endotelio como diana de la agresión inmunológica, numerosos autores coinciden en señalar que la vasculopatía constituye un elemento clave en la patogenia de la DM. Las alteraciones de la microvasculatura, tanto en el músculo como en la piel, forman parte de la imagen clínica e histológica característica de la enfermedad no sólo en las formas juveniles, como se consideraba inicialmente, sino también en las del adulto. A nivel cutáneo las teleangiectasias periungueales las hemorragias en astilla, junto con áreas completamente avasculares son hallazgos clínicos objetivables mediante la capilaroscopia periungueal. Estos cambios clínicos sugestivos de afectación vascular se asocian a datos dermatopatológicos característicos que consisten en la tumefacción endotelial, engrosamiento de la pared vascular, ectasia y depósito de una sustancia PAS-positiva en la pared de los vasos dérmicos.

A nivel muscular la evidencia del daño vascular del proceso se traduce en un número total de capilares disminuido así como un aspecto patológico de los mismos en las biopsias musculares que coinciden con observaciones parecidas realizadas en las lesiones cutáneas<sup>87</sup>.

Se considera que esta alteración de la microvascularización a nivel muscular podría justificar una alteración de la perfusión, que conduciría a la hipoxia tisular y a un déficit en el aporte energético. En estudios de resonancia magnética (RM) espectroscópica realizada en pacientes con DM se ha observado una disminución de los componentes de los fosfatos de alta energía, trifosfato de adenosina (ATP) y fosfocreatina a nivel muscular. Estas alteraciones inducidas por la hipoxia pueden inducir un aumento local de IL-1, factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) y citocinas, que participarían como comentaremos posteriormente en el desencadenamiento de la respuesta inflamatoria característica del proceso.

La predisposición a padecer esta microangiopatía se ha relacionado también con el alelo TNF $\alpha$ -308A. Se ha identificado una asociación entre el alelo TNF $\alpha$ -308A y enfermedad de curso crónico así como con oclusión capilar y compromiso vascular en músculo no tratado<sup>88</sup>. En pacientes con DM juvenil se ha observado una asociación entre este alelo y un incremento de los niveles plasmáticos de trombospondina-1 (TSP-1), un potente mediador antiangiogénico que juega un papel importante en la proliferación de la musculatura lisa vascular. Como consecuencia de esta proliferación se produciría la hiperplasia de la íntima y la reducción de la luz vascular que contribuiría a la oclusión vascular<sup>89</sup>. Debido a ello se ha considerado a este alelo como un marcador genético de mayor grado de oclusión vascular, posiblemente relacionado con estos niveles aumentados de TSP-1.

Finalmente en estudios histológicos en músculos de pacientes con DM y esclerodermia, se ha observado, a parte del daño endotelial y la reducción de la red capilar característicos, la expresión de factores reparadores relacionados con la angiogénesis (factor inducible por hipoxia 1- $\beta$  (HIF-1- $\beta$ ), subunidad  $\beta$ 3 de la integrina, y receptor del factor de crecimiento endotelial vascular-1 (VEGFR1))<sup>90</sup>. Este hecho demuestra que en las miositis, la hipoxia/isquemia induce un incremento en la expresión de factores angiogénicos, si bien su impacto es insuficiente para reparar la reducción de la citada red capilar.

### **1.4.3.3. Fenómenos inmunológicos implicados en la presentación de antígenos**

En la respuesta inmunológica, las células presentadoras de antígenos migran a los órganos linfoides. En ellos se realiza el procesamiento de los antígenos, que junto con la expresión del HLA permite realizar la estimulación de LT virgen ( $LT_h0$ ) para su conversión en  $CD4^+$  o  $CD8^+$ . En las miopatías inflamatorias se sabe que las fibras musculares expresan altos valores de HLA I y II y que se produce una interacción entre estas fibras y los LT. Lo que no se conoce de forma precisa es cómo se produce la presentación de antígenos y cómo se inicia la respuesta autoinmunitaria característica de estos procesos. Sabemos que en la PM predominan los LT  $CD8^+$  y los macrófagos en el infiltrado endomisial característico del proceso, mientras que en la DM hallamos un mayor porcentaje de linfocitos B (LB) y LT  $CD4^+$  en la región perivascular. Para un adecuado estímulo de las células presentadoras de antígeno se precisa a parte de la presencia de HLA I o II de un microambiente específico en el que son importantes la presencia de interleucina (IL) 12, IL -1, TNF- $\alpha$ , factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y de co-estimuladores como CD80, CD86, CD40 y receptores de quemocinas CCR 7 que facilitan la interacción y la activación de las  $LT_h0$ .

En condiciones normales en el músculo no es habitual hallar un número significativo de células dendríticas. La inmunotipificación del infiltrado mononuclear de las miopatías demuestra sin embargo la presencia de una cantidad significativa de las mismas que presentan además una coexpresión de CD86/40 y CD86/HLA II. Los LT expresan CD28 y CD40L, co-estimulantes de la interacción entre ambas células. La expresión de HLA I y II e ICAM-1, citocinas como IL6, IL-15, GM-CSF, TNF- $\alpha$ , e IL-1 $\alpha$ , quemocinas como IL-8, proteína quimotáctica de monocitos (MCP-1) y proteína inflamatoria de macrófago (MIP-1 $\alpha$ ) en las fibras musculares contribuye a aumentar la eficacia en el proceso de presentación de antígenos. Todo ello sugiere una maduración local de dichas células. Todos estos hallazgos sugieren la existencia de una interacción celular local que iniciaría la respuesta autoinmunitaria en estas entidades.

#### **1.4.3.4. Infiltrado inflamatorio cutáneo y muscular.**

En las lesiones cutáneas de la DM es característica la presencia de un infiltrado inflamatorio de predominio perivascular o distribuido en pequeños focos de localización subepidérmica. Aunque prácticamente constante, este infiltrado inflamatorio suele ser menos intenso que en el LEC. Los estudios encaminados a conocer sus características fenotípicas demuestran que los infiltrados inflamatorios cutáneos de la DM habitualmente están compuestos por macrófagos (CD68+), LT y células de Langerhans (CD1a+). Como suele ocurrir en la mayoría de los procesos inflamatorios dérmicos, los linfocitos B (CD19+) están ausentes. Dentro de los LT suele observarse un predominio más o menos pronunciado de LT colaboradores CD4+ sobre la subpoblación supresora/citotóxica CD8+<sup>91,92</sup>. Estudios recientes han demostrado que la mayoría de linfocitos CD4+ del infiltrado presentan signos de actividad (HLA-DR+, CD40L+)<sup>93</sup> y se asocian a la expresión de CD40 en la superficie de queratinocitos basales. Como se ha comentado anteriormente la interacción entre ambas poblaciones celulares podría inducir la síntesis de citoquinas y quemoquinas que contribuirían en el proceso inflamatorio.

La segunda población celular más importante en el infiltrado cutáneo de la DM, los macrófagos, podrían contribuir en la cronificación del proceso inflamatorio a través de la liberación de enzimas líticas y radicales libres que inducirían daño vascular. Su presencia en el infiltrado puede estar relacionada con la expresión aumentada de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina) en las células endoteliales o a la quimiotaxis inducida por la liberación de C3a y C5a en el proceso de generación del complejo de ataque de membrana.

Algunas zonas de la epidermis, parte de los endotelios, así como un porcentaje elevado de los macrófagos y LT, expresan las moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad de clase II en su superficie. El análisis de las células de Langerhans puede demostrar, en algunos casos, un patrón de distribución irregular a lo largo de la epidermis y se puede ver un número variable de células de Langerhans dentro de los infiltrados inflamatorios dérmicos.

La comparación del fenotipo celular inflamatorio cutáneo con el de los infiltrados inflamatorios musculares, permite apreciar una diferencia cualitativa considerable. Así, la celularidad inflamatoria muscular en la DM se compone de una proporción importante de linfocitos B, prácticamente ausentes en el infiltrado cutáneo, LT (con un ratio de CD4+ superior a CD8+)<sup>94</sup> y macrófagos. Los linfocitos B se suelen encontrar en

estrecho contacto con los LT CD4+, y macrófagos y existe una relativa ausencia de infiltración inflamatoria de fibras no necróticas.

La presencia pronunciada de linfocitos B, especialmente en la vecindad de los vasos ha sido considerada por algunos autores como una de las características diferenciales del infiltrado inflamatorio muscular, especialmente útil en la diferenciación de la PM. Se han observado también diferencias en los macrófagos del infiltrado de ambos procesos. En DM estos macrófagos expresan fundamentalmente marcadores tardíos de activación (25F9) y se encuentran principalmente a nivel del perimisio, mientras que en la PM los macrófagos son principalmente endomisiales y expresan marcadores de activación temprana (MRP14 y 27E10). A parte de las diferencias en la localización de este tipo celular las diferencias en los marcadores de activación sugieren una participación de las mismas en las fases más agudas de la enfermedad en PM, frente a un posible papel en la persistencia de las lesiones en el proceso de la DM<sup>95</sup>.

En la PM se observa un infiltrado que afecta a fibras intactas y no necróticas, compuesto fundamentalmente por LT, con un predominio de CD8+, especialmente entre las células invasivas del músculo. Otros marcadores demuestran que entre los LT del infiltrado predominan los citotóxicos sobre los supresores<sup>96</sup>. Estas diferencias en el fenotipo y distribución del infiltrado inflamatorio sugieren la existencia de mecanismos patogénicos distintos entre ambos procesos, apoyando una hipótesis de implicación de un mecanismo humoral en la génesis de la DM<sup>97</sup>, frente a otro de inmunidad celular en la PM<sup>98</sup>.

A diferencia de los claros indicios del papel que podría jugar la inmunidad humoral en la lesión muscular de la DM, las diferencias comentadas en las características del infiltrado inflamatorio de las lesiones cutáneas hacen que el mecanismo patogénico de dichas lesiones esté menos claro. La conformación fenotípica del infiltrado inflamatorio encontrada en la piel de los pacientes con DM muestra una clara similitud con el de otras enfermedades como el LEC. Esta observación podría significar la existencia de infiltrados inflamatorios órganos específicos y de la implicación de autoanticuerpos en su génesis. No obstante, los depósitos de Ig en la unión dermoepidérmica en las biopsias cutáneas de lesiones de DM son mucho menos consistentes que los observados en el LEC.

### **1.4.3.5. Depósitos de inmunocomplejos y complemento.**

#### **1.4.3.5.1. Unión dermoepidérmica.**

La comprobación de depósitos de inmunoglobulinas y del complemento a nivel de la unión dermoepidérmica de las lesiones cutáneas de DM son menos constantes que en el LEC<sup>99, 100</sup>. Así, en un estudio realizado en nuestro centro, se detectaron depósitos de IgG, IgM y/o C3 en piel lesional en tan solo un 11% de los casos<sup>91</sup> estudiados. Si por el contrario se estudian los depósitos del complejo de ataque de membrana (CAM), estos se encuentran hasta en un 86% de los casos<sup>101</sup>.

#### **1.4.3.5.2. Endotelios dérmicos y musculares**

Diversos estudios coinciden en destacar la presencia de depósitos de inmunoglobulinas (IgG e IgM), factor C3 y especialmente del complejo de ataque de membrana (CAM) a nivel de la microvascularización del tejido muscular de pacientes con DM<sup>102, 103, 104</sup>. Estos depósitos se producen característicamente tanto en músculos claramente afectados por el proceso como en regiones mínimamente afectadas o preservadas. De hecho, en la actualidad, se considera que la miopatía de la DM es el resultado de una lesión vascular mediada por el sistema del complemento, y que en la DM la presencia de los depósitos de CAM en los endotelios precede el daño muscular, siendo la lesión más precoz y específica de esta entidad<sup>103, 105, 106</sup>. La reducción de los capilares en relación con los depósitos de CAM en la microvasculatura muscular explicaría en parte la atrofia perifascicular observada en un alto porcentaje de pacientes con dermatomiositis.

Por otro lado, también se pueden detectar depósitos de CAM a nivel de los vasos dérmicos de las lesiones cutáneas de la DM. En un estudio previo se detectaron estos depósitos en un 77% de los casos estudiados, aunque la extensión de estos depósitos podía variar considerablemente. Al igual que en el músculo, los depósitos de CAM en los vasos dérmicos no son un hallazgo específico de esta entidad, puesto que también en el LEC se pueden observar, aunque el número de vasos afectados parece ser menor.

Con nuestros conocimientos actuales, la explicación a estas observaciones continua siendo difícil. Las funciones que desarrolla el sistema del complemento se pueden dividir esencialmente en dos categorías: la citólisis mediada por el sistema del complemento, en la cual el complejo de ataque de membrana ejerce una función destacada; y por otro lado una gran cantidad de efectos biológicos incluyendo los fenómenos de opsonización, promoción de fagocitosis, activación de respuestas

inflamatorias, y aclaramiento de complejos inmunes. La observación de los depósitos de CAM en la piel y el músculo de pacientes con dermatomiositis permite suponer que el sistema del complemento participa en los fenómenos fisiopatológicos implicados en esta enfermedad. La activación del sistema del complemento por el depósito intravascular de inmunocomplejos circulantes es una de las hipótesis planteadas para justificar la presencia de estos depósitos del CAM en los citados vasos. Existen, no obstante, observaciones que contradicen este supuesto papel de la activación del complemento y los consiguientes depósitos vasculares de CAM en la patogenia del proceso, como la descripción de DM en pacientes con déficits congénitos totales de C9, que teóricamente impedirían la génesis de CAM en estos pacientes<sup>107</sup>.

El depósito de CAM en la microvascularización está parcialmente regulado por CD59, una proteína de membrana reguladora que se expresa en numerosas células y tejidos del organismo, incluyendo el endotelio de piel, músculo, pulmón y miocardio. Esta proteína regula la actividad del CAM uniéndose al C8 y C9 integrados en el complejo molecular, evitando el posterior reclutamiento y polimerización de C9. Con ello consigue bloquear el ensamblaje completo del complejo<sup>108</sup>. El sarcolema de las fibras musculares normales marca intensamente para CD59 en las tinciones inmunohistoquímicas<sup>109</sup>. En un estudio reciente de Goncalves y colaboradores<sup>110</sup> se observó que la tinción para CD59 en las fibras musculares de pacientes con DM juvenil era débil e irregular. Además la mayoría de los vasos presentaban tinción positiva para CAM siendo intensa en 2/3 de los casos. Observan la existencia de una relación inversa entre el depósito de CAM y la presencia de CD59 en dichos vasos. La neutralización de CD59 convierte a las células en susceptibles de lisis por el complemento<sup>111</sup>. Por ello estos autores suponen que la reducción en la expresión de CD59 en las fibras musculares y vasos de pacientes con DM juvenil estaría asociada al inicio y perpetuación del proceso inflamatorio y lesión de la fibra muscular mediada por una activación excesiva del complemento provocada por el depósito de CAM. Este depósito en la microcirculación muscular induciría la lesión vascular con la consiguiente isquemia muscular. Esta isquemia impediría la síntesis normal de CD59 por las fibras musculares, disminuyendo así la protección contra la actividad del CAM. En otro estudio reciente se ha observado la expresión de CD59 en interior de las vacuolas de las de fibras musculares con cambios degenerativos de pacientes con PM y DM y en la superficie de las fibras regeneradas de dichos procesos<sup>112</sup>.

#### **1.4.3.6. Citoquinas, quemocinas y metaloproteinasas :**

Existen numerosos trabajos que han estudiado los mediadores involucrados en la inflamación muscular de la DM. Estos estudios han demostrado que las citoquinas proinflamatorias inducen una amplificación de la respuesta inflamatoria, participando de esta forma en el mantenimiento de la lesión tisular.

Se ha observado por ejemplo que en la DM se liberan citoquinas y quemocinas relacionadas con la activación del complemento<sup>113, 114</sup>. Estas inducen la expresión de las moléculas de adhesión celular (VCAM-1) e intercelular (ICAM-1) en las células endoteliales y facilitan la migración de LT activados a los espacios perimisial y endomisial. Los LT y los macrófagos a través de sus integrinas se ligan a las moléculas de adhesión pasando al músculo a través de la pared vascular endotelial.

La interacción entre dos moléculas coestimuladoras importantes como son la CD40, expresada por las fibras musculares y queratinocitos en pacientes con DM y el ligando de CD40 (CD40L) expresado por LT CD4+ activados podría contribuir a la patogenia de la DM a través de la estimulación de la inflamación por la inducción en la producción de citoquinas como la IL-6 y IL-15, y quemocinas como IL-8 y la MCP-1 (proteína quimioatrayente de monocitos)<sup>115</sup> por parte de los linfocitos.

Las células mononucleares de niños con DM activa desarrollan capacidad citotóxica y producen TNF $\alpha$  cuando se exponen a epitopos específicos de estreptococos beta hemolíticos que presentan secuencias homólogas con la miosina. La síntesis de TNF- $\alpha$  está incrementada en pacientes con DM juvenil que presentan su alelo 308A. Este aumento se asocia como hemos comentado anteriormente a incrementos en la producción y consecuentemente niveles plasmáticos<sup>116</sup> de TSP-1 que ha sido implicada en la oclusión vascular del proceso. El TNF- $\alpha$  participaría en el proceso de oclusión vascular a través de la estimulación en la síntesis de TSP-1 en pacientes genéticamente predispuestos. Por otro lado el TNF- $\alpha$  induce la expresión en mioblastos del ligando coestimulador inducible (ICOSL), que regula la respuesta celular de linfocitos CD4 + y CD8+ a través de la interacción con su receptor (ICOS) en las células T activadas. La expresión de ICOSL e ICOS está aumentada en las fibras musculares y células inflamatorias de las miopatías, aportando evidencia de la capacidad de las células musculares de participar en la presentación de antígenos<sup>117</sup>.

Los mioblastos producen, en condiciones normales, niveles bajos de IL-15, pero esta producción se incrementa como consecuencia de la estimulación por INF- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-

1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , siendo parcialmente liberada en el intersticio<sup>118</sup>. Esta IL-15 liberada participaría en la inmunopatogenia del proceso inflamatorio a través del reclutamiento y activación de los LT.

Tanto en la DM como en la PM se ha indentificado en definitiva la amplificación de múltiples citoquinas y sus RNAm<sup>118, 119, 120, 121</sup>, como la IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , INF- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13. Algunas de ellas como INF- $\gamma$  e IL-1 $\beta$  pueden tener un efecto miotóxico<sup>122, 123</sup>, mientras otras como TGF- $\beta$  pueden promover inflamación crónica y fibrosis<sup>124</sup>. Tras la inmunoterapia efectiva se produce una reducción en la activación de las citoquinas, que se asocia a una disminución de la inflamación y fibrosis<sup>125, 126</sup>. De entre todas estas citoquinas se ha hipotetizado sobre el papel central que desarrolla la IL-1 $\alpha$  en los mecanismos patogénicos de las miopatías inflamatorias. Entre otros, uno de los datos que apoya este papel central de la IL-1 $\alpha$  es la capacidad de inducción en la expresión de los HLA-1. Por otro lado interfiere en el metabolismo de la célula muscular, bloqueando la acción del factor de crecimiento similar a la insulina e inhibiendo el transporte de glucosa y la producción de ácido láctico con la consiguiente alteración nutricional del músculo. En la DM la reducción de capilares y el daño de la microcirculación inducen una disminución de la perfusión local que causa hipoxia y potencialmente podría ser uno de los causantes del aumento de producción de IL-1 $\alpha$ .

Las quemocinas son una clase de pequeñas citoquinas<sup>127</sup> y sus receptores que incluye IL-8 (CXCL8), RANTES (CCL9), proteína quimioatrayente monocítica-1(MCP-1 o CCL2), MCP-3, citoquina regulada por timo y activación (TARC), Mig (CXCL9), IP-10 (CXCL10) y la  $\alpha$ -quemocina SDF-1 (CXCR4)<sup>128</sup>. Estas quemocinas están también sobreexpresadas en las células inflamatorias, la matriz extracelular y fibras musculares<sup>129</sup> de pacientes con miopatías inflamatorias, pudiendo participar en la patogenia del proceso facilitando el tráfico de LT activados al músculo y promoviendo la fibrosis. Algunas como la MCP-1 pueden estar inducidas por los depósitos endoteliales de CAM de la DM<sup>114</sup> y parecen estar implicadas en la atracción de linfocitos y macrófagos al tejido inflamado, contribuyendo de esta forma a la amplificación de la respuesta inflamatoria y la perpetuación de la lesión muscular.

Las metaloproteinasas son endoproteínas de Zn dependientes del calcio que participan en la regulación de la degradación de la matriz extracelular. Se dividen en colagenasas, gelatinasas y estromelinasas, según su sustrato. Estas sustancias desempeñan un papel en

la patogenia de enfermedades reumáticas crónicas como la artritis reumatoide y la osteoartritis ya que su exceso induce la degeneración e infiltración de la matriz extracelular, mientras que el exceso de su inhibidor (inhibidor tisular de las metaloproteinasas (TIMP)) induce procesos fibróticos. En cuanto a su posible papel en la patogenia de las miopatías inflamatorias, se sabe que las metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9 que se encuentran sobreexpresadas en las fibras musculares y las células CD8+, promueven la migración de linfocitos a través de la matriz extracelular y la adhesión de LT al músculo<sup>130, 131</sup>.

Resumiendo las consideraciones previas y las evidencias disponibles hasta el momento se ha sugerido que antígenos virales o microbianos compartidos inducirían en la DM una respuesta inmune inicial mediada por IFN $\alpha/\beta$ , con una posterior estimulación de INF- $\gamma$ . El aumento de síntesis de TNF- $\alpha$ , que es más frecuente en pacientes con DM juvenil y polimorfismo TNF- $\alpha$ -308<sup>a</sup>, puede aumentar esta respuesta y se asocia a un amplio espectro de consecuencias patológicas, así como a la cronicidad de la enfermedad y desarrollo de calcificaciones. Las fibras musculares pueden, por ellas mismas, regular la inflamación local a través de la producción de TNF- $\alpha$ , IL-15, IL-1 $\alpha$  y TGF- $\beta$ <sup>132</sup>.

#### **1.4.3.7. El complejo mayor de histocompatibilidad clase I.**

Las fibras musculares no expresan, en condiciones normales, antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) tipo I o II. Sin embargo la expresión de estas HLA tipo I se ha descrito en fibras musculares de pacientes con PM y DM junto a la expresión de IL-1 $\alpha$  en células endoteliales. Esta expresión se produce tanto en fases de actividad de la enfermedad como en estadios de quiescencia<sup>133</sup> e incluso se ha descrito en pacientes con debilidad muscular aún en ausencia de infiltrado inflamatorio en las biopsias musculares o de evidencia de miositis en exploraciones radiológicas<sup>134</sup>. Estos hallazgos sugieren que los cambios fenotípicos de células endoteliales y fibras musculares pueden jugar un papel importante en la patogenia de las miositis. El papel de la expresión de HLA-1 en la activación de LT CD8+ está claramente establecido, pero su papel en la inducción de la clínica muscular es menos evidente. Sabemos que los linfocitos CD8+ se han encontrado tanto en DM como en PM en proximidad o contacto directo con fibras musculares que expresan antígenos del HLA-1. Estos hallazgos sugieren que el daño citotóxico puede jugar un papel en la patogenia del daño

muscular, bien sea por la vía de señalización mediada por Fas/FasL o por la vía de las perforinas (granzima-A). Pero en modelos experimentales animales se ha demostrado que la expresión aumentada de HLA-I es suficiente para inducir debilidad muscular<sup>135</sup> por si misma. Sabemos por otro lado que su expresión está inducida por la IL-1 $\alpha$  cuyos niveles están aumentados en estas miopatías

#### **1.4.3.8. Apoptosis.**

##### **1.4.3.8.1. Apoptosis como mecanismo de tolerancia inmunológica.**

La apoptosis o muerte celular programada es un proceso complejo que juega un papel fundamental en procesos fisiológicos como la embriogénesis, selección de células B y T, eliminación de linfocitos potencialmente autoreactivos y mantenimiento de la homeostasis linfocitaria. En definitiva participa de forma decisiva en el desarrollo y regulación del sistema inmunitario a través de la regulación del recambio de células inmunes y asegurando la generación de un repertorio de linfocitos competentes no autoinmunes<sup>136</sup>. Un déficit en esta eliminación por apoptosis de linfocitos autoreactivos ha sido implicado en la patogenia de diferentes procesos autoinmunes, entre ellos el LES<sup>137</sup>. En la DM se ha observado que los LT del infiltrado muscular presentan una sobrerregulación del sistema Fas/FasL en ausencia de la correspondiente fragmentación del DNA<sup>21</sup>. La promoción de proteínas de supervivencia celular como bclx e inhibidores de quinasa dependientes de ciclina se ha propuesto como explicación de la inhibición de apoptosis en estas células.

##### **1.4.3.8.2. Apoptosis como forma de muerte celular de fibras musculares.**

En la actualidad se considera que en las miopatías inflamatorias se produce un proceso de necrosis de las fibras musculares que está mediado inmunológicamente<sup>3</sup>. Es por ello que el proceso de muerte celular siempre ha tenido un papel central en la patogenia de estas entidades. Existen profundas diferencias entre los mecanismos de necrosis y apoptosis celular. Si bien la necrosis de células musculares es un fenómeno conocido en la patogenia de las miopatías inflamatorias, existe en la actualidad un debate intenso acerca del papel que puede jugar la apoptosis en la patogenia de estas enfermedades. Sabemos que las alteraciones en la regulación de la apoptosis parecen estar implicadas en el desarrollo de diversas enfermedades autoinmunes<sup>138</sup>, como la encefalomiелitis alérgica experimental inducida en animales<sup>139</sup>. La apoptosis es también el mecanismo de

muerte celular de fibras musculares en varias enfermedades neuromusculares y distrofias musculares o en músculos de ratas denervadas y reinervadas en condiciones experimentales<sup>140</sup>. La evidencia de esta implicación de la apoptosis en la patogenia de estos procesos ha llevado a diversos autores a valorar si esta podría ser una forma de muerte celular alternativa a la necrosis, tanto de fibras musculares como células inflamatorias en las miopatías inflamatorias.

Se han realizado diversos estudios orientados a este fin. Entre ellos los que demuestran la expresión de FAS, marcador habitualmente no expresado por fibras musculares sanas, en la superficie de las fibras musculares de los pacientes con miopatías inflamatorias en presencia de infiltrado inflamatorio<sup>141</sup>. A pesar de este hallazgo no hay más evidencias que apoyen la potenciación de la apoptosis como mecanismo de muerte celular de las células musculares en estos procesos. No se ha detectado por ejemplo fragmentación de DNA<sup>142</sup> o expresión de proteínas relacionadas con la apoptosis. Una de las explicaciones dadas a esta aparente contradicción es que en estas fibras musculares inflamadas se coexpresan simultáneamente el Fas y la molécula protectora Bcl-2. De hecho en la DM juvenil se ha demostrado la existencia de una expresión aumentada del sistema protector Bcl-2<sup>143</sup>. Otros autores han demostrado más recientemente la expresión en las miopatías inflamatorias, de otras moléculas con efecto antiapoptótico como la FLIP (Fas-associated death domain-like IL-1-converting enzyme (FLICE)-inhibitory protein)<sup>144</sup> y la IAP-like protein, una inhibidora de la actividad de la caspasa<sup>145</sup>. Todos estos datos sugieren la prevalencia de los mecanismos de inhibición con la consiguiente resistencia a la apoptosis mediada por Fas. En la DM también se produce un aumento de la expresión de proteasas como la catepsina, implicada en la apoptosis y el ciclo celular y en la estimulación de IFN- $\gamma$ , con lo cual contribuiría al desarrollo de atrofia muscular.

#### **1.4.3.8.3. Apoptosis como fuente de autoantígenos.**

Finalmente, la apoptosis podría participar en la patogenia de diferentes procesos autoinmunes como el LES o la DM induciendo la síntesis de autoanticuerpos. Este fenómeno de muerte celular puede determinar la liberación de material apoptótico que en condiciones normales es aclarado por el sistema del complemento. Alteraciones en dicho sistema como la expresión de ciertas variantes alélicas de la MBL o déficits en componentes iniciales de la vía clásica (C1q o C4) están asociadas a una menor actividad funcional del sistema y en consecuencia a un deficiente aclaramiento del citado material. Se considera que la persistencia de este material podría ser responsable de la generación de anticuerpos contra antígenos liberados en dicho proceso<sup>146, 147, 148</sup> o desencadenar un proceso de necrosis secundaria con efecto pro-inflamatorio<sup>149, 150</sup>, fenómenos que se han implicado en la patogenia de enfermedades autoinmunes como el LES. Otras evidencias del posible papel de las células apoptóticas en la génesis de procesos autoinmunes son el reconocimiento en la superficie de células apoptóticas de autoantígenos diana del LES<sup>151</sup>, la capacidad de las células dendríticas de presentar epitopos derivados las citadas células y la inducción de la generación de autoanticuerpos mediante la inmunización con estas células.

En definitiva la evidencia apunta a que la apoptosis es un mecanismo de muerte celular de las fibras musculares en diversas miopatías inflamatorias. Por otro lado la falta de aclaramiento apoptótico de las células inflamatorias en este proceso puede contribuir al mantenimiento del daño citotóxico crónico de las fibras musculares, y podría estar en el origen de la estimulación de respuestas autoinmunes ante antígenos liberados.

#### 1.4.4. Aplicación de estos conocimientos en un modelo de la patogenia de la dermatomiositis.

Si bien en el momento actual se desconoce la patogenia de la DM, observar, describir, ordenar y quizá en algunas ocasiones relacionar entre sí las numerosas anomalías descritas puede ayudar a comprender el mecanismo por el cual se produce la enfermedad. Es importante cuestionar cual de todos estos fenómenos supuestamente anómalos es factor patogenético, consecuencia, fenómeno acompañante o forma parte de una respuesta inmunológica normal dentro de un contexto patológico. Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores podríamos entender el proceso de la siguiente forma:

1. En algunas personas genéticamente predispuestas ciertos estímulos podrían desencadenar determinados efectos sobre algunas células inmunológicamente activas, como queratinocitos, células de Langerhans y/o células endoteliales. Entre estos efectos cabe resaltar la inducción de niveles elevados de determinadas citocinas, la expresión de moléculas de adhesión, quizá la translocación de antígenos intracelulares, así como la potenciación de la apoptosis. Los mismos fenómenos, quizá bajo una predisposición genética diferente, podrían estar provocados por la infección por determinados virus. A nivel muscular la presencia de células dendríticas en un microambiente propicio que favorece su maduración determinaría el inicio de una respuesta autoinmune frente a autoantígenos. Tanto las células musculares como los capilares participarían en el proceso a través de la expresión de diversas citoquinas o la presentación de antígenos en la activación de  $LT_h0$  y LT de memoria.
2. Bajo las circunstancias desencadenadas se activaría una respuesta linfocitaria. El hecho que esta respuesta sea autorreactiva podría depender a su vez de una predisposición genética HLA-DR dependiente o de un fallo de la apoptosis de clonos autorreactivos.
3. En el desarrollo del daño tisular podrían intervenir:
  - determinados autoanticuerpos,
    - mecanismos en los cuales podría intervenir el sistema del complemento, en concreto el CAM.
    - mecanismos citotóxicos directos, efectuadas tanto por linfocitos como por macrófagos. Estos fenómenos destructivos en la DM se desarrollarían fundamentalmente en el músculo y en la piel.

- potenciación del proceso inflamatorio por la cascada de las citoquinas, quemocinas y metaloproteinasas.

## **1.5. Clínica.**

### **1.5.1. Dermatomiositis idiopática del adulto.**

Las posibles manifestaciones clínicas del proceso son muchas, y la forma de presentación clínica en cada caso variable. Por un lado algunos pacientes pueden presentar las manifestaciones características de la miopatía sin evidencia de lesiones cutáneas, entrando en el espectro de la PM. En otras ocasiones sólo se presentan las manifestaciones cutáneas del proceso. Hasta en el 56% de los pacientes las manifestaciones cutáneas preceden a la miopatía. Todo ello hace que no podamos establecer un patrón clínico único de este proceso. Citaremos a continuación las principales manifestaciones clínicas que pueden presentar los pacientes afectados de DM.

#### **1.5.1.1. Manifestaciones musculares.**

La afectación muscular de la DM se manifiesta por una debilidad progresiva que afecta fundamentalmente a la musculatura estriada del tronco y de las cinturas escapulares y pelviana. Estos músculos se afectan antes y con mayor frecuencia que los periféricos, y es por ello que las acciones que requieren del uso de la musculatura proximal se afectan antes, mientras que las acciones motoras finas que dependen de la fuerza de la musculatura distal se afectan tardíamente. El paciente suele consultar por dificultad para levantarse de sillas bajas, dificultad para subir escaleras o incapacidad para mantener los brazos elevados dificultando tareas habituales como el peinado. En el caso de niños pequeños la dificultad en la movilización es objetivada por los propios padres, mientras que en el caso de niños mayores la queja suele ser una disminución en las capacidades atléticas del individuo. La debilidad muscular se caracteriza por ser de instauración subaguda (en semanas o meses), en ocasiones insidiosa, pero raramente aguda. Es constante y progresiva, a diferencia de otros procesos como la miastenia gravis, en las cuales presenta un curso intermitente. Es prácticamente siempre bilateral y simétrica. En fases avanzadas pueden ponerse de manifiesto dificultades en la marcha como la marcha de Trendelenburg o una hiperlordosis compensadora. Los reflejos musculotendinosos están preservados salvo en músculos severamente afectados y atróficos. La atrofia muscular acostumbra a ser rara en las fases iniciales a pesar de que los grupos musculares afectados puedan notarse hipotónicos. En fases avanzadas en pacientes con una enfermedad larga y lentamente progresiva puede desarrollarse una atrofia muscular desproporcionada en relación a la debilidad del paciente. Otros grupos musculares que

se afectan con frecuencia son la musculatura faríngea y la de la lengua, manifestándose en forma de disfagia<sup>152, 153</sup> o rinolalia, y la flexora del cuello. En casos avanzados y más raramente en casos agudos puede involucrarse la musculatura respiratoria, pero es excepcional la afectación de la musculatura facial y ocular<sup>154</sup>. Tanto es así que la presencia de debilidad de la musculatura ocular debe hacer dudar de un diagnóstico de dermatomiositis.

En menos de la mitad de los casos (30%) la debilidad muscular se asocia a mialgias. A diferencia de la que ocurre en las miositis infecciosas y en contra de la creencia popular no es un síntoma predominante en las miopatías inflamatorias idiopáticas. Cuando aparece acostumbra a ser un síntoma precoz.

### **1.5.1.2. Manifestaciones cutáneas.**

La mayoría de las manifestaciones cutáneas de la DM son precipitadas o exacerbadas por la radiación ultravioleta (UV). Aproximadamente el 50% de los pacientes asocian fotosensibilidad tanto a UVA como UVB.

La dermatomiositis presenta unas manifestaciones cutáneas patognomónicas (pápulas de Gottron y eritema en heliotropo), sin las cuales no se puede establecer un diagnóstico de certeza. Se asocia también a lesiones cutáneas características aunque no patognomónicas que aparecen con frecuencia en los citados pacientes. Como hemos comentado anteriormente, las manifestaciones cutáneas están prácticamente siempre presentes en el momento en que el paciente desarrolla la clínica muscular, ya que o se desarrollan con ella o frecuentemente la preceden.

#### **1.5.1.2.1. Manifestaciones cutáneas patognomónicas.**

##### **1.5.1.2.1.1. Pápulas y signo de Gottron.**

Descritas por Gottron<sup>155</sup> son la manifestación clínica más específica de la DM, observándose en el 70% de los pacientes<sup>156</sup>. Es un eritema máculopapular, situado sobre articulaciones metacarpofalángicas o interfalángicas<sup>157</sup>, en áreas periungueales y sobre prominencias óseas como nudillos, codos y rodillas. Las lesiones iniciales son pequeñas y discretas, pero a medida que pasa el tiempo aumentan de tamaño y confluyen formando placas eritematosas o violáceas, descamativas y con telangiectasias en su superficie. Estas placas formadas por la evolución de las pápulas de Gottron reciben el

nombre de signo de Gottron. En algunas ocasiones las placas desarrollan pequeñas cicatrices. Con el tiempo las lesiones se hacen atróficas y despigmentadas.

#### **1.5.1.2.1.2. Eritema en heliotropo.**

Es un signo distintivo de esta patología que se observa hasta en el 60% de los pacientes, y que consiste en un eritema de los párpados, puente nasal y zona periorbicular, que ocasionalmente se extiende a regiones malares, frontales o temporales y de coloración rojo-violácea. Ha sido comparado con la tonalidad de la flor de la valeriana de la cual viene el término de eritema en heliotropo. La intensidad del eritema puede variar en cuestión de horas. No es infrecuente observar que esta lesión se asocie a un marcado edema de los párpados y tejidos periorbiculares.

#### **1.5.1.2.2. Manifestaciones cutáneas características.**

Son lesiones cutáneas presentes en muchos de los pacientes, permitiendo orientar el diagnóstico hacia esta entidad:

##### **1.5.1.2.2.1. Eritema difuso de áreas fotoexpuestas<sup>158</sup>.**

Manifestación menos específica que se observa hasta en el 30% de los pacientes. Se describe como un eritema difuso especialmente distribuido por la piel fotoexpuesta de la cara, cuello, raíz de extremidades, tronco y cara posterior del cuello (signo del chal). En algunos pacientes este eritema puede desarrollarse en otras superficies como los codos, rodillas, áreas maleolares o cara anterior del tórax (dibujando una V). Este eritema acostumbra a exacerbarse tras la exposición a radiaciones solares, puede ser difícil de identificar en pacientes de piel oscura y en ocasiones es tan tenue transitorio o inaparente que pasa desapercibido. Ocasionalmente las áreas afectas se muestran edematosas y es frecuente la asociación a prurito, que puede incluso interferir con el desarrollo de la actividad cotidiana<sup>159</sup>. También se pueden objetivar lesiones más crónicas y maculares, así como cambios poiquilodermiformes en el tronco y raíz de extremidades.

#### **1.5.1.2.2. Alteraciones periungueales.**

A parte de las pápulas de Gottron en el área periungueal se puede observar un eritema difuso y brillante con dilataciones irregulares y tortuosas de las asas capilares del lecho ungueal. Estas alteraciones pueden ser visibles simple vista o detectadas en la capilaroscopia<sup>160</sup>. En esta exploración se pueden también observar fenómenos de trombosis de asas capilares y hemorragias en astilla. Estas alteraciones capilaroscópicas son más evidentes en pacientes que presentan fenómeno de Raynaud, artritis o afectación pulmonar. No existe relación entre las citadas alteraciones y la actividad de la miositis o la asociación a neoplasias. En otros pacientes se observan engrosamientos, hiperqueratosis e irregularidades de la cutícula, cambios no específicos de este proceso puesto que se pueden observar tanto en pacientes con síndromes de solapamiento de enfermedades del tejido conectivo, con esclerosis sistémica o con LE.

#### **1.5.1.2.3. Manos de mecánico.**

Es una manifestación clínica muy característica, aunque menos frecuente de los pacientes con DM. Consiste en la presencia de una hiperqueratosis bilateral, simétrica y confluyente de caras laterales y palmares de los dedos y manos, ocasionalmente asociada a hiperpigmentación. Estos cambios determinan rugosidad del área afecta y el desarrollo de fisuraciones con líneas horizontales irregulares de aspecto sucio<sup>161</sup>. Es más prominente en el índice y en la zona radial de los dedos. Ante esta manifestación es primordial descartar un componente traumático local o una exposición laboral que justifiquen dicha apariencia. Este signo clínico forma parte del síndrome antisintetasa, que comprende la asociación de PM/DM, neumonitis intersticial, manos de mecánico, fenómeno de Raynaud, poliartritis inflamatoria, anticuerpos antisintetasa y fiebre; y había sido considerado como marcador de dicho síndrome. No obstante publicaciones más recientes no han podido establecer la especificidad de esta asociación<sup>162</sup>. De hecho se ha descrito la aparición de manos de mecánico en pacientes con DM amiopática con o sin artritis, fenómeno de Raynaud, neumonía intersticial o anticuerpos anti-sintetasa<sup>163</sup>.

### **1.5.1.2.3. Lesiones compatibles.**

Son lesiones cutáneas frecuentes en estos pacientes, aunque no diagnósticas.

#### **1.5.1.2.3.1. Poiquidermia atrófica vascular (poiquidermatomiositis).**

Las manifestaciones eritematosas citadas en las diferentes localizaciones pueden con el tiempo desaparecer, dejando eritemas telangiectásicos reticulados con áreas de atrofia y cicatrización, que en ocasiones muestran cambios de hiper e hipopigmentación de aspecto poiquidermiforme. Todos estos cambios hacen que las áreas afectas presenten un aspecto similar al de la radiodermitis. Aparece pues en las zonas habitualmente afectadas por el eritema difuso (región hombros, espalda, área en V, zona periocular, etc...).

#### **1.5.1.2.3.2. Calcinosis.**

Es una complicación tardía y discapacitante de la DM que aparece en el 15% de los adultos y en más del 50% de las formas juveniles<sup>164</sup>. Consiste en el depósito difuso de calcio a nivel de los planos cutáneos y fasciculares del músculo. Se definen diversos tipos de depósitos cálcicos: subcutáneos (tumoraes o en crispeta); superficiales, periarticulares (calcinosis circunscrita), intramusculares (calcinosis universales) y el patrón en exoesqueleto<sup>165, 166</sup>. El depósito de calcio a nivel subcutáneo puede llevar a la ulceración crónica del área afecta con celulitis secundaria. Los músculos más afectados suelen ser los de la cintura escapular y pélvica, y en menor grado los del tronco y las extremidades, en las cuales acostumbra a localizarse en las áreas de los codos y las manos. La calcinosis se incrementa en el curso de los meses o años y en algunas ocasiones los acúmulos cálcicos desarrollados durante la infancia disminuyen en la adolescencia. A pesar de que el desarrollo de calcinosis es un buen factor pronóstico para la supervivencia del individuo afecto de DM, la discapacidad que determina establece una limitada capacidad de recuperación funcional.

#### **1.5.1.2.4. Otras manifestaciones cutáneas.**

##### **1.5.1.2.4.1. Eritema del cuero cabelludo y alopecia.**

Es posible la aparición de un eritema y alopecia no cicatricial difusos del cuero cabelludo. Es frecuente la asociación a prurito de la zona afectada.

##### **1.5.1.2.4.2. Edema.**

A parte del edema orbitario y periorbicular frecuentemente asociado al eritema en heliotropo, los pacientes con DM presentan frecuentemente edema en manos, brazos y ocasionalmente de áreas extensas del tronco. Este edema está generalmente asociado a eritema de las mismas áreas, que habitualmente son zonas fotoexpuestas. Existen referencias aisladas acerca del desarrollo de anasarca en casos de enfermedad grave.

##### **1.5.1.2.4.3. Miscelánea.**

Una gran variedad de manifestaciones cutáneas se han descrito ocasionalmente asociadas a DM. Entre ellas cabe destacar: dermatografismo, lesiones ampollosas o vesículas subepidérmicas en áreas de intensa inflamación<sup>167, 168, 169</sup>, lesiones urticariformes<sup>170</sup>, eritema flagelado<sup>171, 172</sup>, eritema multiforme, erupciones psoriasiformes y dermatitis exfoliativas, queratosis folicular y erupción tipo pitiriasis rubra pilaris (DM de Wong)<sup>173, 174, 175, 176, 177, 178</sup>; ictiosis adquirida, hipertrichosis<sup>179, 180</sup>, eritema nodoso, paniculitis<sup>181</sup>, úlceras cutáneas, vasculitis cutánea (livedo reticularis, infartos digitales y púrpura palpable)<sup>182, 183</sup>, hiperhidrosis, pitting ungueal, mucinosis de regiones palmares y dedos<sup>184</sup>, asociación de hiperqueratosis folicular, malacoplauquia y mucinosis papular e hipertrichosis<sup>185</sup>.

### **1.5.1.3. Manifestaciones no cutáneas ni musculares.**

#### **1.5.1.3.1. Síntomas generales.**

Es posible la presencia de síntomas generales en el curso de la enfermedad. Se han descrito: mal estado general, fiebre, pérdida de peso o anorexia.

Son más frecuentes en aquellos pacientes con síndrome de solapamiento de conectivopatías.

#### **1.5.1.3.2. Afectación respiratoria.**

La afectación de los músculos intercostales y del diafragma puede determinar una dificultad respiratoria secundaria a problemas ventilatorios. Esta dificultad en la ventilación junto a un trastorno en la deglución por afectación de la musculatura faringo-esofágica suponen una mayor predisposición a las neumonías por aspiración. De igual forma la dificultad respiratoria determina una progresiva hipoxemia en pacientes con miositis severa. Por otro lado la DM puede producir una enfermedad pulmonar intersticial responsable de la aparición de tos no productiva y disnea progresiva, con un patrón radiológico de infiltrado intersticial, que evoluciona hacia una progresiva fibrosis pulmonar<sup>186, 187, 188, 189</sup>. Medicaciones como el metotrexate pueden contribuir al desarrollo de la neumonitis. Se han descrito también casos de hipertensión pulmonar con cor pulmonale secundario, derrame pleural, neumotórax espontáneo, neumomediastino<sup>190</sup> y proteinosis alveolar pulmonar. La enfermedad pulmonar intersticial aparece hasta en el 10% de los pacientes afectados de DM. Es más frecuente en pacientes con síndromes de solapamiento de conectivopatías, con anticuerpos anti sintetasa (anti Jo-1 presente hasta en un 50% de pacientes con DM y neumopatía intersticial, o a anti-PL 12<sup>77, 191</sup>) o con una glicoproteína similar a la mucina (KL-6)<sup>192</sup>. La presencia de lesiones cutáneas atípicas como manos en mecánico, hiperplasia cuticular e infartos digitales se ha asociado a una mayor frecuencia de enfermedad pulmonar intersticial<sup>193</sup>.

Estudios recientes han demostrado la existencia de afectación pulmonar asintomática hasta en casi el 50% de los pacientes con DM juvenil, motivo por el cual algunos autores recomiendan la práctica sistemática de exploraciones destinadas a evaluar la función pulmonar en todos los pacientes con miopatías inflamatorias tanto en el momento del diagnóstico como durante su seguimiento<sup>194</sup>.

Las complicaciones respiratorias son, junto con la posible miocardiopatía, las principales causas de mortalidad de los pacientes con esta enfermedad<sup>195</sup>. Esta evolución fatal del proceso respiratorio ocurre incluso en la asociación a las formas amiopáticas de la enfermedad<sup>196</sup>.

La neumopatía intersticial tiene peor pronóstico en pacientes con DM que en PM, al ser en ellos más refractaria al tratamiento con corticoides<sup>197</sup>.

#### **1.5.1.3.3. Afectación del aparato digestivo.**

Hasta en un 30% de los pacientes se ha descrito la afectación de la musculatura estriada y lisa del tercio proximal y parte distal del esófago, justificando tanto el desarrollo de divertículos esofágicos y la presencia de reflujo gastroesofágico, como la clínica de disfagia que se describe hasta en el 50% de los pacientes<sup>153</sup>. La presencia de disfagia se considera un marcador de mal pronóstico. La implicación de la musculatura lisa del tubo digestivo en el proceso es responsable de una disminución de la actividad peristáltica intestinal, desarrollándose en ocasiones divertículos colónicos. El desarrollo de vasculitis intestinal y las frecuentes infecciones, especialmente en casos de DM juvenil determinaban, antes del desarrollo de las terapias inmunosupresoras, la aparición de úlceras gastrointestinales cuyo sangrado provocaba melenas o hematemesis. La citada vasculitis puede determinar también una neumatosis intestinal por disección submucosa del gas endoluminal. En ocasiones esta neumatosis intestinal puede desencadenar un neumoperitoneo.

#### **1.5.1.3.4. Afectación articular.**

Las artralgiás son un síntoma precoz de DM hasta en el 30% de los pacientes. Pueden evidenciarse bursitis recurrentes de hombros y caderas, derrames articulares y en ocasiones artritis inflamatorias discretas, siendo excepcional el desarrollo de artritis erosivas. Las artralgiás y/o artritis acostumbran a ser simétricas, y la severidad de la artritis tiende a disminuir a medida que progresa la debilidad muscular, excepto en aquellos pacientes con síndromes de superposición de conectivopatías, en los cuales puede ser crónica. Los pacientes con artritis presentan frecuentemente afectación pulmonar asociada. Las contracturas musculares a nivel de las articulaciones son especialmente frecuentes en la DM juvenil.

#### **1.5.1.3.5. Fenómeno de Raynaud.**

Se observa hasta en un 10% de los adultos y es excepcional en los niños. Al igual que un posible síndrome seco se observa con mayor frecuencia en pacientes con síndrome de solapamiento de conectivopatías.

#### **1.5.1.3.6. Afectación miocárdica y pericárdica.**

La frecuencia de afectación miocárdica en pacientes con DM varía según las series y sobre todo en función de la meticulosidad con la que se investigan las alteraciones cardiológicas<sup>198, 199, 200, 201, 195</sup>. Hasta en un 40% de los pacientes se ha descrito la aparición de miocarditis, fibrosis miocárdica o trastornos de conducción<sup>202</sup>. Estas alteraciones justifican el desarrollo de miocardiopatías dilatadas, disminuciones en la fracción de eyección, taquiarritmias e insuficiencia cardiaca congestiva. El desarrollo de arritmias clínicamente significativas es excepcional pero pueden obligar a instaurar tratamientos vitales. Hasta en el 20% de las autopsias de pacientes con DM se evidencia la presencia de insuficiencia cardiaca congestiva y miocarditis, atribuibles tanto a la enfermedad de base como a un efecto de la corticoterapia prolongada. También se ha descrito el desarrollo de pericarditis así como derrame pericárdico con o sin taponamiento cardíaco.

#### **1.5.1.3.7. Otras manifestaciones.**

Aunque con mucha menor frecuencia pueden desarrollarse en los pacientes con DM:

1. Lesiones renales o insuficiencia renal aguda por mioglobinuria.
2. Retinitis con exudados de distribución peripapilar y alrededor de venas retinianas, edema conjuntival, nistagmus, iritis, neuropatía<sup>203</sup> y atrofia nervio óptico y pseudopoliposis conjuntival.
3. Neuropatía del trigémino.

### **1.5.2. Dermatomiositis juvenil.**

La DM juvenil supone un 5% del total de pacientes con conectivopatías valorados en las unidades pediátricas de los centros de asistencia terciarios, siendo además la miopatía inflamatoria pediátrica más frecuente<sup>204, 205</sup>.

El perfil clínico de las lesiones cutáneas de esta entidad es superponible a las del adulto, diferenciándose únicamente en la mayor incidencia en estas edades de calcinosis, y por la escasa frecuencia de hipertricosis y lipoatrofia. Es frecuente que estos pacientes desarrollen febrícula, artritis simétrica de grandes y pequeñas articulaciones con contracturas secundarias. También es más frecuente la afectación extramuscular, especialmente gastrointestinal, manifestada clínicamente por cuadros de mal absorción, disminución de la motilidad intestinal e infarto-ulceración o perforación intestinal secundaria; y la afectación pulmonar intersticial. Las alteraciones electrocardiográficas, en especial alteraciones de la conducción como el bloqueo de rama derecha, se detectan hasta en un 50% de los pacientes. La afectación renal en forma de fenómenos isquémicos por vasculitis también se ha descrito con cierta frecuencia en estos pacientes.

Se calcula que entre el 34 y el 40% de los niños afectados tienen un curso agudo que se resuelve en un periodo de dos años permaneciendo en remisión indefinidamente. Son pacientes con un curso monocíclico<sup>206</sup>. El 60-66% restante presentan una enfermedad crónica que requiere de tratamiento inmunosupresor durante periodos superiores a los dos años, presentando una enfermedad continuamente activa o caracterizada por remisiones y exacerbaciones (curso policíclico).

### **1.5.3. Formas clínicas especiales.**

#### **1.5.3.1. Dermatomiositis amiopática (DMA).**

Término creado por Pearson<sup>207</sup> en 1979 y rescatado por Euwer y Sontheimer<sup>208</sup> para describir a un grupo de pacientes con lesiones cutáneas altamente sugestivas de DM pero que no cumplían los criterios diagnósticos del proceso por la ausencia de afectación muscular. En su lugar también se utilizó el término de DM sine miositis.

En un gran número de pacientes afectos de DM, las manifestaciones cutáneas del proceso preceden a las musculares. Si bien en la mayoría de pacientes el intervalo entre la aparición de clínica cutánea y muscular no supera los 2 meses (62%), hasta en un 8% de los mismos la miopatía puede presentarse hasta 24-48 meses después de iniciarse las lesiones cutáneas<sup>209,201</sup>. También existen no obstante pacientes con manifestaciones cutáneas características de la DM que persisten en la ausencia de evidencia de afectación muscular durante periodos superiores a 10 o 20 años. La rigidez de los criterios diagnósticos establecidos por Bohan y Peter no permite diagnosticar a estos enfermos como afectos de DM.

El interés en diferenciar a estos pacientes radica en la posible utilidad de iniciar los tratamientos inmunomoduladores en las fases amiopáticas, planteándose si esto podría disminuir la posibilidad de desarrollar posteriormente la miopatía y en definitiva disminuyendo el riesgo de secuelas posteriores. Hay opiniones en ambos sentidos, por lo cual la actitud frente a estos pacientes acostumbra a ser fruto de la experiencia personal de cada grupo.

Euwer y Sontheimer consideran a PM, DMA y DM conjuntamente en un espectro patológico en el que en un extremo se situarían a los pacientes con afectación exclusivamente cutánea (DMA), en el otro extremo los pacientes con clínica exclusivamente muscular (PM) y en algún punto entre ellas los pacientes con DM clásica<sup>208</sup>. Dado que muchos de los pacientes con DMA desarrollarán durante el curso de su enfermedad, las manifestaciones cutáneas del proceso proponen el término de DMA provisional para aquellos que no presentan clínica muscular hasta dos años después del diagnóstico inicial y el de DMA confirmada para los que superan este periodo. Otros autores prefieren establecer una diferencia entre DM premiopática<sup>210</sup> para definir a aquellos pacientes con ausencia de evidencia de miositis hasta 4 años después de iniciar las lesiones cutáneas, reservando el de DM amiopática para los que persisten en dicha ausencia pasado ese periodo.

En la actualidad la DMA se define como la presencia de lesiones cutáneas patognomónicas, confirmadas por estudio histológico, en ausencia de clínica de debilidad muscular proximal, alteraciones enzimáticas ni cambios electromiográficos durante 6 o más meses. Cuando asociados a dichos cambios cutáneos se detectan alteraciones electromiográficas se clasifica a los pacientes como DM hipomiopática<sup>211</sup>. Si estos cambios persisten más de 24 meses se reclasifica a los pacientes como DMA o DM hipomiopática confirmadas<sup>211</sup>. Se consideran como criterios de exclusión para la DMA la utilización de tratamientos inmunomoduladores sistémicos durante 2 o más meses consecutivos en los 6 primeros desde el inicio de la enfermedad y el uso de fármacos con capacidad para inducir lesiones cutáneas tipo DM como son la hidroxiurea y las estatinas.

La DMA supone un 2-11% de los casos de DM, pudiendo ser su incidencia incluso superior en pacientes asiáticos. Esta forma clínica de DM puede asociar letargia, fatiga, prurito, fotosensibilidad y artralgias. También se ha descrito asociación a afectación pulmonar intersticial<sup>212</sup>, asociación descrita en aproximadamente en un 10% de los pacientes<sup>157</sup>, y a malignidad (linfomas, carcinoma de mama, ovario y colon)<sup>213, 214, 215, 216</sup>. Revisando la literatura reciente, Sontheimer ha recopilado 336 casos publicados de forma aislada o en pequeñas series. El 80% eran mujeres, siendo la edad media de 43 años (la gran mayoría desarrollaron el cuadro en la edad adulta) y el tiempo medio de duración de la enfermedad era de 4.5 años<sup>217</sup>. La asociación a malignidad se presentó en el 12% de los pacientes frente al 20-25% descrito en la DM clásica. La asociación a neumopatía intersticial se describió en el 4% de los casos, y hasta la mitad de los pacientes fallecieron como consecuencia de dicha patología sin haber desarrollado clínica muscular.

El desarrollo en pacientes con DMA de clínica de debilidad muscular, mialgia, fatiga o cualquier signo de afectación sistémica del proceso recomienda realizar las exploraciones complementarias oportunas para establecer la transición tardía a DM clásica y/o detectar la asociación de afectación de otros órganos o sistemas.

### **1.5.3.2. Dermatomiositis asociada a enfermedad del tejido conectivo o síndrome de solapamiento.**

Es un término empleado para definir a los pacientes con DM/PM con manifestaciones de otras enfermedades del tejido conectivo tales como el LES, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, ES, enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC) y panarteritis nodosa<sup>218, 219, 220, 221</sup>. El diagnóstico de miositis es difícil de establecer en muchos de los pacientes afectados de conectivopatías, dado que la artritis frecuentemente asociada a estos procesos puede producir debilidad y atrofia muscular, junto con atrofia de fibras musculares. La DM/PM asociadas a conectivopatías suponen, en función de las series valoradas, de un 11 a un 40% de los casos. La relación entre sexos es de 9:1 (mujeres:hombres). En realidad el término de síndrome de solapamiento hace referencia a la existencia de manifestaciones comunes a dos procesos diferentes. Es por ello que sólo la DM (que cursa con lesiones cutáneas) puede realmente solaparse con otras conectivopatías. El solapamiento se produce fundamentalmente con la ES y con la EMTC, observándose manifestaciones tales como el engrosamiento esclerótico de la dermis, las contracturas, la hipomotilidad esofágica, la microangiopatía y los depósitos de calcio, que son propias de la DM y no de la PM. Mucho menos frecuentes son la aparición de manifestaciones clínicas propias de la artritis reumatoide, LES o del síndrome de Sjögren.

Estos síndromes de solapamiento se caracterizan por presentar mayor positividad a anticuerpos no asociados a miositis como factor reumatoide, ANAS, anti DNA, anti Scl-70 y anti RNP. Los pacientes con el síndrome de solapamiento DM-ES pueden tener un anticuerpo antinuclear específico, el anti PM/Scl, dirigido contra un complejo proteico nucleolar<sup>70, 222</sup>.

### **1.5.3.3. Dermatomiositis asociada a malignidad.**

Desde que en 1916 Stertz<sup>223</sup> y Kankeleit<sup>224</sup> describieron los primeros casos de DM asociados a neoplasia han sido múltiples las referencias a dicha asociación<sup>225, 226, 227, 228, 229</sup>. Hay estudios retrospectivos que han demostrado un incremento en la incidencia de neoplasias en pacientes con miopatías inflamatorias en relación a pacientes sin dicha patología. El porcentaje de asociación oscila entre el 0.9 y el 1.8% en el caso de la PM y el 2.4 y el 3.4% en el caso de la DM. Característicamente no se ha demostrado la asociación de neoplasia a DM juvenil. Los tipos de neoplasia más frecuentemente diagnosticados en estos pacientes son equiparables a los de la

población general<sup>230, 231, 232</sup>. En el estudio de Hill y colaboradores<sup>233</sup> de 618 pacientes diagnosticados de DM 198 presentaban asociación a procesos malignos, siendo las formas más comunes las neoplasias las de ovario, pulmón, páncreas, estómago, colorrectal y linfoma no Hodking. Diversos estudios han encontrado una especial alta incidencia de tumoraciones ginecológicas (especialmente carcinoma de ovario)<sup>234, 235</sup>; o de carcinomas nasofaríngeos en DM en pacientes asiáticos<sup>236</sup>. Se ha determinado que en mujeres con DM el riesgo de desarrollar un carcinoma de ovario es 16,7 veces superior al de la población femenina general.

En lo referente a la asociación temporal entre ambos procesos la neoplasia puede diagnosticarse previa (34%) o coincidentemente (26%) al diagnóstico de DM, pero en muchas ocasiones su desarrollo es posterior al del establecimiento del mismo (40%)<sup>237</sup>. En el estudio de Hill y colaboradores de 198 pacientes con dicha asociación el diagnóstico de DM precedió al desarrollo de enfermedad neoplásica detectable en 115. La relación patogénica entre neoplasia y DM/PM está todavía por determinar. Se han intentado identificar características clínicas específicas de la DM asociada a neoplasia que permitan sospechar dicha asociación en subtipos clínicos concretos. El resultado obtenido es que el dato clínico más consistentemente asociado con una mayor incidencia de neoplasia subyacente es la edad avanzada de los individuos. Así Chen y colaboradores<sup>238</sup> establecen como factor de riesgo de asociación una edad superior a los 45 años. Otros autores han hallado como signos clínicos predictivos de una mayor probabilidad de asociación a neoplasia la presencia de lesiones cutáneas necróticas<sup>239, 240</sup>, elevaciones importantes de la VSG<sup>241, 242</sup> o de las CPK<sup>243</sup>, o el inicio agudo de la clínica<sup>244</sup>; mientras que en otros estudios no se encuentra relación entre signos clínicos concretos<sup>220, 245, 246</sup> y dicha asociación. Chen y colaboradores encuentran un menor riesgo de enfermedad neoplasia subyacente en pacientes con enfermedad intersticial pulmonar.

Tampoco se han identificado diferencias significativas respecto a la frecuencia y distribución de los cambios histológicos característicos en las biopsias musculares entre pacientes con DM y DM asociada a neoplasia.

Por todo lo comentado anteriormente se recomienda que en todos los pacientes con DM de inicio en edades avanzadas se realicen las exploraciones complementarias destinadas a identificar una posible neoplasia subyacente. No existe un convenio general sobre cuales son las exploraciones recomendadas. Por lo general se acepta:

1. Historia clínica completa
2. Exploración física exhaustiva anual incluyendo el recto (incluyendo colonoscopia en función de edad e historia familiar), la pelvis (para el diagnóstico precoz del cáncer de ovario) y las mamas. En el caso de las mujeres se recomienda un control ginecológico cada 6 a 12 meses. En poblaciones como la asiática en las que la incidencia de carcinomas nasofaríngeos es especialmente elevada se recomienda una valoración otorrinolaringológica exhaustiva.
3. Estudio analítico que incluya un hemograma y fórmula y un estudio bioquímico básico, un proteinograma electroforético y un análisis y sedimento de orina (incluyendo detección de hematíes y citología).
4. Radiografía de tórax.

Algunos autores recomiendan también:

1. Análisis de heces para detección de sangre oculta.
2. Mamografía en las mujeres.

En caso de detectarse alteraciones en alguna de estas pruebas se deberán realizar las exploraciones necesarias para profundizar en su estudio. Se recomienda un seguimiento continuo de los pacientes durante al menos tres años<sup>247</sup>.

La asociación de DM a neoplasia implica un peor pronóstico del proceso, debido fundamentalmente a la propia neoplasia, presentando, por lo general la DM un curso más tórpido. Habitualmente el tratamiento de la neoplasia subyacente consigue mejorar las manifestaciones de la enfermedad y estas pueden recaer cuando se produce la diseminación metastásica de la neoplasia.

## **1.6. Exploraciones complementarias.**

Las exploraciones complementarias a realizar en los pacientes con DM son aquellas destinadas a confirmar la existencia de una miositis clínica, analítica y electromiográfica con patrón histológico característico, una dermatitis con patrón histológico compatible, las alteraciones inmunológicas sugestivas de asociación a otras conectivopatías o a riesgo de enfermedad intersticial y la asociación a afectación extracutánea, extramuscular y a malignidad.

### **1.6.1. Enzimas musculares.**

La miositis propia de estas entidades provoca una elevación de los niveles plasmáticos de diversas enzimas musculares: creatinfosfoquinasa (CPK), lactato deshidrogenasa (LDH), aldolasa, aspartato aminotransferasa (ASAT, GOT) y alanina aminotransferasa (ALAT, GPT). Estas enzimas son liberadas de la fibra muscular como consecuencia de su degeneración o de la pérdida de la integridad de su membrana.

La CPK comprende 3 subtipos (MM, MB, BB) de las cuales la MM es la más específica del músculo esquelético. Es la enzima cuyos niveles plasmáticos reflejan con mayor precisión la actividad de la enfermedad, pudiendo en ocasiones elevarse hasta meses antes de que se produzcan las manifestaciones clínicas. Es la enzima más sensible pudiendo elevarse sus niveles hasta 50 veces por encima de la normalidad, pero carece de especificidad al poder experimentar aumentos en sus niveles como consecuencia de traumatismos locales (inyecciones intramusculares, contusiones, etc...) o tras la realización de ejercicio físico intenso). Hay que tener en cuenta igualmente que si bien se ha comentado es la enzima más sensible en la detección de miositis, hasta en un tercio de los pacientes con DM/PM activa los niveles de CPK pueden permanecer en los límites de la normalidad<sup>248, 249, 250, 251</sup>. Se ha observado por ejemplo en casos de DM juvenil activa sin tratamiento y en adultos con DM, especialmente en casos asociados a otras conectivopatías. Este hecho reflejaría la focalización del proceso patológico a nivel de los vasos intramusculares y del perimisio. Unos niveles especialmente elevados de esta enzima se han relacionado con un peor pronóstico y con asociación a enfermedad pulmonar y malignidad.

Los niveles plasmáticos de aldolasa son menos sensibles que los de CPK pero son más específicos que los de LDH o ASAT (GOT). La presencia de niveles elevados de ASAT (GOT), ALAT (GPT) y LDH con un cuadro clínico de fatiga y mínima debilidad en pacientes con DM en sus fases iniciales obliga a descartar la asociación a una

hepatopatía que justifique ese patrón de elevación enzimática. Se debe por ello realizar una determinación concomitante de los niveles de CPK para establecer si su origen es miógeno.

### **1.6.2. Otras pruebas analíticas.**

#### **1.6.2.1. Análisis de orina.**

La realización de un análisis de orina puede ayudar a determinar la presencia de mioglobinuria en aquellos pacientes con rhabdomiolisis producida por una afectación muscular aguda y extensa.

#### **1.6.3. Electromiografía.**

La práctica de una electromiografía es fundamental para establecer un diagnóstico de afectación muscular en los cuadros sugestivos de miositis. Esta exploración detecta alteraciones cuando los músculos estudiados están afectados por el proceso. Las alteraciones electromiográficas características de la DM consisten en la presencia de potenciales miopáticos caracterizados por unidades o potenciales de acción polifásicos de baja amplitud o voltaje y de corta duración bajo activación voluntaria, así como un incremento de la actividad espontánea con fibrilaciones, descargas complejas repetitivas y ondas agudas positivas. Hay un incremento de la actividad eléctrica en respuesta a la inserción de las agujas (irritabilidad muscular)<sup>252, 253, 254, 255</sup>. Hay que tener en cuenta, que estas alteraciones electromiográficas aparecen hasta en el 80% de los pacientes con DM, pero se presentan también en una gran variedad de procesos miopáticos agudos y tóxicos, por lo cual no son específicas de las miopatías inflamatorias idiopáticas.

En las etapas de regeneración de fibras musculares y en fases de cronicidad de la enfermedad se pueden observar potenciales mixtos miopáticos y neurogénicos (unidades polifásicas de corta y larga duración). La presencia de hallazgos neuropáticos en las fases iniciales de la enfermedad debe hacer pensar en la posibilidad de una miopatía asociada a neoplasia.

En definitiva, los estudios electromiográficos son útiles para descartar procesos neurogénicos y para confirmar la actividad o inactividad de la miopatía.

#### **1.6.4. Estudios histológicos.**

##### **1.6.4.1. Biopsia muscular.**

La biopsia muscular es la prueba diagnóstica crucial en el diagnóstico definitivo de las miopatías inflamatorias idiopáticas. La identificación de los datos histológicos característicos de cada entidad permite apoyar el diagnóstico y excluir otras enfermedades neuromusculares. Es, sin embargo, la principal causa de errores diagnósticos debidos a fallos interpretativos<sup>256</sup>. Cada una de las entidades de este grupo de miopatías se caracteriza por presentar unas manifestaciones o cambios histológicos característicos que resultan de la combinación de diversos hallazgos histológicos: a/ presencia de infiltrado inflamatorio, b/ fagocitosis, necrosis y regeneración de fibras o grupos de fibras musculares, c/ vasculopatía manifestada por la presencia de obstrucción capilar y daño endotelial y d/ aumento en la cantidad de tejido conectivo. La presencia, localización y distribución de estos hallazgos son distintos y característicos en cada una de las miopatías inflamatorias.

Para que la biopsia muscular sea diagnóstica es fundamental seleccionar para dicha exploración un músculo afecto. Los músculos más afectados son habitualmente los de las cinturas escapulares y pélvica así como los de las raíces de las extremidades, pero a pesar de esta mayor frecuencia de afectación en ocasiones resulta difícil identificar los grupos musculares afectados. Recientemente se ha demostrado la utilidad de la resonancia magnética nuclear (RMN) para su identificación, gracias a lo cual se pueden realizar biopsias musculares más dirigidas. Dado que los cambios histológicos musculares de la DM son parcheados, se puede conseguir una mayor rentabilidad diagnóstica practicando biopsias de dos grupos musculares afectados, y realizando cortes seriados tanto transversales como longitudinales de todas las muestras. Algunos autores preconizan la obtención de como mínimo 2 a 3 cm de músculo en cada biopsia. Hay que tener en cuenta a la hora de seleccionar estos músculos, que deberán evitarse aquellos utilizados recientemente para la realización de exploraciones electromiográficas o inyecciones intramusculares, dado que dichos procedimientos pueden desencadenar procesos inflamatorios y lesiones en las fibras musculares que pueden determinar falsas positividades en el diagnóstico histológico. En aproximadamente 2/3 de las biopsias musculares se llegan a identificar los cambios histológicos característicos de la miositis. A pesar de realizar la selección del músculo a biopsiar siguiendo las recomendaciones

anteriores, hasta en un 10-15% de los casos el estudio histológico de dichas biopsias resulta normal.

El estudio histológico de las biopsias musculares de pacientes con DM se caracteriza por la aparición de un infiltrado inflamatorio mixto, compuesto por linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y en menor número eosinófilos y neutrófilos. Este infiltrado se distribuye fundamentalmente en áreas perivasculares, septos interfasciculares y rodeando, más que infiltrando, los fascículos musculares (disposición perimisial), a diferencia de lo que se observa en PM y MCI. En estas entidades el infiltrado inflamatorio es fundamentalmente endomisial. En el infiltrado inflamatorio de la DM se observa un elevado porcentaje de linfocitos B y CD4+ celularidades que se hallan en proximidad. Es también característica la relativa ausencia de infiltración linfocítica en fibras no necróticas. Los vasos sanguíneos intramusculares presentan hiperplasia endotelial, con estructuras tubulo-reticulares, trombos de fibrina y obstrucción de capilares<sup>257, 258</sup>. Se puede observar reduplicación de las membranas basales capilares y fenómenos de necrosis venular, traduciéndose todos estos datos en una reducción significativa de la red capilar muscular. Como consecuencia de los microinfartos producidos por la citada microangiopatía, las fibras musculares se necrosan, degeneran y son fagocitadas, frecuentemente en grupos y afectando a partes de un fascículo muscular, o a la periferia del fascículo. Las fibras musculares tipos I y II están afectadas por igual. Los cambios histológicos que presentan estas fibras musculares van a depender de la fase evolutiva del proceso en la que se realiza la biopsia. En fases iniciales se observan pérdidas de las estriaciones transversales, hialinización del sarcoplasma y un aumento de los núcleos en el sarcolema. En fases más avanzadas las fibras se fragmentan y desarrollan una degeneración granular y vacuolar con tinción basofílica, observándose fagocitosis histiocítica. Finalmente las fibras musculares afectas se atrofian y esclerosan recordando los cambios histológicos observados en la ES. El resultado final es una atrofia perifascicular caracterizada por la presencia de dos a diez capas de fibras atróficas en la periferia de los fascículos. La presencia de esta atrofia perifascicular es diagnóstica de DM, incluso en ausencia de inflamación apareciendo en más de un 90% de los casos de DM juvenil y en al menos un 50% de las DM del adulto.

Los hallazgos histopatológicos observados en las biopsias musculares se han clasificado en cuatro grupos, basados en la extensión y distribución de la infiltración de las células inflamatorias:

Tipo I: infiltración perivascular.

Tipo II: infiltración endomisial.

Tipo III: infiltración difusa.

Tipo IV: infiltración escasa, en la cual el infiltrado inflamatorio no es prominente.

Se ha pretendido establecer una relación entre el tipo de patrón inflamatorio con la respuesta al tratamiento, teniendo los pacientes cuya biopsia muscular se encuentra en el grupo I o II habitualmente una buena respuesta al tratamiento inicial con corticoides y los del grupo III y IV una respuesta más limitada.

En los casos asociados a otras conectivopatías pueden observarse fenómenos de vasculitis.

#### **1.6.4.1.1. Otros hallazgos histológicos en biopsias musculares.**

En la actualidad se está considerando la utilidad de practicar tinciones para el HLA-I en la evaluación de las miopatías. Algunos estudios demuestran que la detección de la expresión de las antígenos del complejo HLA-I en el sarcolema es un test válido para identificar las miopatías inflamatorias idiopáticas y que dicha tinción no está afectada por el hecho de que el paciente este en tratamiento con fármacos inmunosupresores si se han utilizado durante menos de 4 semanas<sup>259</sup>. En otros estudios<sup>260, 261</sup> se ha objetivado un aumento en la expresión de dicho complejo en las fibras musculares de pacientes con DM independientemente y que dicha expresión es independiente de la presencia de infiltrado inflamatorio ni lesión muscular. Estos mismos autores consideran esta sobreexpresión como es un acontecimiento temprano en la DM juvenil. Identifican un aumento en la expresión sarcolemal del HLA-I en la práctica totalidad de las fibras, pero con mayor intensidad en las áreas perifasciculares o restringida a las áreas atroficas perifasciculares en las biopsias con datos histológicos característicos; mientras que en las biopsias sin dichos hallazgos característicos la sobreexpresión del HLA-I está limitada a sólo algunas fibras perifasciculares. Por ello se considera que la expresión anormal del HLA-I en las regiones perifasciculares podría ayudar a diagnosticar a pacientes con clínica de DM pero en ausencia de evidencia histológica de la enfermedad, y que por tanto la tinción inmunohistoquímica del HLA-I podría ser utilizada rutinariamente en el estudio histológico de las biopsias musculares de pacientes con DM.

Finalmente ha aparecido un trabajo que observa evidencias histoquímicas (disminución de la actividad de las citocromo c oxidasa y succinato deshidrogenasa) en las fibras

musculares perifasciculares atróficas, considerándolo un dato característico de esta entidad<sup>262</sup>.

#### **1.6.4.2. Biopsia cutánea.**

Las alteraciones histológicas detectadas en las biopsias de lesiones cutáneas de DM dependerán del estadio evolutivo de la enfermedad en la que se practiquen dichas biopsias.

En las lesiones agudas, los cambios histológicos recuerdan a los propios del LECS. A nivel epidérmico se observa una degeneración vacuolar de la capa basal con procesos degenerativos de la membrana basal. Se objetiva un infiltrado inflamatorio de predominio linfocitario, con histiocitos, células plasmáticas y ocasionalmente eosinófilos de predominio perivascular. Los estudios inmunohistoquímicos demuestran la ausencia de fluorescencia en la unión dermoepidérmica si bien se pueden observar depósitos globulares de IgG, IgM y ocasionalmente de IgA en la dermis superficial.

A nivel dérmico se observa un edema de todos los estratos de la dermis que es más extenso que el observado habitualmente en el LECS. Suele existir un aumento de la vascularización tanto a nivel dérmico como dermoepidérmico, existiendo en dichos vasos depósitos de factores del complemento, CAM (C5b-9) y fibrina así como fenómenos de lesión endotelial y ectasia vascular. Es igualmente frecuente hallar depósitos dérmicos de mucina que son relativamente específicos de este proceso. El tejido celular subcutáneo puede presentar también infiltrados inflamatorios linfocitarios o degeneración mucoide.

En lesiones más avanzadas los hallazgos histológicos son similares a los de la ES. La epidermis presenta un aspecto atrófico, con aplanamiento de los procesos interpapilares y depósitos de melanina en estratos basales y dermis (incontinencia pigmenti). Puede observarse también acantosis o hiperqueratosis. A nivel dérmico se observan fenómenos de homogeneización y esclerosis así como engrosamiento de las paredes vasculares. A nivel del tejido celular subcutáneo no son infrecuentes los fenómenos de esclerosis o calcificación.

#### **1.6.4.3. Alteraciones histológicas viscerales.**

En caso de realizarse, pueden observarse cambios histológicos en las biopsias de los órganos afectados. Así a nivel pulmonar los cambios histológicos más frecuentemente observados son los propios de la bronquiolitis obliterante, si bien en ocasiones se han descrito los asociados a neumonías intersticiales o los característicos de la ES. Los cambios histológicos a nivel cardíaco no son específicos y consisten en la presencia de degeneración miofibrilar microfocal con fibrosis intersticial y escaso infiltrado inflamatorio. Las biopsias intestinales pueden mostrar, al igual que en la piel y el músculo, proliferación de la íntima y trombosis de arterias y arteriolas. También se ha descrito la existencia de vasculitis cerebral y meníngea.

#### **1.6.5. Estudio inmunológico.**

Como se ha comentado anteriormente se han descrito en el suero de los pacientes con miopatías inflamatorias idiopáticas una gran variedad de autoanticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares y citoplasmáticos.

Estos autoanticuerpos se dividen en específicos y no específicos de miositis.

##### **1.6.5.1. Autoanticuerpos no específicos.**

Los autoanticuerpos no específicos de miositis se encuentran en un elevado número de pacientes afectados de DM, pero especialmente en aquellos cuya enfermedad se asocia a otras conectivopatías. Entre estos autoanticuerpos se incluyen los **ANAS**, presentes hasta en un 85 % de los casos, habitualmente a títulos bajos. Cuando los títulos son superiores a 1:160 deberá sospecharse una posible asociación a otras enfermedades del tejido conectivo. Otros autoanticuerpos no específicos de miositis son

1. **Anti nRNP:** frecuentemente vistos en pacientes con DM y fenómeno de Raynaud, o síndrome de Sjögren y en otras conectivopatías como EMTC, LES y ES. El 12% de pacientes con DM y UIRNP presentan EMTC o LES,
2. **Anti Ro/SS-A:** detectados habitualmente en pacientes con síndrome de solapamiento, así como en otras conectivopatías (LES, ES, EMTC).
3. **Anti-La/SS-B:** frecuentes en pacientes con síndrome de solapamiento, así como en otras conectivopatías (LES, ES, EMTC).
4. **Anti-Sm:** autoanticuerpos frecuentes en el LES.

5. ***Anti PM-Scl (PM-1)***: el 8% de pacientes con DM y anti PM-Scl presentan un síndrome de solapamiento con esclerosis de predominio facial-acral, enfermedad de Raynaud, artritis no deformante, afectación pulmonar y esofágica y factor reumatoide positivo. Este anticuerpo se observa también en la ES.
6. ***anti-Ku***: se asocia al síndrome de solapamiento DM-ES de buen pronóstico. Se observa igualmente en el LES y en la ES.

#### **1.6.5.2. Autoanticuerpos específicos de miositis.**

Aparecen hasta en un tercio de los pacientes y son más comunes en la DM que en la PM. Son anticuerpos dirigidos contra antígenos citoplasmáticos, en concreto contra ribonucleoproteínas citoplasmáticas que están involucradas en la traducción y síntesis proteica. Entre ellos se incluyen los anticuerpos anti-sintetasa, anti-factores de traducción y anticuerpos contra las partículas de reconocimiento de señales (anti-SRP). Estos autoanticuerpos específicos de miositis no se detectan, característicamente en las formas amiopáticas de la enfermedad.

##### **1.6.5.2.1. Anti aminoacil-ARNt sintetasas.**

Los autoanticuerpos específicos de miositis más prevalentes (5-50% de los pacientes) son las anti-sintetasas. Estos autoanticuerpos están dirigidos contra las aminoacil transfer RNA sintetasas, enzimas que catalizan la unión del aminoácido con su ARN de transferencia respectivo. La presencia en suero de estos autoanticuerpos parece correlacionarse con el desarrollo de manifestaciones extramusculares. Hasta la actualidad se han descrito 6 anti-sintetasas, formando parte todas ellas del síndrome antisintetasa. De estos 6 el anticuerpo anti-Jo1, dirigido contra el enzima celular histidil-tRNA sintetasa, es el más frecuente, suponiendo el 75% del total de casos. Este autoanticuerpo se detecta hasta en el 25% de los pacientes con miositis (25-45% PM, <5%DM), especialmente en aquellos con enfermedad intersticial pulmonar incluyendo aquellos con formas severas que asocian síndrome de distrés respiratorio del adulto, fenómeno de Raynaud, manos de mecánico, síndrome seco, artritis simétrica no erosiva y febrícula. Este anticuerpo puede también ser detectado en el LES, ES y el síndrome de Sjögren.

Las otras 5 anti aminoacil-ARNt sintetetasas están dirigidas contra la sintetetasas de:

1. **Treonina (treonil t-RNA )**: anticuerpo llamado PL-7, presente en un 3 a 5 % de pacientes con DM/PM, y asociado a fibrosis pulmonar, Raynaud; así como en pacientes con ES.
2. **Alanina (alanina t-RNA)**: anticuerpo PL12, que se detecta en un 3% de DM/PM y asociado a Raynaud, fibrosis pulmonar y a otras conectivopatías como el LES, ES y poliartritis juvenil.
3. **Glicina (glicil t-RNA (anticuerpo EJ)) e isoleucina (isoleucil t-RNA (anticuerpo OJ))**: presente en un 1% de DM/PM y asociados a fibrosis pulmonar. Dentro del grupo OJ se han descrito anticuerpos dirigidos contra el **Leucit-ARNt** y **Lysit-ARNt**. Podrían ayudar a establecer el diagnóstico diferencial entre DM/PM y MCI dado que en esta última miopatía no se detectan estas anti-sintetetasas.
4. **Asparagina (KS)**

Cada anti-sintetasa reconoce exclusivamente su RNAt específico y hasta el momento no se han descrito pacientes que presenten en el suero más de una antisintetasa simultáneamente. La miositis de los pacientes con estos anticuerpos es similar a la de los pacientes que no los presentan, pero al parecer los primeros responden peor a los tratamientos y tienen una mayor tendencia a la reactivación del proceso al retirarlos<sup>263</sup>.

#### **1.6.5.2.2. Anti ARNt.**

Son anticuerpos dirigidos contra el ARN de transferencia.

Es habitual que se detecten junto con los anticuerpos antisintetasa (fundamentalmente anti PL-12 y anti Jo-1), especialmente en el síndrome antisintetasa.

#### **1.6.5.2.3. Anticuerpos contra partículas de reconocimiento de señales (anti SRP).**

Las partículas de reconocimiento de señales son un complejo de ribonucleoproteínas citoplasmáticas compuesto por una fracción de ARN (7S ARN) y 6 proteínas ( 9, 14, 19, 54, 68 y 72kD) que participan en el transporte de proteínas recién sintetizadas del citoplasma al retículo endoplásmico. Estos anticuerpos se detectan en el 7 a 9% de PM y en el 2 a 3% de DM y MCI<sup>264</sup>. Se han asociado con algunas formas clínicas como DM con mialgias importantes, DM con debilidad rápidamente progresiva o DM fulminante caracterizada por la asociación de afectación cardíaca (miocarditis y palpitaciones), baja respuesta a terapia inmunomoduladora y alta mortalidad<sup>265</sup>. Otros autores detectan

este anticuerpo en pacientes sin miopatía inflamatoria y no detectan una asociación tan fuerte con afectación cardíaca, presentando índices de supervivencia superiores a los descritos<sup>266</sup>.

#### **1.6.5.2.4. Anticuerpos específicos contra antígenos nucleares.**

Los únicos autoanticuerpos específicos de miositis cuyo antígeno diana se halla en el núcleo celular son los anti Mi-1 y Mi-2. El epítipo de este anticuerpo es una proteína que forma parte de la histona de la acetilasa y participa en la remodelación de nucleosomas dependiente de ATP. Se detecta en un 4-14% del total de pacientes con miositis idiopáticas inflamatorias, especialmente en aquellos con DM<sup>267</sup>. Se suele asociar a las manifestaciones clínicas de DM idiopática clásica (pápulas de Gottron, signo del chal o distrofia cuticular)<sup>268</sup>, y suele producir un cuadro de pronóstico favorable por su gran corticosenibilidad. A pesar de haberse descrito en algunos pacientes con LES es un autoanticuerpo muy específico de miositis.

#### **1.6.5.2.5. Otros autoanticuerpos específicos.**

Otros anticuerpos específicos de miositis son el anti 56kD<sup>269</sup>, anti-miosina<sup>270</sup>, el anti KJ (factor de translación), anti FER (factor de elongación  $1\alpha$ ), anti Mas, anti Wa (descrito en dos pacientes con clínica compatible con síndrome antisintetasa<sup>271</sup>) y anti PMs-1.

#### **1.6.5.2.6. Anticuerpos en pacientes con DMA.**

En una revisión de los 336 casos de DMA publicados hasta 2003, los autores hallaron referencias acerca de la existencia de ANA en el 79% de los pacientes. No se detectaron anticuerpos específicos de miositis en ninguno de los casos publicados. Hay trabajos preliminares que describen la existencia en pacientes con DMA de anticuerpos con especificidad diferente a la de los tradicionalmente descritos. Entre ellos se encuentra un autoanticuerpo dirigido contra un autoantígeno de 155kD y/o el autoantígeno SE, descrito en 16 de 19 (84%) pacientes con esta enfermedad<sup>272</sup>. Sato y colaboradores han detectado la presencia de otro autoanticuerpo contra un autoantígeno de 140kD llamado US en 8 de 15(53%) pacientes japoneses con DMA<sup>273</sup>. Si se confirman estos hallazgos iniciales, estos autoanticuerpos podrían representar unos criterios diagnósticos útiles para esta forma clínica de DM y apoyarían la posible existencia de un fondo inmunogenético diferente para estos pacientes respecto a la DM clásica.

A pesar del progreso continuo en el reconocimiento de nuevos anticuerpos producidos por pacientes afectados de estas miopatías, la razón de su síntesis y su papel en la patogenia de las lesiones tisulares continúan siendo, como ya hemos comentado anteriormente, una incógnita<sup>274</sup>.

#### **1.6.6. Otras alteraciones inmunológicas.**

El factor reumatoide puede hallarse aumentado hasta en un 20% de los pacientes, especialmente y como ya se ha comentado anteriormente, en los síndromes de solapamiento. También hay referencias acerca del hallazgo de anticuerpos anticardiolipina, especialmente en casos de DM juvenil con complicaciones vasculares. Finalmente pueden detectarse elevaciones en la velocidad de sedimentación globular, fenómeno observado hasta en un 50% de los pacientes y que no se ha relacionado con la actividad de la enfermedad, pero sí con una mayor probabilidad de asociación neoplásica. Deberá considerarse especialmente esta posible asociación cuando sus niveles sean superiores a los 35mm/h<sup>242</sup>.

En lo referente las subpoblaciones de linfocitos circulantes se ha observado una disminución de los LT citotóxicos y CD3+ y un incremento de células B(CD19+) y linfocitos CD20+. Los pacientes con anticuerpos anti Jo-1 presentan tasas inferiores de LT CD4+ y una proporción superior de linfocitos B activados que los pacientes sin este anticuerpo<sup>275</sup>.

### **1.6.7. Otras exploraciones recomendadas.**

#### **1.6.7.1. Radiografía de tórax.**

Se recomienda su realización en todos los pacientes para descartar la presencia de afectación pulmonar subclínica. En aquellos pacientes con sospecha de intensa afectación de la musculatura respiratoria o fibrosis pulmonar deberá completarse el estudio con la realización de unas pruebas funcionales respiratorias y una gasometría arterial. El estudio radiológico puede ayudar también a detectar calcificaciones musculares que ayuden a orientar el diagnóstico.

#### **1.6.7.2. Electrocardiograma.**

Importante para descartar alteraciones de la conducción o repercusiones electrocardiográficas de la miocardiopatía.

#### **1.6.7.3. Screening neoplásico.**

Dada la frecuente asociación a procesos neoplásicos ya comentada anteriormente en pacientes con edades superiores a los 45 años se recomienda realizar un estudio básico para descartarlas.

#### **1.6.7.4. RMN y Resonancia Magnética Espectroscópica (RME) con P-31.**

Son dos técnicas de imagen aplicadas en el estudio de la afectación muscular de los pacientes con DM. Estas técnicas permiten el estudio funcional de la citada miopatía gracias a la determinación de las variaciones en la cantidad de agua de los tejidos (valorada a través de la determinación de los tiempos de relajación en T1 y T2 de la resonancia magnética nuclear) y del consumo de energía de estos tejidos (valorado a través de la cuantificación de metabolitos fosforilados mediante la RME con P-31). Estas técnicas permiten ayudar a diferenciar la DM, que habitualmente presenta imágenes normales en T1 y un aumento de la intensidad en T2 provocada por la inflamación muscular; de la PM en la que se evidencia un aumento de la infiltración grasa y atrofia muscular en T1<sup>276, 277</sup>. Esta técnica también ha permitido observar diferencias en la selectividad de músculos afectados por las diferentes entidades. Nishikai y colaboradores<sup>278</sup> observan estudiando a 23 pacientes con miopatía inflamatoria (PM, DM y MCI), una afectación más frecuente de los vastos del cuádriceps en los pacientes con DM, mientras que en los pacientes con PM

predominaba la afectación de los aductores. Dion<sup>279</sup> observa la infiltración grasa y la afectación de los grupos musculares anteriores del muslo como dato más característico de la MCI frente a la PM en que se afectan los 3 vastos y la musculatura posterior. La RMN se ha demostrado útil también para detectar lesión muscular subclínica<sup>280</sup>, así como para identificar mejorías en el grado de miositis tras el inicio de la terapéutica, ayudando así en el control clínico de los pacientes en tratamiento<sup>281</sup>. El estudio mediante la RME de pacientes con DM<sup>282</sup> y DMA ha demostrado la existencia de deficiencias metabólicas latentes que se ponen de manifiesto con el ejercicio. La observación de dichos cambios también en los pacientes con DMA apoyaría la teoría de que la citada entidad no es más que una variante expresiva o una fase precoz de un mismo proceso patológico.

En definitiva, estas técnicas permiten establecer la existencia de afectación muscular mediante procedimientos mucho menos agresivos que la biopsia muscular.

Una nueva técnica, la RMN-STIR (short tau recovery), permite la valoración de inflamación no sólo muscular, sino también cutánea y subcutánea. En un estudio reciente<sup>283</sup>, utilizando dicha técnica para identificar la extensión del proceso en pacientes con DM juvenil, los marcadores tradicionales de actividad fueron incapaces de predecirla. Por otro lado la detección por medio de esta técnica de edema o inflamación en la piel, tejido subcutáneo y fascia se correlacionó con el desarrollo ulterior de calcinosis en algunos pacientes

### 1.7. Evaluación diagnóstica.

El apartado de los criterios diagnósticos de las miopatías inflamatorias idiopáticas continúa siendo un capítulo no resuelto definitivamente, ya que los numerosos criterios propuestos no han sido estrictamente validados.

Como ya se ha comentado anteriormente el primer intento serio de llevar a cabo una clasificación integral de las miopatías inflamatorias idiopáticas fue llevado a cabo por Bohan y Peter. Estos mismos autores establecieron los criterios diagnósticos de la PM/DM, que son:

1. **Debilidad simétrica de** los músculos de las cinturas escapulares y pélvica, de los músculos flexores del cuello, progresiva en el curso de semanas o meses, con o sin disfagia o afectación de la musculatura respiratoria.
2. **Biopsia muscular** con evidencia de necrosis de fibras musculares, fagocitosis, regeneración, núcleos sarcolemales grandes y vesiculosos con nucleolos prominentes, atrofia de distribución perifascicular, variación en el tamaño de las fibras e infiltrado inflamatorio frecuentemente perivascular y perifascicular.
3. **Elevación plasmática de enzimas musculares**, especialmente de la CPK y frecuentemente de la aldolasa, ASAT (GOT), ALAT (GPT) y LDH..
4. **Triada electromiográfica** de unidades motoras polifásicas pequeñas y cortas, fibrilaciones, ondas positivas agudas e irritabilidad insercional y descargas repetitivas anómalas de alta frecuencia.
5. **Cualquiera de las manifestaciones cutáneas** características de DM.

En los pacientes con 3 o más criterios musculares y el 5 (criterio de afectación cutánea) se establece el diagnóstico de certeza de DM; el de probabilidad con dos criterios musculares y el criterio de afectación cutánea, y el de posibilidad con un criterio muscular y el criterio cutáneo.

Ante cualquier paciente con sospecha de DM por la presencia de lesiones cutáneas características se deberá practicar una exploración física que incluya valoración de fuerza de grupos musculares, especialmente de las cinturas escapulares y pélvica, una biopsia de lesiones cutáneas específicas y una determinación sérica de enzimas musculares. Ante la presencia de alteración de la fuerza y de los niveles enzimáticos deberá solicitarse un electromiograma de los grupos musculares afectados, así como una biopsia muscular. Estas exploraciones deberán ser repetidas si resultan negativas. En

caso de persistir dicha negatividad nos podremos ayudar de la realización de una RMN que si resulta igualmente negativa nos apoyará el diagnóstico definitivo de DMA<sup>284</sup>.

Es imprescindible para establecer un diagnóstico definitivo de DM/PM descartar, por medio de la historia clínica realizada al paciente, los criterios de exclusión de dichas entidades. Estos criterios son: a/ la ingesta de medicamentos capaces de inducir cuadros similares a PM/DM como hidroxiurea<sup>285, 286, 287, 288</sup>, diclofenaco, triptófano, penicilamina<sup>289</sup> y antimaláricos; b/ infecciones que pueden causar miositis, como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), HTLV-1, echovirus, adenovirus, influenza); y c/ otras miopatías como MCI, distrofias musculares y miopatías metabólicas.

### **1.8. Diagnóstico diferencial.**

El diagnóstico de DM depende de la asociación de unas lesiones cutáneas características a debilidad muscular, siendo confirmado por la biopsia muscular, electromiografía y enzimas musculares. En algunas ocasiones nos encontramos con ciertas patologías que presenten similitudes clínicas con la DM pudiendo motivar errores diagnósticos:

#### **1.8.1. ES.**

Ambos procesos pueden presentar manifestaciones clínicas similares o presentarse simultáneamente. Desde el punto de vista clínico puede ser difícil su diferenciación, sobre todo en las fases en las que tras la recuperación de un brote de DM persisten lesiones de esclerosis. Las alteraciones musculares pueden ser idénticas en las dos enfermedades, y no son infrecuentes el desarrollo de una cianosis en heliotropo y las alteraciones capilares del lecho ungueal en los pacientes con ES. No obstante, las alteraciones viscerales y la presencia de anticuerpos anti-nucleares son más frecuentes en la esclerosis sistémica que en la DM, por lo cual su presencia apoya más este diagnóstico.

#### **1.8.2. Morfea.**

Los cambios atróficos y poiquilodermiformes de las fases finales de la DM pueden simular las lesiones de morfea. No obstante la historia clínica deberá orientarnos al diagnóstico correcto.

#### **1.8.3. LES.**

Puede igualmente simular una DM tanto en la clínica como en las alteraciones histológicas cutáneas. Por otro lado el LES puede asociar miositis. No obstante las alteraciones inmunológicas características como la presencia de anticuerpos antinucleares y anti-DNA y otras alteraciones inmunológicas y clínicas ayudan a establecer el diagnóstico.

#### **1.8.4. EMTC.**

Al igual que el lupus eritematoso sistémico puede cursar con miositis y lesiones cutáneas similares a las de la DM.

#### **1.8.5. Escleredema.**

### **1.8.6. Neuropatías.**

El diagnóstico diferencial con las neuropatías se establece por los hallazgos electromiográficos característicos y la ausencia en las neuropatías de elevaciones de niveles plasmáticos de CPK y de creatina urinaria.

### **1.8.7. Distrofias musculares y miopatías metabólicas.**

Los problemas de diagnóstico entre DM y estas miopatías se pueden plantear en aquellos pacientes con DM y lesiones cutáneas poco aparentes o inespecíficas. En estos casos la presencia de una historia familiar de la enfermedad y las diferencias electromiográficas ayudan a orientar el diagnóstico.

### **1.8.8. Síndrome eosinofilia mialgia.**

Proceso patológico que se ha asociado a la ingestión de L-triptófano contaminado y que presenta fasciitis y cambios cutáneos similares a los descritos en la DM<sup>290</sup>.

### **1.8.9. Miopatías infecciosas.**

Como las producidas por virus o triquinosis. Habitualmente se asocian a fiebre e intenso dolor, que son síntomas poco frecuentes de los pacientes con DM.

### **1.8.10. Enfermedad de Lyme.**

Se ha descrito una miositis crónica en pacientes con infección por *Borrelia burgdorferi*. En caso de duda se solicitará la serología para el citado microorganismo.

### **1.8.11. Asociación a otras enfermedades.**

A parte de la posible asociación a otras conectivopatías o procesos neoplásicos, existen en la literatura diversos trabajos que han descrito la asociación de esta entidad con otros procesos patológicos como timomas, hipertiroidismo, anemia hemolítica, agammaglobulinemia, cistinuria, tiroiditis autoinmune, amiloidosis generalizada, mieloma múltiple, liquen mixedematoso, dermatitis herpetiforme, porfiria cutánea tarda y morfea.

## **1.9. Tratamiento.**

El establecimiento de una estrategia terapéutica en los pacientes afectados de DM no resulta fácil, debido al variable comportamiento del proceso en cada paciente. Algunos de ellos presentan sintomatología moderada, toleran bien el tratamiento y responden adecuadamente al mismo sin presentar complicaciones propias del proceso o de la terapéutica. Por el contrario hay pacientes que manifiestan formas clínicas recalcitrantes, que no responden a terapias múltiples y que requieren de medidas terapéuticas agresivas y desesperadas para controlar su enfermedad, o que desarrollan efectos secundarios a dichas terapias. El problema es que no existen datos clínicos objetivos que nos ayuden a identificar en qué punto de este espectro se encuentra un paciente concreto antes de iniciar el tratamiento. La complicación en el enfoque terapéutico aumenta como consecuencia de las múltiples opciones de tratamiento disponibles y los diferentes protocolos de administración que se aplican en cada país o centro sanitario. A pesar de ello existen entre los diferentes grupos de estudio de la DM, unos criterios mínimos comunes en cuanto al enfoque terapéutico básico de esta entidad. Dado que en la patogenia del proceso están involucrados toda una serie de mecanismos inmunopatológicos, es fácil comprender que el tratamiento se basará en la utilización de terapias inmunomoduladoras. Hemos de entender que de todas formas, al tratarse de una entidad de etiología no aclarada, ninguno de los tratamientos habitualmente utilizados en su control son específicos. El objetivo del tratamiento será mejorar la funcionalidad del paciente en sus actividades cotidianas

### **1.9.1. Fármacos utilizados.**

#### **1.9.1.1 Corticosteroides.**

Los corticosteroides sistémicos siguen siendo en la actualidad la primera línea del arsenal terapéutico en este proceso. A falta de estudios a doble ciego son claramente eficaces y se acepta que disminuyen la morbilidad y mortalidad en las formas tanto juveniles como del adulto<sup>291</sup>. El inicio precoz del tratamiento permitirá disminuir las dosis totales y el tiempo de duración del tratamiento, la reducción del tiempo de hospitalización del paciente y su incorporación a la actividad cotidiana mientras está en tratamiento<sup>292</sup>. No son útiles para el tratamiento de las contracturas residuales, los déficits músculoesqueléticos o para la enfermedad inactiva<sup>293</sup>, y se desaconseja su utilización en las formas pre o amiofáticas. El beneficio de esta terapia se basa en la

mejoría de la vasculopatía y disminución del depósito de complejos inmunes y componentes finales del complemento inducidos por estos fármacos<sup>294</sup>.

El patrón de respuesta a la terapia corticoidea puede variar en función del perfil clínico concreto. Así por ejemplo se ha descrito una peor respuesta en los casos de síndrome de solapamiento que en las formas puras de DM<sup>220</sup>.

Hay autores que consideran que es esencial iniciar el tratamiento utilizando dosis elevadas de corticosteroides (1-2mg/Kg/día)<sup>164</sup> en las formas agudas de la enfermedad, ya que con ello se consigue una mayor efectividad del mismo y se reduce el riesgo de secuelas derivadas de la progresión del proceso<sup>227, 295, 296</sup>. Estas dosis se mantienen habitualmente hasta la normalización de las CPK, o la mejoría de la fuerza muscular, fenómeno que ocurre habitualmente entre las 4 y 8 semanas<sup>297</sup>. Según estos autores las dosis inferiores son menos eficaces y suponen un mayor riesgo para el desarrollo de yatrogenia, al alargar la duración total del tratamiento. Esta teoría no es compartida por todos los autores. El corticoide de elección es la prednisona, debiéndose evitar los principios activos fluorados, dados sus efectos sobre la musculatura y las alteraciones electrolíticas que pueden determinar.

#### **1.9.1.1.1. Ajuste de las dosis.**

También existen diferencias de criterio a la hora de establecer la pauta de reducción de dosis de corticoides, una vez controlada la fase aguda del proceso. A pesar de que muchos autores consideran necesaria una reducción gradual y lenta de las dosis diarias<sup>298, 299</sup>, existen otros que preconizan las reducciones más rápidas de las mismas<sup>300</sup>. Algunos grupos preconizan el paso a tratamiento a días alternos como forma de reducción de la dosis, afirmando que esta pauta consigue mantener la eficacia del tratamiento, reduciendo la morbilidad asociada al mismo<sup>301</sup>. Se citan reducciones de dosis de entre 5 y 10 mg/día cada 3-4 semanas. Las dosis se reducen hasta alcanzar las mínimas necesarias para mantener el proceso bajo control. Habitualmente se llega a conseguir mantener controlado al paciente con dosis de entre 10-25 mg a días alternos o las dosis equivalentes diarias. Se recomienda mantener dosis mínimas (5 a 10mg) como mínimo hasta un año después de controlada la sintomatología<sup>302</sup>. Algunos autores comentan la necesidad en muchos de sus pacientes de mantener dosis reducidas de este fármaco de por vida<sup>303</sup>.

En lo referente a la DM amiopática no se recomienda la utilización de corticoides orales.

#### **1.9.1.1.2. Resistencia al tratamiento.**

Algunos pacientes no responden al tratamiento con prednisona y se consideran corticoresistentes. Se consideran como tales aquellos pacientes, que tras 2-4 meses de tratamiento a dosis elevadas no presentan respuesta valorable<sup>304</sup>. Se entiende por respuesta valorable la mejoría de la fuerza muscular, de la sensación de bienestar o la normalización de las enzimas musculares. Dado que las enzimas musculares pueden normalizarse pese a la persistencia de la actividad del proceso, actualmente se tiende a ajustar el tratamiento en función del grado de recuperación de la fuerza muscular. El problema que se plantea en el ajuste de las dosis es la posibilidad de que un paciente desarrolle una miopatía esteroidea, con lo cual puede persistir o empeorar la clínica muscular pese a la normalización de los enzimas musculares<sup>305</sup>. Esta situación plantea la duda acerca de si dicho empeoramiento es secundario a una reagudización del proceso, con lo cual el paciente requeriría de un aumento en las dosis de corticoides, o de la citada miopatía esteroidea, en cuyo caso es necesaria la reducción de las mismas. La tendencia a la normalización de los parámetros enzimáticos orienta hacia lo segundo, recomendándose la reducción de las dosis de corticoides y adoptar una actitud expectante sobre la evolución de la clínica muscular. Ni la repetición de la biopsia muscular, ni la práctica de un nuevo electromiograma parecen ser útiles en la diferenciación de las dos situaciones.

#### **1.9.1.1.3. Otras pautas de administración.**

Existe la posibilidad de administrar corticoides endovenosos, especialmente en las formas más graves de la enfermedad como la DM fulminante<sup>306</sup>. Se acostumbra a recomendar la utilización de metilprednisolona a dosis de 1g por día, 3 días consecutivos a la semana. Se repiten 2 o tres ciclos de esta pauta. Tras conseguirse la respuesta deseada se acostumbra a pasar a la administración diaria oral de 60 mg de prednisona.

#### **1.9.1.1.4. Efectos secundarios.**

El mayor problema que plantea la terapia con corticoides a largo plazo es el desarrollo de efectos secundarios. Estos se han descrito en un 32 a 41% de los pacientes con PM/DM en tratamientos prolongados con estos fármacos<sup>201, 307</sup>.

La administración de corticoides endovenosos se asocia al desarrollo de hipertensión arterial, trastornos de personalidad perceptivos y sabor metálico<sup>308</sup>. La administración

prolongada de corticoides puede determinar incrementos de peso y distribución anómala de la grasa corporal, hiperlipidemias, diabetes, atrofia cutánea, hipertensión arterial, virilización, osteoporosis, necrosis aséptica de cabeza de fémur, cataratas y dispepsia ulcerosa<sup>309</sup>. En pacientes pediátricos puede determinar retrasos en el crecimiento, recuperándose dicho patrón de crecimiento normal pero no la pérdida de crecimiento acumulada una vez suspendida la terapia.

### **1.9.1.2. Inmunomoduladores no esteroideos.**

En las situaciones en las que se presenta una corticoresistencia (hasta en un 20% de los pacientes) se plantea la necesidad de recurrir a otros tratamientos. Además de esta hay otras situaciones en las que se plantea la necesidad de utilizar otros inmunomoduladores<sup>296, 310, 311</sup>:

1. La necesidad de reducir las dosis de corticosteroides, pese a una buena respuesta, con el fin de reducir los efectos secundarios derivados de su uso<sup>312</sup>.
2. Cuando los repetidos intentos de reducción de dosis de corticoides provocan reagudizaciones del proceso.
3. Cuando el paciente presenta una enfermedad rápidamente progresiva con debilidad severa e insuficiencia respiratoria.

La preferencia por uno u otro fármaco se basan en la experiencia personal en su uso de cada facultativo y la relación beneficio/seguridad de los mismos. La eficacia ahorradora de esteroides parece ser igual en todas las terapias alternativas y para conseguirla se necesitan entre 1 y 2 meses de tratamiento. En caso de fracaso terapéutico con la utilización de uno solo de estos fármacos se han utilizado varios simultáneamente<sup>313, 314</sup>. Los efectos secundarios propios de estos fármacos son específicos para cada uno de ellos, pero en general incluyen estomatitis, leucopenia, activación de herpes zóster, infecciones bacterianas, hepatopatía y gastrotoxicidad. El uso prolongado de fármacos inmunosupresores puede predisponer al paciente al desarrollo de procesos neoplásicos o a la diseminación de neoplasias existentes.

#### **1.9.1.2.1. Azatioprina.**

Derivado de la 6-mercaptopurina, es administrado oralmente (2.5-3mg/Kg) con reducciones mensuales de 25mg hasta llegar a las dosis de mantenimiento de 50mg/día<sup>315</sup>. Para muchos autores es el primer fármaco de elección tras los corticoides, dada su eficacia, tolerancia por parte del paciente y relativa seguridad<sup>310</sup>. No obstante su inicio de acción es más lento (requiere de 3 a 6 meses de tratamiento para producir sus efectos) por lo cual deberá mantenerse como mínimo durante ese periodo antes de considerarse no efectivo. En revisiones retrospectivas se han descrito buenas respuestas hasta en un 75% de los pacientes tratados<sup>312, 316</sup>.

Los principales efectos secundarios asociados al tratamiento con azatioprina son la aplasia medular (trombocitopenia, anemia, leucopenia, o pancitopenia)<sup>317</sup> fiebre, náuseas, vómitos y más raramente toxicidad hepática.

#### **1.9.1.2.2. Metotrexate.**

Inhibidor irreversible de la dihidrofosfolato reductasa, es utilizado en el tratamiento de procesos tanto benignos como malignos. A parte de su efecto citotóxico, este fármaco posee propiedades antiinflamatorias. Recomendado por algunos autores como el primer tratamiento adyuvante ahorrador de esteroides o para el manejo de pacientes con DM resistentes a los esteroides o formas fulminantes<sup>304, 318</sup>. Se administra por vía endovenosa a dosis semanales de 0.4 a 0.8 mg/Kg para el control de miositis agudas u oralmente a dosis de 7.5 mg semanales (en tres tomas de 2.5mg separadas 12 horas). Se incrementa la dosis en 2.5mg/semana hasta llegar a un total de 25mg/semana. Se debe administrar conjuntamente con ácido fólico para minimizar los efectos secundarios. Se han descrito tasas de respuesta del 88%, posibilitando la reducción de dosis de corticoides en el 43% de los pacientes<sup>220</sup>.

El tratamiento con metotrexate puede producir neumonitis, estomatitis, síntomas gastrointestinales, leucopenia, anemia fatigabilidad, discreta alopecia y hepatotoxicidad. Se ha descrito también la inducción de fibrosis pulmonar que puede crear problemas diagnósticos en aquellos pacientes con alveolitis fibrosante propia del proceso de base.

#### **1.9.1.2.3. Ciclofosfamida.**

Administrada por vía endovenosa en forma de bolus (500mg/semana) u oral (2-2.5 mg/Kg, generalmente 50 mg/8h) hay resultados contradictorios en cuanto a su efectividad. Parece estar indicada, asociada a corticoides, en pacientes con enfermedad pulmonar intersticial<sup>319, 320</sup>.

La ciclofosfamida puede inducir náuseas, vómitos, aftosis, alopecia, cistitis hemorrágica, fibrosis pulmonar, aplasia medular, neoplasias secundarias (carcinoma de vejiga, linfomas, carcinoma escamoso), e infertilidad<sup>321, 322</sup>. Se deben monitorizar los parámetros hemáticos cuando se emplea.

#### **1.9.1.2.4. Ciclosporina A.**

La Ciclosporina A es un fármaco que disminuye la proliferación de LT e inhibe la producción de IL-2. Se recomiendan dosificaciones de 2.5 a 10mg/Kg/día vía oral (100-150mg/12h). Tanto como terapia adyuvante como inicial ha obtenido buenos resultados, especialmente en casos refractarios e infantiles<sup>323, 324, 325</sup>. Los principales efectos secundarios son la nefrotoxicidad, la hipertensión arterial, la hipertricosis y la hiperplasia gingival. En un estudio comparativo entre grupos de pacientes tratados con Ciclosporina A y metotrexate se observó mejoría en los parámetros clínicos y analíticos en ambos grupos, con resultados superiores aunque no estadísticamente significativos en los tratados con metotrexate<sup>323</sup>.

#### **1.9.1.2.5. Inmunoglobulina endovenosa.**

Las inmunoglobulinas endovenosas se han utilizado durante décadas como terapia sustitutiva en inmunodeficiencias humorales primarias o secundarias.

Los efectos inmunomoduladores de esta terapia han justificado su utilización en enfermedades inflamatorias o autoinmunes como la enfermedad de Kawasaki o la púrpura trombocitopénica idiopática. Entre las enfermedades neuromusculares en las que ha demostrado utilidad se encuentran el síndrome de Guillain-Barré, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, neuropatía motora multifocal, miastenia gravis y síndrome de Lambert-Eaton<sup>326</sup>. Entre las enfermedades dermatológicas susceptibles de ser tratadas con esta modalidad terapéutica se encuentran las enfermedades ampollas autoinmunes como el penfigoide, la ES, LEC, necrolisis epidérmica tóxica, el eritema multiforme, la urticaria crónica autoinmune y la dermatitis atópica<sup>327</sup>. Numerosos estudios han demostrado en los últimos años la efectividad de la inmunoglobulinas

endovenosas en el tratamiento de la DM tanto del adulto como juvenil<sup>328, 125, 329, 330, 331, 332</sup>. La efectividad de esta terapia se basa en la inhibición del depósito de factores del complemento que ejercen las inmunoglobulinas por el bloqueo de receptores; la inhibición de la producción de citocinas y quemocinas por los LT y la inhibición en la producción de inmunoglobulinas. En un estudio reciente se ha demostrado que la administración de estas inmunoglobulinas en pacientes con DM tiene un efecto inmediato de atenuación de la amplificación del complemento, efecto persistente a largo plazo<sup>333</sup>.

En el adulto se utilizan dosis fraccionadas de 2g/Kg/mes durante 3 meses y en los casos de DM juvenil de 1 a 2 mg/Kg, 2 veces al mes durante 9 meses. Los estudios publicados consiguen respuestas satisfactorias en el 70% de los pacientes, siendo especialmente manifiesta en pacientes con enfermedad reciente<sup>334</sup>. Se observa no sólo mejorías en la fuerza muscular, y cutánea, sino la reversión de las alteraciones inmunopatológicas subyacentes y la mejoría de la citoarquitectura muscular.

Los efectos secundarios de esta terapéutica son habitualmente moderados y autoresolutivos, incluyendo cefalea, mialgia, flushing, fiebre, náuseas y vómitos, escalofríos, lumbalgia, alteraciones en la presión sanguínea y taquicardia<sup>335</sup>.

El principal inconveniente de esta terapéutica es su elevado precio.

#### **1.9.1.2.6. Micofenolato de mofetilo.**

El ácido micofenólico, utilizado hace tres décadas en el tratamiento del psoriasis ha sido redescubierto en su reformulación como micofenolato de mofetilo para el tratamiento de diversos procesos dermatológicos. Es una medicación inmunosupresora bien tolerada y utilizada en receptores de transplantes de órganos, que a nivel dermatológico ha demostrado su utilidad en procesos como el psoriasis, pénfigo vulgar, pioderma gangrenoso, liquen plano ampoloso o LE<sup>336</sup>. Se ha propuesto como alternativa terapéutica también en diversas enfermedades neuromusculares<sup>337</sup> entre ellas la DM. Se administra a dosis recomendadas de 2g/día.

#### **1.9.1.2.7. Otros tratamientos.**

Se han ensayado procedimientos como la plasmaféresis con diferentes resultados en las diversas series publicadas. No ha demostrado ser eficaz en un estudio a doble ciego con control placebo<sup>338</sup>. La irradiación corporal total ha resultado útil en casos desesperados consiguiendo remisiones prolongadas, pero a costa de un riesgo considerable de efectos secundarios importantes<sup>339</sup>. Finalmente se ha citado en algunas publicaciones la práctica de timectomías o la utilización de clorambucil, mercaptopurina o tacrolimus<sup>340</sup>.

#### **1.9.1.2.8. Inmunoterapias futuras.**

Aunque las terapias antígeno específicas no están todavía disponibles, se están investigando opciones terapéuticas racionales con agentes que

1. Bloquean la transducción de señales en LT (como el FK506, rapamicina, CAMPATH o anticuerpos monoclonales contra moléculas coestimuladores CD28/CTLA-4<sup>341, 342</sup>).
2. Están dirigidos contra citoquinas como los anticuerpos monoclonales contra el TNF $\alpha$ , sTNFR $\alpha$  e interferones $\beta$ .
3. Interfieren entre las integrinas y sus receptores.
4. Afectan selectivamente a células B.

#### **1.9.1.2.8.1. Anti TNF- $\alpha$**

El Infliximab es un anticuerpo monoclonal IgG1 anti TNF- $\alpha$  que ya ha demostrado su utilidad en otros procesos patológicos como la enfermedad de Crohn<sup>343</sup>, artritis reumatoide<sup>344</sup>, artritis psoriática, enfermedad de Beçhet, Churg-Strauss, poliarteritis nodosa, arteritis de células gigantes, enfermedad de Wegener, sarcoidosis, ES, síndrome de Sjögren, y pyoderma gangrenoso entre otras<sup>345</sup>.

La evidencia del papel que juega el TNF- $\alpha$  en la patogenia de la inflamación muscular de la DM ha llevado a diferentes autores a valorar la posibilidad del tratamiento con terapia anti TNF- $\alpha$  en esta entidad. Ha sido utilizada tanto para el tratamiento de las manifestaciones musculares como cutáneas.

En pacientes con PM/DM se han presentado diversos trabajos administrando este fármaco a dosis de 10mg/Kg en 3 infusiones separadas 2 semanas. Los autores describen mejorías importantes y rápidas de los pacientes tratados, evidenciadas en una mejoría de los niveles enzimáticos, fuerza muscular, cambios electromiográficos y

biopsia muscular<sup>346</sup>. Los efectos persistieron entre 14 y 20 semanas pero tras la reinfusión realizada al reactivarse la clínica del proceso describen una reacción anafiláctica, desarrollo de anticuerpos anti DNA y ausencia de respuesta<sup>347</sup> como efectos indeseados. Por ello parece tener una utilidad limitada en el tratamiento de la PM/DM, especialmente como monoterapia inicial, consiguiendo remisiones de entre 3 y 4 meses. Se recomienda su utilización combinada con otros inmunomoduladores (metotrexate, corticoides, etc...) para mantener los resultados obtenidos. Otros trabajos han presentado resultados comparables a los de este estudio utilizando también Infliximab<sup>348</sup>, mientras que en otros se ha observado respuesta con Etanercept, otro inhibidor del TNF- $\alpha$ <sup>349</sup>.

#### **1.9.1.2.8.2. Otros tratamientos experimentales o futuros.**

Un ensayo clínico limitado con la utilización de anticuerpos monoclonales recombinantes contra el factor C5 del complemento (Eculizumab, Alexion) consiguió mejorías en las manifestaciones cutáneas y musculares de pacientes con DM<sup>350</sup>. Existen también datos racionales para la utilización de otras terapias biológicas que inhiban la interacción entre células presentadoras de antígeno y células T como Alefacept (Amevive) que inhibe la interacción entre LFA-1 e ICAM-1. También Rituximab (Rituxan), anticuerpo monoclonal que inhibe linfocitos B CD20+ podría tener un papel beneficioso, aunque se requieren estudios randomizados para demostrar dicha utilidad<sup>351</sup>.

#### **1.9.1.3. Tratamiento de las lesiones cutáneas.**

Las lesiones cutáneas de la DM pueden, en muchos pacientes, ser desencadenada o agravadas por la exposición a RUV. Por ello se recomiendan en estos pacientes las mismas medidas de evitación de exposición y fotoprotección con filtros que en pacientes con LE. La utilización de emolientes ayuda a evitar la xerosis que empeora el prurito frecuentemente asociado a las lesiones cutáneas activas. Este prurito puede ser controlado con la aplicación de lociones antipruriginosas tópicas (con pramoxina, mentol, fenol o alcanfor).

En lo referente al tratamiento específico de las lesiones cutáneas de DM hay que diferenciar a los pacientes con DM clásica de los afectos de DMA. Los primero son tratados con terapias inmunomoduladores sistémicas que habitualmente controla el proceso tanto a nivel muscular como cutáneo. En los pacientes con DMA la actitud

habitualmente planteada es más conservadora. Por lo general se inicia por el tratamiento tópico de las lesiones, optando en los casos refractarios por tratamientos antiinflamatorios sistémicos, antes de decidir acceder a los inmunosupresores sistémicos.

Dada la relativa resistencia a los tratamientos tópicos de las lesiones cutáneas de DM, se suele optar por la utilización de corticoides potentes como el clobetasol. Estos son especialmente útiles para el tratamiento de lesiones sintomáticas como el eritema pruriginoso de cuero cabelludo. No obstante estos preparados raramente curan las lesiones. Los preparados tópicos con tacrolimus pueden ofrecer algún beneficio para la inflamación cutánea de la DM<sup>352, 353</sup>, especialmente en las lesiones faciales y perioculares<sup>354</sup>. Las formulaciones actuales con 0.03-0.1% son no obstante insuficientes para conseguir resultados en otras localizaciones como el cuerpo<sup>355</sup>. Nuevas presentaciones actualmente en desarrollo con concentraciones superiores (hasta 0.3%) podrían resultar útiles en estas localizaciones, como lo han sido en lesiones refractarias de LE<sup>356</sup>.

Entre los tratamientos sistémicos para mejora los síntomas asociados a las lesiones cutáneas se incluyen los antihistamínicos tricíclicos-sedantes como la doxepina, que a dosis nocturnas de 10-25mg ayudan a controlar el prurito. Otros antihistamínicos útiles son la hidroxicina, cetiricina, loratadina y fexofenadina.

Para el control de las lesiones inflamatorias han demostrado cierta utilidad los antimaláricos tales como la hidroxicloroquina. Se usan a dosis de 200 a 400mg/día. Su asociación a corticoides sistémicos ha permitido también reducir las dosis de esteroides y se ha relacionado su utilización con una mejoría de la clínica articular.

La utilización de corticoides sistémicos para pacientes con lesiones exclusivamente cutáneas debe ser evaluada críticamente antes de plantearla. En casos de lesiones cutáneas resistentes al manejo habitual, o pacientes con DM amiopática con afectación cutánea severa se han utilizado metotrexate a dosis bajas (2.5-3mg/semana)<sup>357</sup>, azatioprina, micofenolato de mofetilo<sup>358</sup>, dapsona<sup>359, 360</sup>, ciclosporina y clorambucil. Existen también notificaciones anecdóticas de la utilidad de las inmunoglobulinas endovenosas al 10% de dosis habitual en estos pacientes<sup>361</sup>.

#### **1.9.1.4. Tratamiento de la calcinosis.**

Una de las secuelas más discapacitantes de esta enfermedad son los depósitos cutáneos e intermusculares de calcio. Estos depósitos tienen un origen patogénico no del todo aclarado y contribuyen claramente al desarrollo de atrofas musculares y contracturas, siendo responsables también de ulceraciones y abscesificaciones cutáneas. No se resuelven con los tratamientos inmunomoduladores pero la utilización de los mismos puede prevenir nuevos depósitos. Se han ensayado múltiples tratamientos como los bifosfonatos<sup>362</sup>, el hidróxido de aluminio (15-20mg 4 veces al día), el probenecid (250mg/día), la colchicina (1,2-1,8mg/día), el ácido potásico para-amino-benzoico (15-25mg/día), las dosis bajas de warfarina (1mg/día), el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), el diltiazem<sup>363</sup> y la resección quirúrgica de lesiones individuales, con resultados decepcionantes en la mayoría de los casos.

#### **1.9.2. Otras medidas.**

##### **1.9.2.1. Dieta, suplementos y profilaxis antituberculosa.**

Como medidas adicionales generales en el control de los pacientes con DM se recomiendan las dietas con elevado contenido proteico y bajas en hidratos de carbono y sal, con el fin de evitar los aumentos de peso y de tensión arterial inducidos por los corticosteroides y la malnutrición que se puede derivar del propio proceso patológico o de la afectación digestiva. De igual forma se sugieren suplementos de potasio para contrarrestar el efecto mineralcorticoide de dicha terapia. Como en cualquier otra patología que requiere de tratamiento esteroideo deberán asociarse medidas de protección gástrica, plantearse la administración de vitamina D y calcio ante todo en mujeres posmenopáusicas, y valorar la necesidad de quimioprofilaxis con isoniazida en pacientes con antecedentes o alto riesgo de desarrollar tuberculosis pulmonar.

##### **1.9.2.2. Reposo y rehabilitación física.**

El reposo absoluto que es recomendable en las fases de miositis aguda, puede ser contraproducente en las fases de recuperación. Las medidas de rehabilitación son frecuentemente ignoradas en el protocolo terapéutico de los pacientes con miositis, a pesar de que pueden mejorar significativamente la recuperación funcional de los mismos. En la fase de actividad inflamatoria muscular el objeto de esta rehabilitación es la prevención de las contracturas y la fisioterapia respiratoria. En las fases no activas de

la enfermedad el objeto de dicha terapia será el fortalecimiento de las fibras musculares y el tratamiento de la miopatía esteroidea<sup>364</sup>. Para una correcta elaboración de un plan de recuperación funcional es fundamental la colaboración con un fisioterapeuta.

### **1.10. Pronóstico:**

Dado que actualmente se inicia el tratamiento con inmunomoduladores en cuanto se establece el diagnóstico de DM, se desconoce la historia natural de dicha enfermedad. De las observaciones recogidas de la era precorticoidea se supone que la mayoría de pacientes sucumbían al proceso tras un curso extremadamente variable. Las muertes se producían generalmente como consecuencia de infecciones en pacientes muy debilitados. Hay que tener en cuenta que de todas formas se han citado en la literatura también remisiones espontáneas<sup>365</sup>, hasta en un tercio de los casos.

Con los tratamientos actuales se notifican tasas de supervivencias superiores al 85% a los 5 años y del 73% a los 8 años, si bien hasta en la mitad de los casos persiste cierto grado de debilidad y cerca del 20% de los pacientes quedan significativamente limitados. Esto es especialmente frecuente en niños que desarrollan contracturas residuales y calcinosis.

Aproximadamente la mitad de los pacientes se recuperan y pueden suspender el tratamiento 5 años tras iniciarse el proceso, mientras que un 20% requerirán continuarlo por la persistencia de actividad de la enfermedad.

En un estudio longitudinal de 162 pacientes con miopatías inflamatorias, las supervivencias por enfermedades a 5 y 10 años fueron del 94,2% y 89,4% para la PM primaria y del 90,1% y 86,4% para la DM primaria<sup>366</sup>.

El índice de mortalidad en pacientes con DM es aproximadamente cuatro veces superior al de la población general. Las principales causas de muerte son las infecciones respiratorias, generalmente secundarias a aspiraciones o a la inmunosupresión crónica inducida por la medicación<sup>367</sup>, la insuficiencia cardíaca, la malnutrición secundaria a la afectación digestiva severa, las neoplasias asociadas y los efectos secundarios al tratamiento esteroideo. Es por ello que el pronóstico empeora en aquellos pacientes con afectación visceral, especialmente pulmonar y cardíaca. La asociación a ciertos autoanticuerpos que determinan la posibilidad de afectación visceral como los anti SRP y los anti-Jo1 y PL 12 reducen la expectativa de vida al 30 y 65% en cinco años respectivamente. En los pacientes con anticuerpos anti SRP y afectación cardíaca la supervivencia a los 5 años no supera el 25%. Por el contrario la asociación a anticuerpos anti Mi-2 es marcador de buen pronóstico (supervivencia superior al 90% en 5 años) dadas las características clínicas del cuadro que generalmente presentan estos pacientes. También se relacionan con un peor pronóstico el hecho de pertenecer al sexo femenino, ser de raza negra, la asociación a malignidad, edades de inicio avanzadas, presentar

formas clínicas con afectación importante desde la presentación inicial, inicio muy tardío del tratamiento, las formas recalcitrantes, la presencia de disfagia, edema generalizado o anasarca, fiebre, anorexia, leucocitosis, lesiones ulceradas o necróticas y la presencia de manos de mecánico<sup>368, 369, 370, 371</sup>. El pronóstico no varía entre las formas clásicas y amiopática de DM. A pesar de todos estos datos, no existe un patrón de comportamiento claramente definido que nos ayude a determinar el curso que va a seguir la enfermedad en un paciente concreto. Existe una asociación entre genotipos concretos y posibles pronósticos evolutivos. Así por ejemplo el alelo TNF $\alpha$ -308A se ha asociado a un curso más crónico y resistente a terapia inmunosupresora y a una mayor incidencia de calcificaciones, lipodistrofias, diabetes insulino-dependiente e hiperlipidemia en pacientes con DM juvenil<sup>372</sup>.

En el caso de la DM juvenil, la calcinosis que aparece hasta en el 50% de los casos es un factor de buen pronóstico vital, pero complica las posibilidades de recuperación funcional. Por otro lado la calcinosis puede progresar hasta años después de haberse controlado la miositis por lo cual puede acabar determinando limitaciones funcionales serias. Se ha sugerido la posibilidad de que el tratamiento intensivo y precoz reduzca el riesgo o la severidad de la citada calcinosis.

El embarazo es generalmente bien tolerado en las pacientes con DM, si bien es frecuente que durante el mismo se produzcan exacerbaciones que requieran de tratamiento corticoideo<sup>373</sup>. En lo referente al pronóstico fetal, por lo general se relaciona con el grado de actividad de la enfermedad materna<sup>374</sup>. En un estudio tan solo el 55% de los embarazos fueron llevados a término exitosamente, con un 33 % de abortos espontáneos.

En cualquier momento pueden producirse recaídas y estas tienen peor pronóstico si se producen tras reducciones excesivamente rápidas del tratamiento corticoideo.

**1.11. Comentario.**

**La DM es, en definitiva, una enfermedad grave, que requiere tratamientos agresivos y durante tiempo prolongado, que pueden justificar el desarrollo de efectos secundarios importantes.**

**Resulta por ello necesario encontrar un marcador de actividad de dicha enfermedad que sirva de guía para la orientación y control terapéutico de los pacientes.**

**2. IDENTIFICACIÓN DEL**  
**PROBLEMA: MARCADORES**  
**DE ACTIVIDAD DE LA**  
**ENFERMEDAD EN DM**



### *¿Disponemos de marcadores fiables?*

Como ya hemos comentado la DM es una entidad patológica con unas manifestaciones clínicas características y unos criterios diagnósticos establecidos. Como proceso autoinmune de etiología desconocida, la estrategia terapéutica de esta enfermedad se basa en la utilización de tratamientos no específicos, fundamentalmente fármacos inmunomoduladores. Las posibles complicaciones derivadas de la afectación visceral (pulmonar y cardiaca fundamentalmente) o de la progresión o reagudizaciones del proceso (atrofia muscular, contracturas, calcificaciones...) hacen que uno de los problemas fundamentales que plantea el manejo de los pacientes afectados de DM sea reconocer a aquellos con formas especialmente agresivas. La instauración precoz del tratamiento en estos pacientes, ayudará a evitar la progresión y las secuelas derivadas de su enfermedad. Por otro lado los posibles efectos secundarios de las medicaciones habitualmente utilizadas hacen que sea imperativo el poder ajustar el tratamiento (incrementando o disminuyendo las dosis de medicación) o suspenderlo, con el objeto de poder reducir al máximo la yatrogenia inducida. Es por ello que durante las últimas décadas se han intentado identificar criterios que nos permitan preveer la evolución de la enfermedad de cada paciente, así como parámetros para valorar la actividad de la enfermedad una vez iniciado el tratamiento.

La ausencia de guías de valoración específicas ha llevado a la mayoría de autores a utilizar como medidas de la actividad de la DM, los mismos parámetros utilizados para el diagnóstico. Estos parámetros ofrecen una sensibilidad y especificidad suficiente para establecer el diagnóstico, pero insuficientes para valorar la respuesta o evolución de los pacientes en tratamiento<sup>375, 376</sup>.

## **2.1. Criterios diagnósticos como medidas de actividad.**

### **2.1.1. Evaluación clínica.**

La determinación de la fuerza muscular ha sido considerada como el parámetro más fiable para la valoración de la actividad de las miopatías inflamatorias durante el tratamiento. De hecho se han publicado estudios en los que la determinación de dicha fuerza muscular mediante técnicas específicas era superior a los parámetros bioquímicos habitualmente utilizados para establecer el estado del paciente<sup>377</sup>. Se precisa para ello una determinación meticulosa de las medidas en el tiempo, que siempre deberán ser realizadas por el mismo observador. De hecho se considera que para la valoración de las miopatías inflamatorias se requiere de la participación de un experto en determinar la extensión del proceso cutáneo y del grado de debilidad de la musculatura proximal.

Los principales problemas que plantea la utilización de este parámetro como medida de la actividad de la enfermedad son:

1. Dificultad en establecer la “fuerza normal” dadas las diferencias interpersonales en este parámetro motivadas por la edad, sexo, actividad física habitual, etc...
2. Posibles alteraciones inducidas por terapia esteroidea o enfermedades asociadas.
3. Persistencia de debilidad muscular por daño previo.
4. Limitaciones propias de las técnicas de evaluación de la fuerza muscular.

La técnica más aceptada para la valoración de la fuerza muscular es la escala MRC (Medical Research Council War Memorandum)<sup>378</sup>:

**Figura 1: Escala MRC.**

<i>Puntuación</i>	<i>Descripción</i>
0	No contracción
1	Fibrilación o contracción débil
2	Movimiento activo en ausencia de gravedad
3	Movimiento activo contra gravedad
4	Movimiento activo contra gravedad y resistencia
5	Fuerza muscular normal

Si bien es una técnica que permite diferenciar claramente entre fuerza normal y anormal, plantea el problema de que en pacientes en tratamiento los valores exploratorios se sitúan habitualmente en un valor 4, sin posibilidad de valorar posteriores cambios en el curso de la enfermedad. Por otro lado dicha escala implica la cooperación voluntaria del paciente, que resulta especialmente difícil de conseguir en edades pediátricas. Para obviar el problema de la valoración muscular en dichas edades se ha desarrollado la Childhood Myositis Assessment Scale<sup>379</sup>, una escala de valoración de musculatura axial y proximal útil para un amplio rango de edades y habilidades motoras.

Otras medidas de la fuerza muscular como la determinación seriada del tiempo para levantarse 10 veces de una silla resultan útiles sólo para la determinación de fuerza muscular en extremidades. Por otro lado los valores obtenidos pueden depender de la existencia de patología en otros órganos o aparatos como las articulaciones de la zona explorada y las cardio o neumopatías<sup>380</sup>. Finalmente se ha descrito la utilidad de la determinación de cambios en la fuerza muscular mediante la utilización de un esfingomanómetro modificado, técnica útil pero que ofrece una gran variabilidad en valores entre observadores.

Otras escalas de valoración de miositis se basan en la utilización de cuestionarios para determinar la limitación de los pacientes en las actividades cotidianas. Entre ellas se encuentra la Myositis Activities Profile que ha demostrado su utilidad en la determinación de estas limitaciones en pacientes con PM/DM<sup>381</sup>.

En lo referente a la actividad cutánea de la enfermedad, hay que tener en cuenta que la actividad de la enfermedad a nivel cutáneo y muscular no siempre evoluciona en paralelo. En un estudio reciente se observó que los cambios en la capilaroscopia de pacientes con DM juvenil se relacionaban con las manifestaciones dermatológicas, pero no con las musculares, sugiriendo que el daño muscular y cutáneo podrían tener mecanismos patogénicos diferentes<sup>382</sup>. Por otro lado los pacientes con DMA carecen de datos de afectación muscular que permitan valorar su progresión o evolución con el tratamiento; y los pacientes con DM ya tratadas pueden desarrollar lesiones cutáneas persistentes en ausencia de afectación muscular.

En la mayoría de pacientes con DM clásica la actividad cutánea y muscular del proceso tienden a responder de forma paralela al tratamiento inmunomodulador. A pesar de ello hay que tener en cuenta que la correspondencia entre actividad cutánea y sistémica de la enfermedad es menor que en otras enfermedades como el LES.

Todo ello ha motivado que se hayan publicado trabajos que se plantean la utilidad de incluir la valoración de la severidad de la afectación cutánea en la valoración de pacientes con DM. Asociando la valoración de 19 parámetros que incluyen la valoración de fuerza muscular de diversos grupos musculares, valoración del estado funcional del paciente, la existencia de signos de vasculitis cutánea y la presencia de rash cutáneo o lesiones cutáneas específicas como las pápulas de Gottron, Bode y colaboradores configuran la escala de valoración DAS<sup>383</sup>. Esta escala parece ser de mayor utilidad que las tradicionales de valoración clínica para establecer el grado de afectación de pacientes con DM juvenil y su respuesta al tratamiento.

### **2.1.2. Enzimas musculares.**

La determinación de los niveles de enzimas musculares juega un papel trascendental en el establecimiento del diagnóstico definitivo de DM. A parte de ellos, es el parámetro analítico más habitualmente utilizado para la evaluación de la actividad de la enfermedad de los pacientes en tratamiento y para la detección de recurrencias. A pesar de que algunos estudios<sup>384</sup> indican a la LDH como la enzima más frecuentemente elevada en pacientes con enfermedad activa, la CPK y la aldolasa siguen siendo consideradas como las más útiles en dicho control.

Los niveles de CPK pueden ser normales en el momento del diagnóstico en un 3.2 a 36% de los pacientes, a pesar de presentar datos de actividad clínica manifiestos<sup>385, 386</sup>. Por el contrario, existen factores que pueden determinar elevaciones de los niveles

enzimáticos en ausencia de actividad patológica, como son el ejercicio, traumatismos y procedimientos terapéuticos como inyecciones intramusculares<sup>387</sup>. El daño hepatocelular inducido por medicaciones como el metotrexate o enfermedades intercurrentes puede también provocar la elevación de los niveles de transaminasas<sup>388</sup>, CPK o aldolasa<sup>389,390</sup> y la LDH puede presentarse elevada en pacientes como consecuencia del tratamiento corticoideo crónico.

Otro inconveniente de la determinación enzimática en el control de los pacientes con DM es que incluso en pacientes con niveles inicialmente elevados, estos tienden a normalizarse poco después de iniciada la terapia (p. ej. plasmaféresis) no correlacionándose con una mejoría de la fuerza muscular. Este efecto es conocido como **“curación química”** de las miopatías inflamatorias idiopáticas. El desconocimiento de estas situaciones puntuales en las que las determinaciones de enzimas musculares carecen de utilidad es la causa del común hábito de **“cazar”** o **“tratar”** los niveles de CPK. Hay que tener en cuenta que en muchas ocasiones los niveles plasmáticos de esta enzima no se correlacionan con otros índices de actividad del proceso como la fuerza muscular, determinación de capacidad en actividades cotidianas o hallazgos histológicos<sup>391,392,393,394</sup>. Por otro lado la variabilidad de resultados obtenidos en función de la técnica utilizada hace que la comparación de datos obtenidos en diferentes centros de extracción sea difícil.

En lo referente a la capacidad de detección de reagudizaciones clínicas, en un estudio de Guzmán y colaboradores<sup>395</sup>, la LDH y la AST (GOT) fueron de entre los parámetros bioquímicos habitualmente solicitados, los más útiles para diagnosticar una reagudización, siendo la AST (GOT) el único parámetro de laboratorio con capacidad estadísticamente significativa para predecirla. Estos autores calculan que el riesgo de sufrir una reagudización clínica se triplica en los 4 meses posteriores a un incremento del 20% en los niveles de este enzima.

### **2.1.3. Electromiograma.**

La electromiografía ha sido utilizada como método de valoración evolutiva de la actividad de la enfermedad. Los principales problemas que plantea esta técnica como técnica para el seguimiento rutinario de los pacientes son:

1. Requiere una interpretación muy cuidadosa, ya que los hallazgos representan una combinación de cambios inflamatorios y miopáticos.
2. El carácter focal del proceso explicaría la existencia de un 10% de pacientes con EMG normal y un 50% con ausencia de cambios inflamatorios.
3. El componente inflamatorio del EMG tiende a desaparecer tras iniciarse el tratamiento, mientras que el resto de cambios raramente se normalizan, por lo cual su utilidad en el seguimiento de la actividad de la enfermedad resulta cuestionable.
4. El EMG cuantitativo no se correlaciona con la fuerza muscular en los estadios crónicos de la enfermedad<sup>396, 253</sup>.

### **2.1.4. Biopsia muscular.**

La biopsia muscular se considera el parámetro diagnóstico más útil en el diagnóstico del proceso. En el momento del diagnóstico entre el 65 y 75% de las biopsias presentan cambios diagnósticos, mientras que hasta en un 15% resultarán normales. La utilización de esta exploración para el seguimiento de los pacientes presenta serias limitaciones:

1. La incapacidad de la biopsias para detectar cambios inflamatorios hasta en un 35% de los pacientes.
2. El ya comentado carácter focal del componente inflamatorio, justificando la ausencia de hallazgos en muchas de las muestras obtenidas.
3. La imposibilidad de practicar biopsias repetidas en el seguimiento rutinario de los pacientes por su carácter invasivo y morbilidad.
4. La dificultad de interpretación de los cambios inflamatorios por la existencia de cambios histológicos miopáticos residuales.
5. Incapacidad de la biopsia de diferenciar PM de miopatía esteroidea.

Para facilitar la técnica de obtención de tejido muscular y su práctica rutinaria en el control evolutivo de los pacientes, se han desarrollado nuevas técnicas como el conchotomo percutáneo. Esta técnica es sencilla, fácil de aprender, con un índice de complicaciones bajo y permite obtener tamaños de muestra suficientes para el diagnóstico o evaluación de la respuesta al tratamiento en pacientes con miositis<sup>397</sup>.

A pesar de ello la práctica de biopsias musculares no puede considerarse como exploración rutinaria en el control evolutivo de estos pacientes.

## **2.2. Nuevos marcadores de actividad.**

La ausencia de marcadores de actividad totalmente eficaces para el control evolutivo de los pacientes con DM ha provocado que en los últimos años se hayan prodigado los estudios destinados a detectar otros más fiables. Para identificar estos marcadores, los diferentes autores se han basado en una revisión de la patogenia del proceso, para identificar elementos implicados en ella, sean inmunoglobulinas, citoquinas, marcadores de daño celular, marcadores de activación linfocitaria, etc. Considerando que los citados elementos están realmente implicados en el proceso patogénico de la enfermedad, sería de esperar que la variación en el grado de actividad del proceso se relacionara con variaciones de dichos parámetros.

### **2.2.1. Marcadores de daño muscular.**

#### **2.2.1.1. Mioglobina sérica.**

El daño muscular infringido por el proceso inflamatorio determina la liberación de componentes celulares al intersticio y su posterior paso al torrente circulatorio. Una de estas proteínas es la mioglobina. Los niveles de mioglobina sérica se encuentran elevados en hasta un 80% de los pacientes<sup>398, 399</sup>. Sus niveles parecen correlacionarse con los de la actividad de la enfermedad, pero no de forma constante<sup>400</sup>. Los inconvenientes principales de esta técnica son la poca disponibilidad del test diagnóstico y la gran variabilidad diurna de los valores obtenidos en un mismo paciente, que hacen que no sea una medida eficaz para el control evolutivo de los pacientes.

#### **2.2.1.2. Factor de crecimiento hepatocitario (HGF).**

El HGF es un factor regulador del crecimiento, motilidad y morfogénesis de las células epiteliales y endoteliales. El proceso inflamatorio de las miopatías inflamatorias produce un daño en las células musculares, que son posteriormente regeneradas. En esta regeneración puede estar involucrado el HGF. Se han observado niveles séricos aumentados del HGF en pacientes con PM/DM respecto a pacientes sanos, siendo estos niveles especialmente altos en pacientes con enfermedad activa o fibrosis pulmonar asociada. Podría pues considerarse como un marcador de enfermedad activa o asociación a enfermedad pulmonar intersticial<sup>401</sup>.

### **2.2.1.3. Técnicas de imagen.**

Como ya hemos comentado anteriormente, las técnicas de imagen pueden ayudar a determinar la existencia de afectación muscular en pacientes con PM/DM, a través de la identificación de infiltración inflamatoria del tejido o de las alteraciones metabólicas características del proceso.

#### **2.2.1.3.1. RMN.**

La RMN sin ser una técnica diagnóstica específica, ha demostrado su utilidad en la localización de miopatía inflamatoria local permitiendo así seleccionar grupos musculares afectos para su estudio por EMG o biopsia muscular<sup>277, 402, 403, 404, 405</sup>. Por otro lado, aislada<sup>406, 407</sup> o asociada a espectroscopia puede ofrecer información acerca de la respuesta terapéutica del paciente. Las exploraciones seriadas con esta técnica han permitido observar que los cambios observados se correlacionan con los de la actividad de la enfermedad<sup>278</sup>. En concreto la RMN potenciada en T2 ha demostrado una gran utilidad en la detección de lesiones musculares, observándose un aumento en la intensidad de la señal en músculos afectados y edema perimuscular. La potenciación en T1 permite por el contrario, determinar la existencia de lesiones intramusculares degenerativas residuales como la sustitución del músculo por tejido graso. Estos hallazgos coinciden con los de estudios más recientes que describen aumentos significativos de los tiempos de relajación en T2 en pacientes con DM juvenil y enfermedad activa en comparación con pacientes inactivos y controles sanos<sup>408</sup>. Estos autores encuentran además buena correlación entre los hallazgos en esta exploración y las medidas de fuerza y función muscular, pero no con los niveles enzimáticos.

En definitiva el tiempo de relajación T2 de la RMN parece ser una medida útil para la valoración cuantitativa de la inflamación muscular y se correlaciona bien con otras medidas de actividad de la enfermedad. No obstante el coste económico de la exploración y la necesidad de sedación en niños la convierten en una exploración poco viable para el seguimiento convencional de los pacientes. Se la puede considerar como una herramienta adicional para el diagnóstico, evaluación de la actividad de la enfermedad y la planificación de una estrategia terapéutica<sup>278</sup>.

#### **2.2.1.3.2. Escintigrafía antimiosina.**

La escintigrafía antimiosina ha demostrado, al igual que la RMN, su utilidad para la detección de miositis en los pacientes con PM/DM. Los hallazgos obtenidos mediante esta exploración se correlacionan con los niveles de CPK, reflejando la actividad de la enfermedad de forma más precisa que la RMN potenciada en T2<sup>409</sup>.

Tanto la RMN en T2 como esta exploración serían útiles en el diagnóstico de la miositis aguda, pero la escintigrafía sería especialmente útil en la valoración evolutiva de los pacientes en tratamiento. La RMN en T1 permitiría valorar lesiones musculares residuales.

#### **2.2.1.4. Oxigenación tisular muscular y capacidad aeróbica.**

Van Beekvelt y colaboradores publicaron un estudio valorando la utilidad de la medición del grado de oxigenación y consumo de oxígeno tisular muscular mediante espectroscopia pre-infrarroja. Esta técnica permite valorar la oxigenación local y hemodinámica en los tejidos estudiados, ofreciendo así información sobre la funcionalidad de la microvascularización local y mitocondrial. Estos autores valoraron la evolución de una paciente afecta de DM observando un aumento en los niveles de oxigenación y consumo de oxígeno a nivel tisular una vez iniciado el tratamiento. Estos resultados se atribuyen a un aumento en la función capilar y una posible regeneración de las fibras musculares. Esta técnica ofrecería una opción no invasiva para monitorizar la evolución de los pacientes con DM en tratamiento<sup>410</sup>. Es obviamente una técnica exploratoria muy especializada sobre la que posteriores estudios con series de casos controlados prospectivamente deberán confirmar la utilidad demostrada en este trabajo inicial.

Hicks y colaboradores por su parte observan una disminución en la capacidad aeróbica y de trabajo en pacientes con DM juvenil respecto a niños sanos. Las limitaciones en el ejercicio aeróbico se correlacionan muy bien con las medidas de actividad de la enfermedad<sup>411</sup>.

#### **2.2.1.5. Otros marcadores de daño muscular.**

Diversos autores han valorado la utilidad de otras técnicas diagnósticas como la gammagrafía con tecnecio<sup>412</sup> para identificar afectación muscular y cardíaca en los pacientes con miopatías inflamatorias. No obstante su contribución al control de pacientes con estas patologías no deja de ser anecdótica.

### **2.2.2. Indicadores de vasculopatía o daño endotelial.**

La descripción histológica característica de la miopatía propia de la DM juvenil, descrita por Banker<sup>413, 414</sup> se caracteriza como hemos comentado anteriormente, por la presencia de oclusión de capilares y pequeñas arteriolas que motivan el posterior desarrollo de infartos tisulares. Histológicamente se observan células endoteliales altas, que expresan antígenos HLA de clase II, así como de proliferación de músculo liso en la pared de los vasos afectados, fenómeno que se traduce en una reducción de la luz de los mismos. Las células endoteliales están implicadas en el control del proceso de coagulación sanguínea, ofreciendo una superficie, que en condiciones normales lo inhibe. El daño mecánico, metabólico o inmunológico sobre el endotelio vascular puede inducir fenómenos de trombosis como consecuencia de la pérdida de este mecanismo anticoagulante. El daño endotelial puede, en consecuencia, inducir la activación y adhesión plaquetar a dicho endotelio con la consiguiente formación de trombos plaquetarios<sup>415</sup>, así como la activación de la coagulación por factores tisulares que inducen la formación de trombos de fibrina<sup>416</sup>. El conocimiento del fenómeno de activación de la cascada de la coagulación como consecuencia del daño endotelial ha motivado que en diferentes trabajos se haya intentado valorar la relación entre la actividad de la enfermedad y marcadores del daño endotelial o de activación del sistema de la coagulación.

#### **2.2.2.1. Factor von Willebrand (vWF:Ag).**

Es posiblemente el marcador de daño endotelial más estudiado como parámetro de actividad de la enfermedad en DM.

El vWF:Ag es una glicoproteína que actúa como transportadora del factor VIII en plasma. Induce también la adherencia de las plaquetas al endotelio vascular dañado.

Es sintetizada por los megacariocitos y las células endoteliales vasculares, encontrándose en ellas y en las plaquetas.

Una vez sintetizado por las células endoteliales, el vWF:Ag es secretado al plasma y al intersticio subendotelial<sup>417, 418</sup>. Esta secreción aumenta cuando las células endoteliales son dañadas, permitiendo así la agregación entre las plaquetas y el endotelio. A parte de la agregación, este factor induce la activación plaquetaria contribuyendo de esta forma a la trombogénesis.

Niveles plasmáticos elevados de esta glicoproteína han sido descritos en pacientes con enfermedades reumatológicas tales como la arteritis de Takayasu, el LES, la artritis

reumatoide, la ES y el fenómeno de Raynaud<sup>419, 420, 421, 422, 423, 424</sup> así como en otras patologías no reumáticas que comparten en su mecanismo patogénico la presencia de un cierto grado de lesión vascular. En algunas de estas patologías como la ES y fenómeno de Raynaud, los niveles plasmáticos de este marcador se han correlacionado con la gravedad del proceso.

Existen diversos trabajos que han demostrado también la existencia de niveles elevados de vWF:Ag en un cierto porcentaje de pacientes con DM del adulto<sup>425</sup> o DM juvenil<sup>426, 427, 387, 395</sup>, especialmente en aquellos con datos clínicos de vasculitis activa. En algunos de estos trabajos se realizaron determinaciones seriadas de vWF:Ag, observándose una relación entre la variación de los niveles de dicho marcador con la actividad de la enfermedad en algunos de los pacientes. Estas determinaciones seriadas, no obstante, no demostraron la existencia de elevaciones significativas coincidiendo ni precediendo a las exacerbaciones. Sin embargo estas elevaciones se objetivaron coincidiendo con procesos infecciosos virales. Es por ello que la sensibilidad y especificidad de este marcador para detectar reagudizaciones de la enfermedad no fue superior a la de otros marcadores como la LDH o la AST. Por otro lado la detección de correlación entre los niveles de v:WFAG y los parámetros de actividad de la enfermedad está críticamente relacionada con la técnica analítica utilizada en el estudio. En definitiva, la presencia de niveles elevados de este marcador son altamente sugestivos aunque no concluyentes de una DM activa, y pueden ser útiles en el control prospectivo de algunos pacientes, pero no en todos. Por todo ello no parece ser un parámetro analítico aplicable de forma sistemática para el control de todos los pacientes con DM

#### **2.2.2.2. Fibrinopéptido A.**

El fibrinopéptido A (FPA) es el péptido liberado por la acción de la trombina sobre el fibrinógeno. Dada su corta vida media en la circulación es una medida muy sensible de la generación de trombina<sup>428</sup>. El conocimiento de la activación del sistema de la coagulación inducido por la microangiopatía de la DM, ha llevado a Scott y colaboradores<sup>426</sup> a realizar un estudio valorando la utilidad de la determinación del FPA en el asesoramiento de la actividad de la enfermedad. Estos autores encuentran elevaciones en dichos niveles en los pacientes con DM, siendo especialmente elevados en aquellos con enfermedad activa. Estos hallazgos son superponibles a los encontrados en otras enfermedades del tejido conectivo. No obstante los autores de este estudio no

realizaron determinaciones seriadas que permitiesen valorar la utilidad de este parámetro en el seguimiento de los pacientes.

### **2.2.2.3. Trombomodulina de membrana.**

La trombomodulina es una glicoproteína anti-trombina con propiedades anticoagulantes que se expresa en la superficie de las células endoteliales. La trombomodulina plasmática se considera un marcador de daño endotelial, habiéndose observado niveles elevados en enfermedades del tejido conectivo con afectación vascular como el LE, ES o DM. Hacen falta estudios en series más largas para valorar su utilidad en el seguimiento de pacientes con estas enfermedades<sup>429</sup>.

### **2.2.3. Marcadores de activación de la inmunidad.**

#### **2.2.3.1. Marcadores de activación de la inmunidad celular.**

##### **2.2.3.1.1. Niveles séricos de neopterina.**

La neopterina es un producto sintetizado por monocitos activados por el IFN- $\gamma$ .

Se considera por ello un marcador fiable de la activación de monocitos por LT activados<sup>430</sup>, y en definitiva un marcador de activación de la inmunidad celular<sup>431</sup>.

Se han descrito niveles elevados de neopterina en suero y/o orina en una serie de procesos caracterizados por la activación de la respuesta inmune celular, tales como rechazo a aloinjertos, infecciones víricas y bacterianas y enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, tiroiditis autoinmune y diabetes mellitus tipo I.

Diversos estudios han intentado relacionar este marcador de activación linfocitaria con el grado de actividad de PM/DM<sup>432, 433, 434, 435, 436</sup>. En estos estudios se objetivan niveles aumentados de neopterina en pacientes con DM activa, siendo normales en aquellos con enfermedad inactiva. Por otro lado algunos de estos autores observan que en determinaciones seriadas los niveles se reducen en relación con la mejoría de la actividad de la enfermedad, y que el grado de correlación de dichos niveles con el grado de afectación muscular es superior al de los enzimas musculares. Esto es atribuido a que a diferencia de estos, las concentraciones séricas de neopterina no parecen estar tan rápidamente afectadas por la introducción de los tratamientos inmunomoduladores, y por el contrario se normalizan progresivamente cuando se controla la actividad del

proceso. Esta observación no es compartida por todos los autores, ya que en alguno de los estudios presentados los niveles de este marcador no se correlacionaron con las manifestaciones clínicas musculares, y sin embargo sus autores observan niveles aumentados en pacientes con manifestaciones extramusculares. Esto les lleva a considerar que la neopterina sería un dato analítico útil para valorar la activación inmunológica y la actividad global de la enfermedad en los pacientes con PM/DM, pero no para el seguimiento de la afectación muscular.

Otro inconveniente que plantea esta técnica es la existencia de situaciones como el desarrollo concomitante de infecciones<sup>437, 438</sup> o neoplasias<sup>439</sup>, que pueden inducir también elevaciones en los niveles de neopterina, provocando una pérdida en la especificidad de dicha técnica. Es, por otro lado, una técnica diagnóstica poco accesible. En definitiva no existe un consenso entre los diferentes autores sobre su posible papel en el seguimiento de los pacientes con miopatías inflamatorias. Posiblemente podría tener utilidad en el seguimiento de los mismos durante el tratamiento en combinación con el resto de parámetros de valoración de actividad tradicionales.

#### **2.2.3.1.2. Otros marcadores de activación linfocitaria.**

Existen toda una serie de trabajos que han analizado la relación entre diferentes marcadores de activación linfocitaria (IL-1 $\alpha$ , IL-2, receptor de IL-2)<sup>275, 440, 441, 442</sup> y la actividad de la enfermedad que se comentarán en el apartado de citoquinas e inhibidores.

#### **2.2.3.1.3. Función natural killer (NK).**

En un trabajo en el que se estudiaron a 16 pacientes con DM/PM, los autores observan niveles basales bajos de actividad NK en pacientes con enfermedad activa no tratada, siendo similar la de pacientes inactivos o en tratamiento a la de los controles<sup>443</sup>. Establecen por ello una relación entre actividad de la PM/DM y disminución de esta función NK, a la cual atribuyen además un posible papel en la asociación de esta enfermedad a neoplasias.

### **2.2.3.1.3. Fenotipo de linfocitos circulantes.**

La citometría de flujo permite evaluar el fenotipo de los linfocitos en sangre periférica. Como ya se ha comentado anteriormente, en pacientes con DM, especialmente en su forma juvenil, se puede objetivar no solo una linfopenia<sup>444</sup>, sino también un incremento en el porcentaje de células B (CD19+) y una disminución de células T CD3+ CD8+, con la consiguiente elevación del cociente CD4/CD8<sup>445, 446</sup>. En pacientes con miositis parcialmente controlados con la medicación y con niveles enzimáticos normales, la normalización del porcentaje elevado de células CD19+ puede preceder a la respuesta clínica a nuevos inmunomoduladores. En definitiva, los cambios en el porcentaje de linfocitos B circulantes se correlacionan con cambios en la actividad de la enfermedad en pacientes con DM juvenil, motivo por el cual los autores de este trabajo lo consideran como indicador de la actividad inmunológica de la enfermedad y de su respuesta al tratamiento<sup>447</sup>.

### **2.2.3.2 Marcadores de activación de la inmunidad humoral.**

#### **2.2.3.2.1. Niveles de autoanticuerpos.**

La presencia de autoanticuerpos es uno de los pilares sobre los que se sustenta la teoría de la etiopatogenia autoinmune de la DM. El grado de activación inmunológica del paciente puede determinar el título de dichos autoanticuerpos en el suero de los pacientes, por lo cual se ha considerado que la determinación de los mismos podría correlacionarse con la actividad de la enfermedad.

#### **2.2.3.2.1.1. Anticuerpos específicos de miositis (MSA).**

Ya se ha comentado la utilidad de los MSA en la predicción del curso de las miopatías inflamatorias y de su respuesta al tratamiento, en tanto que nos permiten identificar subgrupos clínicos de estas entidades. Siendo relativamente frecuentes en los pacientes adultos, estos anticuerpos se detectan sin embargo en un número muy limitado de pacientes en edades pediátricas<sup>448</sup>. En un estudio publicado incluyendo un paciente aislado<sup>449</sup>, los autores hallaron relación entre los niveles séricos de anticuerpos anti PL-7 de dicho paciente con la actividad de su enfermedad y su respuesta al tratamiento, sugiriendo un posible papel de dicho anticuerpo como elemento para monitorizar dicha respuesta. No obstante su inconstante presencia en el suero de los pacientes no permite

considerar a estos anticuerpos como parámetros analíticos de uso cotidiano en el control evolutivos de los mismos.

#### **2.2.3.2.1.2. Anticuerpos antitropomiosina.**

Los autores del estudio anterior encuentran la misma relación con anticuerpos dirigidos contra proteínas musculares como la tropomiosina.

#### **2.2.3.2.1.3.. Anticuerpos anti 56kD.**

La proteína 56kD es un componente de partículas ribonucleares de gran tamaño. Los anticuerpos contra esta proteína se detectan más frecuentemente en los sueros de pacientes con DM juvenil (hasta 90%) o del adulto (hasta 85%) que los anticuerpos específicos de miositis. Se ha observado una cierta correlación de los títulos de estos anticuerpos con la actividad de la enfermedad en pacientes con DM juvenil y ANA<sup>450</sup> y DM del adulto<sup>269</sup>.

#### **2.2.3.2.1.4. ANA.**

En los estudios realizados no se ha detectado correlación entre los títulos de estos anticuerpos con la actividad de la DM<sup>185</sup>.

### **2.2.4. Citoquinas, inhibidores y moléculas de adhesión.**

#### **2.2.4.1. Antagonista del receptor de IL-1(IL-1Ra).**

En la PM y DM existe un proceso inflamatorio evidente. A pesar de ello la respuesta de las proteínas de fase aguda (PFA) tales como la proteína C-reactiva es débil o inexistente en un alto porcentaje de los pacientes<sup>451, 452</sup>. Estas PFA son producidas fundamentalmente por los hepatocitos y su síntesis es inducida fundamentalmente por la IL-6<sup>453, 454</sup>. Existen también otros estimuladores de dicha síntesis como son IL-1, TNF $\alpha$ , factor inhibidor de la leucemia e IL-11. La presencia de una respuesta de las PFA diferente en la PM/DM respecto de otras enfermedades inflamatorias sugiere la posible existencia de niveles bajos de citoquinas inductoras o una inhibición de la respuesta de los hepatocitos a dichas citoquinas inducidas por inhibidores.

Considerando esta hipótesis se han realizado diversos estudios que han investigado la existencia de niveles elevados de antagonistas de los receptores de estas citoquinas en los pacientes con PM/DM. Entre ellos destacan los que han demostrado niveles séricos

significativamente elevados del antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1ra)<sup>455, 456</sup> en dichos pacientes respecto a controles sanos y pacientes afectados de artritis reumatoide o espondiloartropatías. Las diferencias observadas son mayores todavía si se consideran a los pacientes con PM/DM activas. Por otro lado los niveles séricos de este marcador disminuyen en respuesta al tratamiento y la consiguiente mejoría clínica de los pacientes. Otro estudio realizado detecta en el suero de pacientes con PM/DM activas niveles elevados no sólo de dicho inhibidor sino de su RNAm<sup>457</sup>.

El origen de IL-1ra en PM/DM no ha sido claramente establecido, pero se sabe que la estimulación por diversas citoquinas de células como monocitos/macrófagos, neutrófilos, fibroblastos y queratinocitos es capaz de inducir su síntesis<sup>458</sup>. Por otro lado se sabe que productos linfocitarios como el factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos, IL-3, IL-4 y IL-13 son también capaces de inducir dicha síntesis. Sería por ello posible que la elevación de IL-1ra en pacientes con PM/DM sea en realidad un marcador indirecto de activación por productos linfocitarios y sus altos niveles contribuirían a la débil reacción de fase aguda característica de estos procesos.

#### **2.2.4.2. Receptor de la IL-2.**

Valorando los niveles séricos del IL-2r en pacientes con miopatías inflamatorias, no se ha podido demostrar correlación entre los mismos y la actividad de la enfermedad<sup>435</sup>.

#### **2.2.4.3. IL-1 $\beta$ .**

En un estudio realizado en 15 pacientes afectados de PM/DM, los autores no detectan elevaciones significativas de este factor en el suero de los pacientes<sup>455</sup>.

#### **2.2.4.4. IL-6.**

Los diferentes trabajos publicados coinciden en la presencia de niveles séricos normales<sup>456</sup>, o modestamente superiores en pacientes con DM/PM respecto a los controles<sup>455</sup> pero inferiores a los observados en pacientes con otras enfermedades reumatológicas como las espondiloartropatías. Esta elevación discreta de IL-6 contribuye, junto con la presencia de niveles altos de antagonistas de las citoquinas a la débil reacción de fase aguda en paciente con PM/DM.

#### **2.2.4.5. TNF $\alpha$**

Los estudios realizados no han detectado niveles significativamente elevados de este factor en el suero de pacientes con DM/PM<sup>455, 456</sup>.

#### **2.2.4.6. sTNFR (receptor soluble del TNF).**

Otro de los marcadores de activación linfocitaria estudiados en los pacientes con PM/DM en la búsqueda de un marcador más preciso de la actividad de la enfermedad son los sTNFR. Los sTNFR son inhibidores del TNF originados de la porción extramembranosa del receptor del TNF y se expresan especialmente en linfocitos activados

Si bien en uno de los trabajos publicados, los niveles plasmáticos de estos sTNFR fueron claramente superiores en pacientes con DM/PM respecto a los controles<sup>455</sup>, otros autores no han evidenciado relación entre dichos niveles y la actividad de la enfermedad<sup>435</sup>. No sería por tanto un marcador útil para el control evolutivo de los pacientes.

#### **2.2.4.7. sVCAM, sE-selectina.**

Niveles séricos elevados de estas moléculas de adhesión habían sido descritos ya anteriormente en otras enfermedades inflamatorias. Kubo y colaboradores<sup>459</sup> estudian 36 pacientes con PM/DM observando niveles séricos superiores de ambas moléculas de adhesión en dichos pacientes con respecto a pacientes control. Los niveles elevados de sVCAM se correlacionaban igualmente con valores elevados de la VSG, del hialuronato sérico; y los de E-selectina con los de CPK y de inhibidor tisular de la metaolproteínasa-1 (TIMP-1). La elevación de los niveles de E-selectina ha sido considerada como un posible marcador de la activación endotelial provocada por el daño vascular. Los hallazgos anteriores sugieren la utilidad de ambas moléculas de adhesión como marcadores de actividad de la enfermedad en PM/DM.

#### **2.2.4.8. ICAM-1, ICAM-3.**

En un estudio que incluía a 4 pacientes con DM juvenil de un total de 18 niños con diferentes patologías reumatológicas (LES, EMTTC, DM, vasculitis) Bloom y colaboradores<sup>460</sup> identifican a ICAM-1 como marcador útil para diferenciar entre enfermedad activa y quiescente en pacientes con DM, pero carente de sensibilidad para

permitir detectar pequeñas diferencias en la actividad de la enfermedad. Por ello no la recomiendan como parámetro a utilizar en el control rutinario de los pacientes.

### **2.2.5. Otros marcadores de actividad.**

#### **2.2.5.1. Hialuronato.**

La determinación seriada de hialuronato sérico en pacientes con DM y valores iniciales elevados puede ser útil en para el seguimiento de la actividad de la enfermedad<sup>461</sup>, al observarse correlación entre la variación de dichos niveles y los de la actividad de la enfermedad.

#### **2.2.5.2. Propeptidos de procolágeno e inhibidores tisulares de la metaloproteínasa.**

Los niveles en suero de los propéptidos carboxi y aminoterminal del procolágeno tipo I (PICP) se han utilizado como índices de la síntesis de colágeno en estadios de actividad de pacientes con enfermedades fibróticas. Uno de los factores contribuyentes al desarrollo de fibrosis tisular es una disminución en la actividad de la colagenasa, que puede estar relacionada con los niveles séricos TIMP-1. Los niveles séricos de de PICP y TIMP-1 han demostrado cierta utilidad para detectar actividad inflamatoria o severidad en pacientes con DM<sup>462</sup>.

#### **2.2.5.3. Manganeso superóxido dismutasa (MnSOD).**

En pacientes adultos con PM/DM se ha objetivado una correlación superior entre la actividad de la enfermedad y la variación de los niveles séricos de MnSOD que con la de la CPK, pudiendo ser un marcador clínico útil para estas enfermedades<sup>463</sup>.

#### **2.2.5.4. Neuropeptidos, ACTH y cortisol.**

En un estudio de Liu y colaboradores se describen en pacientes con PM/DM niveles plasmáticos elevados de neuropeptido Y; disminuidos de beta-endorfina, péptido relacionado con el gen de la calcitonina y normales de cortisol respecto a controles<sup>464</sup>. Demuestran una correlación entre algunos de estos marcadores y la CPK y la variación de los niveles con tratamiento. La falta de correlación demostrada de estos marcadores con la patogenia de la enfermedad no parece justificar el planteamiento de un posible uso rutinario en los pacientes con DM.

### **2.2.6. Marcadores específicos de actividad localizada.**

Algunos marcadores han demostrado su utilidad en el diagnóstico y valoración de la severidad de afectación de ciertos órganos en pacientes con PM/DM.

#### **2.2.6.1. Marcadores de afectación pulmonar.**

##### **2.2.6.1.1. KL-6.**

El KL-6 es una glicoproteína mucinosa expresada en neumocitos alveolares tipo II y células epiteliales bronquiales. La concentración sérica de KL-6 es un marcador útil para el diagnóstico y evaluación de severidad de la neumonía intersticial asociada a enfermedades del tejido conectivo como la artritis reumatoide, ES y PM/DM<sup>465</sup>. En pacientes con PM/DM sin afectación pulmonar los niveles de este marcador son bajos, mientras que se encuentran elevados en aquellos que sí la presentan<sup>466</sup>. Otros estudios han demostrado que los niveles de KL-6 se relacionan con la progresión o mejoría de la neumonía intersticial<sup>467</sup> y que este marcador resulta más útil en el diagnóstico y control evolutivo de la enfermedad pulmonar intersticial asociada a conectivopatías que la tradicional medida de la LDH<sup>468</sup>.

En definitiva este marcador resulta útil tanto en el diagnóstico como en el seguimiento de la neumonía intersticial de los pacientes con miopatías inflamatorias.

##### **2.2.6.1.2. CD13 aminopeptidasa N.**

Un trabajo reciente describe niveles elevados de actividad aminopeptidasa en suero de pacientes con PM/DM y en el lavado bronquioalveolar de los pacientes que asociaban enfermedad pulmonar intersticial<sup>469</sup>. Su valor futuro en el estudio de la patogenia y control evolutivo está por determinar.

##### **2.2.6.1.3. Proteína surfactante D.**

Ihn y colaboradores<sup>470</sup> detectan niveles séricos elevados de proteína surfactante D en pacientes con PM/DM respecto a pacientes control. Los niveles de esta proteína eran especialmente elevados en pacientes con enfermedad pulmonar intersticial y sus niveles se correlacionaban con la gravedad de dicha afectación. La proteína surfactante D sería pues, al igual de KL-6 y CD13 aminopeptidasa N, un marcador de afectación pulmonar en pacientes con miopatías inflamatorias.

### **2.2.6.2. Densitometría ósea.**

La medición de la densidad mineral ósea mediante absorbometría con Rx-dual ha sido utilizada para cuantificar la osteopenia de pacientes con DM juvenil en el curso de la enfermedad y como consecuencia del tratamiento esteroideo<sup>471</sup>.

### **2.3. Comentario.**

**Por lo comentado anteriormente queda patente que si bien algunos de estos parámetros estudiados han demostrado utilidad en situaciones concretas, lo cual les puede conferir un papel adicional en el control evolutivo de algunos pacientes, los resultados no permiten considerarlos como parámetros de control rutinario.**

**Una justificación a esta relativa “falta de eficacia” de los marcadores estudiados es que la implicación de la mayoría de ellos en la patogenia del proceso no esta claramente establecida, no es característica del proceso y en muchas ocasiones no es inicial en su desarrollo. Por ejemplo, a pesar de que existe evidencia de la participación de ciertas citoquinas en el desarrollo de la enfermedad, su papel posiblemente es inespecífico y forman parte de los mecanismos proinflamatorios, de mantenimiento o cronificación local del daño tisular del proceso. Para encontrar un marcador de actividad eficaz deberíamos identificar aquellos elementos que aun sin ser patognomónicos, resultan característicos de la enfermedad y están implicados en la fase inicial del proceso patogénico.**



## **2.4. Sistema del complemento y DM. Un posible marcador de actividad.**

### **2.4.1. Indicios de implicación del complemento en la patogenia de la DM.**

Como se ha comentado anteriormente existen evidencias de que el daño muscular propio de la DM parece ser consecuencia de una microangiopatía mediada por el complemento<sup>102, 414, 472, 473, 474</sup>. Esta afirmación se sustenta sobre diversos hallazgos histopatológicos de las biopsias musculares de pacientes con esta enfermedad.

Ya en 1912 Batten describe la existencia de datos histológicos de daño vascular (infiltración por linfocitos y engrosamiento de la pared así como oclusión vascular) en la biopsia muscular de un paciente con DM juvenil<sup>475</sup>. Posteriormente han sido muchos los estudios que han evidenciado la existencia de datos histológicos y ultraestructurales de la existencia de daño endotelial, trombosis y reducción de la densidad capilar en dichas biopsias<sup>476</sup>. Estos cambios preceden a los estructurales de las fibras musculares y a los infiltrados inflamatorios característicos del proceso, indicando que los capilares son una diana temprana del proceso patológico.

Por otro lado, en un significativo porcentaje de pacientes con DM tanto juveniles como del adulto, se ha demostrado la presencia de depósitos del complejo de ataque de membrana (CAM) C5b-9 en la microvasculatura muscular<sup>103</sup>, depósitos que no están presentes en otras miopatías como la PM o la MCI. Estos depósitos no se asocian a depósitos de IgG o IgA por lo cual no parecen ser secundarios a una adherencia inespecífica a vasos dañados por reactivos inmunes y si se han visto asociados a una disminución en la expresión de CD59 (inhibidor del CAM) en las fibras musculares y vasos de las biopsias de pacientes con DM juvenil<sup>110</sup>.

Los depósitos de MAC parecen ser más prominentes en zonas del músculo con cambios sugestivos de daño isquémico reciente, mientras que en las zonas con cambios histológicos más característicos de enfermedad avanzada como atrofia perifascicular estos depósitos son menos evidentes<sup>477</sup>. Por otro lado tanto dichos depósitos como la disminución de la densidad capilar se han hallado precediendo el daño muscular en regiones indemnes o mínimamente afectadas del músculo<sup>106, 478</sup> y los depósitos de complemento son más frecuentes si el intervalo entre la aparición de los síntomas y la práctica de la biopsia muscular es más corto.

Estos datos considerados globalmente, sugieren un papel primario del complemento en la patogénesis de la miopatía propia de la DM y apoyan la hipótesis de que el fenómeno patológico inicial de la miopatía de la DM es la activación del complemento en la

microcirculación. Esta activación sería posteriormente seguida por el daño isquémico de la fibra muscular que llevaría finalmente a la atrofia perifascicular con la característica pérdida de capilares.

Si bien los depósitos de MAC se observan también a nivel de las lesiones cutáneas<sup>479</sup>, su papel patogénico en dichas lesiones no está tan claramente establecido. Como se ha comentado anteriormente en el 86% de las biopsias de lesiones cutáneas se han detectado depósitos de dicho complejo a nivel de la unión dermo-epidérmica<sup>103</sup>, no habiéndose descrito en piel sana de pacientes con enfermedad activa. También se han descrito depósitos de MAC en los vasos dérmicos de estas biopsias, si bien el porcentaje de vasos afectados es bajo y variable entre zonas de la misma biopsia analizada. El tamaño de los vasos afectados también es variable observándose en vasos de mediano calibre o en capilares en función de las biopsias estudiadas. Así como a nivel muscular existen evidencias suficientes para interpretar un papel patogénico de los depósitos de MAC, a nivel cutáneo no se puede descartar que estos depósitos sean consecuencia de un artefacto inducido por la exposición solar<sup>480, 481</sup> o un epifenómeno secundario a la afectación inflamatoria muscular del proceso. Esta última opción es menos probable al haberse detectado depósitos cutáneos de MAC (en unión dermoepidérmica y vasos dérmicos) en pacientes con lesiones cutáneas pero sin evidencia clínica ni histológica de afectación muscular. Por otro lado no existen técnicas inmunohistoquímicas capaces de diferenciar los depósitos de MAC de los depósitos tisulares de su fase fluida inactiva (SC5b-9) que se encuentran frecuentemente en tejidos normales o afectados por diversas patologías.

En definitiva existen evidencias importantes del aparente papel patogénico que juega el complemento al menos en la miopatía característica de la DM. Se ha demostrado también que la activación del complemento y los depósitos vasculares de MAC se producen en estadios iniciales de la enfermedad en los cuales no existe evidencia histológica de daño ni por tanto clínica muscular. Por todo ello la determinación del grado de activación del complemento se plantea como una posible herramienta en la determinación del grado de actividad de la enfermedad. De igual forma sería esperable encontrar un nivel de activación de dicho sistema elevado en pacientes con enfermedad activa, incluso en periodos preclínicos y una correlación en la variación de los niveles de dicha activación y la variación del grado de actividad de la enfermedad así como elevaciones que precedan a las reagudizaciones clínicas del proceso.

## **2.4.2. Medidas de activación del sistema del complemento.**

### **2.4.2.1. Sistema del complemento: generalidades.**

El sistema del complemento está constituido por un grupo de cerca de 40 proteínas plasmáticas que interactúan secuencialmente para conseguir el aclaramiento de complejos inmunes y residuos celulares derivados del proceso de apoptosis y la activación de sistemas de inflamación. El sistema del complemento se puede activar por tres vías, la clásica, la alternativa (o properdina) y la de la lectina MBL, que confluyen en una vía común de ataque a la membrana<sup>482</sup>. La activación enzimática secuencial de sus componentes genera una cascada biológica similar a la de los sistemas de la coagulación, la fibrinólisis o las cininas, que permite una respuesta amplificada frente a los estímulos.

Los componentes de la vía clásica y de la secuencia terminal se designan con la letra C seguida de un número; los de la vía alternativa y algunas proteínas de control se simbolizan con letras (p. ej. B, D, H, I). y los productos resultantes de la activación y degradación de las moléculas nativas llevan un sufijo literal (p. ej. C3a, C3b...).

***En la vía clásica del complemento*** están implicados los factores C1, C4 y C2. Esta vía se activa cuando C1 se une básicamente a inmunocomplejos que contienen IgM o IgG (G1, G2, G3)<sup>483</sup>, aunque también tras su unión a otros compuestos (lipopolisacáridos bacterianos, retrovirus (no el HIV), proteína C reactiva, etc...). La activación secuencial de los componentes de esta vía por estos complejos inmunes libera entre otros C4a, C4b, C2a y C2b. El complejo C4b2a o C3 convertasa formado como consecuencia de esta activación fragmenta C3 en C3a y C3b.

***La vía alternativa o sistema properdina*** no precisa de anticuerpos para su funcionamiento. Es activada por algunas inmunoglobulinas como agregados de IgA e IgE y polisacáridos (incluyendo endotoxinas bacterianas); pero C3 sufre también, en condiciones fisiológicas, una hidrólisis espontánea que da lugar a la formación de un análogo de C3b. En esta vía intervienen diferentes proteínas como la properdina, factores B, D y C3 que interactúan para crear otra convertasa de C3 (C3Bb).

Ambas vías del complemento llevan en definitiva a la fragmentación de C3 en C3a y C3b, y por la actuación de otras enzimas incluso en fragmentos menores (C3c, C3d, C3dg, C4dk, C3e y C3g).

***La “lectina ligadora de manosa” (MBL)*** y las ficolinas son dos lectinas colagenosas capaces de diferenciar carbohidratos de glicoproteínas propias de patrones de

carbohidratos hallados en superficies de microorganismos o en estructuras propias alteradas como las de células apoptóticas. La unión de estas lectinas a las citadas superficies determina la activación de proteasas séricas asociadas a MBL que por otro lado activarían los factores C2 y C4 del complemento<sup>484, 485, 486, 487</sup>. El complejo C4b2a generado por dicha activación ejerce una actividad de convertasa de C3 y los fragmentos C3b generados tienen actividad opsónica. Esta activación del complemento es similar a la inducida por C1q y estimula la actividad de opsonización para el aclaramiento de microorganismos y residuos celulares de la apoptosis.

**La vía de ataque de membrana:** la activación de C3 por cualquiera de los dos vías anteriores induce la fragmentación secuencial de C5, C6, C7, C8 y C9. Esto se produce a través de la generación de un complejo enzimático, la C5 convertasa de la vía clásica (C4b2a3b) o alternativa (C3bBb3b) que fragmenta C5 en C5b y C5a, pequeño fragmento con actividad anafilotóxica. La fracción C5b inicia la vía de ataque de membrana al unirse espontáneamente a C6, y posteriormente a C7 formando el complejo C5b67. Este complejo se inserta en las membranas citoplasmáticas celulares, siguiéndose de la inyección de C8 y hasta 18 moléculas de C9<sup>488</sup>. Consecuencia de ello es la formación del CAM que puede inducir defectos de membrana celular que aumentan su permeabilidad y la liberación de componentes intracelulares tales como la hemoglobina. El resultado final de esta disrupción de la membrana celular puede ser la lisis osmótica celular<sup>489, 490, 491</sup>. La inserción de MAC en la membrana celular es inhibida por su unión a la vitronectina (proteína-S), que impide su inserción en membranas lipídicas. El complejo así formado (SC5b-9) es inactivo<sup>492, 493</sup>.

#### **2.4.2.2. Medidas del complemento.**

La liberación de hemoglobina producida por la inserción en la membrana celular del eritrocito del CAM nos provee de una medida para determinar el grado de activación del sistema del complemento. Es por ello que la actividad hemolítica total del complemento es una de las medidas del grado de activación de dichos sistemas. El CH50 representa la dilución del suero estudiado que produce la lisis de un 50% de eritrocitos sensibilizados con anticuerpos. Otra de las medidas generales de la actividad del complemento es la determinación de los niveles séricos de los diferentes componentes del sistema. Las determinaciones seriadas de estas medidas pueden ser de cierta utilidad para determinar el estado dinámico del sistema. Una disminución de los valores entre dos determinaciones sugieren un consumo de los factores por catabolismo aumentado,

mientras que un incremento en dichos niveles sugeriría una disminución en el consumo por menor activación del sistema.

La determinación del metabolismo de los factores del complemento es una medida más fiable del estado dinámico del sistema que la determinación de los niveles de dichos factores. La determinación de los productos de activación del complemento (PAC), producidos por la fragmentación de estos componentes son una medida del estado catabólico del mismo sin necesidad de realizar determinaciones seriadas. Sus niveles dependen exclusivamente de la fragmentación del componente original y en consecuencia son una medida precisa del grado de activación del sistema, no dependiendo de la capacidad de síntesis de componentes del individuo.

Estos productos son habitualmente medidos mediante ELISA utilizando anticuerpos monoclonales marcados.

### **2.4.3. Medidas del complemento en otras enfermedades: el LES como ejemplo.**

#### **2.4.3.1. LES y complemento.**

El LES es una enfermedad inflamatoria sistémica caracterizada por la producción de varios anticuerpos, depósitos de inmunocomplejos en riñón, piel, sinovial y otros tejidos. Es una enfermedad caracterizada, al igual que la DM, por una historia natural que incluye remisiones y reagudizaciones. La predicción del curso clínico en un paciente concreto es, como ocurre en la DM, difícil, y sin embargo es uno de los retos más importantes que plantea esta enfermedad. Ciertas variables demográficas y socioeconómicas pueden ayudar a definir ciertas poblaciones de mayor riesgo<sup>494</sup>, y ciertos autoanticuerpos se correlacionan con el fenotipo del proceso<sup>495</sup>.

El sistema del complemento se ha implicado en la etiología y patogenia del LES. En lo referente a la implicación etiológica, las deficiencias de componentes de la vía clásica muestran una clara asociación con el proceso; en concreto las deficiencias de C1q asociadas a la mayor prevalencia de LES y a las manifestaciones más severas del proceso. Las alteraciones en la funcionalidad tanto de la vía clásica producidas por estos déficits de componentes iniciales del sistema (C1q, C4), como de la MBL del complemento pueden determinar, como hemos comentado anteriormente, la falta de aclaramiento de material apoptótico, con el consiguiente desarrollo de una respuesta autoinmunitaria dirigida contra antígenos liberados en el proceso de muerte celular programada.

Paradójicamente, junto a la evidencia del papel protector que juega el sistema del complemento en el desarrollo de la enfermedad, existen evidencias de que este sistema participa de forma directa en la génesis del daño tisular propio del LES<sup>496</sup>. La presencia de depósito de inmunocomplejos en la pared de los vasos de los tejidos diana determina una activación del complemento por la vía clásica. Esta activación del complemento es considerada como un factor patogénico del daño tisular en esta enfermedad. Existe otro mecanismo patogénico que no depende de los depósitos de inmunocomplejos en los tejidos diana, sino de una activación intravascular del complemento con la formación de PAC, tales como C3a y C5a. Además de la participación en la lesión tisular del proceso, la activación de este sistema ha sido implicada directamente en otras manifestaciones como los retrasos en el crecimiento fetal o abortos espontáneos del síndrome del anticuerpo antifosfolípido<sup>497</sup>, fenómeno atribuido a un daño en la placenta inducido por los PAC<sup>498, 499, 500</sup>.

La evidencia de la participación del complemento en la patogenia de la lesión tisular de esta enfermedad ha llevado a numerosos autores a valorar la utilidad de la determinación de dicho grado de activación como marcador de actividad del LES.

#### **2.4.3.2. Medidas clásicas del complemento en el LES.**

En el proceso de activación del complemento se produce un consumo de los componentes tempranos del sistema que justifica la hipocomplementemia típicamente observada en las fases de actividad de la enfermedad<sup>501, 502, 503</sup>. Esta hipocomplementemia se traduce a nivel analítico en una reducción del CH50 y de los niveles plasmáticos de los componentes del complemento, como C3, C4 y C1q. Es por otro lado, considerada un dato identificador de poblaciones de alto riesgo, en concreto de enfermedad severa<sup>504, 505, 506, 507, 508</sup> y especialmente relacionados con riesgo de nefritis e insuficiencia renal<sup>505, 509</sup>.

Dentro de estas medidas tradicionales algunos autores<sup>510</sup> han descrito una mayor prevalencia de niveles anormalmente bajos de C3 que de C4 en las reagudizaciones del LES (64% vs 36%). Según estos autores, los niveles de C3 también se correlacionan mejor con las puntuaciones de actividad de la enfermedad que los niveles de C4. Estas diferencias son posiblemente atribuibles al mayor consumo de C3 que de C4 que se produce en la activación del complemento por la vía clásica<sup>511</sup>. Aun siendo más sensible C3 puede mantener niveles normales hasta en un 50% de los pacientes con enfermedad activa<sup>512</sup>. Además, en muchas ocasiones los niveles de estas medidas convencionales y

de otros componentes no habituales del complemento no se relacionan con la actividad de la enfermedad<sup>513</sup>. Porcel y colaboradores<sup>510</sup> encuentran concentraciones normales de factor B en la mayoría de pacientes con LES y enfermedad activa, observación concordante con la de otros autores<sup>514</sup>, y que puede atribuirse a un aumento de la síntesis de dicha proteína en procesos inflamatorios, con la consiguiente ausencia de consumo apreciable.

Por el contrario en algunos pacientes la hipocomplementemia puede deberse no a la actividad de la enfermedad sino a deficiencias congénitas de componentes del complemento, frecuentes en este tipo de enfermos<sup>515, 516</sup>, o quedar compensada por una mayor síntesis de estas proteínas (especialmente C3), que actúan como reactantes de fase aguda<sup>501, 517</sup>. Se ha demostrado que en pacientes con LES y enfermedad activa puede existir un aumento tanto de la síntesis como del catabolismo de C3 y C4<sup>518, 519</sup> así como una reducción de la síntesis de C3<sup>520</sup>.

Todos estos datos justifican la falta de correlación observada en muchas ocasiones entre los niveles de los marcadores tradicionales de activación del complemento con el grado de actividad de la enfermedad. De hecho en estudios como el de Sullivan y colaboradores<sup>521</sup> se considera que las mediciones habituales del complemento y de componentes iniciales de dicho sistema (CH50, C1q, C1r, C1s, C3, C4 y CH100) en pacientes con enfermedad inactiva no son útiles para predecir su evolución a largo plazo.

#### **2.4.3.3. LES y PAC.**

Como hemos comentado anteriormente la determinación estática de los niveles de componentes del complemento no son medidas tan precisas de la activación del sistema como las de los PAC, que son inequívocamente generados durante el proceso de activación del mismo<sup>522</sup>. Por ello diferentes autores han intentado determinar la utilidad de los PAC originados tanto de la vía clásica<sup>523, 524</sup>; alternativa<sup>525</sup>; como terminal<sup>526</sup>, para determinar el control de la actividad de la enfermedad pacientes con LES o para identificar a aquellos con riesgo de morbilidad a largo plazo. Otros estudios han valorado la utilidad de las determinaciones seriadas de estos PAC para evaluar la respuesta al tratamiento en pacientes con enfermedad activa o para identificar brotes de reagudización en pacientes inicialmente no activos.

#### **2.4.3.3.1. PAC y actividad de la enfermedad.**

Entre los estudios que correlacionan el grado de actividad de la enfermedad y los niveles de estos PAC se encuentra el de Manzi y colaboradores<sup>527</sup>. Estos autores estudian C4d y Bb como representantes de las vías clásica y alternativa del complemento respectivamente, determinando que son indicadores más sensibles que C3 y C4 en la determinación de la actividad moderada-severa del LES. Estos PAC serían especialmente útiles en aquellos pacientes con sospecha de actividad de la enfermedad pero con niveles normales de C3 y C4. Buyon y colaboradores<sup>528</sup> encuentran niveles normales de C4d, Ba, Bb, SC5b-9 en pacientes con LES inactivo, estando todos ellos a excepción de Bb elevados en pacientes con enfermedad activa. Al igual que Manzi y colaboradores detectan niveles especialmente elevados de C4d y Ba, aunque también de SC5b-9 en pacientes con actividad severa. Consideran a Ba como el PAC cuyos niveles permiten discriminar mejor entre pacientes activos o inactivos en valoraciones individuales. Otros autores han publicado resultados similares con otros PAC. Así Belmont y colaboradores<sup>529</sup> detectan niveles de C3a elevados en pacientes con LES y enfermedad moderada o severa, mientras que C5a se encontraba elevado sólo en pacientes con enfermedad severa y en individuos con afectación aguda del sistema nervioso central, fenómeno también observado por Hopkins y colaboradores<sup>530</sup>. Otro de los PAC cuyos niveles elevados se han correlacionado con actividad de la enfermedad es C5b-9<sup>531, 532</sup>. Esta correlación aún siendo confirmada es menor a la observada con otro PAC según otros autores<sup>527</sup>. Atribuyen esta menor correlación entre niveles de C5b-9 y actividad de la enfermedad, a la detección de niveles elevados de este PAC en hasta un 40% de las visitas en las que la enfermedad se consideraba o inactiva o levemente activa. Porcel y colaboradores<sup>510</sup> encuentran también frecuentemente en pacientes con LES y enfermedad activa niveles aumentados de C5b-9, factor B, C3a, C4a pero no de iC3b, en presencia de niveles normales de C3 y C4. Por ello concluyen que los niveles elevados de estos PAC son marcadores más sensibles de activación del complemento que los niveles bajos de C3 y C4. No obstante a excepción del C5b-9 los demás PAC carecen para ellos de especificidad, al encontrarse (sobre todo las anafilotoxinas C3a y C5a) frecuentemente elevados en pacientes con enfermedad inactiva. Por ello, para estos autores C5b-9 es el PAC más útil en la diferenciación entre pacientes con enfermedad activa e inactiva (sensibilidad 77% y especificidad 80%), siendo el que se relaciona mejor con los índices de actividad de la enfermedad.

Jonsson y colaboradores<sup>533</sup> en pacientes con LES evaluados cada 2 meses durante 8 observan variaciones claras de C1 inh-C1r-C1s-C1 inh, C3d, C1q y C3 en relación a la actividad de la enfermedad en pacientes con enfermedad severa. Además niveles altos de C1 inh-C1r-C1s-C1 inh estaban sistemáticamente elevados cuatro meses antes de una reagudización en pacientes con nefritis asociada.

Chiu y colaboradores<sup>534</sup> valoran los niveles plasmáticos de SC5b-9, C3a-desArg, C1rs-C1 inhibitor, C3b(Bb)P, CH50, C3 y C4 en 41 pacientes con LES y diferentes grados de actividad del proceso. Todos ellos a excepción de C3 y C3b(Bb)P presentaron una correlación significativa con la actividad de la enfermedad, siendo SC5b-9 el que la presentaba en mayor grado. Además SC5b-9, C3a-desArg y C4 mostraron diferencias significativas entre pacientes con enfermedad moderada y severa.

Mollnes y colaboradores valoran a 21 pacientes con LES mensualmente durante 1 año determinando los niveles plasmáticos de complejos C1rs-C1inh, C4bc, Bb, C3a, C3bc, C5a y SC5b-9, correlacionándolos con la actividad de la enfermedad<sup>535</sup>. Objetivan, como algunos de los estudios anteriores la ausencia de correlación entre activación del complemento y disminución de niveles de C4. Los niveles de PAC eran o normales o estaban tan solo discretamente elevados en pacientes con la enfermedad y de ellos tan solo SC5b-9 presentaba correlación con la puntuación de actividad de la enfermedad. Concluyen por ello que si bien SC5b-9 parece ser uno de los marcadores más sensibles de la actividad de la enfermedad, los tests de valoración del complemento tienen una utilidad limitada en la valoración rutinaria de pacientes con LES no afectos de nefritis.

Mas recientemente Nagy y colaboradores<sup>536</sup> estudian C1rs-C1inh, C3b(Bb)P y SC5b-9 como representantes de las vías clásica, alternativa y terminal respectivamente en pacientes con LES con enfermedad activa e inactiva y en controles sanos. C3b(Bb)P fue el mejor PAC para diferenciar enfermedad activa e inactiva y el que mejor se correlacionó con los parámetros de actividad clínica del proceso.

Otros autores no obstante no encuentran diferencias significativas entre los componentes iniciales del complemento, en concreto C3 y C4 y los PAC (Ba, Bb, C5b-9 y C4d) a la hora de discriminar entre los diferentes niveles de actividad de la enfermedad<sup>528</sup>.

#### **2.4.3.3.2. Identificación de pacientes de riesgo y reagudizaciones.**

En lo referente al papel de estos PAC en la predicción del riesgo individual de desarrollo de enfermedad activa en el futuro próximo, los estudios realizados son menos numerosos. Hopkins y colaboradores<sup>530</sup> relacionan un incremento en los niveles de C3a en pacientes con LES con enfermedad estable con un riesgo de reagudización entre 1 y 2 meses más tarde. De los 10 pacientes que presentaron esta asociación sólo 7 asociaron una disminución de los niveles de C3 que se situó por debajo de lo normal en tan solo 2 pacientes. Buyon y colaboradores<sup>528</sup> encuentran que un incremento en el nivel de C4d era más sensible y una elevación de los niveles de Bb más específica para predecir una reagudización que C3 y C4. Ellos establecen que si bien niveles elevados de PAC no siempre reflejan la actividad de la enfermedad o el desarrollo de reagudizaciones, son superiores a las medidas del complemento tradicionales a la hora de predecirlas. Proponen C4d y Bb como las medidas clínicamente más eficaces.

Jonsson y colaboradores observan que los niveles altos de C1 inh-C1r-C1s-C1 inh estaban sistemáticamente elevados cuatro meses antes de una reagudización en pacientes con nefritis asociada. No obstante la presencia de niveles bajos de C1q era el marcador más fiable en la predicción de una reagudización posterior. Estos autores destacan la importancia de la realización de análisis seriados del complemento en el seguimiento de los pacientes con LES.

Manzi y colaboradores<sup>527</sup> sugieren también la mayor sensibilidad de C4d y Bb sobre C3 y C4 para predecir reagudizaciones en entre 3 y 6 meses.

Mollnes y colaboradores<sup>535</sup> analizando los PAC comentados anteriormente no detectan que estos tengan capacidad de predicción de reagudizaciones.

#### **2.4.3.3.3. PAC en otros fluidos biológicos.**

Los PAC han sido valorados también en otros fluidos biológicos para relacionar sus niveles con la actividad o afectación específica de órganos. Así por ejemplo Sanders y colaboradores<sup>537</sup> detectan niveles elevados de C5b-9 en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con LES o síndrome de Sjögren y afectación del sistema nervioso central. Peakman y colaboradores<sup>538</sup> y Manzi y colaboradores<sup>527</sup> detectan niveles elevados de C3d en orina de pacientes con artritis reumatoide y en pacientes con LES y nefritis respectivamente. Estos últimos determinan que a pesar de que los niveles de C3, C4, C4d, Bb y C5b-9 están prácticamente universalmente elevados en pacientes con nefritis

aguda, el C3d urinario era más eficaz para diferenciar a los pacientes con o sin afectación renal.

#### **2.4.3.4. Conclusión.**

La mayoría de estudios presentados demuestran la utilidad que tiene la determinación de los niveles plasmáticos de PAC para establecer la actividad de la enfermedad o predecir las reagudizaciones en pacientes con LES. La falta de unidad de criterio entre los diferentes grupos a la hora de seleccionar los PAC estudiados, las diferencias en el diseño de los estudios, número de pacientes, criterios de clasificación y técnicas de análisis utilizadas así como la falta de valoración conjunta de todos los PAC en un mismo estudio hacen difícil establecer cual de estos parámetros es el más útil para conseguir el fin deseado. Por otro lado no todos los estudios realizados son prospectivos, con un protocolo de valoración clínica de pacientes establecido a priori, por lo cual la relación entre parámetros y clínica puede aparecer distorsionada.

A pesar de las diferencias observadas entre los diferentes estudios, la impresión final es que la determinación de los niveles de PAC tiene utilidad en el control clínico de pacientes con LES con niveles crónicamente bajos de C3 o C4, o en aquellos cuyos niveles se mantienen estables a pesar de la evidencia de reagudización del proceso. De igual forma se considera que las determinaciones seriadas pueden tener un papel en la predicción de las reagudizaciones. A pesar de estos estudios algunos autores consideran que la utilidad clínica de estos nuevos tests de activación del complemento está todavía por demostrar<sup>539</sup>.

#### **2.4.4. Medidas de activación del complemento en otras enfermedades.**

##### **2.4.4.1. Complemento y psoriasis.**

En la psoriasis se han descrito varias alteraciones del proceso inflamatorio<sup>540</sup>, si bien el papel del complemento en la respuesta inflamatoria de esta enfermedad no ha sido definido claramente. Se sabe que los estreptococos, que son potentes estimuladores de la activación del complemento, pueden desencadenar brotes de esta enfermedad<sup>541</sup> y que los queratinocitos pueden producir y secretar componentes de la vía alternativa de ese sistema<sup>542, 543</sup>. En las escamas de piel psoriática se han detectado PAC<sup>544, 545</sup> y diversos estudios sugieren que la activación del complemento es uno de los fenómenos que suceden en el proceso patológico de la psoriasis<sup>546, 547, 548</sup>.

Dada esta aparente implicación, al igual que en el LES, se han desarrollado trabajos destinados a establecer una relación entre el grado de activación de dicho sistema y la extensión del proceso cutáneo. El objeto de estas investigaciones era determinar si la cuantificación de la activación del complemento sería útil para preveer en los pacientes el desarrollo de formas severas de psoriasis que se pudiesen beneficiar de tratamientos sistémicos. Algunos de estos estudios describen el consumo de componentes de la vía alternativa<sup>549</sup> y otros establecen una escasa implicación de la clásica en esta enfermedad. Rosenberg y colaboradores<sup>547</sup> valoran un grupo heterogéneo de pacientes, incluyendo individuos con síndrome de Reiter, psoriasis pustuloso y eritrodermia psoriática, detectando elevaciones de los niveles séricos de un considerable número de componentes de ambas vías. También se han publicado trabajos en los que se han demostrado la existencia de incrementos en las concentraciones de proteínas de control, especialmente de la vía alternativa.

Buscando establecer una correlación más valorable entre actividad de la enfermedad y activación del complemento Fleming y colaboradores<sup>550</sup> estudian diversos marcadores de activación del complemento (CH50, C3, C4, properdina, C3BbP, C1s-inhibidor C1 y C5b-9) en pacientes con psoriasis, en relación a la extensión de la enfermedad determinada mediante la escala PASI. Detectan niveles elevados de C5b-9 en todos los pacientes con la enfermedad y en ninguno de los pacientes control, mientras que el resto de PAC (C3BbP y C1s-C1 inhibidor) presentan niveles séricos normales. La diferencia observada entre los diferentes PAC es atribuida a la mayor estabilidad del complejo C5b-9 respecto a los otros dos que son degradados y eliminados más rápidamente. Los niveles de los marcadores clásicos tampoco están alterados en los pacientes con

psoriasis. Si bien los niveles de C5b-9 están elevados, los autores no detectan correlación entre dichos niveles y la actividad de la enfermedad, fenómeno atribuido a que posiblemente la activación anómala del complemento a nivel sérico no sea un defecto primario sino secundario a su activación cutánea o a defectos en la escala de valoración clínica utilizada.

#### **2.4.4.2. PAC en distrés respiratorio del adulto (DRA).**

La activación del complemento se considera que juega un papel crucial en la fisiopatología del DRA, bien sea por la acción directa de los PAC o por la inducción de liberación de otros mediadores. En un estudio realizado por Hara y colaboradores<sup>551</sup> observaron niveles elevados de SC5b-9 en pacientes con esta enfermedad en comparación con controles o pacientes con infecciones y déficits de C5. Los niveles de este PAC se incrementaban en pacientes durante las reagudizaciones de su patología pulmonar.

#### **2.4.4.3. Otros procesos.**

Se ha valorado la activación del sistema del complemento a través de la determinación de niveles de PAC en otros procesos como la preeclampsia<sup>552</sup>, artritis reumatoide o enfermedad de Crohn<sup>553, 554</sup>.

#### **2.4.5. Medidas de activación del complemento en DM: experiencia previa.**

Existe, como ya se ha comentado anteriormente, evidencia de la implicación de la activación del sistema del complemento en las primeras etapas del proceso patogénico de la DM. Tenemos igualmente evidencia indirecta de una posible relación entre el grado de activación local de dicho sistema y la agresividad de la enfermedad. Así en aquellos pacientes con un mayor porcentaje de vasos con depósitos de CAM el curso de la enfermedad es más agresivo (formas fulminantes o fatales). Estos datos apoyarían una teórica utilidad de la determinación del grado de activación del sistema del complemento en la valoración del grado de actividad clínica del proceso. Hasta el momento existen pocos estudios que se hayan centrado en el estudio del sistema del complemento en pacientes con DM.

Basta y colaboradores<sup>555</sup> estudian en sueros de pacientes con síndrome de Guillain-Barré, miastenia gravis y DM el grado de incorporación de C3 a una cadena de componentes del complemento en crecimiento. En las tres enfermedades se ha

demostrado la existencia de una activación local del complemento, con el consiguiente depósito de CAM que ha sido implicado en la patogenia de dichos procesos. Cada suero, como fuente de complemento, puede proveer fragmentos de C3 activados, generados durante la incubación con complejos inmunes corpusculados para que se depositen en la superficie de las células sensibilizadas. Estos autores evidencian la existencia de una alta incorporación de C3 en estos pacientes, apoyando la hipótesis de la participación de los depósitos del complemento en la patogenia de estas tres entidades. Por otro lado la administración endovenosa de inmunoglobulinas inhibió dicha incorporación hasta situarla en niveles normales pasadas sólo 24h de la infusión.

Existe un estudio previo que ha intentado, como en el LES, determinar la existencia de niveles elevados de PAC en pacientes con DM y relacionarlos con la actividad de la enfermedad. Scott y colaboradores<sup>426</sup> observan, estudiando a 15 pacientes con DM, elevaciones de C3d (producto de degradación de C3, de bajo peso molecular y relativa estabilidad) en 6 de 7 pacientes con DM juvenil activa, estando menos frecuentemente elevadas en pacientes con enfermedad no activa. Sólo en dos de estos pacientes se observan niveles reducidos de C3 o C4. No obstante en este estudio se realizan determinaciones aisladas, no seriadas ni prospectivas, de estos parámetros por lo cual no se puede establecer el grado de correlación entre las variaciones de actividad de la enfermedad y los niveles de C3d. Se desconoce por ello su posible papel en el control evolutivo de los pacientes con DM.

Nuestro estudio, cuyos resultados discutiremos a continuación, es el primer trabajo en el cual se analiza prospectivamente la relación entre los niveles plasmáticos de PAC (C3a-desArg y SC5b-9) y las variaciones de la actividad clínica de la DM y su capacidad como predictores de reagudizaciones del proceso<sup>556</sup>.

#### **2.4.6. Comentario.**

**En definitiva tenemos evidencias indirectas de la relación entre la activación del sistema del complemento y la actividad de la DM. Se ha demostrado que los pacientes con depósitos vasculares de CAM presentan un curso más agresivo. Si bien disponemos de estas evidencias no existen hasta el momento estudios seriados ni prospectivos que hayan investigado la relación entre el grado de activación del sistema del complemento y la actividad de la enfermedad.**



### **3. PROYECTO:**

***DERMATOMIOSITIS Y SISTEMA DEL COMPLEMENTO:  
RELACIÓN ENTRE ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD Y GRADO  
DE ACTIVACIÓN DEL COMPLEMENTO. COMPARACIÓN CON  
MARCADORES BIOQUÍMICOS TRADICIONALES.***



### **3.1. Interés actual del tema.**

#### **3.1.1. Interés asistencial.**

Nuestro proyecto pretende determinar si las mediciones de los PAC son útiles como marcadores de actividad y del grado de respuesta al tratamiento en la DM. Si se confirma esta hipótesis pondríamos a nuestra disposición un elemento que nos permitiría identificar a pacientes de riesgo por presentar un mayor grado de actividad de la enfermedad, y ajustar el tratamiento de los pacientes con mayor seguridad. Esto permitiría reducir las secuelas y complicaciones derivadas tanto del propio proceso como de su tratamiento.

En segundo lugar, si demostramos que las determinaciones seriadas de estos productos permiten monitorizar la evolución de los pacientes, dispondremos de un marcador capaz de predecir o diagnosticar precozmente las reagudizaciones. Esto nos permitiría reiniciar o ajustar los tratamientos antes de que se desarrolle la clínica derivada de la lesión en los órganos diana, reduciendo el riesgo de secuelas posteriores.

#### **3.1.2. Interés para futuras líneas de investigación.**

La confirmación de nuestra hipótesis apoyaría la teoría del papel patogénico desarrollado por el complemento en la génesis de la lesión endotelial de la DM.

Esta evidencia justificaría el desarrollo de estudios sobre la aplicabilidad de tratamientos más específicos, inhibidores selectivos del complemento, en el tratamiento de esta enfermedad. Existen ya trabajos que han demostrado la capacidad de anticuerpos anticomplemento de modular la respuesta inflamatoria en modelos animales<sup>557</sup> y ya han comenzado a ser ensayados en el tratamiento de la DM<sup>350</sup>.

Como en todo proceso patológico, el esclarecimiento de los mecanismos patogénicos implicados supone un avance en el conocimiento de la etiología del mismo, y en el establecimiento de tratamientos específicos.

### **3.1.3. Actualidad del tema.**

Este proyecto se ubica en el campo de la inmunología aplicada a la clínica, y en concreto en el de la inmunodermatología. Esta área médica ha despertado un enorme interés en las últimas décadas, motivado por el descubrimiento de nuevos procesos patológicos en los que están implicados los fenómenos de autoinmunidad, y en cuyo desarrollo participan factores tanto genéticos como ambientales. La mayoría de estas enfermedades autoinmunes tienen causas todavía desconocidas, lo que impide poder desarrollar tratamientos específicos, basándose la terapia habitual en la administración de fármacos inmunosupresores. Tanto por las propias manifestaciones y secuelas de estas enfermedades como por los efectos de estas medicaciones, los enfermos que las padecen ven seriamente limitadas su calidad de vida y sus capacidades funcionales. De allí que el estudio de los mecanismos patogénicos de estos procesos con el fin de esclarecer su etiología y poder así incidir en la profilaxis y en la mejoría de los tratamientos, se haya convertido en el objeto de numerosos estudios y publicaciones científicas. Nuestro proyecto se engloba en este grupo de estudios, dirigidos a esclarecer estos mecanismos patogénicos en una de estas enfermedades autoinmunes, la DM.

### **3.2. Hipótesis de trabajo y objetivos concretos.**

#### **3.2.1. Hipótesis de trabajo.**

Las evidencias previas:

1. La implicación del complemento en la patogenia de la microangiopatía de la DM, incluso en fases preclínicas.
2. La demostración de la utilidad de la medición de niveles plasmáticos de PAC en la determinación del grado de activación del sistema del complemento.
3. La correlación entre los niveles de PAC y la actividad de la enfermedad en otros procesos en los que la activación del sistema del complemento juega un papel patogénico.

Nos llevan a plantear las siguientes hipótesis de trabajo:

1. La determinación del grado de activación del sistema del complemento a través de la valoración de los niveles plasmáticos de productos de dicha activación es útil como marcador de la actividad de la DM y/o de la efectividad del tratamiento.
2. La determinación seriada de los PAC plasmáticos puede ayudar a detectar aumentos en la activación del sistema del complemento. Dado que dicha activación es un fenómeno muy inicial en el proceso patológico, estos aumentos permitirían predecir las reagudizaciones del proceso antes del desarrollo de la clínica característica.

### **3.2.2.. Objetivos concretos.**

Teniendo en cuenta las hipótesis de trabajo planteadas anteriormente, el presente estudio se propone los siguientes objetivos concretos:

1. Determinar si los pacientes con DM presentan activación del sistema del complemento, determinado a través de la medición de niveles plasmáticos de PAC superiores respecto a controles sanos.
2. Establecer si el grado de activación del sistema del complemento, valorado a través de la determinación de los niveles plasmáticos de PAC en pacientes con DM, se correlaciona con la actividad del proceso.
3. Determinar si la correlación entre la variación de los niveles plasmáticos de PAC y la actividad clínica del proceso es superior a la observada para los marcadores de actividad tradicional. Es decir, determinar si dicha determinación es más útil para controlar la evolución de la actividad clínica del proceso que las medidas analíticas tradicionales.
4. Observar si las determinaciones seriadas de los niveles plasmáticos de estos productos permiten detectar elevaciones que precedan a las reagudizaciones clínicas del proceso. Es decir determinar si las determinaciones seriadas de PAC permiten predecir las reagudizaciones del proceso.

### **3.3. Material y métodos.**

#### **3.3.1. Material.**

##### **3.3.1.1. Pacientes.**

Para el estudio se obtienen muestras de plasma y suero de pacientes con DM.

Se incluyen en el estudio a 16 pacientes afectos de DM, procedentes de los servicios de Dermatología, Medicina Interna y Enfermedades Autoinmunes y Sistémicas del Hospital Clínic de Barcelona; y del servicio de Dermatología del Hospital General de Cataluña. Para su inclusión estos pacientes deben cumplir los criterios diagnósticos de DM de Bohan y Peter<sup>7, 8</sup> o de DMA de Sontheimer<sup>215</sup>. Se trata de pacientes con enfermedad activa diagnosticada entre abril de 1998 y enero del 2001, pacientes ya controlados en dichas unidades pero con enfermedad no activa y pacientes que desarrollaron reagudizaciones durante el periodo del estudio.

##### **3.3.1.2. Controles.**

Como controles se utilizarán muestras de plasma de 34 individuos sanos, donantes del banco de sangre del Hospital Clínic de Barcelona. Para su selección como controles se randomizaron los parámetros edad y sexo.

##### **3.3.1.3. Reactivos y material de laboratorio.**

##### **3.3.1.4. Material fungible.**

La totalidad del material fungible es financiado mediante la beca FIS concedida para el citado proyecto (FIS99/0177 “MICROANGIOPATÍA DE LA DERMATOMIOSITIS Y SISTEMA DEL COMPLEMENTO, MECANISMOS PATOGENÉTICOS Y RELACIÓN CON LA ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD”).

##### **3.3.1.4.1. Kits para detección de PAC.**

La detección y cuantificación de los niveles plasmáticos de PAC se realiza mediante técnica de Enzima inmunoensayo (ELISA). Para ello se utilizan kits comercializados que contienen una placa con 96 (12x8) pocillos de microensayo cubiertos con anticuerpos monoclonales de ratón dirigidos contra SC5b-9 o C3a-desArg humanos. El

paquete comercial contiene igualmente anticuerpos anti-SC5b-9 o anti-C3a-desArg de cabra conjugados a peroxidasa (HRP), substrato cromogénico, estándares de suero humano con concentraciones conocidas de los PAC estudiados (A bajo, B medio y C alto) y controles altos y bajos.

Los kits utilizados en este estudio son.

-Kit ELISA C3a. Quidel (ref.326492)

-Kit ELISA SC5b-9. Quidel (ref. 326498)

#### **3.3.1.4.2. Material diverso.**

A parte de los kits específicos para la determinación de niveles de PAC, se utiliza en el estudio material fungible propio del laboratorio de histopatología del Servicio de Dermatología del Hospital Clínic y de los laboratorios CORMEDICA.

#### **3.3.1.5. Equipos e instrumental inventariable.**

##### **3.3.1.5.1. Equipos del Laboratorio de inmunohistoquímica. Servicio de Dermatología.**

Para la realización del estudio se dispone de equipos ya presentes en el laboratorio de inmunohistoquímica del Servicio de Dermatología del Hospital Clínic:

-Criocentrífuga (Janetzki K23. Assens LLofriú)

-Congelador -70° ( Hucoa Erzo. Forma Scientific)

##### **3.3.1.5.2. Lector de ELISA.**

La técnica de ELISA es realizada en las instalaciones del laboratorio CORMEDICA que pone a nuestra disposición un lector de ELISA automatizado:

- LABOTECH (IFCI CLONE SYSTEMS)

Este equipo realiza la lectura de absorbancias, el cálculo de la curva de regresión lineal, y extrapola los valores de concentración de las muestras analizadas de forma automática, realizando las correcciones oportunas en función de las diluciones realizadas. Por otro lado realiza un test de validación del ensayo.

### **3.3.2. Métodos.**

#### **3.3.2.1. Datos clínicos.**

##### **3.3.2.1.1. Periodicidad de los controles clínicos.**

Los pacientes incluidos en el estudio siguen un programa de seguimiento periódico, estableciéndose como óptimo un periodo entre visitas de 2 meses. El paciente es valorado siempre por el mismo investigador.

Para establecer este periodo óptimo entre visitas se analizó la experiencia previa de otros autores en el seguimiento prospectivo de pacientes con DM y otras enfermedades autoinmunes. Manzi y colaboradores<sup>527</sup> estudiando a pacientes con LES, realizan los controles con mediciones de PAC cada 4 meses. Según ellos 4 meses es un intervalo demasiado largo para determinar la utilidad de los PAC en la predicción de las reagudizaciones de la enfermedad. Otros autores como Buyon y colaboradores<sup>528</sup> valoran a sus pacientes con LES cada 3.5 meses. En el seguimiento de pacientes con DM para el estudio de los niveles de v:WF Ag y su comparación con la actividad de la enfermedad, Guzmán y colaboradores<sup>395</sup> realizan controles mensualmente al principio y 3 ó 4 veces al año posteriormente. De Benedetti y colaboradores<sup>432</sup> establecen en la valoración de variaciones en los niveles de neoptreina de sus pacientes con DM periodos de seguimiento muy variables (entre 2 y 12 meses). En nuestro caso planteamos establecer un periodo entre visitas lo más homogéneo posible y que no fuese excesivamente largo para no perder la capacidad de predicción de reagudizaciones. Dicho investigador no participa en el control asistencial habitual del paciente, que es realizado en paralelo y de forma independiente en el servicio correspondiente. No toma parte en las decisiones terapéuticas sobre el paciente como cambios en la medicación a administrar, ni conoce los resultados de exploraciones complementarias realizadas relacionadas con la actividad de la enfermedad como por ejemplo los enzimas musculares.

### **3.3.2.1.2. Valoración de la afectación muscular.**

Para la valoración de la actividad muscular de la enfermedad creamos una escala de puntuación basada en datos clínicos. En la elaboración de dicha escala se primó la objetividad en la determinación de la fuerza muscular sobre consideraciones subjetivas del paciente.

La fuerza muscular del paciente se determina a través de la valoración manual estándar de 18 grupos musculares proximales (figura 2) utilizando la escala MRC (figura 1):

***Figura 2: Grupos musculares evaluados***

<b><u>Músculos</u></b>
Deltoides derecho
Deltoides izquierdo
Bíceps braquial derecho
Bíceps braquial izquierdo
Radio braquial derecho
Radio braquial izquierdo
Tríceps braquial derecho
Tríceps braquial izquierdo
Iliopsoas derecho
Iliopsoas izquierdo
Glúteo mayor derecho
Glúteo mayor izquierdo
Cuadriceps derecho
Cuadriceps izquierdo
Extensores rodilla derechos
Extensores rodilla izquierdos
Flexores del cuello
Extensores del cuello

Se escoge esta escala de valoración, por ser considerada como la más válida y ser la más utilizada en los estudios previos de actividad de la enfermedad. Se opta por valorar 18 grupos musculares frente a otros estudios que habitualmente valoran menos, porque al aumentar dicho número se aumenta la probabilidad de explorar músculos afectados y la posibilidad de hallar diferencias valorables entre controles del mismo paciente. La valoración de la fuerza muscular la realiza siempre el mismo investigador y en dos ocasiones en la misma visita (antes y después de la entrevista con el paciente) siguiendo criterios de exploración definidos previamente por otros autores<sup>558</sup>(Anexo, figura 3). Las medias de las dos puntuaciones obtenidas para cada grupo muscular son sumadas y restadas de 90 (puntuación máxima obtenida en caso de fuerza conservada en todos los grupos musculares) para obtener una puntuación de debilidad muscular. La puntuación máxima teórica de dicha valoración es de 90. En cada visita se interroga al paciente acerca de valoraciones subjetivas de afectación muscular. En concreto se valoran 5 actividades cotidianas otorgándoles un valor predeterminado en función de la entrevista con el paciente:

**Figura 4: Valoración subjetiva de afectación muscular**

<i>Actividad</i>	<i>Puntuación</i>
Vestirse/desvestirse	Normal: 0 Disminuida: 1
Peinarse	
Levantarse de cama	
Levantarse de silla	
Subir escaleras	

El objeto de esta valoración es ayudar a diferenciar cambios en la actividad muscular que posiblemente no sean valorables en la exploración manual, pero se traduzcan en mayor fatigabilidad o dificultad para realizar actividades cotidianas. La puntuación máxima de esta valoración es de 5 puntos.

La puntuación de actividad muscular de la enfermedad se obtiene de la suma de las dos puntuaciones comentadas anteriormente (valor máximo 95).

### **3.3.2.1.3. Valoración de la actividad cutánea.**

Hasta el momento de desarrollar el presente proyecto no hallamos estudios de la actividad de la enfermedad en DM que consideraran la importancia de valorar las lesiones cutáneas del proceso. Como ya hemos comentado anteriormente la actividad de la enfermedad a nivel cutáneo y muscular no siempre evoluciona en paralelo. Por otro lado los pacientes con DMA no pueden ser valorados con las escalas de valoración tradicionales basadas sólo en la fuerza muscular o pacientes con DM clásica pueden desarrollar tras el tratamiento reagudizaciones sólo cutáneas del proceso. Estos hechos han motivado que recientemente se hayan desarrollado escalas de valoración de actividad conjunta (cutánea y muscular)<sup>383</sup> que parecen ser más útiles que las tradicionalmente utilizadas y basadas sólo en la valoración de la afectación muscular.

Al no existir esta escala, en el momento en el que diseñamos nuestro estudio, desarrollamos una escala propia, considerando en ella las posibles lesiones cutáneas habitualmente observadas en pacientes con DM. A estas lesiones se les atribuyó de forma arbitraria una puntuación (figura 5):

**Figura 5: Escala puntuación cutánea**

<b><i>Lesión cutánea</i></b>	<b><i>Puntuación</i></b>
<b><i>Eritema macular</i></b>	% área corporal afecta/10
<b><i>Exantema en heliotropo</i></b>	No presente: 0 Presente: 1 Asociado a edema palpebral: 2
<b><i>Signo o pápulas de Gottron</i></b>	No presente 0 <5 elementos 1 5<x<10 elementos 2 >10 elementos 3
<b><i>Eritema o distrofia cuticular</i></b>	No presente 0 <5 dedos afectados 1 5<x<10 dedos afectados 2 >10 dedos afectados 3
<b><i>Otras lesiones cutáneas: eritema flagelado, hiperqueratosis palmar, aftas orales, erosiones cutáneas, ampollas, paniculitis, livedo reticularis, alopecia</i></b>	1 punto para cada lesión

El objetivo de esta escala de puntuación es poder cuantificar el grado de afectación cutánea del proceso de la forma más objetiva y reproducible posible en cada visita. Se pretende poder comparar las puntuaciones obtenidas en cada uno de los controles para determinar si el proceso ha evolucionado en algún sentido (hacia la remisión o la reagudización del proceso). Esta escala no pretende otorgar un mayor o menor rango de importancia a cada una de las lesiones a la hora de determinar el grado de actividad de la enfermedad. En la mayoría de casos existe una estabilidad en cuanto al

tipo de lesiones que desarrolla el paciente y éstas aumentan o disminuyen de intensidad o desaparecen en la evolución del proceso. Por ello es lógico suponer que los cambios en la puntuación cutánea del proceso serán secundarios a cambios en la intensidad de dichas lesiones y no al cambio de tipo de lesiones cutáneas desarrolladas por el paciente.

La valoración de la actividad cutánea es realizada siempre por el mismo investigador que además es responsable de la exploración muscular. Al igual que en ésta, la valoración de las lesiones cutáneas se realiza en dos ocasiones en cada visita (antes y después de la entrevista clínica). La puntuación cutánea final para cada visita corresponde a la media de las dos puntuaciones individuales obtenidas en dicha visita.

#### **3.3.2.1.4. Actividad global:**

Se obtendrá también una escala de valoración global de la enfermedad, resultado de la suma de las puntuaciones cutánea y muscular.

Dada la existencia de pacientes con DMA en los cuales no existe afectación muscular, nos interesa mantener las valoraciones cutáneas y musculares de actividad de cada paciente también por separado. Esto nos permitirá interpretar si existen diferencias de correlación entre marcadores de actividad y agresividad del proceso en función de que haya lesiones sólo cutáneas o cutáneas y musculares. Por otro lado incluso en pacientes con afectación cutánea y muscular nos interesa mantener esta separación, ya que podremos analizar las posibles diferencias en la correlación de cada uno de los marcadores de actividad con los grados de actividad cutánea y muscular por separado. Es de esperar que esta correlación sea inexistente al valorar los enzimas musculares en pacientes con DMA. Por otro lado es especialmente interesante poder demostrar esta correlación entre los marcadores de actividad seleccionados para este estudio y las lesiones cutáneas. La demostración de esta correlación apoyaría la implicación del complemento también en el origen de las lesiones cutáneas del proceso.

#### **3.3.2.1.5. Otros datos a registrar.**

En el registro de cada visita de cada paciente se incluyen una serie de datos que si bien no se considerarán para establecer la puntuación de actividad de la enfermedad quedarán registrados para su posible interpretación en función de los resultados obtenidos una vez finalizado el estudio

#### **3.3.2.1.5.1. Afectación visceral.**

En cada visita se valoran signos y síntomas que indiquen una posible afectación visceral o asociación a vasculitis, tales como: cólicos abdominales, fenómeno de Raynaud, livedo reticularis, artralgias, fiebre. También se recoge información del paciente en lo referente a datos clínicos subjetivos como la presencia de mialgia.

#### **3.3.2.1.5.2. Valoración de procesos intercurrentes.**

También se recogen en cada visita datos concernientes a exposición a radiación solar u ultravioleta reciente, la necesidad de realizar tratamientos complementarios (antibióticos, antiinflamatorios, etc....) entre visitas, así como el desarrollo de procesos patológicos (infecciosos o inflamatorios) que puedan implicar una activación del sistema del complemento.

#### **3.3.2.1.5.3. Tratamiento realizado, tiempo y dosis de tratamiento.**

Como se ha comentado anteriormente el investigador no participa en la toma de decisiones en lo referente al control asistencial habitual de los pacientes incluidos en el estudio. No obstante en el registro de cada visita se recoge información acerca del tratamiento realizado por el paciente, tiempo desde la instauración y cambios en las dosis realizados entre visitas. Igualmente se recaba información acerca de ingresos hospitalarios, diagnóstico de reagudizaciones y resultados de pruebas complementarias que hayan indicado reagudizaciones en los periodos entre visitas.

Toda la información relativa a cada paciente y visita es almacenada en soporte informático (base de datos Access).

#### **3.3.2.1.6. Datos analíticos de actividad.**

En cada visita se obtiene una muestra de suero del paciente que es remitida al laboratorio del Hospital Clínic, para realizar las determinaciones bioquímicas habituales (VSG, hemograma, keratina, enzimas musculares (CPK, GOT, GPT), GGT, LDH, Aldolasa, C3 y C4)) propias del control rutinario de estos pacientes. Inicialmente se incluyó en el estudio la determinación de CH50 como marcador tradicional de activación del sistema del complemento. No obstante por el cambio del sistema analítico utilizado para su determinación en el laboratorio del Hospital Clínic durante el transcurso del estudio se decidió eliminar este parámetro de la lista de valores analíticos a analizar.

### **3.3.2.1.7. Clasificación de los pacientes.**

#### **3.3.2.1.7.1. DM activa e inactiva.**

La valoración clínica de los pacientes es realizada sin el conocimiento de los valores analíticos bioquímicos previos. Estos datos serán obtenidos al finalizar el estudio para realizar el conveniente análisis estadístico. En cada control los pacientes son clasificados en DM activas cuando cumplan las dos condiciones siguientes:

1. Puntuación global de actividad superior a 2.
2. Necesidad de tratamiento con esteroides sistémicos u otros inmunomoduladores para controlar los síntomas, o tratamiento tópico de lesiones cutáneas por progresión de las mismas.

y en inactivas en caso contrario.

Estos criterios de clasificación son superponibles a los descritos en estudios de otras enfermedades autoinmunes como el LES<sup>510</sup> pero difieren algo de los presentados en otros trabajos sobre DM, en los cuales el único criterio clasificatorio es la presencia de una puntuación clínica positiva<sup>432</sup>.

Los motivos para modificar la citada clasificación se basan en que los citados estudios sólo consideraban la afectación clínica muscular y no la cutánea en el control de los pacientes. En nuestra escala de valoración hemos incluido las lesiones cutáneas y sabemos que es posible la existencia de lesiones cutáneas crónicas no relacionadas con la actividad de la enfermedad y que pueden persistir hasta años después de haber suspendido la medicación inmunomoduladora. Por otro lado existen pacientes que desarrollan atrofia muscular o miopatía esteroidea, situaciones que pueden justificar la persistencia de debilidad muscular incluso tiempo después de suspender el tratamiento por considerarse la enfermedad inactiva.

La consideración de la puntuación cutánea o muscular positiva como único criterio clasificatorio determinaría que estos pacientes fueran considerados como activos aun llevando años sin recibir tratamiento específico. Por ello introducimos el criterio de la necesidad de tratamiento para controlar el proceso.

### **3.3.2.1.7.2. Reagudización clínica.**

Se considerará que un paciente ha desarrollado una reagudización clínica cuando cumpla las siguientes condiciones:

1. Aumento de la puntuación de actividad global con respecto al control anterior.
2. Requiera de un aumento en las dosis de medicación habitual, adición de otro fármaco inmunomodulador y/o hospitalización coincidiendo con ese aumento en los parámetros de actividad clínica.

Estos criterios son superponibles a los descritos en otros trabajos para establecer reagudizaciones en pacientes con LES<sup>528</sup> y similares, aunque no idénticos a los descritos en otros estudios previos en pacientes con DM<sup>395</sup>. En este estudio consideran, a parte del empeoramiento de la fuerza muscular y la necesidad de modificar el tratamiento otros dos criterios, el incremento en los niveles enzimáticos y la valoración subjetiva por parte del paciente o de la familia de empeoramiento en las funciones. Los pacientes tienen que cumplir dos de estas cuatro condiciones para considerarse afectados de una reagudización del proceso. El desconocimiento de los niveles enzimáticos de los pacientes, parte esencial del diseño de nuestro estudio y que pretende evitar que el conocimiento de datos no clínicos acerca del grado de actividad de la enfermedad pueda influir en la valoración clínica de los pacientes, es la principal causa de no poder equiparar nuestros criterios de clasificación a los de dichos estudios. Por otro lado la valoración subjetiva del empeoramiento de las funciones del paciente está incluida en la valoración de actividad muscular de nuestra escala de puntuación. En este sentido nuestros criterios de diagnóstico de reagudización son más estrictos que los de los citados estudios al establecer necesariamente el cumplimiento de todos los criterios seleccionados.

### **3.3.2. Obtención de muestras y procesamiento.**

#### **3.3.2.1. Obtención de las muestras.**

Las muestras de suero y plasma para el estudio se obtienen en cada control o en cada visita de cada paciente mediante extracción por venopunción.

##### **3.3.2.1.1. Procesamiento de las muestras.**

En cada extracción se obtienen 10 cc de sangre. De ellos 5cc son vertidos en los tubos específicos para el análisis de los parámetros bioquímicos convencionales y son remitidos al laboratorio central del Hospital Clínic. Los 5cc restantes son vertidos en un tubo Vacutainer con EDTA. Este tubo es introducido inmediatamente después de la extracción en un recipiente con hielo y es trasladado al laboratorio en un intervalo máximo de 30 min. Una vez allí las muestras son centrifugadas a 4°C, 1500 rpm durante 15 min. Tras ello se separa el plasma por pipeteado, siendo alicuotado en fracciones de 300 µl y conservado a -70°C hasta su procesamiento. Las muestras de plasma de cada control y de cada paciente y visita son codificadas mediante un código que no permita su identificación durante el procesamiento.

#### **3.3.2.2. Técnicas específicas.**

##### **3.3.2.2.1. Determinación de concentraciones plasmáticas de SC5b-9 y C3a.**

C3a-desArg es la forma estable inactiva de C3a y SC5b-9 es un complejo no citolítico que se forma como consecuencia de la activación de los componentes del complemento de C5 a 9 en una fase fluida en ausencia de bicapas lipídicas<sup>559</sup>. Los niveles de estos PAC se determinan mediante la técnica de ELISA utilizando kits comerciales, siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante.

Para ello se procede a la descongelación inmediatamente previa de las muestras de plasma. Antes de iniciar el ensayo se diseña la distribución del blanco, estándares A, B y C, controles altos y bajos y cada una de las muestras a analizar en los pocillos de la placa. Una vez identificados cada uno de los pocillos se procede al rehidratado de los pocillos de la placa de ELISA mediante la solución de lavado facilitada en el kit adquirido. Tras eliminar dicha solución se añaden 100µl del diluyente de muestras en el pocillo marcado como blanco y 100µl de cada uno de los estándares A, B y C en

sus pocillos correspondientes. Posteriormente se añaden 100µl de diluciones a 1:25 de los controles alto y bajo y a 1:4 de cada una de las muestras de suero a analizar en los pocillos correspondientes. Se procede a la incubación de la placa a temperatura ambiente durante 60 min. Esta incubación se realiza en el lector de ELISA, que pasado este periodo procede al lavado automático de los pocillos mediante la solución de lavado específica del kit. Tras los ciclos de lavado el lector dispensa automáticamente 50 µl de la dilución de anticuerpos marcados a cada pocillo, incluyendo el blanco. Se incuba la placa 60 min. a temperatura ambiente tras los cuales se lavan nuevamente los pocillos con solución de lavado. Se dispensan entonces 100µl de la solución de sustrato (cromóforo) en cada uno de los pocillos, incluyendo el blanco, procediéndose a una nueva incubación de 30 min. a temperatura ambiente. Finalmente se añaden 50µl de la solución de frenado para parar la reacción enzimática y se procede a la determinación de las absorbancias a 405nm en cada pocillo. El lector de ELISA realiza de forma automática la corrección de blanco, restando a cada una de las muestras, estándares y controles los valores de absorbancia correspondientes a dicho blanco. De igual forma calcula la curva de regresión lineal y extrapola de dicha curva las concentraciones de las muestras en función de sus valores de absorbancia. Las muestras con absorbancias superiores a las del estándar C o aquellas situadas por debajo de un valor inferior al del blanco + 0.150 unidades son nuevamente analizadas a diluciones diferentes para conseguir que sus valores se sitúen entre los límites establecidos por ambos. De igual forma se realiza la validación de la calidad de la prueba siguiendo las instrucciones del fabricante.

Todas las muestras (pacientes y controles) se analizan simultáneamente. Las determinaciones se realizan por duplicado y en dos ocasiones diferentes, desconociéndose el paciente originario de las mismas, el momento evolutivo en el que se obtuvo la muestra y los valores de actividad clínica correspondientes a ese momento. El fabricante aconseja la realización de las determinaciones de cada muestra por duplicado en la misma placa de ensayo. Se opta por realizar las determinaciones de la citada forma pero en dos ocasiones diferentes para disminuir el riesgo de falta de resultados en caso de errores en la realización de la técnica. El valor definitivo de los niveles para cada control se obtiene al calcular la media de los cuatro

valores obtenidos. Ninguna de las muestras descongeladas es vuelta a congelar tras realizarse el análisis.

**3.3.2.2.2. Determinación de otros parámetros bioquímicos de actividad.**

Las muestras de cada extracción son enviadas al laboratorio central del Hospital Clínic donde se procesan determinando los niveles de CPK, GOT, GPT, GGT, LDH, Aldolasa, C3 y C4. Los resultados de estas determinaciones son recuperadas y valorados por el investigador una vez realizadas las determinaciones de los niveles plasmáticos de SC5b-9 y C3a de cada muestra.

### **3.3.3. Métodos de análisis estadístico.**

#### **3.3.3.1. Metodología prevista para evaluación de resultados.**

La determinación de las concentraciones de PAC de las muestras de plasma es realizada una vez finalizado el seguimiento de todos los pacientes. Se introducen los valores obtenidos en la base de datos. Para ello se descodifica el código de cada muestra para identificar al paciente o control y visita a la que corresponde dicho valor y se incorpora en la base de datos con la información relativa a cada paciente y visita. Se recuperan los resultados de las determinaciones de parámetros bioquímicos solicitadas durante todo el seguimiento y se introducen igualmente en la base de datos junto al resto de datos correspondientes a cada visita.

Con toda la información relativa a cada paciente y visita se comienza la valoración de los resultados. Para ello se realiza:

1-Determinación de la media de niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 de pacientes con DM activas, DM inactivas y controles. Se valora la existencia de diferencias significativas entre las medias de los tres grupos comentados.

2-Determinación de la correlación de los niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 con la puntuación de actividad cutánea y muscular y global de cada paciente.

3-Comparación de dicha correlación con la obtenida entre los otros marcadores bioquímicos de actividad y las puntuaciones de actividad clínica del proceso.

4-Evaluación de la utilidad de la determinación puntual y seriada de C3a-desArg y SC5b-9 como predictores de la reagudización de la enfermedad. Valoración de la sensibilidad y especificidad de dichas determinaciones como indicadores de reagudización y comparación con el valor predictivo de reagudización de la valoración puntual o seriada de los marcadores bioquímicos de actividad tradicionales.

### **3.3.3.2. Metodología estadística aplicada.**

#### **3.3.3.2.1. Comparación medias de niveles plasmáticos entre DM activa, DM inactiva y sujetos controles.**

Por la dependencia de las observaciones de un mismo paciente en distintos puntos del tiempo (visitas) y el escaso número de observaciones realizadas en pacientes con DM inactiva se opta por utilizar un modelo lineal mixto con el grupo/actividad (controles, DM inactiva y DM activa), y la visita como efectos fijos y el paciente como efecto aleatorio. La inclusión de este efecto aleatorio permite tener en cuenta la posible dependencia de las observaciones realizadas en un mismo paciente.

Dado que las distribuciones de las variables (C3a y SC5b-9) son marcadamente asimétricas y con valores extremos, se realiza una transformación logarítmica. Por tanto, las variables analizadas en el modelo mixto son los logaritmos (naturales) de las variables originales.

#### **3.3.3.2.2. Valoración de la correlación entre niveles de PAC y otros marcadores bioquímicos de actividad con puntuaciones de actividad clínica de la enfermedad.**

Para cada paciente con DM del que se dispone de los datos relevantes en más de tres visitas, se calcula la correlación de Spearman entre las puntuaciones cutáneas, muscular y la suma de ambas, y los marcadores analíticos (C3a-desArg, SC5b-9, GOT, GPT, GGT, LDH, CPK, Aldolasa, VSG, C3 y C4)

Se realiza igualmente una estimación única de la correlación de Spearman a partir de los datos de todos los pacientes, ajustándolos por la media de cada paciente, con el objeto de eliminar el posible efecto paciente y por tanto la posible dependencia de los valores. Para ello, los valores observados de cada variable se expresan como desviación respecto de la media del paciente. Con estas desviaciones se estima la correlación de Spearman.

Se ha optado por calcular correlaciones de Spearman, en lugar de correlaciones de Pearson, debido a que muchos de los marcadores analíticos presentan distribuciones marcadamente asimétricas, con valores extremos en algunos casos.

### **3.3.3.2.3. Valoración de la utilidad de las determinaciones puntuales y/o seriadas de PAC en la predicción de reagudizaciones de la enfermedad.**

El escaso número de reagudizaciones identificadas en el seguimiento de los pacientes estudiados desaconseja realizar un análisis inferencial (pruebas de significación estadística) de la capacidad predictiva de los diferentes marcadores analíticos de actividad para predecir la actividad clínica. Se decide por ello realizar un análisis descriptivo, planteando hipótesis de trabajo a confirmar en estudios prospectivos de series más largas.

### **3.3.4. Resultados esperados.**

Esperamos comprobar:

- 1- La existencia de niveles plasmáticos superiores de los PAC evaluados en nuestro estudio (C3a-desArg y SC5b-9) en pacientes con DM activas con respecto a pacientes con enfermedad inactiva y controles.
- 2- La existencia de una correlación entre el grado de actividad clínica de la DM y los niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9.
- 3- Una correlación superior entre los niveles plasmáticos de estos productos y la actividad clínica en comparación a los marcadores bioquímicos de actividad tradicionalmente utilizados.
- 4- Que la elevación de niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 es un marcador predictor de reagudizaciones más efectivo que la variación en los niveles del resto de parámetros analíticos habitualmente utilizados.



## **4. RESULTADOS.**



#### **4.1. Evolución clínica de los pacientes y valores obtenidos.**

Durante el estudio se incluyeron a 16 pacientes que cumplían los criterios diagnósticos de DM y DM amioipática comentados anteriormente. Eran 10 mujeres y 6 varones con una edad media de 53 años (rango 24-82). La duración media de la enfermedad hasta el momento de ser incluidos en el estudio era de 15 meses (rango 0-96) (figura 6). Los pacientes fueron clasificados en DM idiopática del adulto (10 pacientes), DM idiopática juvenil (1 paciente), DM amioipática (2 pacientes), DM asociada a malignidad (2 pacientes) y DM asociada a conectivopatía (1 paciente). Todos los pacientes incluidos en el estudio a excepción de uno procedían de las Unidades de hospitalización y de Consulta Externa de los Servicios de Enfermedades Autoinmunes y Sistémicas, Medicina Interna o Dermatología del Hospital Clínic de Barcelona. Un solo paciente procedía del Servicio de Dermatología del Hospital General de Cataluña. Los pacientes fueron seguidos periódicamente con una media temporal entre visitas de 2.7 meses (rango 1.5-6). Se realizaron un total de 54 visitas control (105.5 pacientes-meses) con una media de 3.3 visitas/paciente (rango 1-7). En el momento de ser incluidos en el estudio la enfermedad se consideró activa clínicamente en 12 pacientes e inactiva en 4 (pacientes 2, 3, 6 y 10). Cuatro pacientes pasaron de actividad a inactividad durante el seguimiento (paciente 1 control nº 6; paciente 2 control nº 6; paciente 7 control nº 2 y 5, paciente 13 control nº 3).

**Figura 6: Pacientes incluidos en el estudio**

<i>Paciente</i>	<i>Sexo</i>	<i>Edad</i>	<i>Diagnóstico</i>	<i>Enfermedad activa/inactiva</i>	<i>Enfermedades asociadas</i>	<i>Número de visitas</i>
1	M	58	DMc	DMac	Tiroiditis autoinmune, Sd. Sjögren	6
2	M	54	DMm	DMi	Adenocarcinoma pulmonar	6
3	V	24	DMj	DMi	Dermatitis atópica	4
4	V	82	DMA	DMac	Bronquitis crónica	5
5	M	49	DMad	DMac		2
6	M	56	DMad	DMi		1
7	M	33	DMA	DMac	Dermatitis seborreica	5
8	M	75	DMad	DMac		7
9	M	28	DMad	DMac	Dermatitis seborreica	5
10	M	79	DMad	DMi		1
11	V	53	DMad	DMac		1
12	M	70	DMad	DMac		3
13	V	36	DMad	DMac	Dermatitis atópica	2
14	V	42	DMm	DMac	Carcinoma escamoso del seno piriforme	2
15	M	53	DMad	DMac		2
16	V	65	DMad	DMac		1

M(mujer), V(varón), DMad (DM del adulto), DMc (DM asociada a conectivopatía), DMm (DM asociada a malignidad), DMj (DM juvenil), DMA (DM amiopática), DMac (DM activa), DMi (DM inactiva).

#### 4.1.1. Evolución clínica individualizada:

##### 4.1.1.1. Paciente n° 1:

Paciente mujer de 58 años de edad, afecta de tiroiditis de Hashimoto y síndrome de Sjögren y diagnosticada de DM del adulto en mayo de 1996 (21 meses antes de su inclusión en el estudio). En el momento de la inclusión sigue tratamiento con Levothroid 1c/día y Azatioprina 50mg/día. Se realizan 6 visitas de control entre febrero de 1998 y abril de 1999 obteniéndose los siguientes datos de actividad clínica:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
26/2/1998	6	5	Azatioprina 50mg/d	DMac	
13/7/1998	5	3	Azatioprina 50mg/d	DMac	
14/9/1998	4	1	Azatioprina 50mg/d	DMac	Picadura avispa 15 días antes
23/11/1998	2	1	Azatioprina 50mg/d	DMac	
12/1/1999	1	1	Azatioprina 25mg/d	DMac	
13/4/1999	0	0	Prednisona 10mg/d Azatioprina 50 mg/d	DMi	

En el momento del diagnóstico y durante el seguimiento la paciente cumple los criterios de DM activa. En el último control la paciente se considera inactiva al no presentar datos de actividad clínica cutánea ni muscular.

Los resultados analíticos de la paciente en cada visita se representan en la siguiente tabla:

**Figura 7: Resultados analíticos paciente n° 1.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
26/02/1998	128,65	8,56	29	17	357	80	-	48	1,037	0,308
13/07/1998	114,75	17,52	14	14	405	90	4,3	40	0,966	0,274
14/09/1998	69,89	5,84	29	10	369	70	7,8	40	1,07	0,305
23/11/1998	84,49	5,06	27	18	382	72	-	31	1,01	0,289
12/01/1999	62,94	5,84	28	24	349	68	4	31	1,17	0,32
13/04/1999	49,03	2,34	25	19	341	68	3,4	27	1,04	0,3

#### **4.1.1.2. Paciente n° 2:**

Paciente mujer de 54 años de edad, diagnosticada de DM del adulto en julio de 1997. Fue intervenida de adenocarcinoma pulmonar en febrero de 1998 (DM asociada a malignidad) y en el momento de su inclusión en el estudio está en tratamiento con radioterapia. La paciente realiza 6 controles entre abril de 1998 y abril de 1999:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
27/4/1998	5	0	-	DMi	
9/7/1998	7	3	-	DMac	
15/9/1998	6	1	Prednisona 60mg/d Prednisona 30mg/d	DMac	Ingresada por brote DM tras control previo
24/11/1998	4	0	Prednisona 25mg/d	DMac	Empeoramiento lesiones cutáneas 1 mes antes, QT
1/2/1999	2	0	Prednisona 20mg/d	DMac	QT 15 días antes
27/4/1999	1	0	Prednisona 20mg/d	DMi	QT 1 mes antes, cuadro catarral

En el momento de la inclusión se considera la enfermedad inactiva dado que la paciente no presenta clínica muscular ni precisa de tratamiento inmunomodulador desde la intervención quirúrgica de su carcinoma pulmonar. Presenta únicamente lesiones cutáneas persistentes desde meses antes de su valoración inicial y que no han empeorado tras la suspensión del tratamiento. A partir de la segunda visita la paciente cumple los criterios de actividad establecidos en el estudio. Durante el seguimiento la paciente desarrolla 2 reagudizaciones clínicas. La primera coincide con la segunda visita al haber desarrollado debilidad muscular y aumentar su puntuación cutánea. A las 2 semanas de la segunda visita la paciente es ingresada en otra unidad hospitalaria por un brote de reagudización clínica con afectación cutánea y muscular severa, motivo por el cual inicia tratamiento con prednisona 60 mg/día. Coincidiendo con dicho ingreso se diagnostica diseminación metastásica pulmonar de la neoplasia primaria reiniciando la paciente el tratamiento quimio y radioterápico. La segunda reagudización no fue objetivada por el investigador sino referida por la paciente y valorada por su facultativo habitual como un empeoramiento de las lesiones cutáneas y la debilidad muscular entre la tercera y la cuarta visita de control. Ese empeoramiento motivó un incremento en la dosis diaria de prednisona de 15 a 30 mg/día. Entre la 5ª y sexta visita la paciente deja de cumplir los criterios de actividad al obtenerse una puntuación de actividad inferior a 2. Tras la sexta visita, y por un progresivo deterioro del estado general de la paciente

con desarrollo de metástasis óseas vertebrales causantes de incapacidad funcional, se decide excluir a la paciente de controles posteriores. La paciente fallece 6 meses después del último control.

En la tabla siguiente se presentan los resultados analíticos de la paciente en cada visita:

**Figura 8: Resultados analíticos paciente n° 2.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3g/l	C4 g/l
27/04/1998	59,81	10,12	31	25	401	260	-	30	0,92	0,332
09/07/1998	69,54	12,07	30	23	537	342	8,4	26	1,04	0,312
15/09/1998	62,94	3,5	19	30	437	89	7,3	17	-	-
24/11/1998	76,15	0,39	26	11	503	169	6,9	39	1,23	0,321
01/02/1999	53,55	7,4	24	27	456	118	4,3	86	1,14	0,353
27/04/1999	68,85	4,67	29	23	990	108	8,5	88	1,34	0,351

#### **4.1.1.3. Paciente n° 3:**

Paciente varón de 24 años de edad, afecto de dermatitis atópica desde la infancia y diagnosticado de DM juvenil 8 años antes. No realiza ningún tratamiento inmunomodulador desde hace 6. Se realizan 4 visitas de control desde su inclusión en el estudio en noviembre de 1998 hasta septiembre de 1999:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
16/11/1998	2	3	-	DMi	
1/2/1999	2	3	-	DMi	
27/4/1999	2	3	-	DMi	
7/9/1999	2	3	Prednisona 30mg/d	DMi	Pancolitis ulcerosa 1 mes antes

En el momento de la inclusión el paciente presenta debilidad muscular de cinturas pélvica y escapular asociada a atrofia de los grupos musculares propios y lesiones cutáneas residuales (fundamentalmente poiquilodermia). Tanto la clínica muscular como la cutánea persisten sin modificación desde la finalización del tratamiento 6 años antes. Por ello se considera al paciente como clínicamente inactivo. Durante todo el

seguimiento el paciente no presenta ningún signo clínico de reagudización clínica muscular ni cutánea. Entre la tercera y la cuarta visita, el paciente es ingresado al desarrollar una pancolitis ulcerosa motivo por el cual inicia tratamiento con prednisona oral.

Los resultados analíticos obtenidos en las sucesivas visitas fueron:

**Figura 9: Resultados analíticos paciente n° 3.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
16/11/1998	45,9	0,78	35	76	321	103	8,1	7	1,450	0,253
01/02/1999	48,68	1,95	51	89	329	92	7,2	9	1,390	0,28
27/04/1999	68,85	8,18	23	48	316	68	8,7	19	1,590	0,319
07/09/1999	114,75	38,93	29	80	362	82	7,2	-	1,370	0,229

#### **4.1.1.4. Paciente n° 4:**

Paciente varón de 82 años de edad, afecto de bronquitis crónica y con cuadro de lesiones cutáneas características de DM pero sin evidencia de afectación muscular desde 1996. En 1997 desarrolla elevación de enzimas musculares (CPK) y aldolasa pero sin evidencia de debilidad muscular y con biopsia muscular y EMG normales. Catalogado como DMA desde su inclusión en el estudio en noviembre de 1998 se le realizaron 5 visitas de control hasta septiembre de 1999:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
19/11/98	10	0	Prednisona 25mg/día	DMac	
16/02/99	7	0	Prednisona 15mg/día	DMac	Reagudización bronquitis aguda 10 días antes de visita
11/05/99	5	0	Prednisona 10mg/día	DMac	Cuadro catarral previo a visita. Fatigabilidad sin debilidad.
13/07/99	3	0	Prednisona 10mg/día	DMac	Cuadro respiratorio 6 días antes de visita
21/09/99	2	0	Prednisona 10mg/día	DMac	

El paciente es considerado afecto de DM activa dada la presencia de las lesiones cutáneas patognomónicas y características de la enfermedad y por estar en tratamiento con corticoides sistémicos durante todo el proceso de seguimiento. A partir de la tercera visita el paciente desarrolla fatigabilidad muscular de cinturas pélvicas y escapular, sin poderse evidenciar debilidad muscular a la exploración ni alteraciones en el desarrollo de las actividades cotidianas utilizando la escala de valoración comentada. Por ello no se diagnostica de reagudización al no cumplir los criterios de la misma. De forma periódica el paciente sufre reagudizaciones de su patología pulmonar, motivando la realización de diversos tratamientos antibióticos durante dicho periodo. Fue ingresado por un brote de reagudización de su bronquitis aguda 15 días antes de la segunda visita. La siguiente tabla presenta los valores analíticos obtenidos en cada visita:

**Figura 10: Resultados analíticos paciente n° 4.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
19/11/1998	78,07	52,17	18	23	380	33	7,2	26	1,16	0,215
16/02/1999	119,27	54,5	30	29	457	81	6,4	41	1,37	0,249
11/05/1999	109,18	53,72	19	21	429	57	4,4	31	-	-
13/07/1999	98,06	44,38	16	22	410	61	-	39	1,38	0,27
21/09/1999	72,67	54,5	18	23	382	64	4,5	24	1,36	0,241

#### **4.1.1.5. Paciente n° 5:**

Paciente mujer de 49 años diagnosticada de DM del adulto dos meses antes de ser incluida en el estudio. Se realizan dos controles desde su inclusión en el estudio en diciembre de 1998 hasta marzo de 1999. Dada la distancia entre su lugar de origen y nuestro centro la paciente rehúsa continuar en estudio:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
1/12/98	8	5	Prednisona 60mg/día	DMac	
16/03/99	5	19	Prednisona 55mg/día Azatioprina 100mg/día	DMac	Reagudización pocos días tras control previo

A los pocos días del primer control la paciente desarrolla reagudización clínica con empeoramiento de las lesiones cutáneas y de la debilidad muscular incluyendo disfagia. Es por ello ingresada en otro centro hospitalario de su ciudad de origen, donde es sometida a tratamiento con bolus parenterales de Metilprednisolona (1g/día x 3 días), pautándose Prednisona oral 90 mg/día asociado a Azatioprina 100mg/día como tratamiento ambulatorio.

Se exponen a continuación los valores analíticos obtenidos en cada visita:

**Figura 11: resultados analíticos paciente n° 5.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
01/12/1998	318,72	3,5	55	20	495	483	8	29	1,14	0,298
16/03/1999	69,89	8,95	32	21	529	61	5,4	25	1,24	0,294

#### **4.1.1.6. Paciente n° 6:**

Paciente mujer de 56 años de edad con diagnóstico de DM del adulto pero sin actividad de la enfermedad en los 3 años previos y en tratamiento con dosis de mantenimiento de Prednisona (2.5mg/día), Hidroxicloroquina (1/2c/día) y Metotrexate (2 comp./semana). La paciente es sometida a un único control dado la estabilidad a largo plazo del proceso:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
15/12/98	1	0	Prednisona 2.5mg/día Hidroxicloroquina 1/2c/día Metotrexate 2c/semana	DMi	

Las lesiones cutáneas presentadas por la paciente a pesar de ser patognomónicas son persistentes desde el diagnóstico de su enfermedad. Dada la ausencia de puntuación clínica significativa la paciente es considerada inactiva al no cumplir los criterios de clasificación de actividad comentados al principio del estudio. En las sucesivas visitas de control se obtuvieron los siguientes resultados analíticos:

**Figura 12: Resultados analíticos paciente n° 6.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
15/12/1998	44,51	2,34	24	20	337	59	4,8	18	1,300	0,322

**4.1.1.7. Paciente n° 7:**

Paciente mujer de 33 años de edad afecta de dermatitis seborreica, que cumple los criterios diagnósticos de DMA desde 15 meses antes de su inclusión en el estudio. Se realizan 5 visitas de control entre febrero de 1999 y junio del 2000:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/Dmi	Procesos intercurrentes
16/02/99	3	0	Prednisona 2.5mg/día	DMac	Cuadro viral 1 mes antes de visita. Mialgia con actividad
11/05/99	2	0	-	DMi	Mialgia con actividad muscular
07/09/99	4	0	Clobetasol tópico	DMac	Mialgia espontánea
23/11/99	10	0	-	DMac	3 semanas tras control previo, empeoramiento clínica cutánea
06/06/00	0	0	Prednisona 10mg/día	DMi	Embarazada 10 semanas

En el momento de ser incluida en el estudio la paciente presenta lesiones cutáneas características y está en tratamiento con dosis decrecientes de Prednisona, por lo cual se la considera clínicamente activa. En el control posterior la paciente presenta lesiones cutáneas residuales no precisando de tratamiento corticoideo, motivo por el cual se la considera clínicamente inactiva. Posteriormente vuelven a empeorar las lesiones cutáneas, precisando de tratamiento corticoideo tópico, y aparece clínica de mialgias, inicialmente asociadas al ejercicio pero progresando hasta presentarse incluso en reposo. Se establece en este punto un diagnóstico de reagudización. Tres semanas tras el tercer control la paciente es ingresada en la Unidad de Enfermedades Autoinmunes por un agravamiento de las lesiones cutáneas asociado a mal estado general y empeoramiento de las mialgias. No se pueden objetivar afectación muscular histológica ni electromiográfica, motivo por el cual se mantiene el diagnóstico de DMA. La paciente es sometida a tratamiento con Prednisona 60mg/día reduciéndose las dosis de forma progresiva hasta alcanzar los 10mg/día que lleva pautados en la última visita de

control. La ausencia de evidencia de actividad clínica del proceso en esta visita determina la reclasificación de la paciente en clínicamente inactiva.

**Figura 13: Resultados analíticos paciente n° 7.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
16/02/1999	43,12	41,27	22	21	319	59	4,8	16	0,926	0,201
11/05/1999	41,03	23,75	14	20	288	59	3,7	12	0,883	0,195
07/09/1999	46,25	34,91	16	26	304	55	5	-	1,04	0,23
23/11/1999	47,64	48,27	33	43	504	56	7,2	16	0,991	0,229
06/03/2000	61,55	21,41	15	21	336	35	9,6	29	-	0,274

#### **4.1.1.8. Paciente n° 8**

Paciente mujer de 75 años de edad, diagnosticada de DM del adulto 4 meses antes de su inclusión en el estudio. Desde marzo de 1999 hasta abril del 2000 se le practican 7 visitas de control:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
01/03/99	9	18	Prednisona 60mg/día	DMac	
20/04/99	6	8	Prednisona 50mg/día	DMac	
18/05/99	3	6	Prednisona 30mg/día	DMac	
13/07/99	2	2	Prednisona 20mg/día	DMac	Cuadro viral 7 días antes
07/09/99	2	0	Prednisona 15mg/día	DMac	
09/11/99	6	2	Prednisona 25mg/día	DMac	Ingresada el 21/10/99 por empeoramiento clínica cutánea con erosiones
25/04/00	2	0	Prednisona 10mg/día	DMac	

La paciente se considera como clínicamente activa desde su inclusión hasta el final del seguimiento. Entre la quinta y la sexta visitas desarrolla un empeoramiento de la clínica cutánea con generalización de las lesiones y aparición de elementos erosivos, pero sin aparente empeoramiento de la actividad muscular. Se incrementa la dosis de Prednisona

durante su ingreso. Por ello se considera que la paciente ha desarrollado una reagudización clínica entre dichas visitas.

Los valores analíticos para cada una de las visitas:

**Figura 14: Resultados analíticos paciente n° 8.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	SC5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
01/03/1999	177,04	61,12	134	68	1188	769	12	39	1,1	0,214
20/04/1999	85,54	52,94	31	25	554	70	5,9	8	1,2	0,199
18/05/1999	74,76	44,38	24	22	498	73	5,5	-	1,37	0,21
13/07/1999	11,47	43,6	27	25	493	97	6,8	13	1,28	0,202
07/09/1999	77,89	39,32	28	19	549	124	5,3	6	1,35	0,213
09/11/1999	70,93	30,75	29	19	496	97	5,1	9	1,25	0,198
25/04/2000	55,63	18,3	25	19	539	205	7,7	15	1,09	0,184

#### **4.1.1.9. Paciente n° 9:**

Paciente mujer de 28 años, afecta de dermatitis seborreica y diagnosticada de DM del adulto 1 mes antes de su inclusión en el estudio. Entre julio de 1999 y julio del 2000 se realizan cinco controles:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
20/07/99	8	18	Prednisona 60mg/día	DMac	Afectación pulmonar clínica y radiológica
07/09/99	4	6	Prednisona 60mg/día	DMac	Mejoría afectación pulmonar
26/10/99	6	13	Prednisona 60mg/día	DMac	1 semana tras control anterior empeora clínica cutánea. Empeora afectación pulmonar (TAC). Ciclofosfamida bolus
16/05/99	2	34	Prednisona 10mg/día Ciclofosfamida 2c/día	DMac	Ciclofosfamida bolus (Oct.;Nov.;Dic.). Debilidad muscular por atrofia muscular Mejoría afectación pulmonar
18/07/00	1	34	Prednisona 7.5mg/día Ciclofosfamida 2c/día	DMac	Mejoría afectación pulmonar

La paciente se considera clínicamente activa durante todo el seguimiento del estudio. Tras mejorar clínicamente en los primeros controles la paciente desarrolla entre la segunda y tercera visitas, un empeoramiento de las lesiones cutáneas y de la fuerza muscular, así como de la función pulmonar clínica y radiológica (TAC). La paciente es por ello ingresada, modificándose la pauta de tratamiento inmunomodulador (Ciclofosfamida 1 bolus endovenoso (3 días antes del tercer control)) y Ciclofosfamida oral (2c/día) de mantenimiento. Se considera que la paciente ha desarrollado una reagudización entre las visitas 2 y 3. En los meses posteriores se le administran otros tres bolus de ciclofosfamida (octubre 1999, noviembre 1999 y diciembre 1999). Entre las visitas 3 y 4 se evidencia una mejoría de la afectación pulmonar clínica y radiológica, así como de la actividad cutánea de la enfermedad. La puntuación de actividad muscular no obstante empeora, objetivándose cambios atribuidos por el facultativo responsable a atrofia muscular o miopatía esteroidea. No se procede a aumento de dosificación o cambio en los fármaco inmunomoduladores utilizados, por lo cual no se diagnóstica brote de reagudización clínica.

**Figura 15: Resultados analíticos paciente nº 9.**

<b>FECHA VALORACIÓN</b>	<b>C3a ng/ml</b>	<b>C5b-9 ng/ml</b>	<b>GOT UI/L</b>	<b>GPT UI/L</b>	<b>LDH UI/L</b>	<b>CPK UI/L</b>	<b>ALDOLASA g/l</b>	<b>VSG mm/h</b>	<b>C3 g/l</b>	<b>C4 g/l</b>
<b>20/07/1999</b>	199,84	110,17	357	177	740	93	13,1	18	1,14	0,213
<b>07/09/1999</b>	847,43	798,98	105	74	699	47	12,3	36	1,28	0,156
<b>26/10/1999</b>	155,07	72,41	110	90	658	40	11,2	36	1,48	0,182
<b>16/05/2000</b>	91,1	64,62	19	22	312	30	7,7	19	1,18	0,234
<b>18/07/2000</b>	118,22	32,7	20	18	402	48	7,4	11	1,16	0,179

#### **4.1.1.10. Paciente n° 10:**

Paciente mujer de 79 años de edad, diagnosticada de DM del adulto 6 meses antes de su inclusión en el estudio. Tras realizarse un control la paciente decide no continuar el seguimiento protocolizado en el estudio:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
20/07/99	1	2	-	DMi	

La paciente está prácticamente asintomática desde tres meses antes de realizarse el control y a pesar del corto espacio de tiempo transcurrido desde el diagnóstico no realiza, por iniciativa propia, tratamiento inmunomodulador. La ausencia de tratamiento en el momento de su valoración motiva que, atendiendo a los criterios de clasificación establecidos, se la considera inactiva. En las sucesivas visitas se obtuvieron los siguientes valores analítico

**Figura 16: Resultados analíticos paciente n° 10.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
20/07/1999	36,51	15,57	4	13	505	33	11,8	21	1,130	0,225

#### **4.1.1.11. Paciente n° 11:**

Paciente varón de 53 años diagnosticado de DM del adulto en el momento de su inclusión en el estudio a raíz de cuadro de lesiones cutáneas y debilidad de cinturas pélvica y escapulares de dos meses de evolución. Tras realizarse un control el paciente no continúa el estudio:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
21/09/99	2	2	Prednisona 60mg/día	DMac	

Los resultados analíticos correspondientes a la citada visita fueron:

**Figura 17: Resultados analíticos paciente n° 11.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
21/09/1999	209,12	18,69	44	72	366	34	7,5		1.280	0,428

**4.1.1.12. Paciente n° 12:**

Paciente mujer de 70 años de edad diagnosticada de DM del adulto en el momento de su inclusión en el estudio, a raíz de cuadro de lesiones cutáneas características presentes desde cinco meses antes y asociadas a debilidad y mialgias de cinturas escapulares y pélvica en las cuatro semanas previas al diagnóstico. Entre octubre de 1999 y mayo del 2000 se le realizan tres controles:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
26/10/99	6	8	Prednisona 60mg/día	DMac	
30/01/99	4	2	Prednisona 60mg/día	DMac	
23/05/99	2	0	Prednisona 30mg/día	DMac	

Desde el momento del diagnóstico y durante todo el estudio se considera a la paciente clínicamente activa por presentar lesiones cutáneas persistentes y/o clínica de afectación muscular, precisando de dosis elevadas de corticoides.

Se presentan a continuación los valores analíticos de las sucesivas visitas:

**Figura 18: Resultados analíticos paciente n° 12.**

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
26/10/1999	128,65	13,12	22	53	394	23	6,2	9	1,127	0,182
30/11/1999	58,76	4,63	29	30	423	48	9,2	15	1,06	0,19
23/05/2000	44,16	4,44	15	27	447	18	6,8	12	1	0,187

#### **4.1.1.13. Paciente n° 13:**

Paciente varón de 36 años con antecedente de dermatitis atópica, que inicia cuadro de fatigabilidad muscular en Octubre de 1998. En enero de 1999 desarrolla mialgia y debilidad muscular de cinturas pélvicas y escapulares y lesiones cutáneas características. Realizadas las exploraciones complementarias que confirman los criterios diagnósticos de DM del adulto inicia tratamiento con corticoides sistémicos. Seis meses antes de su inclusión en el estudio desarrolla reagudización de la clínica muscular y cutánea aumentándose las dosis de Prednisona oral a 60mg/día 3 semanas antes de iniciarse los controles. Desde febrero hasta Julio del 2000 se realizan 3 controles:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
29/02/00	2	3	Prednisona 60mg/día	DMac	
09/05/00	1	1	Prednisona 20mg/día	DMac	Sobreinfección lesión codo 1 mes antes
18/07/00	1	0	Prednisona 20mg/día	DMi	Mialgia a grandes esfuerzos, no debilidad

El paciente se considera clínicamente activo hasta la última visita de control. Se objetiva una progresiva mejoría tanto de las lesiones cutáneas como de la clínica muscular. En el último control persisten exclusivamente lesiones cutáneas residuales y mialgias a grandes esfuerzos como única clínica muscular. La puntuación de actividad obtenida en esta visita determina su clasificación como paciente con enfermedad inactiva.

La siguiente figura contiene los valores analíticos correspondientes a cada una de las visitas practicadas al paciente:

***Figura 19: Resultados analíticos paciente n° 13.***

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
29/02/2000	100,49	8,56	24	46	338	46	7,9	14	-	-
09/05/2000	64,33	4,28	29	49	423	116	9,7	11	0,988	0,281
18/07/2000	44,51	2,34	30	48	417	73	7,9	12	-	-

#### **4.1.1.14. Paciente n° 14:**

Paciente varón de 42 años de edad, con cuadro de lesiones cutáneas características de tres meses de evolución y debilidad muscular de cinturas pélvica y escapulares desde una semana antes de su inclusión en el estudio. El paciente refiere igualmente clínica de disfagia durante los últimos meses. Las exploraciones complementarias practicadas permiten identificar un carcinoma escamoso del seno piriforme y confirmar el diagnóstico de DM asociada a malignidad. Desde su inclusión en el estudio en mayo del 2000 hasta noviembre del mismo año, el paciente se somete a dos controles:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
02/05/00	8	16	Prednisona 80mg/día	DMac	
14/11/00	3	12	Prednisona 30mg/día AINES	DMac	Radioterapia 1 mes antes de control

En el proceso de seguimiento del paciente, éste desarrolla metástasis óseas siendo sometido a tratamiento con radioterapia y antiinflamatorios orales. Durante todo el seguimiento y a pesar de la mejoría progresiva de la sintomatología, persiste clínica cutánea y muscular, precisando de tratamiento con corticoides sistémicos, por lo cual se le considera clínicamente activo.

***Figura 20: Resultados analíticos paciente n° 14.***

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml*	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
02/05/2000	124,83	34,65	89	44	539	1149	16,7	22	0,903	0,147
14/11/2000	61,2	2,34	22	40	550	22	10,4	38	1,450	0,196

#### **4.1.1.15. Paciente n° 15:**

Paciente mujer de 53 años diagnosticada de DM del adulto en el momento de su inclusión en el estudio, por cuadro de lesiones cutáneas características y debilidad muscular proximal de un mes de evolución. Desde su inclusión en el estudio en noviembre del 2000 hasta enero del 2001 se realizan dos controles evolutivos:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
03/11/00	9	18	Prednisona 60mg/día	DMac	
09/01/01	6	12	Prednisona 50mg/día Cloxacilina 500mg/8h	DMac	Sobreinfección lesiones calcicosis cutis 15 días antes de control

En los dos controles practicados, la paciente cumple los criterios de actividad clínica, si bien se objetiva una mejoría tanto objetiva como subjetiva en los parámetros de actividad de la enfermedad. Cinco días antes del segundo control la paciente inicia tratamiento con Cloxacilina oral por sobreinfección de lesiones de calcicosis cutis.

En la figura siguiente se representan los valores analíticos obtenidos:

***Figura 21: Resultados analíticos paciente n° 15.***

FECHA VALORACIÓN	C3a ng/ml	C5b-9 ng/ml	GOT UI/L	GPT UI/L	LDH UI/L	CPK UI/L	ALDOLASA g/l	VSG mm/h	C3 g/l	C4 g/l
03/11/2000	100,14	5,45	267	169	1414	9028	52	15	1,490	0,401
09/01/2001	81,71	30,75	21	35	716	89	8,1	39	0,993	0,29

#### **4.1.1.16. Paciente n° 16:**

Paciente varón de 56 años diagnosticado de DM del adulto en el momento de su inclusión en el estudio, por cuadro de lesiones cutáneas características y debilidad muscular proximal progresiva de cuatro meses de evolución. El paciente es sometido a un solo control, declinando controles posteriores por residir a distancia de nuestro centro hospitalario:

Fecha valoración	Actividad Cutánea	Actividad Muscular	Medicación	DMac/DMi	Procesos intercurrentes
10/01/01	6	7	Prednisona 80mg/día	DMac	

Los valores analíticos obtenidos en la visita practicada fueron:

***Figura 22: Resultados analíticos paciente n° 16.***

<b><i>FECHA VALORACIÓN</i></b>	<b><i>C3a ng/ml</i></b>	<b><i>SC5b-9 ng/ml</i></b>
<b><i>10/01/2001</i></b>	71,56	23,98

#### 4.2. Controles.

El grupo control lo constituyeron, como se ha comentado anteriormente, 34 individuos sanos, 24 mujeres y 10 hombres, donantes del banco de sangre. La edad media de los controles fue de 45 años, con un rango de edades de 19-65.

En los controles se determinan exclusivamente los niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9.

*Figura 23: Resultados analíticos controles*

<b>Paciente control</b>	<b>C3a ng/ml</b>	<b>C5b-9m ng/ml</b>
1	60,15	35,43
2	50,07	19,46
3	60,5	15,18
4	55,98	2,73
5	80,67	<2,34
6	103,62	5,06
7	34,42	<2,34
8	50,07	<2,34
9	65,02	<2,34
10	66,41	29,59
11	52,51	<2,34
12	49,72	4,67
13	61,89	<2,34
14	37,21	4,28
15	28,16	<2,34
16	37,9	2,73
17	37,55	<2,34
18	34,77	4,28
19	55,63	<2,34
20	45,2	2,73
21	36,51	3,11
22	42,07	3,89
23	53,2	4,67

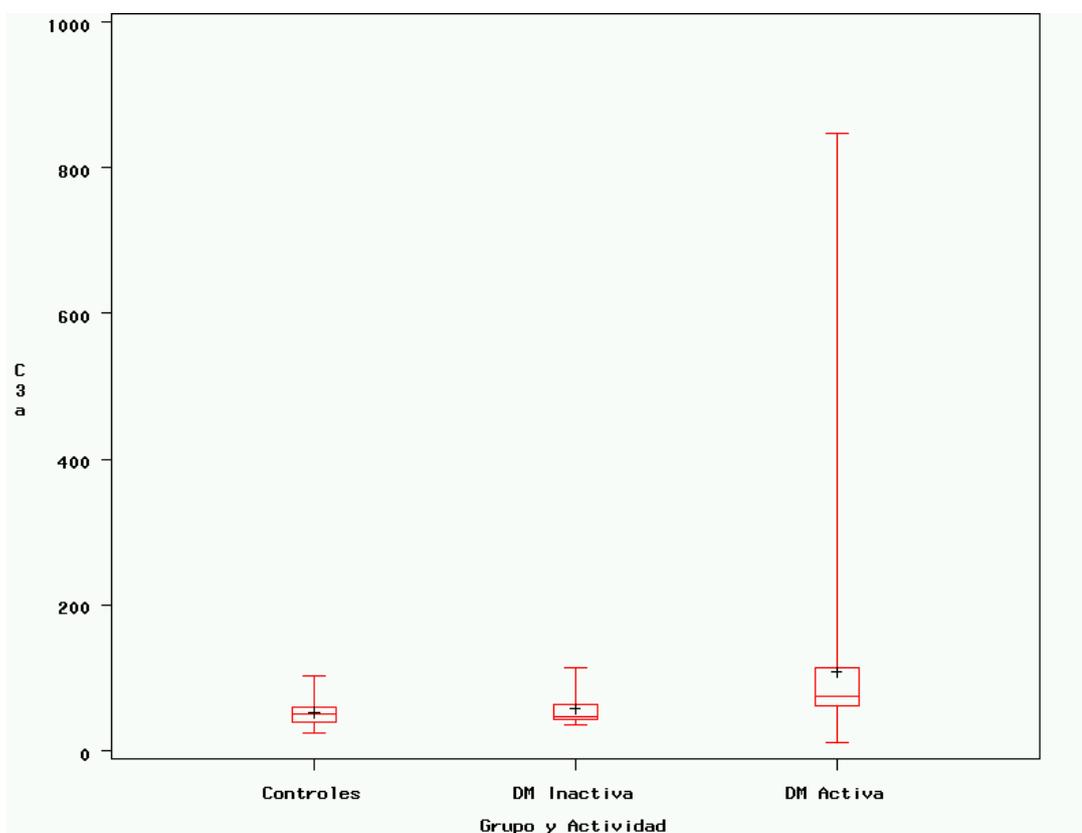
<b>24</b>	68,85	3,11
<b>25</b>	62,24	8,56
<b>26</b>	42,07	2,73
<b>27</b>	39,29	5,84
<b>28</b>	50,42	4,67
<b>29</b>	58,42	3,89
<b>30</b>	23,99	4,67
<b>31</b>	46,59	5,06
<b>32</b>	58,76	18,69
<b>33</b>	80,32	2,73

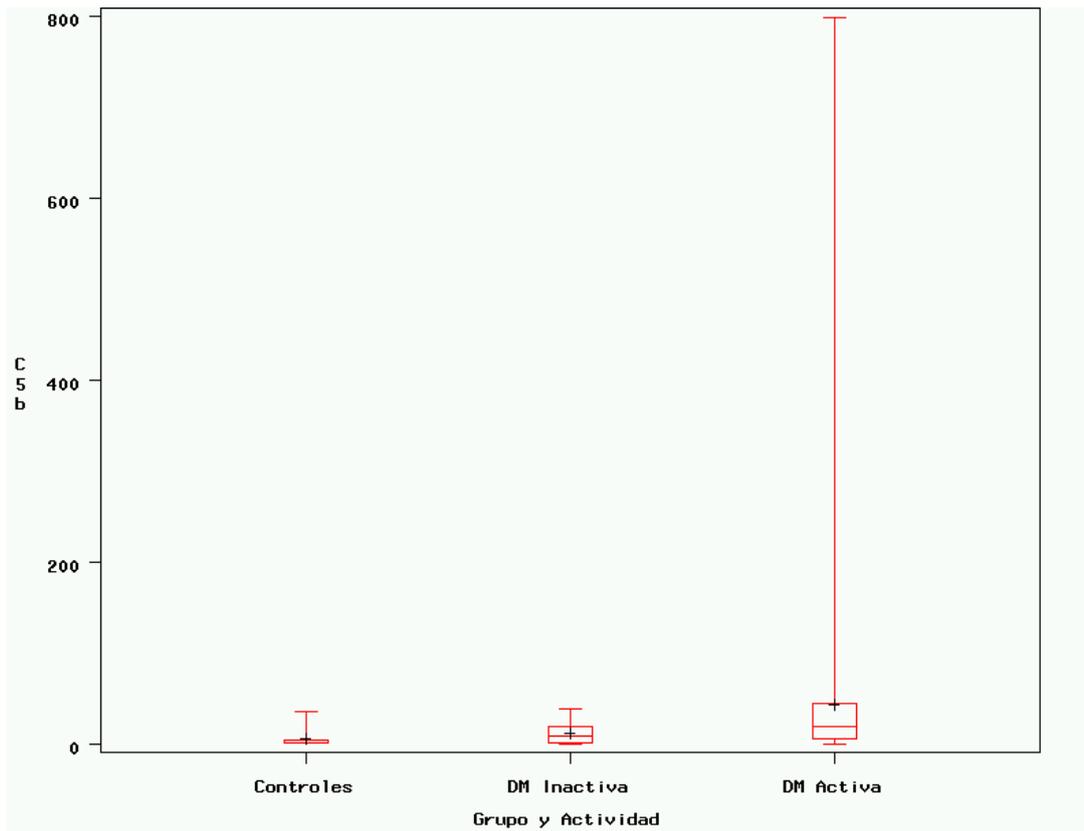
**4.3. Comparación de niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 de pacientes con DM activa, inactiva y controles.**

Los valores de las medias medianas y desviaciones estándar (DS) de C3a-desArg y SC5b-9 en los diferentes grupos considerados (Controles, DM activa y DM inactiva) fueron los siguientes:

		Mediana	Media	DS
Controles	C3a	50,42	52,43	16,46
	SC5b-9	3,89	6,63	8,01
DM inactiva	C3a	47,29	57,50	25,36
	SC5b-9	9,15	12,70	13,15
DM activa	C3a	75,45	107,81	123,40
	SC5b-9	20,05	43,76	116,38

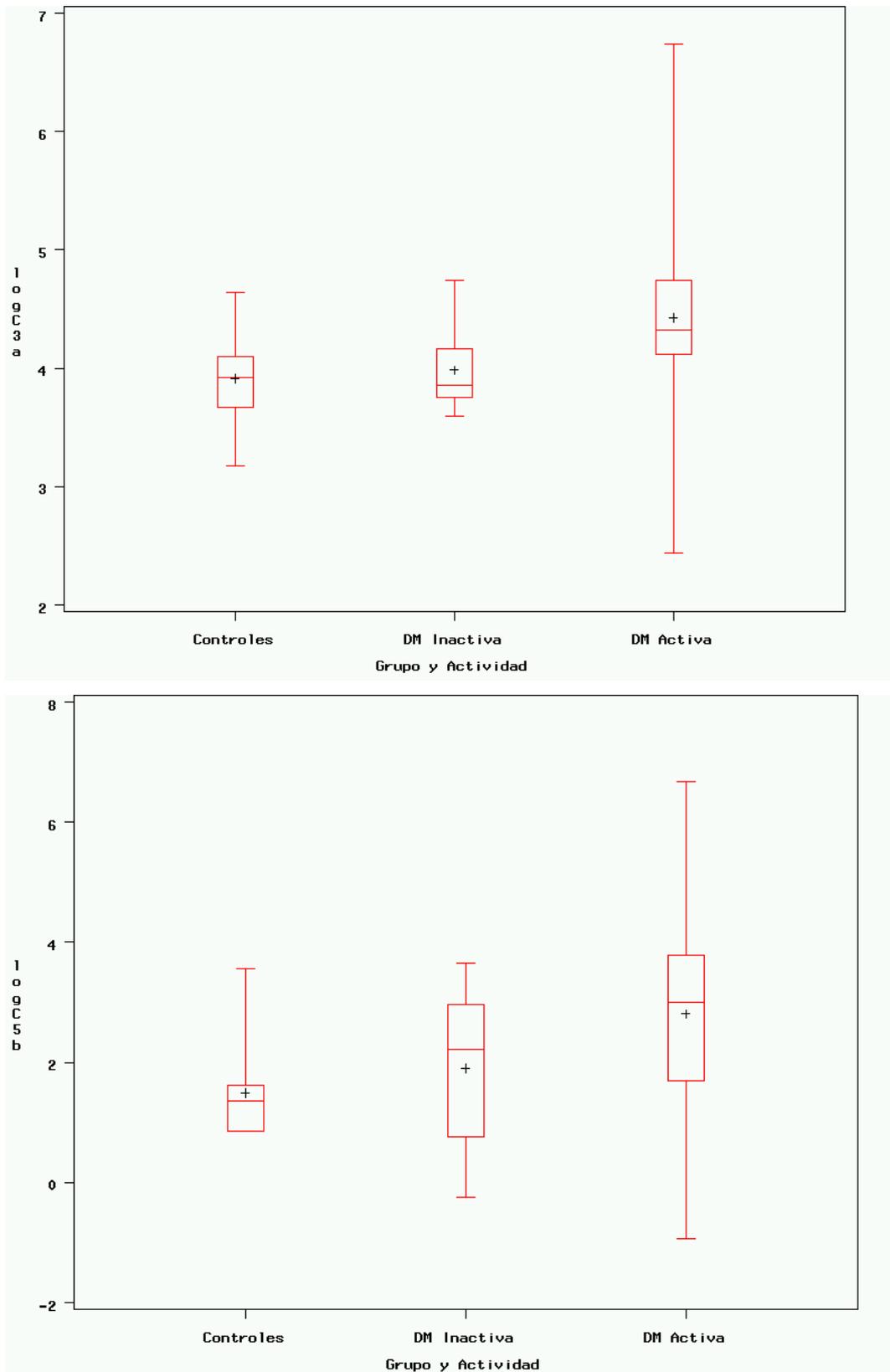
**Figura 24: Distribución de valores de C3a-desArg(C3a) y SC5b-9 (C5b) por grupos de pacientes**





Como se puede observar la distribución de las variables C3a-desArg y SC5b-9 es marcadamente asimétrica y con valores extremos. Con una transformación logarítmica (logaritmos naturales) las distribuciones son razonablemente simétricas (figura 25), aplicándose tras ello el método de análisis (modelo mixto) antes descrito.

**Figura 25: Transformación logarítmica de los valores de C3a-desArg (logC3a) y SC5b-9 (logC5b).**



#### **4.3.1. Comparación de niveles plasmáticos de C3a-desArg de pacientes con DM activa, inactiva y controles.**

En el análisis realizado con el logaritmo natural de C3a-desArg se detectan diferencias significativas entre las medias de los controles y pacientes con DM activa ( $p < 0.0001$ ) y entre pacientes con DM activa y DM inactiva ( $p = 0,0066$ ). No obstante no se hallan diferencias significativas entre controles y DM inactiva ( $p = 0,4197$ ). Las estimaciones de la diferencia de medias y su intervalo de confianza del 95% fueron:

1. Entre controles y DM activa: -0,7461 (-1,0283 a -0,4639)
2. Entre DM activa y DM inactiva: 0,5784 (0,1669 a 0,9899)

#### **4.3.2. Comparación de niveles plasmáticos de SC5b-9 de pacientes con DM activa, inactiva y controles.**

En el análisis realizado con el logaritmo natural de SC5b-9 sólo resulta significativa la comparación de los controles con los valores de pacientes con DM activa ( $p = 0,0002$ ). La diferencia de medias entre ambos grupos se estima en 1,3160 (-1,9846 a -0,6475). La comparación entre DM activa e inactiva y entre DM inactiva y controles no fue significativa.

#### **4.3.3. Niveles de C3a-desArg y SC5b-9 como marcadores de enfermedad activa.**

Dado que se dispone de tan solo 8 observaciones en pacientes con DM inactiva, y dada la dependencia de las observaciones de un mismo paciente, se considera que a pesar de hallarse diferencias significativas entre pacientes con DM activa y DM inactiva no es factible estimar, con una precisión razonable, la sensibilidad y la especificidad de C3a-desArg o SC5b-9 como marcadores de actividad.

#### **4.4. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9. Comparación con otros marcadores de actividad.**

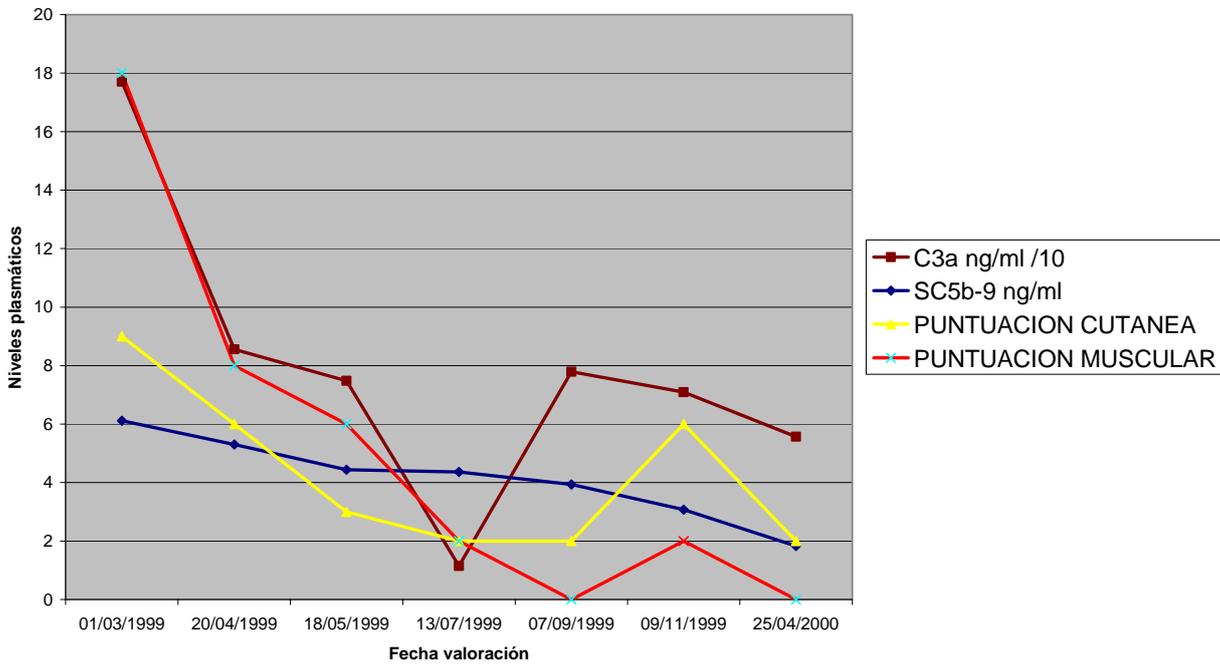
##### **4.4.1. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 individualizados por paciente. Comparación con otros marcadores de actividad.**

Para permitir una valoración visual del grado de correlación entre los niveles de los diferentes parámetros analíticos y el grado de actividad clínica del proceso elaboramos unas gráficas en las que representamos tras aplicar una corrección para su valoración simultánea, las variaciones en los diferentes parámetros evaluados (C3a-desArg y SC5b-9 por un lado y el resto de parámetros analíticos por el otro) con las variaciones de las puntuaciones cutáneas y muscular de cada paciente (figuras 26-37 (Anexo) figura 32 como ejemplo). Estas gráficas carecen de valor estadístico y sólo se realizaron para ilustrar y representar gráficamente esta correlación.

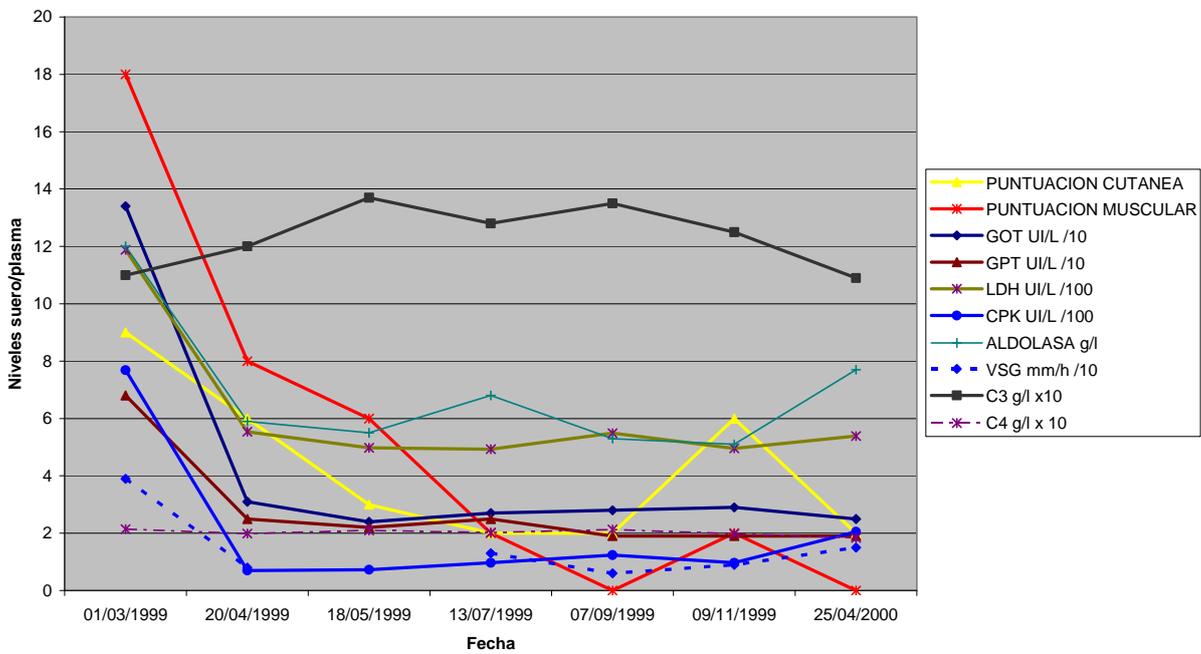
Para establecer la correlación entre los parámetros clínicos y analíticos comentados seleccionamos aquellos pacientes con más de tres determinaciones con datos relevantes disponibles (pacientes nº 1, 2, 3, 4, 7, 8 y 9). Las correlaciones intrapaciente entre las puntuaciones cutánea, muscular y global, y los marcadores analíticos de cada uno de los pacientes se representan gráficamente (figuras 38-44, Anexo).

**Figura 32: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 8.**

**Actividad clínica-C3a/SC5b-9**



**Actividad clínica-marcadores bioquímicos de actividad**

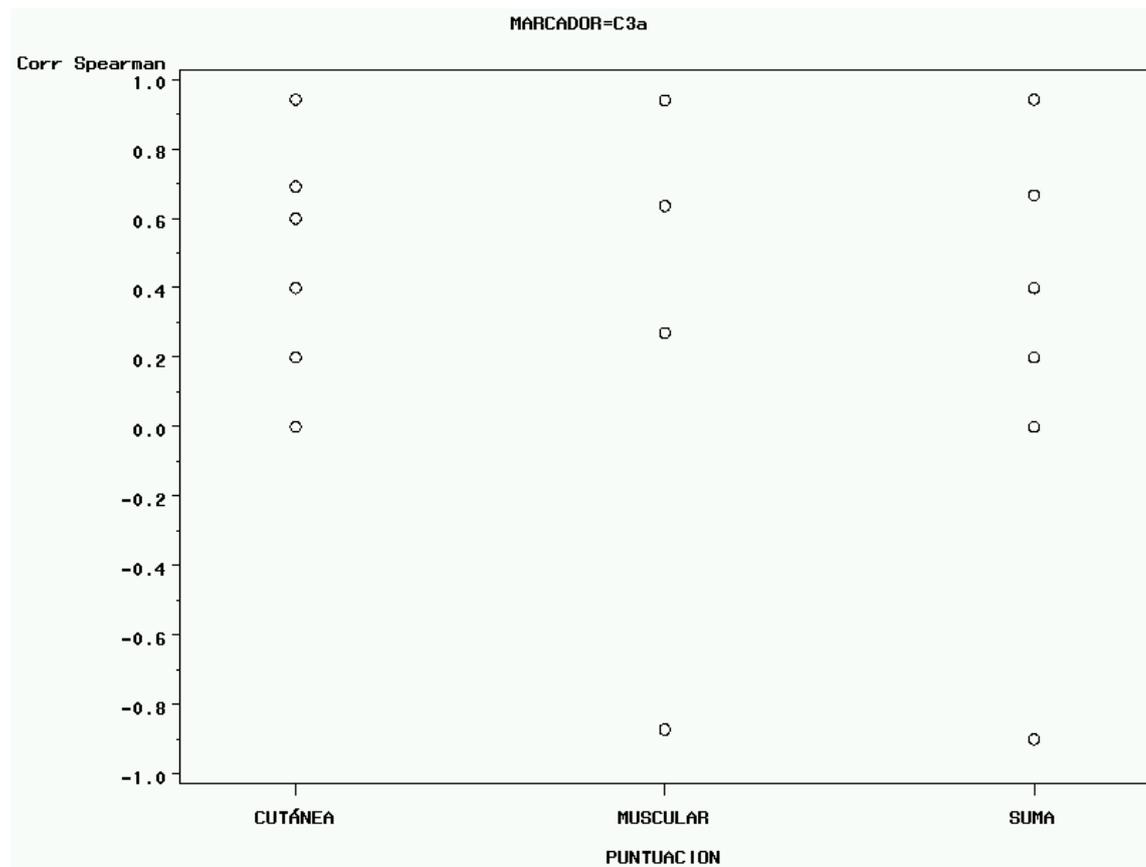


4.4.1.1. Correlación entre actividad cutánea muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-des Arg y SC5b-9 por paciente.

4.4.1.1.1. Correlación entre niveles de C3a-desArg con parámetros de actividad clínica por paciente.

Las correlaciones entre niveles plasmáticos de C3a-desArg y las puntuaciones de actividad cutánea, muscular y global se representan en la figura 45:

**Figura 45: Correlación niveles plasmáticos de C3a-desArg y puntuaciones clínicas.**



Observamos como los coeficientes de correlaciones entre C3a-desArg y las puntuaciones cutáneas fueron positivos en todos los pacientes excepto en el n° 7 en que el valor de dicho coeficiente fue nulo.

En lo referente a la correlación con la puntuación muscular los valores obtenidos fueron positivos en todos los pacientes excepto en el paciente n° 9 en el cual fue negativa. La correlación no fue estimable en los pacientes n° 4 y 7.

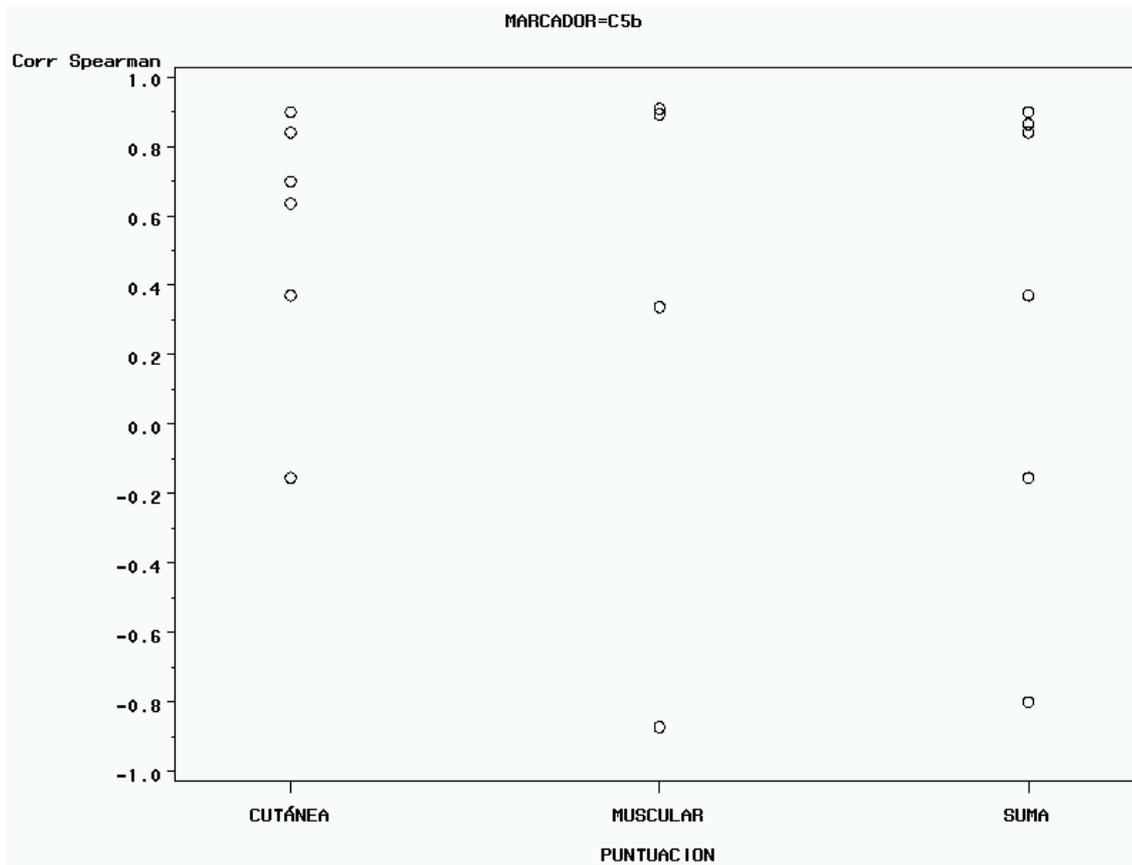
En el paciente n° 3 la correlación entre los parámetros de actividad clínica y C3a-desArg no fue estimable.

Por lo general se observa una gran dispersión en la distribución de los valores de correlación entre los parámetros de actividad y los niveles de C3a-desArg en los diferentes pacientes.

**4.4.1.1.2. Correlación entre niveles de SC5b-9 con parámetros de actividad clínica por paciente.**

Las correlaciones entre niveles plasmáticos de SC5b-9 y las puntuaciones de actividad cutánea, muscular y global se representan en la figura 46:

**Figura 46: Correlación entre niveles plasmáticos de SC5b-9 y puntuaciones clínicas.**



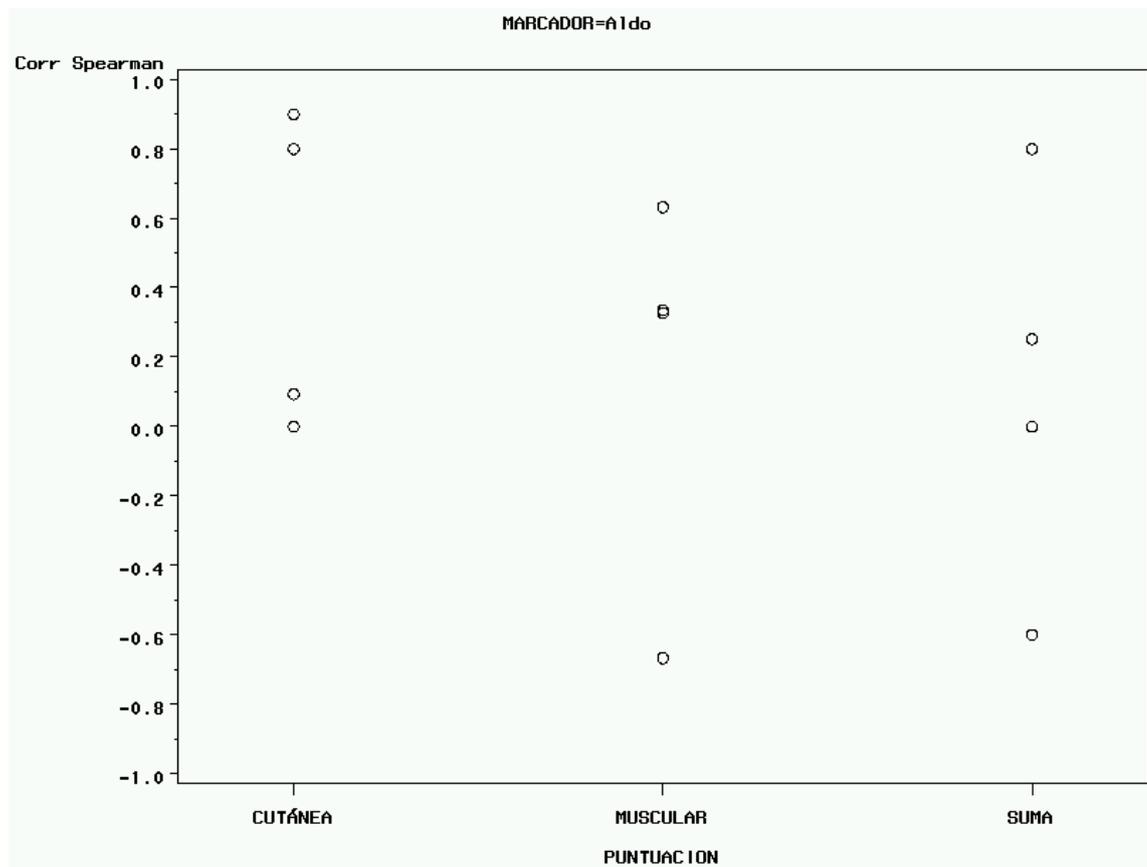
Observamos como los coeficientes de correlación entre SC5b-9 y puntuaciones cutáneas fueron positivos en todos los pacientes excepto en uno (paciente nº 4), con cierta tendencia a presentar valores elevados (por encima de 0,5). En el caso de la puntuación muscular las correlaciones fueron positivas excepto en el paciente nº 9, con valores igualmente elevados y no se pudieron estimar en los pacientes nº 4 y 7. Al igual que con C3a-desArg, se observa una gran dispersión en la distribución de los valores de correlación en los diferentes pacientes, no siendo estimable en el paciente nº 3.

**4.4.2. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y otros marcadores de actividad por paciente.**

**4.4.2.1. Correlación entre actividad clínica y niveles de Aldolasa.**

Las correlaciones intrapacientes entre parámetros clínicos y niveles de Aldolasa se representan en la figura 47:

**Figura 47: Correlación entre niveles de Aldolasa y puntuaciones clínicas.**



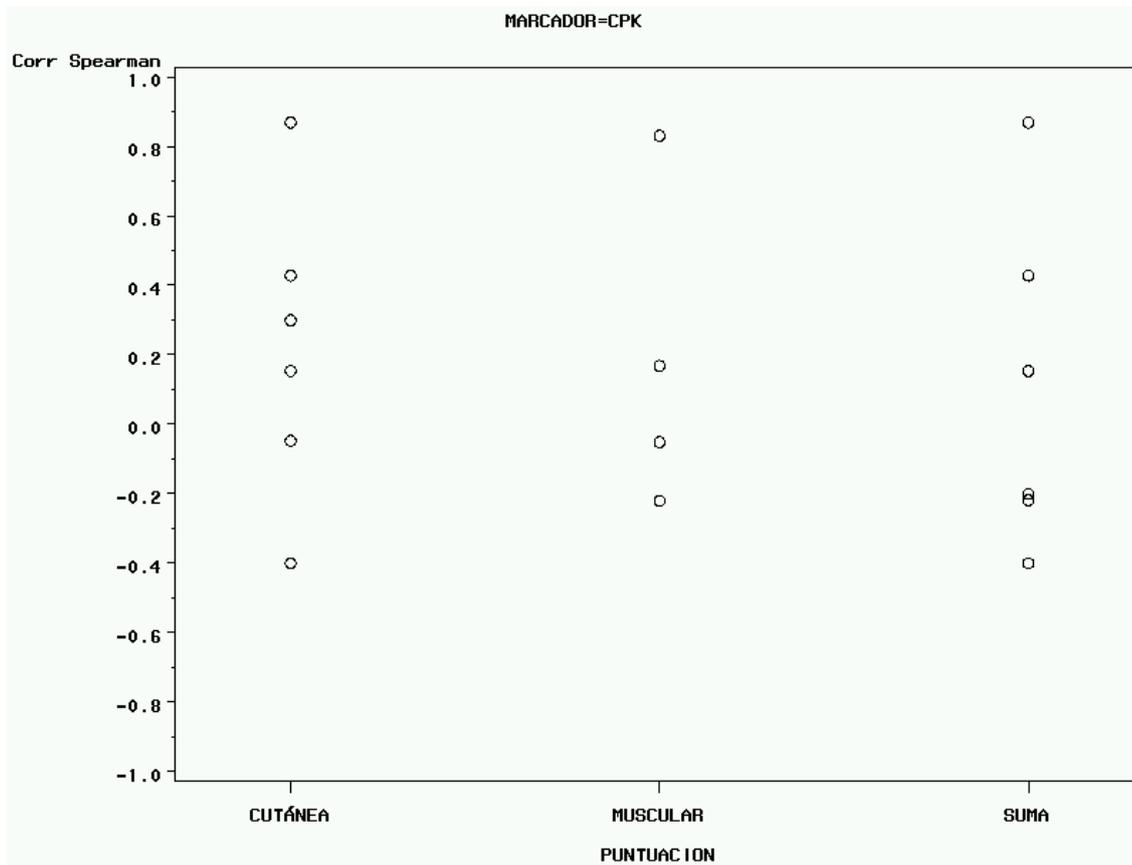
Observamos que las correlaciones con la puntuación cutánea son siempre positivas con valores en todo el rango (0-1). En el caso de la puntuación muscular la correlación fue siempre positiva y con la tendencia a presentar valores elevados excepto en el paciente nº 9 y no fue estimable en los pacientes 4 y 7.

En el paciente nº 3 no se pudo estimar correlación con los parámetros de actividad clínica.

**4.4.2.2. Correlación entre actividad clínica y niveles de CPK.**

La correlación intrapaciente entre niveles de CPK y puntuaciones de actividad de la enfermedad se representan en la figura 48:

**Figura 48: Correlación entre niveles plasmáticos de CPK y puntuaciones clínicas.**

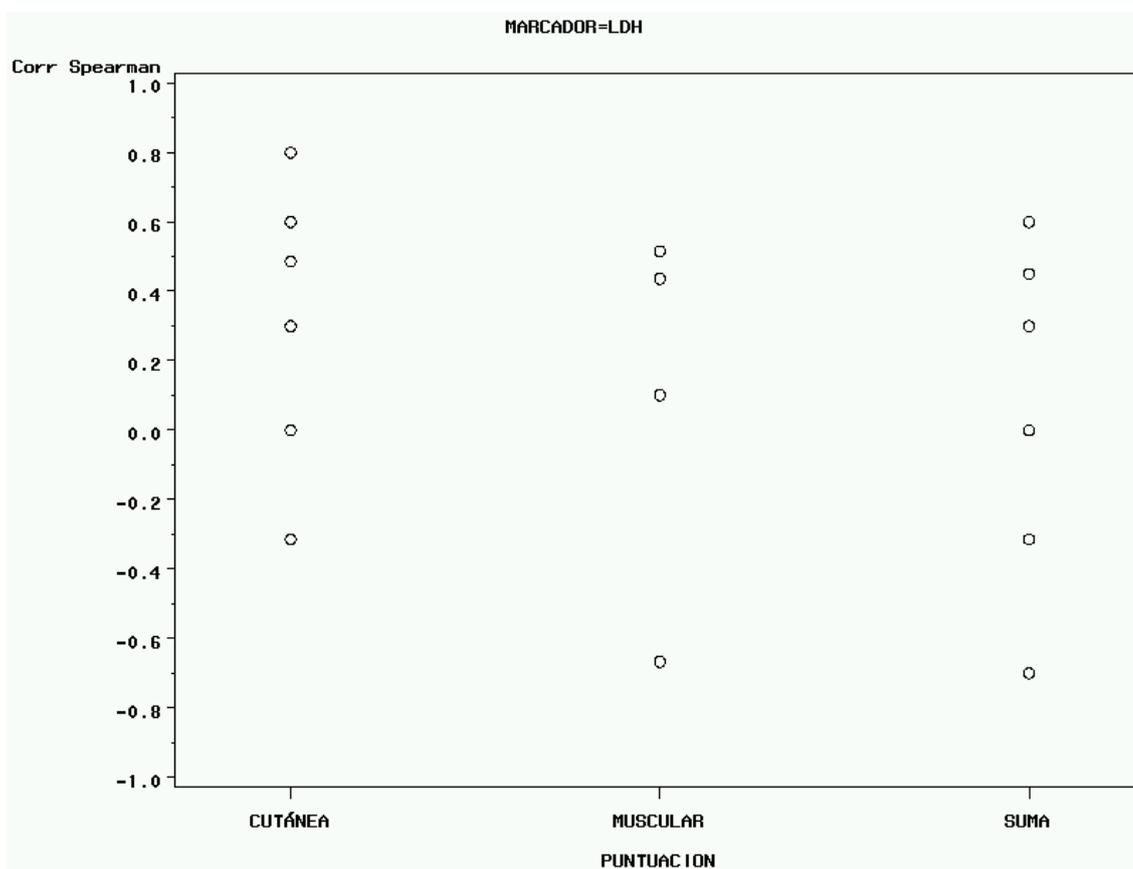


Se observan correlaciones tanto positivas como negativas, con un predominio de las primeras. La correlación fue negativa con las puntuaciones cutáneas de algunos pacientes y con la muscular de los pacientes 8 y 9. La correlación con la puntuación muscular no fue estimable, al igual que con los otros marcadores, en los pacientes 4 y 7. En el paciente nº 3 no se pudo estimar la correlación con ninguna de las puntuaciones de actividad clínica.

#### **4.4.2.3. Correlación entre actividad clínica y niveles de LDH.**

La correlación entre niveles de LDH y las valoraciones cutáneas se expresan en la figura 49:

**Figura 49: Correlación entre niveles de LDH y puntuaciones clínicas.**

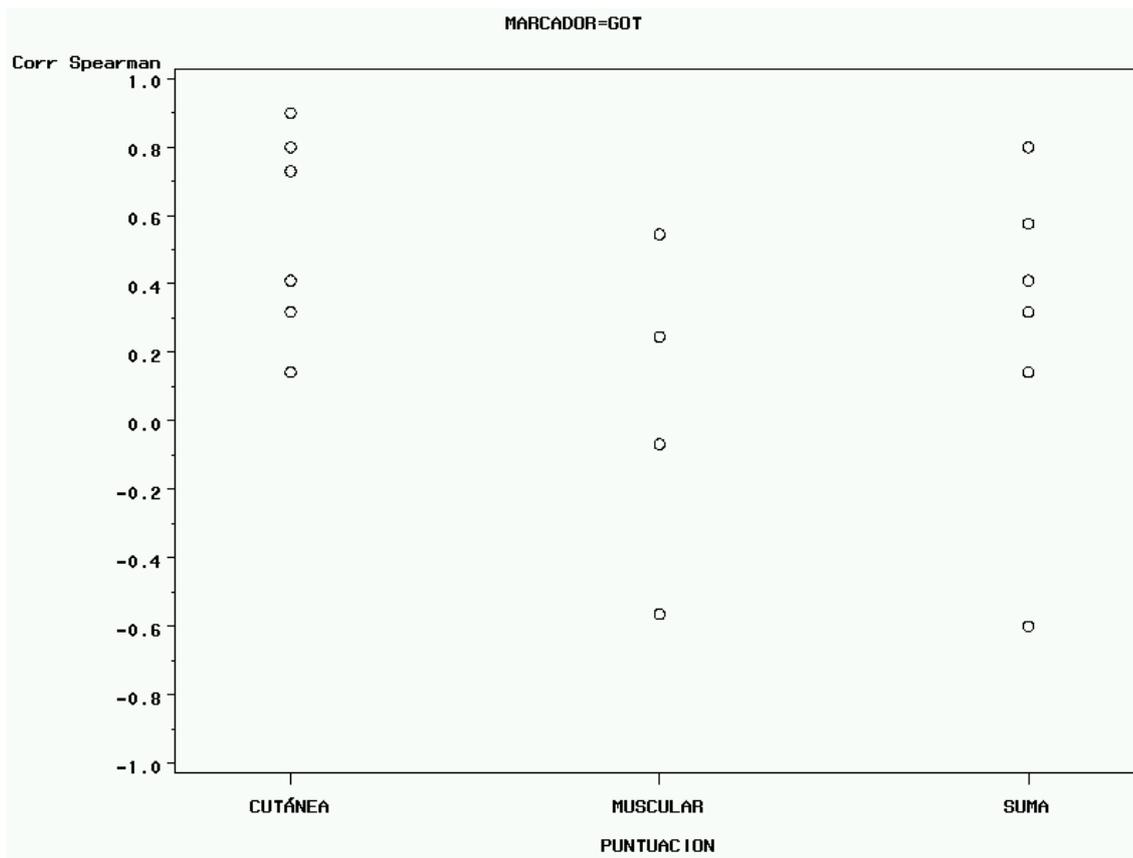


En el caso de las puntuaciones tanto cutáneas como musculares se observan correlaciones positivas y negativas, pero con predominio de las primeras. La mayoría de valores fueron superiores a 0,2. La única correlación negativa con la puntuación muscular corresponde, al igual que con los otros marcadores, al paciente nº 9 y al igual que con esos marcadores, en los pacientes 3, 4 y 7 no se pudieron estimar las correlaciones comentadas en los apartados anteriores.

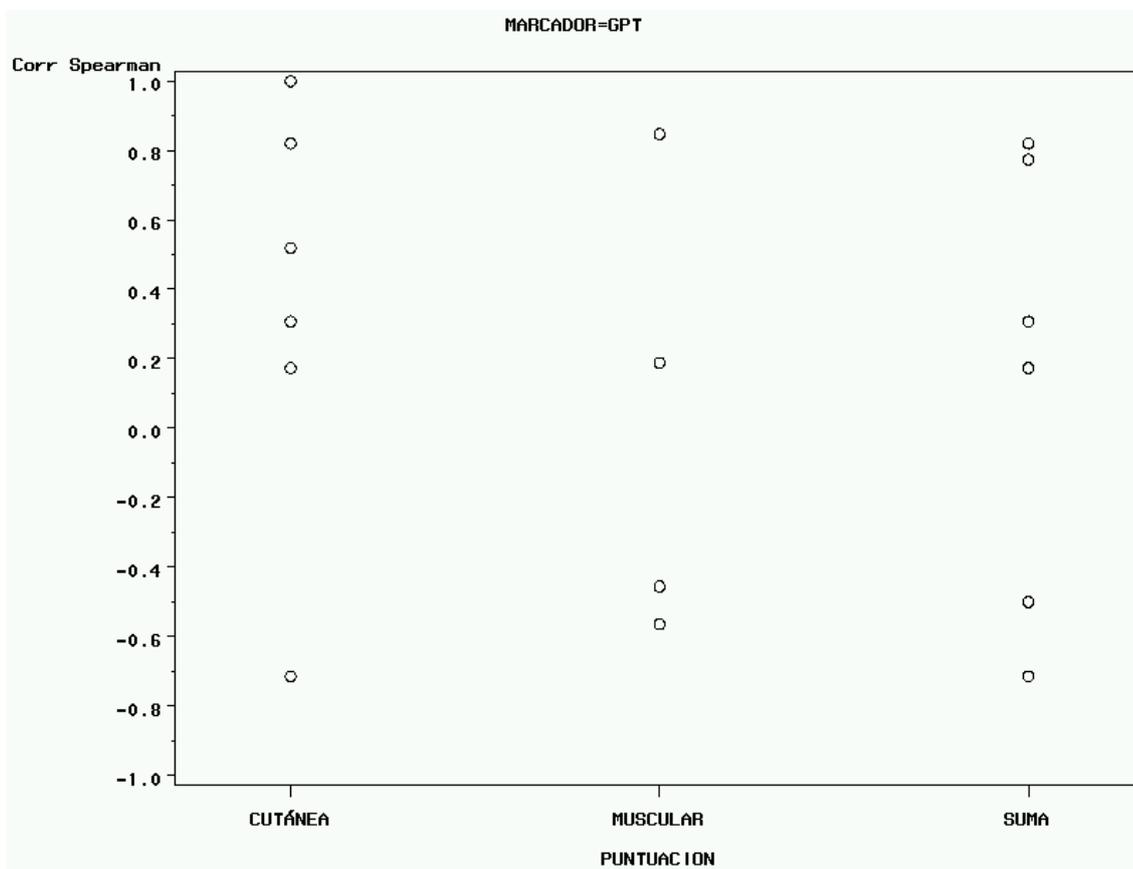
#### **4.4.2.4. Correlación entre actividad clínica y niveles de GOT y GPT.**

En las figuras 50 y 51 se representan las correlaciones entre los parámetros de actividad clínica y los niveles de transaminasas:

**Figura 50: Correlación entre niveles de GOT y puntuaciones clínicas.**



**Figura 51: Correlación entre niveles de GPT y puntuaciones clínicas.**



En el caso de las GOT, las correlaciones con las puntuaciones cutáneas son siempre positivas, con valores a lo largo de todo el rango positivo. Con las puntuaciones musculares se observan valores tanto positivos como negativos. En lo referente a la puntuación global (suma) parece dominar la puntuación cutánea, ya que a excepción de un caso, se presentan nuevamente correlaciones positivas.

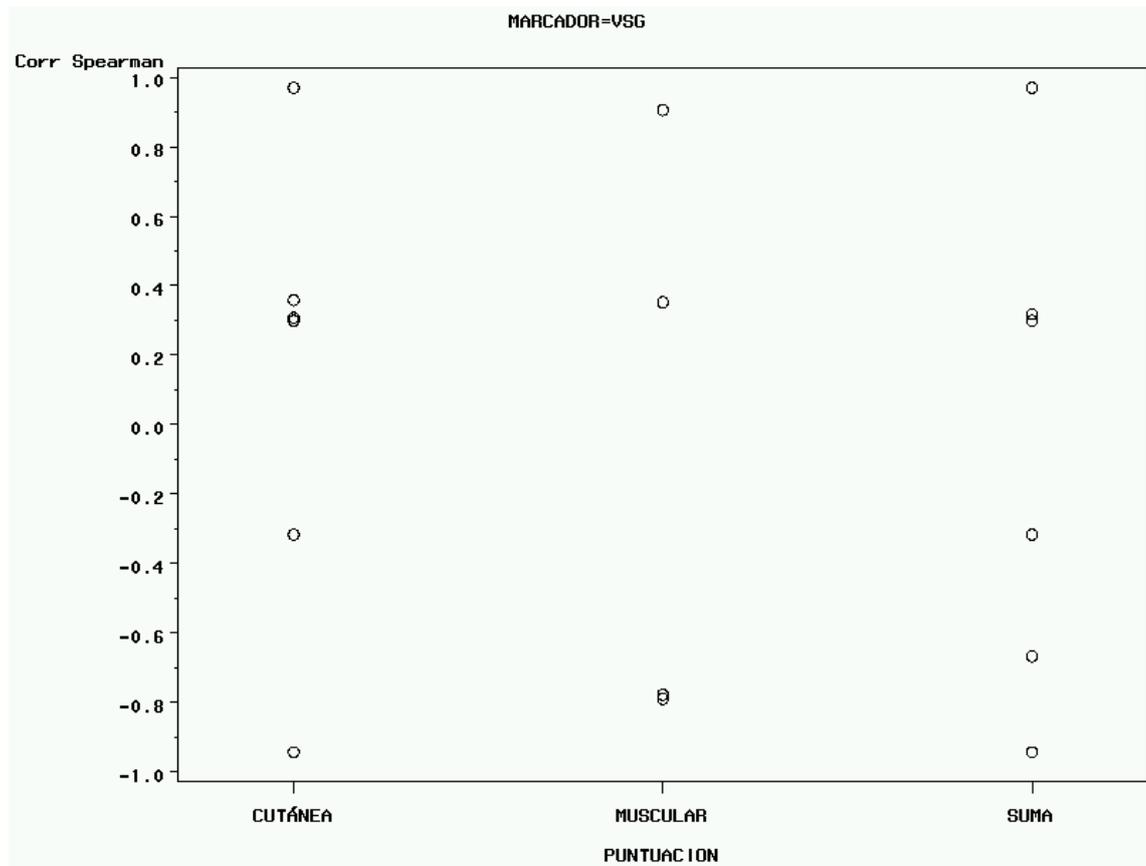
Las GPT presentan correlaciones positivas (por encima de 0,2) con las puntuaciones cutáneas en todos los casos excepto en uno. En el caso de las puntuaciones musculares y globales, se observan tanto correlaciones positivas como negativas.

En los pacientes 3,4 y 7 no se pudieron estimar las correlaciones comentadas en los apartados correspondientes a los otros marcadores bioquímico.

**4.4.2.5. Correlación entre actividad clínica y VSG.**

Las correlaciones obtenidas fueron las expresadas en la figura 52:

**Figura 52: Correlación entre valores de VSG y puntuaciones clínicas.**

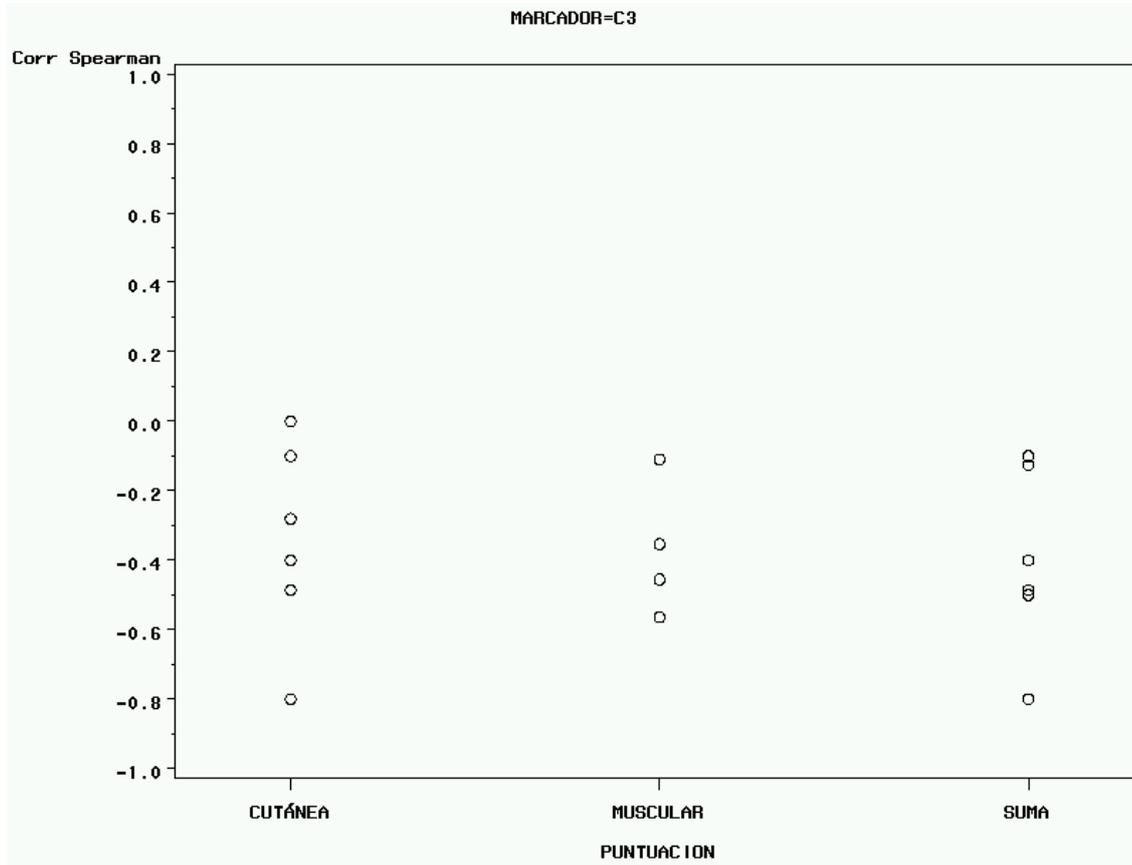


Se observan correlaciones tanto positivas como negativas a lo largo de todo el rango (-1 a 1). Al igual que con el resto de marcadores, en los pacientes 3,4 y 7 las correlaciones con los parámetros clínicos no fueron valorables.

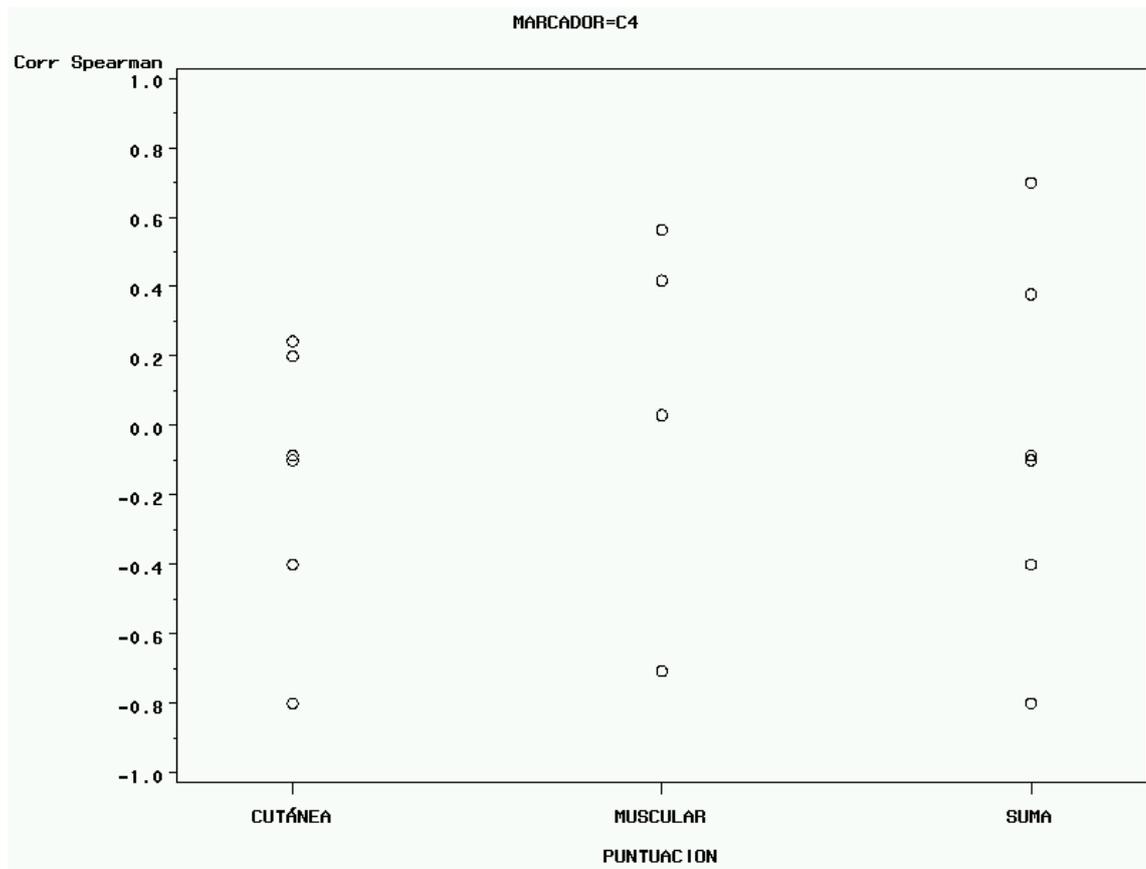
**4.4.2.6. Correlación entre actividad clínica y niveles de C3 y C4.**

En las figuras 53 y 54 se representan las correlaciones con los niveles de C3 y C4:

**Figura 53: Correlación entre niveles de C3 y puntuaciones clínicas.**



**Figura 54: Correlación entre niveles C4 y puntuaciones clínicas.**



Con C3 observamos correlaciones negativas tanto en el caso de las puntuaciones cutáneas como musculares o de la suma de ambas, con valores que oscilan desde 0 a -0,8. Con C4 predominan las correlaciones negativas, pero de forma menos marcada que con C3.

**4.4.3. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 valorando los pacientes conjuntamente. Comparación con otros marcadores de actividad.**

Las estimaciones únicas de la correlación de Spearman se muestran en la tabla 45.

**4.4.3.1. Correlación entre actividad cutánea muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 valorando los pacientes conjuntamente.**

En lo referente a C3a-desArg observamos una correlación positiva significativa aunque con un valor de intensidad relativamente bajo con la puntuación cutánea. Por el contrario, en el caso de la puntuación muscular y global no se observan valores significativos de correlación con este PAC.

SC5b-9 por el contrario no presenta valores de correlación significativos con ninguno de los parámetros de actividad clínica del proceso.

**4.4.3.2. Correlación entre actividad cutánea muscular y global y otros marcadores de actividad valorando los pacientes conjuntamente.**

La puntuación cutánea presenta valores significativos de correlación con GOT, GPT, LDH y aldolasa, y marginalmente no significativa con CPK. Estas correlaciones son todas positivas y de intensidad relativamente baja.

En el caso de la puntuación muscular y global no se identifican valores significativos de correlación.

**4.5.Determinación puntuales y seriadas de C3a-desArg y SC5b-9 como predictores de la reagudización de la enfermedad. Comparación con marcadores tradicionales de actividad.**

**4.5.1. Identificación de las reagudizaciones clínicas de los pacientes.**

Considerando los criterios establecidos anteriormente se identificaron 6 episodios de reagudización en el control evolutivo de los pacientes del estudio:

1. Paciente 2 entre 1ª y 3ª visita:
2. Paciente 2 entre 3ª y 4ª visita:
3. Paciente 5 entre 1ª y segunda visita:
4. Paciente 7 entre 3ª y 4ª visitas:
5. Paciente 8 entre 5ª y 6ª visita:
6. Paciente 9 entre 2ª y 3ª visita:

**4.5.2. Relación de reagudización clínica con incrementos o niveles anormalmente elevados de C3a-desArg y SC5b-9 en los 4 meses previos.**

**4.5.2.1. Relación con niveles anormalmente elevados de C3a-desArg o SC5b-9. Establecimiento del intervalo de normalidad de dichos parámetros.**

Se valoran los niveles de C3a-desArg y SC5b-9 de los pacientes en las visitas realizadas durante los 4 meses previos a las reagudizaciones y se determina cuántos de dichos niveles son anormalmente elevados. Para identificar dichos parámetros se determina el intervalo de normalidad de los valores de C3a y SC5b-9 de los pacientes control.

Se estiman los percentiles 2,5; 95 y 97,5 del citado intervalo por métodos no paramétricos, que se expresan en la siguiente tabla:

	P 2,5	P 95	P 97,5
C3a	28.16	177.04	209.12
C5b	1.95	61.12	72.41

Dado que se supone que la correlación debería existir sólo con niveles anormalmente elevados se establece el percentil 95 como el límite por encima del que se considerará que un paciente presenta valores anormalmente elevados.

#### **4.5.2.1.1. Relación con niveles anormalmente elevados de C3a-desArg.**

Considerando anormalmente elevados los niveles de C3a-desArg superiores a 177,04 ng/ml se identifican los siguientes en los controles realizados a los pacientes:

- Paciente n° 5, determinación n° 1: 318,72 ng/ml
- Paciente n° 8, determinación n° 1: 177,04 ng/ml
- Paciente n° 9, determinación n° 1: 199,84 ng/ml
- Paciente n° 9, determinación n° 2: 847,43 ng/ml
- Paciente n° 11, determinación n° 1: 209,12 ng/ml

De estos resultados se concluye que sólo en las reagudizaciones de los pacientes n° 5 y 9 se observaron niveles anormalmente elevados de C3a-desArg en las determinaciones plasmáticas realizadas en los controles previos a las citadas reagudizaciones. Los niveles de C3a-desArg previos a las reagudizaciones de los pacientes n° 2, 7, 8 se encontraban por debajo del percentil 95 del grupo control.

Por otro lado se observaron niveles anormalmente elevados en los pacientes 8 y 11 no relacionados con reagudizaciones posteriores.

#### **4.5.2.1.2. Relación con niveles anormalmente elevados de SC5b-9.**

Considerando anormalmente elevados los niveles de SC5b-9 superiores a 61,12 ng/ml se identifican los siguientes en los controles realizados a los pacientes:

- Paciente n° 8, determinación n° 1: 61,12 ng/ml
- Paciente n° 9, determinación n° 1: 110,17 ng/ml
- Paciente n° 9, determinación n° 2: 798,98 ng/ml
- Paciente n° 9, determinación n° 3: 72,41 ng/ml
- Paciente n° 9, determinación n° 4: 64,62 ng/ml

Por lo comentado tan solo el paciente n° 9 presentó niveles elevados de SC5b-9 precediendo a la reagudización clínica de su enfermedad. No se identificaron niveles anormalmente elevados de SC5b-9 en los controles previos a las reagudizaciones de

los pacientes nº 2, 5, 7 y 8 y si se identificaron en este último paciente sin relacionarse con una reagudización clínica posterior.

#### 4.5.2.2. Relación de reagudización clínica con incrementos en los niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 en los 4 meses previos.

##### 4.5.2.2.1. Incremento en los niveles plasmáticos de PAC en relación a reagudizaciones clínicas.

Se valoran los incrementos en los niveles de C3a-desArg y SC5b-9 observados entre visitas sucesivas durante los 4 meses previos a las reagudizaciones clínicas del proceso. Se expresan en porcentaje de incremento con respecto al valor del parámetro estudiado en la determinación previa.

##### 1. Paciente 2: entre 2ª y 3ª visita (figura 55):

a. Incremento de C3a-desArg entre 1ª y 2ª visita (figura 56):

16,26%

b. Incremento de SC5b-9 entre 1ª y 2ª visita (figura 57):

19,26%

Figura 55 :Relación niveles C3a-desArg/SC5b-9 y reagudizaciones en paciente nº 2

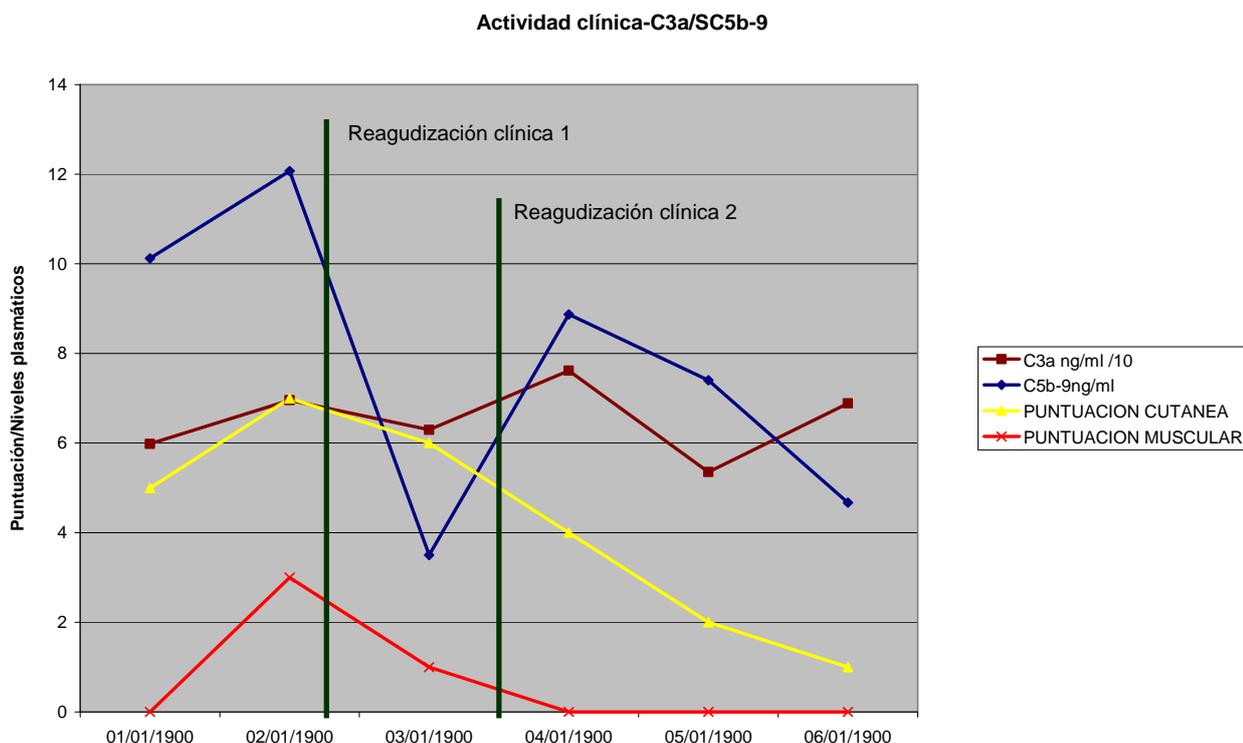


Figura 56:

Variación en los niveles de C3a-desArg previos a reagudización en paciente n° 2.

**C3a**

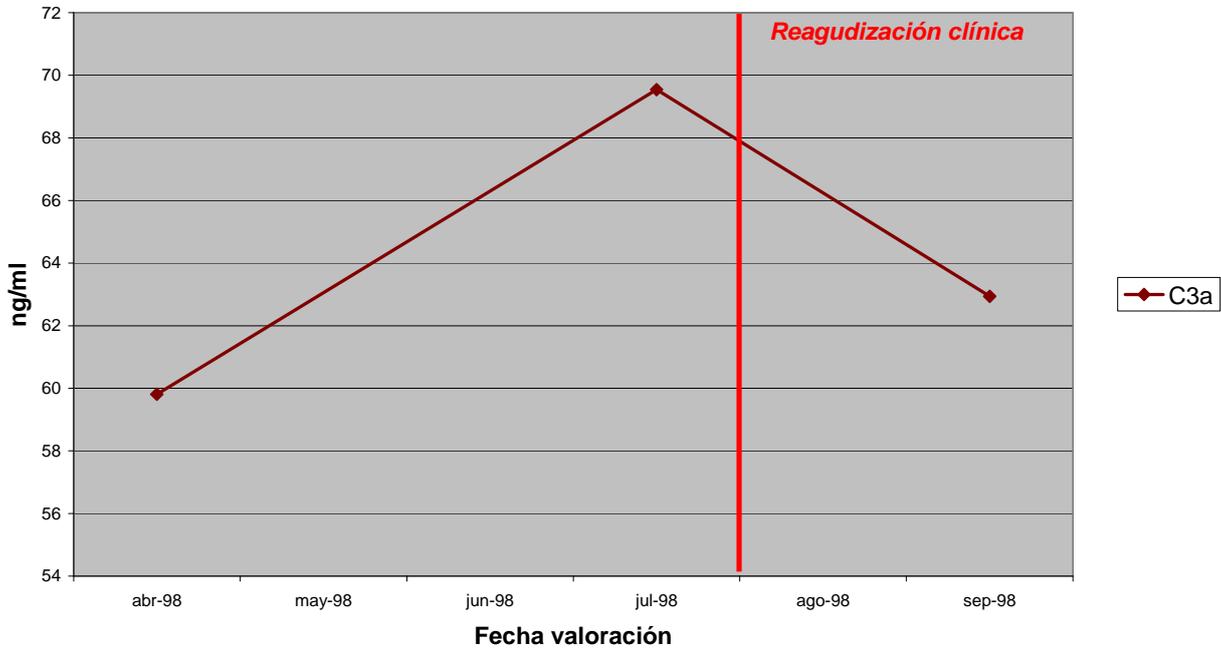
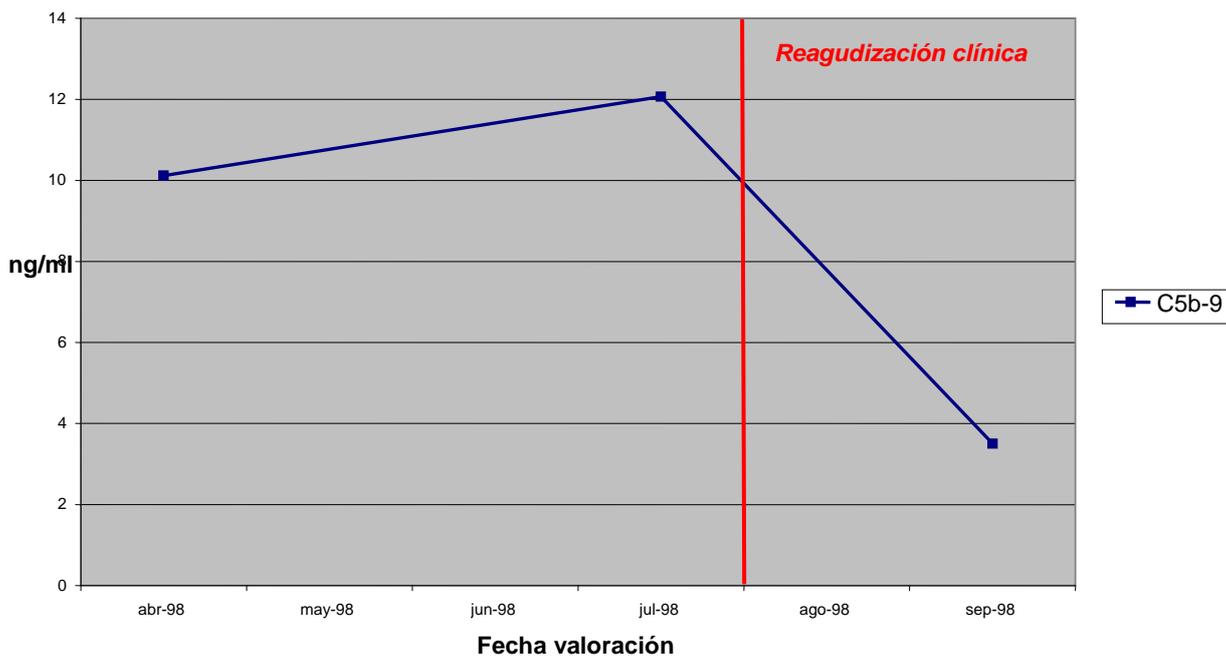


Figura 57: Variación en los niveles de SC5b-9 previos a reagudización en paciente n°

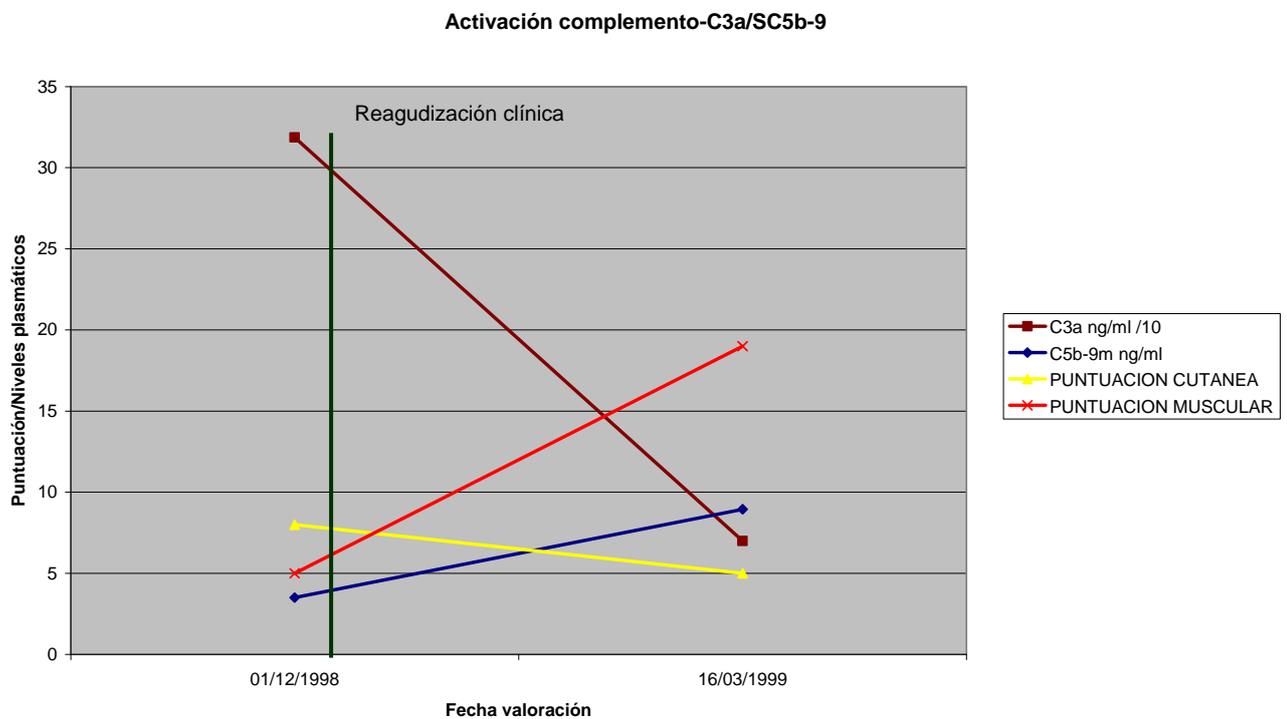
2.

**C5b-9**



2. **Paciente 2: 1 mes antes de la 4ª visita** y en consecuencia 1 mes tras el brote anterior. La superposición de las reagudizaciones no permite valorar incrementos en los niveles previos.
  
3. **Paciente 5: entre 1ª y segunda visita** (figura 58):  
 La ausencia de determinaciones previas a la primera visita no permite valorar incrementos previos a dicha visita.

Tabla 58: Relación niveles C3a-desArg/SC5b-9 y reagudizaciones en paciente nº 5



4. **Paciente 7: entre 3ª y 4ª visita** (figura 59):

a. Incremento de C3a-desArg entre 2ª y 3ª visita (figura 60):

12,72%

b. Incremento de SC5b-9 entre 2ª y 3ª visita (figura 61):

46,98%

Figura 59: Relación niveles C3a-desArg/SC5b-9 y reagudizaciones en paciente nº 7

Actividad clínica-C3a/SC5b-9

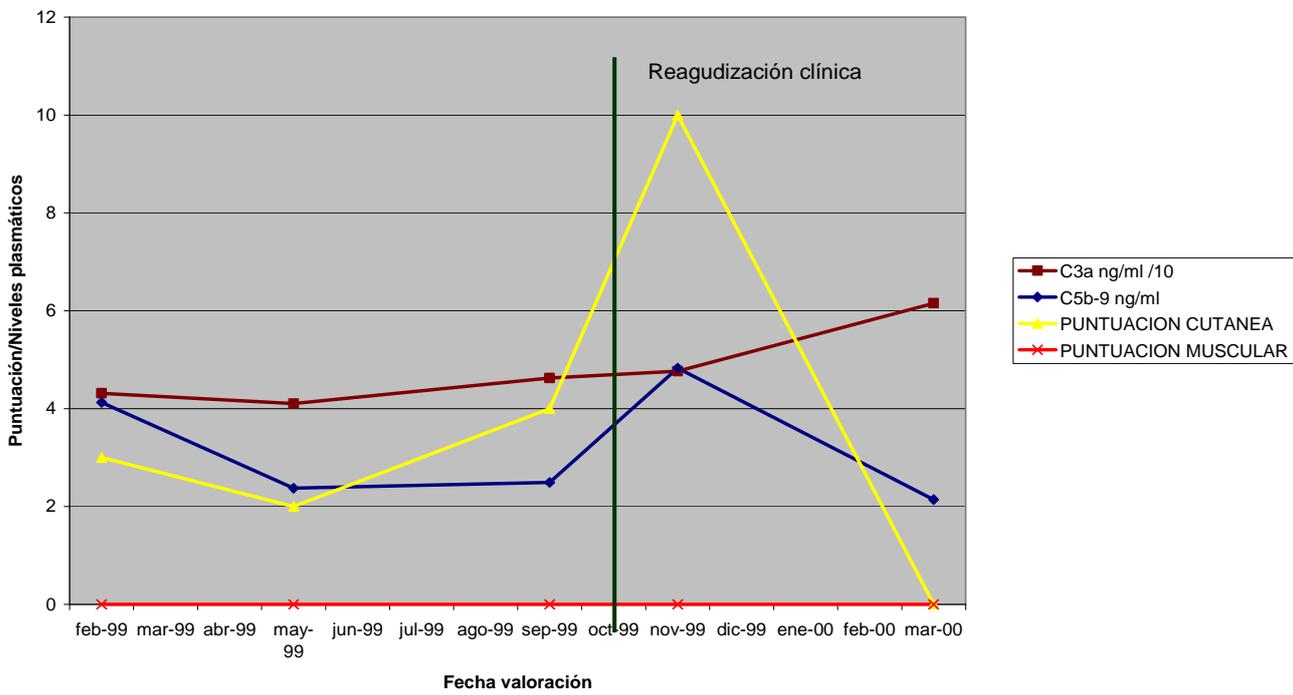


Figura 60:

Variación en los niveles de C3a-desArg previos a reagudización en paciente n° 7.

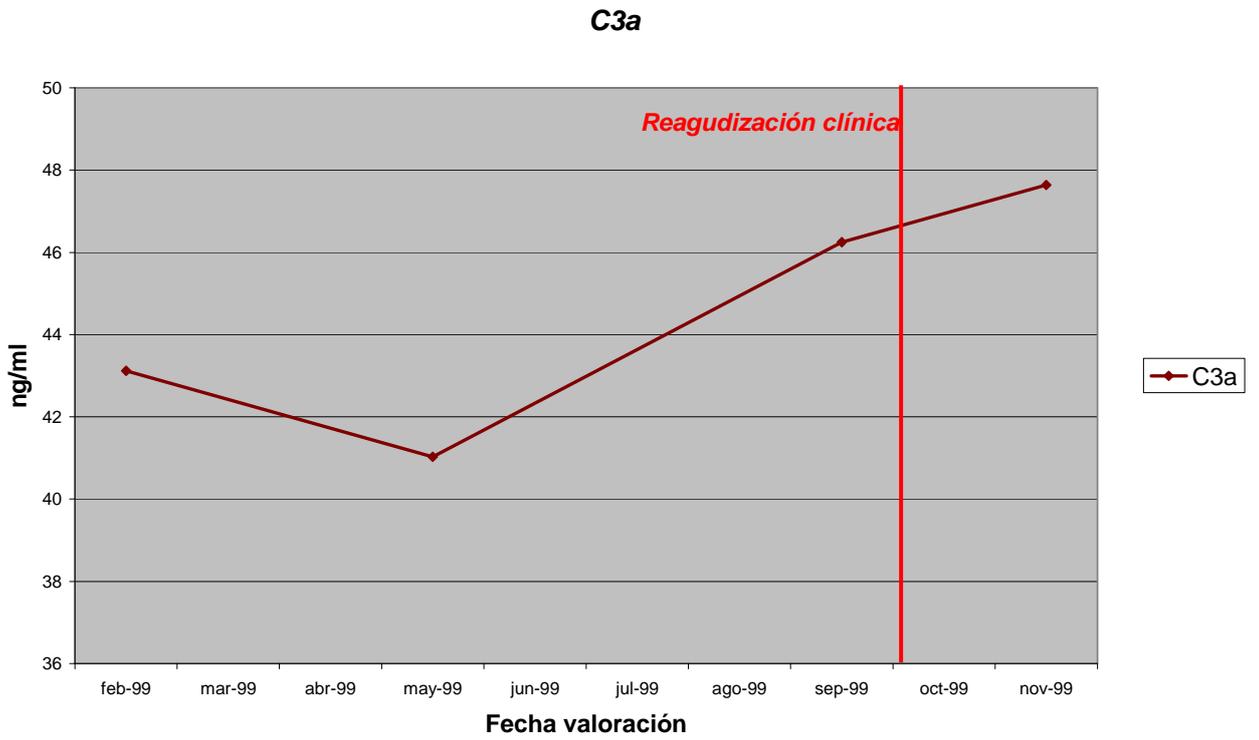
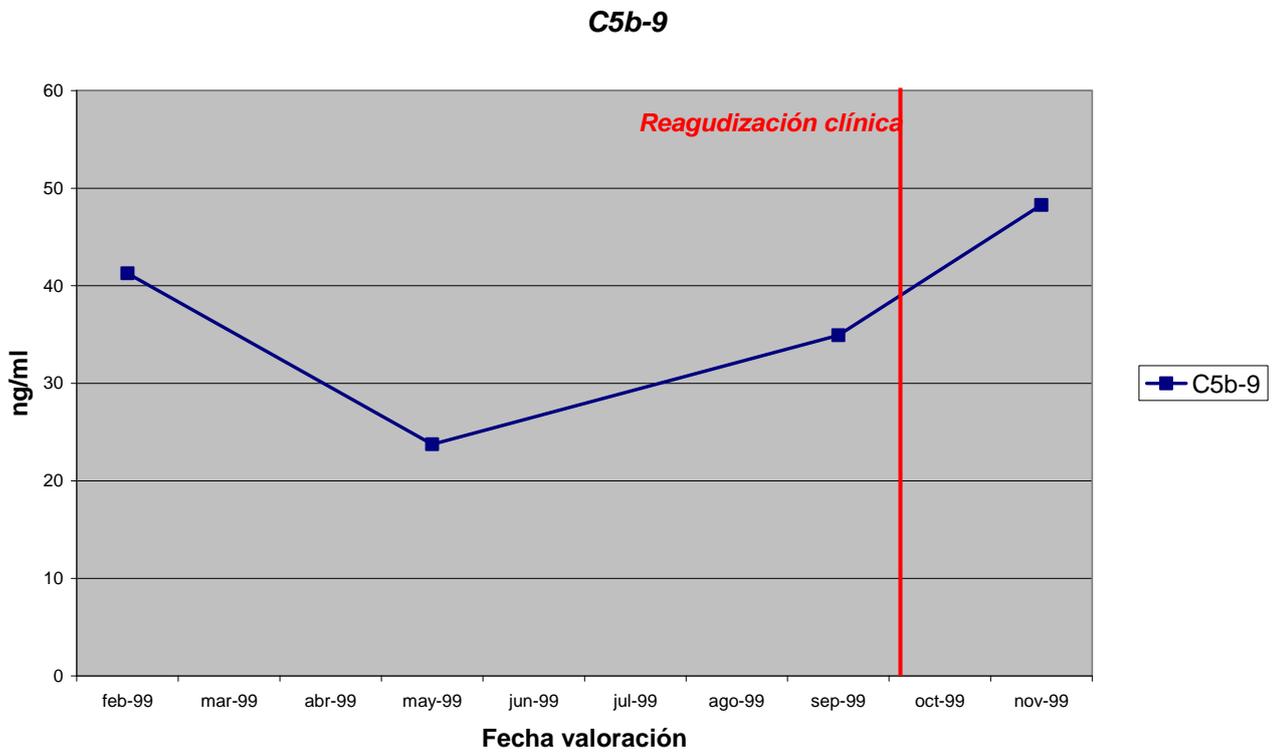


Figura 61:

Variación en los niveles de SC5b-9 previos a reagudización en paciente n° 7.



5. **Paciente 8 entre 5ª y 6ª visita** (Figura 62)

a. Incremento de C3a-desArg entre 4ª y 5ª visita (figura 63):

579,07%

b. Incremento de SC5b-9 entre 4ª y 5ª visita (figura 64):

9,8%

Figura 62: Relación niveles C3a-desArg/SC5b-9 y reagudizaciones en paciente nº 8

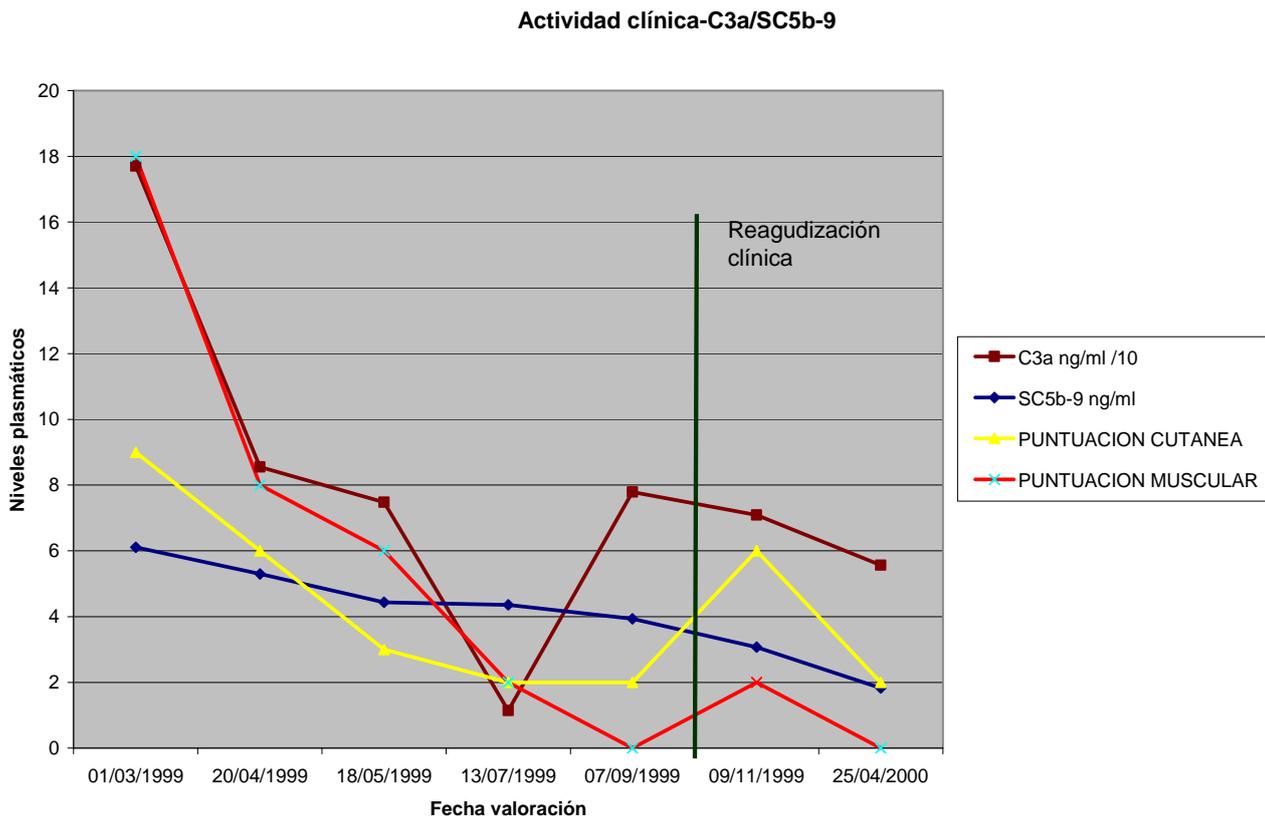


Figura 63:

Variación en los niveles de C3a-desArg previos a reagudización en paciente n° 8.

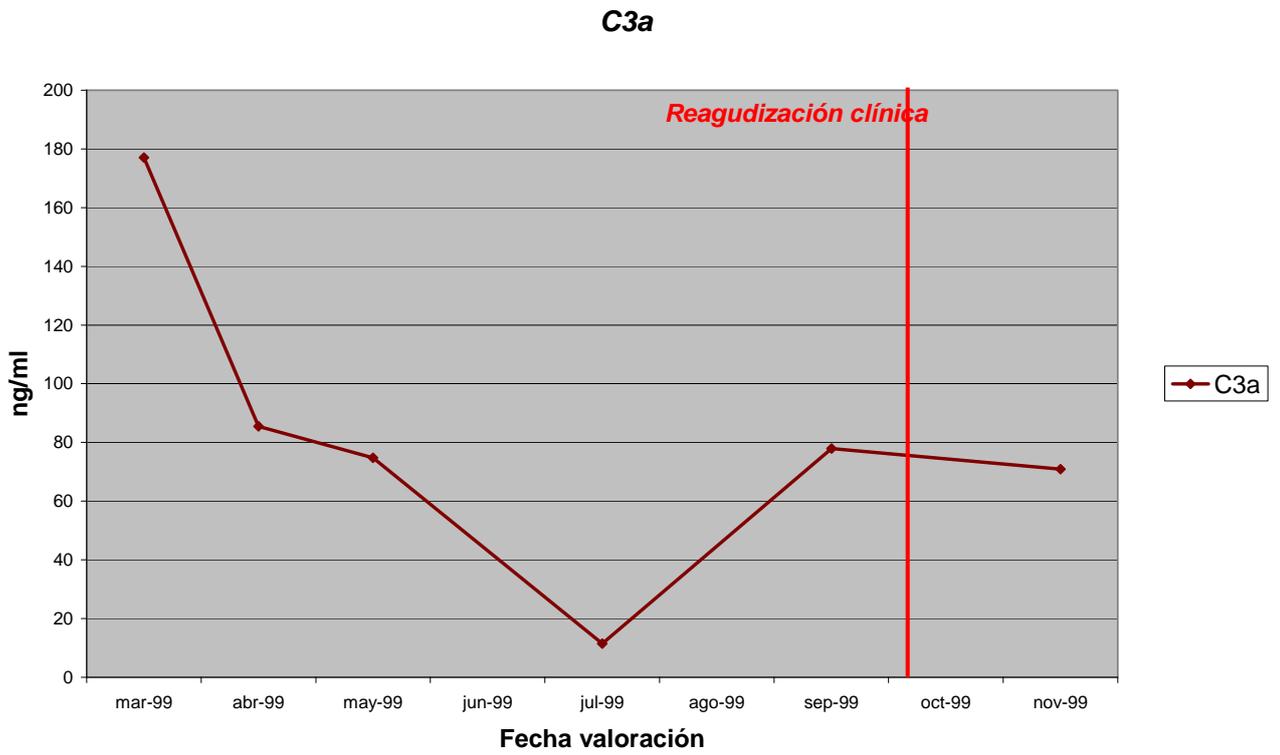
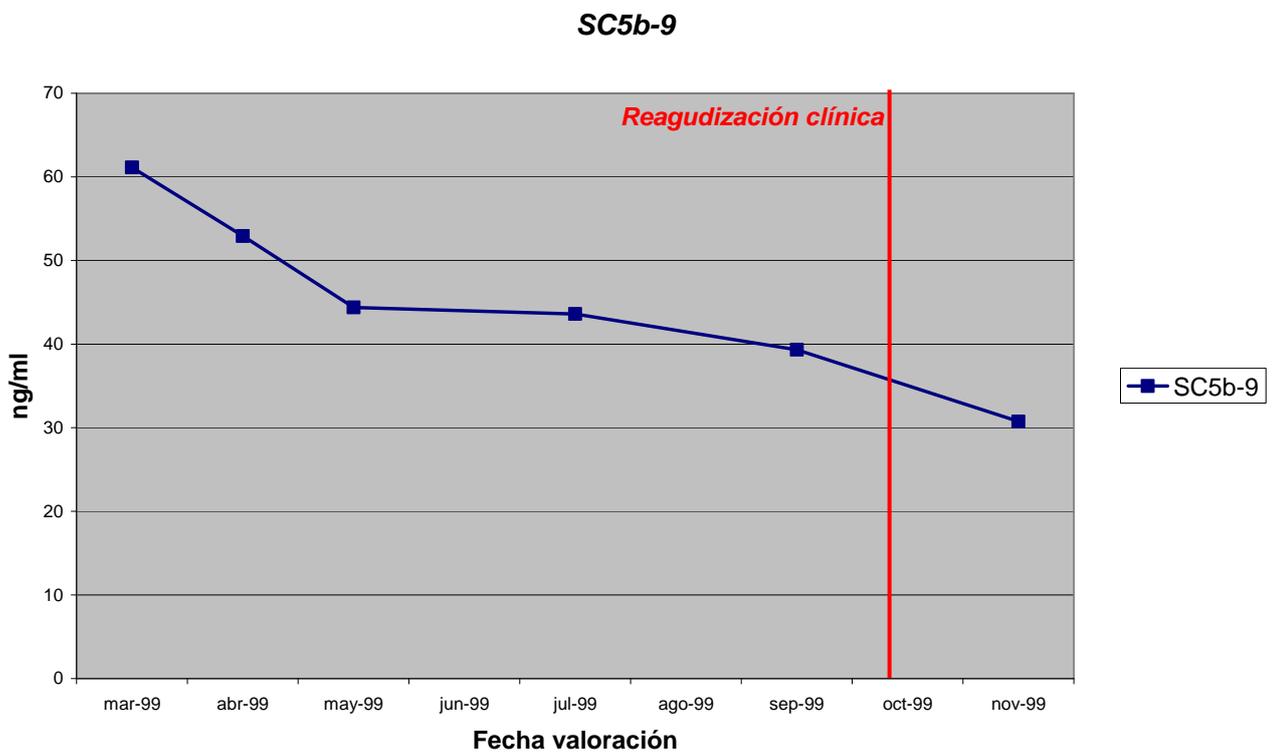


Figura 64:

Variación en los niveles de SC5b-9 previos a reagudización en paciente n°8.



6. **Paciente 9 entre 2ª y 3ª visita** (figura 65):

a. Incremento de C3a-desArg entre 1ª y 2ª visita (figura 66):

324,05%

b. Incremento de SC5b-9 entre 1ª y 2ª visita (figura 67):

625,22%

Figura 65: Niveles C3a-desArg/SC5b-9 y reagudizaciones en paciente nº 9

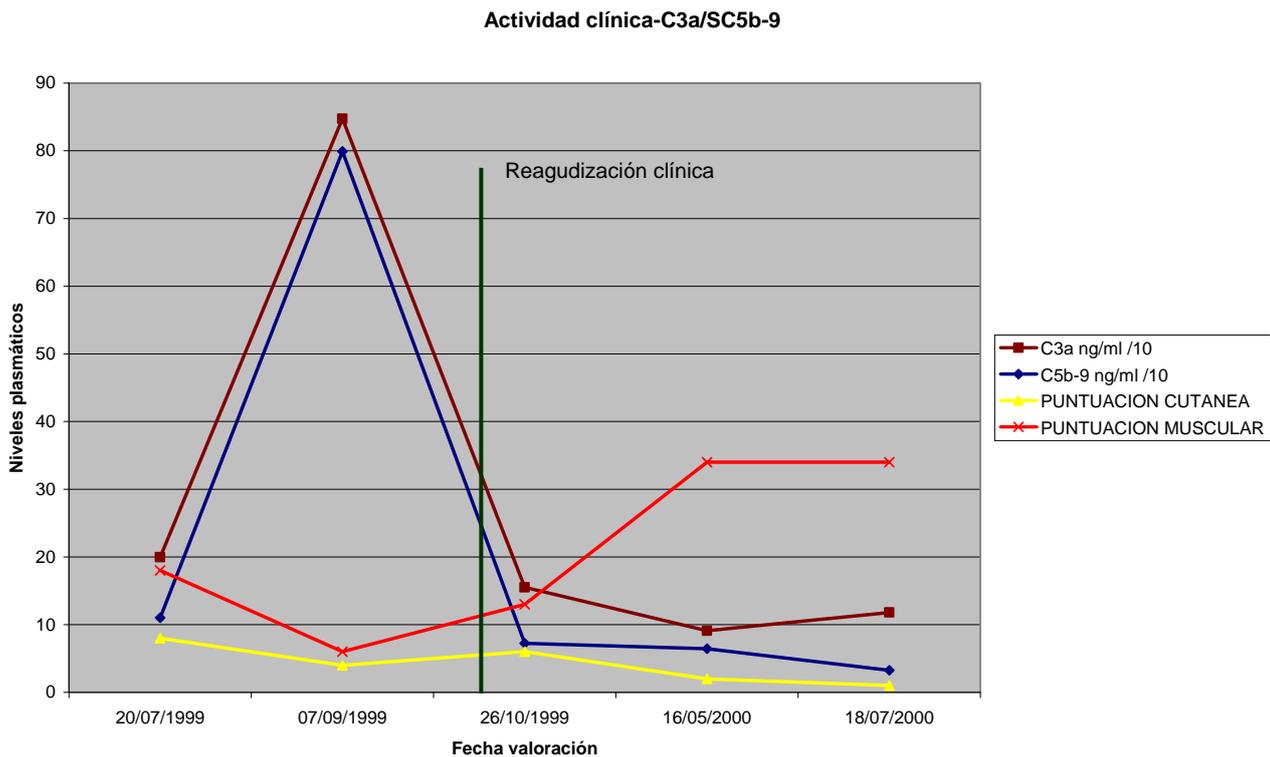


Figura 66:

Variación en los niveles de C3a-desArg previos a reagudización en paciente nº 9.

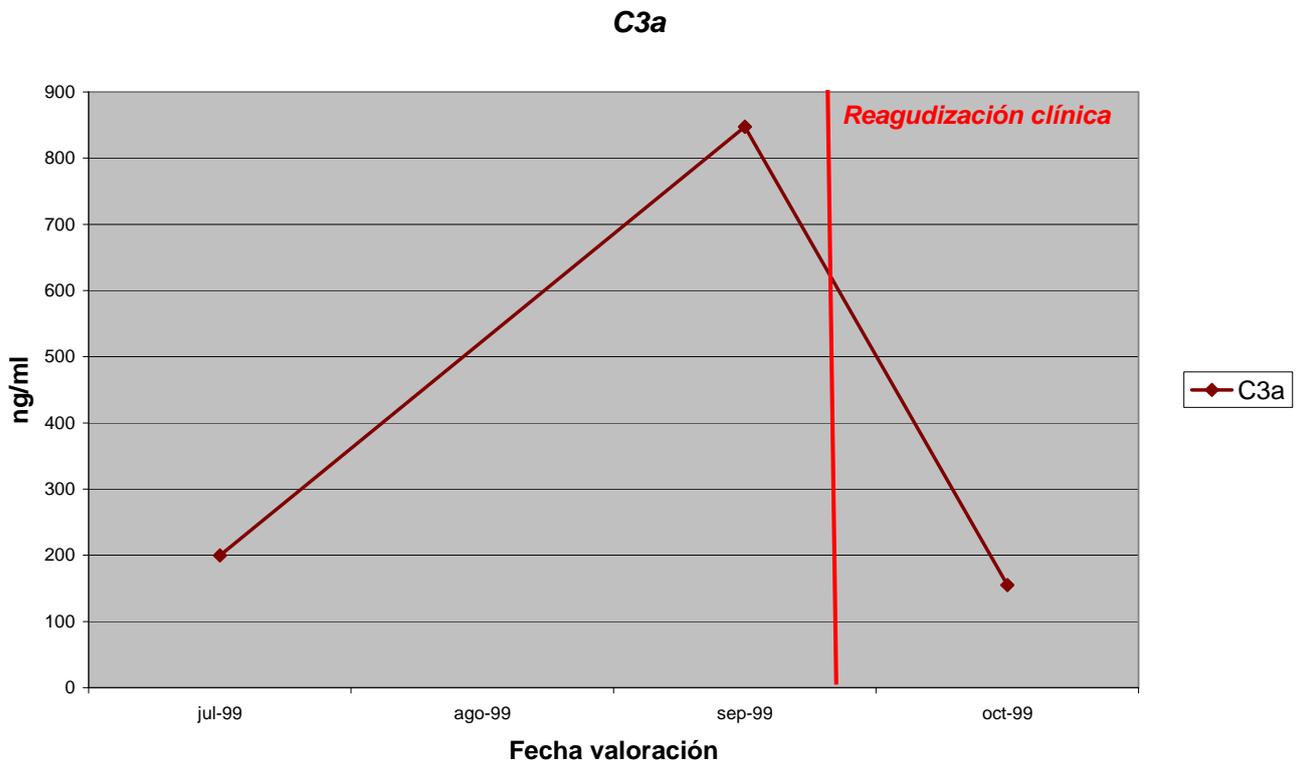
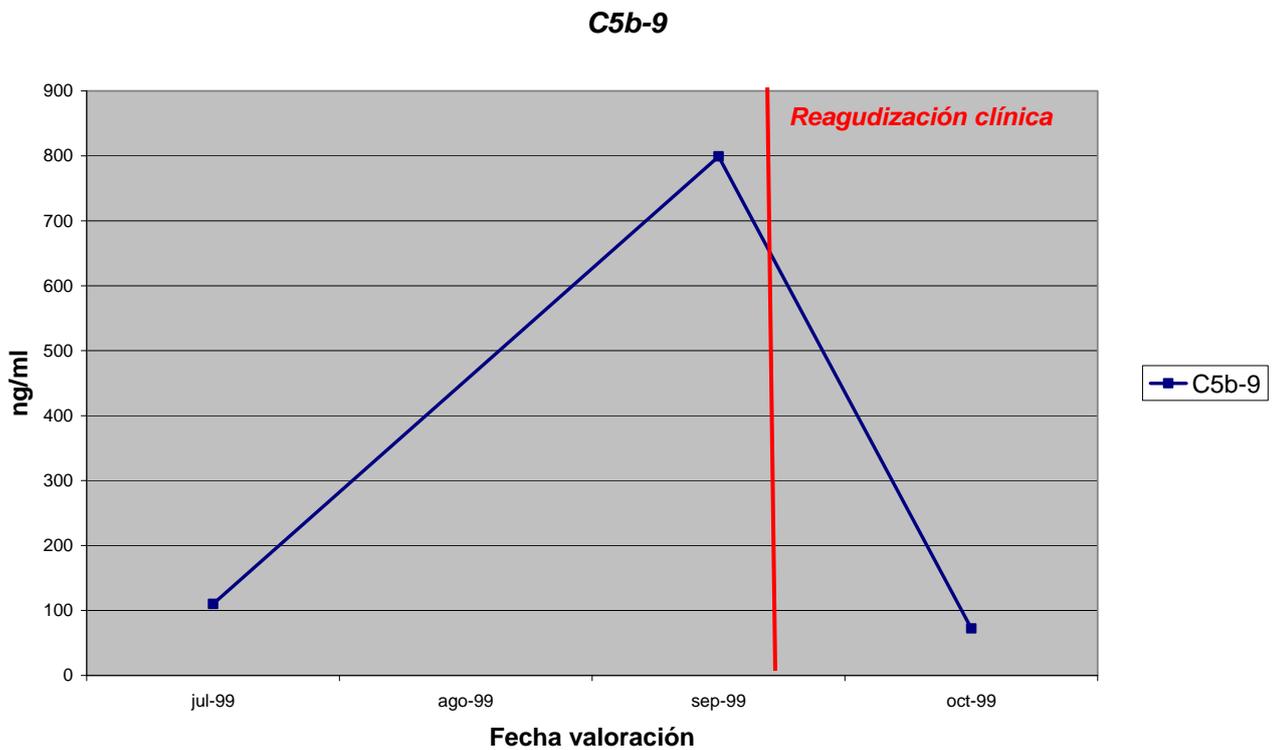


Figura 67:

Variación en los niveles de SC5b-9 previos a reagudización en paciente nº 9.



#### **4.5.2.2.2. Incrementos en los de niveles plasmáticos de PAC no relacionados con reagudizaciones clínicas.**

También se determinaron en cada paciente los incrementos de C3a-desArg y SC5b-9 que no se relacionaron con reagudizaciones clínicas del proceso. Para ello se consideraron solo aquellas determinaciones en las que existían controles clínicos posteriores que permitiesen confirmar o descartar la existencia de reagudizaciones clínicas. No se consideraron por ello los incrementos observados entre la penúltima y última visita de cada paciente, al no existir datos de la evolución clínica posterior a esa determinación. Se excluyeron también las determinaciones comentadas anteriormente relacionadas a brotes de reagudización. En total se valoraron las diferencias de niveles de PAC entre visitas en 18 intervalos de valoración.

#### **4.5.2.2.2.1. Incrementos de C3a-desArg en pacientes no relacionadas con reagudizaciones clínicas.**

1. Paciente n° 1:
  - a. Entre 3ª y 4ª visita: 20,88%
2. Paciente n° 3:
  - a. Entre 1ª y 2ª visita: 6,05%
  - b. Entre 2ª y 3ª visita: 41,43%
3. Paciente n° 4:
  - a. Entre 1ª y 2ª visita: 52,77%

En el paciente n° 1 este incremento se produce en ausencia de datos que lo justifiquen..

En el paciente n° 3 con una DM juvenil inactiva y sin tratamiento desde hace más de 6 años los niveles de C3a-desArg comienzan a aumentar entre febrero y abril de 1999 se hacen especialmente importantes entre abril y septiembre de ese mismo año. En Agosto el paciente es ingresado por una pancolitis ulcerosa.

El paciente n° 4 había sido ingresado 15 días antes de la visita en la que se evidencia el aumento de los niveles plasmáticos de C3a-desArg por un cuadro de bronquitis aguda. En el momento de la visita presenta todavía clínica respiratoria y está en tratamiento antibiótico.

En definitiva, excluyendo los pacientes n° 3 y 4 en los cuales existió un cuadro infeccioso o inflamatorio que podría justificarlos, solo observamos incrementos no explicables de los niveles de C3a-desArg en una ocasión.

**4.5.2.2.2. Incremento de SC5b-9 en pacientes no relacionados con reagudizaciones clínicas.**

1. Paciente n° 1
  - a. Entre 1ª y 2ª visita: 104,67%
  - b. Entre 4ª y 5ª visita: 15,41%
2. Paciente n° 2:
  - a. Entre 4ª y 5ª visita: 1797,13%
3. Paciente n° 3:
  - a. Entre 1ª y 2ª visita: 150%
  - b. Entre 2ª y 3ª visita: 319,48%
4. Paciente n° 4:
  - a. Entre 1ª y 2ª visita: 4,46%

Tanto en el paciente n° 1 como 2, no se identifican factores asociados salvo el hecho de haberse sometido a quimioterapia 15 días antes (pacientes n° 2). En el paciente n° 2, los niveles de SC5b-9 obtenidos en la visita n° 4 son difícilmente valorables, al ser muy inferiores al valor mínimo de referencia del test utilizado. Se estimaron diluyendo los sueros control al obtenerse absorbencias prácticamente nulas en las 4 estimaciones realizadas. En el paciente n° 3 y 4 el aumento corresponde al desarrollo pancolitis ulcerosa y bronquitis aguda comentados en el apartado anterior.

#### **4.5.2.2.3. Valoración estadística.**

Descartando las situaciones en las que no se disponen de datos analíticos previos o evolutivos posteriores para valorar incrementos en los niveles o desarrollo posterior de reagudizaciones, consideramos la existencia de 4 reagudizaciones clínicas valorables.

<i>Resultado test</i>	<i>Reagudización</i>	<i>No reagudización</i>
<i>Incremento C3a-desArg</i>	4/4	3/18
<i>Incremento SC5b-9</i>	3/4	4/18

En todas ellas se produce un incremento precedente o coincidente en los niveles de C3a-desArg y en 3 de SC5b-9. Los niveles de C3a-desArg y de SC5b-9 se incrementaron sin evidencia de reactivación clínica posterior en 4 y 5 ocasiones respectivamente. Con todos estos datos establecemos que la sensibilidad de un incremento en los niveles plasmáticos para predecir una reagudización en los 4 meses posteriores a dicha determinación es del 100% para C3a-desArg y del 75% para SC5b-9, siendo sus especificidades del 83,3% y 77,7% respectivamente. La eficacia de este parámetro en la predicción de reagudizaciones se estableció en 86,3% para C3a-desArg y 77,2% para SC5b-9.

El riesgo absoluto de desarrollar una reagudización clínica en los 4 meses posteriores a un aumento en los niveles plasmáticos es del 57,1% para C3a-desArg y del 42,8% para SC5b-9.

#### **4.5.3. Relación entre elevaciones en los marcadores bioquímicos de actividad tradicionales y reagudizaciones.**

En lo referente a los valores analíticos tradicionalmente considerados, no existe unanimidad a la hora de establecer criterios diagnósticos de reactivación. Guzmán y colaboradores<sup>406</sup> establecen como criterio de reactivación de la enfermedad, un incremento del 20% en los niveles de al menos un enzima muscular o la duplicación de los valores si los iniciales eran normales. Aplicamos este criterio (aumento o disminución de un 20% en los niveles del marcador respectivo, o duplicación de niveles si éstos están en el rango de la normalidad) y analizamos la relación entre dichas

variaciones y las reagudizaciones de la enfermedad. Se disponía de datos analíticos para valorar esta relación en todos los brotes con todos los parámetros estudiados salvo con Aldolasa, de la cual se carecía de parámetros para evaluar incrementos en sus niveles en una de las reagudizaciones.

Resultado test (incremento >20%)	Reagudización	No reagudización
GOT	1/4	2/18
GPT	1/4	1/18
LDH	3/4	1/18
CPK	3/4	2/18
Aldolasa	1/3	3/16
VSG	2/4	4/16
C3 (disminución)	0/4	0/16
C4 (disminución)	0/4	0/16

Observamos que de los 4 episodios de reagudización valorados se objetivaron incrementos significativos de los niveles de GOT en 1 paciente, GPT en 1 paciente, LDH en 3 pacientes, CPK en 3 pacientes, Aldolasa en 1 paciente, VSG en 2 pacientes. Por otro lado se detectaron incrementos en los niveles de estos marcadores bioquímicos en ausencia de brotes de reagudización (GOT en 2 pacientes, GPT en 1 paciente, LDH en 1 paciente, CPK en 2 pacientes, Aldolasa en 3 pacientes y VSG en 4 pacientes). En lo referente a los niveles de C3 y C4 no se objetivaron, aplicando el criterio comentado anteriormente, reducciones significativas de sus niveles en ningún paciente durante el seguimiento, ni en situaciones de reagudización ni en estados de estabilidad del proceso. Las sensibilidades y especificidad respectivamente de incrementos (o disminuciones en el caso de C3 y C4) de un 20% en los niveles plasmáticos para predecir un brote de

reagudización en los cuatro meses posteriores fueron para cada parámetro analítico los siguientes: GOT (25%, 88,8%), GPT (25%, 94,4%), LDH (75%, 94,4%), CPK (75%, 88,8%), Aldolasa (33,3%, 81,2%),

VSG (50%, 75%), C3 (0%, 100%) y C4 (0%,100%). La eficacia de esta valoración fue para cada parámetro: GOT (77,27%), GPT (81,8%), LDH (90,9%), CPK (86,3%), Aldolasa (73,6%), VSG (70%), C3 (80%) y C4 (80%).

El riesgo absoluto (valor predictivo positivo) de estos cambios en los niveles comentados para predecir reagudizaciones en los cuatro meses posteriores fueron: GOT (33,3%), GPT (50%), LDH (75%), CPK (60%), Aldolasa (25%), VSG (33,3%) no valorables en C3 y C4.

## ***5. DISCUSIÓN.***



### **5.1. Comparación de niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 entre pacientes con DM y controles, así como entre DM activa e inactiva.**

El hallazgo de niveles superiores de C3a-desArg y SC5b-9 en pacientes con DM respecto a controles apoya la implicación de la activación del sistema del complemento en la patogenia de la enfermedad.

Los resultados obtenidos demuestran también que, cuando la DM está activa, los valores de C3a-desArg tienden a estar más elevados que cuando la DM está inactiva o que en los controles. Por el contrario, en lo referente a los niveles de SC5b-9, cuando la DM está activa, los valores tienden a estar más elevados que en los controles pero no se demuestra que sean superiores a los observados en pacientes con DM inactiva.

Estos datos sugieren que la determinación puntual de los niveles plasmáticos de C3a-desArg sería útil para diferenciar entre pacientes con DM y enfermedad activa y pacientes con enfermedad no activa. Por el contrario, la determinación de los niveles de SC5b-9 sería menos útil a tal efecto, al no haberse detectado diferencias significativas entre ambos grupos. Este parámetro permitiría solo hallar diferencias entre pacientes con DM tanto activa como inactiva y pacientes control, diferenciación inútil al no tratarse de un criterio diagnóstico de la entidad.

Tal como hemos comentado anteriormente hemos encontrado solo un trabajo previo de Scott y colaboradores<sup>426</sup> en el cual se valoran los niveles de un PAC (en concreto C3d) en pacientes con DM. Los autores observan niveles elevados de este producto en 6 de 7 pacientes con DMj, siendo además más elevados en aquellos con enfermedad activa, resultados superponibles a los observados por nosotros con C3a-desArg.

Si bien los resultados sugieren estas conclusiones, el escaso número de determinaciones en pacientes con enfermedad inactiva y la dependencia de las observaciones de cada paciente no hacen factible la determinación de la sensibilidad y especificidad de estos dos parámetros analíticos como marcadores de actividad de la DM. Se optó no obstante por calcular dichos valores a pesar de no poder atribuirles significación estadística.

## **5.2. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9. Comparación con otros marcadores de actividad.**

### **5.2.1. Correlación de niveles de C3a-desArg y SC5b-9 con parámetros de actividad clínica por paciente. Comparación con otros marcadores de actividad.**

#### **5.2.1.1. Correlación de niveles de C3a-desArg con parámetros de actividad clínica por paciente.**

La correlación intrapaciente de los niveles de C3a-desArg con la puntuación cutánea fue siempre positiva (excepto en el paciente nº 7), presentando valores en todo el rango positivo (0 a 1). Es decir los valores fueron muy variables en función del paciente considerado.

El máximo grado de correlación entre puntuación cutánea y C3a-desArg se obtuvo en el paciente nº 2, en el que sólo fue superado por el observado con los niveles de VSG. La correlación con la actividad muscular fue igualmente positiva excepto en el paciente nº 9, mostrando valores igualmente variables. Como se ha comentado anteriormente, dicho paciente había desarrollado un empeoramiento de la clínica muscular atribuido al desarrollo de atrofia muscular o miopatía esteroidea en un contexto de mejoría progresiva del resto de parámetros de actividad de la enfermedad. Este hecho justificaría un aumento de la puntuación muscular del paciente a pesar de una mejoría en la actividad inflamatoria de la enfermedad, y en consecuencia a una disminución de los niveles plasmáticos de C3a-desArg. La consecuencia inmediata sería la correlación negativa entre ambos parámetros en dicho paciente. Aun tratándose de una observación aislada, de la cual no se pueden extraer conclusiones definitivas, la demostración de esta correlación negativa es especialmente interesante. Como se ha comentado en el primer apartado del trabajo, uno de los problemas de la valoración de la actividad clínica de los pacientes con DM es la diferenciación entre debilidad muscular asociada al proceso o debilidad secundaria a miopatía esteroidea o atrofia muscular. Los datos descritos anteriormente parecen sugerir que ante un paciente con empeoramiento de la fuerza muscular pero en relación a una disminución en los niveles plasmáticos de PAC, que sugieren una menor actividad del proceso patológico, deberá sospecharse que dicho empeoramiento no es secundario a una reagudización del proceso sino a una de las otras condiciones citadas.

En los pacientes 4 y 7 la correlación entre C3a-desArg y actividad muscular del proceso no fue estimable al permanecer constantes las puntuaciones musculares de dichos pacientes durante todo el seguimiento. Esta observación es fácilmente explicable si tenemos en cuenta que ambos pacientes presentaban formas amiopáticas de la enfermedad, es decir formas en las cuales no existía afectación muscular y en consecuencia variaciones en la fuerza muscular durante el seguimiento. En estos pacientes las variaciones en los niveles plasmáticos de PAC son atribuibles exclusivamente a la actividad cutánea del proceso, observándose correlaciones positivas entre ambos. La existencia de esta correlación en pacientes con formas amiopáticas de la enfermedad apoyaría también la implicación patogénica de la activación del sistema del complemento en la patogenia de las lesiones cutáneas características de la enfermedad.

En el paciente n° 3 no se pudo estimar la correlación entre los niveles C3a-desArg y los parámetros de actividad, por mantenerse constantes las puntuaciones cutáneas y muscular durante todo el proceso. Se trataba de un paciente con una DM inactiva desde hacía 6 años y que permaneció inactiva durante todo el seguimiento.

En definitiva observamos una correlación positiva entre los niveles de C3a-desArg y la actividad cutánea y muscular del proceso, pero el grado de correlación es muy variable en función del paciente valorado. Igualmente variable es, en función del paciente evaluado, el ranking ocupado por este marcador en el listado de los parámetros con un mayor grado de correlación con los parámetros de actividad clínica. Contrariamente a lo esperado, C3a-desArg no superó, en la mayoría de los pacientes, al resto de marcadores de actividad tradicionales en su capacidad de correlación con la actividad clínica. Una posible causa de este resultado se comentará en apartados posteriores.

### **5.2.1.2. Correlación de niveles de SC5b-9 con parámetros de actividad clínica por paciente.**

Al igual que con C3a-desArg, la correlación intrapaciente entre actividad cutánea y muscular y niveles de SC5b-9 fue positiva en prácticamente todos los pacientes. Los valores de dicha correlación mostraban una cierta tendencia a estar elevados (por encima de 0,5), especialmente con la puntuación cutánea, pero eran, al igual que en el caso de C3a-desArg altamente variables en función del paciente evaluado y no siempre superiores al resto de marcadores de actividad evaluados.

Al igual que observamos con respecto a C3a-desArg, los valores negativos obtenidos en la correlación entre puntuación muscular y SC5b-9 del paciente nº 9 son atribuibles al desarrollo de atrofia muscular o miopatía esteroidea en el contexto de una progresiva mejoría clínica del paciente y no a una reagudización del proceso. De igual forma en el paciente nº 3 la ausencia de actividad tanto cutánea como muscular durante todo el seguimiento justifica la no existencia de correlación estimable entre los parámetros de actividad clínica y SC5b-9.

### **5.2.1.3. Correlación entre actividad clínica y niveles de Aldolasa.**

Observamos una correlación intrapaciente positiva entre Aldolasa y puntuación cutánea y muscular en prácticamente todos los pacientes. La correlación con la puntuación muscular es comprensible y en cierta medida lógica, por el origen muscular de la citada enzima, pero inicialmente parece no explicable la correlación con los parámetros de actividad cutánea. Esta correlación es probablemente artificial. En los pacientes con DM clásica las lesiones cutáneas y musculares se presentan simultáneamente en algún momento del curso evolutivo, ya que sin dicha asociación no se podría establecer un diagnóstico de dicha entidad. Además en la mayoría de estos pacientes la evolución de la actividad cutánea y muscular del proceso es paralela. Es por ello que si la correlación entre actividad muscular y Aldolasa es positiva, resulta lógico que la correlación con la actividad cutánea también sea positiva a pesar de no ser una marcador bioquímico de daño cutáneo. Esta teoría queda apoyada por la observación de una correlación nula entre Aldolasa y actividad cutánea en el paciente nº 7, afecto de DM amiofálica y en consecuencia con ausencia de miositis que justifique elevaciones en los niveles de Aldolasa. El paciente nº 4, a pesar de un diagnóstico de DM amiofálica, había desarrollado elevaciones en los niveles de Aldolasa y CPK, pero sin evidencia de afectación muscular histológica y

electromiográfica. Posiblemente se trate de un paciente con una DM premiopática y por ello en este paciente si existía una correlación positiva entre actividad cutánea y niveles enzimáticos, atribuible a esta elevación de los mismos.

En lo referente a la correlación entre puntuación muscular y niveles de Aldolasa, la correlación fue positiva en todos los pacientes a excepción del paciente nº 9. Paradójicamente, en dicho paciente la correlación con la actividad cutánea fue positiva. Esto puede quedar explicado porque el empeoramiento de la debilidad muscular observada en el paciente no es debida a la actividad muscular del proceso (como se ha comentado anteriormente), sino al desarrollo de miopatía esteroidea o atrofia muscular. En consecuencia resulta lógico pensar que en realidad la miositis sigue un curso paralelo a la afectación cutánea, y que por ello los niveles de enzimas musculares se reducirían pese a un empeoramiento de la fuerza muscular. La correlación con la puntuación cutánea sería un artefacto debido a una correlación con la actividad muscular real del proceso, mientras que la puntuación muscular presentaría una correlación inversa derivada del empeoramiento de la fuerza muscular no debida a la miositis.

Al igual que en el caso de los niveles de los PACs estudiados, la correlación entre los niveles de Aldolasa y actividad muscular no fue estimable en los pacientes 4 y 7, como consecuencia del carácter amiopático de su enfermedad.

En el paciente nº 3, la correlación con los parámetros clínicos no fue valorable por la inactividad de la enfermedad.

#### **5.2.1.4. Correlación entre actividad clínica y niveles de CPK.**

Al igual que con la Aldolasa la correlación intrapaciente con las puntuaciones de actividad cutánea y muscular fueron predominantemente positivas. La correlación positiva de este enzima muscular con las puntuaciones cutáneas debe interpretarse, como en el caso de la Aldolasa, como una consecuencia del paralelismo en la evolución de las lesiones cutáneas y de la miositis en la mayoría de pacientes con DM miopática. Sin embargo, contrariamente a lo observado con la Aldolasa, en el paciente nº 4 afecto de DM amiopática pero con elevaciones enzimáticas, los niveles de CPK aumentaron pese a la mejoría de la actividad cutánea del paciente. Esto justifica la correlación negativa observada entre ambos parámetros. También, contrariamente a lo descrito con la Aldolasa, en el otro paciente con DM amiopática (nº 7) la CPK se correlacionó positivamente con la puntuación cutánea.

Las correlaciones entre CPK y las puntuaciones musculares fueron positivas en todos los pacientes excepto en el nº 9. En dicho paciente la correlación es positiva con las puntuaciones cutáneas y negativa con las musculares. La diferencia en la correlación observada entre ambas puntuaciones puede deberse, como hemos comentado anteriormente, al desarrollo de una debilidad muscular no debida a la miositis propia del proceso.

Al igual que con la Aldolasa, la correlación entre puntuación muscular y CPK no fue estimable en los pacientes 4 y 7 por el carácter amiopático del proceso, y en el paciente nº 3 la inactividad de la enfermedad impidió estimar correlación entre esta enzima y las puntuaciones clínicas.

#### **5.2.1.5. Correlación entre actividad clínica y niveles de LDH.**

La correlación intrapaciente observada entre LDH y puntuaciones cutánea y muscular es superponible a la observada con las CPK.

#### **5.2.1.6. Correlación entre actividad clínica y niveles de GOT y GPT.**

Paradójicamente observamos como las correlaciones intrapaciente entre niveles de GOT y puntuación cutánea son todas positivas y con valores predominantemente superiores a los observados con la puntuación muscular. En el caso de las GPT, las correlaciones con la puntuación tanto cutánea como muscular presentan algún valor negativo siendo los valores de correlación generalmente superiores a los de las GOT. En lo referente a la comparación entre puntuación cutánea y muscular por paciente no hay uniformidad en cuanto a cual de los dos parámetros clínicos presenta mayor grado de correlación.

De lo comentado anteriormente, llama poderosamente la atención la tendencia al mayor grado de correlación con la puntuación cutánea que con la muscular observada en el caso de las GOT. Las transaminasas son enzimas de origen básicamente muscular y hepático, por lo cual no parece lógico que el grado de correlación con la actividad cutánea del proceso sea mayor a la observada con la muscular. Estos datos sugieren que la actividad cutánea de la enfermedad se correlaciona mejor con el grado de miositis del proceso (causa que justifica la elevación de dichos enzimas en estos pacientes) que la fuerza muscular determinada por medio de la exploración física. La determinación de la fuerza muscular, aun siendo una escala de valoración con inminente vocación objetiva, presenta posiblemente limitaciones determinadas por la

imposibilidad de detectar cambios menores en el grado de afectación de dicha fuerza. Como se ha comentado anteriormente las puntuaciones en la escala MRC se sitúan frecuentemente en un valor 4, siendo raros los pacientes con puntuaciones inferiores. La falta de especificidad de las transaminasas puede justificar una menor correlación con los parámetros de actividad clínica que la observada con otros enzimas musculares más específicos. No obstante la elevación de las transaminasas por procesos no musculares debería afectar también a la correlación con la puntuación cutánea, por lo cual no puede ser la causa de la diferencia de correlaciones observada con ambas puntuaciones clínicas.

#### **5.2.1.7. Correlación entre actividad clínica y VSG..**

La correlación intrapaciente de las puntuaciones cutánea y muscular con las VSG muestra valores tanto positivos como negativos, en todo el rango (-1 a 1). Se demuestra pues la falta de coherencia de los valores de la VSG como marcadores de actividad de la enfermedad. Llama la atención que los valores de correlación más altos observados entre parámetros de actividad clínica de la DM y VSG se obtuvieron en el paciente nº 1 y 2. En el primero la correlación fue alta y de signo positivo y el paciente característicamente presentaba asociación a otros procesos auto inmunes (tiroiditis de Hashimoto y Sd Sjögren) mientras que en el segundo que presentaba una DM asociada a malignidad la correlación fue muy elevada pero de signo negativo. Los niveles más altos de VSG se observaron característicamente en esta segunda paciente coincidiendo con la diseminación metastásica del proceso, apoyando la correlación entre esta forma clínica de DM y niveles elevados de VSG defendida por diversos autores<sup>241,242</sup>. Estos incrementos coinciden con una mejoría en los parámetros de actividad clínica de la enfermedad posiblemente secundarios a un control del proceso por las dosis crecientes de corticoides administradas, y pueden justificar la correlación negativa obtenida entre parámetros clínicos y este valor analítico.

#### **5.2.1.8. Correlación entre actividad clínica y niveles de C3 y C4.**

En C3 se observan correlaciones intrapaciente negativas tanto con la puntuación cutánea como muscular, mientras que en C4 predominan las negativas siendo las correlaciones algo menos marcadas que con C3. La mayor correlación con C3 coincide con lo observado por otros autores en otros procesos autoinmunes como el LES<sup>511, 535</sup>, y es atribuido a una activación del sistema del complemento predominantemente por la vía clásica. Como en estos procesos, en la DM las correlaciones son predominantemente negativas, fenómeno atribuible a la disminución de los niveles que se producen como consecuencia del consumo de dichos factores por la activación del citado sistema. Estas correlaciones son inversas a las observadas con los PAC, que son los productos derivados de dicha activación y cuyos niveles en consecuencia aumentan con la misma. Por lo general los valores de correlación de C3a-desArg y SC5b-9 fueron superiores a los obtenidos para C3 y C4 en el mismo paciente. Es decir C3a-desArg y SC5b-9 parecen correlacionarse mejor con los parámetros de actividad clínica de la DM que las medidas tradicionales de los factores del complemento. Esta mejor correlación entre niveles de PAC y actividad del proceso que entre dicha actividad y los factores del complemento es superponible a lo descrito por otros autores en el LES<sup>510,527</sup>.

#### **5.2.2. Correlación entre actividad cutánea, muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 valorando los pacientes conjuntamente. Comparación con otros marcadores de actividad.**

Los resultados obtenidos en el análisis de las estimaciones únicas de la correlación de Spearman deben interpretarse con cautela. La significación estadística está evaluada de forma liberal dado que en cada coeficiente de correlación no se estiman dos parámetros sino dos parámetros por paciente. En consecuencia, los grados de libertad son inferiores a los habituales, y el p-value está infraestimado.

### **5.2.2.1. Correlación entre actividad cutánea muscular y global y niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 valorando los pacientes conjuntamente.**

Los resultados obtenidos sugieren que C3a-desArg presenta una mayor correlación que SC5b-9 con los parámetros de actividad de la DM. Como hemos comentado anteriormente los niveles plasmáticos tanto de C3a con C5b-9 se han correlacionado también con la actividad de otras enfermedades autoinmunes como el LES<sup>510, 529, 531, 532, 534</sup>. En algunos de estos estudios observan, también en esta entidad, una menor correlación entre niveles de SC5b-9 y actividad del LES en relación a otros PAC<sup>527</sup>, mientras que otros consideran a SC5b-9 como el PAC que mejor se correlaciona con la actividad de la enfermedad<sup>510, 534, 535</sup>.

Hemos de tener en cuenta que el valor relativamente bajo de la correlación de C3a-desArg con la puntuación cutánea y la ausencia de correlación de este PAC con la puntuación muscular y de SC5b-9 con todos los parámetros de actividad clínica pueden estar influenciadas por el escaso número de pacientes de los cuales se disponía de valores suficientes para realizar este análisis.

Por otro lado los datos sugieren una mayor sensibilidad de la puntuación cutánea frente a la muscular a la hora de establecer el grado de actividad de la enfermedad.

### **5.2.2.2. Correlación entre actividad cutánea muscular y global y otros marcadores de actividad valorando los pacientes conjuntamente.**

Al igual que con C3a-desArg y SC5b-9 los resultados de este análisis deben ser interpretados con cautela por los motivos argumentados. No obstante los resultados ponen de manifiesto una correlación positiva significativa de los niveles de enzimas musculares (a excepción de CPK) con la puntuación cutánea y una ausencia de correlación significativa de este parámetro con el resto de marcadores bioquímicos tradicionales estudiados (VSG, C3 y C4). No se identifican correlaciones significativas entre puntuación muscular con ninguno de estos parámetros.

Estos resultados, aparentemente irracionales, sugieren como ya se ha comentado anteriormente, que posiblemente la puntuación cutánea presente una mayor correlación con el grado de miositis del proceso (causa de la elevación de estas enzimas musculares) que la propia fuerza muscular valorada clínicamente. Esta observación justificaría, en primer lugar, las limitaciones que implica la evaluación tradicional de la actividad de la enfermedad basada exclusivamente en la valoración de la fuerza muscular, y es posiblemente secundaria a la frecuente estabilización de

los valores de fuerza muscular en un nivel 4 y el relativo retraso en la recuperación de la misma una vez recuperada la miositis. En este sentido parece que las lesiones cutáneas, al ser “más objetivamente” valorables, reflejan más fielmente la actividad inflamatoria del proceso, incluso a nivel muscular. En segundo lugar esta observación justificaría la inclusión de la valoración cutánea en las escalas de valoración de la actividad de la enfermedad, tal como proponen diversos autores<sup>383</sup>.

Por otro lado llama la atención que en nuestro análisis las CPK (consideradas como la enzima muscular más útil en el seguimiento de los pacientes con DM) presentan una correlación algo inferior que el resto de enzimas valorados, siendo además una correlación no significativa. Los problemas derivados del diseño del estudio y del escaso número de pacientes podrían contribuir a estas diferencias con respecto a los trabajos publicados previamente.

En cuanto a la intensidad de correlación con la puntuación cutánea de los parámetros con valores significativos observamos que su gradación de mayor a menor es GOT>Aldolasa>GPT>LDH>C3a-desArg, aunque con diferencias poco importantes entre la mayoría de estos marcadores.

Por tanto, contrariamente a lo considerado en las hipótesis del estudio, la correlación entre actividad de la enfermedad y niveles de PAC parece ser inferior a la obtenida con los marcadores tradicionales de actividad de la enfermedad.

Una posible interpretación a esta menor correlación esta ligada a la observación de la elevación de niveles de PAC precediendo a las reagudizaciones clínicas del proceso. Como se ha comentado ampliamente, la implicación del complemento en la patogenia inicial del proceso hace suponer que la activación del citado sistema y en consecuencia la elevación de los niveles de PAC puede preceder, como de hecho hemos demostrado, a la reagudización clínica del proceso y en definitiva al aumento de las puntuaciones de actividad del mismo. Sin embargo las enzimas musculares son liberadas como consecuencia de la lesión de la fibra muscular por la miositis propia del proceso, y en consecuencia la correlación temporal entre el aumento de los niveles de estas enzimas y el desarrollo de debilidad muscular es mayor. Es de suponer también que al aumentar las dosis de inmunomoduladores por el facultativo responsable del control asistencial del paciente, se produzca una inhibición en la activación del sistema del complemento y en consecuencia una reducción de los niveles de PAC que preceda a la mejoría en los parámetros clínicos del mismo. Estas

observaciones son consistentes con lo observado en la representación gráfica visual de la correlación entre PAC y puntuaciones clínicas comentadas anteriormente.

Este decalaje temporal entre aumento y disminución de los niveles plasmáticos de PAC y aumento o disminución en la puntuación de actividad del proceso puede justificar una menor intensidad en la correlación entre estos marcadores que la observada con los más directamente relacionados con la lesión muscular.

Una conclusión derivada de esta observación es que posiblemente y contrariamente a lo considerado en las hipótesis, C3a-desArg y SC5b-9 no sean más útiles en la determinación de la actividad de la enfermedad en un momento dado sino en la predicción de la evolución de la misma en un futuro inmediato.

### **5.3 Determinación puntuales y seriadas de C3a-desArg y SC5b-9 como predictores de la reagudización de la enfermedad. Comparación con marcadores tradicionales de actividad.**

#### **5.3.1. Niveles elevados de PAC como predictores de reagudización:**

No existe experiencia previa en cuanto a la utilización de la determinación de los niveles de PAC en el diagnóstico o predicción de las reagudizaciones de la enfermedad en pacientes con DM. En los estudios previos realizados en pacientes con LES Buyon y colaboradores<sup>528</sup> y Porcel y colaboradores<sup>510</sup> evalúan el valor predictivo, sensibilidad y especificidad de niveles elevados de PAC en la evaluación de reagudizaciones ocurridas en los 3.5 meses siguientes a dicha determinación. Para el mismo fin Manzi y colaboradores<sup>527</sup> establecen 4 meses como periodo entre visitas. Estos autores consideran anormalmente altos aquellos valores que superan en dos desviaciones estándar la media obtenida para dichos valores en una población control.

Evaluamos el intervalo de normalidad de C3a-desArg y SC5b-9 en el grupo control y establecimos el percentil 95 como criterio para identificar los niveles anormalmente elevados de los citados parámetros en las determinaciones previas a las reagudizaciones clínicas de los pacientes. Observamos que tan solo en dos de las cuatro reagudizaciones clínicas se objetivaron niveles previos elevados de C3a-desArg y en el caso de SC5b-9 tan solo uno de los pacientes presentó niveles anormalmente elevados en los controles previos. Las dos reagudizaciones asociadas a elevaciones de C3a-desArg correspondieron a reagudizaciones severas o asociadas a afectación visceral que requirieron de tratamiento parenteral con bolus de corticoides u otros inmunosupresores. Por otro lado se observaron niveles elevados de ambos parámetros en pacientes sin que se evidenciaran reagudizaciones clínicas en los meses posteriores.

En el paciente n° 8 los niveles elevados de ambos PAC corresponden al periodo postdiagnóstico en el cual el paciente presentaba una enfermedad activa y estaba en el periodo inicial del tratamiento inmunomodulador, antes de que existiera evidencia de la respuesta clínica a la citada terapéutica. En el paciente n° 11 no se pudo evaluar la evolución posterior del paciente, al abandonar el estudio tras la primera determinación, pero correspondía a un estadio activo y preterapéutico del proceso.

En definitiva, la determinación aislada de niveles de PAC no parece ofrecer una sensibilidad y especificidad suficientes para predecir las reagudizaciones de los pacientes con DM. Esto puede deberse a la gran variabilidad inter-individual, incluso

entre pacientes control, en los niveles plasmáticos de PAC, que motiva que el intervalo de normalidad sea muy amplio. En consecuencia tan solo el hallazgo de niveles extremadamente elevados, que por otro lado parecen corresponder a las reagudizaciones más severas, sería útil para dicha predicción.

En definitiva, la detección de niveles anormalmente elevados de PAC y en concreto de C3a-desArg sería útil solo para predecir las reagudizaciones más graves de la enfermedad o aquellas asociadas a afectación visceral. Estas conclusiones son descriptivas y teóricas, dado que el escaso número de reagudizaciones valoradas hace imposible validar estadísticamente dichas afirmaciones.

### **5.3.2. Incrementos en los niveles de PAC en la predicción de reagudizaciones: comparación con marcadores bioquímicos tradicionales.**

#### **5.3.2.1. Incrementos en los niveles de PAC y reagudizaciones.**

Dado que la activación del complemento parece preceder a la lesión tisular y la clínica del proceso, nosotros consideramos el posible interés de valorar cambios prospectivos en el grado de activación del sistema del complemento en cada paciente, determinados a través de cambios en los niveles plasmáticos de PAC, para relacionarlos con posteriores brotes de reagudización de la enfermedad. Consideramos, como se ha demostrado en la primera parte de nuestro estudio, la posible existencia de niveles de activación de dicho sistema y en consecuencia de PAC muy variables entre diferentes individuos. Por ello determinaciones aisladas y comparadas con la media poblacional no nos pueden ofrecer tanta información como los cambios prospectivos observado en cada individuo.

En la DM se ha valorado la relación entre las variaciones evolutivas de los niveles de otros marcadores de actividad, como los enzimas musculares o el vWF:Ag, en cada paciente con las reagudizaciones clínicas del proceso, pero los estudios realizados hasta el momento sobre la utilidad de la determinación de PAC en la predicción de reagudizaciones en otras enfermedades como el LES no han valorado las variaciones evolutivas en los niveles en cada paciente. Porcel y colaboradores tan solo valoran a posteriori la normalización de los valores de PAC una vez resuelto el brote de actividad de la enfermedad en 7 de sus pacientes. Por ello no hemos encontrado bibliografía que establezca a partir de que nivel un incremento en los valores de PAC debería considerarse valorable. Es por ello que consideramos todos los incrementos en los

niveles de PAC observados, cuantificándolos para determinar si existía relación entre el grado de incremento y el desarrollo de reagudizaciones posteriores.

En cuanto a la separación temporal entre la determinación analítica y la valoración de reactivación clínica hemos considerado, basándonos en los trabajos realizados previamente en DM<sup>395</sup>, un periodo entre visitas de aproximadamente 2 meses y una valoración de niveles en los 4 meses previos.

Observamos como en todos los pacientes que desarrollaron reagudizaciones en las que disponíamos de datos para valorar cambios prospectivos en los niveles de PAC se detectaron elevaciones de C3a-desArg en los 4 meses previos. Estos incrementos fueron superiores al 12% en todos los pacientes, superando el 300% y 500% en los pacientes 8 y 9 respectivamente. En lo referente a los niveles de SC5b-9 estos aumentaron en 3 de las 4 reagudizaciones valoradas y disminuyeron en los meses previos en una. Los incrementos observados superaron el 19%, alcanzando el 600% en el paciente número 9.

En el paciente nº 8 la reagudización observada es especialmente intensa a nivel cutáneo, desarrollando lesiones extensas y erosiones, lesiones poco frecuentes y objetivadas en formas especialmente agresivas de la enfermedad. La reagudización diagnosticada en la paciente nº 9, fue severa, asociando empeoramiento de las lesiones cutáneas y de la clínica muscular al desarrollo de neumopatía intersticial, que motivaron el ingreso de la pacientes y la instauración de tratamiento con Ciclofosfamida.

En una paciente (nº 5) se objetivó una reagudización grave de la enfermedad entre las visitas 1 y 2. La falta de determinaciones de los niveles de PAC previas a la primera visita no permitió determinar incrementos previos en los mismos. No obstante los niveles de C3a-desArg en el control previo a la reagudización fueron 5 veces superiores a la media de los pacientes con DM activa. Paradójicamente los niveles de SC5b-9 no se encontraban elevados con respecto a los de los pacientes control en ese mismo momento.

Los datos expuestos sugieren por tanto una alta sensibilidad de las elevaciones prospectivas de los niveles plasmáticos de PAC, especialmente de C3a-dseArg, en la predicción de reagudizaciones de la enfermedad. No solo esto sino que el grado de incremento de los citados niveles parece estar relacionado con la severidad de la citada reagudización, hecho que supone otro dato indirecto que apoya el posible papel patogénico del sistema del complemento en la patogenia del proceso y no sólo a nivel cutáneo y muscular sino también probablemente a nivel pulmonar. En estos casos de

reagudizaciones especialmente agresivas (en los pacientes 5 y 9), los niveles previos de PAC, fundamentalmente los de C3a-desArg fueron tan elevados que sugieren, como hemos comentado anteriormente, una utilidad de las determinaciones aisladas del citado marcador en la predicción de reagudizaciones severas o asociadas a afectación pulmonar.

Hay que tener en cuenta, no obstante, que hemos observado también aumentos en los niveles de estos PAC en pacientes en ausencia de evidencia de reagudización clínica, en concreto en pacientes con procesos infecciosos o auto inmunes como la enfermedad inflamatoria intestinal, e incluso en pacientes en ausencia de asociación a ninguna de estas situaciones, lo cual obviamente les resta especificidad como marcadores de reagudización.

En definitiva, los niveles plasmáticos de PAC, especialmente de C3a-desArg parecen ser útiles en la predicción de las reagudizaciones de la enfermedad. Por un lado, los resultados observados sugieren que determinaciones aisladas de niveles especialmente elevados o incrementos importantes en los niveles previamente observados se relacionarían con reagudizaciones severas de la enfermedad o al posible desarrollo de neumopatía intersticial en los meses siguientes a dichas observaciones.

En los pacientes con reagudizaciones moderadas la observación de incrementos discretos en las determinaciones seriadas en los meses previos podrían alertar sobre dichas reagudizaciones. En estos pacientes las determinaciones aisladas carecerían de valor al ser, los niveles basales, muy variables entre los diferentes pacientes. La falta de especificidad de los citados incrementos obligará no obstante a descartar, ante cualquier incremento evolutivo en los niveles de PAC, procesos inflamatorios o infecciosos que pudiesen ser causantes de los mismos antes de establecer una sospecha de reagudización.

### 5.3.2.2. Comparación con otros marcadores analíticos de actividad del proceso.

Los valores obtenidos con respecto a los diferentes parámetros estudiados han sido comentados anteriormente en la sección de resultados:

<b>Parámetro</b>	<b>Sensibilidad (%)</b>	<b>Especificidad (%)</b>	<b>Eficacia (%)</b>	<b>Riesgo absoluto (%)</b>
<b>C3a-desArg</b>	100	83,3	86,3	57,1
<b>SC5b-9</b>	75	77,7	77,2	42,8
<b>GOT</b>	25	88,8	77,2	33,3
<b>GPT</b>	25	94,4	81,8	50
<b>LDH</b>	75	94,4	90,9	75
<b>CPK</b>	75	88,8	86,3	60
<b>Aldolasa</b>	33,3	81,2	73,6	25
<b>VSG</b>	50	75	70	33,3
<b>C3</b>	0	100	80	-
<b>C4</b>	0	100	80	-

Al comparar con la capacidad predictiva de los otros parámetros analíticos habitualmente estudiados observamos que en las condiciones planteadas en el estudio las variaciones de los niveles de C3a-desArg son el indicador más sensible de predicción de reagudizaciones, con una sensibilidad del 100%. Le siguen las variaciones en SC5b-9, LDH y CPK con una sensibilidad del 75%, la VSG con un 50%, la Aldolasa con un 33,3% y finalmente las GOT y GPT con un 25%. Las disminuciones de C3 y C4 en las condiciones planteadas no mostraron ninguna utilidad en la predicción de reagudizaciones. Los PAC estudiados muestran igualmente unos niveles de especificidad suficientemente elevados (83,3 y 77,7%), aunque algo inferiores a los de los enzimas musculares (81-94%).

La baja especificidad de los PAC como predictores de reagudización resulta comprensible si tenemos en cuenta la amplia implicación del complemento en innumerables procesos inmunológicos a parte de su papel en la patogenia de la DM. Así cualquier proceso infeccioso o inmunitario en el que esté implicado este sistema puede motivar elevaciones de los niveles de PAC en ausencia de reagudizaciones clínicas del proceso (como observamos en los pacientes nº 3 y 4º). Por el contrario, en el caso de las enzimas musculares, sin ser marcadores de actividad absolutamente específicos, el espectro de posibles causas que modifiquen sus niveles es más limitado y en consecuencia la especificidad de dichos marcadores es superior.

Llama especialmente la atención la reagudización diagnosticada en la paciente nº 9. A pesar de haber desarrollado un brote de reagudización grave, incluyendo empeoramiento de fuerza muscular y neumopatía intersticial, los únicos parámetros que se modifican significativamente en los controles previos son los niveles de PAC.

Hay que tener en cuenta que el estudio incluía a pacientes con diversas formas clínicas de DM, entre ellas formas amiopáticas. Dado que en estos pacientes no existe afectación muscular, sería lógico pensar que los niveles enzimáticos de estos pacientes permaneciesen inalterados durante las reagudizaciones del proceso, y que esto podría restarles sensibilidad en la predicción o diagnóstico de las reagudizaciones. No obstante de los pacientes que desarrollaron reagudizaciones valorables durante el control evolutivo tan solo uno (paciente nº 7) correspondía a una DMA. Durante la reagudización el paciente desarrolló, pese al carácter amiopático de la enfermedad, clínica de mialgia en ausencia de debilidad y alteraciones electromiográficas o histológicas musculares. Sin embargo los niveles de GOT, GPT y Aldolasa se incrementaron significativamente. No parece por ello lógico pensar que la menor sensibilidad de los enzimas musculares obtenida en nuestro estudio esté influenciada por el carácter amiopático de algunos de los pacientes incluidos.

El único enzima muscular cuyos niveles no aumentaron en la reagudización de este paciente fue la CPK, y por ello si se podría considerar que en este caso la sensibilidad de este enzima en el diagnóstico o predicción de reagudizaciones puede estar influenciada por tratarse de una forma amiopática. No considerando este caso su sensibilidad para la predicción de reagudizaciones en pacientes con DM miopáticas sería, al igual que en el caso de C3a-desArg, del 100%.

En definitiva, en las condiciones planteadas en el estudio, la elevación de niveles de C3a-desArg con respecto a valores previos sería el marcador más sensible para predecir

las reagudizaciones clínicas en pacientes con DM, presentando además valores de especificidad elevados.

Todas estas consideraciones deben ser interpretadas con cautela. El escaso número de pacientes y sobre todo el escaso número de reagudizaciones valoradas determinan que estos valores calculados carezcan de significación estadística. En definitiva esta parte del estudio debe considerarse como meramente descriptiva desde el punto de vista clínico. Nos permite apoyar las hipótesis planteadas, sin poder confirmarlas y posiblemente nos ayude a decidir la forma de diseñar y realizar posteriores estudios.

## **6. CONCLUSIONES:**



1. La hipótesis de la implicación del sistema del complemento en la patogenia de la DM asienta sobre evidencias directas, como la observación de depósitos del CAM a nivel tisular (muscular y cutáneo) en las biopsias de pacientes con DM, e indirectos como la efectividad de los tratamientos específicos anti complemento en el tratamiento de pacientes con DM. La observación de niveles elevados de C3a-desArg en pacientes con DM activa frente a pacientes con enfermedad inactiva o controles apoya la existencia de una activación del sistema del complemento en los pacientes con esta enfermedad, y que el grado de dicha activación se relaciona con el grado de actividad del proceso.
2. La correlación entre actividad de la enfermedad y niveles de PAC, si bien fue superior a la obtenida con las medidas tradicionales del complemento (C3 y C4) en la mayoría de pacientes, no superó a la de los marcadores tradicionales de actividad de la enfermedad. Estos PAC tendrían por ello un valor limitado a la hora de utilizarse como marcador de actividad de la enfermedad en un momento determinado.
3. Los resultados de nuestro estudio sugieren la utilidad de la determinación seriada de C3a-desArg en la predicción evolutiva a medio plazo de los pacientes con DM. El incremento en los niveles plasmáticos de este PAC con respecto a determinaciones previas sería un indicador de riesgo de reagudización clínica en los meses siguientes a dicho incremento. Los datos obtenidos sugieren que los incrementos moderados en los niveles de C3a-desArg se correlacionarían con reagudizaciones clínicas moderadas mientras que los incrementos importantes lo harían con reagudizaciones graves. Debemos pero considerar siempre la escasa especificidad de este marcador derivada de su papel en innumerables procesos inmunológicos.
4. Unos niveles muy elevados de C3a-desArg en ausencia de determinaciones previas se relacionarían igualmente con un riesgo de reagudización clínica grave.

5. En comparación con el resto de marcadores analizados, C3a-desArg se muestra como el marcador más sensible para la predicción de reagudizaciones. Serían necesarios estudios multicéntricos que permitiesen incluir un número de casos y reagudizaciones suficientes para que dicha afirmación alcanzase significación estadística.
6. Otra conclusión inesperada derivada de los resultados obtenidos es que los niveles plasmáticos de C3a-desArg y SC5b-9 podrían ser de utilidad a la hora de diferenciar entre miopatía secundaria a miositis o a miopatía esteroidea o atrofia en los pacientes con DM en tratamiento. El empeoramiento de la fuerza muscular asociado a una disminución progresiva de los niveles plasmáticos de estos PAC que se observaría en caso de mejoría de la miositis, sugerirían un origen no inflamatorio de la citada debilidad.
7. La valoración de la actividad de la enfermedad a través de la cuantificación de las lesiones cutáneas se ha mostrado en este estudio como un marcador más preciso que la determinación de la fuerza muscular. Los niveles de enzimas musculares se correlacionan mejor con el grado de afectación cutánea que con la fuerza muscular. Este dato apoya la utilidad de la inclusión de la valoración cutánea en las escalas de valoración de la actividad de la enfermedad.
8. La VSG no parece mostrar una correlación coherente con el grado de actividad de la enfermedad pero nuestros hallazgos sugieren, como se ha comentado en estudios previos, una posible asociación de niveles elevados en este parámetro con formas clínicas especiales de la enfermedad como la asociada a conectivopatías o malignidad.
9. Estas observaciones previas sugieren el interés de incluir la determinación seriada de los PAC como herramienta adicional en el control evolutivo de los pacientes con DM.

## ***7. ANEXO***

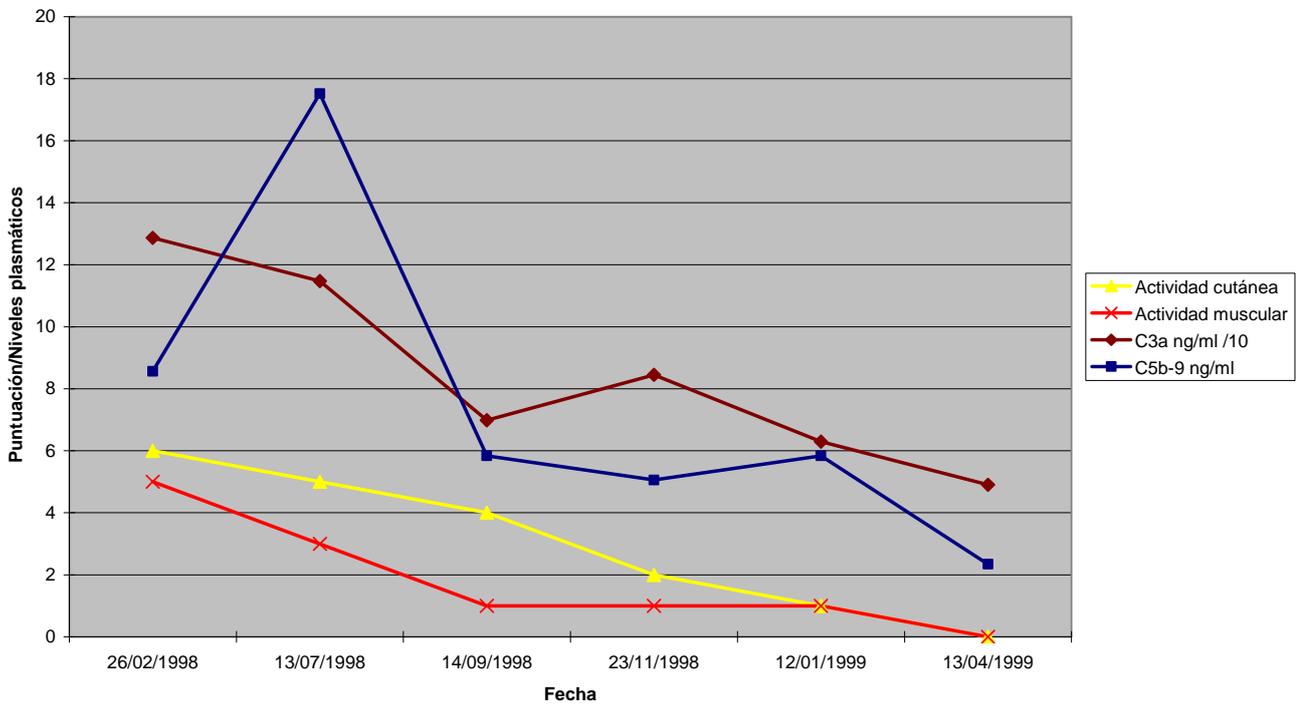


Figura 3: Exploración física de grupos musculares

Músculo	Posición enfermo	Posición miembro	Apoyo	Fijación	Presión explorador	Acción
Deltoides	sentado	codo flexionado	-	escápula si precisa	sobre extremo distal húmero	abducción hombro
Bíceps braquial	supino o sedente	codo a casi 90°, antebrazo supinación	mano explorador debajo de codo	-	sobre parte distal de antebrazo prov. Extensi.	Flexión codo
Radiobraquial	supino o sedente	antebrazo en pronación casi completa	-	-	sobre dorso de mano 2° meta.	Extensión hacia lado radial
Tríceps braquial	sentado	brazo extendido codo semiflex	mano explorador parte distal brazo	-	parte distal antebrazo provocando flexión codo	extensión codo
Iliopsoas	decúbito supino	pierna en discreta abducción y rotación ext.	-	Mano expl. Fijando cresta ilíaca contralateral	cara antero interna de pierna prov. Abd. y exten.	Flexión cadera
Glúteo mayor	decúbito prono	rodilla flexionada a 90° o más	-	mano explorador fijando col lumbar	cara posterior parte inferior muslo provo. Flexión cadera	extensión cadera
Cuadriceps	sentado borde mesa	rodilla flexionada 90 pierna colgando	-	mano apretando muslo contra mesa	pierna por encima de tobillo	extensión rodilla
Extensores rodilla	decúbito prono	rodilla flexionada a menos de 90°	-	mano fijando muslo a mesa	parte post inf pierna prov ext rodilla	extensión muslo
Flexores cuello	decúbito supino	codos doblad manos encima cabeza y apoyados en mesa	-	mano apretando tórax hacia mesa	mano sobre frente provocando extensión	flexión columna cervical mentón hacia pecho
Extensores cuello	decúbito prono	borde mesa cabeza colgando flex	-	mano fijando tórax a mesa	mano sobre nuca impidiendo extensión	extensión cuello

Figura 26: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 1.

Actividad clínica-C3a/SC5b-9



Actividad clínica-marcadores bioquímicos de actividad

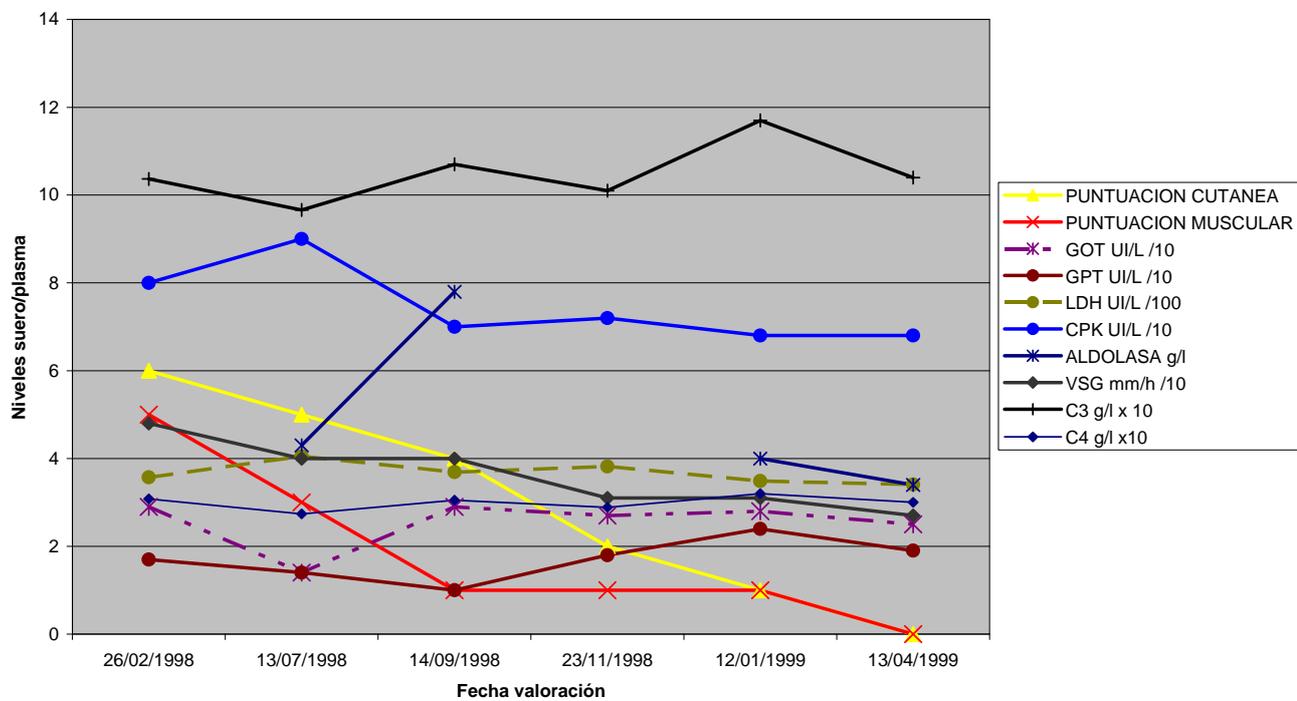


Figura 27: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 2.

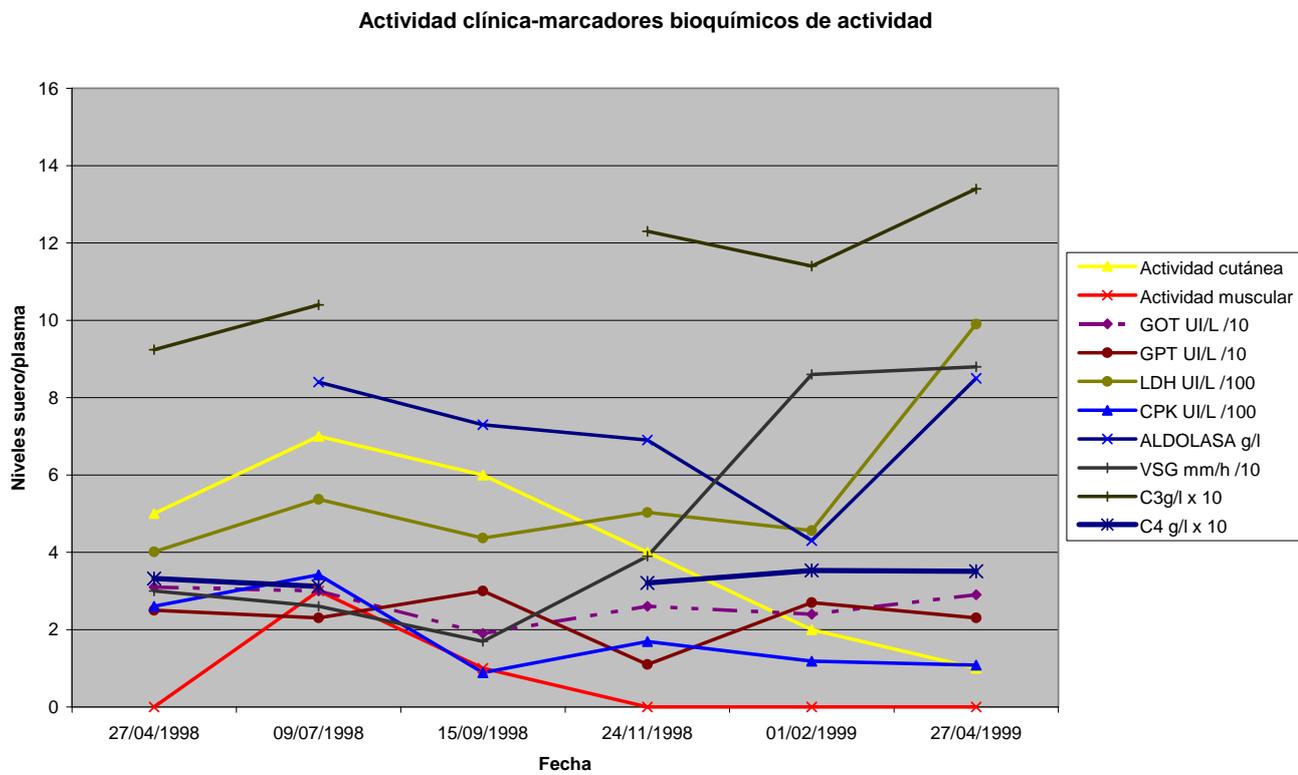
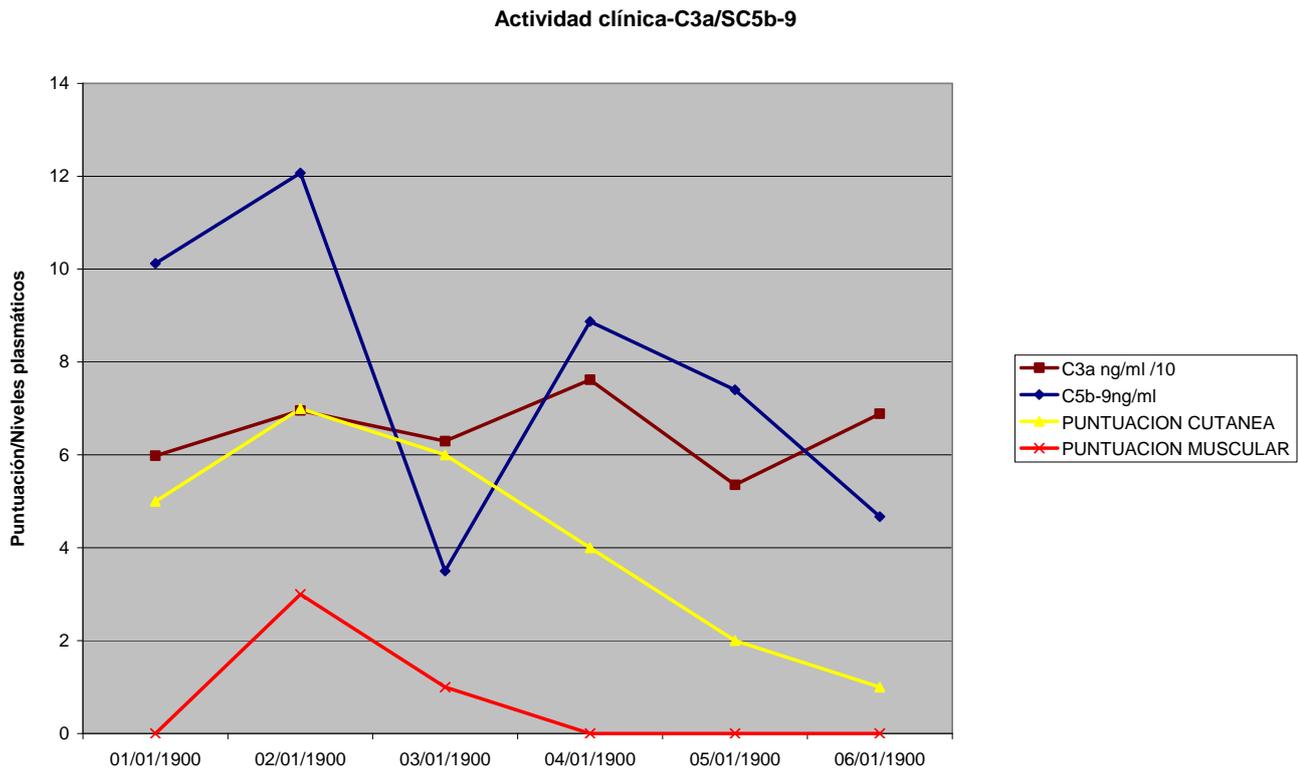
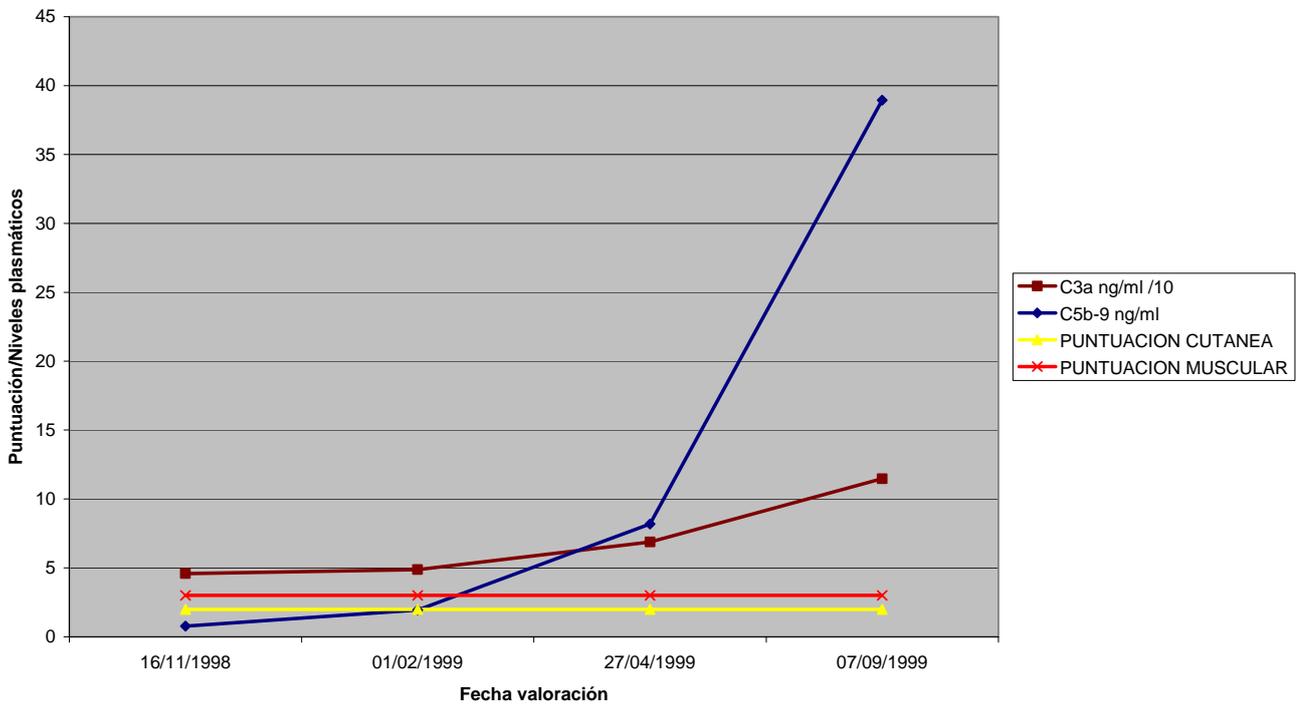


Figura 28: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 3.

Actividad clínica-C3a/SC5b-9



Actividad clínica-marcadores bioquímicos de actividad

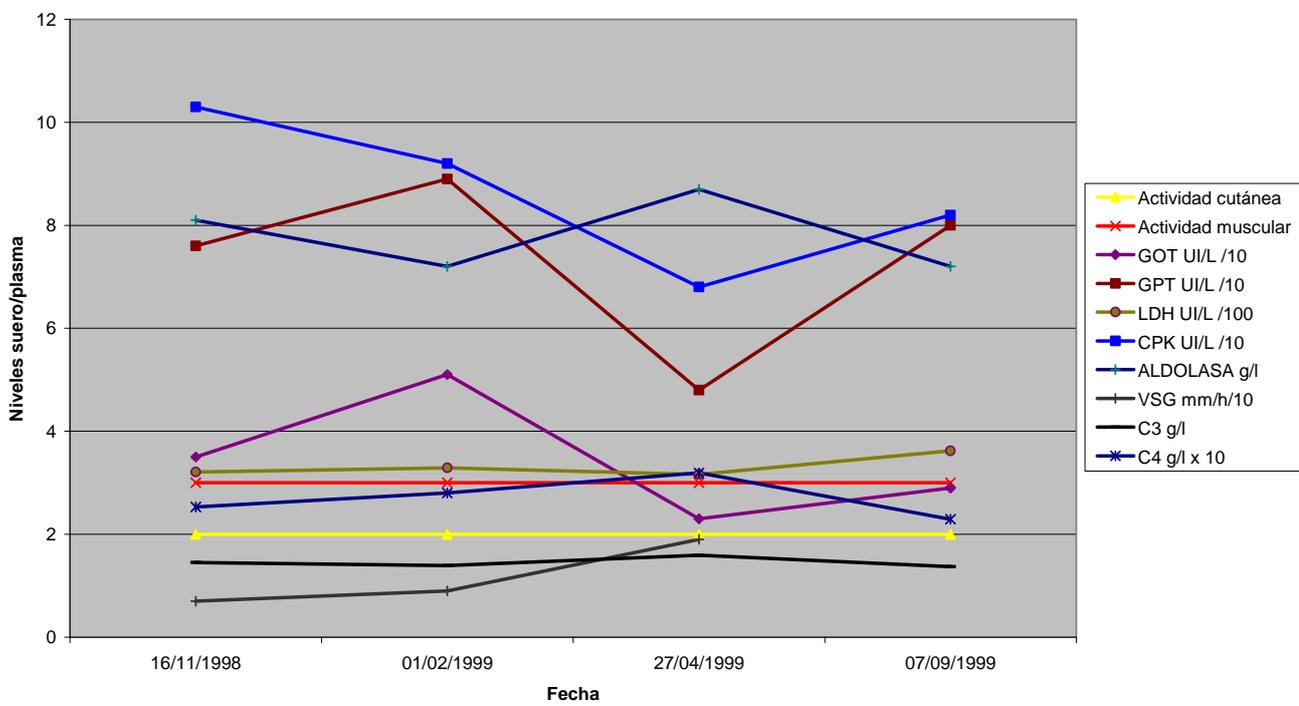


Figura 29: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 4.

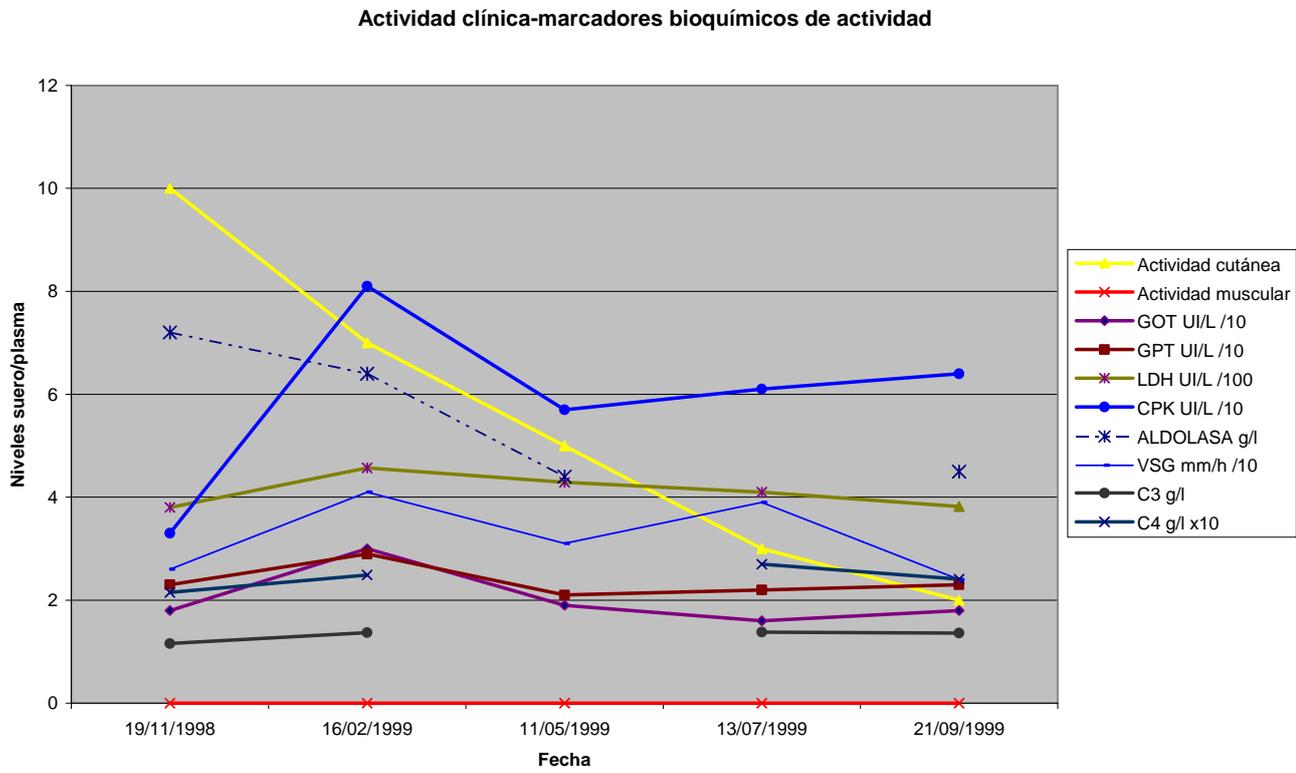
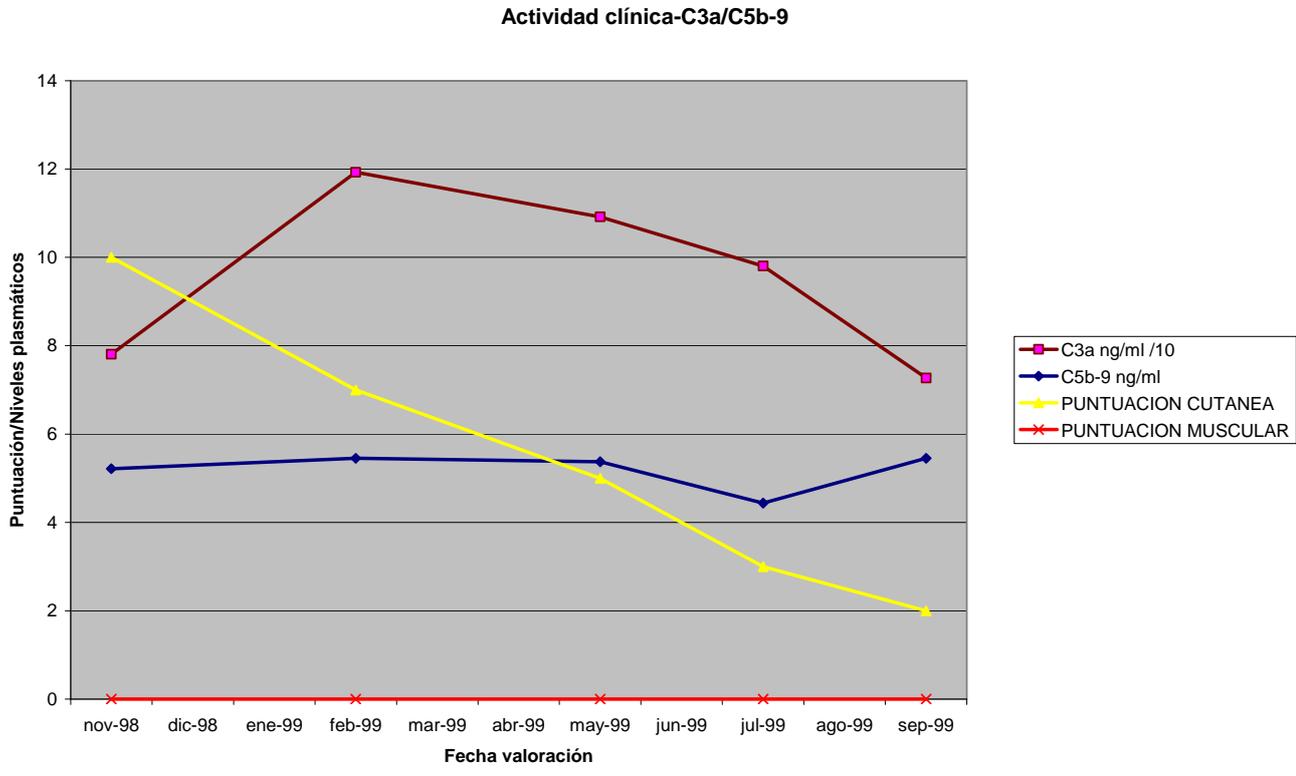
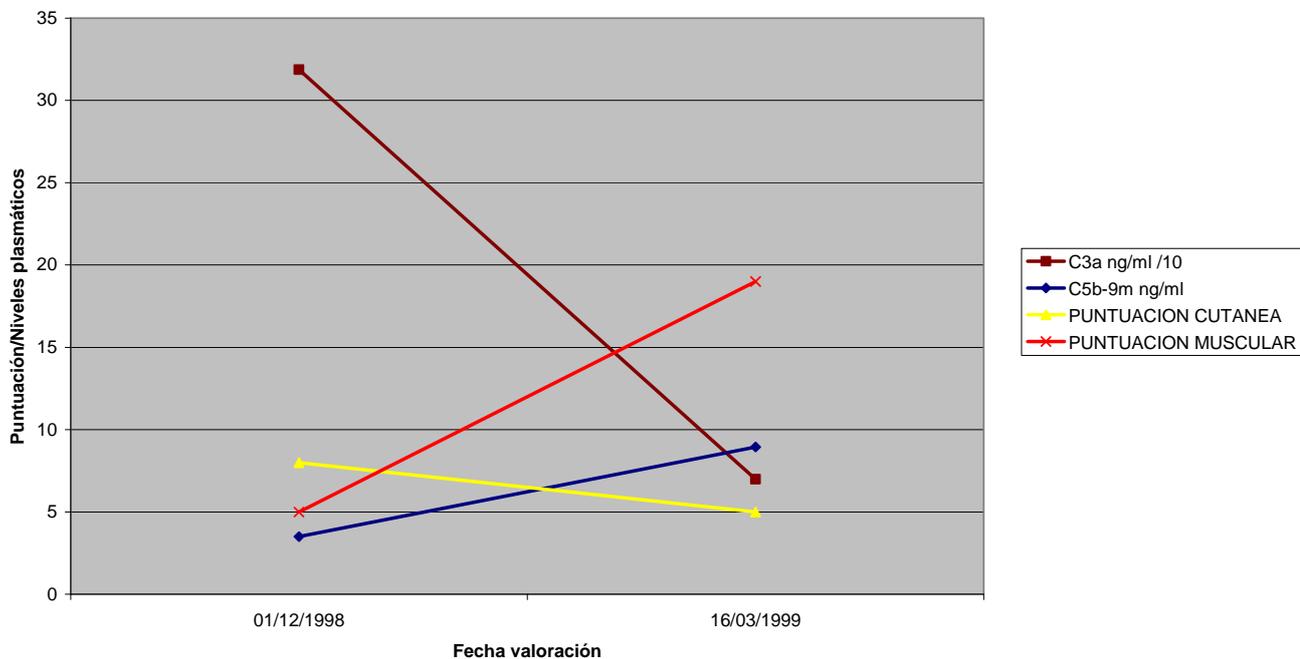


Figura 30: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 5.

Activación complemento-C3a/SC5b-9



Actividad clínica-marcadores bioquímicos de actividad

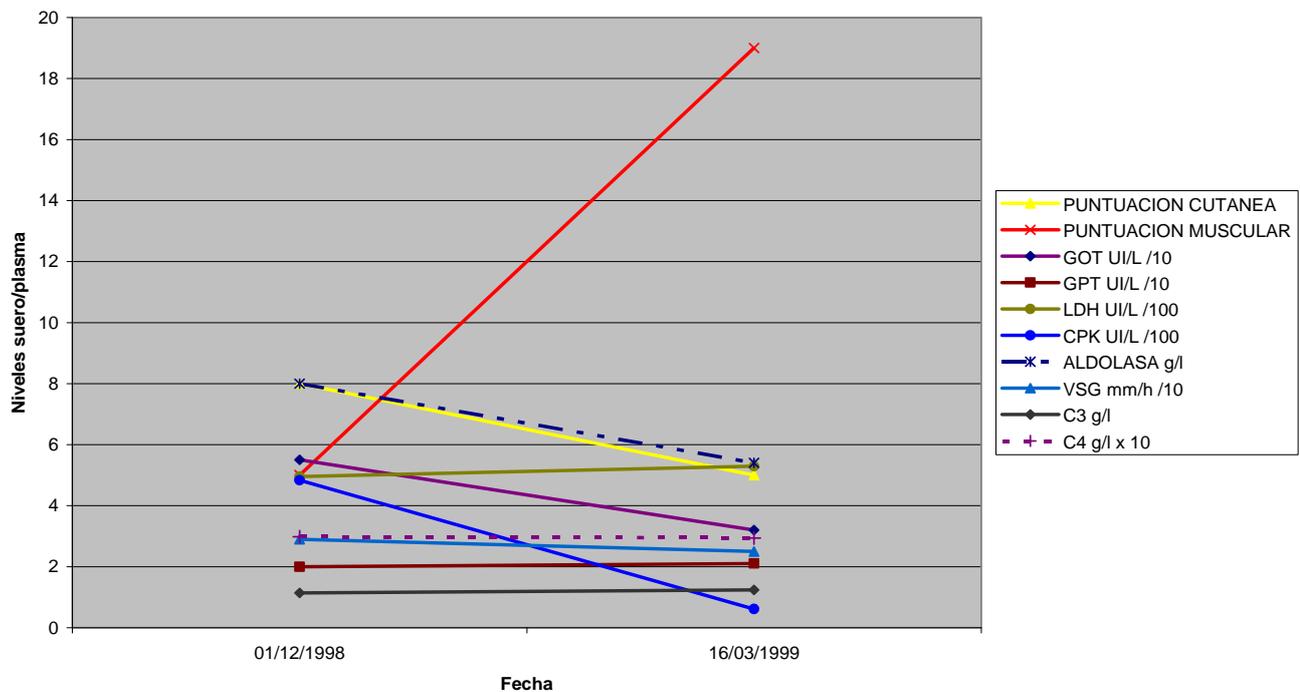


Figura 31: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 7.

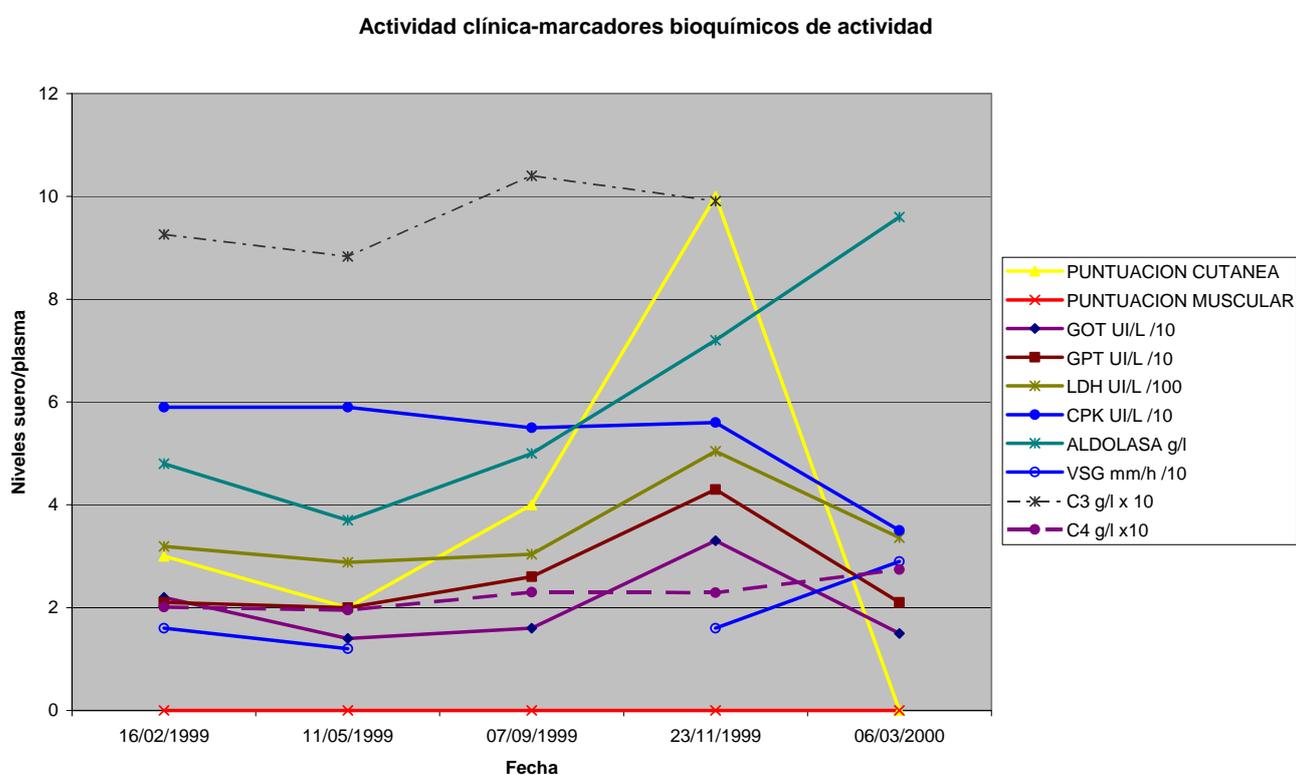
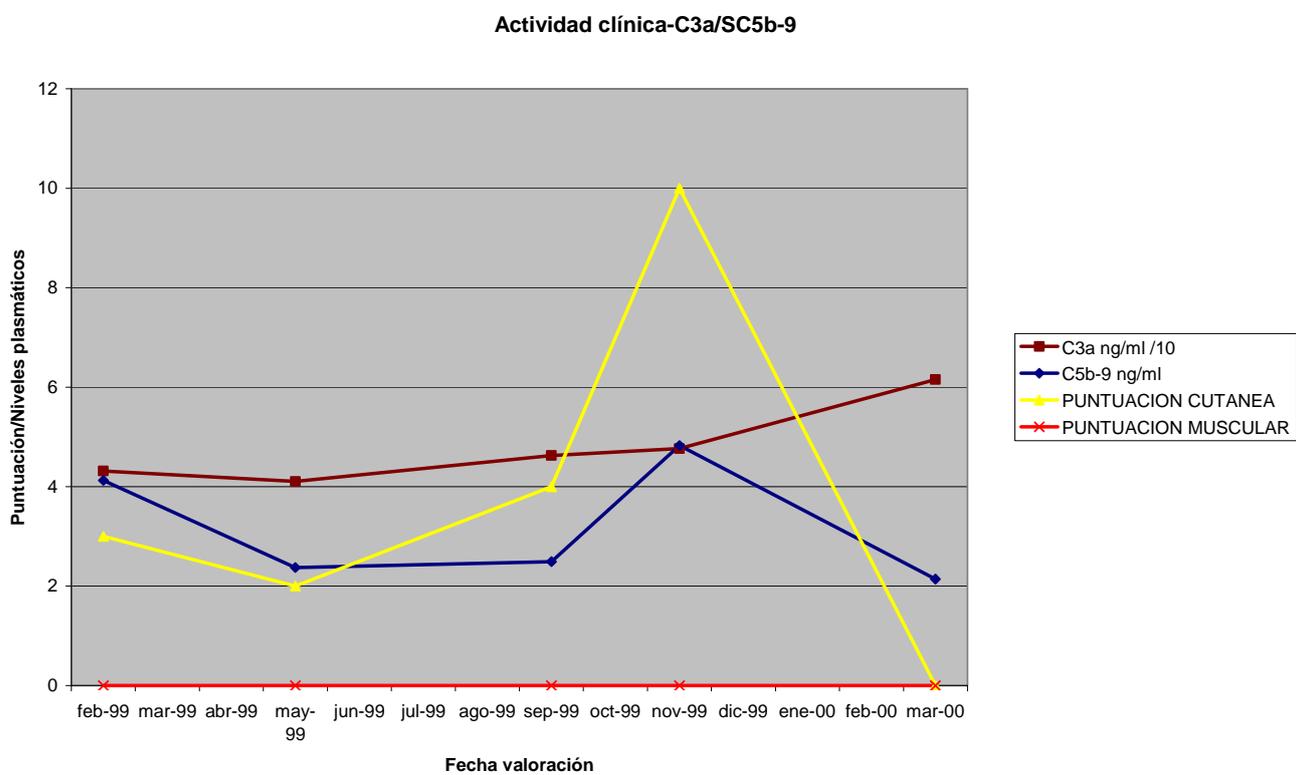


Figura 33: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 9.

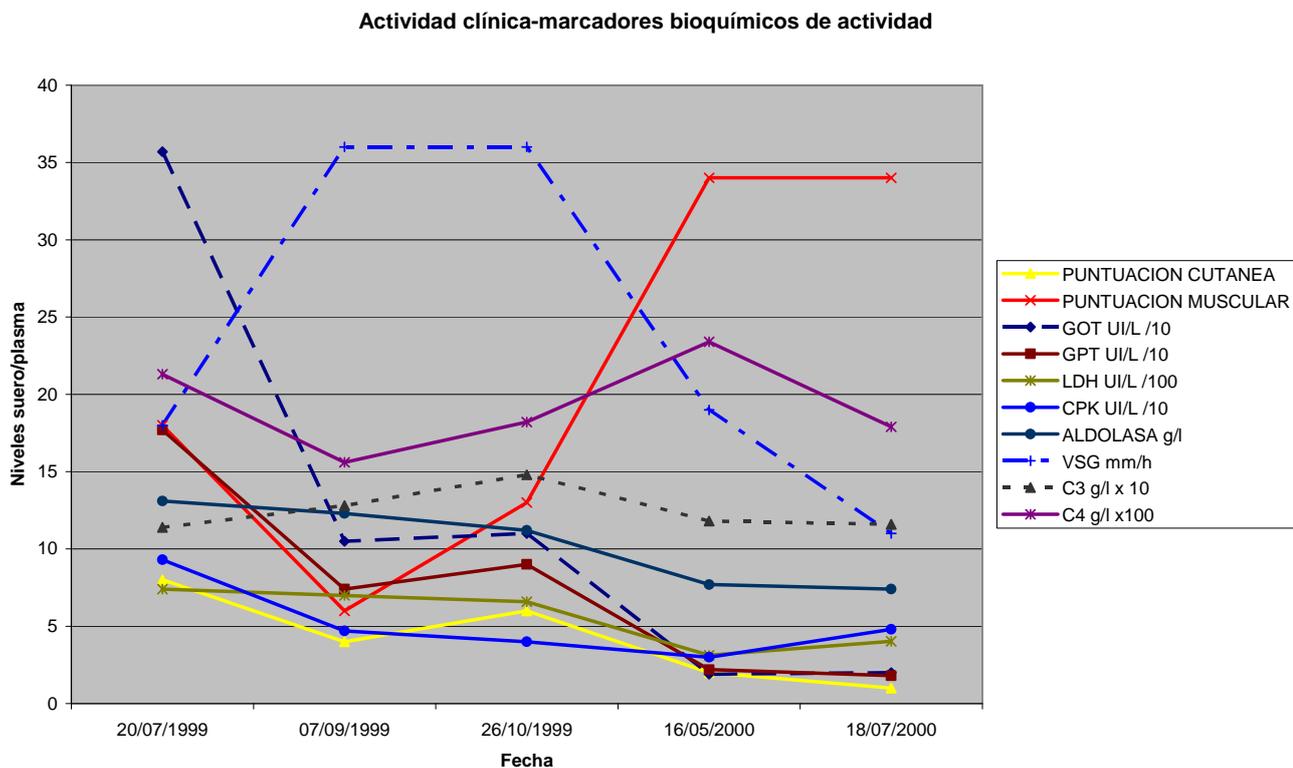
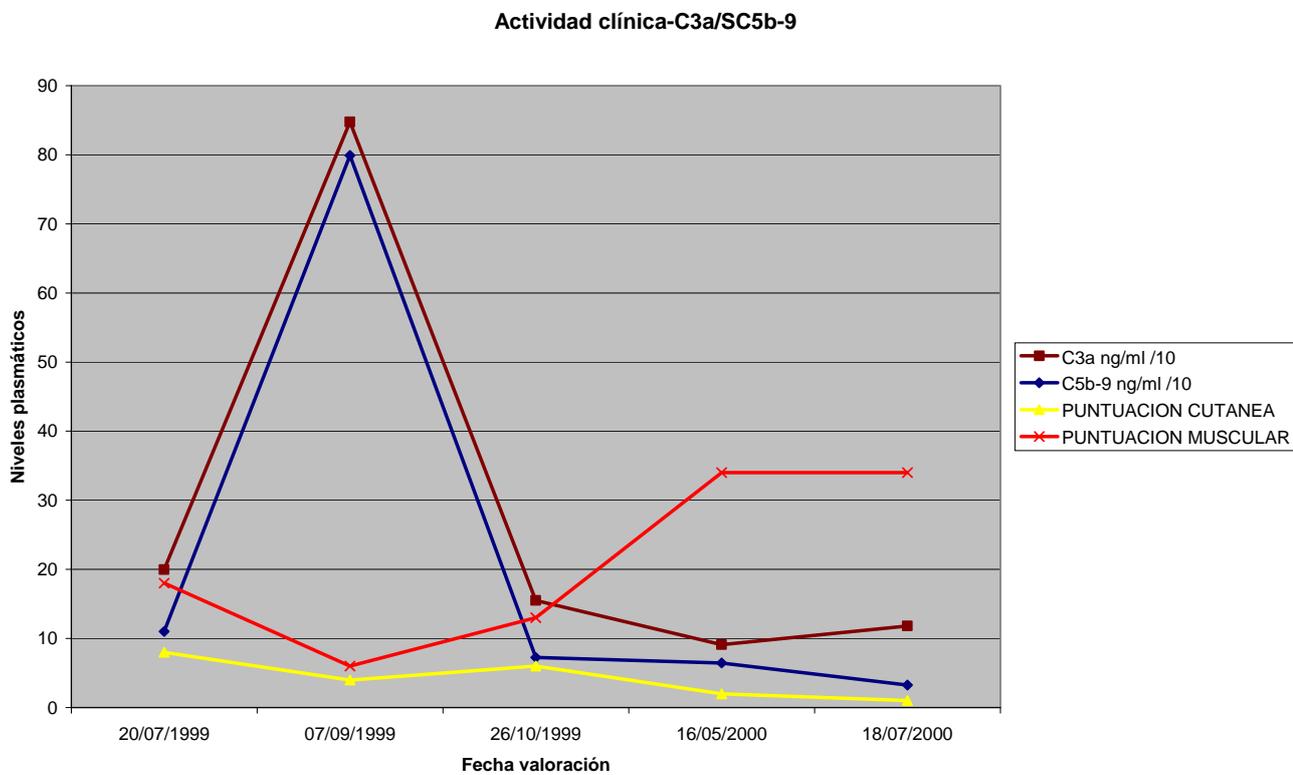


Figura 34: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 12.

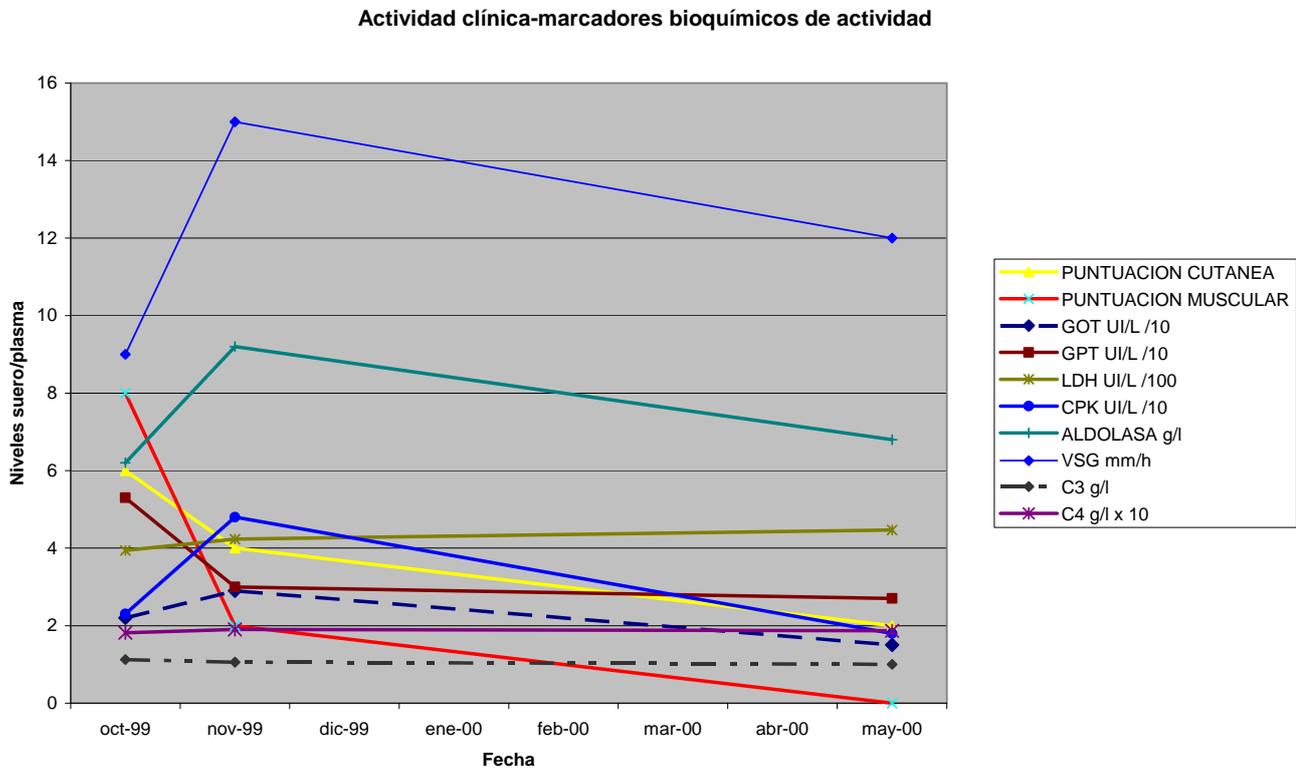
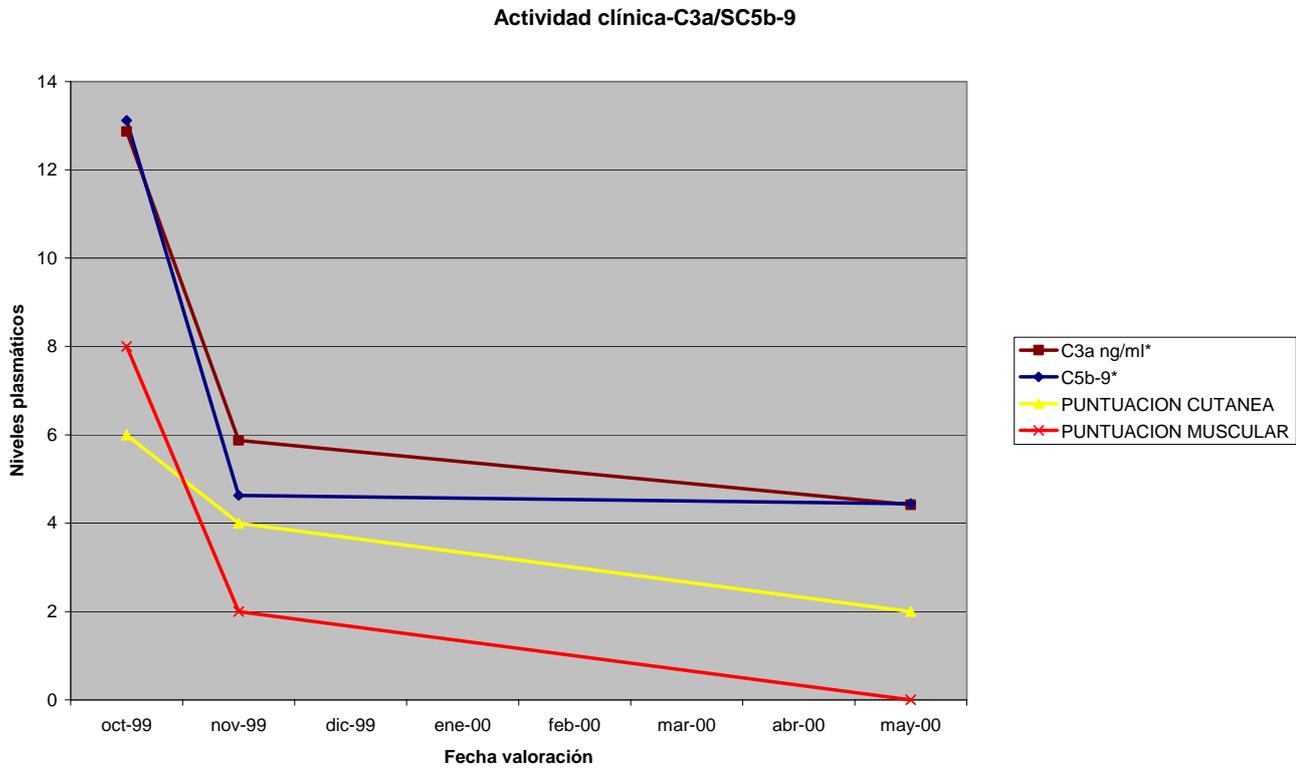
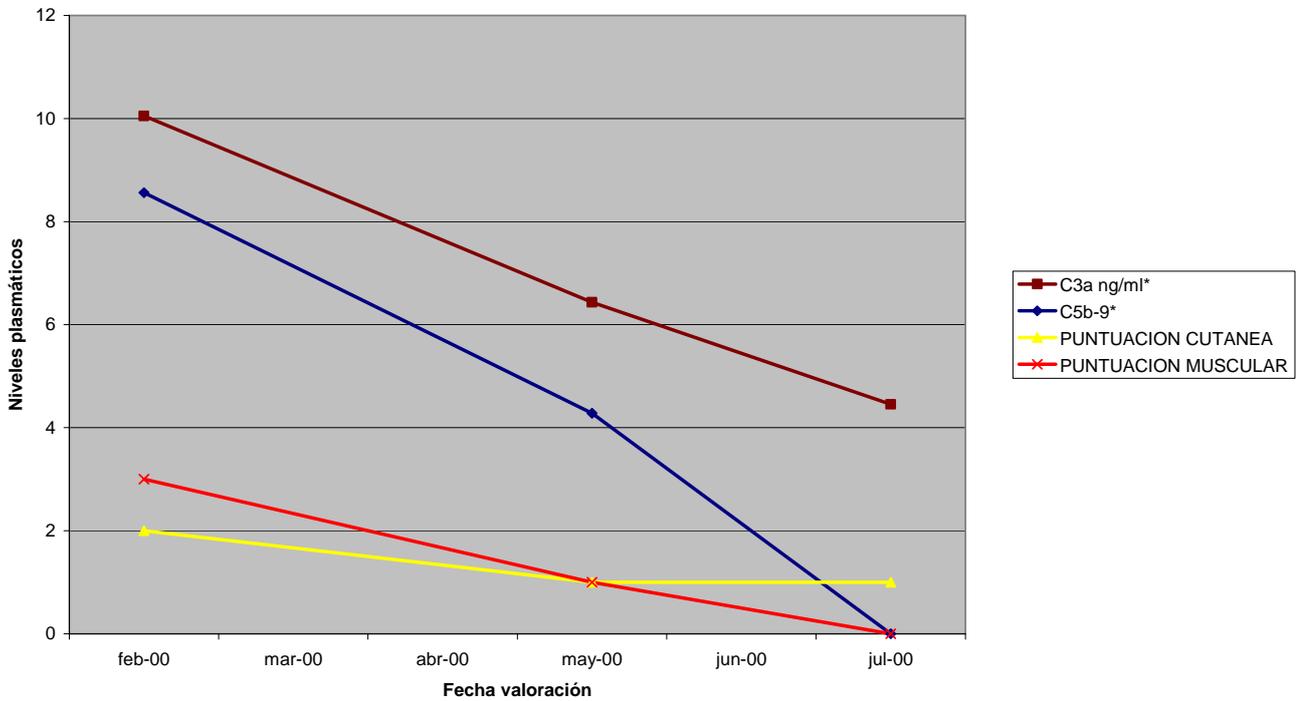


Figura 35: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 13.

Actividad clínica-C3a/SC5b-9



Actividad clínica-marcadores bioquímicos de actividad

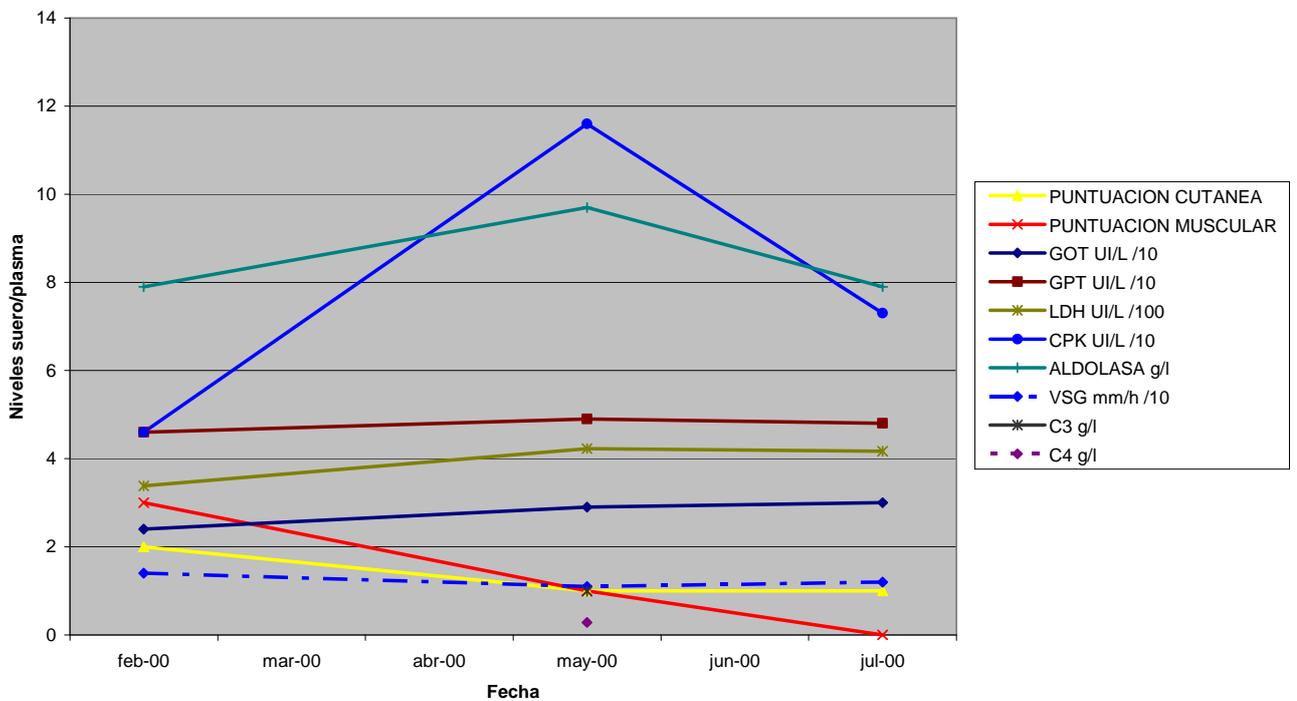


Figura 36: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente n° 14.

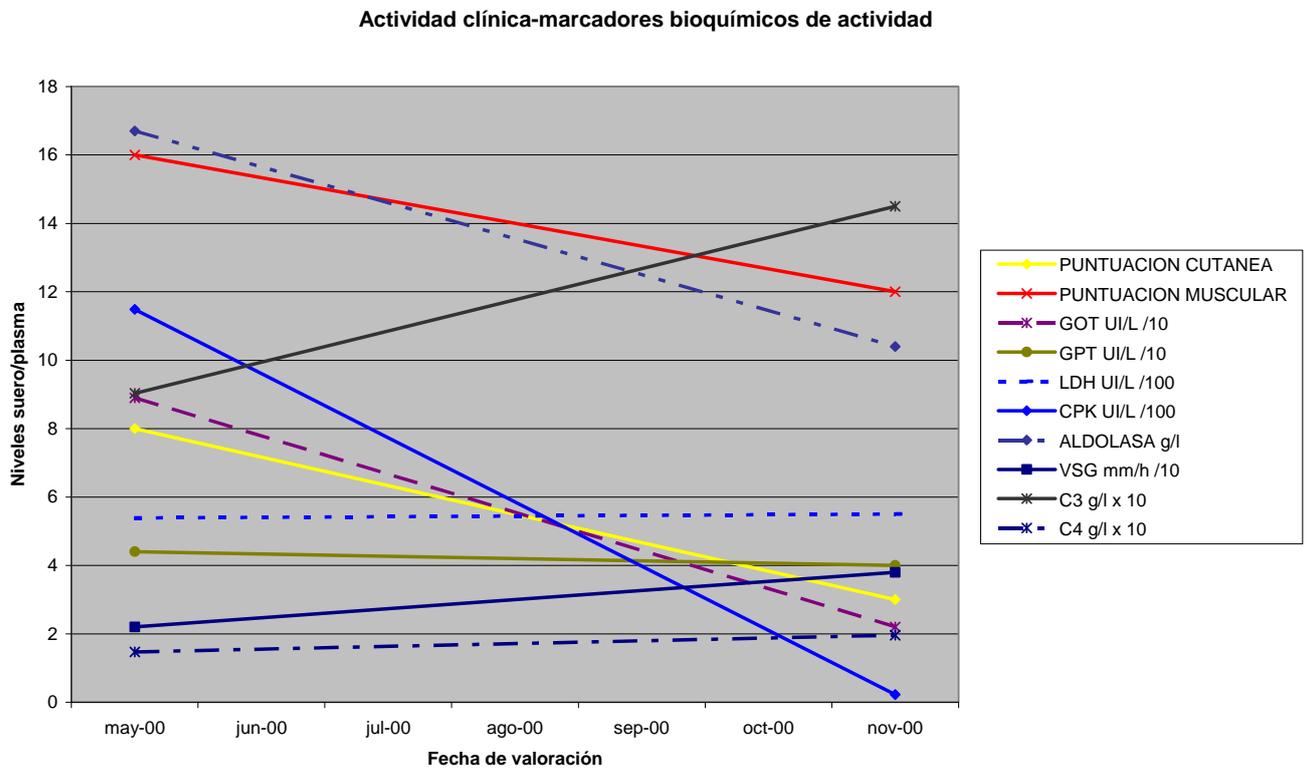
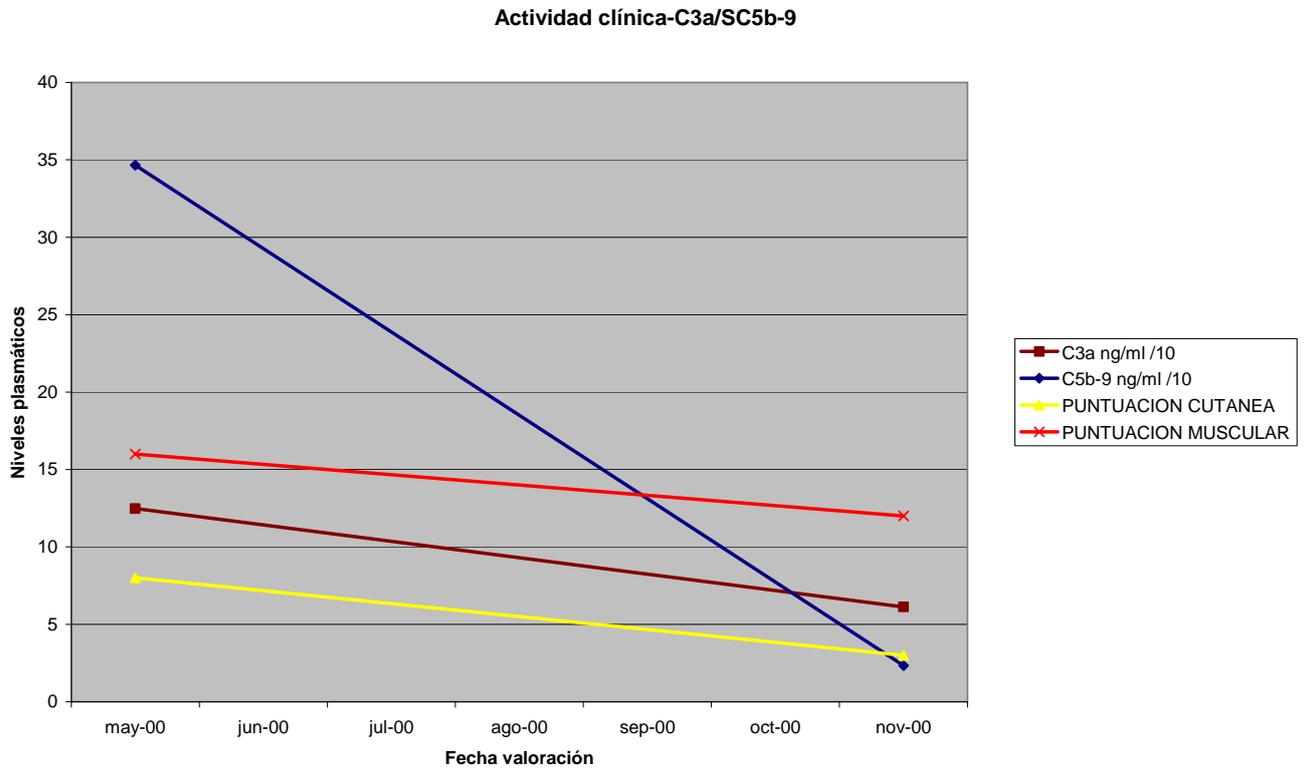


Figura 37: Variación de parámetros analíticos y clínicos en el paciente nº 15.

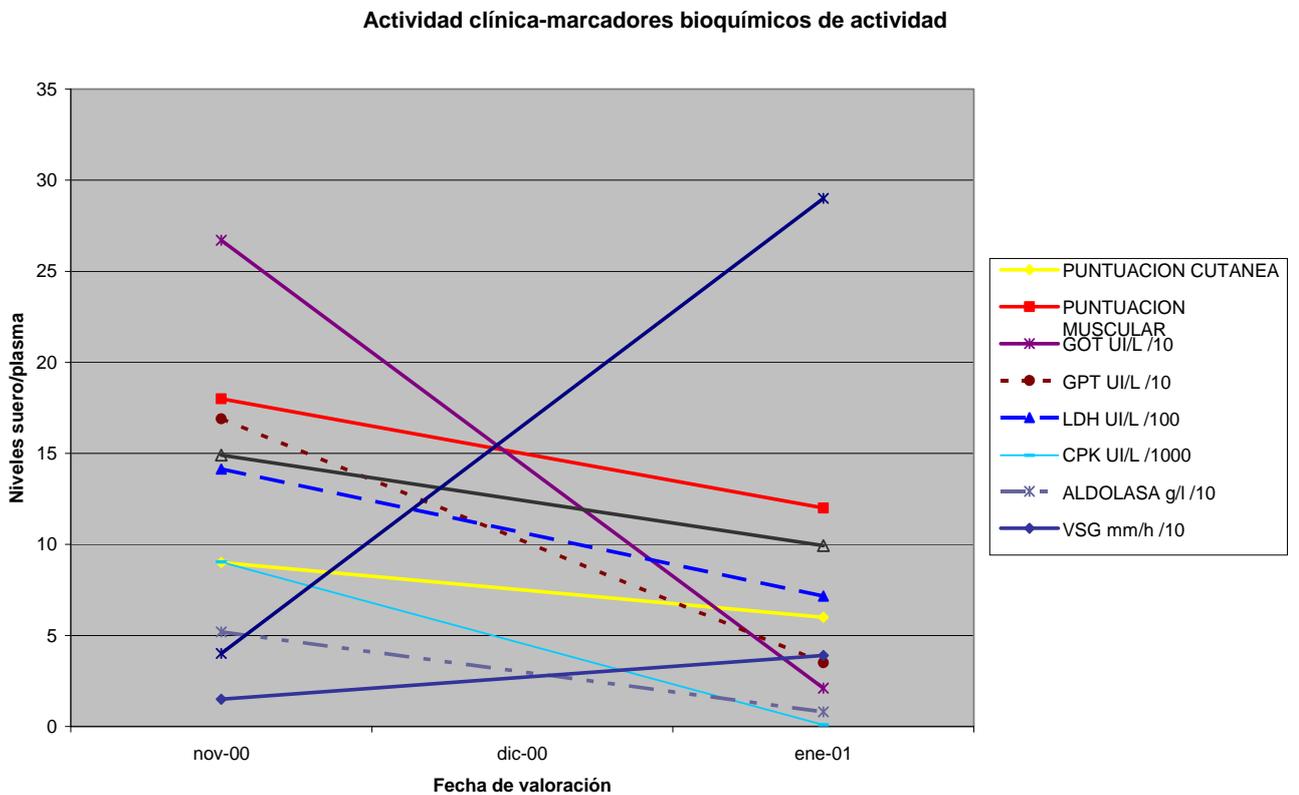
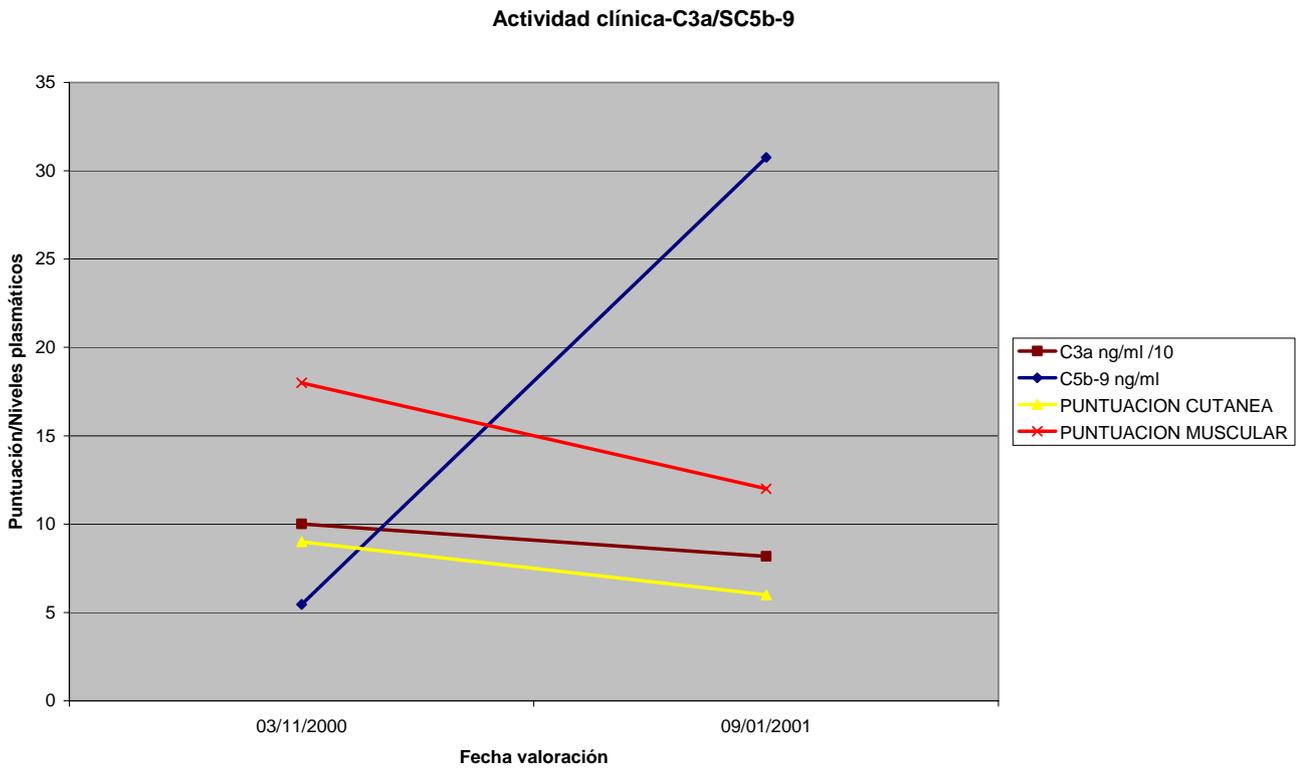


Figura 38 : Coeficientes de correlación de Spearman en el paciente n° 1.

Pcut	VSG	C3a	CPK	C5b	Aldo	GPT	LDH	C3	GOT	GGT	C4
Pcut	0.97101	0.94286	0.86966	0.84067	0.80000	-0.71429	0.60000	-0.48571	0.31887	0.10000	-0.08571
	0.0012	0.0048	0.0244	0.0361	0.2000	0.1108	0.2080	0.3287	0.5379	0.8729	0.8717
	6	6	6	6	4	6	6	6	6	5	6
Pmus	C3a	VSG	C5b	CPK	Aldo	LDH	C3	GPT	GOT	GGT	C4
Pmus	0.94112	0.90669	0.89326	0.83166	0.63246	0.51610	-0.45538	-0.45538	0.24642	0.05130	0.03036
	0.0051	0.0127	0.0165	0.0401	0.3675	0.2946	0.3641	0.3641	0.6379	0.9347	0.9545
	6	6	6	6	4	6	6	6	6	5	6
Suma	VSG	C3a	CPK	C5b	Aldo	GPT	LDH	C3	GOT	GGT	C4
	0.97101	0.94286	0.86966	0.84067	0.80000	-0.71429	0.60000	-0.48571	0.31887	0.10000	-0.08571
	0.0012	0.0048	0.0244	0.0361	0.2000	0.1108	0.2080	0.3287	0.5379	0.8729	0.8717
	6	6	6	6	4	6	6	6	6	5	6

Figura 39: Coeficientes de correlación de Spearman en el paciente n° 2

Pcut	VSG	GGT	C4	C3	CPK	C5b	LDH	C3a	GPT	GOT	Aldo
Pcut	-0.94286	-0.90000	-0.80000	-0.80000	0.42857	0.37143	-0.31429	0.20000	0.17393	0.14286	0.00000
	0.0048	0.0374	0.1041	0.1041	0.3965	0.4685	0.5441	0.7040	0.7417	0.7872	1.0000
	6	5	5	5	6	6	6	6	6	6	5
Pmus	VSG	GGT	C4	C3	C5b	Aldo	C3a	GPT	CPK	LDH	GOT
Pmus	-0.77754	-0.70711	-0.70711	-0.35355	0.33806	0.33541	0.27045	0.18865	0.16903	0.10142	-0.06761
	0.0687	0.1817	0.1817	0.5594	0.5122	0.5811	0.6042	0.7204	0.7489	0.8484	0.8987
	6	5	5	5	6	5	6	6	6	6	6
Suma	VSG	GGT	C4	C3	CPK	C5b	LDH	C3a	GPT	GOT	Aldo
	-0.94286	-0.90000	-0.80000	-0.80000	0.42857	0.37143	-0.31429	0.20000	0.17393	0.14286	0.00000
	0.0048	0.0374	0.1041	0.1041	0.3965	0.4685	0.5441	0.7040	0.7417	0.7872	1.0000
	6	5	5	5	6	6	6	6	6	6	5

Figura 40 : Coeficientes de correlación de Spearman en el paciente n° 3

Pcut	C4	C3	VSG	Aldo	CPK	LDH	GGT	GPT	GOT	C5b	C3a
Pcut	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4
Pmus	C4	C3	VSG	Aldo	CPK	LDH	GGT	GPT	GOT	C5b	C3a
Pmus	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4
Suma	C4	C3	VSG	Aldo	CPK	LDH	GGT	GPT	GOT	C5b	C3a
	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4

Figura 41 : Coeficientes de correlación de Spearman en el paciente n° 4

Pcut	GGT	Aldo	GOT	C4	CPK	C3a	C3	GPT	VSG	C5b	LDH
Pcut	0.94868	0.80000	0.41039	-0.40000	-0.40000	0.40000	-0.40000	0.30779	0.30000	-0.15390	0.00000
	0.0513	0.2000	0.4925	0.6000	0.5046	0.5046	0.6000	0.6144	0.6238	0.8048	1.0000
	4	4	5	4	5	5	4	5	5	5	5
Pmus	C4	C3	VSG	Aldo	CPK	LDH	GGT	GPT	GOT	C5b	C3a
Pmus	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	4	4	4	5	4	5	5	4	5	5	5
Suma	GGT	Aldo	GOT	C4	CPK	C3a	C3	GPT	VSG	C5b	LDH
	0.94868	0.80000	0.41039	-0.40000	-0.40000	0.40000	-0.40000	0.30779	0.30000	-0.15390	0.00000
	0.0513	0.2000	0.4925	0.6000	0.5046	0.5046	0.6000	0.6144	0.6238	0.8048	1.0000
	4	4	5	4	5	5	4	5	5	5	5

Figura 42 : Coeficientes de correlación de Spearman en el paciente n° 7

Pcut	C5b	GPT	GOT	GGT	VSG	LDH	CPK	C3	C4	Aldo	C3a
Pcut	0.90000	0.82078	0.80000	-0.46169	-0.31623	0.30000	0.15390	-0.10000	-0.10000	0.00000	0.00000
	0.0374	0.0886	0.1041	0.4338	0.6838	0.6238	0.8048	0.8729	0.8729	1.0000	1.0000
	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5
Pmus	C4	C3	VSG	Aldo	CPK	LDH	GGT	GPT	GOT	C5b	C3a
Pmus	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	5	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5
Suma	C5b	GPT	GOT	GGT	VSG	LDH	CPK	C3	C4	Aldo	C3a
	0.90000	0.82078	0.80000	-0.46169	-0.31623	0.30000	0.15390	-0.10000	-0.10000	0.00000	0.00000
	0.0374	0.0886	0.1041	0.4338	0.6838	0.6238	0.8048	0.8729	0.8729	1.0000	1.0000
	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5

Figura 43 : Coeficientes de correlación de Spearman en el paciente n° 8

Pcut	GGT	GOT	C3a	C5b	GPT	LDH	VSG	C3	C4	Aldo	CPK
Pcut	0.76719	0.72977	0.69235	0.63621	0.51961	0.48651	0.30861	-0.28068	0.24326	0.09356	-0.04720
	0.0441	0.0626	0.0847	0.1245	0.2320	0.2682	0.5518	0.5420	0.5991	0.8419	0.9200
	7	7	7	7	7	7	6	7	7	7	7
Pmus	GGT	C5b	GPT	C3a	GOT	LDH	C4	VSG	Aldo	CPK	C3
Pmus	0.98198	0.90924	0.84797	0.63647	0.54554	0.43644	0.41825	0.35309	0.32733	-0.22019	-0.10911
	<.0001	0.0045	0.0159	0.1243	0.2053	0.3276	0.3504	0.4924	0.4736	0.6352	0.8159
	7	7	7	7	7	7	7	6	7	7	7
Suma	GGT	C5b	GPT	C3a	GOT	LDH	C4	VSG	Aldo	CPK	C3
	0.95499	0.86490	0.77414	0.66669	0.57660	0.45047	0.37839	0.31887	0.25226	-0.21818	-0.12613
	0.0008	0.0120	0.0411	0.1019	0.1754	0.3104	0.4026	0.5379	0.5852	0.6384	0.7876
	7	7	7	7	7	7	7	6	7	7	7

Figura 44: Coeficientes de correlación de Spearman en el paciente n° 9

Pcut	GPT	Aldo	GOT	GGT	LDH	C5b	C3a	VSG	CPK	C4	C3
Pcut	1.00000	0.90000	0.90000	0.80000	0.80000	0.70000	0.60000	0.35909	0.30000	0.20000	0.00000

	<.0001	0.0374	0.0374	0.1041	0.1041	0.1881	0.2848	0.5528	0.6238	0.7471	1.0000
Pmus	C3a	C5b	VSG	GGT	Aldo	LDH	C3	GPT	GOT	C4	CPK
Pmus	-0.87208	-0.87208	-0.78947	-0.66689	-0.66689	-0.66689	-0.56429	-0.56429	-0.56429	0.56429	-0.05130
	0.0539	0.0539	0.1122	0.2189	0.2189	0.2189	0.3217	0.3217	0.3217	0.3217	0.9347
Suma	C3a	C5b	GGT	C4	LDH	VSG	Aldo	GOT	GPT	C3	CPK
0.0374	-0.90000	-0.80000	-0.70000	0.70000	-0.70000	-0.66689	-0.60000	-0.60000	-0.50000	-0.50000	-0.20000
	0.1041	0.1881	0.1881	0.1881	0.2189	0.2848	0.2848	0.3910	0.3910	0.7	

Figura 45: Estimaciones únicas de la correlación de Spearman

	C3a	C5b	GOT	GPT	GGT	LDH	CPK	Aldo	VSG	C3	C4
Pcut	0.43177	0.31868	0.53418	0.45260	0.42748	0.43351	0.39778	0.50081	0.02600	-0.23497	-0.10339
	0.0351	0.1291	0.0072	0.0264	0.0472	0.0343	0.0542	0.0208	0.9063	0.2805	0.6388
	24	24	24	24	22	24	24	21	23	23	23
Pmus	0.20162	0.16849	0.10607	-0.11055	-0.27948	-0.18198	0.14975	-0.23177	-0.13782	-0.18110	0.18358
	0.3448	0.4313	0.6218	0.6071	0.2078	0.3947	0.4849	0.3121	0.5306	0.4083	0.4018
	24	24	24	24	22	24	24	21	23	23	23
Suma	0.13095	0.08442	0.25914	-0.02135	-0.19379	-0.09354	0.30925	-0.04808	-0.21331	-0.37182	0.15624
	0.5419	0.6949	0.2214	0.9211	0.3875	0.6638	0.1414	0.8360	0.3284	0.0806	0.4765
	24	24	24	24	22	24	24	21	23	23	23

**8. DOCUMENTACIÓN**  
**ADICIONAL**







## ***9. BIBLIOGRAFÍA:***



- 
- <sup>1</sup> Kovacs S, Kovacs SC. Dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:899-920.
- <sup>2</sup> Wortmann R. Inflammatory diseases of muscle and other myopathies. En: Ruddy S, Harris E, Sledge C, editors. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 2001;p. 1273-96.
- <sup>3</sup> Dalakas MC. Polymyositis, dermatomyositis and inclusion body-myositis. *N Engl J Med* 1991;325:1487-98.
- <sup>4</sup> Dalakas MC. Polymyositis, dermatomyositis and inclusion body myositis. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, eds. *Harrison's principles of internal medicine*, 15th edn. New York: McGraw Hill, 2001;2524-9.
- <sup>5</sup> Wagner E. Fall einer selten Muskelkrankheit. *Arch Heilkd* 1863;4:282.
- <sup>6</sup> Unverrecht H. Polymyositis acuta progressive. *Z Clin Med* 1887;12:553.
- <sup>7</sup> Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (Part I). *N Engl J Med* 1975;292:344-347.
- <sup>8</sup> Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (Part II). *N Engl J Med* 1975;292:403-407.
- <sup>9</sup> Walton JN, Adams RD. *Polymyositis*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1958.
- <sup>10</sup> Research Group on Neuromuscular Diseases of the World Federation on Neurology. Classification of the neuromuscular disorders. *J Neurol Sci* 1968; 6: 165.
- <sup>11</sup> Gardner-Medwin D, Walton JN. The clinical examination of the voluntary muscles. In: Walton JN, ed. *Disorders of Voluntary Muscle*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1974.
- <sup>12</sup> Bergoin C, Bure M, Tavernier JY, Lamblin C, Mauraige CA, Remy-Jardin M. The anti-synthetasa syndrome. *Rev Med Respir* 2002;19:371-4.
- <sup>13</sup> Ramanan AV, Feldman BM. Clinical features and outcomes of juvenile dermatomyositis and other childhood onset myositis syndromes. *Rheum Dis Clin N Am* 2002;28:833-57.
- <sup>14</sup> Hachulla E. Dermatomyositis and polimyositis: clinical aspects and treatment. *Ann Med Intern* 2001;152:455-64.
- <sup>15</sup> Gallais V, Crickx B, Belaich S. Prognostic factors and predictive signs of malignancy in adult dermatomyositis. *Ann Dermatol Venereol* 1996;123:722-6.
- <sup>16</sup> DeSilva TN, Kress D. Management of collagen vascular diseases in childhood. *Dermatol Clin* 1998;16:579-92.
- <sup>17</sup> Rubio Flores C, Martin Diaz MA, Corral de la Calle M, Diaz Diaz RM. Association between two immunologic neuromuscular disorders: multiple sclerosis and dermatomyositis. *Med Clin (Barc)*. 2004;123(9):359.
- <sup>18</sup> Targoff IN. Laboratory testing in the diagnosis and management of idiopathic inflammatory myopathies. *Rheum Dis Clin N Am* 2002;28:859-90.
- <sup>19</sup> Reed AM, Picornell YJ, Harwood A, Kredich EW. Chimerism in children with juvenile dermatomyositis. *Lancet* 2000;356:2156.
- <sup>20</sup> Kanneboyina N. Update on immunopathogenesis in inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol* 2001;13:461-8.
- <sup>21</sup> Vattei G, Tonin P, Filosto M, Spagnolo M, Rizzuto N, Tomelleri G. T-cell anti apoptotic mechanism in inflammatory myopathies. *J Neuroimmunol* 2000;111:146-51.
- <sup>22</sup> M.M. Griffiths, G.A. Encinas, E.F. Remmers, V.K. Kuchroo and R.L. Wilder, Mapping autoimmunity genes. *Curr Opin Immunol* 1999;11: 689-700.
- <sup>23</sup> J.A. Encinas and V.K. Kuchroo. Mapping and identification of autoimmunity genes. *Curr Opin Immunol* 2000;12:691-69.
- <sup>24</sup> Tomono N, Mori M, Nakajima S, Miyamae T, Ito S, Mitsuda T, Yokota S. HLA-DRB1\*15021 is the predominant allele in Japanese patients with juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol*. 2004;31(9):1847-50.
- <sup>25</sup> Rider LG, Gurley RC, Pandey JP. Clinical, serologic, and immunogenetic features of familial idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum* 1998, 41:710-719.
- <sup>26</sup> Rider LG, Artlett CM, Foster CB. Polymorphisms in the IL-1 receptor antagonist gene VNTR are possible risk factors for juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Clin Exp Immunol* 2000, 121:47-52.
- <sup>27</sup> Shamin EA, Rider LG, Pandey JP. Differences in idiopathic inflammatory myopathy phenotypes and genotypes between Mesoamerican Mestizos and North American Caucasians. *Arthritis Rheum* 2002;46:1885-93.
- <sup>28</sup> Pachman LM, Liotta-Davis MR, Hong DK. TNF[alpha]-308A allele in juvenile dermatomyositis-associations with increased TNF[alpha] production, disease duration and pathological calcifications. *Arthritis Rheum* 2000, 43:2368-77.
- <sup>29</sup> Pachman LM, Fedczyna TO, Lutz JL. Juvenile dermatomyositis: the association of the TNF[alpha]-308A allele and disease chronicity. *Curr Rheumatol Rep* 2001, 5:379-386.

- 
- <sup>30</sup> Werth VP, Callen JP, Ang G, Sullivan KE. Associations of tumor necrosis factor  $\alpha$  and HLA polymorphisms with adult dermatomyositis: implications for a unique pathogenesis. *J Invest Dermatol* 2002;119:617-20.
- <sup>31</sup> Greenberg SA, Sanoudou D, Haslett JN. Molecular profiles of inflammatory myopathies. *Neurol* 2002; 59:1170-1182.
- <sup>32</sup> Zhou X, Dimachkie MM, Xiong M, Tan FK, Arnett FC. cDNA microarrays reveal distinct gene expression clusters in idiopathic inflammatory myopathies. *Med Sci Monit*. 2004;10(7):191-7.
- <sup>33</sup> Dourmishev L, Meffert H, Piazena H. Dermatomyositis: comparative studies of cutaneous photosensitivity in lupus erythematosus and normal subjects. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2004;20(5):230-4.
- <sup>34</sup> Hengstman GJ, van Venrooij WJ, Vencovsky J. The relative prevalence of dermatomyositis and polymyositis in Europe exhibits a latitudinal gradient. *Ann Rheum Dis* 2000, 59:141-142.
- <sup>35</sup> Okada S, Weatherhead E, Targoff IN. Global surface ultraviolet radiation intensity may modulate the clinical and immunologic expression of autoimmune muscle disease. *Arthritis Rheum* 2003, 48:2285-2293.
- <sup>36</sup> Mierau R, Dick T, Bartz-Bazzanella P. Strong association of dermatomyositis-specific Mi-2 autoantibodies with a tryptophan at position 9 of the HLA-DR beta chain. *Arthritis Rheum* 1996, 39:868-876.
- <sup>37</sup> Werth VP, Bashir M, Zhang W. Photosensitivity in rheumatic diseases. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2004, 9:57-63.
- <sup>38</sup> Werth VP, Berlin JA, Callen JP, Mick R, Sullivan KE. Mannose binding lectin (MBL) polymorphisms associated with low MBL production in patients with dermatomyositis. *Invest Dermatol*. 2002;119(6):1394-9.
- <sup>39</sup> Chou SM. Myxovirus like structures in a case of human chronic polymyositis. *Science* 1967;158:1453.
- <sup>40</sup> Yttenberg SR. Coxsackie virus B1 induced murine polymyositis: acute infection with active virus is required for myositis. *J Rheumatol* 1987;14:12-8.
- <sup>41</sup> Travers RL, Hughes GRV, Cambridge G, Sewell JR. Neutralization titers in polymyositis/dermatomyositis. *Lancet* 1977;2:1268.
- <sup>42</sup> Christensen ML, Pachman LM, Schneiderman R, Patel DC, Friedman JM. Prevalence of coxsackie-B virus antibodies in patients with juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1986;29:1365-70.
- <sup>43</sup> Martini A, Ravelli A, Albani S. Recurrent juvenile dermatomyositis and cutaneous necrotizing arthritis with molecular mimicry between streptococcal type M5 protein and human skeletal myosin. *J Pediatr* 1992, 121:739-742.
- <sup>44</sup> Kishore U, Sontheimer RD, Sastry KN, Zaner KS, Zappi EG, Hughes GR, Khamashta MA, Strong P, Reid KB, Eggleton P. Release of calreticulin from neutrophils may alter C1q-mediated immune functions. *Biochem J* 1997;322(pt2):543-50.
- <sup>45</sup> Bowles NE, Dubowitz V, Sewry CA, Archard LC. Dermatomyositis, polymyositis, an Coxsackie-B virus infection. *Lancet* 1987;1:1004-7.
- <sup>46</sup> Rosenberg N, Rotbart HA, Abzug MJ, Ringel SP, Levin MJ. Evidence for a novel picornavirus in human dermatomyositis. *Ann Neurol* 1989;26:204-9.
- <sup>47</sup> Yousef GE, Isenberg DA, Mowbray JF. Detection of enterovirus specific RNA sequences in muscle biopsy specimens from patients with adult onset myositis. *Ann Rheum Dis* 1990;49:310-5.
- <sup>48</sup> Leff RL, Love LA, Miller FW, Greenberg SJ, Klein EA, Dalakas MC, Platz PH. Viruses in the idiopathic inflammatory myopathies: absence of candidate viral genomes in muscle. *Lancet* 1992;339:1192-5.
- <sup>49</sup> Nishino H, Engel AG, Rima BK. Inclusion body myositis: the mumps virus hypothesis. *Ann Neurol* 1989;25:260-4.
- <sup>50</sup> Walker EJ, Jeffrey PD. Sequence homology between encephalomyocarditis virus protein VPI and histidyl-tRNA synthetase supports a hypothesis of molecular mimicry in polymyositis. *Med Hypotheses* 1988;25:21-6.
- <sup>51</sup> Wucherpfennig KW. Mechanisms for the induction of autoimmunity by infection agents. *J Clin Invest* 2001;108:1097-104.
- <sup>52</sup> Walker EJ, Jeffrey PD. Polymyositis and molecular mimicry, Mechanism of autoimmunity. *Lancet* 1986;2:605-7.
- <sup>53</sup> Massa M, Costouros N, Mazzoli F. Self epitopes shared between human skeletal myosin and *Streptococcus pyogenes* M5 protein are targets of immune responses in active juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2002, 46:3015-3025.
- <sup>54</sup> Dalakas MC, London WT, Gravell M, Sever JL. Polymyositis in an immunodeficiency disease in monkeys induced by a type D retrovirus. *Neurology* 1986;36:569-72.

- 
- <sup>55</sup> Dalakas MC, Pezeshkpour GH, Gravel M, Sever J. Polymyositis in patients with AIDS. *JAMA* 1986;256:2381-3.
- <sup>56</sup> Morgan OC, Rodgers-Johnson P, Mora C, Char G. HTLV-1 and polymyositis in Jamaica. *Lancet* 1989;2:1184-7.
- <sup>57</sup> Wiley CA, Nerenberg M, Cros D, Soto-Aguilar MC. HTLV-1 polymyositis in patient also infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1989;320:992-5.
- <sup>58</sup> Trujillo JR, Gomez-Lucia E, Lee TH, Essex M. Retroviral effects on muscle cells. In: Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Conference on AIDS, Florence, Italy, 16-21 June 1991. Abstract Book, vol. 1:1261.
- <sup>59</sup> Lo ES, Lo YM, Hjelm NM, Thilaganathan B. Transfer of nucleated maternal cells into fetal circulation during the second trimester of pregnancy. *Br J Haematol* 1998;100:605.
- <sup>60</sup> Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, Sylvester S, DeMaria MA. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:705.
- <sup>61</sup> Artlett C, Ramos MR, Jimenez SA, Patterson K, Miller FW, Rider LG. Chimeric cells of maternal origin in juvenile idiopathic inflammatory myopathies: childhood myositis heterogeneity collaborative group. *Lancet* 2000;356:2155.
- <sup>62</sup> Reed AM. Microchimerism in children with rheumatic disorders: what does it mean? *Rheumatol Rep*. 2003;5(6):458-62.
- <sup>63</sup> Reed AM, McNallan K, Wettstein P, Vehe R, Ober C. Does HLA-dependent chimerism underlie pathogenesis of juvenile dermatomyositis. *J Immunol* 2004;172:5041-46.
- <sup>64</sup> Chinoy H, Ollier WER, Cooper, Robert G. Have recent immunogenetic investigations increased our understanding of disease mechanisms in the idiopathic inflammatory myopathies? *Curr Opin Rheum* 2004;16(6):707-13.
- <sup>65</sup> Artlett CM, O'Hanlon TP, Lopez AM. HLA-DQA1 is not an apparent risk factor for microchimerism in patients with various autoimmune diseases and in healthy individuals. *Arthritis Rheum* 2003, 48:2567-2572.
- <sup>66</sup> Pachman LM. Juvenile dermatomyositis: immunogenetics, pathophysiology, and disease expression. *Rheum Dis Clin North Am* 2002, 28:579-602.
- <sup>67</sup> Lee AN, Werth VP. Activation of autoimmunity following use of immunostimulatory herbal supplements. *Arch Dermatol*. 2004 Jun;140(6):723-7.
- <sup>68</sup> Miller FW. Seasonal, geographical, clinical and immunogenetic associations of the myositis-specific autoantibodies. In : Nervous system muscles and systemic diseases. *Exp Scient Fr* 1993;123-7.
- <sup>69</sup> Goldstein R, Duvic M, Targoff IN, Reichlin M, McMenemy AM, Reveille JD, Warner NB, Pollack MS, Arnett FC. HLA-D region genes associated with autoantibody responses to Jo-1 (histidyl-tRNA synthetase) and other translation-related factors in myositis. *Arthritis Rheum* 1990; 33:657-665.
- <sup>70</sup> Genth E, Mierau R, Genetzky P, Von Muhlen CA, Kaufmann S, von Wilmowsky H, Meurer M, Krieg T, Pollmann H-J, Hartl PW. Immunogenetic associations of scleroderma-related antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum* 1990;33:657-65.
- <sup>71</sup> Mathews MB, Bernstein RM. Myositis autoantibody inhibits histidyl -tRNA synthetase: a model for autoimmunity. *Nature* 1983;304:177-9.
- <sup>72</sup> Nishikai M, Reichlin M. Heterogeneity of precipitating antibodies in polymyositis and dermatomyositis: characterization of the Jo-1 antibody system. *Arthritis Rheum* 1980;23:881-8.
- <sup>73</sup> Mathews MB, Reichlin M, Hughes GRV, Bernstein RM. Anti-threonyl-tRNA synthetase, a second myositis-related autoantibody. *J Exp Med* 1984;160:420-434.
- <sup>74</sup> Bunn CC, Bernstein RM, Mathews MB. Autoantibodies against alanyl-tRNA synthetase and tRNA<sup>Ala</sup> coexist and are associated with myositis. *J Exp Med* 1986;163:1281-91.
- <sup>75</sup> Targoff IN. Autoantibodies to aminoacyl-transfer RNA synthetases of isoleucine and glycine: two additional synthetases are antigenic in myositis. *J Immuno* 1990;144:1737-43.
- <sup>76</sup> Miller FW, Waite KA, Biswas T, Plotz PH. The role of an autoantigen, histidyl-tRNA synthetase, in the induction and maintenance of autoimmunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:9933.
- <sup>77</sup> Targoff IN, Arnett FC. Clinical manifestations in patients with antibody to PL-12 antigen (alanyl-tRNA synthetase). *Am J Med* 1990;88:241-51.
- <sup>78</sup> Targoff IN. Immune mechanism of myositis. *Curr Opin Rheumatol* 1990;2:882-8.
- <sup>79</sup> Arnett FC, Hirsch TJ, Bias WB, Nishikai M, Reichlin M. The Jo-1 antibody system in myositis: relationships to clinical features and HLA. *J Rheumatol* 1981;8:925-30.
- <sup>80</sup> Hochberg MC, Feldman D, Stevens MB, Arnett FC, Reichlin M. Antibody to Jo-1 in polymyositis/dermatomyositis: association with interstitial pulmonary disease. *J Rheumatol* 1984;11:663-5.

- 
- <sup>81</sup> Friedman AW, Tafgoff IN, Arnett FC. Interstitial lung disease with autoantibodies against aminoacyl-tRNA synthetases in the absence of clinically apparent myositis. *Semin Arthritis Rheum* 1996; 26:459-67.
- <sup>82</sup> Hengstmann FJD, van Engelen BGM, Egberts WTMV, van Venrooij WJ. Myositis-specific autoantibodies: overview and recent developments. *Curr Opin Rheumatol* 2001;13:476-82.
- <sup>83</sup> Howard OM, Dong HF, Yang D, Raben N, Nagaraju K, Rosen A, Casciola-Rosen L, Hartlein M, Kron M, Yang D, Yiadom K, Dwivedi S, Plotz PH, Oppenheim JJ. Histidyl-tRNA synthetase and asparaginyl-tRNA synthetase, autoantigens in myositis, activate chemokine receptors on T lymphocytes and immature dendritic cells. *J Exp Med*. 2002;196(6):781-91.
- <sup>84</sup> Lundberg I, Kratz AK, Alexanderson H, Patarroyo M. Decreased expression of interleukin-1 $\alpha$ , interleukin 1 $\beta$  and cell adhesion molecules in muscle tissue following corticosteroid treatment in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2000;43:336-48.
- <sup>85</sup> Cid MC, Grau JM, Casademont J, Tobias L, Picazo A, Collvinent B. Leucocyte/endothelial cell adhesion receptors in muscle biopsies from patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Clin Exp Immunol* 1996;104:467-73.
- <sup>86</sup> Sallum AM, Marie SK, Wakamatsu A, Schetti S, Vianna MA, Silva CA, Kiss MH. Immunohistochemical analysis of adhesion molecule expression on muscle biopsy specimens from patients with juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol*. 2004;31(4):801-7.
- <sup>87</sup> Ludberg I. Idiopathic inflammatory myopathies: Why do the muscles become weak? *Curr Opin Rheumatol* 2001;13:457-60.
- <sup>88</sup> Pachman LM, Lingen M, Caliendo J. Muscle biopsy findings in 38 untreated children with juvenile dermatomyositis (JDM): capillary occlusion is associated with the TNF[alpha] allele. *Arthritis Rheum* 1999, 42:S403.
- <sup>89</sup> Jimenez B, Volpert OV, Crawford SE. Signals leading to apoptosis-dependent inhibition of neovascularization by thrombospondin-1. *Nature Med* 2000, 6:41-48.
- <sup>90</sup> Konttinen YT, Mackiewicz Z, Povilenaite D, Sukura A, Hukkanen M, Virtanen I. Disease-associated increased HIF-1,  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin, and Flt-1 do not suffice to compensate the damage-inducing loss of blood vessels in inflammatory myopathies. *Rheumatol Int*. 2004;24(6):333-9.
- <sup>91</sup> Hausmann G, Herrero C, Cid MC. Immunopathologic study of skin lesions in dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 1991;25:225-30.
- <sup>92</sup> Hausmann G, Mascaró JM Jr, Herrero C. Cell adhesion molecule expression in cutaneous lesions of dermatomyositis. *Acta Derm Venereol (Stock)* 1996;76:222-5.
- <sup>93</sup> Caproni M, Torchia D, Cardinali C, Volpi W, Del Bianco E, Agata AD, Fabbri P. Infiltrating cells, related cytokines and chemokine receptors in lesional skin of patients with dermatomyositis. *Br J Dermatol* 2004;151:784-91.
- <sup>94</sup> Arahata K, Engel AG. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. *Ann Neurol* 1984;16:193-208.
- <sup>95</sup> Rostasy KM, Piepkorn M, Goebel HH, Menck S, Hanefeld F, Schulz-Schaeffer WJ. Monocyte/macrophage differentiation in dermatomyositis and polymyositis. *Muscle Nerve*. 2004;30(2):225-30.
- <sup>96</sup> Arahata K, Engel AG. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. V: Identification and quantitation of T8+cytotoxic and T8+ suppressor cells. *Ann Neurol* 1988;23:493-9.
- <sup>97</sup> Engel AG, Emslie-Smith AM. Inflammatory myopathies. *Curr Opin Neurol Neurosurg* 1989;2:695-700.
- <sup>98</sup> Urbano-Marquez A, Casademont J, Grau JM. Polymyositis/dermatomyositis: the current position. *Ann Rheum Dis* 1991;50:191-5.
- <sup>99</sup> Herrero C, Bielsa I, Font J, Lozano F, Ericilla G, Lecha M, Ingelmo M, Mascaró JM. Subacute cutaneous lupus erythematosus: clinical pathological findings in 13 cases. *J Am Acad Dermatol* 1988; 19: 1057-1062.
- <sup>100</sup> Bielsa I, Herrero C, Ericilla G. Immunogenetic findings in cutaneous lupus erythematosus. *J Am Acad Dermatol* 1991; 25: 251-257.
- <sup>101</sup> Mascaró JM Jr, Hausmann G, Herrero C, Grau JM, Cid MC, Palou J, Mascaró JM. Membrane attack complex deposits in cutaneous lesions of dermatomyositis. *Arch Dermatol* 1995;131:1386-92.
- <sup>102</sup> Whitaker JN, Engel WK. Vascular deposits of immunoglobulin and complement in idiopathic inflammatory myopathy. *N Engl J Med* 1972;286:333-8.
- <sup>103</sup> Kissel JT, Mendell JR, Rammohan KW. Microvascular deposition of complement attack complex in dermatomyositis. *N Engl J Med* 1986;314:329-34.
- <sup>104</sup> Gayraud M, Tome F, Herson S, Chevally M, Fardeau M, Goedau P. Aspects histopathologiques des polymyosites et dermatomyosites. Corrélation avec le mode évolutif clinique. *Ann Med Interne* 1989;140:445-8.

- 
- <sup>105</sup> Engel AG, Arahata K. Mononuclear cells in myopathies: quantitation of functionally distinct subsets, recognition of antigen-specific cell mediated cytotoxicity in some diseases, and implications for the pathogenesis of the different inflammatory myopathies. *Hum Pathol* 1986;17:704-21.
- <sup>106</sup> Emslie-Smith AM, Engel AG. Microvascular changes in early and advanced dermatomyositis: a quantitative study. *Ann Neurol* 1990;27:343-56.
- <sup>107</sup> Ichikawa E, Furuta J, Kawachi Y, Imakado S, Otsuka F. Hereditary complement (C9) deficiency associated with dermatomyositis. *Br J Dermatol* 2001 May;144(5):1080-3.
- <sup>108</sup> Rollins SA, Sims PJ. The complement-inhibitory activity of CD59 resides in its capacity to block incorporation of CD59 into C5b-9. *J Immunol* 1990, 144:3478–3483.
- <sup>109</sup> Navenot JM, Villanova M, Lucas-Heron B. Expression of CD59, a regulator of the membrane attack complex of complement, on human skeletal muscle fibers. *Muscle Nerve* 1997, 20:92–96.
- <sup>110</sup> Goncalves FG, Chimelli L, Sallum AM. Immunohistological analysis of CD59 and membrane attack complex of complement in muscle in juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol* 2002;29:1301–1307.
- <sup>111</sup> Gasque P, Morgan BP, Legoedec J. Human skeletal myoblasts spontaneously activate allogenic complement but are resistant to killing. *J Immunol* 1996, 156:3402–3411.
- <sup>112</sup> Gendek-Kubiak H, Gendek EG. Immunolocalization of protectin (CD59) and macrophages in polymyositis and dermatomyositis. *J Neuroimmunol*. 2004;149(1-2):187-94
- <sup>113</sup> Lundberg I, Brengman JM, Engel AG. Analysis of cytokine expression in muscle in inflammatory myopathies, Duchennes dystrophy and non-weak controls. *J Neuroimmunol* 1995;63:9-16.
- <sup>114</sup> De Bleeker JL, De Paepe B, Vanwalleghem IE, Schroder JM. Differential expression of chemokines in inflammatory myopathies. *Neurology* 2002;58:1779-85.
- <sup>115</sup> Adams EM, Kirkley J, Eidelman G. The predominance of beta (CC) chemokine transcripts in idiopathic inflammatory muscle diseases. *Proc Assoc Am Physicians* 1997;109:275-85.
- <sup>116</sup> Lutz J, Huwiler KG, Fedczyna T, Lechman TS, Crawford S, Kinsella TR, Pachman LM. Increased plasma thrombospondin-1 (TSP-1) levels are associated with the TNF alpha-308A allele in children with juvenile dermatomyositis. *Clin Immunol*. 2002;103(3 Pt 1):260-3.
- <sup>117</sup> Wiendl H, Mitsdoerffer M, Schneider D, Melms A, Lochmuller H, Hohlfeld R, Weller M. Muscle fibres and cultured muscle cells express the B7.1/2-related inducible co-stimulatory molecule, ICOSL: implications for the pathogenesis of inflammatory myopathies. *Brain*. 2003;126(Pt 5):1026-35.
- <sup>118</sup> Sugiura T, Harigai M, Kawaguchi Y, Takagi K, Fukasawa C, Ohsako-Higami S, Ohta S, Tanaka M, Hara M, Kamatani N. Increased IL-15 production of muscle cells in polymyositis and dermatomyositis. *Int Immunol*. 2002 Aug;14(8):917-24.
- <sup>119</sup> Gallardo E, de Andres I, Illa L. Cathepsins are upregulated by IFN-gamma/STAT1 in human muscle culture: a possible active factor in dermatomyositis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001;60:847-55.
- <sup>120</sup> Bartoli C, Civatte M, Pellissier JF, Figarella-Branger D. CCR2A and CCR2B, the two isoforms of the monocyte chemoattractant protein-1 receptor are upregulated and expressed by different cell subsets in idiopathic inflammatory myopathies. *Acta Neuropathol* 2001;102:385-92.
- <sup>121</sup> Li YP, Reid M. Effect of tumor necrosis factor alpha on skeletal muscle metabolism. *Curr Opin Rheumatol* 2001;13:483-7.
- <sup>122</sup> Shelton GD, Calcutt NA, Garrett RS. Necrotizing myopathy induced by overexpression of interferon-gamma in transgenic mice. *Muscle Nerve* 1999;22:56-65.
- <sup>123</sup> Leon-Monzon M, Dalakas MC. Interleukin-1 (IL-1) is toxic to human muscle. *Neurology* 1994;44(suppl):132.
- <sup>124</sup> Murakami N, McLennan IS, Nonaka I, Koishi K, Baker C, Tooke-Hammond G. Transforming growth factor beta 2 is elevated in skeletal muscle disorders. *Muscle Nerve* 1999;22:889-98.
- <sup>125</sup> Dalakas MC, Illa I, Dambrosia JM. A controlled trial of high dose intravenous immunoglobulin infusions as treatment for dermatomyositis. *N Engl J Med* 1993;329:1993-2000.
- <sup>126</sup> Amemiya K, Semino-Mora C, Granger RP, Dalakas MC. Downregulation of TGF-beta 1 mRNA and protein in the muscles of patients with inflammatory myopathies after treatment with high-dose intravenous immunoglobulin. *Clin Immunol* 2000;94:99-104.
- <sup>127</sup> Kunkel EJ, Butcher EC, Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. *Immunity* 2002;16:1-4.
- <sup>128</sup> De Paepe B, Schroder JM, Martin JJ, Racz GZ, De Bleeker JL. Localization of the alpha-chemokine SDF-1 and its receptor CXCR4 in idiopathic inflammatory myopathies. *Neuromuscul Disord*. 2004;14(4):265-73.
- <sup>129</sup> De Rossi M, Bernasconi P, Baggi F, de Waal Malef R, Mantegazza R. Cytokines and chemokines are both expressed by human myoblasts: possible relevance for the immune pathogenesis of muscle inflammation. *Int Immunol* 2000;12:1329-35.

- 
- <sup>130</sup> Choi YC, Dalakas MC. Expression of matrix metalloproteinases in the muscle of patients with inflammatory myopathies. *Neurology* 2000;54:65-71.
- <sup>131</sup> Kieseier BC, Schneider C, Clements JM. Expression of specific matrix metalloproteinases in inflammatory myopathies. *Brain* 2001;124:341-51.
- <sup>132</sup> Uzel G, Pachman LM. Cytokines in juvenile dermatomyositis pathophysiology: potential and challenge. *Curr Opin Rheum* 2003;15(6):691-7.
- <sup>133</sup> Nyberg P, Wikman AL, Nennesmo I, Lundberg I. Increased expression of interleukin-1 alpha and MHC class I in muscle tissue of patients with chronic, inactive polymyositis and dermatomyositis. *J Rheumatol* 2000;27:940-8.
- <sup>134</sup> Englund P, Nennesmo I, Klareskog L, Lundberg IE. Interleukin-1 $\alpha$  expression in capillaries and major histocompatibility complex class I expression in type II muscle fibers from polymyositis and dermatomyositis patients: important pathogenic features independent of inflammatory cell clusters in muscle tissue. *Arthritis Rheum* 2002;46(4):1044-55.
- <sup>135</sup> Nagaraja K, Raben N, Loeffler L, Parker T, Rochou PJ, Lee E. Conditional up-regulation of MHC class I in skeletal muscle leads to self-sustaining autoimmune myositis and myositis specific autoantibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:9209-14.
- <sup>136</sup> Schwartz M, Bennet MR. Death by any author name. *Am J Pathol* 1995;147:229-34.
- <sup>137</sup> Navratil JS, Ahearn JM. Apoptosis clearance mechanisms, and the development of systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep* 2001;3(3):191-8.
- <sup>138</sup> Mountz JD, Wu J, Cheng J and Zhou T. Autoimmune disease. A problem of defective apoptosis. *Arthritis Rheum* 1994;37:1415-20.
- <sup>139</sup> Waldner H, Sobel, Howard E, Kuchroo VK. Fas and FasL-deficient mice are resistant to induction of autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 1997;159: 3100-3.
- <sup>140</sup> Inukai A, Kobayashi Y, Honda H, Sobue G. Fas antigen is expressed in human diseased muscles, but does not link to apoptosis. *Nippon Rinsho* 1996;54:1992-6.
- <sup>141</sup> Sugiura T, Murakawa Y, Nagai A, Kondo M, Kobayashi S. Fas and Fas ligand interaction induces apoptosis in inflammatory myopathies. *Arthritis Rheum* 1999;42:291-8.
- <sup>142</sup> Schneider C, Gold R, Dalakas MC. MHC class-I mediated cytotoxicity does not induce apoptosis in muscle fibers nor in inflammatory T cells: studies in patients with polymyositis, and inclusion body myositis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55:1205-9.
- <sup>143</sup> Falcini F, Calzolari A, Generini. Bcl-2, p53 and c-myc expression in juvenile dermatomyositis. *Clin Exp Rheumatol* 2000;18:643-6
- <sup>144</sup> Nagaraju K, Casciola-Rosen L, Rosen A. The inhibition of apoptosis in myositis and normal muscle cells. *J Immunol* 2000;164:5459-65.
- <sup>145</sup> Li M, Dalakas MC. Expression of human IAP-like protein in skeletal muscle: a possible explanation for the rare incidence of muscle fiber apoptosis in T-cell-mediated inflammatory myopathies. *J Neuroimmunol* 2000;106:1-5.
- <sup>146</sup> Walport MJ, Davies KA, Botto M. C1q and systemic lupus erythematosus. *Immunobiology* 1998;199(2):265-85.
- <sup>147</sup> Nauta AJ, Trouw LA, Daha MR, Tijmsa O, Nieuwland R, Schwaeble WJ, Gingras AR, Mantovani A, Hack EC, Roos A. Direct binding of C1q to apoptotic cells and cell blebs induces complement activation. *Eur J Immunol* 2002;32(6):1726-36.
- <sup>148</sup> Liu CC, Navratil JS, Sabatine JM, Ahearn JM. Apoptosis, complement and systemic lupus erythematosus: a mechanistic view. *Curr Dir Autoimmun* 2004;7:49-86.
- <sup>149</sup> Fishelson Z, Attali G, Mevorach D. Complement and apoptosis. *Mol Immunol* 2001;38(2-3):207-19.
- <sup>150</sup> Seelen MA, Van der Bijl EA, Trouw LA, Zuiverloon TC, Munoz JR, Fallaus-van den Houten FC, Shlagwein N, Daha MR, Huizinga TW, Roos A. A role for mannose-binding lectin dysfunction in generation of autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44(1):111-9.
- <sup>151</sup> Botto M. Links between complement deficiency and apoptosis. *Arthritis Res* 2001;3(4):207-10.
- <sup>152</sup> Dietz F, Logeman JA, Sahgal V, Schmid FR. Cricopharyngeal muscle dysfunction in the differential diagnosis of dysphagia in polymyositis. *Arthritis Rheum* 1980;23:491-5.
- <sup>153</sup> DeMerieux P, Verity MA, Clemente PJ, Paulus HE. Esophageal abnormalities and dysphagia in polymyositis and dermatomyositis: clinical radiographic and pathologic features. *Arthritis Rheum* 1983;26:961-8.
- <sup>154</sup> Younes M, Bejia I, Moussa A, Touzi M, Zrour S, Haddada F, Zakhama A, Bergaoui N. Oculomotor muscles involvement revealing dermatomyositis in a patient with rheumatoid arthritis. *Rev Med Interne*. 2004;25(11):829-32.

- 
- <sup>155</sup> Gottron H. Hautveränderungen bei dermatomyositis, in VIII Congres International de Dermatologie et de Syphilologie, edited by S Lomholt. Compts Rendus de Seances, Copenhagen, 1930. P 826.
- <sup>156</sup> Kikuchi Y, Koarada S, Tada Y, Ushiyama O, Morito F, Suzuki N. Difference in B cell activation between dermatomyositis and polymyositis: análisis of the expresión of RP105 on peripheral blood B cells. *Ann Rheum Dis* 2001;60:1137-40.
- <sup>157</sup> Sontheimer RD. Dermatomyositis: an overview of recente progress with emphasis on dermatologic aspects. *Dermatol Clin* 2002;20:387-408.
- <sup>158</sup> Callen JP. Dermatomyositis. *Dis Month* 1987;33:242.
- <sup>159</sup> Shirani Z, Kucenic MJ, Carroll CL, Fleischer AB Jr, Feldman SR, Yosipovitch G, Jorizzo JL. Pruritus in adult dermatomyositis. *Clin Exp Dermatol.* 2004;29(3):273-6.
- <sup>160</sup> Maricq HR. Skin capillary abnormalities as indicators of organ development in scleroderma, Raynaud's syndrome, and dermatomyositis. *Am J Med* 1976;61:862.
- <sup>161</sup> Stahl NI, Klippel JH, Decker JL. A cutaneous lesion associated with myositis. *An Intern Med* 1979;91:577-9.
- <sup>162</sup> Watanabe C, Okubo Y, Ohi T. A case of dermatomyositis associated with mechanic's hand. *Journal of Dermatology* 2000;27:711-6.
- <sup>163</sup> Shibuya H, Arakawa S, Kai Y, Hatano Y, Okamoto O, Takayasu S, Fujiwara S. Three cases of 'mechanic's hands' associated with interstitial pneumonia: possible involvement with foot lesions. *J Dermatol.* 2003;30(12):892-7.
- <sup>164</sup> Bowyer SL, Blane CE, Sullivan DB. Childhood dermatomyositis: factors predicting functional outcome and development of dystrophic calcification. *J Pediatr* 1983;103:882-88.
- <sup>165</sup> Sontheimer R. Dermatomyositis. En: Freedberg I, Eisen A, Wolff K, Arsten K, Goldsmith L, Katz S, editors. *Fitzpatrick Dermatology in General Medicine.* 5<sup>th</sup> ed. Mc Graw-Hill, 1999; p. 2009-22.
- <sup>166</sup> Hann T, Newmann E. Juvenile Dermatomyositis. A retrospective review of a 30 yeat experience. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:28-34.
- <sup>167</sup> Findley GH, Price GA, Van Rinsburg CRJ. Dermatomyositis with vesicular bullous lesions. *S Afr Med* 1951;25:60.
- <sup>168</sup> Kubo M, Sato S, Kitahara H, Tsuchida T, Tamaki K. Vesicle formation in dermatomyositis associated with gynaecologic malignancies. *J Am Acad Dermatol* 1996;34:391-4.
- <sup>169</sup> Nakamori A, Yamaguchi Y, Kurimoto I, Masahiro K, Koska H, Itami S, Yoshikawa K. Vesiculobullous dermatomyositis with panniculitis witout muscle disease. *J Am Acad Dermatol* 2003;49(6):1136-9.
- <sup>170</sup> Rowland Payme CME, Meyrick T RH. Dermatomyositis with urticated lesions. *J Roy Soc Med* 1984;77:137-8.
- <sup>171</sup> Watatanabe T, Tsuchida T. Flagellate erythema in dermatomyositis. *Dermatology* 1995;190:230-1.
- <sup>172</sup> Jara M, Amerigo J, Duce S, Borbujo J. Dermatomyositis and flagellate erythema. *Clin Exp Dermatol* 1997;21:440-1.
- <sup>173</sup> O'Leary P. Dermatomyositis. *Arch Dermatol* 1953;68:101-2.
- <sup>174</sup> Christianson HB, Brunsting LA, Perry HO. Dermatomyositis: unusual features, complications and treatment. *Arch Dermatol* 1954;74:581-9.
- <sup>175</sup> Wong KO. Dermatomyositis: a clinical investigation of 23 cases in Hong Kong. *Br J Dermatol* 1969;81:544-7.
- <sup>176</sup> Requena L, Grilli R, Soriano L, Escalonilla P, Fariña C, Martin L. Dermatomyositis with a pityriasis rubra pilaris-like eruption: a little-known distinctive cutaneous manifestation of dermatomyositis. *Br J Dermatol* 1997;136:768-71.
- <sup>177</sup> Caporali R, Cavagna L, Bellosta M, Bogliolo L, Montecucco C. Inflammatory myopathy in a patient with cutaneous findings of pityriasis rubra pilaris: a case of Wong's dermatomyositis. *Clin Rheumatol.* 2004 Feb;23(1):63-5. Epub 2003 Nov 12.
- <sup>178</sup> Chan H, Liu FT, Naguwa S. A review of pityriasis rubra pilaris and rheumatologic associations. *Clin Dev Immunol.* 2004;11(1):57-60.
- <sup>179</sup> Reich NE, Reinhart JB. Dermatomyositis associated with hypertrichosis. *Arch Dermatol Syphilol* 1948;57:725-32.
- <sup>180</sup> Pope DN, Strimling RB, Mallory SB. Hypertrichosis in juvenile dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 1994;31:383-7.
- <sup>181</sup> Solans R, Cortes J, Selva A, García Patos V, Jimenez FJ, Pascual C. Panniculitis: a cutaneous manifestation of dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 2002;46:S148-50.
- <sup>182</sup> Tjii JW, Lin SJ, Wang LF, Shin JY, Yu CJ, Liang CW, Chu CY. Digital infarcts showing microangiopathy in adult dermatomyositis suggest severe pulmonary involvement and poor prognosis. *Br J Dermatol* 2004;150:1212-34.

- 
- <sup>183</sup> Hunger Re, Durr C, Brand CU. Cutaneous leukocytoclastic vasculitis in dermatomyositis suggests malignancy. *Dermatology* 2001;202:123-6.
- <sup>184</sup> Del Pozo J, Almagro M, Martinez W, Yebra-Pimentel MT, Garcia Silva J, Pena Penabad C. Dermatomyositis and mucinosis. *Int J Dermatol* 2001;40:120-4.
- <sup>185</sup> Parodi A, Caproni M, Marzano AV, De Simone C, La Placa M, Quaglino P. Dermatomyositis in 132 patients with different clinical subtypes: cutaneous signs, constitutional symptoms and circulating antibodies. *Acta Derm Venereol* 2002;82:48-51.
- <sup>186</sup> Salmeron G, Greenberg SD, Lidsky MC. Polymyositis and diffuse interstitial lung diseases: a review of the pulmonary histopathologic findings. *Arch Intern Med* 1981;141:1005-10.
- <sup>187</sup> Tazelaar HD, Viggiano RW, Pickersgill J, Colby TV. Interstitial lung disease in polymyositis and dermatomyositis: clinical features and prognosis as correlated with histologic findings. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:727-33.
- <sup>188</sup> Caro I. Dermatomyositis as a systemic disease. *Med Clin North Am* 1989;73:1181-92.
- <sup>189</sup> Lakhanpal S, Lie JT, Conn DL. Pulmonary disease in polymyositis/dermatomyositis: a clinicopathologic analysis of 65 autopsy cases. *Ann Rheum Dis* 1987;46:23-9.
- <sup>190</sup> de Mauepou F, Chiavassa-Gandois H, Giron J, Zabraniecki L, Sans N, Fournie B, Railhac JJ. Spontaneous pneumomediastinum in dermatomyositis: a pathophysiological approach using imaging. *Rev Mal Respir.* 2003;20(6 Pt 1):965-8.
- <sup>191</sup> Bernstein RM, Morgan SH, Chapman J. Anti Jo-1 antibody: a marker for myositis with interstitial lung disease. *BMJ* 1984;289:151-2.
- <sup>192</sup> Hirakata M, Nagai S. Interstitial lung disease in polymyositis and dermatomyositis. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12:501-08.
- <sup>193</sup> Grau JM, Miro O, Pedrol E. Interstitial lung disease related to dermatomyositis. Comparative study with patient without lung involvement. *J Rheumatol* 1996;23:1921-6.
- <sup>194</sup> Trapani S, Camiciottoli G, Vierucci A, Pistolesi M, Falcini F. Pulmonary involvement in juvenile dermatomyositis: a two-year longitudinal study. *Rheumatology (Oxford)* 2001 Feb;40(2):216-20.
- <sup>195</sup> Hochberg MC. Adult onset polymyositis/dermatomyositis. An analysis of clinical and laboratory features and survival in 76 patients with a review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 1986;15:168.
- <sup>196</sup> Sontheimer RD, Miyagawa Potentially fatal interstitial lung disease can occur in clinically amyopathic dermatomyositis. *Acad Dermatol.* 2003;48(5):797-8.
- <sup>197</sup> Fujisawa T, Suda T, Nakamura Y, Enomoto N, Ide K, Toyoshima M, Uchiyama H, Tamura R, Ida M, Yagi T, Yasuda K, Genma H, Hayakawa H, Chida K, Nakamura H. Differences in clinical features and prognosis of interstitial lung diseases between polymyositis and dermatomyositis. *J Rheumatol.* 2005;32(1):58-64.
- <sup>198</sup> Denbow CE, Lie JT, Tancredi RG, Bunch TW. Cardiac involvement in polymyositis: a clinicopathologic study of 20 autopsied patients. *Arthritis Rheum* 1979;22:1088-92.
- <sup>199</sup> Haupt HM, Hutchins GM. The heart and cardiac conduction system in polymyositis-dermatomyositis: a clinicopathologic study of 16 autopsied patients. *Am J Cardiol* 1982;50:998-1006.
- <sup>200</sup> Askari AD. Cardiac abnormalities. *Clin Rheum Dis* 1984;10:31-149.
- <sup>201</sup> Tymms KE, Webb J. Dermatopolymyositis and other connective tissue diseases: a review of 105 cases. *J Rheumatol* 1985;12:1140-8.
- <sup>202</sup> Alyan O, Ozdemir O, Geyik B, Demirkan D. Polymyositis complicated with complete atrioventricular block--a case report and review of the literature. *Angiology.* 2003 Nov-Dec;54(6):729-31.
- <sup>203</sup> Foroozan R. Visual loss from optic neuropathy in dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43(3):391-3.
- <sup>204</sup> Pachman LM. Juvenile dermatomyositis. Natural history and susceptibility factors. In: Woo P, White P, Ansell BM, eds. *Pediatric rheumatology update.* Oxford: Oxford University Press 1990:171-181.
- <sup>205</sup> Wargula J. Update on juvenile dermatomyositis: new advances in understanding its etiopathogenesis. *Curr Opin Rheum* 2003;15(5):595-601.
- <sup>206</sup> Rennebohm R. Juvenile dermatomyositis: an easy-to-read general overview of JDM in regard to epidemiology, pathology, clinical manifestations, diagnosis, clinical course, and treatment. *Pediatr Ann* 2002, 31:426-33.
- <sup>207</sup> Pearson CM. Polymyositis and dermatomyositis. In: Mc Carty DJ ed. *Arthritis (and Allied Conditions)*, 9<sup>th</sup> ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1979, p 742.
- <sup>208</sup> Euwer RL, Sontheimer RD. Amyopathic dermatomyositis: a review. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 124S-127S.
- <sup>209</sup> Rockerbie NR, Woo TY, Callen JP, Guistina T. Cutaneous changes of dermatomyositis precede muscle weakness. *J Am Acad Dermatol* 1988;20:629-32.

- 
- <sup>210</sup> Trautmann C, Abdel-Naser MB, Soehnchen R, Detmar M, Orfanos CE. Prämyopatische versus amyopathische dermatomyositis. *Hautarzt* 1995; 46: 47-52.
- <sup>211</sup> Sontheimer R. Would a new name hasten the acceptance of amyopathic dermatomyositis (dermatomyositis sine myositis) as a distinctive subset within the idiopathic inflammatory dermatomyopathies spectrum of clinical illness? *J Am Acad Dermatol* 2002;46:626-36.
- <sup>212</sup> Chow SK, Yeap SS. Amyopathic dermatomyositis and pulmonary fibrosis. *Clin Rheumatol* 2000;19:484-5.
- <sup>213</sup> Braverman I. *Skin Signs of systemic disease*. 2<sup>nd</sup> Ed. Philadelphia: WB Saunders, 1981:301.
- <sup>214</sup> Euwer R, Sontheimer RD. Amyopathic dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 1992;26:506-8.
- <sup>215</sup> Stonecipher MR, Jorizzo JL, White WL. Cutaneous changes of dermatomyositis in patients with normal muscle enzymes: dermatomyositis sine myositis?. *J Am Acad Dermatol* 1993;28:951-56.
- <sup>216</sup> Finger DR, Dunn CL, Gilliland W, James WD. Amyopathic dermatomyositis associated with malignancy. *Int J Dermatol* 1996;35:663-4.
- <sup>217</sup> Sontheimer RD. Skin manifestations of systemic autoimmune connective tissue disease: diagnostics and therapeutics. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004;18(3):429-62.
- <sup>218</sup> Plotz PH, Dalakas M, Leff RL, Love LA, Miller FW, Cronin ME. Current concepts in the idiopathic inflammatory myopathies: polymyositis, dermatomyositis and related disorders. *Ann Intern Med* 1989;111:143-57.
- <sup>219</sup> Mimori T. Scleroderma-polymyositis overlap syndrome: clinical and serologic aspects. *Int J Dermatol* 1987;26:419-25.
- <sup>220</sup> Bohan A, Peter JB, Bowman RL, Pearson CM. Computer-assisted analysis of 153 patients with polymyositis and dermatomyositis. *Medicine* 1977;56:255-86.
- <sup>221</sup> Rosenberg NL, Carry MR, Ringel SP. Association of inflammatory myopathies with other connective tissue disorders and malignancies. In: Dalakas MC, ed. *Polymyositis and dermatomyositis*. Boston: Butterworths. 1988;37-69.
- <sup>222</sup> Targoff IN. Immunologic aspects of myositis. *Curr Opin Rheumatol* 1989;1:432-42.
- <sup>223</sup> Stertz G. Polymyositis. *Berl Klin Wochenschr* 1916;53:489.
- <sup>224</sup> Krankleit. Über primäre nichteitrige Polymyositis. *Dtsch Arch Klin Med* 1916;120:335-9.
- <sup>225</sup> Barnes BE. Dermatomyositis and malignancy: a review of the literature. *Ann Int Med* 1976;84:68-76.
- <sup>226</sup> Callen JP, Hyla JF, Bole GG, Kay DR. The relationship of dermatomyositis and polymyositis to internal malignancy. *Arch Dermatol* 1980;116:295-8.
- <sup>227</sup> Henriksson KG, Sandstedt P. Polymyositis-treatment and prognosis: a study of 107 patients. *Acta Neurol Scand* 1982;65:280-300.
- <sup>228</sup> Manchul LA, Jin A, Pritchard KI, Tenenbaum J, Boyd NF, Lee P, Germanson T, Gordon DA. The frequency of malignant neoplasms in patients with polymyositis-dermatomyositis. *Arch Int Med* 1985;145:1835-9.
- <sup>229</sup> Benbassat J, Gefel D, Larholt K, Sukenik S, Morgenstern V, Zlotnick A. Prognostic factors in polymyositis/dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1985;28:249-55.
- <sup>230</sup> Hidano A, Kaneko K, Arai Y, Kikuchi R. Survey of the prognosis for dermatomyositis with special reference to its association with malignancy and pulmonary fibrosis. *J Dermatol* 1986;13:233-41.
- <sup>231</sup> Lakhampal S, Bunch TW, Ilstrup DM, Melton III JL. Polymyositis-dermatomyositis and malignant lesions: does an association exist? *Mayo Clin Proc* 1986;61:645-53.
- <sup>232</sup> Salvatore JR, Sarid R, Harrington J, Shah I, Kummert T. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the transverse colon presenting as dermatomyositis: case presentation and literature review. *Med Oncol*. 2003;20(4):413-24.
- <sup>233</sup> Hill CL, Zhang Y, Sigurgeirsson B, Pukkala E, Mellekjær L, Airio A. Frequency of specific cancer types in dermatomyositis and polymyositis: a population-based study. *Lancet* 2001;357:96-100.
- <sup>234</sup> Cox NH, Lawrence CM, Langtry JAA, Ive AF. Dermatomyositis; disease association and an evaluation of screening investigations for malignancy.
- <sup>235</sup> Scaling ST, Kaufman RH, Patten BM. Dermatomyositis and female malignancy. *Obst Gynecol* 1979;54:474-77.
- <sup>236</sup> Hu WH. Nasopharyngeal carcinoma with dermatomyositis: an analysis of 30 cases. *Chung Hua Chung Liu Tsa Chih* 1986;8:133-5.
- <sup>237</sup> Callen JP. The value of malignancy evaluation in patients with dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 1982;6:253-9.
- <sup>238</sup> Chen YJ, Wu CY, Shen JL. Predicting factors of malignancy in dermatomyositis and polymyositis: a case-control study. *Br J Dermatol* 2001;144:825-31.

- 
- <sup>239</sup> Burnouf M, Mahe E, Verpillat P, Descamps V, Lebrun-Vignes B, Picard-Dahan C, Belaich S, Crickx. Cutaneous necrosis is predictive of cancer in adult dermatomyositis. *B. Ann Dermatol Venerol*. 2003;130(3):313-6.
- <sup>240</sup> Mahe E, Descamps V, Burnouf M, Crickx B. A helpful clinical sign predictive of cancer in adult dermatomyositis: cutaneous necrosis. *Arch Dermatol*. 2003;139(4):539.
- <sup>241</sup> Basset-Seguain N, Roujeau JC, Gherardi R, Guillaume JC, Revuz J, Touraine R. Prognostic factors and predictive signs of malignancy in adult dermatomyositis. *Arch Dermatol* 1990;126:633-37.
- <sup>242</sup> Amerio P, Girardelli CR, Proietto G, Forleo P, Cerritelli L, Feliciani C, Colonna L, Teofoli P, Amerio P, Puddu P, Abeni D. Usefulness of erythrocyte sedimentation rate as tumor marker in cancer associated dermatomyositis. *Eur J Dermatol*. 2002;12(2):165-9.
- <sup>243</sup> Sparsa A, Liozon E, Herrmann F, Ly K, Lebrun V, Soria P, Loustaud-Ratti V, Bouyssou-Gauthier ML, Boulinguez S, Bedane C, Jauberteau MO, Vidal E, Bonnetblanc JM. Routine vs extensive malignancy search for adult dermatomyositis and polymyositis: a study of 40 patients. *Arch Dermatol*. 2002;138(7):885-90.
- <sup>244</sup> Bonnetblanc JM, Bernard P, Fayol J. Dermatomyositis and malignancy: a multicenter cooperative study. *Dermatologica* 1990;180:212-6.
- <sup>245</sup> Holden DJ, Brownell AKW, Fritzler MJ. Clinical and serological features of patients with polymyositis or dermatomyositis. *Can Med Assoc J* 1985;132:649-53.
- <sup>246</sup> Hochberg MC, Feldman D, Stevens MB. Adult onset polymyositis/dermatomyositis: an analysis of clinical and laboratory features and survival in 76 patients with review of the literature. *Sem Arthritis Rheum* 1986;15:168-78.
- <sup>247</sup> Callen JP. When and how should the patient with dermatomyositis or amyopathic dermatomyositis be assessed for possible cancer? *Arch Dermatol* 2002;138:885-90.
- <sup>248</sup> Whitaker JN. Inflammatory myopathy; a review of etiologic and pathogenetic factors. *Muscle Nerve* 1982;5:573-92.
- <sup>249</sup> Karpati G, Carpenter S. Idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Neurol Neurosurg* 1988;1:806-14.
- <sup>250</sup> Dalakas MC, ed. *Polymyositis and dermatomyositis*. Boston: Butterworths, 1988.
- <sup>251</sup> Kagen LJ, Aram S. Creatine kinase activity inhibitor in sera from patients with muscle disease. *Arthritis Rheum* 1987;30:213-7.
- <sup>252</sup> Warmolts JR. Electrodiagnosis in neuromuscular disorders. *Ann Intern Med* 1981;99:599.
- <sup>253</sup> Barkhaus PE, Nandedkar DB. Quantitative EMG in inflammatory myopathy. *Muscle Nerve* 1990;13:247-53.
- <sup>254</sup> Uncini A, Lange DJ, Hayes AP. Long-duration polyphasic motor unit potentials in myopathies: a quantitative study with pathological correlation. *Muscle Nerve* 1990;13:263-7.
- <sup>255</sup> Robinson LR. Polymyositis. *Muscle Nerve* 1991;14:310-5.
- <sup>256</sup>
- <sup>257</sup> Banker BQ, Engel AG. The polymyositis and dermatomyositis syndromes. In Engel AG, Banker BQ, eds. *Myology*. New York: McGraw-Hill, 1986;1385-422.
- <sup>258</sup> Carpenter S. Resin histology and electron microscopy in inflammatory myopathies. In: Dalakas MC, ed. *Polymyositis and dermatomyositis*. Boston: Butterworths, 1988;195-215.
- <sup>259</sup> van der Pas J, Hengstman GJ, ter Laak HJ. Diagnostic value of MHC class I staining in idiopathic inflammatory myopathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004, 75:136-9.
- <sup>260</sup> Civatte M, Schleinitz N, Krammer P. Class I MHC detection as a diagnostic tool in noninformative muscle biopsies of patients suffering from dermatomyositis (DM). *Neuropathol Appl Neurobiol* 2003, 29:546-552.
- <sup>261</sup> Li CK, Varsani H, Holton JL, Gao B, Woo P, Wedderburn LR; Juvenile Dermatomyositis Research Group (UK and Ireland). MHC Class I overexpression on muscles in early juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol*. 2004;31(3):605-9.
- <sup>262</sup> Alhatou MI, Sladky JT, Bagasra O, Glass JD. Mitochondrial abnormalities in dermatomyositis: characteristic pattern of neuropathology. *J Mol Histol*. 2004;35(6):615-9.
- <sup>263</sup> Love LA, Leff RL, Fraser DD, Targoff IN, Dalakas MC, Plotz PH, Miller FW. A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patient groups. *Medicine* 1991;70:360-74.
- <sup>264</sup> Targoff IN, Johnson AE, Miller FW. Antibody to signal recognition particle in polymyositis. *Arthritis Rheum* 1990;33:1361-70.
- <sup>265</sup> Targoff IN. Update on myositis-specific and myositis associated autoantibodies. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12:475-81.

- 
- <sup>266</sup> Kao AH, Lacomis D, Lucas M, Fertig N, Oddis CV. Anti-signal recognition particle autoantibody in patients with and patients without idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum.* 2004;50(1):209-15.
- <sup>267</sup> Targoff IN, Reichlin M. The association between Mi-2 antibodies and dermatomyositis: *Arthritis Rheum* 1985;28:796-803.
- <sup>268</sup> Targoff IN, Milasena DS, Trieu EP, Arnett FC, Pachman LM, Callen JP, Miller FW. Clinical features and immunologic testing of patients with anti-Mi-2 antibodies. *Arthritis Rheum* 1990;33:S72.
- <sup>269</sup> Arad-Dann H, Isenberg D, Ovadia E, Shoefeld Y, Sperling J, Sperling R. Autoantibodies against a nuclear 56-kDa protein: a marker for inflammatory muscle disease. *J Autoimmun* 1989;2:877-88.
- <sup>270</sup> Wada K, Ueno S, Hazama T, Ogasahara S, Kang J, Takahashi M, Tarui S. Radioimmunoassay for antibodies to human skeletal muscle myosin in serum from patients with polymyositis. *Clin Exp Immunol* 1983;52:297-304.
- <sup>271</sup> Kajihara M, Kiwana M, Tokuda H, Yamane K, Kib M, Hirata M. Myositis and interstitial lung disease associated with autoantibody to a transmembrane RNA-related protein Wa. *J Rheumatol* 2000;27:2707-10.
- <sup>272</sup> Targoff IN, Trieu EN, Sontheimer RD. Autoantibodies to 155 kDa and Se autoantigens in patients with clinically amyopathic dermatomyositis. *Arthritis and Rheumatism* 2000;43:S194.
- <sup>273</sup> Sato S, Suwa A, Kuwana M. Clinical and immunological associations of autoantibodies to the 140 kDa polypeptide (the US autoantigen) in patients with clinically amyopathic dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2003;48:S102.
- <sup>274</sup> Targoff IN. Idiopathic inflammatory myopathy: autoantibody update. *Curr Rheumatol Rep.* 2002;4(5):434-41.
- <sup>275</sup> Miller FW, Love LA, Barbieri A, Balow JE, Plotz PH. Lymphocyte activation markers in idiopathic myositis: changes with disease activity and differences among clinical and autoantibody subgroups. *Clin Exp Immunol* 1990;81:373-9.
- <sup>276</sup> Olsen NJ, Vital TL, Schulman M, Price RR, Partain CL, Park JH. Distinct patterns of muscle involvement in dermatomyositis and polymyositis as characterized by resonance imaging and spectroscopy. *Arthritis Rheum* 1992;35:S95.
- <sup>277</sup> Kaufman LD, Gruber BL, Gerstman DP, Kaell AT. Preliminary observations on the role of magnetic resonance imaging for polymyositis and dermatomyositis. *Ann Rheum Dis* 1987;46:569-72.
- <sup>278</sup> Nishikai M, Akiya K. Clinical significance of magnetic resonance imaging of skeletal muscles in idiopathic inflammatory myopathies of adults. *Ryumachi* 2000 Dec;40(6):881-90.
- <sup>279</sup> Dion E, Cherin P. Use of muscular MRI in inflammatory myopathies. *Interne.* 2004 Jun;25(6):435-41.
- <sup>280</sup> Southwood TR, Ryder CAJ, Chapman S. Rapid changes in magnetic resonance imaging of muscle after treatment of juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1992;35:S94.
- <sup>281</sup> Stonecipher MR, Jorizzo JL, Monu J, Walker F, Sutej PG. Dermatomyositis with normal muscle enzyme concentrations. *Arch Dermatol* 1994;130:1294-9.
- <sup>282</sup> Pfeleiderer B, Lange J, Loske KD, Sunderkotter C. Metabolic disturbances during short exercises in dermatomyositis revealed by real-time functional 31P magnetic resonance spectroscopy. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43(6):696-703.
- <sup>283</sup> Kimball AB, Summer RM, Turner M, Dugan EM, Hicks J, Miller FW, Rider LG. Magnetic resonance imaging detection of occult skin and subcutaneous abnormalities in juvenile dermatomyositis. Implications for diagnosis and therapy. *Arthritis Rheum* 2000;43(8):1866-1873.
- <sup>284</sup> Jorizzo JL. Dermatomyositis: practical aspects. *Arch Dermatol* 2002;138:114-6.
- <sup>285</sup> Kennedy BJ, Smith LR, Goltz RW. Skin changes secondary to hydroxyurea therapy. *Arch Dermatol* 1975;111:183-7.
- <sup>286</sup> Senet P, Aractingi S, Porneuf M, Perrin P, Duterque M. Hydroxyurea-induced dermatomyositis-like eruption. *Br J Dermatol* 1995;133:455-9.
- <sup>287</sup> Dacey MJ, Callen JP. Hydroxyurea-induced dermatomyositis-like eruption. *J Am Acad Dermatol.* 2003;48(3):439-41.
- <sup>288</sup> Oskay T, Kutluay L, Ozyilkan O. Dermatomyositis-like eruption after long-term hydroxyurea therapy for polycythemia vera. *Dermatol.* 2002;12(6):586-8.
- <sup>289</sup> Doyle DR, McCurley TL, Sergeant JS. Fatal polymyositis in D-penicillamine-treated rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 1983;98:327-30.
- <sup>290</sup> Hertzman PA, Blevins WL, Mayer J, Greenfield B, Ting M, Gleich GJ. Association of the eosinophilia-myalgia syndrome with the ingestion of tryptophan. *N Engl J Med* 1990;322:869-73.
- <sup>291</sup> Spencer CH, Hanson V, Singen BH. Course of treated juvenile dermatomyositis. *J Pediatr* 1984;105:399-408.

- 
- <sup>292</sup> Rose AL. Childhood polymyositis: a follow-up study with special reference to treatment with corticosteroids. *Am J Dis Child* 1974;127:518-22.
- <sup>293</sup> Wedgewood RJP, Cook CD, Cohen J. Dermatomyositis: report of 26 cases in children with a discussion of endocrine therapy in 13. *Pediatrics* 1953;12:447-66.
- <sup>294</sup> Tuffanelli DL, Lavole PE. Prognosis and therapy of polymyositis/dermatomyositis. *Clin Dermatol* 1988;6:93-104.
- <sup>295</sup> Uchino M, Araki S, Yoshida O, Uekawa K, Nagata J. High single-dose alternate-day corticosteroid regimens in treatment of polymyositis. *J Neurol* 1985;232:175-8.
- <sup>296</sup> Dalakas MC. Treatment of polymyositis and dermatomyositis with corticosteroids: a first therapeutic approach. In: Dalakas MC, ed. *Polymyositis and dermatomyositis*. Boston. Butterworths. 1988;235-53.
- <sup>297</sup> Oddis CV, Medsger TA. Relationship between serum creatin-kinase level and corticosteroid therapy in polymyositis/dermatomyositis. *J Rheumatol* 1988;15:807-11.
- <sup>298</sup> Miller G, Hekmatt JZ, Dubowitz V. Drug treatment of juvenile dermatomyositis. *Arch Dis Child* 1983;58:445-50.
- <sup>299</sup> Fink CW. Overview of corticosteroid therapy in the treatment of rheumatid diseases of childhood. *Clin Exp Dermatol* 1991;9(suppl 6):9-13.
- <sup>300</sup> Dubowitz V. Treatment of dermatomyositis in childhood. *Arch Dis Child* 1976;51:449-50
- <sup>301</sup> Hoffman GS, Franck WA, Raddatz DA. Presentation, treatment, and prognosis of idiopathic inflammatory muscle disease in a rural hospital. *Am J Med* 1983;75:433-38.
- <sup>302</sup> Ghate J, Katsambas A, Augerinou G, Jorizzo J. A therapeutic update on dermatomyositis/polymyositis. *Int J Dermatol* 2000;39:81-7.
- <sup>303</sup> Clemente PJ, Davis J. Cytotoxic drugs: their clinical application to the rheumatic diseses. *Semin Arthritis Rheum* 1986;15:231-154.
- <sup>304</sup> Metzger AL, Bohan A, Goldberg LS. Polymyositis and dermatomyositis: combined methotrexate and corticosteroid therapy. *Ann Intern Med* 1974;81:182-89.
- <sup>305</sup> Oddis CV, Medsger TA. Current management of polymyositis and dermatomyositis. *Drugs* 1989;37:382-90.
- <sup>306</sup> Yanagisawa T, Sueishi M, Nawata Y. Mehtylprednisolone pulse therapy in dermatomyositis. *Dermatologica* 1983;167:47-51.
- <sup>307</sup> Baron M, Small P. Polymyositis/dermatomyositis: clinical features and outcome in 22 patients. *J Rheumatol* 1985;12:283-6
- <sup>308</sup> Laxer RM, Stein LD, Petty RE. Intravenous pulse methylprednisolone treatment of juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1987;30:328-34.
- <sup>309</sup> Pachman LM. Juvenile dermatomyositis. *Pediatr Clin North Am* 1986;33:1097-117.
- <sup>310</sup> Dalakas MC. Treatment of polymyositis and dermatomyositis. *Curr Opin Rheumatol* 1989;1:443-9.
- <sup>311</sup> Dalakas M. Pharmacologic concerns of corticosteroids in the treatment of patients with immune related neuromuscular diseases. *Neurol Clin* 1990;8:93-118.
- <sup>312</sup> Ramirez G, Asherson RA, Khamashta MA. Adult-onset polymyositis-dermatomyositis: description of 25 patients with emphasis on treatment. *Semin Arthritis Rheum* 1990;20:114-20.
- <sup>313</sup> Wallace DJ, Metzger AL, White KK. Combination immunosuppressive treatment of steroid resistant dermatomyositis/polymyositis. *Arthritis Rheum* 1985;28:590-92.
- <sup>314</sup> Danieli MG, Malcangi G, Palmieri C, Logullo F, Salvi A, Piani M, Danieli G. Cyclosporin A and intravenous immunoglobulin treatment in polymyositis/dermatomyositis. *Ann Rheum Dis*. 2002;61(1):37-41.
- <sup>315</sup> Bunch TW. Prednisone and azathioprine for polymyositis: long term follow up. *Arthritis Rheum* 1981;24:45-48.
- <sup>316</sup> Ng YT, Ouvrier RA, Wu T. Drug therapy in juvenile dermatomyositis: follow-up study. *J Child Neurol* 1998;13:109-12.
- <sup>317</sup> Dalakas M, Hohfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet* 2003;362:971-82.
- <sup>318</sup> Fischer TJ, Rachelefsy GS, Klein RB. Childhood dermatomyositis and polymyositis. *Am J Dis Child* 1979;133:386-89.
- <sup>319</sup> Leroy JP, Drosos AA, Yiannopoulos DI, Youinou P, Moutsopoulos HM. Intravenous pulse cyclophosphamide therapy in myositis and Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1990;33:1579-1581.
- <sup>320</sup> Schnabel A, Reuter M, Gross WL. Intravenous pulse cyclophosphamide in the treatment of interstitial lung disease due to collagen vascular disease. *Arthritis Rheum* 1998;41:1215-20.
- <sup>321</sup> Oddis C. Current approach to the treatment of polymyositis an dermatomyositis. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12:492-7.
- <sup>322</sup> Rapini RP. Cytotoxic drugs in the treatment of skin disease. *Int J Dermatol* 1991;38:544-552.

- 
- <sup>323</sup> Vencovsky J, Jarosova K, Machacek S, Studynkova J, Kafkova J, Bartunkova J. Cyclosporine A versus methotrexate in the treatment of polymyositis and dermatomyositis. *Scan J Rheumatol* 2000;29:95-102.
- <sup>324</sup> Heckmatt J, Hasson N, Saunders C. Cyclosporin in juvenile dermatomyositis. *Lancet* 1989;1:1063-6.
- <sup>325</sup> Grau JM, Herrero C, Casdemont J. Cyclosporine A as first choice for dermatomyositis. *J Rheumatol* 1994;21:381-2.
- <sup>326</sup> Dalakas MC. Intravenous immunoglobulin in autoimmune neuromuscular diseases *JAMA*. 2004;19:291(19):2367-75.
- <sup>327</sup> Rutter A, Luger TA. Intravenous immunoglobulin: an emerging treatment for immune-mediated skin diseases. *Curr Opin Investig Drugs*. 2002;3(5):713-9.
- <sup>328</sup> Cherin P, Herson S, Wechsler B, et al. Efficacy of intravenous gamma globulin therapy in chronic refractory polymyositis and dermatomyositis: an open study with 20 adult patients. *Am J Med* 1991;91:162-168.
- <sup>329</sup> Peake MF, Perkins P, Elston DM, Older SA, Vinson RP. Cutaneous ulcers of refractory adult dermatomyositis responsive to intravenous immunoglobulin. *Cutis* 1998;62:89-93.
- <sup>330</sup> Cherin P, Pelletier S, Teixeira A, Laforet P, Genereau T, Simon A. Results and long-term follow-up of intravenous immunoglobulin infusions in chronic refractory polymyositis: an open study with thirty-five adult patients. *Arthritis Rheum* 2002;46:467-74.
- <sup>331</sup> Cherin P. The treatment of inflammatory muscle diseases *Med*. 2003;32(35):1668-75.
- <sup>332</sup> Basta M, Dalakas MC. High-dose intravenous immunoglobulin exerts its beneficial effect in patients with dermatomyositis by blocking endomysial deposition of activated complement fragments. *J Clin Invest* 1994;94:1729-35.
- <sup>333</sup> Lutz HU, Stammeler P, Bianchi V, Trueb RM, Hunziker T, Burger R, Jelezarova E, Spath PJ. Intravenously applied IgG stimulates complement attenuation in a complement-dependent autoimmune disease at the amplifying C3 convertase level. *Blood*. 2004;15;103(2):465-72.
- <sup>334</sup> Dalakas MC. High-dose intravenous immunoglobulin in inflammatory myopathies: experience based on controlled clinical trials. *Neurol Sci*. 2003;24 Suppl 4:S256-9.
- <sup>335</sup> Ruetter A, Luger TA. Efficacy and safety of intravenous immunoglobulin for immune-mediated skin disease: current view. *Am J Clin Dermatol*. 2004;5(3):153-60.
- <sup>336</sup> Liu V, Mackool BT. Mycophenolate in dermatology. *Dermatolog Treat*. 2003 Dec;14(4):203-11.
- <sup>337</sup> Chaudhry V, Comblath DR, Griffin JW, O'Brien R, Drachman DB. Mycophenolate mofetil a safe and promising immunosuppressant in neuromuscular diseases. *Neurology* 2001;56:94-6.
- <sup>338</sup> Miller FW, Leitman SF, Cronin ME. A randomized double-blind controlled trial of plasma exchange and leukapheresis in patients with polymyositis and dermatomyositis. *N Engl J Med* 1992;326:1380-4.
- <sup>339</sup> Dalakas MC, Engel WK. Total body irradiation in the treatment of intractable polymyositis and dermatomyositis. In: Dalakas MC, ed. *Polymyositis and dermatomyositis*. Stoneham: Butterworth, 1988:281-91.
- <sup>340</sup> Yamada A, Ohshima Y, Omata N, Yasutomi M, Mayumi M. Steroid-sparing effect of tacrolimus in a patient with juvenile dermatomyositis presenting poor bioavailability of cyclosporine A. *Eur J Pediatr*. 2004 Sep;163(9):561-2. Epub 2004 Jul 08.
- <sup>341</sup> Dalakas MC. Progress in inflammatory myopathies: good but not good enough. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;70:569-73.
- <sup>342</sup> Gold R, Dalakas MC, Toyka KV. Immunotherapy in autoimmune neuromuscular disorders. *Lancet Neurology* 2003;2:22-32.
- <sup>343</sup> Sandborn WJ, Hanauer SB. Antitumor necrosis factor therapy for inflammatory bowel disease: a review of agents, pharmacology, clinical results, and safety. *Inflamm Bowel Dis* 1999;119-33.
- <sup>344</sup> Moreland IW. Inhibitors of tumor necrosis factor for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999;26(suppl57):7-15.
- <sup>345</sup> Tutuncu Z, Morgan GJ Jr, Kavanaugh A. Anti-TNF therapy for other inflammatory conditions. *Rheumatol*. 200;20(6 Suppl 28):S146-51.
- <sup>346</sup> Hengstman GJD, Van Dden Hoogen FHJ, Barrera P, Netea MG, Pieterse A, Van de Putte LBA, Van Engelen BGM. Successful treatment of dermatomyositis and polymyositis with anti-tumor necrosis factor-alpha: preliminary observations. *Eur Neurol* 2003;50:10-5.
- <sup>347</sup> Hengstman GJD, Van den Hoogen FHJ, Van Engelen BGM. Treatment of dermatomyositis and polymyositis with anti-tumor necrosis factor- $\alpha$ : long-term follow up. *Eur Neurol* 2004;52:61-3.
- <sup>348</sup> Nzeusseu A, Durez P, Houssiau F, Devogelaer J. Successful use of infliximab in a case of refractory juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2001;44:S90.
- <sup>349</sup> Saadeh CK. Etanercept effective in polymyositis, dermatomyositis refractory to conventional therapy. *Outlook for the Inflammatory Myopathies* 2001; March: 17.

- 
- <sup>350</sup> Kaplan M. Eculizumab (Alexion). *Current Opinion in Investigational Drugs* 2002;3:1017–23.
- <sup>351</sup> Looney RJ, Anolik J, Sanz I. B cells as therapeutic targets for rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol*. 2004 May;16(3):180-5.
- <sup>352</sup> Hollar CB, Jorizzo JL. Topical tacrolimus 0.1% ointment for refractory skin disease in dermatomyositis: a pilot study. *J Dermatolog Treat*. 2004;15(1):35-9.
- <sup>353</sup> Ueda M, Makinodan R, Matsumura M, Ichihashi M. Successful treatment of amyopathic dermatomyositis with topical tacrolimus. *Br J Dermatol*. 2003 Mar;148(3):595-6.
- <sup>354</sup> Yoshimasu T, Ohtani T, Sakamoto T, Oshima A, Furukawa F. Topical FK506 (tacrolimus) therapy for facial erythematous lesions of cutaneous lupus erythematosus and dermatomyositis. *Eur J Dermatol*. 2002;12(1):50-2.
- <sup>355</sup> Garcia-Doval I, Cruces M. Topical tacrolimus in cutaneous lesions of dermatomyositis: lack of effect in side-by-side comparison in five patients. *Dermatology*. 2004;209(3):247-8.
- <sup>356</sup> Walker SL, Kirby B, Chalmers RJG. The effect of topical tacrolimus on severe recalcitrant chronic discoid lupus erythematosus. *British Journal of Dermatology* 2002;147:405–6.
- <sup>357</sup> Kasteler JS, Callen JP. Low-dose methotrexate administered weekly is an effective corticosteroid-sparing agent for the treatment of the cutaneous manifestations of dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 1997;36:67-71.
- <sup>358</sup> Gelber AC, Nousari HC, Wigley FM. Mycophenolate mofetil in the treatment of severe skin manifestations of dermatomyositis: a series of 4 cases. *J Rheumatol* 2000;27:1542-5.
- <sup>359</sup> Cohen JB. Cutaneous involvement of dermatomyositis can respond to dapsone therapy. *Int J Dermatol* 2002;41:182-4.
- <sup>360</sup> Konohana A, Kawashima J. Successful treatment of dermatomyositis with dapsone. *Clin Exp Dermatol* 1994;19:367.
- <sup>361</sup> Sadayama T, Miyagawa S, Shirai T. Low-dose intravenous immunoglobulin therapy for intractable dermatomyositis skin lesions. *Journal of Dermatology* 1999;26:457–9.
- <sup>362</sup> Allgrove J. Use of bisphosphonates in children and adolescents. *Pediatr Endocrinol Metab*. 2002;15 Suppl 3:921-8.
- <sup>363</sup> Ichiki Y, Akiyama T, Shimozawa N, Suzuki Y, Kondo N, Kitajima Y. An extremely severe case of cutaneous calcinosis with juvenile dermatomyositis, and successful treatment with diltiazem. *Br J Dermatol* 2001;144:894-7.
- <sup>364</sup> Varju C, Kutas R, Petho E, Czirjak L. Role of physiotherapy in the rehabilitation of patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Orv Hetil*. 2004 Jan 4;145(1):25-30.
- <sup>365</sup> Jordan JR, Paruthi S, Pichardo RO, Challa VR, Donofrio PD, Jorizzo JL. Spontaneously remitting dermatomyositis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004;18(4):495-8.
- <sup>366</sup> Danko K, Ponyi A, Constantin T, Borgulya G, Szegedi G. Long-term survival of patients with idiopathic inflammatory myopathies according to clinical features: a longitudinal study of 162 cases. *Medicine (Baltimore)*. 2004;83(1):35-42.
- <sup>367</sup> Juarez M, Misischia R, Alarcon GS. Infections in systemic connective tissue diseases: systemic lupus erythematosus, scleroderma, and polymyositis/dermatomyositis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2003;29(1):163-84.
- <sup>368</sup> Maugars YM, Berthelot JM, Abbas AA, Mussini JM, Nguyen JM, Prost AM. Long term prognosis of 69 patients with dermatomyositis or polymyositis. *Clin Exp Rheumatol* 1996;14:263-74.
- <sup>369</sup> Sultan SM, Ioannou Y, Moss K, Isenberg DA. Outcome in patients with idiopathic inflammatory myositis: morbidity and mortality. *Rheumatology* 2002;41:22-6.
- <sup>370</sup> Mitchell JP, Dennis GJ, Rider LG. Juvenile dermatomyositis presenting with anasarca: A possible indicator of severe disease activity. *J Pediatr* 2001 Jun;138(6):942-5.
- <sup>371</sup> Marie I, Hachulla E, Hatron PY, Hellot MF, Levesque H, Devulder B. Polymyositis and dermatomyositis: short term and long term outcome and predictive factors of prognosis. *J Rheumatol* 2001;28:2230-37.
- <sup>372</sup> Pachman LM, Klein-Gitelman MS, Daaboul J. Increased non-fasting insulin levels in children with juvenile dermatomyositis (JDM) are associated with the TNFA2 allele (AA, GA) and increased disease duration. *Arthritis Rheum* 1998, 41:S203.
- <sup>373</sup> Schmutz JL. Dermatological diseases influenced by pregnancy. *Presse Med*. 2003;29:32(38):1809-12.
- <sup>374</sup> Silva CA, Sultan SM, Isenberg DA. Pregnancy outcome in adult-onset idiopathic inflammatory myopathy. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42(10):1168-72.
- <sup>375</sup> Pachman LM. Imperfect indications of disease activity in juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol* 1995;22:193-7.
- <sup>376</sup> Mader R, Keystone EC. Inflammatory myopathy. Do we have adequate measures of the treatment response? *J Rheumatol* 1993;20:1105-7.

- 
- <sup>377</sup> Resnick JS, Mammel M, Mundale MO, Kottke FJ. Muscular strength as an index of response to therapy in childhood dermatomyositis. *Arch Phys Med Rehabil* 1981;62(1):12-19.
- <sup>378</sup> Aids to the investigation of peripheral nerve injuries. Medical Research Council War Memorandum, London, Her Majesty Stationary Office, 1943.
- <sup>379</sup> Lovell DJ, Lidsley CB, Rennebohm RM, Ballinger SH, Bowyer SL, Giannini EH, Hicks JE, Levinson JE, Mier R, Pachman LM, Passo MH, Perez MD, Reed AM, Schikler KN, Smith M, Zemel LS, Rider LG. Development of validated disease activity and damage indices for the juvenile idiopathic inflammatory myopathies. II. The Childhood Myositis Assessment Scale (CMAS): a quantitative tool for the evaluation of muscle function. *The Juvenile Dermatomyositis Disease Activity Collaborative Study Group. Arthritis Rheum* 1999;42(10):2213-2219.
- <sup>380</sup> Csuka M, McCarty DK. Simple method for measurement of lower extremity muscle strength. *Am J Med* 1985;78:77-81.
- <sup>381</sup> Alexanderson H, Lundberg IE, Stenstrom CH. Development of the myositis activities profile--validity and reliability of a self-administered questionnaire to assess activity limitations in patients with polymyositis/dermatomyositis. *J Rheumatol.* 2002;29(11):2386-92.
- <sup>382</sup> Smith RL, Sundberg J, Shamiyah E, Dyer A, Pachman LM. Skin involvement in juvenile dermatomyositis is associated with loss of end row nailfold capillary loops. *J Rheumatol.* 2004;31(8):1644-9.
- Smith RL, Sundberg J, Shamiyah E, Dyer A, Pachman LM.
- <sup>383</sup> Bode RK, Klein-Gitelman MS, Miller ML, Lechman TS, Pachman LM. Disease activity score for children with juvenile dermatomyositis: reliability and validity evidence. *Arthritis Care Res* 2003;49:7-15.
- <sup>384</sup> Miranda M, Carvallo A. Juvenile dermatomyositis: clinical manifestations and laboratory tests. *Rev Chil Pediatr* 1991;62(1):28-33.
- <sup>385</sup> Devere R, Bradley WG. Polymyositis: its presentation morbidity and mortality. *Brain* 1975;98:637-66.
- <sup>386</sup> Pachman LM, Hayford JR, Sinacore J, Bowyer SL, Hochberg MC. New onset juvenile dermatomyositis: a clinical description. *Arthritis Rheum* 1992;35:S88.
- <sup>387</sup> Bloom BJ, Tucker LB, Miller LC, Schaller JG. Von Willebrand factor in juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol* 1995;22:320-5.
- <sup>388</sup> Miller LC, Sisson BA, Tucker LB, DeNardo BA, Schaller JG. Methotrexate treatment of recalcitrant childhood dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1992;35:1143-9.
- <sup>389</sup> Nevins M, Saran M, Bright M, Lyon L. Pitfalls in interpreting serum creatine phosphokinase activity. *JAMA* 1973;224:1382-1387.
- <sup>390</sup> Asaka M, Alpert E. Subunit-specific radioimmunoassay for aldolase A, B, and C subunits: clinical significance. *Ann NY Acad Sci* 1983;417:359-367.
- <sup>391</sup> Bunch TW, Worthington JW, Combs JJ, Ilstrup DM, Engel AG. Azathioprine with prednisone for polymyositis: a controlled clinical trial. *Ann Intern Med* 1980;92:365-9.
- <sup>392</sup> Lane RJM, Emlie-Smith A, Mosquera IE, Hudgson P. Clinical biochemical and histological responses to treatment in polymyositis: a prospective study. *J R Soc Med* 1989;82:333-8.
- <sup>393</sup> Kroll M, Otis J, Gagen L. Serum enzyme, myoglobin and muscle strength relationship in polymyositis and dermatomyositis. *J Rheumatol* 1986;13:349-55.
- <sup>394</sup> Hicks JE, Miller F, Thornton B. Correlation of a functional assessment tool for idiopathic inflammatory myopathy with manual muscle test, creatinephosphokinase and aldolase values. *American College of Rheumatology Polymyositis Symposium, Marc 21, 1991.*
- <sup>395</sup> Guzman J, Petty RE, Malleson PN. Monitoring disease activity in juvenile dermatomyositis: the role of von Willebrand factor and muscle enzymes. *J Rheumatol* 1994;21(4):739-743.
- <sup>396</sup> Szmids-Salkowska E, Rowinska-Marcinska K, Lovelace RE. EMG dynamics in polymyositis and dermatomyositis in adults. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1989;29:399-404.
- <sup>397</sup> Dorph C, Nennesmo I, Lundberg IE. Percutaneous conchotome muscle biopsy. A useful diagnostic and assessment tool. *J Rheumatol* 2001 Jul;28(7):1591-9.
- <sup>398</sup> Kagen LJ. Myoglobinemia and myoglobinuria in patients with myositis. *Arthritis Rheum* 1971;14:457-64.
- <sup>399</sup> Nishikai M, Reichlin M. Radioimmunoassay of serum myoglobin in polymyositis and other conditions. *Arthritis Rheum* 1977;20:1514-8.
- <sup>400</sup> Borleffs JCC, Dersken RHW, Bar DP. Serum myoglobin and creatine kinase concentrations in patients with polymyositis or dermatomyositis. *Ann Rheum Dis* 1987;46:173-5.
- <sup>401</sup> Kadoya A, Okada J, Kondo H. Serum hepatocyte growth factor in patients with inflammatory myopathies. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 1996;19(5):488-497.

- 
- <sup>402</sup> Hernandez RJ, Sullivan DB, Chenevert TL. MR imaging in children with dermatomyositis: musculoskeletal findings and correlation with clinical and laboratory findings. *AJR* 1993;161:359-66.
- <sup>403</sup> Hernandez RJ, Keim DR, Sullivan DB, Chenevert TL, Martel W. Magnetic resonance imaging appearance of the muscles in childhood dermatomyositis. *J Pediatr* 1990;116:546-50.
- <sup>404</sup> Pachman LM. Juvenile Dermatomyositis: new clues to diagnosis and pathogenesis. *Clin Exp Rheumatol* 1994;12:S69-73.
- <sup>405</sup> Pitt AM, Fleckenstein JL, Greenlee RG Jr, Burns DK, Bryan WW, Haller R. MRI-guided biopsy in inflammatory myopathy: initial results. *Magn Reson Imag* 1993;11:1093-9.
- <sup>406</sup> Fraser DD, Frank JA, Dalakas M, Miller FW, Hicks JE, Plotz P. MRI in the idiopathic inflammatory myopathies. *J Rheumatol* 1991;18:1693-700.
- <sup>407</sup> Hernandez RJ, Keim DR, Chenevert TL, Sullivan DB, Aisen AM. Fat suppressed MR imaging for myositis. *Radiology* 1992;182:217-9.
- <sup>408</sup> Maillard SM, Jones R, Owens C, Pilkington C, Woo P, Wedderburn LR, Murray KJ. Quantitative assessment of MRI T2 relaxation time of thigh muscles in juvenile dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)*. 2004;43(5):603-8.
- <sup>409</sup> Lofberg M, Liewendahl K, Lamminen A, Korhola O, Somer H. Antimyosin scintigraphy compared with magnetic resonance imaging in inflammatory myopathies. *Arch Neurol* 1998;55(7):987-993.
- <sup>410</sup> van Beekvelt MCP, Wevers RA, M van Engelen BG, Colier WJNM. Muscle tissue oxygenation as a functional tool in the follow up of dermatomyositis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;73(1):93-4.
- <sup>411</sup> Hicks JE, Drinkard B, Summers RM, Rider LG. Decreased aerobic capacity in children with juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum*. 2002;47(2):118-23.
- <sup>412</sup> Buchpiguel CA, Roisenblatt S, Lucena-Fernandes MF. Rodioisotopic assessment of peripheral and cardiac muscle involvement and dysfunction in polymyositis/dermatomyositis. *J Rheumatol* 1991;18:1359-63.
- <sup>413</sup> Banker BQ. Dermatomyositis of childhood. *J Neuropathol Exp Neurol* 1975;34:46-75.
- <sup>414</sup> Banker BQ, Victor M. Dermatomyositis (systemic angiopathy) of childhood. *Medicine* 1966;45:261-89.
- <sup>415</sup> DeGroot PG, Sixma JJ. Platelet adhesion. *Br J Haematol* 1990;75:308.
- <sup>416</sup> Bach R, Gentry R, Nemerson Y. Factor VII binding to tissue factor in reconstituted phospholipid vesicles: induction of cooperativity by phosphatidylserine. *Biochemistry* 1986;25:4007-20.
- <sup>417</sup> Bloom A, Thomas D. Haemostasis and Thrombosis. London: Churchill Livingstone.1987.
- <sup>418</sup> Ruggeri Z, Ware J. The structure and function of von Willebrand factor. *Throm Haemostas* 1992;67:594-9.
- <sup>419</sup> Craeger MA. Assessment of arterial and venous thrombosis. In: Loscalzo J, Schager AI, eds. *Thrombosis and Hemorrhage*. Boston: Blackwell, 1994;431-53.
- <sup>420</sup> Federici A, Fox R, Espinoza L, Zimmerman T. Elevation of von Willebrand factor is independent of erythrocyte sedimentation rate and persists after glucocorticoid treatment in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1984;27:1046-9.
- <sup>421</sup> Greave M, Malia R, Ward A. Elevated von Willebrand factor antigen in systemic sclerosis: relationship to visceral disease. *Br J Rheumatol* 1987;27:281-5.
- <sup>422</sup> Nordborg E, Anderson R, Tengborn L, Eden S, Bengtsson B. Von Willebrand factor antigen and plasminogen activator inhibitor in giant cell arteritis. *Ann Rheum Dis* 1991;50:316-20.
- <sup>423</sup> Woolf A, Kakerly G, Wallington T, Scott D, Dieppe P. Factor VIII related antigen in the assessment of vasculitis. *Ann Rheum Dis* 1987;46:441-7.
- <sup>424</sup> Lau C, McClaren M, Belch J. Factor VIII von Willebrand factor antigen levels correlate with symptom severity in patients with Raynaud's phenomenon. *Br J Rheumatol* 1991;30:433-6.
- <sup>425</sup> Komiya T, Negoro N, Kondo K, Miura K, Hirota Y, Yoshikawa J. Clinical significance of von Willebrand factor in patients with adult dermatomyositis. *Clin Rheumatol*. 2004 Nov 23.
- <sup>426</sup> Scott JP, Arroyave C. Activation of complement and coagulation in juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1987;30(5):572-576.
- <sup>427</sup> Bowyer S, Ragsdale C, Sullivan D. Factor VIII related antigen and childhood rheumatic diseases. *J Rheumatol* 1989;16:1093-1097.
- <sup>428</sup> Nossel HL, Yudelman I, Canfield RE, Butler VP, Spanondis K, Wilner GD, Qureshi GD. Measurement of fibrinopeptide A in human blood. *J Clin Invest* 1974 54;43-53.
- <sup>429</sup> Mercie P, Seigneur M, Constans J, Boisseau M, Conri C. Assay of plasma thrombomodulin in systemic diseases. *Rev Med Interne* 1997;18(2):126-131.
- <sup>430</sup> Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, Hausen A, Lang A, Niderwieser D, Reibnegger G, Swetly P, Troppmair J, Wachter H. Immune response-associated production of neopterin: release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med* 1984;160:310-16.

- 
- <sup>431</sup> Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Dierich MP, Watcher H. Neopterin as a marker of activated cell-mediated immunity. *Immunol Today* 1988;9:150-5.
- <sup>432</sup> DeBenedetti F, DeAmici M, Aramini L, Ruperto N, Martini A. Correlation of serum neopterin concentrations with disease activity in juvenile dermatomyositis. *Arch Dis Child* 1993;69:232-235.
- <sup>433</sup> Myones BL, Luckey JP, Hayford JR, Pachman LM. Increased neopterin levels in juvenile dermatomyositis correlate with disease activity and are indicative of macrophage activation. *Arthritis Rheum* 1989;32:S83.
- <sup>434</sup> Pachman LM, Dilling D, Litt DL, Miller ML, Sinacore JS. Sequential studies of neopterin, von Willebrand factor antigen (vWF:Ag) creatine kinase (CK) and aldolase in juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1993;35:S257.
- <sup>435</sup> Samsonov MY, Nasonov EL, Tilz GP, Geht BM, Dermel U, Gurkina GT, Shtutman VZ, Guseva AG, Wachter H, Fuchs D. Elevated Serum levels of neopterin in adult patients with polymyositis/dermatomyositis. *Br J Rheumatol* 1997;36(6):656-660.
- <sup>436</sup> Nasonov EL, Samsonov MI, Tilz G, Fuchs D. Neopterin: new immunological marker of autoimmune rheumatic disease. *Klin Med* 2000;78(8):43-46.
- <sup>437</sup> Backman L, Ringden O, Bjorkhem I. Monitoring of serum neopterin levels in renal transplant recipients: increased values during impaired renal function and cytomegalovirus infection. *Nephron* 1987;46:319-22.
- <sup>438</sup> Wachter H, Fuchs A, Hansen A. Elevated urinary neopterin levels in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Z Physiol Chem* 1983;364:13465-6.
- <sup>439</sup> Kostron-Krainz C, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Urinary neopterin evaluation in malignant diseases in childhood. In: Wachter H, Curtius CH, Pflieger W, eds. *Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines*. New York; Walter de Gruyter, 1982;157-71.
- <sup>440</sup> Kalovidouris AE. The role of cytokines in polymyositis: interferon-gamma induces class II and enhances class I major histocompatibility complex antigen expression on cultured human muscle cells. *J Lab Clin Med* 1992;120:244-251.
- <sup>441</sup> Wolf RE, Baethge BA. Interleukin-1 $\alpha$ , interleukin-2, and soluble interleukin-2 receptor in polymyositis. *Arthritis Rheum* 1990;33:1007-1014.
- <sup>442</sup> Tokano Y, Kanai Y, Hashimoto H, Okomura K, Hirose S. Soluble interleukin 2 receptors in patients with polymyositis/dermatomyositis. *Ann Rheum Dis* 1992;51:781-782.
- <sup>443</sup> Gonzalez-Amaro R, Alcocer-Varela J, Alarcon-Segovia D. Natural killer cell activity in dermatomyositis-polymyositis. *J Rheumatol* 1987;14(2):307-310.
- <sup>444</sup> Viguier M, Fouere S, de la Salmoniere P, Rabian C, Lebbe C, Dubertret L, Morel P, Bachelez H. Peripheral blood lymphocyte subset counts in patients with dermatomyositis: clinical correlations and changes following therapy. *Medicine (Baltimore)*. 2003;82(2):82-6.
- <sup>445</sup> Viguier M, Fouere S, de la Salmoniere P, Rabian C, Lebbe C, Dubertret L, Morel P, Bachelez H.
- <sup>445</sup> O'Gorman MRG, Corrochano V, Roleck J, Pachman LM. Abnormalities in the relative percentages of lymphocyte subsets in the peripheral blood of untreated children with juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1994;37:R15.
- <sup>446</sup> O'Gorman MRG, Corrochano V, Roleck J, Donovan M, Pachman LM. Flow cytometric analysis of the lymphocyte subsets in peripheral blood of children with untreated active juvenile dermatomyositis. *Clin Diag Lab Immunol* 1994;
- <sup>447</sup> Eisenstein DM, O'Gorman MR, Pachman LM. Correlation between change in disease activity and changes in peripheral blood lymphocyte subsets in patients with juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol* 1997;24(9):1830-1832.
- <sup>448</sup> Rider LG, Miller FW, Targoff IN. A broadened spectrum of juvenile myositis: myositis-specific autoantibodies in children. *Arthritis Rheum* 1994;
- <sup>449</sup> Walker EJ, Jeffrey PD, Webb J, Tymms KE. Polydermatomyositis with anti-PL7 antibody: clinical and laboratory follow-up over a five year period. *Clin Exp Rheumatol* 1989;7(5):537-540.
- <sup>450</sup> Cambridge G, Ovadia E, Isenberg DA, Dubowitz V, Sperling J, Sperling R. Juvenile dermatomyositis: serial studies of circulating autoantibodies to a 56kD nuclear protein. *Clin Exp Rheumatol* 1994;12(4):451-457.
- <sup>451</sup> Malleson PN. Controversies in juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol* 1990;17(suppl):1487-98.
- <sup>452</sup> Pawlowski T, Aeschlimann A, Kahn M-F, Vaith P, Mackiewicz SH, Mueller W. Microheterogeneity of acute phase proteins in the differentiation of polymyalgia rheumatica from polymyositis. *J Rheumatol* 1990;17:1187-92.
- <sup>453</sup> Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute-phase response. *Biochem J* 1990;265:621-36.
- <sup>454</sup> Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol* 1993;54:1-78.

- 
- <sup>455</sup> Gabay C, Gay-Croisier F, Roux-Lombard P, Meyer O, Mainetti C, Guerne PA, Vischer T, Dayer JM. Elevated serum levels of interleukin-1 receptor antagonist in polymyositis/dermatomyositis. A biologic marker of disease activity with a possible role in the lack of acute-phase protein response. *Arthritis Rheum* 1994;37(12):1744-1751.
- <sup>456</sup> Prieur AM, Dayer A, Roux-Lombard P, Dayer JM. Levels of cytokine inhibitors: a possible marker of disease activity in childhood dermatomyositis and polymyositis. *Clin Exp Rheumatol* 1997;15(2):211-214.
- <sup>457</sup> Son K, Tomita Y, Shimizu T, Nishinarita S, Sawada S, Horie T. Abnormal IL-1 receptor antagonist production in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Intern Med* 2000;39(2):128-135.
- <sup>458</sup> Arend WP, Dayer J-M. Naturally occurring inhibitors of cytokines. *Immunopharmacology of Joints and Connective Tissue*. Edited by ME Davies, JT Dingle. London, Academic Press, 1994.
- <sup>459</sup> Kubo M, Ihn H, Yamane K, Yazawa N, Kikuchi K, Soma Y, Tamaki K. Increased serum levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 and soluble E-selectin in patients with polymyositis/dermatomyositis. *Br J Dermatol* 2000;143(2):392-398.
- <sup>460</sup> Bloom BJ, Miller LC, Blier PR. Soluble adhesion molecules in pediatric rheumatic diseases. *J Rheumatol* 2002 Apr;29(4):832-6.
- <sup>461</sup> Kubo M, Ihn H, Matsukawa A, Kikuchi K, Tamaki K. Dermatomyositis with elevated serum hyaluronate. *Clin Exp Dermatol* 1999;24(4):275-278.
- <sup>462</sup> Kubo M, Kikuchi K, Fujimoto M, Tamaki K. Serum concentrations of carboxyterminal propeptide of type I procollagen and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 in patients with dermatomyositis. *Arch Dermatol Res* 1998;290(5):253-257.
- <sup>463</sup> Mokuno K, Kiyosawa K, Hond H, Hirose Y, Murayama T, Yoneyama S, Kato K. Elevated serum levels of manganese superoxide dismutase in polymyositis and dermatomyositis. *Neurology* 1996;46(5):1445-1447.
- <sup>464</sup> Liu J, Li J, Zhai N, Geng L, Song F. Detection of the levels of neuropeptides, ACTH and cortisol in the blood of patients with polymyositis/dermatomyositis and their significance. *J Dermatol* 2004;31(5):392-7.
- <sup>465</sup> Nakajima H, Harigai M, Hara M, Hakoda M, Tokuda H, Sakai F, Kamatani N, Kashiwazaki S. KL-6 as a novel serum marker for interstitial pneumonia associated with collagen diseases. *J Rheumatol* 2000;27(5):1164-1170.
- <sup>466</sup> Iwata Y, Wada T, Furuichi K, Kitagawa K, Kokubo S, Kobayashi M, Sakai N, Yoshimoto K, Shimizu M, Kobayashi K, Yokoyama H. Serum levels of KL-6 reflect disease activity of interstitial pneumonia associated with ANCA-related vasculitis. *Intern Med* 2001 Nov;40(11):1093-7.
- <sup>467</sup> Bandoh S, Fujita J, Ohtsuki Y, Ueda Y, Hojo S, Tokuda M, Dobashi H, Kurata N, Yoshinouchi T, Kohno N, Takahara J. Sequential changes of KL-6 in sera of patients with interstitial pneumonia associated with polymyositis/dermatomyositis. *Ann Rheum Dis* 2000;59(4):257-262.
- <sup>468</sup> Ogawa N, Shimoyama K, Kawabata H, Masaki Y, Wano Y, Sugai S. Clinical significance of serum KL-6 and SP-D for the diagnosis and treatment of interstitial lung disease in patients with diffuse connective tissue disorders. *Ryumachi*. 2003;43(1):19-28.
- <sup>469</sup> Dan H, Tani K, Hase K, Shimizu T, Tamiya H, Biraa Y, Huang L, Yanagawa H, Sone S. CD13/aminopeptidase N in collagen vascular diseases. *Rheumatol Int*. 2003;23(6):271-6.
- <sup>470</sup> Ihn H, Asano Y, Kubo M, Yamane K, Jinnin M, Yazawa N, Fujimoto M, Tamaki K. Clinical significance of serum surfactant protein D (SP-D) in patients with polymyositis/dermatomyositis: correlation with interstitial lung disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(11):1268-72.
- <sup>471</sup> Stewart WA, Acott PD, Salisbury SR, Lang BA. Bone mineral density in juvenile dermatomyositis: assessment using dual x-ray absorptiometry. *Arthritis Rheum*. 2003 Aug;48(8):2294-8.
- <sup>472</sup> Jerusalem F, Radusa M, Engel AG, MacDonald RD. Morphometric analysis of skeletal muscle capillary ultrastructure in inflammatory myopathies. *J Neurol Sci* 1974;23:391-402.
- <sup>473</sup> Banker BQ. Dermatomyositis of childhood: ultrastructural alterations of muscle and intramuscular blood vessels. *N Neuropathol Exp Neurol* 1975;34:56-75.
- <sup>474</sup> Carpenter S, Karpati G, Rothman S, Watters G. The childhood type of dermatomyositis. *Neurology* 1976;26:952-62.
- <sup>475</sup> Batten FE. Case of dermatomyositis in a child, with pathological report. *Br J Child Dis* 1912;9:247-57.
- <sup>476</sup> Estruch R, Grau JM, Fernández Solá J, Casademont J, Monforte R, Urbano-Márquez A. Microvascular changes in skeletal muscle in idiopathic inflammatory myopathy. *Human Pathol* 1992;23:888-95.

- 
- <sup>477</sup> Kissel JT, Halterman RK, Kottil W, Rammohan MD, Mendell JR. The relationship of complement-mediated microvasculopathy to the histologic features and clinical duration of disease in dermatomyositis. *Arch Neurol* 1991;48:26-30.
- <sup>478</sup> De Visser M, Emslie-Smith AM, Engel AG. Early ultrastructural alterations in adult dermatomyositis. *J Neurol Sci* 1989;94:181-92.
- <sup>479</sup> Crowson AN, Magro CM. Deposition of membrane attack complex in cutaneous lesions of lupus erythematosus. *J Am Acad Dermatol* 1994;31:515-6.
- <sup>480</sup> Kawana S, Hishiyama S. Involvement of membrane attack complex of complement in UV-B induced acatholysis in pemphigus. *Arch Dermatol* 1990;126:623-6.
- <sup>481</sup> Cheong WK, Hughes GRV, Norris PG, Hawk JLM. Cutaneous photosensitivity in dermatomyositis. *Br J Dermatol* 1994;131:205-8.
- <sup>482</sup> Vergani D. Complement. *Diab Med* 1986;3:306-311.
- <sup>483</sup> Holme ER, Whaly K. Complement and related clinical disorders. *Blood Rev* 1989;3:120-129.
- <sup>484</sup> Wallis R. Structural and functional aspects of complement activation by mannose-binding protein. *Immunobiology* 2002;205(4-5):433-45.
- <sup>485</sup> The mannan-binding lectin-associated serine proteases (MASPs) and Map19: four component of the lectin pathway activation complex encoded by two genes. *Immunobiology* 2002;205(4-5):455-66.
- <sup>486</sup> Gadjeva M, Takahashi K, Thiel S. *Mol Immunol* 2004;41(2-3):113-21.
- <sup>487</sup> Masushita M, Fukita T. The role of ficolins in innate immunity. *Immunobiol* 2002;205(4-5):490-7.
- <sup>488</sup> Kinoshita T. Biology of complement : the overture. *Immunol Today* 1991;12:291-5.
- <sup>489</sup> Frank MM, Fries LF. Complement. In: Paul WE, ed. *Fundamental Immunology*. New York, NY:Raven Press;1989:679-701.
- <sup>490</sup> Bhakdi S, Hugo F, Trantum-Jensen J. Functions and relevance of the terminal complement sequence. *Blut* 1990;60:309-18.
- <sup>491</sup> Morgan BP. Mechanism of tissue damage by the membrane attack complex of complement. *Complement Inflamm* 1989;6:104-11.
- <sup>492</sup> Preissner KT. Structure and biological role of vitronectin. *Ann Rev Cell Biol* 1991;7:275-310.
- <sup>493</sup> Hintner K, Dahlbäck B, Pepys MB, Breathnach SM. Tissue vitronectin in normal adult human dermis is non-covalently bound to elastic tissue. *J Invest Dermatol* 1991;96:747-53.
- <sup>494</sup> Hochberg MC, Boyd RER, Ahearn JM. Systemic lupus erythematosus: a review of clinico-laboratory features and immunogenetic markers in 150 patients with emphasis on demographic subsets. *Medicine* 1985;64:285-95.
- <sup>495</sup> Cervera R, Khamashta MA, Font J. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. *Medicine* 1993;72:113-24.
- <sup>496</sup> Molina H. Update on complement in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2002;14(5):492-7.
- <sup>497</sup> Manzi S, Ahearn JM, Salmon J. New insights into complement: a mediator of injury and marker of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2004;13(5):298-303.
- <sup>498</sup> Holers VM, Girardi G, Mo L, Guthridge JM, Molina H, Pierangeli SS, Espinola R, Xiaowei LE, Mao D, Vialpando CG, Salmon JE. Complement C3 activation is required for antiphospholipid antibody-induced fetal loss. *J Exp Med* 2002;195(2):211-20.
- <sup>499</sup> Salmon JE, Girardi G, Holers VM. Activation of complement mediates antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *Lupus* 2003;12(7):535-8.
- <sup>500</sup> Salmon JE, Girardi G. The role of complement in the antiphospholipid syndrome. *Curr Dir Autoimmun* 2004;7:133-48.
- <sup>501</sup> Schur PH. Complement and lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982;25:793-8.
- <sup>502</sup> Jonsson H, Sjöholm AG, Martensson U, Laurell AB, Sturfelt G. C1 sucomponent complexes and C2 cleavage in active systemic lupus erythematosus. *Complement Inflamm* 1991;8:1-12.
- <sup>503</sup> Sturfelt G, Sjöholm AG. Complement components, complement activation and acute phase response in systemic lupus erythematosus. *Int Arch Allergy Immunol* 1984;75:75-83.
- <sup>504</sup> Jonsson H, Nived O, Sturfelt G. Outcome in systemic lupus erythematosus: a prospective study of patients from a defined population. *Medicine* 1989;68:141-150.
- <sup>505</sup> Lloyd W, Schur PH. Immune complexes, complement, and anti-DNA in exacerbations of systemic lupus erythematosus. *Medicine* 1981;60:208-217.
- <sup>506</sup> Swaak AJG, Aarden LA, Stadius van Eps LW, Feltkamp TEW. Anti-dsDNA and complement profiles as prognostic guides in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1979;22:226-235.
- <sup>507</sup> Schur PH, Sandson J. Immunologic factors and clinical activity in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 1968;278:533-538.

- 
- <sup>508</sup> Lange K, Wasserman E, Slobody LB. Significance of serum complement levels for diagnosis and prognosis of acute and subacute glomerulonephritis and lupus erythematosus disseminatus. *Ann Intern Med* 1960;53:636-46.
- <sup>509</sup> Sullivan KE, Wisnieski JA, Winkelstein JA, Louie J, Sachs E, Choi R, Veksler E, Goldman D, Petri M. Serum complement determinations in patients with quiescent systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1996;23:2063-2067.
- <sup>510</sup> Porcel JM, Ordi J, Castro Salomo A, Vilardell M, Rodrigo MJ, Gene T, Warburton F, Kraus M, Vergani K. The value of complement activation products in the assessment of systemic lupus erythematosus flares. *Clin Immunol Immunopathol* 1995;74:283-8.
- <sup>511</sup> Ricker DM, Hebert LA, Rhode R, Sedmak DD, Lewis EJ, Clough JD and the Lupus Nephritis Collaborative Study Group. Serum C3 levels are diagnostically more sensitive and specific for systemic lupus erythematosus activity than are serum C4 levels. *Am J Kidney Dis* 1991;18:678-685.
- <sup>512</sup> Valentijn RM, van Overhagen H, Hazevoet HM, Hermans J, Cats A, Daha MR, van Es LA. The value of complement and immune complex determinations in monitoring disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1985; 28:904-913.
- <sup>513</sup> Porcel JM, Ordi J. Complemento activado en el lupus eritematoso sistémico. *Med Clin (Barcelona)* 1991;96:135-7.
- <sup>514</sup> Oglesby TJ, Schultz DR, Schein RMH, Sprung CL, Volanakis JE. Measurement of complement proteins C2 and B in systemic lupus erythematosus and septic shock. *Complement Inflammation* 1991;6:27-35.
- <sup>515</sup> Nusinow SR, Zuraw BL, Curd JG. Hereditary and acquired deficiencies of complement. *Med Clin North Am* 1985;69:487-504.
- <sup>516</sup> Fielder AHL, Walport MJ, Batchelor JR, Rynes RI, Black CM, Dodi IA, Hughes GRV. Family study of the major histocompatibility complex in patients with systemic lupus erythematosus: importance of null alleles of C4A and C4B in determining disease susceptibility. *BMJ* 1983;286:425-428.
- <sup>517</sup> Penin LH, Lambert PH, Miescher PA. Complement breakdown products in plasma from patients with systemic lupus erythematosus and patients with membranoproliferative or other glomerulonephritis. *J Clin Invest* 1975;56:165-176.
- <sup>518</sup> Ruddy S, Caprener CB, Chin KW. Human complement metabolism: an analysis of 144 studies. *Medicine (Baltimore)* 1975;54:165-78.
- <sup>519</sup> Alper CA, Rosen FS. Studies of the in vitro behavior of human C3 in normal subjects and patients. *J Clin Invest* 1967;46:2021-34.
- <sup>520</sup> Silwinski AJ, Zvaifler NJ. Decreased synthesis of the third component (C3) in hypocomplementemic systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 1972;11:21-9.
- <sup>521</sup> Sullivan KE, Wisnieski JJ, Winkelstein JA, Luie J, Sachs E, Choi R, Veksler E, Goldman D, Petri M. Serum complement determinations in patients with quiescent systemic lupus erythematosus.
- <sup>522</sup> Porcel JM, Vergani D. Complement activation products: a new marker of rheumatic disease activity?. *Rev Esp Reumatol* 1992;19:361-3.
- <sup>523</sup> Senaldi G, Makinde VA, Vergani D, Isenberg DA. Correlation of the activation of the fourth component of complement (C4) with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1988;47:913-7.
- <sup>524</sup> Wild G, Watkins J, Ward AM, Hughes P, Hume A, Rowell NR. C4a anaphylotoxin levels as an indicator of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 1990;80:167-70.
- <sup>525</sup> Kolb WP, Morrow PR, Tamerius JD. Ba and Bb fragments of factor B activation: fragment production, biological activities, neopeptide expression and quantitation in clinical samples. *Complement Inflammation* 1989;6:175-204.
- <sup>526</sup> Kerr LD, Adelsberg BR, Spiera H. Complement activation in systemic lupus erythematosus: a marker of inflammation. *J Rheumatol* 1986;13:313-9.
- <sup>527</sup> Manzi S, Rairie JE, Carpenter AB, Kelly RH, Jagarlapudi SP, Sereika SM, Medsger TA Jr, Goldman RR. Sensitivity and specificity of plasma and urine complement split products as indicators of lupus disease activity. *Arthritis Rheum* 1996;39:1178-88.
- <sup>528</sup> Buyon JP, Tamerius J, Belmont HM, Abramson SB. Assessment of disease activity and impending flare in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1992;35:1028-37.
- <sup>529</sup> Belmont HM, Hopkins P, Edelson HS, Kaplan HB, Ludewig R, Weissmann G, Abramson S. Complement activation during systemic lupus erythematosus: C3a and C5a anaphylotoxins circulate exacerbations of disease. *Arthritis Rheum* 1986;29:1085-89.
- <sup>530</sup> Hopkins P, Belmont HM, Buyon J, Philips M, Weissmann G, Abramson SB. Increased levels of plasma anaphylotoxins in systemic lupus erythematosus predict flares of the disease and may elicit vascular injury in lupus cerebritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:632-41.

- 
- <sup>531</sup> Falk RJ, Dalmaso AP, Kim Y, Lam S, Michael A. Radioimmunoassay of the attack complex of complement in serum from patients with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 1985;213:1594-9.
- <sup>532</sup> Gawryl MS, Chudwin DS, Langlois PF, Lint TF. The terminal complement complex, C5b-9, a marker of disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1988;31:188-95.
- <sup>533</sup> Jonsson H, Sturfelt G, Martensson U, Truedsson L, Sjöholm AG. Prospective analysis of C1 dissociation and complement activation in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 1995;13(5):573-80.
- <sup>534</sup> Chiu Y, Nisihara RM, Wurzner R, Kirschfink M, de Messias-Reason JJ. SC5b-9 is the most sensitive marker in assessing disease activity in Brazilian SLE patients. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1998;8(4):239-44.
- <sup>535</sup> Mollnes TE, Haga HJ, Brun JG, Nielsen EW, Sjöholm A, Sturfelt G, Martensson U, Bergh K, Rekvig OP. Complement activation in patients with systemic lupus erythematosus without nephritis. *Rheumatol* 1999;38(10):933-40.
- <sup>536</sup> Nagy G, Brozik M, Varga L, Fust G, Kirschfink M, Kiss E, Gergely P. Usefulness of detection of complement activation products in evaluating SLE activity. *Lupus* 2000;9(1):19-25.
- <sup>537</sup> Sanders ME, Alexander EL, Koski CL, Frank MM, Joiner KA. Detection of activated terminal complement (C5b-9) in cerebrospinal fluid from patients with central nervous system involvement of primary Sjögren's syndrome or systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 1987;138:2095-9.
- <sup>538</sup> Peakman M, Lobo-Yeo A, Senaldi G, Nilsson M, Tee DEH, Vergani D. Quantification of C3d in biological fluids by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Immunol Methods* 1987;104:51-56.
- <sup>539</sup> Sturfelt G. The complement system in systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 2002;31(3):129-32.
- <sup>540</sup> Lowe PM, Lee M-, Jackson CJ. The endothelium in psoriasis. *Br J Dermatol* 1995;132:497-505.
- <sup>541</sup> Tervaert WCC, Esseveld H. A study of the incidence of haemolytic streptococci in the throat in patients with psoriasis vulgaris, with reference to their role in the pathogenesis of this disease. *Dermatologica* 1970;140:282-90.
- <sup>542</sup> Basset-Seguín N, Caughman SW, Yancey KB. A431 cells and human keratinocytes synthesize and secrete the third component of complement. *J Invest Dermatol* 1990;95:621-5.
- <sup>543</sup> Yancey KB, Overholser O, Domloge-Hultsch N. Human keratinocytes and A-431 cells synthesize and secrete factor B, the major synogen protease of the alternative complement pathway. *J Invest Dermatol* 1992;98:379-83.
- <sup>544</sup> Takematsu H, Tagami H. Activation of the alternative pathway of complement in psoriatic lesional skin. *Dermatologica* 1990;181:289-92.
- <sup>545</sup> Takematsu H, Tagami H. Preferential activation of the alternative pathway of complement in psoriatic lesional skin. *Dermatology* 1992;184:159-60.
- <sup>546</sup> Ohkohchi K, Takematsu H, Tagami H. Increased anaphylatoxins (C3a and C4a) in psoriatic sera. *Br J Dermatol* 1985;113:189-96.
- <sup>547</sup> Rosenburg EW, Noah PW, Wyatt RJ. Complement activation in psoriasis. *Clin Exp Dermatol* 1990;15:16-20.
- <sup>548</sup> Ohkohchi K, Torinuki W, Tamagi H. Increased plasma concentrations of complement modulating proteins (C1 inhibitor, C4 binding protein, factor H and factor I) in psoriasis. *Thoku J Exp Med* 1988;154:315-21.
- <sup>549</sup> Marley WM, Belew PW, Rosenburg EW. Abnormalities in the alternative pathway of complement in psoriasis. *Clin Exp Dermatol* 1982;7:387-96.
- <sup>550</sup> Fleming CJ, Holme ER, Mackie RM. Systemic complement activation in psoriasis vulgaris. *Clin Exp Dermatol* 1996;21:415-8.
- <sup>551</sup> Hara N, Abe M, Kawarada Y, Inuzuka S, Takahashi H, Goya T, Shigematsu N, Fujita T. Evaluation of plasma SC5b-9 (SMAC) in patients with ARDS. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 1992;30(5):796-801.
- <sup>552</sup> Haeger M, Unander M, Norder-Hansson B, Tylman M, Bengtsson A. Complement, neutrophil, and macrophage activation in women with severe preeclampsia and the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Obstet Gynecol* 1992;79(1):19-26.
- <sup>553</sup> Petersen NE, Elmgreen J, Teisner B, Svehag SE. Activation of classical pathway complement in chronic inflammation. Elevated levels of circulating C3d and C4d split products in rheumatoid arthritis and Crohn's disease. *Acta Med Scand* 1988;223(6):557-60.
- <sup>554</sup> Elmgreen J, Both H, Binder V. Familial occurrence of complement dysfunction in Crohn's disease: correlation with intestinal symptoms and hypercatabolism of complement. *Gut* 1985;26(2):151-7.
- <sup>555</sup> Basta M, Illa I, Dalakas MC. Increased in vitro uptake of complement C3b in the serum of patients with Guillain-Barré syndrome, myasthenia gravis and dermatomyositis. *J Neuroimmunol* 1996;71:227-9.

---

<sup>556</sup> Campo A, Hausmann G, Martí RM\*, Estrach T, Grau JM, Porcel JM, Herrero C. Productos de activación del complemento (C3a y C5b-9) como marcadores de actividad de la dermatomiositis. Comparación con parámetros bioquímicos tradicionales. Actas Dermo-Sifilográficas 2007; Julio-Agosto (en prensa).

<sup>557</sup> Matis LA, Rollins SA. Complement-specific antibodies: designing novel anti-inflammatories. Nature Med 1995;1:839-42.

<sup>558</sup> Kendall HO, Kendall FP, Wadsworth GE. Músculos. Pruebas y funciones. Editorial Jims. Barcelona, 1974.

<sup>559</sup> Kolb WP, Müller-Eberhard HJ. The membrane attack mechanism of complement: verification of a stable C5-9 complex in free solutions. J Exp Med 1973;138:438-51.