

Universitat de Barcelona
Departament de Medicina
Facultat de Medicina
Programa de Doctorado Morfofisiopatología Dermatológica en Medicina

**CELULAS DENDRÍTICAS EN LA DERMATOMIOSITIS: ESTUDIO EN PIEL,
MÚSCULO Y LESIONES CUTÁNEAS FOTOINDUCIDAS**

Tesis presentada por
M^a CHRISTINA SCHEPERS GASSNER
para optar al grado de Doctor en Medicina

Directora de Tesis
Dra. Carmen Herrero Mateu

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Dr. José M^a Mascaró Ballester, Catedrático de Dermatología de la Universidad de Barcelona por la confianza depositada en mí y el apoyo recibido a lo largo de estos años.

A la Dra. Carmen Herrero Mateu, Profesora Titular de Dermatología de la Facultad de Medicina de Barcelona, por haber aceptado la dirección de esta tesis doctoral. Quisiera agradecerle asimismo y de manera muy especial el tiempo invertido en enseñarme y aconsejarme a lo largo de estos años así como por su apoyo constante y paciencia en la corrección de esta tesis.

Al Dr. A Bernard Ackerman del departamento de Dermatopatología del Jefferson Medical Center, Philadelphia, Estados Unidos por sus valiosas enseñanzas y cooperación ofrecidas durante mi estancia en dicha Universidad.

Al Dr. Francesc Graus, jefe de sección del departamento de Neurología, por su buena disponibilidad y por haberme enseñado a utilizar el microscopio de doble inmunofluorescencia de la Fundació Clínic.

Al Dr. Josep Palou, responsable de la sección de Dermatopatología, por el apoyo prestado en todo momento.

A Maria Soledad Castiella, Carmen García, María Sala y Lucía Millán, por su ayuda y colaboración desinteresada en el Laboratorio de Dermatopatología.

A Anna Bosch, del departamento de Biología Molecular de la Facultad de Medicina de Barcelona, por la realización de las fotografías con el microscopio confocal de doble inmunofluorescencia.

A Pere Juan Ventura de la Unidad de Epidemiología y Bioestadística por su ayuda en la realización del estudio estadístico.

A Matilde Piera, por su inestimable colaboración en la búsqueda de bibliografía.

A la Dra. Dolores Ozalla por sus valiosos consejos y ayuda con los programas informáticos.

A mi amiga, Mireia Pascual, por su apoyo moral y paciencia mostrada a lo largo de todos estos años.

A todos los compañeros del Servicio de Dermatología que de una manera u otra han contribuido a la realización del presente trabajo.

Finalmente, querría agradecer de manera muy especial a los pacientes que dieron su consentimiento para la realización de las pruebas de fotobiología y a que se les efectuara biopsias cutáneas por su colaboración. Sin su participación, la presente tesis no se habría podido llevar a cabo.

La presente tesis ha estado financiada por el premio fin de residencia del Hospital Clínic y en parte por una beca del Fondo de Investigación Sanitaria FISS 96/1165. Ministerio de Sanidad y Consumo.

El proyecto de esta tesis ha sido premiado con el Premio N° 1 Emili Letang concedido por el Hospital Clínic de Barcelona.

INDICE

1. INTRODUCCION...1

1.1 Dermatomiositis...2

1.1.1 Concepto...2

1.1.2 Clasificación...3

1.1.3 Clínica...5

1.1.4 Histología...8

1.1.5 Etiopatogenia...10

1.1.5.1 Fenómenos que indican una reacción inmune...11

1.1.5.2 Predisposición genética...22

1.1.5.3 Factores desencadenantes...24

1.2 Células dendríticas...30

1.2.1 Células dendríticas factor XIIIa positivas...30

1.2.1.1 Antecedentes históricos...31

1.2.1.2 Embriología...33

1.2.1.3 Localización y distribución del factor XIIIa...35

1.2.1.4 Microscopía electrónica...37

1.2.1.5 Inmunohistoquímica...39

1.2.1.6 Función...41

1.2.2 Células dendríticas CD34 positivas...44

1.2.3 Células dendríticas en procesos inflamatorios de la piel...46

1.3 Moléculas de adhesión...47

1.3.1 Concepto...47

1.3.2 Antígeno asociado al linfocito cutáneo (CLA)...49

1.3.2.1 Historia...49

1.3.2.2 Bioquímica...49

1.3.2.3 Función...50

1.3.2.4 Expresión de CLA por linfocitos T...51

1.3.2.5 Expresión de CLA por células de Langerhans...53

1.3.2.6 Expresión de CLA por macrófagos...53

1.3.2.7 Expresión de CLA por células endoteliales...53

1.3.2.8 Expresión de CLA por queratinocitos...53

1.3.2.9 CLA y dermatosis inflamatorias y procesos neoproliferativos...54

1.3.2.10 Cómo y cuando se adquiere la expresión de CLA...54

2. HIPOTESIS...56

3. OBJETIVOS...62

4. MATERIAL Y METODOS...64

4.1 Material...65

4.2 Métodos...68

5. RESULTADOS...74

- 5.1 Caracterización fenotípica de las células de morfología dendrítica en lesiones cutáneas de DM...75
 - 5.1.1 Células dendríticas factor XIIIa positivas...75
 - 5.1.2 Células dendríticas CD34 positivas...79
 - 5.1.3 Macrófagos...83
 - 5.1.4 Células de Langerhans...83
 - 5.1.5 Marcador de activación: Células HLA-DR positivas...84
- 5.2 Resultados estudio de las moléculas de adhesión...85
 - 5.2.1 ICAM-1 (Intercellular cell adhesion molecule-1)...85
 - 5.2.2 VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule-1)...85
 - 5.2.3 ELAM (E-Selectina)...86
 - 5.2.4 HECA (antígeno asociado al linfocito cutáneo)...87
- 5.3 Resultados estudio de doble inmunofluorescencia...90
 - 5.3.1 HECA (antígeno asociado al linfocito cutáneo)...90
 - 5.3.1.1 HECA y linfocitos T CD3 positivos...90
 - 5.3.1.2 HECA y macrófagos CD68 positivos...92
 - 5.3.1.3 HECA y células de Langerhans CD1a positivos...94
 - 5.3.1.4 HECA y células dendríticas CD34 positivas...95
 - 5.3.1.5 HECA y endotelios vasculares CD34 positivos...96
 - 5.3.2 VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule-1)...98
 - 5.3.2.1 VCAM-1 y linfocitos T CD3 positivos...98
 - 5.3.2.2 VCAM-1 y macrófagos CD68 positivos...98
 - 5.3.2.3 VCAM-1 y células de Langerhans CD1a positivos...98
 - 5.3.2.4 VCAM-1 y células dendríticas CD34 positivas...98
 - 5.3.2.5 VCAM-1 y endotelios vasculares CD34 positivos...98
 - 5.3.3 ICAM-1 (Intercellular cell adhesion molecule-1)...100
 - 5.3.3.1 ICAM-1 y linfocitos T CD3 positivos...100
 - 5.3.3.2 ICAM-1 y macrófagos CD68 positivos...100
 - 5.3.3.3 ICAM-1 y células de Langerhans CD1a positivos...100
 - 5.3.3.4 ICAM-1 y células dendríticas CD34 positivas...100
 - 5.3.3.5 ICAM-1 y endotelios vasculares CD34 positivos...100
- 5.4 Complejo de ataque de membrana (MAC)...102
- 5.5 Caracterización fenotípica de las células de morfología dendrítica en músculo sano y músculo afecto de DM...104
 - 5.5.1 Células dendríticas factor XIIIa positivas...104
 - 5.5.2 Células dendríticas CD34 positivas...104
 - 5.5.3 Macrófagos...108
 - 5.5.4 Linfocitos B...108
 - 5.5.5 Linfocitos T...108
 - 5.5.6 Células de Langerhans...108
 - 5.5.7 Marcador de activación: células HLA-DR positivas...109
- 5.6 Resultados exploración fotobiológica...110
- 5.7 Figuras...114

6. DISCUSION...	124
6.1 Infiltrados inflamatorios...	126
6.2 Moléculas de adhesión...	133
6.3 Complejo de ataque de membrana...	139
6.4 Células dendríticas en músculo afecto de DM...	142
6.5 Efecto de la radiación ultravioleta...	145
7. CONCLUSIONES...	151
8. BIBLIOGRAFIA...	155

A mis padres, a Iñigo y a Pablo

1. INTRODUCCIÓN

1.1 DERMATOMIOSITIS

1.1.1 CONCEPTO

La dermatomiositis (DM) es una enfermedad sistémica de probable origen autoinmune que combina una miopatía inflamatoria, que se manifiesta por debilidad muscular proximal simétrica, con lesiones cutáneas características. Junto con la polimiositis (PM) y la miopatía por cuerpos de inclusión comprende las miopatías inflamatorias idiopáticas (Dalakas y cols., 1996). La DM y la PM se han agrupado clásicamente bajo el complejo DM/PM, siendo la presencia de lesiones cutáneas la característica diferencial de la DM. Sin embargo, la observación de ciertas diferencias en el cuadro inmunopatológico permite suponer hoy día que la DM y la PM serían dos enfermedades distintas (Banker y Engel, 1986, Urbano-Marquez y cols., 1991).

Epidemiología

La incidencia del complejo DM /PM oscila entre 1 y 30 casos por millón de habitantes y año con una prevalencia de 10 casos por millón de habitantes. La DM es menos frecuente que otras conectivopatías como el lupus eritematoso sistémico, la esclerosis sistémica o el síndrome de Sjögren. Es dos veces más frecuente en mujeres que en varones. Puede presentarse a cualquier edad pero existen dos picos de máxima incidencia: uno por debajo de los 10 años y el otro entre los 45 y 60 años (Dalakas, 1991).

La causa de la DM es desconocida y actualmente su tratamiento se basa en fármacos inmunosupresores y/o inmunomoduladores (Bombardieri y cols., 1989; Heckmatt y cols., 1989; Miller y cols., 1992; Dalakas y cols., 1993; Cherin y cols., 1994; Grau y cols., 1994). A pesar de que el pronóstico de la DM ha mejorado notablemente gracias a estos tratamientos, seguimos asistiendo a pacientes refractarios en los que la enfermedad es causa de gran morbilidad e

incluso de evolución fatal (Dalakas y Engel,1988; Miró y cols.,1999). Por ello, son necesarios avances en la inmunopatogenia de la DM que posibiliten el desarrollo de nuevos tratamientos.

1.1.2 Clasificación

A lo largo de los años se han propuesto múltiples clasificaciones de los subtipos de PM/DM pero actualmente la más utilizada es la clasificación de Bohan y Peters (Bohan y Peter, 1975) modificada por Euwer y Sontheimer (Euwer y Sontheimer,1993) y que se enumera a continuación:

- 1.Polimiositis
- 2.Dermatomiositis
- 3.Miositis asociada a neoplasia
- 4.Dermatomiositis/polimiositis juvenil
- 5.Miositis asociada a otras conectivopatías (síndromes de solapamiento)
- 6.Dermatomiositis amiopática.

Bohan y Peters establecieron los **criterios diagnósticos** de la PM/DM:

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.

3- Elevación plasmática de enzimas musculares, especialmente de la creatinfosfoquinasa y frecuentemente de la aldolasa, aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa y lactato deshidrogenasa.

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 la dermatomiositis.

Los pacientes que cumplan los 4 criterios musculares tienen un diagnóstico de certeza de polimiositis. El cumplimiento de 3 criterios musculares permite establecer el diagnóstico de probabilidad y el de posibilidad cuando sólo se cumplen dos.

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

Según estos criterios un paciente con clínica cutánea característica en ausencia de afección muscular evidente no podía ser diagnosticado de DM. Este criterio fue clarificado por Euwer y Sontheimer al proponer el término de DM amiópática para estos casos.

El término **DM amiópática** (Euwer y Sontheimer, 1993) se aplica en los casos de pacientes con lesiones cutáneas de DM pero en ausencia de evidencia de afectación muscular durante dos años. En más de la mitad de los casos las lesiones cutáneas preceden a la afectación muscular. Muchos de estos pacientes desarrollarán posteriormente, a veces años más tarde, lesiones musculares. En muchos casos en que la miositis no es evidente clínica e histológicamente es posible detectar la afectación muscular por métodos más sofisticados como la microscopía electrónica y la resonancia nuclear magnética (Olsen y cols.,1992; Southwood y cols.,1992; Grau, 1992; Park y cols., 1995).

1.1.3 CLINICA

La DM puede presentarse de muchas formas clínicas y prácticamente todos los órganos del cuerpo pueden verse afectados aunque inicial y predominantemente se afectan piel y músculo.

Manifestaciones cutáneas

La dermatomiositis presenta dos lesiones cutáneas patognomónicas, las pápulas de Gottron y el eritema en heliotropo, que cuando están presentes permiten establecer un diagnóstico de certeza. Existen lesiones cutáneas que son características aunque no patognomónicas y otras que son inespecíficas aunque dentro de un cuadro compatible pueden ayudar a establecer un diagnóstico (Dalakas y cols.,1992; Campo y cols.,1999). Entre estas manifestaciones o lesiones cabe destacar: la fotosensibilidad, el eritema difuso en áreas fotoexpuestas, alteraciones periungueales, manos de mecánico, zonas eritematosas y/o alopecicas del cuero cabelludo y el edema periorbicular. Otras manifestaciones menos frecuentes incluyen: dermatografismo, lesiones ampollas, lesiones urticariformes, eritema nodoso, eritema multiforme, eritrodermia, queratosis folicular, hipertrichosis, hiperhidrosis, erupciones psoriasiformes, pitting ungueal, dermatitis exfoliativas, lívido reticular, úlceras cutáneas, paniculitis, erupción papular folicular eritematosa hiperqueratósica en cara, espalda, cuello, tronco, dorso de pies y manos y áreas palmoplantares (pacientes orientales), erupciones tipo pitiriasis rubra pilaris (Requena y cols.,1997), fenómeno de Raynaud y eritema flagelado (similar al inducido por la bleomicina) (Jara y cols.,1997).

Manifestaciones musculares

La afectación muscular de la dermato/polimiositis se manifiesta por una debilidad simétrica de instauración subaguda (en semanas o meses), en

ocasiones insidiosa, pero raramente aguda. Es constante y progresiva a diferencia de lo que ocurre en otros procesos como la miastenia gravis, en los cuales presenta un curso intermitente. Es prácticamente siempre bilateral y simétrica y afecta fundamentalmente a los músculos estriados del tronco y de las cinturas escapulares y pélvica. Estos músculos se afectan antes y con mayor frecuencia que los periféricos. El paciente suele consultar por dificultad para levantarse de sillas, dificultad para subir escaleras o incapacidad para mantener los brazos elevados (impidiendo el peinado). La atrofia muscular acostumbra a ser tardía y los reflejos musculotendinosos están preservados salvo en músculos severamente afectados y atróficos.

En la mitad de los casos la debilidad muscular se asocia a mialgias aunque suelen aparecer en grado mucho más leve que en las miopatías infecciosas (Dalakas, 1992); Casademont y Grau, 1997)

.

Otras manifestaciones

En la DM pueden presentarse además de la clínica cutánea y muscular mal estado general, fiebre y pérdida de peso, más frecuentemente en casos de síndrome de solapamiento de conectivopatías. La calcinosis universalis, depósitos de calcio que se localizan más a menudo en codos y manos, se puede encontrar en 15% de los adultos y en 50% de los casos infantiles de DM. La disfagia debida a la afectación del músculo cricofaríngeo o de la musculatura estriada del esófago es la manifestación digestiva más frecuente. Muchos pacientes con DM presentan al inicio de la enfermedad artralgiyas si bien la artritis es más frecuente en aquellos con síndrome de solapamiento de conectivopatías. El fenómeno de Raynaud y el síndrome de Sjögren también son más frecuentes en pacientes con DM y síndrome de solapamiento de conectivopatías (Herrero y cols.,1991, Schepers y Herrero,1997). Las manifestaciones pulmonares pueden deberse a hipoventilación por debilidad muscular, infiltrados pulmonares por fármacos, vasculitis y neumonías por aspiración, pero el cuadro más frecuente es la enfermedad intersticial pulmonar que suele ir asociado a enfermedad grave aunque si se tratan de forma

agresiva con fármacos inmunosupresores no comporta un peor pronóstico que aquellos pacientes sin enfermedad intersticial pulmonar (Grau y cols., 1996). Los pacientes con enfermedad intersticial pulmonar presentan más frecuentemente manos de mecánico, artralgias, y fiebre y tienen anticuerpos séricos anti jo-1 en 75% de los casos. En los pacientes de DM sin enfermedad intersticial pulmonar sólo se encuentran anticuerpos anti jo-1 en un 3% de los casos. Se ha descrito la afectación miocárdica en forma de miocarditis, fibrosis miocárdica y trastornos de conducción. También pueden presentar pericarditis. En aproximadamente el 20% de las DM de adulto existe unna neoplasia asociada. Habitualmente el tratamiento de la neoplasia subyacente consigue mejorar las manifestaciones de la DM y éstas pueden reaparecer cuando se produce la recidiva o la diseminación metastásica del cáncer (Bernard y cols.,1993; Schepers y cols., 1995). Las infecciones y el cáncer son las causas más frecuentes de muerte en la DM (Miró y cols.,1999).

1.1.4 HISTOLOGÍA

Histología cutánea en la DM.

Las alteraciones histológicas de las biopsias de lesiones cutáneas de dermatomiositis dependerán del estadio evolutivo de la enfermedad.

En las lesiones agudas, los cambios histológicos recuerdan a los propios del lupus eritematoso subagudo (Bielsa y cols., 1994; Herrero y cols., 1988) con la salvedad de que los infiltrados inflamatorios son mucho más escasos. A nivel epidérmico se observa una **degeneración vacuolar** de la capa basal con degeneración de la membrana basal. Se objetiva un **infiltrado inflamatorio** compuesto por linfocitos T CD4+, macrófagos y en menor medida células de Langerhans de predominio perivascular y subepidérmico **focal** (Hausmann y cols., 1991) y un edema de la dermis que por lo general es más extenso al observado en el lupus eritematoso cutáneo subagudo.

Es frecuente hallar depósitos dérmicos de mucina. El tejido celular subcutáneo puede presentar también infiltrados inflamatorios linfocitarios o degeneración mucoide. Existe una **disminución en el número de capilares** y éstos se encuentran dilatados rodeados por células endoteliales tumefactas.

En lesiones más avanzadas la epidermis se atrofia, con aplanamiento de los procesos interpapilares e incrementos en los depósitos de melanina en la capa basal. Se observa un engrosamiento, homogeneización y esclerosis de la dermis, con engrosamientos de las paredes vasculares. A nivel del tejido celular subcutáneo se pueden observar igualmente fenómenos de fibrosis o calcificación.

Los estudios de inmunofluorescencia demuestran depósitos globulares de IgG, IgM y ocasionalmente de IgA en la dermis superficial y en la unión dermo-epidérmica de forma no constante (Dalakas, 1992).

Histología del músculo afecto de DM

La biopsia muscular es la prueba para establecer el diagnóstico de la afección muscular de la DM y para descartar otras enfermedades neuromusculares.

La resonancia magnética nuclear puede ser útil para identificar los grupos musculares afectados, permitiendo hacer una biopsia más dirigida. Las lesiones histológicas de la DM son muy focales y parcheadas y frecuentemente son muy discretas por lo cual puede ser necesario efectuar varias biopsias musculares y realizar cortes seriados tanto transversales como longitudinales de todas las muestras para detectar el foco (Comola y cols.,1987).

La dermatomiositis se caracteriza por la aparición de **infiltrados inflamatorios** de células mononucleares. Por inmunohistoquímica se identifican linfocitos B, linfocitos T, sobretodo CD4+ y macrófagos que se distribuyen fundamentalmente por áreas perivasculares, en la zona perimisial, por los septos interfasciculares y rodeando más que infiltrando los fascículos musculares (Pedro-Botet y cols.,1988).

La densidad de capilares vasculares está reducida. Existen depósitos vasculares de inmunoglobulinas (IgG, IgM), de factor C3 del complemento y del **complejo de ataque de membrana del complemento (MAC) (C5b-9)** (Kissel y cols.,1986). Esto se asocia a fenómenos de trombosis de arteriolas y necrosis venular con **disminución de la red capilar**. Por microscopía electrónica las células endoteliales lesionadas presentan estructuras túbulo-reticulares intracitoplasmáticas (Casademont y cols.,1990; Estruch y cols.,1992).

Existe necrosis isquémica focal de las fibras musculares que resulta en **atrofia perifascicular**. La presencia de esta atrofia perifascicular es diagnóstica de dermatomiositis, incluso en ausencia de inflamación (Mantegazza y cols.,1997). Son frecuentes las imágenes de macrofagia que son macrófagos llenos de las fibras musculares en fase de necrosis. Las imágenes en "sacabocados" o "punched out" son imágenes que parecen artefactuales pero que en realidad

representan una agresión subletal de los miocitos cuyos filamentos citoplasmáticos se encuentran muy disminuidos.

En los casos asociados a otras conectivopatías pueden observarse fenómenos de vasculitis. Contrariamente, en la PM el infiltrado inflamatorio está predominantemente compuesto por linfocitos T supresores, CD8+, y se halla distribuido en el endomisio, rodeando e infiltrando las fibras musculares. Así se piensa que **la PM es una enfermedad mediada por citotoxicidad celular mientras que la DM representa una microangiopatía mediada por la inmunidad humoral y el complemento** (Engel y Arahata, 1986; Pedro-Botet y cols., 1988; Dalakas y Sivakumar, 1996).

1.1.5 ETIOPATOGENIA

Actualmente sólo se conocen piezas aisladas del complejo rompecabezas que explicaría la etiopatogenia de la DM. El grado en el que cada una de estas piezas contribuye al rompecabezas y la forma de interrelacionarse entre ellas estas piezas es desconocida. No se sabe si existe uno o varios mecanismos etiopatogénicos diferentes, si son los mismos en todos los pacientes, si son diferentes según la forma clínica de DM o si difieren según los órganos afectados (Hausmann y cols.,1991).

La DM se engloba dentro del grupo de las **enfermedades autoinmunes** por diversas razones. Entre ellas cabe destacar la asociación de la DM con otras enfermedades consideradas autoinmunes por su respuesta inmune alterada como el lupus eritematoso, la esclerodermia sistémica y el síndrome de Sjögren, la detección de autoanticuerpos en sangre que en algunos casos se correlacionan con la actividad de la enfermedad, la existencia de una respuesta inflamatoria en los órganos diana, la microangiopatía mediada por el sistema del complemento y finalmente el efecto beneficioso del tratamiento inmunosupresor y/o inmunomodulador en muchos pacientes (Dalakas y cols.,1993).

Parece ser que en la etiopatogenia de la DM interviene una respuesta inmune anómala en un paciente predispuesto genéticamente y desencadenado todo ello por unos agentes exógenos.

1.1.5.1 FENOMENOS QUE INDICAN UNA REACCION INMUNE.

Existen numerosos hallazgos que evidencian que en la DM interviene una respuesta inmune. Entre ellos los más importantes son los que se enumeran a continuación y que se desarrollarán en los siguientes apartados:

- I. Autoanticuerpos
- II. Respuesta inmune en los órganos afectados.
- III. Endotelio vascular
- IV. Depósitos de inmunocomplejos y complemento.

I. Autoanticuerpos

En la dermatomiositis (DM) se detectan autoanticuerpos en casi el 90% de los pacientes. Muchos de ellos son inespecíficos, si bien en un 45% a 55% de los pacientes con DM se detectan anticuerpos de definida especificidad contra un antígeno determinado, además de autoanticuerpos específicos de la miositis denominados genéricamente MSA (myositis specific antibodies) en un 35% a 40% de los casos (Targoff, 1993).

No se sabe si estos anticuerpos tienen un papel directo en la inmunopatogenia de la DM porque no se ha logrado comprobar que jueguen un papel patogénico y tampoco se ha demostrado el depósito de estos anticuerpos en las lesiones cutáneas ni musculares de la PM/DM. Posiblemente aparezcan simplemente como un epifenómeno.

Lo que sí es conocido es que se han relacionado diferentes grupos de MSA con subtipos clínicos determinados y su título también se ha correlacionado con

la actividad clínica de la enfermedad (Miller y cols., 1990). De esta forma, dentro de los MSA se diferencian 5 grupos de autoanticuerpos que detallamos a continuación:

a). Antisintetasas.

Son el grupo de anticuerpos más frecuente. Reaccionan contra las aminoacil-ARN-sintetasas, que catalizan la unión de un aminoácido a su ARN de transferencia específico. La antisintetasa más frecuente es la anti-Jo-1 que va dirigido contra la histidil-RNA-sintetasa (Mathews y cols.,1983). Aparece en el 18% de todas las DM-PM. Es más frecuente en la PM que en la DM y prácticamente todos los pacientes son adultos (Vázquez-Abad y Rothfield,1996). Estos autoanticuerpos se han asociado en un 50%-75% con un síndrome clínico determinado designado **síndrome antisintetasa** (Targoff,1993). Este síndrome comprende la enfermedad pulmonar intersticial en un 50%-70%, artritis (>90%), fenómeno de Raynaud (>60%), manos de mecánico (hiperqueratosis, hiperpigmentación y fisuración en las zonas radiales y palmares de los dedos y de las palmas de la manos). Este síndrome se asocia también con **frecuentes recidivas** al reducir el tratamiento inmunosupresor. La presencia de antisintetasas es más frecuente en pacientes con HLA-DR 3. Se han descrito otras antisintetasas que incluyen la anti-PL-7, anti-PL-12, anti-OJ y la anti-EJ.

b) Otros anticuerpos anticitoplasmáticos

Se dirigen contra otras proteínas citoplasmáticas. La más importante es la **partícula anti señal de reconocimiento (SRP)**, que aparece en aproximadamente el 4% de PM-DM. El SRP interviene en la translocación de las proteínas hacia el retículo endoplasmático. Se encuentra sobre todo en paciente adultos con PM y muy raramente en la DM. Así mismo, se ha correlacionado con **enfermedad grave y muy resistente al tratamiento** (Targoff y cols.). Otros autoanticuerpos dirigidos contra proteínas citoplasmáticas involucradas en la translocación incluyen el anti-Fer, el anti-Mas y el anti- KJ.

c) Autoanticuerpos específicos de la DM.

Existe únicamente un autoanticuerpo que se relaciona específicamente con la DM y no con la PM: es el **anti Mi-2** (Mierau, 1996). Se dirige contra un complejo proteico nuclear. Aparece en pacientes con DM con miositis y sólo excepcionalmente en pacientes con DM amiopática. A diferencia de los autoanticuerpos anti-Jo se encuentran tanto en la DM del adulto como en la DM juvenil. Se asocia con un cuadro clínico de **DM clásica** con pápulas de Gottron en los nudillos de los dedos, eritema en el escote, crecimiento cuticular y suelen responder rápidamente al tratamiento y **el pronóstico suele ser relativamente favorable** (Miller y cols.,1990). Aparece en el 5-10% de todos los casos y a pesar de correlacionarse con pacientes con una DM clásica sólo se encuentra en un 20-30% de pacientes con DM aparentemente clásica. Se asocia al HLA-DR7.

d) Autoanticuerpos en síndromes de solapamiento

El hallazgo de autoanticuerpos es frecuente en los síndromes de solapamiento entre diferentes enfermedades autoinmunes y especialmente en el caso de la PM/DM con la **esclerodermia** o escleromiositis. El autoanticuerpo más

frecuente es el anti-PM-Scl que se ha encontrado en el 8% de pacientes con miositis y en el 3% de pacientes con Esclerodermia. Estos autoanticuerpos también pueden encontrarse en pacientes con DM o esclerodermia aisladamente pero en más del 50% de los casos existe solapamiento entre las dos enfermedades. El autoanticuerpo está dirigido contra un complejo proteico del nucleolo (Alderuccio y cols.,1991). La presencia del anti-PM-Scl es mucho más frecuente en pacientes con HLA-DR3. Otros anticuerpos asociados con la escleromiositis son el anti U1RNP, el anti U2RNP y el anti Ku que también se encuentran en otros síndromes de solapamiento y en el LES. Los autoanticuerpos anti Ro/SSA y anti LA/SSB también puede encontrarse en la PM/DM. Estos autoanticuerpos se encuentran sobretodo en el LE subagudo, neonatal y sistémico pero también en los síndromes de solapamiento y en el síndrome de Sjögren.

e) Otros autoanticuerpos

El anticuerpo anti 56-kD se ha encontrado en todos los subgrupos de DM pero no es totalmente específico para la miositis porque también se ha encontrado en otras enfermedades como el lupus eritematoso sistémico (Arad-Dann y cols.,1989).

También existen anticuerpos contra proteínas musculares. Se han encontrado autoanticuerpos contra la **miosina** en el 90% de pacientes con miositis cuyo título se correlacionaba con la actividad de la enfermedad. El hecho de que también se han encontrado en otras enfermedades musculares y que no se asocian a ningún subgrupo de PM/DM determinado hace pensar que estos autoanticuerpos son secundarios a la lesión muscular. Asimismo se han podido detectar la presencia de **anticuerpos anticélula endotelial** en el suero del 44% de casos de DM (Cervera y cols.,1991). Los anticuerpos anticélula endotelial son otro marcador, aparte de los anticuerpos anti jo-1, de neumopatía intersticial (Cervera y cols.,1991). Estos autoanticuerpos también se encuentran en otras enfermedades autoinmunes en las que se cree que interviene una microangiopatía, como en la esclerodermia sistémica y en el

lupus eritematoso sistémico, pero su significado se desconoce (Westphal y cols., 1994; Hill y cols., 1996).

II. Respuesta inmune en los organos afectados

a) Células presentadoras de antígeno y moléculas de adhesión

Estudios recientes coinciden en afirmar que los **queratinocitos** pertenecen a la lista de las 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 directa o indirectamente la proliferación y la activación de los linfocitos T (Cronstein y Weissmann, 1993).

Los queratinocitos son capaces de expresar en su superficie la **molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1)**. En condiciones basales el nivel de expresión es muy bajo. Sin embargo en las lesiones de dermatomiositis, igual que en el lupus eritematoso cutáneo y otras dermatosis inflamatorias, en algunas zonas de la epidermis se observa una clara expresión de ICAM-1. Ello puede obedecer a varias causas: Por un lado se ha demostrado que las radiaciones ultravioleta son capaces de inducir la expresión de ICAM-1, circunstancia que parece tener importancia en el desencadenamiento del lupus eritematoso cutáneo subagudo y también en la DM (Norris y cols., 1997).

Por otro lado, la epidermis asimismo se encuentra bajo los efectos de otras citocinas presentes en la zona fronteriza dermoepidérmica capaces de inducir a los queratinocitos la expresión de ICAM-1, como por ejemplo el interferon-gamma procedente de los infiltrados inflamatorios subepidérmicos o del tumor necrosis factor-alfa liberado por las células endoteliales y mastocitos. Se supone que este efecto de las citocinas del infiltrado inflamatorio podría tener

mayor importancia a nivel de los queratinocitos basales (Engel y Arahata, 1986).

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 se considera un paso importante en la inducción del reconocimiento de antígenos específicos, en la migración leucocitaria hacia los tejidos y en la citotoxicidad inmunológica (Menagé y cols. 1996).

La expresión de la **molécula de adhesión vascular (VCAM)** se considera uno de los factores importantes en el proceso de migración transendotelial de las células inmunológicamente activas (Rice y cols.,1991). Su expresión sobre endotelios vasculares y células inflamatorias está aumentada en diversas enfermedades cutáneas como por ejemplo el lupus eritematoso (Jones y cols., 1996).

La **molécula de adhesión de célula endotelial (ELAM)** se expresa de forma escasa en piel sana pero se ha objetivado su expresión sobre las células endoteliales en diversas enfermedades inflamatorias cutáneas como la dermatitis atópica, psoriasis y líquen plano (Groves y cols.,1991). Experimentos en vivo han demostrado que primero ocurre la adhesión de neutrófilos mientras que la adhesión de linfocitos T ocurre más tarde cuando la expresión de ELAM es más sostenida (Munro y cols.,1991; Picker y cols.,1991).

Estudios recientes en músculo también han objetivado un aumento en la expresión de ICAM-1 y la inducción de la expresión de VCAM en los capilares de biopsias de músculo afecto de DM. Los linfocitos de los infiltrados inflamatorios son LFA-1 y VLA-4 positivos. Así, parece ser que las interacciones leucocito/célula endotelial mediados por los receptores/moléculas

de adhesión LFA-1/ICAM-1 y VLA-4/VCAM-1 participan en el desarrollo de los infiltrados en la DM (Cid y cols.,1996).

b) Comparación del infiltrado inflamatorio cutáneo y el muscular

En las lesiones cutáneas de la dermatomiositis la presencia de un infiltrado inflamatorio de predominio **perivascular** y distribuido en **pequeños focos** de localización subepidérmica es constante, aunque habitualmente este infiltrado inflamatorio suele ser menos intenso que en el lupus eritematoso (Bielsa y cols.,1994).

Los estudios encaminados a conocer sus características fenotípicas demuestran que los infiltrados inflamatorios **cutáneos** de la dermatomiositis habitualmente están compuestos por **linfocitos T y macrófagos** (Hausmann y cols.,1991). Como suele ocurrir en la mayoría de los procesos inflamatorios dérmicos, los linfocitos B están ausentes. Dentro de los linfocitos T suele observarse un predominio más o menos pronunciado de linfocitos T colaboradores CD4 positivos sobre la subpoblación supresora/citotóxica CD8 positiva.

Algunas zonas de la epidermis, parte de los endotelios, así como un porcentaje elevado de los macrófagos y linfocitos T, 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. El número de células de Langerhans en las zonas lesionales está disminuído aunque su número total es normal (Hausmann y cols.,1991).

La comparación del fenotipo celular inflamatorio cutáneo con el de los infiltrados inflamatorios musculares, permite apreciar una diferencia cualitativa considerable. Así, la celularidad inflamatoria a nivel del **músculo** en la

dermatomiositis se compone de una proporción importante de **linfocitos B**, **linfocitos T y macrófagos** (Dalakas y cols., 1996; Iannone y cols., 1996). Llama pues la atención la presencia pronunciada de linfocitos B, especialmente en la vecindad de los vasos, que se ha considerado por algunos autores como una de las características diferenciales del infiltrado inflamatorio muscular, especialmente frente a la polimiositis (Arahata y Engel, 1984; Pedro-Botet y cols., 1988).

En el músculo, los linfocitos B se suelen encontrar en estrecho contacto con los linfocitos T CD4 positivos y macrófagos. Sin embargo, en la piel, en ausencia de los linfocitos B, el infiltrado se halla constituido por linfocitos T, macrófagos y células de Langerhans.

La conformación fenotípica encontrada en la piel de los pacientes con dermatomiositis muestra pues una clara similitud con otras enfermedades cutáneas inflamatorias, especialmente el lupus eritematoso. Esta observación podría significar la existencia de infiltrados inflamatorios órgano específicos (Hausmann y cols., 1991).

III. Endotelio vascular

Numerosos autores coinciden en señalar que la vasculopatía constituye un elemento clave en la dermatomiositis (Whitaker y cols., 1972). Numerosas observaciones indican que no sólo en la dermatomiositis infantil sino también en la dermatomiositis del adulto las alteraciones de la microvasculatura, tanto en el músculo como en la piel, forman parte de la imagen histológica característica de la enfermedad (Mendell y cols., 1996). Efectivamente, las telangiectasias periungueales junto con áreas completamente avasculares son hallazgos clínicos objetivables mediante la capilaroscopia periungueal.

Asimismo, el número disminuido de capilares así como su aspecto patológico con importante tumefacción endotelial en las biopsias musculares de pacientes con dermatomiositis infantil y adulta, coinciden con observaciones parecidas realizadas en las lesiones cutáneas (Emslie-Smith y Engel, 1990). Así un rasgo típico dermatopatológico de la dermatomiositis consiste en la tumefacción endotelial, engrosamiento de la pared vascular, ectasia y depósito de una sustancia PAS-positiva en la pared de los vasos dérmicos. Llama la atención que este hallazgo se suele observar de forma más pronunciada en las lesiones cutáneas de la dermatomiositis que en el lupus eritematoso cutáneo.

IV. Depósitos de inmunocomplejos y complemento

En la unión dermoepidérmica:

La comprobación de depósitos de inmunoglobulinas y del complemento a nivel de la unión dermoepidérmica de las lesiones cutáneas de la dermatomiositis son menos constantes que en el lupus eritematoso. Así, en un estudio realizado en nuestro centro, se detectaron depósitos de IgG, IgM y/o C3 en un 11% de los casos, en piel lesional (Mascaró y cols., 1995). No obstante, cabe resaltar que si se estudian los **depósitos del complejo de ataque de membrana MAC (MAC)**, se encuentran en un 86% de los casos. El significado de este hecho en la actualidad se desconoce.

En los endotelios dérmicos y musculares:

Diversos estudios recientes coinciden en destacar los depósitos del MAC a nivel de la microvasculatura muscular de pacientes con dermatomiositis (Kissel y cols., 1986). De hecho, en la actualidad la miopatía de la dermatomiositis se interpreta como resultado de una lesión vascular mediada por el sistema del complemento (Whitaker y cols., 1972; Mendell y cols., 1996). Parece ser que en la dermatomiositis la presencia de los depósitos de complemento en los endotelios precede el daño muscular. La reducción de los capilares en relación con los depósitos de MAC 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 MAC a nivel de la vasculatura dérmica en las lesiones cutáneas de la dermatomiositis. En un estudio reciente detectamos estos depósitos en un 77% de los casos estudiados, aunque su extensión puede variar considerablemente (Mascaró y cols., 1995). Igual que en el músculo, los depósitos de complemento en los vasos dérmicos no son específicos para la dermatomiositis puesto que

también en el lupus eritematoso cutáneo se pueden observar, aunque el número de vasos afectados parece ser menor (Helm y cols., 1993; Crowson y Magro, 1996).

La interpretación de estas observaciones según los conocimientos actuales es difícil. Parece ser que las funciones del 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, un gran número 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 MAC 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.

1.1.5.2 PREDISPOSICION GENETICA

La cuestión de por qué una determinada enfermedad inmunológica , bajo la exposición a los mismos factores externos, se produce en algunas personas y en otras no, se intenta explicar por una determinada predisposición genética. Así la respuesta inmune frente al antígeno celular Ro en muchos pacientes con Síndrome de Sjögren o lupus eritematoso cutáneo subagudo parece ir unida a la presencia del antígeno HLA DQ y/o DR 3. Los resultados al respecto entre los pacientes con dermatomiositis hasta el momento son discordantes (Schneider y cols., 1996). Algunos autores observaron un porcentaje aumentado del fenotipo HLA-B8, DR3, otros citan una relación entre la presencia del subgrupo de pacientes con anticuerpos anti Mi2 y el fenotipo HLA-DR-7 (Topaloglu y cols., 1997; Karpati y cols., 1988). Cabe mencionar un estudio reciente que relaciona la dermatomiositis infantil con el HLA-DQA1 0501 (Reed y Sterling, 1995). Por otro lado no se ha encontrado una relación entre la presencia de dermatomiositis paraneoplásica y un determinado fenotipo HLA (Bernard y cols.,1993; Schepers y Herrero, 1995).

Durante los últimos años diversos estudios parecen indicar que defectos de otros genes podrían estar relacionados con los fenómenos de autoinmunidad (Emslie-Smith y cols., 1989). En este sentido se ha formulado la hipótesis de que la pérdida de autotolerancia del lupus eritematoso que tiene su expresión más destacada en la producción de autoanticuerpos, podría estar relacionada con la alteración de un gen que codifica el antígeno FAS. Se sabe que el antígeno FAS juega un papel crítico en la apoptosis o "muerte celular programada" de las células. Por consecuencia, linfocitos autorreactivos, podrían no ser eliminados por mecanismos de apoptosis que normalmente conducen a su eliminación. Por lo tanto una alteración del gen FAS podría dar lugar a un mantenimiento de estos linfocitos autorreactivos y a la predisposición hacia la autoinmunidad (Casciola-Rosen y Rosen,1997). Se ha especulado que la inserción de determinados retrovirus en las células precursoras medulares o

en los timocitos podrían intervenir en la modificación del gen FAS (Norris y cols.,1993;Sontheimer y cols.,1996) .

1.1.5.3 FACTORES DESENCADENANTES

Existen múltiples factores como agentes infecciosos, tóxicos, traumáticos y neoplasias que se han asociado con la DM. Saber si se trata realmente de un factor desencadenante, o simplemente una asociación casual o por el contrario una consecuencia de la propia enfermedad muchas veces es difícil de determinar. Sin embargo, actualmente se cree que dos agentes externos, la radiación ultravioleta y los virus son los agentes externos más probables. La piel, por su gran área de superficie, está expuesta a múltiples agentes externos potencialmente dañinos. Para defenderse de ellos posee un complejo sistema inmunológico propio denominado SIS (skin associated immune system). Cualquier fallo en este sistema de defensa cutáneo o SIS podría desencadenar una respuesta inmune local y/o sistémica (Bos y cols.,1993).

a) RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

La **fotosensibilidad** puede definirse como una respuesta exagerada a la radiación ultravioleta. La fotosensibilidad se manifiesta por exacerbación clínica de lesiones existentes, provocación de lesiones nuevas por la exposición solar o respuestas anormales en las pruebas de fotobiología, es decir, dosis mínimas de eritema bajas o respuesta de eritema prolongado (Kerscher y cols.,1995). Entre las enfermedades autoinmunes que se caracterizan por fotosensibilidad se encuentran el LE y la DM (Sontheimer y cols.,1996).

El conocimiento de los mecanismos fotoinmunológicos en enfermedades autoinmunes es difícil dado que los datos a nivel molecular actuales provienen de estudios con ratones y no existe un modelo murino que se aproxime a lo que ocurre en la DM. Así los estudios están limitados a voluntarios humanos. En la literatura estos estudios son anecdóticos y suelen estar limitados por el número reducido de pacientes y por el tipo de experimentos que pueden llevarse a cabo debido a cuestiones éticas. Por todo ello, la mayoría de

estudios son descriptivos y las hipótesis sobre la base inmunológica de la fotosensibilidad característica del lupus eritematoso y la DM resultan de la integración de nuestros conocimientos clínicos e inmunopatológicos de estas enfermedades con los efectos conocidos de los efectos de las radiación ultravioleta sobre la piel normal (Norris y cols.,1997).

En más de la mitad de los casos de DM existe un componente de fotosensibilidad. 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 el inicio de la enfermedad o la reactivación de la misma es frecuente en primavera y verano. Incluso se han podido inducir lesiones eritematosas clínicamente compatibles con DM mediante irradiación en laboratorio mediante un simulador solar (Cheong y cols.,1994). Sin embargo, éste es el único estudio que hemos encontrado en la literatura y la histología de estas lesiones fue inespecífica. Estudios de fotobiología en el lupus eritematoso demuestran que tanto las radiaciones ultravioleta A como las B son capaces de inducir lesiones de lupus eritematoso subagudo (Lehmann y cols.,1990; Velthuis y cols.,1990; Norris y cols.,1993; Kind y cols.,1993).

La radiación ultravioleta tiene efectos a muchos niveles diferentes: sobre la reparación del DNA y la apoptosis, puede inducir la expresión de autoantígenos sobre la superficie celular de los queratinocitos, induce la liberación de citocinas y la expresión de moléculas de adhesión (Norris y cols.,1991; Menage y cols.,1996; Cai y cols.,1996), provoca cambios en las células presentadoras de antígenos y puede provocar una inmunosupresión tanto local como sistémica (Ullrich, 1995).

La radiación ultravioleta puede ocasionar una **alteración en la reparación del DNA** tanto de queratinocitos como de fibroblastos dérmicos y de linfocitos circulantes. Estas alteraciones en el DNA pueden tener consecuencias diversas. Por un lado puede ser un desencadenante de la apoptosis o muerte

celular programada. La apoptosis está regulada por un programa genético en el que intervienen diversos genes. El daño provocado por la radiación ultravioleta puede inducir la activación del **gen p53** que por su efecto sobre el complejo Bcl-2 que disminuye y el Bax que aumenta promueve la **apoptosis** (Casciola-Rosen y Rosen, 1997). Sin embargo, existen factores, regulados por el gen RAS que promueven un aumento del bcl-2 con lo cual se inhibe la apoptosis. En condiciones normales la unión del receptor FAS a su ligando también desencadena la apoptosis provocando la muerte de linfocitos T autorreactivos. Una alteración en el gen que codifica el antígeno FAS o su ligando podría favorecer que no se eliminasen los linfocitos T autorreactivos y la presencia continuada de éstos explicaría la formación de autoanticuerpos contra ellos y la predisposición hacia la autoinmunidad.

La radiación ultravioleta puede ser responsable de la **expresión de antígenos en la superficie de los queratinocitos**. La radiación ultravioleta puede provocar mecanismos de translocación del DNA que harían que determinados antígenos nucleares o citoplasmáticos normalmente escondidos en el interior de la célula se expresasen en la membrana citoplasmática.

Por otro lado, en situaciones de estrés celular como en el caso de la exposición a radiación ultravioleta, la alteración del DNA resulta en **la síntesis de proteínas de estrés** que estarían encargadas de acompañar a determinadas moléculas hacia el núcleo, al retículo endoplasmático o hacia la membrana plasmática. Se ha podido comprobar que la radiación ultravioleta y también el calor incrementan la presencia de proteínas de estrés en los queratinocitos humanos. Posiblemente estas proteínas podrían intervenir en el transporte de antígenos procesados o de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad hacia la superficie celular. Investigaciones recientes sugieren que la radiación ultravioleta puede ocasionar la translocación de los antígenos nucleares Ro y La hacia la membrana plasmática, y a ellos se unirían los anticuerpos anti Ro y La detectados serológicamente en los enfermos afectos de lupus eritematoso y también, aunque menos

frecuentemente, en la DM. Otros estudios en el lupus eritematoso neonatal, en el que existen lesiones de lupus eritematoso subagudo de forma transitoria, han demostrado que la lesión citotóxica mediada por el complemento de los queratinocitos se ve incrementada por la radiación ultravioleta B (Yu y cols.,1996). Se ha comprobado una unión incrementada de anticuerpos contra los antígenos nucleares extraíbles Ro, La, RNP y Sm en queratinocitos cultivados e irradiados de pacientes con lupus eritematoso sistémico (Norris y cols.,1997).

La radiación ultravioleta induce la **liberación de dos citocinas primarias**, la IL-1 y el TNF- α , por parte de los queratinocitos. Estas dos citocinas a su vez inducirán la liberación de otras citocinas secundarias y todas juntas iniciarán una cascada de reacciones características de la inflamación. Entre las múltiples funciones de la **IL-1** cabe destacar que induce la liberación de citocinas secundarias como la IL-6, IL-8 y el GM-CSF, que actúa como un factor coestimulador de antígenos y superantígenos para la activación linfocitaria, que estimula a las células de Langerhans, estimula la producción de colagenasa y que actúa como pirógeno y como estimulador de los reactantes de fase aguda. El **TNF- α** estimula la secreción secundaria de IL-1, IL6, IL-8, IFN β , GM-CSF, factor activador de las plaquetas y prostaglandinas, estimula la emigración de las células de Langerhans y activa linfocitos, las células LAK (lymphokine activated killer), monocitos y neutrófilos (Ullrich, 1995).

En la DM existe una inmunosupresión tanto a nivel local como sistémica. La radiación ultravioleta provoca una desaparición local de células de Langerhans, tanto por efectos tóxicos directos como por emigración inducida por citocinas. Así mismo, citocinas como el $TNF\alpha$ y la IL-10 se han propuesto como mediadores de la inmunosupresión sistémica inducida por la radiación ultravioleta (Norris y cols.,1997).

b) INFECCION VIRICA

En numerosas ocasiones se ha considerado la etiología vírica de la dermatomiositis. El hecho de observar una asociación con una infección vírica siempre plantea la cuestión si lo que se ve es una inflamación provocada por una infección vírica crónica o si se trata de un evento inmunológico desencadenado inicialmente por una infección vírica. No es fácil establecer una relación directa entre una posible infección vírica y la dermatomiositis. Basándonos en un análisis de los órganos afectados se podría considerar que la presencia del genoma vírico en las fibras musculares miosíticas, demostrada por PCR o hibridación in situ indicaría el origen vírico de la miositis. La presencia de partículas víricas en el interior de células endoteliales, macrófagos o linfocitos en la vecindad de las fibras musculares sería de más difícil interpretación. Incluso la ausencia de evidencia de partículas víricas no descarta una infección vírica reciente, pasada o persistente, que haya desencadenado una respuesta inmunológica in situ o a distancia (Wiley y cols., 1989).

Entre los virus relacionados especialmente con la polimiositis se han citado repetitivamente a los retrovirus (Dalakas y cols., 1986; Morgan y cols., 1989). Así, en algunos pacientes con miopatías relacionadas con HIV (Dalakas y Pezeshkpour, 1988) 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.

No se puede descartar tampoco que una infección vírica de la piel sea desencadenante de la dermatomiositis. Se sabe que la infección de las células de la piel por determinados virus provoca diferentes respuestas inmunológicas tanto a nivel local como general (Morgan y cols., 1989). Asimismo se sabe que algunos virus modifican la respuesta inmunológica cutánea normal. Así se ha demostrado 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 (Dalakas y Pezeshkpour, 1988). Cabe citar también que la infección de los queratinocitos por el virus Herpes simple tipo I puede desencadenar el fenómeno de apoptosis de los queratinocitos.

No obstante, en la dermatomiositis, en la actualidad no existen pruebas que confirmen que una infección cutánea por un virus esté en relación con el desencadenamiento de la enfermedad.

Por otro lado se ha relacionado la evidencia sérica de una infección por diferentes virus con el desencadenamiento de la dermatomiositis. En este sentido se ha considerado la infección por el virus de Epstein-Barr y citomegalovirus, así como virus Coxsackie virus B (Hashimoto y cols., 1995). No obstante incluso en los pacientes entre los que se demuestra una infección por estos virus, la relación etiológica es difícil de establecer, especialmente teniendo en cuenta que una enfermedad con una respuesta inmunológica alterada a su vez podría predisponer a una infección vírica crónica.

Un posible argumento a favor de la teoría vírica podría ser la hipótesis de que la producción de determinados autoanticuerpos específicos estuviera dirigida contra el RNA viral incorporado en la célula. Esta hipótesis se planteó especialmente para el autoanticuerpo anti-Jo dirigido contra la enzima citoplasmática histidil-t-RNA sintetasa (Targoff, 1993).

1.2 CÉLULAS DENDRÍTICAS

Las células dendríticas, definidas en 1973 por Steinman (Steinman y Cohn, 1973) son células que poseen dos o más prolongaciones citoplasmáticas largas y finas, derivan de medula ósea, son móviles, carecen o poseen escasa actividad fagocítica, poseen antígenos de histocompatibilidad de clase 2 y tienen una potente capacidad de presentación de antígenos (Steinman y Cohn, 1974; Steinman y Witmer, 1978; Steinman y Nussenzweig, 1980) .

En la piel pueden identificarse las siguientes células dendríticas: células de Langerhans, células indeterminadas, células dendríticas factor XIIIa positivas o dendrocitos dérmicos y las células dendríticas CD34 positivas. Se diferencian por marcadores inmunohistoquímicos. Las células de Langerhans y las células indeterminadas se encuentran fundamentalmente en la epidermis mientras que las células dendríticas factor XIIIa positivas y las células dendríticas CD34 positivas se localizan en la dermis.

Desarrollaremos con más extensión lo conocido hasta la fecha de estos dos últimos tipos de células dendríticas de más reciente descubrimiento, las células dendríticas factor XIIIa positivas y las células dendríticas CD34 positivas.

1.2.1 CÉLULAS DENDRÍTICAS FACTOR XIIIa POSITIVAS

1.2.1.1 Antecedentes Históricos

Las células dendríticas factor XIIIa positivas o dendrocitos dérmicos son células de morfología dendrítica, que se encuentran en piel normal. Se describieron por primera vez células de morfología dendrítica en la dermis en 1970 por Braun Falco y Burg (Braun Falco y Burg, 1970). Sin embargo el término dendrocitos dérmicos no fue utilizado hasta 1986 cuando Headington lo acuñó para describir un tipo nuevo de célula propia de la dermis humana (Headington, 1986). Estas células se caracterizaron en preparaciones congeladas o en parafina mediante un panel de anticuerpos monoclonales. El marcaje con el anticuerpo policlonal de conejo contra el factor XIIIa mostró la presencia de células dendríticas en diversos tejidos humanos (Fear y cols., 1984) y posteriormente en piel humana (Reid e cols., 1984).

A partir de 1986 muchos investigadores han utilizado técnicas de inmunohistoquímica para determinar el factor XIIIa en muestras incluidas en parafina de un número importante de enfermedades inflamatorias y neoplásicas demostrando que el factor XIIIa es un marcador fiable de los dendrocitos dérmicos (Derrick y cols., 1993; Adany y cols., 1988; Hart y Fabre, 1981; Trimble y cols., 1992; Cerio y cols., 1988; Headington y Cerio, 1990; Nestle y Nickoloff, 1995).

La ontogenia de las células dendríticas factor XIIIa positivas sigue siendo un enigma. Existe controversia en cuanto a si estas células representan fibroblastos, macrófagos, células de Langerhans o células madre pluripotenciales (Schepers y Ackerman, 1997). Sin embargo, estudios más recientes parecen indicar que corresponden o bien a células madre o a células originadas en algún punto de la línea de maduración de las células dendríticas o de los macrófagos (Gibran y cols., 1996; O'Neill, 1994).

Las células dendríticas factor XIIIa positivas poseen características inmunohistoquímicas y funcionales tanto de células dendríticas (morfología multidendrítica, movilidad y potente capacidad para la presentación de antígenos) como de macrófagos (fagocitosis). Estos hallazgos están en línea con los nuevos desarrollos en el campo de la inmunología que sustentan la idea que las células dendríticas y los macrófagos parten de un origen ontogenico común (Peters y cols., 1996).

La clasificación de las células de Langerhans y de los macrófagos se está modificando a medida que se van describiendo nuevas interrelaciones funcionales entre ellas. El clásico concepto de sistema reticuloendotelial que enfatizaba la relación entre macrófagos y la unidad microvascular dérmica, ha sido sustituido por el sistema mononuclear fagocítico que hace más referencia a la naturaleza fagocítica de los macrófagos (Weber-Matthiesen y Sterry, 1990).

En 1990 Foucar propuso clasificar tanto células dendríticas como macrófagos en un sistema más amplio que denominaron **M-PIRE (mononuclear phagocyte and immunoregulatory effector system)** (Foucar y Foucar, 1993). Este imperio representa a células dendríticas y a macrófagos dado que ambos pueden poseer funciones fagocíticas e inmunológicas en diferente grado y pueden colaborar en la vigilancia inmunológica.

1.2.1.2 EMBRIOLOGÍA

La ontogenia exacta de las células dendríticas factor XIIIa positivas es desconocida y los datos publicados a este respecto son polémicos (Gibran y cols., 1996; O'Neill, 1994). La expresión variables de marcadores monocíticos, macrofágicos, dendríticos y mesenquimales, evidencian una marcada plasticidad funcional cambiante dependiendo posiblemente más de factores microambientales que de su ontogenia.

Sin embargo, estudios en médula osea de embriones y fetos de diversos órganos han dado información sobre la embriogénesis de las células dendríticas factor XIIIa positivas (Charbord y cols., 1996; Silverman y Tamsen, 1996). En la ontogenia de las células dendríticas factor XIIIa positivas en médula osea humana se distinguen 5 fases. En el estadio 1 (6-8 semanas de gestación) el hueso rudimentario está compuesto por precursores cartilaginosos y capilares y ya pueden observarse células elongadas y vacuoladas factor XIIIa positivas alrededor de los capilares. Progresivamente los condrocitos se hacen hipertróficos y durante el proceso de mineralización de la matriz algunos de ellos se marcan con el factor XIIIa, dándoles una apariencia dendrítica. En el estadio 2 (8-9 semanas de gestación) comienza la condrolisis activa, durante este proceso los capilares invaden y reabsorben la matriz cartilaginosa mineralizada. Existen numerosas células CD68 positivas alrededor de los islotes cartilaginosos siguiendo una distribución similar al de las células factor XIIIa positivas. En el estadio 3 (9-10.5 semana de gestación) aparecen lechos vasculares. Células dendríticas factor XIIIa positivas y CD68 positivas se encuentran en el estroma alrededor de los capilares. En el estadio 4 (10.5-15 semanas de gestación) comienza la hematopoyesis con un predominio de la granulopoyesis. Aparecen células elongadas factor XIIIa positivas entre las células hematopoiéticas. Algunos osteoblastos también expresan el factor XIIIa. El estadio 5 representa la organización final de los huesos largos y ocurre a partir de la semana 16 de la gestación. En la zona externa de la diáfisis aparece hueso calcificado. Las células factor XIIIa

estromales aparecen de forma precoz en la embriogénesis, antes de la formación de la médula osea (Trimble y cols., 1992).

En piel embrionaria las células factor XIIIa positivas no son exclusivamente dendríticas y aparecen en la piel antes del inicio de la hematopoiesis. A las 6 semanas de gestación se pueden observar células grandes, redondas y globulares factor XIIIa positivas en la hipodermis. Muchas de éstas son CD45 positivas. A la 7-8 semana de gestación aparece una red subepidérmica de células transitoriamente factor XIIIa positivas dado que pierden esta positividad a partir de la semana 11 ó 12. Estas células son CD68, CD45 y HLA DR negativas. Hacia la semana 11-12 aparecen células factor XIIIa positivas en la dermis reticular y alrededor de los capilares de la dermis papilar a partir de la semana 10 y 11. La aparición de células factor XIIIa positivas en la dermis papilar coincide con el periodo de transición entre el desarrollo embrionario y fetal y el establecimiento del plexo subpapilar (Gibran y cols., 1996). Estos hechos apoyan la importancia de la relación estrecha entre el sistema hematopoyético, las células endoteliales y las células perivasculares. Todos estos elementos forman parte de la unidad microvascular dérmica (Sontheimer, 1989; Sontheimer y cols., 1989). Al aumentar la edad gestacional existe una reducción progresiva de células dendríticas factor XIIIa positivas en la dermis reticular y un progresivo aumento en la dermis papilar. Las células factor XIIIa positivas de forma globular desaparecen. En la piel embrionaria no existen células factor XIIIa positivas alrededor de los apéndices epidérmicos a diferencia de los adultos.

Si las células dendríticas factor XIIIa positivas derivan de la médula osea, del saco embrionario o representan una célula mesenquimal primitiva aún es un enigma.

1.2.1.3 LOCALIZACION Y DISTRIBUCION DEL FACTOR XIII

El factor XIII es un enzima plasmático con actividad protransaminasa que circula en forma de un dímero constituido por una subunidad activa (subunidad a) unido a una proteína transportadora (subunidad b). Estas dos subunidades forman un tetrámero (a₂b₂). El factor XIII interviene en la hemostasia catalizando la formación de uniones covalentes entre las moléculas de fibrina que formarán el trombo sanguíneo.

El factor XIII, además de en el plasma se ha identificado intracelularmente en médula ósea, células sanguíneas y en el tejido conectivo de muchos órganos (Fear y cols., 1984). El papel del factor XIII en estas células es desconocido pero investigaciones recientes sugieren que podría intervenir en respuestas inmunológicas cutáneas y en la organización del tejido conectivo (Nestle y Nickoloff, 1995).

En la médula ósea solo los megacariocitos se tiñen con el factor XIII ; las demás células son negativas. En sangre periférica tanto las plaquetas como los monocitos son positivos (Henriksson y cols., 1985).

Se han identificado células factor XIIIa positivas en la mayoría de tejidos pero son más numerosas en piel y en mucosas (tracto gastrointestinal y vejiga) (Derrick y cols., 1993).

En la piel se encuentran en la dermis y son especialmente numerosos en dermis papilar y alrededor de los vasos, de las glándulas anexas, de los nervios y de los folículos pilosos. Las células dendríticas factor XIIIa positivas tienen una morfología estelar y alargada indistinguible de los fibrocitos por microscopía convencional. La tinción con el anticuerpo policlonal factor XIIIa subraya la forma dendrítica de estas células y permite su diferenciación de los fibrocitos.

Existen células factor XIIIa positivas en el esófago, estómago y en el intestino. Al igual como sucede en la piel también siguen una distribución perivascular. También se encuentran en número importante en la submucosa de la vejiga, sobre todo alrededor de los vasos pero también en el epitelio transicional y en el tejido conectivo de la capa muscular. En el tejido pulmonar existen células dendríticas congregadas en el tejido conectivo alrededor de bronquios y vasos sanguíneos y en menor número en los septos interalveolares. En el riñón se encuentran en todo el tejido conectivo intersticial. En el hígado se encuentran en el tejido conectivo periportal también de forma perivascular. Los hepatocitos y las células de Kupffer son negativas. El tejido conectivo de los villi coriónicos de la placenta también contienen células factor XIII positivas. También se han identificado en las articulaciones, especialmente en la membrana sinovial. Son menos numerosos en tejido conectivo de otros órganos como bazo, tiroides y testículos. También se han identificado células factor XIIIa positivas en la cápsula del hilio conectivo y en células dendríticas reticulares de los ganglios linfoides (Adany y cols., 1988; Cerio y cols., 1990; Nemes y cols., 1986).

1.2.1.4 MICROSCOPIA ELECTRONICA

La microscopía electrónica identifica a las células dendríticas factor XIIIa positivas como células que poseen múltiples procesos citoplasmáticos delgados y elongados de unos 40 micrómetros en longitud y que se extienden entre la matriz dérmica (Sueki y cols., 1993). Estas células se diferencian de los fibroblastos que tienen forma de huso, suelen ser bipolares y muy raramente tienen dendritas de más de 10 micrómetros de longitud. Reconstrucciones tridimensional indican que las extensiones citoplasmáticas de las células dendríticas factor XIIIa positivas representan membranas o velos (“flaps”) más que dendritas cónicas o cilíndricas (Sueki y cols., 1995). Existen vesículas pinocíticas dispuestas en hilera por debajo de la membrana plasmática. Presentan placas densas a nivel de la membrana plasmática que se denominan fibronexus. Los fibronexus se expresan característicamente por células que requieren una unión entre elementos del citoesqueleto y moléculas de la matriz extracelular (por ejemplo fibroblastos y miofibroblastos). La mayoría de estudios demuestran que carecen de granulos de Birbeck diferenciándolos de las células de Langerhans.

La microscopía electrónica también ha sido útil para conocer la relación espacial entre las células dendríticas factor XIIIa positivas y otras células como los mastocitos, macrófagos y nervios (Sueki y cols., 1995). Más del 70% de los mastocitos de la dermis superior están localizados muy próximos a dendrocitos dérmicos perivasculares y subepidérmicos. Aproximadamente entre el 20 y el 40% de los dendrocitos dérmicos perivasculares se asocian en proximidad a los mastocitos. Las prolongaciones membranosas de las células dendríticas factor XIIIa positivas envuelven entre el 50 y el 90% del perímetro de los mastocitos. Las prolongaciones de las células dendríticas factor XIIIa positivas también están en contacto próximo con la membrana plasmática de los macrófagos.

Las células dendríticas factor XIIIa positivas ocasionalmente se encuentran rodeando a nervios no mielinizados de la dermis superficial y también se han objetivado envolviendo simultáneamente a nervios y a mastocitos.

La microscopía inmunoelectrónica ha evidenciado que la expresión del factor XIIIa no es exclusiva de las células dendríticas factor XIIIa positivas dado que mastocitos y células endoteliales también lo pueden expresar. Dentro de las células dendríticas factor XIIIa positivas, el factor XIIIa se encuentra en el interior de las cisternas dilatadas del retículo endoplasmático rugoso y libre en el citoplasma. En las células endoteliales el factor XIIIa se encuentra libre dentro del citoplasma, en los cuerpos de Weibel-Palade, y en las proyecciones de las células endoteliales hacia la luz vascular. En los mastocitos se observa positividad para el factor XIIIa dentro de sus gránulos específicos (Schaumburg-Lever y cols., 1994). El hecho de no poderse detectar por microscopía convencional la positividad de células endoteliales y mastocitos se debe probablemente a la intensidad del marcaje: La cantidad de factor XIIIa expresado por mastocitos y células endoteliales está por debajo del umbral de detección por el microscopio convencional.

Funcionalmente, las células dendríticas factor XIIIa positivas, los mastocitos y las células endoteliales parecen estar relacionadas puesto que estos tres tipos de células tienen en común la expresión de factor XIIIa, pertenecer a la unidad microvascular dérmica y encontrarse aumentadas durante la angiogénesis y en procesos fibrovasculares.

1.2.1.5 INMUNOHISTOQUIMICA

Desde el punto de vista inmunohistoquímico los dendrocitos dérmicos se caracterizan por marcarse con el anticuerpo policlonal de conejo contra el factor de coagulación sanguíneo factor XIIIa. La mayoría además expresan el marcador de médula ósea Hle-1 y el antígeno leucocitario común (CD45). No expresan marcadores de fibroblastos (Te7), linfocitarios (CD2) ni granulocíticos (LeuM1).

Diversos estudios muestran una colocación variable del factor XIIIa con otros marcadores monocitarios y macrofágicos como por ejemplo el MAC387, CD68, CD36, CD14 y CD11 (Cerio y cols., 1990; Adany,1988; Nemeth y Penneys, 1989, Cerio y Wilson-Jones, 1990; Nickoloff y Griffiths, 1990; Adany y Muzbek, 1987; Gray, 1987; Richters y cols., 1994; Lenz y cols., 1993; Duraiswamy y cols., 1994). Esta variabilidad evidencia que interpretaciones de la ontogenia basados en datos inmunohistoquímicos deben ser muy cautelosas. Esta expresión variable probablemente representa el alto grado de plasticidad que exhiben las células dendríticas. De esta manera el inmunofenotipo de las células dendríticas puede cambiar dependiendo de factores microambientales que pueden cambiar a lo largo de la vida de esta células.

Son S100 y CD1a negativos. Más del 80% de las células dendríticas factor XIIIa positivas expresan los antígenos de histocompatibilidad de clase II, HLA-DR y en menor proporción el HLA-DQ. Carecen de la mayoría de marcadores endoteliales como el factor VIII pero si expresan el antígeno sinusoidal endotelial MS-1 (Walsh y cols.,1991). A pesar de que la mayoría de trabajos no han encontrado que expresen el marcador de células de Langerhans CD1a, estudios con suspensiones celulares de dermis y cultivos dérmicos han objetivado que las células dendríticas factor XIIIa positivas pueden expresar CD1a, CD1b, y CD1c en proporciones variables (Nestle y cols., 1993; Furue y cols., 1992; Fivenson y cols., 1995; Meunier y cols., 1993; Elder y cols., 1993).

Las células dendríticas factor XIIIa positivas, en común con otras células dendríticas implicadas en funciones inmunológicas, expresan moléculas de adhesión. La mayoría expresan el antígeno asociado a función linfocitario LFA-1. En condiciones como psoriasis y eczema atópico las células dendríticas factor XIIIa positivas expresan la molécula de adhesión intercelular ICAM-1 (CD54) (Cerio y cols., 1989). Resumiendo, las células dendríticas factor XIIIa positivas muestran una heterogeneidad considerable en los marcadores de superficie que expresan y su inmunofenotipo se solapa con el de otras células presentadoras de antígeno. Sin embargo se pueden identificar específicamente por la expresión de factor XIIIa, su localización dérmica, su morfología dendrítica y sus características ultraestructurales.

1.2.1.6 FUNCION

La función de las células dendríticas factor XIIIa positivas y el significado de la expresión del factor XIIIa sigue siendo un enigma. Sin embargo, estudios funcionales y comparativos en enfermedades diferentes han permitido establecer el probable papel de los dendrocitos dérmicos en las respuestas fisiopatológicas de la piel.

Estudios in vitro con suspensiones celulares de dermis y cultivos con linfocitos T han demostrado que las células dendríticas factor XIIIa positivas son potentes células presentadoras de antígenos. Son capaces de estimular linfocitos CD4+ de forma similar a las células de Langerhans (las clásicamente consideradas como células presentadoras de antígenos en la piel) (Nestle y cols., 1993; Meunier y cols., 1993; Sepulveda-Merrill y cols., 1994, Richters y cols., 1995). Las células dendríticas factor XIIIa positivas están muy relacionados, tanto anatómicamente como funcionalmente, con los mastocitos. La degranulación de los mastocitos induce la expresión del factor XIIIa en las células dendríticas factor XIIIa positivas, indicando que estas células podrían intervenir en la hemostasia y en la cicatrización de heridas (Sueki y cols., 1993).

La relación próxima entre las diferentes células y los nervios es consonante con el concepto de red cutáneo-neural-inmunológica, comunicando mastocitos, células endoteliales, células de Langerhans y las células dendríticas factor XIIIa positivas con el plexo neural. Las células dendríticas factor XIIIa positivas son capaces de fagocitar diferentes sustancias, como lo demuestra la observación de depósitos intracelulares de pigmentos como hemosiderina y melanina (Headington, 1986; Altman y cols., 1992).

Existe una relación espacial íntima entre células dendríticas factor XIIIa positivas y macrófagos, contactando el área superficial extensa de las prolongaciones membranosas o "flaps" de los dendrocitos dérmicos con la

membrana plasmática de los macrófagos. El área de contacto aportado por estas prolongaciones (flaps) permite una estimulación de la expresión de moléculas de adhesión que posiblemente intervengan en las interacciones celulares de los procesos autoinmunes. Los dendrocitos dérmicos también forman parte de la unidad microvascular dérmica, una estructura anatómica y funcional que juega un importante papel en las reacciones inmunológicas. En procesos inflamatorios como la dermatitis atópica (Cerio y cols., 1989), psoriasis (Cerio y cols., 1989; Nickoloff y Griffiths, 1990; Morganroth y cols., 1991; Van den Oord y De Wolf-Peeters, 1994), esclerodermia sistémica (Aiba y cols., 1994; Skobieranda y Helm, 1995; Schepers y Herrero, 1997; Fleischmajer y cols., 1987) y el lupus eritematoso (Mori y cols., 1994), el número de células dendríticas factor XIIIa positivas está incrementado.

La deficiencia de factor XIIIa provoca una hemostasia y cicatrización alteradas. Es conocido que el factor XIII modula la síntesis *in vitro* de colágeno por los fibroblastos, modificando no solo la cantidad, sino también los tipos de colágeno producidos (Paye y cols., 1989). En la fase inicial de los procesos cicatriciales, el número de células dendríticas factor XIIIa positivas está incrementado, si bien este número disminuye progresivamente con la maduración de las lesiones (Penneys, 1990; Pierard y cols., 1990). Estos hallazgos sugieren que el factor XIIIa probablemente desempeña una importante función no definida con exactitud por el momento, en el desarrollo de la fibroplasia. El factor XIIIa probablemente también juega un importante papel en las interacciones entre las células y la matriz intercelular.

Ha sido posible generar células de Langerhans y células dendríticas factor XIIIa positivas a partir de células progenitoras hematopoyéticas CD34 positivas. En el futuro posiblemente se utilicen células dendríticas generadas *in vitro* contra antígenos tumorales específicos en el tratamiento del cáncer (Caux y cols., 1992; Grabbe y cols., 1995; Caux y cols., 1996; Strunk y cols., 1996).

Las células dendríticas factor XIIIa positivas se han estudiado en muchos tumores benignos y malignos y en patologías inflamatorias (Regezi y cols., 1992; Nickoloff, 1991; Cerio y cols., 1989; Gray y cols., 1990; Stewart y Smolk, 1993; Nemes y Thomazy, 1988; Nickoloff y cols., 1990; Nestle y cols., 1995, Griffin y cols., 1996; Smith y cols., 1992; Van Neer y cols., 1993; Koizumi y cols., 1995; Nestle y Nickoloff, 1994). Los anticuerpos anti-factor XIIIa se utilizan en el diagnóstico histopatológico para diferenciar el dermatofibroma del dermatofibrosarcoma protuberans. El dermatofibroma presenta un porcentaje elevado (entre el 30% y el 80%, dependiendo de la fase del proceso) de células factor XIIIa positivas, y es CD34 negativo, mientras que el dermatofibrosarcoma protuberans tiene un alto porcentaje de células CD34 positivas y es factor XIIIa negativo. Las células dendríticas factor XIIIa positivas también están aumentados en procesos fibrovasculares benignos como la pápula fibrosa.

La razón por la que se encuentra aumentado su número en determinadas enfermedades es desconocida. Si las células dendríticas factor XIIIa positivas desempeñan un función inmunológica en estos procesos, o simplemente representan un epifenómeno aún tiene que establecerse.

1.2.2 CÉLULAS DENDRÍTICAS CD34 POSITIVAS

Las células CD34 positivas presentan el antígeno progenitor hematopoiético y marcan las células progenitoras hemopoyéticas de la médula ósea. Recientemente se ha descrito su presencia en la dermis humana (Narvaez y cols., 1996). En la piel constituyen un subgrupo de células dendríticas en dermis reticular y media. Se encuentran a nivel perivascular, intersticial y alrededor de las glándulas ecrinas y del folículo pilosebáceo. El anticuerpo anti CD34 es un anticuerpo monoclonal que tiñe el citoplasma de las células. El antígeno CD34 también se encuentra en los endotelios vasculares (Nickoloff, 1991).

La relación entre las células dendríticas factor XIIIa y las células dendríticas CD34 positivas es un tema controvertido. Las células dendríticas CD34 positivas tienen una morfología alargada y poseen dendritas largas y delgadas. Se localizan preferentemente en dermis media y reticular, siguiendo una distribución perivascular y en todo el intersticio dérmico. El antígeno CD34 o antígeno progenitor hematopoyético humano también marca las células endoteliales.

Experimentos de doble marcaje distinguen tres patrones diferentes: dendrocitos dérmicos subepidérmicos factor XIIIa positivos y CD34 negativos, células dendríticas dérmicas en dermis superficial perivascular que reaccionaban de forma variable tanto al factor XIIIa como con el CD34 y por último células dendríticas en dermis reticular CD34 positivos y factor XIIIa negativos (Sueki y cols., 1993) . Sin embargo estudios inmunohistoquímicos y de citometría de flujo han objetivado que los dendrocitos dérmicos factor XIIIa positivos y las células dendríticas CD34 son dos poblaciones celulares independientes (Nestle y cols., 1993). Estas discrepancias pueden deberse a que el CD34 marca células endoteliales y que en el estudio de doble marcaje la proximidad entre dendrocitos dérmicos y células CD34 y células endoteliales en la región perivascular puede haber resultado en falsos positivos.

Estudios de biología molecular han demostrado que el CD34 se expresa en el lado luminal, sobre los procesos membranosos que se encuentran entre dos células endoteliales adyacentes (Fina y cols.,1990). La función de las células dendríticas CD34 positivas es hasta la fecha desconocido. Existen estudios que proponen que podría actuar como molécula de adhesión (Delia y cols., 1993) o que podría intervenir en la transducción de señales intercelulares (Van de Rijn y Rouse, 1994). Por otro lado, estudios en vitro han producido células de Langerhans y células factor XIIIa positivas a partir de células dendríticas CD34 positivas (Strunk y cols., 1996; Caux y cols., 1996). Posiblemente, estos tres tipos de células dendríticas estén relacionadas y jueguen un papel en la reacción inmune cutánea.

1.2.3 CELULAS DENDRITICAS FACTOR XIIIa Y CD34 EN PROCESOS INFLAMATORIOS DE LA PIEL

Las células dendríticas factor XIIIa positivas se han estudiado en diversas patologías inflamatorias y autoinmunes. Las células dendríticas factor XIIIa positivas se han encontrado aumentados en número en la dermatitis atópica (Cerio y cols., 1989) y en la psoriasis (Cerio y cols., 1989; Nickoloff y Griffiths, 1990; Morganroth y cols., 1991; Van den Oord y De Wolf-Peeters, 1994). Mori describieron hallazgos similares en el lupus eritematoso (Mori y cols., 1994). Aiba sin embargo, encontraron una disminución en el número de estas células dendríticas factor XIIIa positivas en las dos conectivopatías que estudiaron (lupus eritematoso y DM) y en la esclerodermia respecto a piel sana (Aiba y cols., 1994).

Existe un número escaso de estudios en la literatura de las células dendríticas CD34 positivas en procesos inflamatorios cutáneos. Aiba estudiaron las células CD34 positivas en el lupus eritematoso, en la DM y en la esclerodermia (Aiba y cols., 1994). Encontraron que en la esclerodermia estas células estaban prácticamente ausentes mientras que en el lupus eritematoso y en la DM estaban aumentadas respecto a piel sana. En otro estudio encontraron que en la morfea, al igual que en las cicatrices, las células CD34 positivas también estaban disminuídas (Skobieranda y cols., 1995).

1.3 MOLECULAS DE ADHESIÓN

1.3.1 CONCEPTO

La presencia de los infiltrados inflamatorios tisulares significa que los leucocitos circulantes deben adquirir un fenotipo adherente y migrar a través del endotelio y la matriz extracelular. Tal fenómeno requiere complejas interacciones entre los receptores presentes en la membrana leucocitaria y sus contrarreceptores inducibles en las células endoteliales (fig. 1).

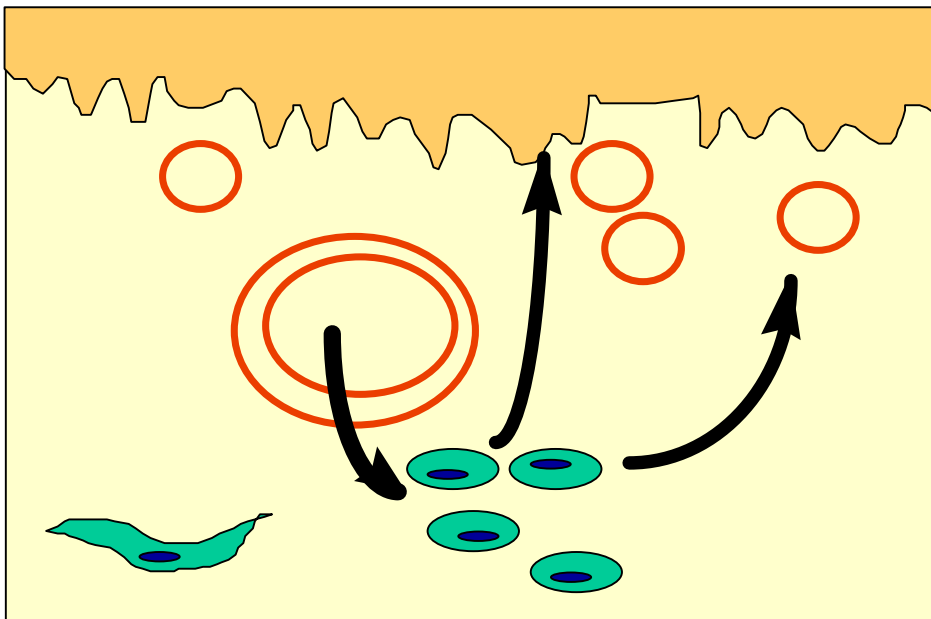


Fig. 1. Las células inflamatorias migran desde la sangre periférica a través de las paredes vasculares y la matriz extracelular para llegar a su lugar de acción: la unión dermo-epidérmica y la zona perivascular. Este proceso migratorio requiere interacciones complejas entre receptores de las membranas celulares

de las células inflamatorias y contrarreceptores que se inducen en la superficie de las células endoteliales.

Entre los pares receptor-ligando más relevantes cabe citar la expresión de **E-selectina** por las células endoteliales que induce la interacción inicial de los linfocitos, especialmente aquellos que migrarán a la piel, los denominados **skin homing T cells**. Por otro lado la expresión del **VCAM-1** favorece la adhesión celular para las células VLA-4 positivas. Asimismo el aumento de expresión del **ICAM-1** de las células endoteliales provoca la adhesión y transmigración de los linfocitos LFA-1 positivos (Denton y cols., 1995; Jones y cols., 1996).

Estudios inmunohistoquímicos realizadas en biopsias cutáneas de pacientes con dermatomiositis indican que existe una expresión intensa de ICAM-1 por parte de las células endoteliales dérmicas, por numerosas células inflamatorias, así como por grupos de queratinocitos distribuidos de manera focal y generalmente en contacto con los infiltrados inflamatorios subepidérmicos. La inmunorreactividad para la VCAM-1 se observa sobre todo en las células endoteliales de la dermis reticular superior, así como en algunas células inflamatorias de aspecto estrellado. 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 (Hausmann y cols., 1996). Por otro lado, los estudios inmunohistoquímicos realizados en biopsias musculares de pacientes con dermatomiositis demuestran una expresión elevada de ICAM-1 en endotelios, fibroblastos, linfocitos T y de VCAM-1 en las células endoteliales musculares (Hagiwara y cols., 1996).

1.3.2 ANTÍGENO ASOCIADO AL LINFOCITO CUTÁNEO (CLA)

El CLA es una glicoproteína de 200 kD que se encuentra en la superficie celular de linfocitos, macrófagos y células de Langerhans. El HECA-452 es un anticuerpo monoclonal dirigido contra los epitopos hidrocarbonados del CLA.

1.3.2.1 HISTORIA

En 1988 Duijvestijn elaboró un anticuerpo monoclonal IgM de rata específico para las vénulas endoteliales altas de los ganglios linfáticos y los componentes del tejido linfático asociado a las mucosas (MALT) (Duijvestijn y cols., 1988). Este anticuerpo monoclonal se denominó HECA-452. Las vénulas endoteliales altas regulan la circulación linfocitaria en los órganos linfoides. Estas vénulas especializadas no existen en la piel ni en otros tejidos no linfoides aunque pueden aparecer en órganos afectados por enfermedades autoinmunes como por ejemplo la tiroiditis de Hashimoto, la enfermedad de Graves y la enfermedad de Crohn.

A partir de 1989 varios estudios han demostrado que también marca a subpoblaciones de células mielomonocíticas y dendríticas de la médula ósea y de la piel (Bos y cols., 1992; Koszik y cols., 1994; walton y cols., 1997).

1.3.2.2 BIOQUIMICA

El CLA está compuesto por las siguientes estructuras hidrocarbonadas:

- Sialyl-Lewis^x (Le^x; CD15)
- S Le^a (forma isomérica de S Le^x)
- Estructuras hidrocarbonadas relacionadas.

1.3.2.3 FUNCIÓN

Diversos estudios indican que estos hidratos de carbono actúan a modo de ligandos de la E-Selectina (ELAM-1) (Picker y cols., 1991). El ELAM se expresa de forma constitucional en grado escaso por las células endoteliales de la microvasculatura dérmica pero su expresión se ve muy incrementada en estados inflamatorios ("upregulation"). De esta manera, parece ser que la interacción de la E Selectina y el CLA es crucial en el proceso de reclutamiento o "homing" de las células T a la piel (Berg y cols., 1991).

La migración de las células inmunológicas hacia sus tejidos diana está mediada por la interacción entre moléculas de adhesión que se encuentran sobre su superficie y sus respectivos ligandos expresados por el endotelio vascular (Santamaria y cols., 1995). Un posible modelo teórico que explicaría el mecanismo del "homing" sería el siguiente: Estímulos diversos microambientales (antígenos, citoquinas) producirían un aumento de la expresión de ELAM-1 sobre el endotelio vascular. Éste a su vez se uniría a los linfocitos CLA positivos facilitando su migración a la dermis donde iniciarían la respuesta inflamatoria.

A continuación se va a exponer brevemente lo relevante sobre el papel del CLA en el sistema inmune cutáneo (skin immune system o SIS) (Bos y cols., 1987) y su rol en el "homing" de las células leucocitarias y dendríticas hacia la piel.

1.3.2.4 EXPRESIÓN DE CLA POR LINFOCITOS T

Las células T están presentes sobre todo alrededor de los capilares del plexo venoso de la dermis papilar en la piel normal. El 50% son CD45 Ro, CD4 positivos y el resto son CD8 positivos. La migración de linfocitos circulantes hacia los tejidos específicos se efectúa mediante interacciones de los linfocitos T con el endotelio vascular a través de moléculas de adhesión denominadas "**homing receptors**".

En piel normal más de la mitad de los linfocitos T expresan HECA en la epidermis, y este porcentaje disminuye con la profundidad en la dermis. Las células HECA positivas en la dermis se localizan fundamentalmente a nivel perivascular. En la epidermis, el 50% tanto de las células CD4 positivas como de las células CD8 positivas expresan igualmente el HECA. En la dermis el 44% de células CD4 positivas y el 31% de las CD8 positivas expresan HECA (Bos y cols., 1993).

En sangre periférica el 16% de los linfocitos T son HECA positivas.

Existe un aumento de linfocitos T CLA positivos en piel comparado con sangre periférica. La expresión de CLA es relativamente baja en localizaciones lejanas a los vasos. Ello indica que los linfocitos CLA positivos podrían estar implicados en la diapédesis interaccionando con las células endoteliales de la dermis. Pero también existe un aumento de linfocitos T CLA positivos en epidermis, lo cual sugiere la posibilidad de que se una también a un posible ligando de los queratinocitos.

En las lesiones cutáneas inflamatorias se ha encontrado un 80-85% de linfocitos HECA-452 positivos mientras que en las lesiones inflamatorias no cutáneas sólo existe un 5-10% de linfocitos T HECA-452 positivos. Asimismo, en el tejido linfoide tanto normal como reactivo incluyendo ganglios linfáticos, bazo, tejido

linfoide asociado al intestino (GALT) y timo sólo raramente se encuentran linfocitos T HECA 452 positivos.

Si se comparan linfomas T cutáneos (LCCT) con linfomas extracutáneos, se concluye que la mayoría de los LCCT expresan HECA mientras que los linfomas extracutáneos raramente expresan el HECA (Noarduy y cols., 1992).

1.3.2.5 EXPRESIÓN DE CLA POR CELULAS DE LANGERHANS

Diferentes estudios encuentran porcentajes diferentes en el número de células de Langerhans HECA positivas. En un estudio en el que se ha realizado la técnica de doble tinción se ha encontrado que sólo el 2% de las células CD1a positivas expresan el HECA (Bos y cols., 1993). Sin embargo utilizando técnicas de doble inmunofluorescencia más sensibles otros investigadores encuentran que entre el 5 y el 40% de las células de Langerhans son HECA positivas (Koszik y cols., 1994). Los mismos investigadores encuentran que utilizando suspensiones celulares de epidermis y analizándolo mediante citometría de flujo prácticamente todas las células de Langerhans eran positivas. Así, parece ser que los resultados obtenidos dependen fundamentalmente de la sensibilidad de la técnica utilizada.

1.3.2.6 EXPRESIÓN DE CLA POR MACROFAGOS

El 14% de los macrófagos CD 68 positivos expresan el HECA, sobretodo los que se encuentran en la zona perivascular (Bos y cols., 1993).

1.3.2.7 EXPRESIÓN DE CLA POR CELULAS ENDOTELIALES

No expresan el HECA (Bos y cols., 1993).

1.3.2.8 EXPRESIÓN DE CLA POR QUERATINOCITOS

No expresan el HECA.

1.3.2.9 CLA Y DERMATOSIS INFLAMATORIAS Y PROCESOS NEOPROLIFERATIVOS

Se ha estudiado la expresión de HECA en diversas enfermedades inflamatorias incluyendo el eczema atópico y de contacto, psoriasis, parapsoriasis, exantema viral y linfomas cutáneos (De Vries y cols., 1997; Baker y cols., 1997; Jones y cols., 1997; Jalkanen y cols., 1990; Marti y cols., 1997). En piel lesional de estas enfermedades inflamatorias se encontró un aumento importante de células HECA positivas respecto a piel sana. El aumento en la expresión de HECA se debía a un aumento en el número de linfocitos T y de células de Langerhans que expresaban el HECA. En la dermis hubo un aumento importante tanto de las células HECA positivas como del número de células de Langerhans. El 50% de las células HECA positivas eran células de Langerhans, y entre el 50-80% de todas las células de Langerhans eran HECA positivas. El gran aumento de expresión de HECA en la epidermis, sin embargo, no se debió a un aumento en el número de células CD1a positivas sino a un aumento de la expresión de HECA por cada una de las células de Langerhans (Kozsik y cols., 1994).

1.3.2.10 CÓMO Y CUANDO SE ADQUIERE LA EXPRESIÓN DE CLA.

Se sabe que las células T adquieren la expresión de CLA durante la transición de células vírgenes o naive a células memoria en los ganglios linfáticos periféricos. La expresión de CLA se puede inducir in vitro por la estimulación mitogénica de linfocitos T con interleuquinas o tumor growth factor - beta.

Análogamente uno puede suponer que la expresión de CLA sobre las células de Langerhans podría ser inducida por la presencia de antígenos y de determinadas citoquinas. Esto estaría en línea con el hecho de que en estados inflamatorios en la dermis se produce un incremento tanto en el número de células como en la intensidad de expresión de CLA. También es posible que las células de Langerhans lleguen a la piel siendo ya CLA positivas y que una vez establecidas en la epidermis el microambiente (es decir, el nivel de citoquinas) determine el

grado en el cual la expresión de CLA se ha de mantener. Los estudios al respecto indican que los precursores de las células de Langerhans ya expresan el CLA antes de llegar a la piel. La expresión de CLA en las células residentes de la epidermis no parece jugar un papel funcional dado que está demostrado que los queratinocitos no expresan E-Selectina y la adhesión de las células de Langerhans a los queratinocitos en este caso está mediada por las E-Cadherinas. Por otro lado la posibilidad de que exista un aumento de expresión de CLA ("upregulation") por parte de las células de Langerhans residentes en el momento de migrar de la epidermis hacia los ganglios linfáticos es poco probable porque no se ha observado la expresión de E-Selectina en los ganglios linfáticos y tampoco existen datos que indiquen que interacciones receptor-ligando jueguen un papel en la circulación de los linfocitos en los vasos linfáticos. Parece ser que los precursores de las células de Langerhans expresan el CLA que potencia su unión a la vasculatura dérmica facilitando su paso hacia la epidermis. El hallazgo de un aumento de las células de Langerhans que expresan el HECA-452 en dermatosis inflamatorias y procesos neoproliferativos puede interpretarse como un signo de una migración incrementada de células de Langerhans precursoras a piel lesional. La base de este proceso podría estar mediado por el aumento de expresión de E-Selectina por la microvasculatura dérmica en dichos procesos. Una vez que las células de Langerhans llegan a la epidermis y se instalan entre los queratinocitos, la expresión de CLA disminuiría progresivamente o bien por falta de estímulo adecuado o bien por "down regulation" activa (Kozsik y cols., 1994).

2.HIPÓTESIS

I. Las células dendríticas forman parte de los infiltrados inflamatorios cutáneos y musculares de la DM.

Existen diferentes argumentos que motivan investigar la presencia de las células dendríticas en las lesiones cutáneas de la DM:

a) En primer lugar, si suponemos que los infiltrados inflamatorios hallados en los órganos afectados juegan un papel en el desarrollo del daño tisular, la caracterización de todos los elementos celulares que forman este **infiltrado inflamatorio** constituye un paso más para el esclarecimiento de la patogenia de la DM. Estudios anteriores realizados por el grupo de investigación en el que se incluye este trabajo (Hausmann y cols.,1991) han demostrado que los infiltrados inflamatorios cutáneos de la DM están compuestos mayoritariamente por linfocitos T CD4 positivos y macrófagos CD68 positivos, así como un número más reducido de células de Langerhans. Es de destacar el hallazgo de numerosas células CD68 positivos de morfología dendrítica. Sin embargo, hasta la actualidad, no se conoce la caracterización antigénica de éste número elevado de células de morfología dendrítica en las lesiones cutáneas de DM. Por otro lado, los rasgos histopatológicos e inmunopatológicos de las lesiones cutáneas de la DM muestran numerosas similitudes con las halladas en el lupus eritematoso (Bielsa y cols.,1994). La posibilidad de encontrar células dendríticas entre los componentes inflamatorios cutáneos parece elevada puesto que recientemente en las lesiones cutáneas del lupus eritematoso se ha identificado un abundante número de células dendríticas (Mori y cols.,1994).

b) En segundo lugar, el interés en identificar las células dendríticas en las lesiones de la DM deriva de su localización característica, en estrecho contacto con la **microvasculatura** dérmica. Este hecho unido a la expresión de **moléculas de adhesión** (Cerio y cols.,1989) y su función de células presentadoras de antígeno (Peters y cols.,1996) sugiere que las células dendríticas factor XIIIa positivas desempeñan un papel clave en la etiopatogenia de esta enfermedad. En este sentido sería interesante analizar la expresión de

diferentes moléculas de adhesión vasculares y su relación con las células dendríticas.

c) Si bien se cree que los depósitos del **complejo de ataque de membrana (MAC)** a nivel de los vasos en algunos casos provocan la lisis de las células endoteliales, parece ser que su presencia también pueda tener distintos efectos no letales sobre la función celular (Mendell y cols.,1996). No se puede descartar una interacción entre su presencia a nivel de las células endoteliales y los fenómenos inflamatorios tisulares. Hasta la actualidad no se ha analizado una posible correlación entre los depósitos de MAC vascular con la composición de los infiltrados inflamatorios perivacuares, específicamente las células dendríticas.

d) Por último, cabe insistir en el hecho que la DM es una **enfermedad sistémica** en la cual se encuentra afectado, además de la piel, el músculo. Sigue abierta la cuestión, de si los mecanismos inmunopatológicos que conducen a los fenómenos inflamatorios cutáneos y musculares, son idénticos en los dos órganos o no. De forma similar a la piel, en el músculo también se ha identificado una población de células de morfología dendrítica escasamente estudiada hasta la fecha (Pedro-Botet y cols.,1988). Analizar la población de células dendríticas musculares, y comparar sus características con las halladas en piel, supondría un avance en esta cuestión.

II. La expresión del antígeno asociado al linfocito cutáneo se encuentra incrementada en los infiltrados inflamatorios de la DM.

Existe un aumento de expresión de las moléculas de adhesión que regulan los procesos inflamatorios en la DM (Hausmann y cols.,1996). El patrón de inducción de las moléculas de adhesión encontrado es similar al que se encuentra en otras enfermedades inmunes (Cronstein y cols,1993; Denton y cols.,1995). Así, parece ser que las moléculas de adhesión juegan un papel en el desarrollo y en la perpetuación de las lesiones cutáneas de la DM. Por otro lado, estudios recientes han demostrado que el **antígeno cutáneo asociado al linfocito (CLA)** se expresa preferentemente por células que migran a la piel (Bos y cols.,1993). Este antígeno se marca con un anticuerpo monoclonal denominado HECA-452 (Duijvestijn y cols.,1988). Se cree que el CLA puede jugar un papel crucial en el sistema inmunológico cutáneo mediante el "homing" de las células leucocitarias y dendríticas hacia la piel. Un posible modelo teórico que explicaría el mecanismo del "homing" sería el siguiente: Estímulos diversos microambientales (antígenos, citocinas) provocarían un aumento de la expresión de E-selectina sobre el endotelio vascular. La E-selectina se uniría a los linfocitos u otras células mononucleares CLA positivas facilitando su migración a la dermis donde iniciarían la respuesta inflamatoria (Koszik y cols.,1994).

Es de gran interés conocer por un lado sí está aumentada la expresión de HECA en las lesiones cutáneas de la DM, por otro sí está presente en las lesiones musculares y finalmente conocer exactamente qué células de la piel sana y de los infiltrados inflamatorios de la DM expresan este receptor.

III. Efecto de la radiación ultravioleta sobre el infiltrado inflamatorio, moléculas de adhesión y complemento.

En condiciones normales la radiación ultravioleta posee diferentes efectos sobre las células presentadoras de antígenos clásicas de la piel: Las células de Langerhans. La radiación ultravioleta altera sus propiedades morfológicas y funcionales, induce la secreción de citocinas y modula la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1, B7) (Norris y cols.,1991; Ulrich,1995; Menage y cols.,1996; Cai y cols.,1996). Hasta la actualidad se desconocen los efectos de la radiación ultravioleta sobre otras células dendríticas. La relación entre la exposición a la radiación ultravioleta es un hecho bien conocido en el lupus eritematoso. Sin embargo, en la DM, dada la escasez de estudios de fotobiología en esta enfermedad, la relación entre la radiación ultravioleta y la DM no es tan clara. Por otro lado, en el lupus eritematoso se han logrado inducir lesiones de lupus eritematoso mediante irradiación con radiación ultravioleta A y B (Lehmann y cols.,1990; Velthuis y cols.,1990; Norris y cols.,1993; Kind y cols.,1993).

En otra enfermedad autoinmune, el pénfigo vulgar, se han logrado desencadenar lesiones de pénfigo mediante la radiación ultravioleta y se han encontrado depósitos del complejo de ataque de membrana del complemento (MAC) a las pocas horas de la irradiación (Kawana y Nishiyama,1990).

Se desconoce si la radiación ultravioleta desencadena la deposición del MAC en la DM. Por otro lado, numerosos estudios apoyan el papel del MAC en la etiopatogenia de la DM. Actualmente la lesión muscular de la DM se interpreta como resultado de un daño de la microvasculatura mediada por el sistema del complemento (Kissel y cols.,1986). Se cree que el depósito intravascular de complejos inmunes activaría al sistema del complemento dando lugar al ensamblaje del complejo de ataque de membrana que lesionaría la célula endotelial. Ello daría lugar a microinfartos musculares y subsiguientemente a los infiltrados inflamatorios posteriores (Mendell y cols.,1996). En piel afecta de DM

se han encontrado depósitos de MAC en la unión dermo-epidérmica en 86% de las biopsias. En las paredes vasculares se encontraron depósitos focales, en la mayoría de los casos afectando menos del 10% de los vasos. Estos hallazgos sugieren que el sistema del complemento puede intervenir en la etiopatogenia de las lesiones cutáneas de la DM (Mascaró y cols.,1995).

Nosotros proponemos establecer un modelo en la que se irradian áreas circunscritas de la espalda para estudiar los efectos precoces de la radiación ultravioleta, antes del establecimiento del eritema. Con ello lograríamos saber si la radiación ultravioleta desencadena la aparición de infiltrados inflamatorios, el depósito de MAC y la expresión de moléculas de adhesión. Por otro lado también se estudiaría qué ocurre primero: los infiltrados inflamatorios o el complejo de ataque de membrana del complemento.

3.OBJETIVOS

I. Caracterización fenotípica de las células de morfología dendrítica en lesiones cutáneas de DM y determinación de la presencia de marcadores de activación inmunológica (moléculas de adhesión y HLA-DR) en las células dendríticas. Establecer las diferencias cualitativas y cuantitativas de las células dendríticas factor XIIIa positivas y las células dendríticas CD34 positivas en piel afecta y aparentemente sana de pacientes con DM y comparar con el lupus eritematoso.

II. Analizar la relación entre las células del infiltrado inflamatorio y la microvasculatura dérmica con la presencia de :

a) Moléculas de adhesión

b) Antígeno asociado al linfocito cutáneo.

c) Depósitos del complejo de ataque de membrana.

III. Caracterización fenotípica de las células de morfología dendrítica en el infiltrado inflamatorio muscular y comparación con los hallazgos cutáneos.

IV. Establecer el grado de fotosensibilidad en pacientes con DM y estudio comparativo de las células dendríticas y presencia de depósitos del complejo de ataque de membrana en lesiones fotoinducidas.

4. MATERIAL Y METODOS

4.1 MATERIAL

Se han incluido en este estudio 29 biopsias cutáneas de DM provenientes de 20 pacientes afectos de DM , 8 biopsias de músculo afecto de DM, 6 biopsias cutáneas de lupus eritematoso, 8 biopsias de músculo sano y 15 biopsias de piel sana de individuo sano. También se han incluido 3 biopsias de piel sana de 2 pacientes diferentes afectos de DM. Las biopsias cutáneas de lupus eritematoso incluyeron 1 sistémico, 2 cutáneos crónicos y 3 subagudos.

Para el estudio fotobiológico se obtuvieron 3 biopsias de 2 pacientes con DM obtenidas una a las 6 horas y dos a las 24 horas después de la realización de las exploraciones fotobiológicas y 5 biopsias de un paciente con psoriasis (piel sana y placa de psoriasis antes y 24 horas después de tratamiento con PUVA y piel de espalda 24 horas después de irradiación para la determinación de la dosis eritema mínimo).

De los 20 pacientes incluidos en el estudio 13 padecían una DM idiopática, 4 una DM paraneoplásica y 3 una DM infantil. Todos cumplían los criterios diagnósticos de Bohan y Peters. En el momento de efectuarles la biopsia no estaban tomando medicación. 23 biopsias procedieron de piel lesional de DM: nudillos 10, eritema en heliotropo 8, escote 3 y rash eritematoso en espalda 2. La piel sana de DM procedió de piel no fotoexpuesta del antebrazo. Las 3 biopsias de piel en la que se efectuaron exploraciones fotobiológicas procedieron todas de la espalda: una a las 6 horas post MED, dos a 24 horas post MED. Las biopsias de músculo se obtuvieron por biopsia muscular abierta de deltoides con fines diagnósticos de pacientes con DM.

Todas las biopsias cutáneas y de músculo se obtuvieron mediante anestesia local con mepivacaína al 2% , dividiéndose en 2 para fijar una parte en parafina congelar la otra en metilbutano y conservarla en congelador a -70°.

ANTICUERPOS MONOCLONALES

Anticuerpos utilizados en parafina

- Factor XIIIa: anticuerpo policlonal de conejo, Dako A/S, Dinamarca. Dilución 1/1000.
- CD34: anticuerpo monoclonal de ratón Qbend10, Biogenex, San Ramón USA, Directo.
- CD68 : anticuerpo monoclonal de ratón, Dako A/S, Dinamarca. Dilución 4/200. Pretratamiento con pepsina.
- CD3 : anticuerpo monoclonal de ratón, Biogenex, San Ramón USA, Directo.
- CD20 : anticuerpo monoclonal de ratón, Biogenex, San Ramón USA, Directo.
- CD1a : anticuerpo monoclonal de ratón, Biogenex, San Ramón USA, Directo.
- MAC387 : anticuerpo monoclonal de ratón, Dako A/S, Dinamarca. Dilución 4/200. Pretratamiento con pepsina.
- HLA-DR: anticuerpo monoclonal, Dako A/S, Dinamarca. Dilución : 1/100.
- Ulex europeus: lectina, Dako A/S, Dinamarca. Dilución : 1/100 y 1/200.
- HECA: anticuerpo monoclonal de rata, proporcionado amablemente por el Dr Picker (Texas University). Dilución : 1/100.

Anticuerpos utilizados en congelado

- HECA: anticuerpo monoclonal de rata, proporcionado amablemente por el Dr Picker (Texas University), dilución 1/50.
- CD1a: anticuerpo monoclonal de ratón, Immunotech, Marseille,Francia. Dilución 1/20.
- ICAM-1: anticuerpo monoclonal de ratón, Immunotech, Marseille,Francia. Dilución 1/20.
- VCAM: anticuerpo monoclonal de ratón, Immunotech, Marseille,Francia. Dilución 1/100.

- ELAM (E- selectina): anticuerpo monoclonal de ratón, Immunotech, Marseille, Francia. Dilución 1/100.
- EBM-11: anticuerpo monoclonal de ratón, Dako A/S, Dinamarca. Dilución 1/50.
- HLA-DR: anticuerpo monoclonal de ratón, Dako A/S, Dinamarca. Dilución 1/50.
- Ulex europeus: lectina, Dako A/S, Dinamarca. Dilución 1/200.
- CD3: anticuerpo monoclonal de ratón, Biogenex, San Ramón USA. Dilución 1/50.
- MAC (C5b-9): anticuerpo monoclonal de ratón, Dako A/S, Dinamarca. Dilución 1/100.
- CD34-rodamina: Biogenex, San Ramón USA. Directo.
- CD34-ficoeritrina: Biogenex, San Ramón USA. Directo.

Anticuerpos secundarios

- FITC: suero de cabra anti IgM (cadena mu) de rata marcado con fluoresceína, Sigma. Dilución 1/20.
- Rodamina: suero de conejo anti ratón marcado con rodamina. Dako A/S, Dinamarca. Dilución 1/20.
- Secundario del HECA: suero de conejo anti IgM de rata marcada con peroxidasa. Dilución 1/100.

4.2 METODOS

La técnica utilizada para las biopsias fijadas en parafina es la **técnica de streptavidina-biotina- fosfatasa alcalina** :

PREPARACIÓN DE LOS CORTES

- Fijación en formol tamponado.
- Cortes de 5 micras en parafina.

TÉCNICA

1. Desparafinar en 3 cubetas diferentes de Biocler 5 min cada una.
2. Hidratar en alcoholes decrecientes hasta llegar a agua destilada (2 cubetas de alcohol absoluto 5 min cada uno, Alcohol de 96°,70°,50°,20° 3 min cada uno).
3. En el caso de CD68 y MAC387 digestión enzimática con pepsina (0,005 en 10cc de Hcl durante 5 min).
4. Lavado en Phosphate Buffered Saline (PBS),5 min.
5. Poner piezas en cubre placas.
6. Incubación en suero supresor de cabra 150 lambdas/10ml de PBS (15 min).
7. Incubación en los distintos anticuerpos primarios (200 lambdas) a dilución conveniente (30 min.)
8. Lavado con PBS (3 por 3 min.)
9. Incubación en inmunoglobulina de cabra anti-inmunoglobulina de ratón, conejo cobaya y rata conjugada con biotina (20 min.)
10. Lavado con PBS (3 por 3 min.)
11. Incubación en complejo estreptavidina-biotina-fosfatasa alcalina (20 min.)
12. Lavado con PBS (3 por 3 min.)
13. Revelar con Fast Red
14. Poner en PBS 10 min.
15. Contraste con tinción de hematoxilina rápida
16. Virar con agua (5 min).

17. Deshidratación en alcoholes crecientes (alcohol 96° y absoluto).
18. Aclarar en Biocler con Eucaliptol.
19. Montar con DPX.

El MAC387 y el CD68 precisan tratamiento previo con pepsina. El CD1a se realizó con un tratamiento previo con calor en esterilizador de biberones durante 30 min y el tiempo de incubación del monoclonal es de 60 min, a diferencia de los otros anticuerpos.

La técnica utilizada para las biopsias congeladas para todos los anticuerpos, (excepto en el caso del HECA 452 para el que se utilizó una inmunoperoxidasa indirecta convencional, utilizando como anticuerpo secundario el anticuerpo de conejo anti IgM de rata marcado con peroxidasa) es la **técnica de streptavidina-biotina-peroxidasa**:

PREPARACION DE LOS CORTES

1. Congelar la Biopsia en Metilbutano y guardarla en el congelador de -60°C.
2. Hacer los cortes necesarios en el Criostato a -26°C.
3. Dejar secar los cortes 24 horas a temperatura ambiente.
4. Fijar los cortes en Acetona. 10 min.
5. Guardar los cortes envueltos en papel de plata en el congelador a -20°C.

TECNICA DE STREPTAVIDINA-BIOTINA-PEROXIDASA

1. Rehidratar los cortes en PBS. 10 min.
2. Supresión de fondo :
Suero normal de Goat al 1/20 15 min.
3. Incubación con el Anticuerpo Primario. Dilución variable. 30 min.
4. Lavar con PBS.
Varios lavados. 5 min.
5. Incubación con el secundario.

Ig Anti Rabbit Biotinado, directo. 20 min.

6. Lavar con PBS.

Varios lavados. 5 min.

7. Incubación con el terciario.

Streptoavidina conjugada con Peroxidasa, directo. 20 min.

8. Lavar con PBS.

Varios lavados. 5 min.

9. Revelar con Diaminobenzidina (DAB). 5-10 min.

10. Contrastar con Hematoxilina, Deshidratar, Aclarar y montar con D.P.X.

Las piezas se han valorado con el microscopio óptico (Olympus BH-2) de la sección de Dermatopatología y de la Dra Herrero del servicio de Dermatología.

TECNICA DE DOBLE MARCAJE (FITC Y RODAMINA)

PREPARACION DE LOS CORTES

1. Congelar la pieza en Metilbutano y guardarla en el congelador de -70°C.

2. Hacer los cortes necesarios en el Criostato a -26°C.

3. Dejar secar los cortes a temperatura ambiente.

4. Guardar los cortes en una caja de plástico en el congelador de -20°C.

TÉCNICA

1. Rotular los portas y con un lápiz de diamante rodear la pieza.

2. Rehidratar los cortes con PBS. 10 min.

3. Incubación con el primer Anticuerpo Primario. 30 min.

4. Lavar con PBS. Varios lavados. 5 min.

5. Incubación con el anticuerpo secundario adecuado conjugado con FITC al 1/20. 30 min.

6. Lavar con PBS. Varios lavados. 5 min.

7. Incubación con el segundo Anticuerpo Primario. 30 min.

8. Lavar con PBS. Varios lavados. 5 min.
9. Incubación con el anticuerpo secundario adecuado conjugado con Rodamina al 1/20. 30min.
10. Lavar con PBS. Varios lavados. 5 min.
11. Montar con Glicerina Tamponada.

La técnica de doble inmunofluorescencia se valoró primero con el microscopio de doble inmunofluorescencia de la unidad de investigación de Neurología Dr. F. Graus de la Fundació Clínic y posteriormente con el microscopio confocal Leica del Departamento de Biología Molecular (Universidad de Barcelona).

EXPLORACIÓN FOTOBIOLOGICA

La exploración fotobiológica se ha realizado en el laboratorio de Fotobiología del Servicio de Dermatología utilizando el Simulador Solar Light (150 Watt Xenon short arc lamp).

Se efectuó una exploración fotobiológica a 10 pacientes afectos de DM (8 inactivos y 2 activos) y 1 paciente afecto de psoriasis. La prueba consiste en irradiación con banda ultravioleta B (de 280-320 nanómetros) de 6 áreas circulares de 2cm de diámetro en la piel sin lesiones de la espalda del paciente durante 10, 20, 30, 40, 50 y 60 segundos respectivamente. Los resultados se leyeron a las 6 horas, 24 horas, 48 horas, al cabo de 1 semana y al mes. Se tomaron biopsias de la piel clínicamente no alterada del área anterior al área eritematoso de las dos pacientes con lesiones activas y con la mínima dosis eritema (MED) alterado. Un paciente afecto de psoriasis en placas dió su consentimiento para que se le efectuasen biopsias de piel sana y de una placa de psoriasis antes y 24 horas después del tratamiento con PUVA. También se le efectuó una exploración fotobiológica y se realizó una biopsia del área anterior al eritema 24 horas después de la irradiación.

METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS

El **número de células dendríticas** se han cuantificado mediante contaje en 5 campos diferentes de 400 aumentos en cada uno de los diferentes compartimentos cutáneos (epidermis lesional, epidermis no lesional, dermis papilar lesional, dermis papilar no lesional, dermis media perivascular, dermis media intersticial, dermis reticular perivascular, dermis reticular intersticial) y de músculo (tejido conectivo, perivascular y infiltrado inflamatorio) por 2 o 3 observadores independientes, llegándose a un resultado consensual.

Las **moléculas de adhesión** se han evaluado según el porcentaje de células del infiltrado inflamatorio o de los vasos positivos para cada marcador.

La **técnica de doble inmunofluorescencia** se ha valorado por el porcentaje de células del total del infiltrado inflamatorio que marcaban con cada marcador por separado y con los dos a la vez (doble tinción). Las piezas se han valorado a 200, 400 y 630 aumentos.

Los **depósitos del complejo de ataque de membrana (MAC)** se han estudiado a 4 niveles (en membrana basal, en los vasos, en el tejido elástico y en el infiltrado inflamatorio) y se ha valorado semicuantitativamente de la siguiente forma. En la membrana basal: ausencia de depósitos 0, presencia de depósitos finos 1, presencia de depósitos gruesos e incontinuos 2, presencia de depósitos gruesos y continuos 3. En los vasos: ausencia 0, en menos del 10% de vasos 1, entre el 10 y 20% de vasos 2 y más del 20% de vasos 3. En el tejido elástico: ausencia de depósitos 0, presencia de depósitos finos 1, presencia de depósitos gruesos dispersos 2, presencia de depósitos gruesos en todo el tejido elástico 3. En el infiltrado inflamatorio: ausencia de depósitos 0, presencia de depósitos 2.

La **exploración fotobiológica** se ha valorado mediante la mínima dosis eritema (MED). La aparición de eritema en las áreas expuestas a la banda ultravioleta B durante 10, 20 o 30 segundos se considera patológico, mientras que si aparece después de 40 segundos es normal. Si el eritema ya estaba

presente a los 10 segundos de irradiación se considera una mínima dosis eritema muy alterada, marcándose con 3 cruces (+++), si aparecía a los 20 segundos moderadamente alterada, marcándose con 2 cruces (++) y si aparecía a los 30 segundos levemente alterada, marcándose con 1 cruz (+).

ANALISIS ESTADISTICO

El número de células fue tabulado utilizando la media \pm la desviación estándar para los grupos de pacientes (DM y piel sana) en todas las localizaciones de piel y músculo.

Para evaluar si el número medio de células detectadas, en cada localización, era diferente entre los grupos de pacientes, se utilizó un modelo de Poisson con estimaciones robustas y la variación. Los coeficientes de dicho modelo fueron exponenciados para poder obtener la diferencia proporcional entre los grupos de pacientes y su intervalo de confianza al 95% (IC95%).

Para evaluar si el número medio de células detectadas era diferente entre las localizaciones, se aplicó un modelo de Poisson con efectos aleatorios. La interacción entre el grupo de paciente y la localización fue evaluada utilizando el Likelihood Ratio (LR) test.

En múltiples comparaciones se utilizó el método de Bonferroni para corregir las significaciones de las pruebas estadísticas.

Todos los análisis fueron realizados utilizando STATA versión 5.0.

5.RESULTADOS

5.1 Caracterización fenotípica de las células de morfología dendrítica en lesiones cutáneas de DM.

En las biopsias analizadas se distinguen diferentes subpoblaciones de células dendríticas. Estas células se han analizado en los siguientes compartimentos de la piel: epidermis lesional (Ep les), epidermis de la zona perilesional (Ep no les), dermis papilar lesional (D pap les), dermis papilar de la zona perilesional (D pap no les), dermis media perivascular (D med pv), dermis media intersticial (D med inter), dermis reticular perivascular (D med pv), dermis reticular intersticial (D ret inter).

5.1.1 CELULAS DENDRITICAS FACTOR XIIIa POSITIVAS (DENDROCITOS DERMICOS)

En la **piel sana**, las células dendríticas factor XIIIa positivas se encuentran distribuidas en la dermis papilar formando una banda subepidérmica, y, en la dermis media tanto alrededor de los vasos como en la zona intersticial. Son células de morfología alargada que poseen múltiples dendritas finas. No existen células factor XIIIa positivas en la epidermis (fig.1).

En las lesiones de **DM** las células dendríticas factor XIIIa positivas están reducidas en número respecto a piel sana. El análisis por compartimentos dérmicos demuestra que están muy reducidas o ausentes en la dermis papilar y media (fig. 2). En dermis papilar perilesional el número de células dendríticas factor XIIIa positivas, aún estando reducido respecto a piel sana, es mayor que en la dermis papilar lesional. Sin embargo están focalmente aumentados en la dermis reticular perivascular (fig. 3)(Tabla 1).

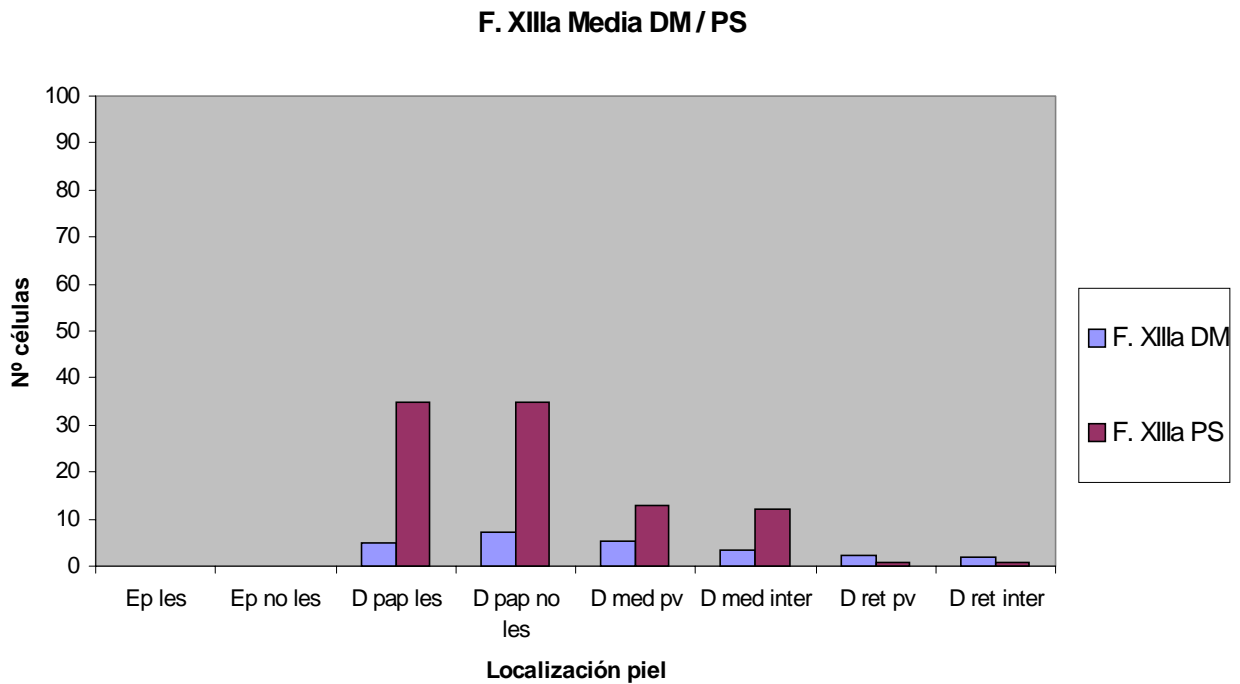
Al igual que en las lesiones de DM en las lesiones cutáneas del **lupus eritematoso** también están disminuidas las células dendríticas factor XIIIa positivas respecto a piel sana.

En las 2 muestras de **piel normal de pacientes afectados de DM** estudiadas el número de células dendríticas factor XIIIa positivas no muestra diferencias respecto a piel de individuos sanos.

Tabla I: media y desviación estándar del número de células factor XIIIa positivas en la piel.

	factor XIIIa	
	Piel sana (n=15)	DM (n=23)
Epidermis	0 ± 0	0 ± 0
Dermis papilar	35 ± 16	4,9 ± 11
Dermis media perivascular	13 ± 9,7	5,2 ± 6
Dermis media intersticial	12 ± 13	3,5 ± 3,9
Dermis reticular perivascular	0,77 ± 2,8	2,2 ± 4,5
Dermis reticular intersticial	0,77 ± 2,8	1,9 ± 2,9

En la gráfica 1 se observa la diferencia entre la media del número de células factor XIIIa positivas en la DM respecto a piel sana en cada uno de los compartimentos de la piel.



Gráfica 1. Media del número de células factor XIIIa en las lesiones de DM (lila) respecto a la piel sana (granate) en los diferentes compartimentos de la piel.

Utilizando el modelo estadístico de regresión de Poisson todas las diferencias reflejadas en la gráfica 1 son estadísticamente significativas. Es decir, existen significativamente menos células factor XIIIa+ en la DM que en la piel sana en la dermis papilar y en la dermis media. En cambio en la dermis reticular existen significativamente más células factor XIIIa+ en la DM que en la piel sana (tabla 2). Este aumento se debe sobretodo a un aumento focal del número de células factor XIIIa+ alrededor de algunos vasos de la dermis reticular.

En la tabla II se resume la diferencia proporcional y la significación p para cada una de las localizaciones.

Tabla II: diferencia proporcional y significación p.

	Factor XIIIa	
	Diferencia proporcional (IC*:95%)	p
PIEL		
Dermis papilar lesional		
DM vs piel normal	-86% (-82% a -89%)	<0,001
Dermis papilar no lesional		
DM vs piel normal	-79% (-75% a -83%)	<0,001
Dermis media perivascular		
DM vs piel normal	-60% (-79% a -68%)	<0,001
Dermis media intersticial		
DM vs piel normal	-70% (-60% a -77%)	<0,001
Dermis reticular perivascular		
DM vs piel normal	185% (44% a 464%)	0,003
Dermis reticular intersticial		
DM vs piel normal	141% (21% a 384%)	0,013

*(IC: intervalo de confianza)

5.1.2 CELULAS DENDRITICAS CD34 POSITIVAS.

En la **piel sana**, las células dendríticas CD34 positivas se encuentran distribuidas entre los haces de colágeno de la dermis media y reticular tanto intersticial como perivascular (fig.4). Se visualizan como células muy delgadas con unas prolongaciones dendríticas finas que se disponen de forma paralela a la unión dermoepidérmica. No existen células CD34 positivas en la epidermis ni en la dermis papilar. Las células endoteliales también son positivas para este marcador.

En la **DM** existe un aumento en el número de estas células en dermis media intersticial excepto en los focos inflamatorios donde no se han encontrado de forma significativa (fig.5). Sin embargo en la zona perivascular tanto de la dermis media como de la dermis reticular están disminuidas (gráfica 2). Tampoco hay células CD34 en la epidermis ni en la dermis papilar. Al igual que en la piel normal en la DM las células endoteliales también son positivas para este marcador.

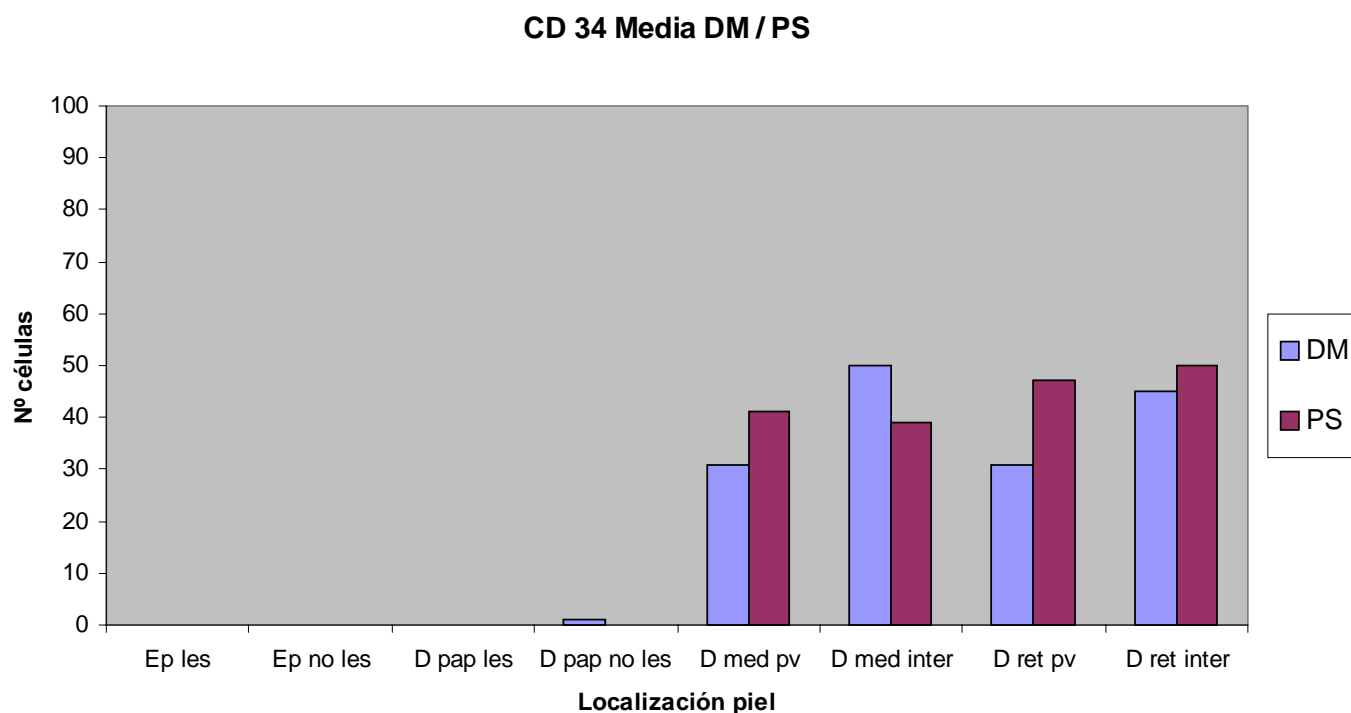
En el **lupus eritematoso** al igual que en la DM existe una discreta disminución de su número en la dermis media perivascular. En el resto de compartimentos no existen diferencias en el número de células respecto a piel normal.

En **piel sana de DM** no se han encontrado diferencias en el número de células respecto a piel normal.

En la tabla III se refleja numéricamente el valor de la media y de la desviación estándar del número de células CD34 positivas en cada uno de los compartimentos de la piel en la DM y en la piel sana.

Tabla III: Media y desviación estándar del número de células CD34+ en la piel.

	CD34+	
	Piel sana (n=15)	DM (n=23)
Epidermis	0 ± 0	0 ± 0
Dermis papilar	0 ± 0	0 ± 0
Dermis media perivascular	41 ± 22	31 ± 25
Dermis media intersticial	39 ± 18	50 ± 18
Dermis media perivascular	47 ± 13	31 ± 18
Dermis reticular intersticial	50 ± 12	45 ± 15



Gráfica 2. Media del número de células CD34 positivas en la DM (lila) respecto a la piel sana (granate) en los diferentes compartimentos de la piel.

Utilizando el modelo estadístico de regresión de Poisson se demuestra que las diferencias encontradas en la dermis papilar y en la dermis reticular intersticial no son significativas. Es decir, no existen diferencias significativas en el número de células entre la DM y la piel sana. En la zona perivascular tanto de la dermis media como de la dermis reticular las diferencias demostradas en la gráfica 2 sí son significativas. Es decir, existen significativamente menos células CD34 positivas en la DM que en la piel sana en las zonas perivascuales. En cambio en la dermis media intersticial existen significativamente más células CD34 positivas en la DM que en la piel sana (tabla IV).

En la tabla IV se resume la diferencia proporcional y la significación p para cada una de las localizaciones.

Tabla IV: diferencia proporcional y significación p.

Piel	CD34	
	Diferencia proporcional (IC*:95%)	p
Dermis media perivascular		
DM vs piel normal	-23% (-14% a -31%)	<0,001
Dermis media intersticial		
DM vs piel normal	27% (15% a 41%)	<0,001
Dermis reticular perivascular		
DM vs piel normal	-34% (-26% a -41%)	<0,001
Dermis reticular intersticial		
DM vs piel normal	-9% (-17% a 1%)	0,064

*(IC: intervalo de confianza)

En resumen, el número de células dendríticas CD34 positivas que existe en la dermis media intersticial está aumentada en la DM respecto a piel sana, sin embargo se constata una disminución de estas células en la zona perivascular de la dermis.

5.1.3 MACROFAGOS

Los anticuerpos monoclonales MAC 387 y CD68 (KP-1) en parafina y el EBM-11 en material congelado marcan el citoplasma de los macrófagos. Se encuentran predominantemente a nivel de los infiltrados inflamatorios de la DM, agrupándose en focos en dermis papilar y a nivel perivascular en dermis papilar y media. Los infiltrados inflamatorios de la DM están constituidos predominantemente por macrófagos MAC 387 y CD68 (KP-1) positivos, linfocitos y en menor número por células de Langerhans. Los macrófagos forman entre el 50 y el 80% de los infiltrados inflamatorios. Por medio de la comparación de laminillas secuenciales y por su localización se ha objetivado que son una subpoblación de células distinta de las células dendríticas factor XIIIa positivas y de las células dendríticas CD34 positivas.

5.1.4 CELULAS DE LANGERHANS

Las células de Langerhans se marcan con el anticuerpo policlonal S100 y con el anticuerpo monoclonal CD1a. Su forma estrellada refleja las numerosas dendritas que se extienden del citoplasma y contactan con los queratinocitos adyacentes. Se encuentran a nivel de la epidermis, encontrándose disminuidos de forma focal a nivel de la epidermis lesional de la DM y del lupus eritematoso. Se encuentran, en número reducido, a nivel de dermis papilar sobretodo en los infiltrados inflamatorios de la DM y del lupus eritematoso. Por medio de la comparación de laminillas secuenciales y por su localización se ha objetivado que son una subpoblación de células diferentes a las células dendríticas factor XIIIa positivas y a las células dendríticas CD34 positivas.

5.1.5 MARCADOR DE ACTIVACIÓN: CELULAS HLA-DR positivas

Las células que expresan en su superficie el marcador HLA-DR, son las que están funcionalmente activas, por lo que presentan en su membrana el complejo mayor de histocompatibilidad y actúan como células presentadoras de antígeno. En las lesiones de DM se encuentran sobretodo en los infiltrados inflamatorios y formando una banda subepidérmica (coincidiendo en gran proporción con las células dendríticas factor XIIIa positivas) mientras que en la epidermis se encuentran en número escaso. El 90% de las células endoteliales de la dermis papilar y reticular superior expresan el HLA-DR. Mediante la comparación de laminillas secuenciales se objetiva que, en las lesiones de DM, el 90% de las células de Langerhans, el 90% de las células dendríticas factor XIIIa positivas, el 20% de los macrófagos expresan el marcador HLA-DR en su superficie, mientras que su expresión solo se observa en menos del 5% de las células dendríticas CD34 positivas.

5.2 RESULTADOS ESTUDIO DE LAS MOLÉCULAS DE ADHESIÓN .

5.2.1 ICAM-1 (INTERCELLULAR CELL ADHESION MOLECULE-1)

En la piel sana el ICAM-1 se expresa por la mayoría de las células endoteliales de la dermis papilar y reticular superior, con intensidad leve. No hay marcaje por parte de los queratinocitos.

Por el contrario, en las lesiones cutáneas de DM la expresión de ICAM-1 por las células endoteliales es mucho más intensa y entre el 70 y el 90% de las células endoteliales de la dermis papilar y reticular superior son positivas. Existe un marcaje focal de queratinocitos (entre el 5 y el 10% del total de queratinocitos) sobre todo en piel lesional y cerca de la unión dermoepidérmica. De las células del infiltrado inflamatorio entre el 30 y el 40% en dermis papilar y entre el 40 y 60% en dermis reticular superior son positivas. El porcentaje de células dendríticas que expresan el ICAM-1 viene reflejado en el estudio de doble inmunofluorescencia.

5.2.2 VCAM-1 (VASCULAR CELL ADHESION MOLECULE-1)

En la piel sana no existe expresión significativa de VCAM.

En la piel afecta de DM, aproximadamente la mitad de las células endoteliales de dermis papilar y reticular superior son positivas. Los queratinocitos no expresan VCAM. De las células del infiltrado inflamatorio, el 20 % en dermis papilar y el 30% en dermis reticular superior son positivas. Aproximadamente el 10% de estas células tienen una morfología dendrítica.

5.2.3 ELAM (E-selectina)

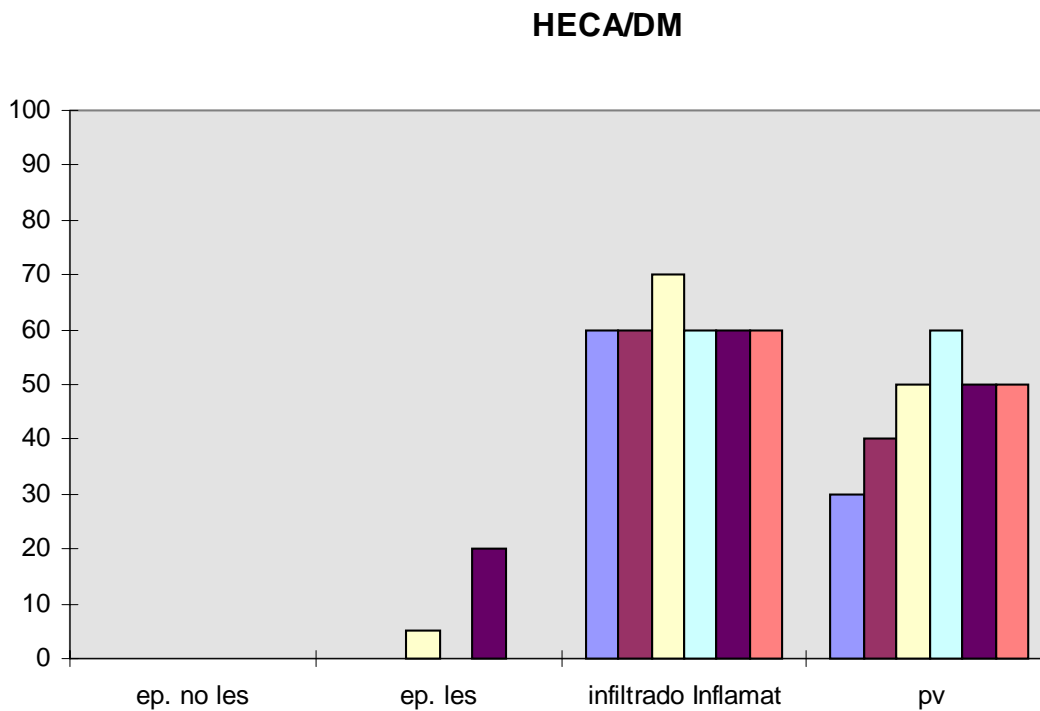
El ELAM sólo se detecta en un reducido número de células endoteliales aisladas en piel normal.

En la DM, entre un 20 y 30% de las células endoteliales de dermis papilar y reticular superior son positivas. Muchas veces se observa que sólo se marca una parte y no la totalidad de la periferia de los vasos. Los queratinocitos no expresan ELAM. Las células del infiltrado inflamatorio tampoco expresan el ELAM.

5.2.4 HECA (marcador del antígeno asociado al linfocito cutáneo)

En piel sana sólo escasas células de la dermis marcan con el HECA.

En la piel afecta de DM entre un 60 y 70% de las células de los focos inflamatorios y entre un 30 y 60% en zona perivascular son HECA positivas (fig.6). El 30% de estas células son alargadas y tienen forma dendrítica. En la epidermis no lesional no hay células HECA positivas. Sin embargo en la epidermis lesional se detectan pequeños focos de células redondas que representan linfocitos T HECA positivos (gráfica 3).

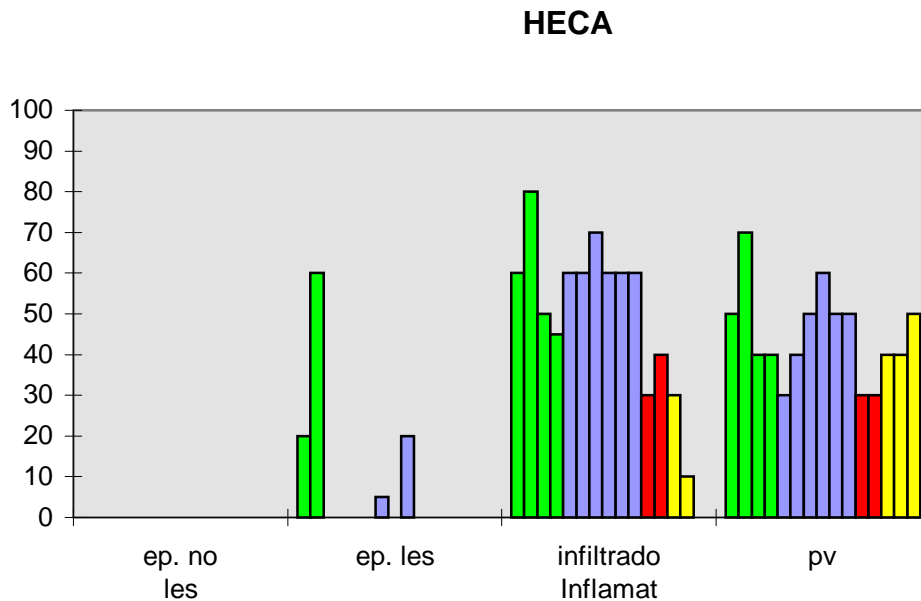


Gráfica 3. Porcentaje de células HECA positivas en los diferentes compartimentos de la piel en 6 biopsias cutáneas de piel afectada de DM (cada una de las biopsias está representada por una barra de color diferente). En la epidermis lesional no existen células HECA positivas. En la epidermis lesional entre el 5 y el 20% de las células respectivamente son linfocitos T HECA positivos. Entre 60 y 70% y entre 30 y 60% de las células de los infiltrados inflamatorios y de las zonas perivasculares son HECA positivas.

En las biopsias cutáneas de lupus eritematoso los resultados son cualitativamente similares diferenciándose en la mayor proporción de células positivas en los infiltrados inflamatorios, tanto focales en dermis como perivasculares.

No se detectan células HECA positivas en el músculo de DM ni en el músculo normal.

En la gráfica 4 se resume el porcentaje de células HECA positivas en la DM, piel sana, lupus eritematoso y en piel sana de DM.



Gráfica 4. Comparación del porcentaje de células HECA positivas en el lupus eritematoso (verde), DM (lila), piel sana (rojo) y piel sana de DM (amarillo). En la epidermis no lesional (ep no les) no existen células HECA positivas en ningún caso, en la epidermis lesional (Ep les) en 2 biopsias de lupus eritematoso y de DM hay queratinocitos HECA positivos. En los infiltrados inflamatorios en el lupus eritematoso hay entre el 40 y 80%, en la DM entre el 60 y 70%, en la piel sana entre el 30 y 40%, y en la piel sana de DM entre el 0 y 30% de células HECA positivas. En la zona perivascular en el lupus eritematoso hay entre el 40 y 70%, en la DM entre el 40 y 60%, en la piel sana el 30%, y en la piel sana de DM entre el 40 y 50% de células HECA positivas.

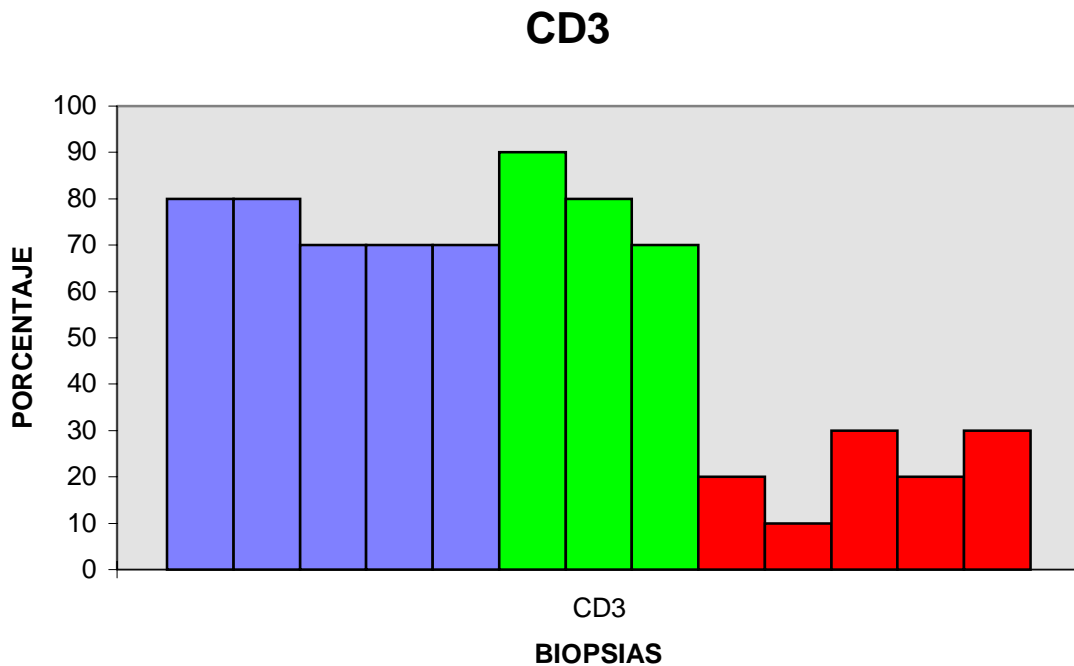
5.3 RESULTADOS ESTUDIO DE DOBLE INMUNOFLUORESCENCIA.

La doble inmunofluorescencia se ha realizado con el objeto de estudiar la expresión de las moléculas de adhesión HECA, VCAM e ICAM-1 por parte de las diferentes células del infiltrado inflamatorio en las lesiones cutáneas de DM, lupus eritematoso y en piel sana.

5.3.1 HECA (marcador del antígeno asociado al linfocito cutáneo)

5.3.1.1 HECA y linfocitos T CD3 positivos

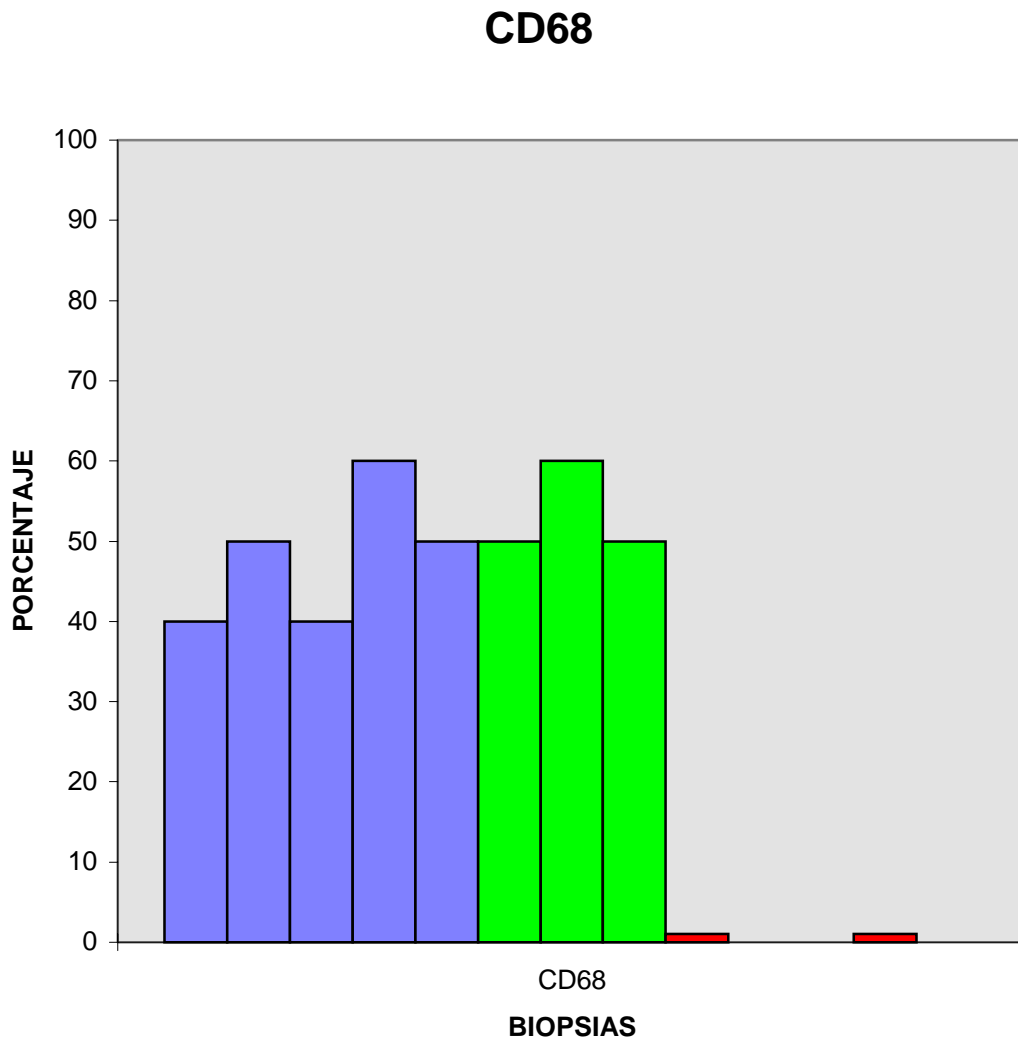
Entre el 10 y el 30% de los linfocitos T muestran coexpresión con el HECA en piel sana, mientras que en las biopsias de DM (fig.7) y lupus eritematoso los linfocitos T expresan el HECA en un 70-80% y 70-90% respectivamente (gráfica 5).



Gráfica 5. Porcentaje de linfocitos T CD3 positivos que expresan el HECA en 5 biopsias de DM (lila), 3 de lupus eritematoso (verde) y 5 de piel sana (rojo). En la DM entre el 70 y 80% de los linfocitos T CD3+ expresan el HECA, en el lupus eritematoso entre el 70 y el 90% y en la piel sana entre el 10 y el 30%. La coexpresión de CD3 y HECA es mucho mayor en la DM y en el lupus eritematoso que en la piel sana.

5.3.1.2 HECA y macrófagos CD68 positivos

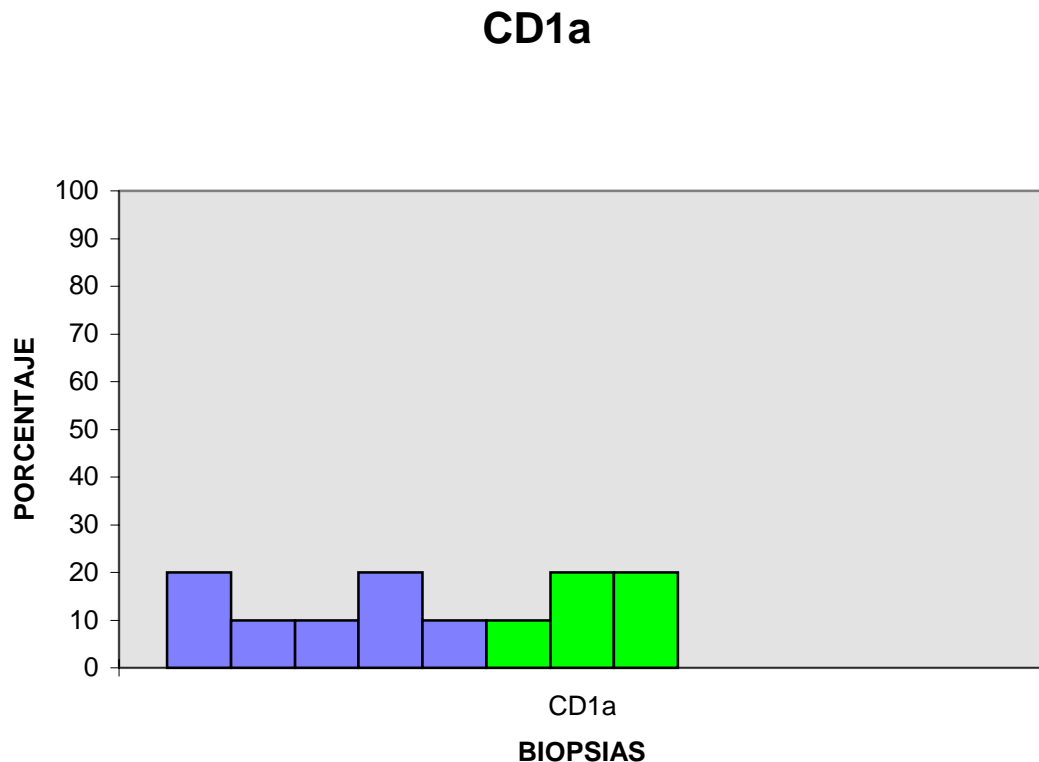
Únicamente se ha observado coexpresión en algún macrófago aislado en la dermis normal. En la DM y en el lupus eritematoso aproximadamente la mitad de los macrófagos CD68 positivos expresan el HECA (gráfica 6).



Gráfica 6. Porcentaje de macrófagos CD68 positivos que expresan el HECA en 5 biopsias de DM (lila), 3 de lupus eritematoso (verde) y 5 de piel sana (rojo). En la DM entre el 40 y 60% de los macrófagos CD68 positivos expresan el HECA y en el lupus eritematoso entre el 50 y el 60%. En la piel sana únicamente en 2 biopsias hay coexpresión del CD68 y el HECA en el 1% de las células CD68 positivas y en las otras 3 biopsias de piel sana no se observó coexpresión.

5.3.1.3 HECA y células de Langerhans CD1a positivas

No se observó coexpresión en piel sana mientras que en la DM (fig. 8) y en el lupus eritematoso entre el 10 y 20% de las células de Langerhans CD1a expresan el HECA (gráfica 7).

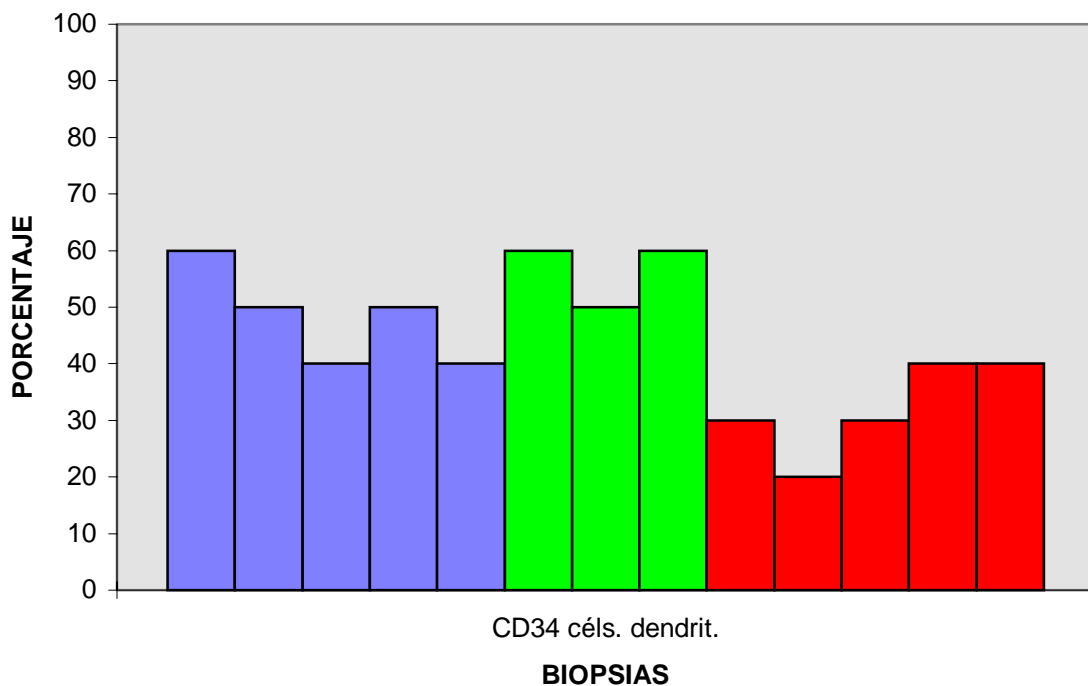


Gráfica 7. Porcentaje de células de Langerhans CD1a positivas que expresan el HECA en 5 biopsias de DM (lila), 3 de lupus eritematoso (verde) y 5 de piel sana (rojo). En las biopsias de DM y lupus eritematoso entre el 10 y 20% de las células de Langerhans CD1a positivas expresan el HECA. En piel sana las células de Langerhans CD1a positivas no coexpresan el HECA.

5.3.1.4 HECA y células dendríticas CD34 positivas

Entre el 20 y el 40% de las células dendríticas CD34 positivas expresan el HECA en piel sana. En la DM y en el lupus eritematoso aproximadamente la mitad de las células dendríticas CD34 positivas se tiñen conjuntamente con el HECA (gráfica 8).

CD34 CÉLULAS DENDRÍTICAS



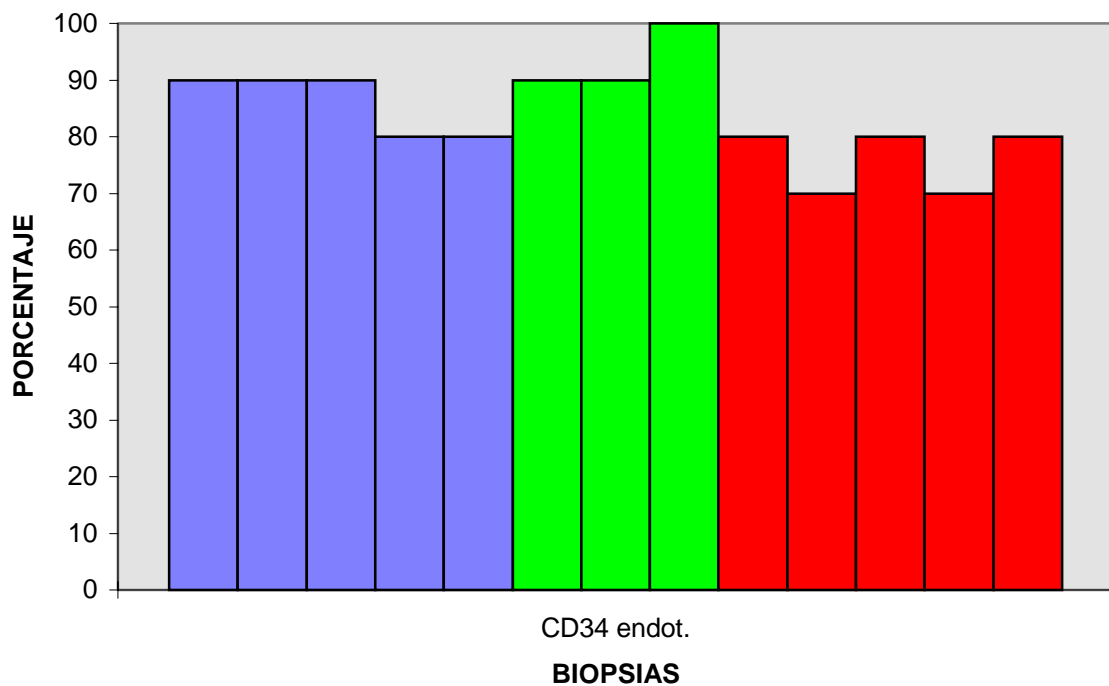
Gráfica 8. Porcentaje de células dendríticas CD34 positivas que expresan el HECA en 5 biopsias de DM (lila), 3 de lupus eritematoso (verde) y 5 de piel sana (rojo). En la DM entre el 40 y 60% de las células dendríticas CD34 positivas expresan el HECA, en el lupus eritematoso entre el 50 y el 60% y en la piel sana entre el 20 y el 30%.

5.3.1.5 HECA y endotelios vasculares CD34 positivos

El 70-80% de los endotelios expresan el HECA en piel sana.

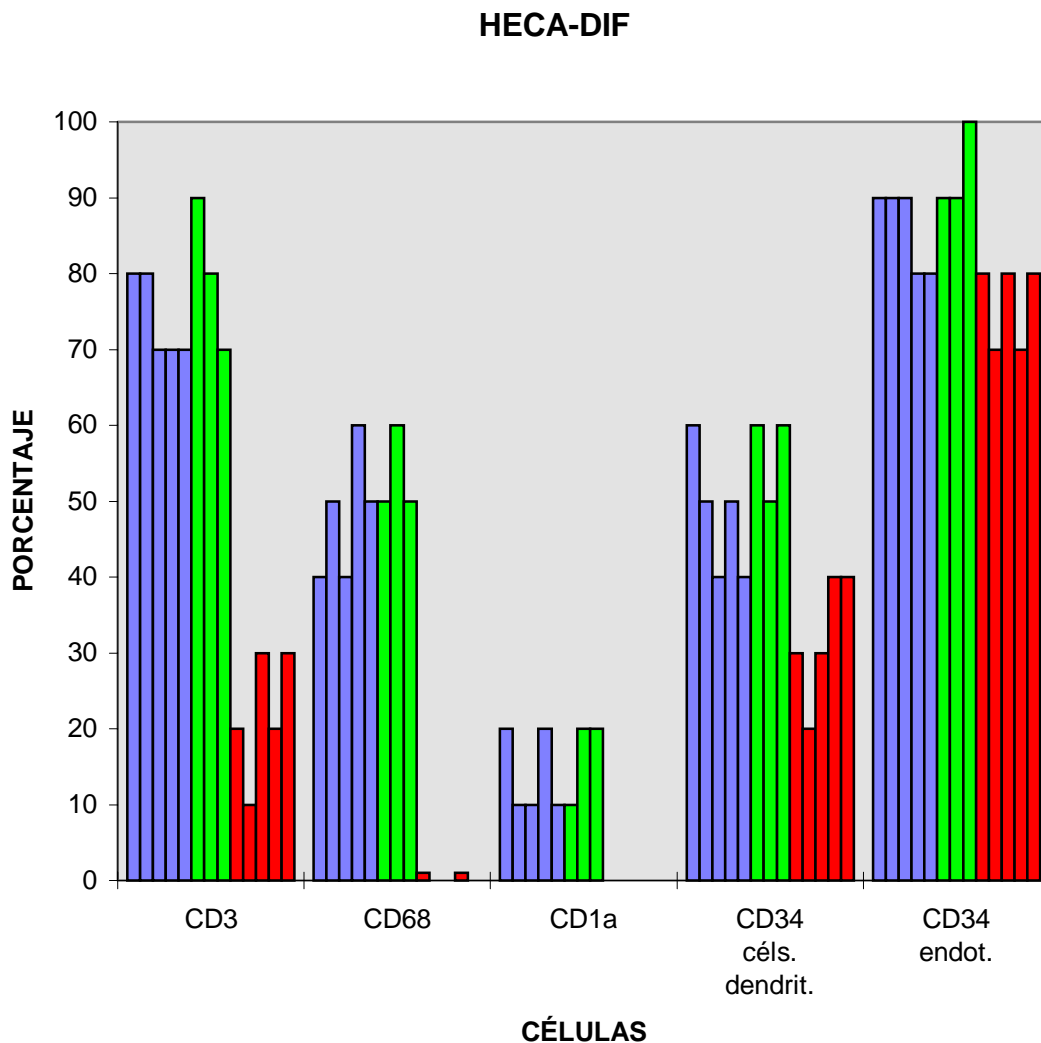
El 80-90% y el 90-100% de los endotelios captan a la vez el CD34 y el HECA en la DM (fig.9) y en el lupus eritematoso respectivamente (gráfica 9).

CD 34 ENDOTELIOS



Gráfica 9. Porcentaje de células endoteliales CD34 positivas que expresan el HECA en 5 biopsias de DM (lila), 3 de lupus eritematoso (verde) y 5 de piel sana (rojo). En la DM entre el 80 y 90% de las células dendríticas CD34 positivas expresan el HECA, en el lupus eritematoso entre el 90 y el 100% y en la piel sana entre el 70 y el 80%.

En resumen, la expresión de HECA está aumentada en todas las células inflamatorias en la DM y en el lupus eritematoso cuando se compara con piel sana, tal y como se demuestra gráficamente en la gráfica 10.



Gráfica 10. Comparación del porcentaje de células inflamatorias que expresan el HECA en 5 biopsias de DM (lila), 3 de lupus eritematoso (verde) y 5 de piel sana (rojo). La coexpresión de las células T CD3+, macrófagos CD68+, células de Langerhans CD1a+, células dendríticas CD34+ y las células endoteliales CD34+ con el HECA es mayor en la DM y en el lupus eritematoso comparado con piel sana en todos los casos.

5.3.2 VCAM (VASCULAR CELL ADHESION MOLECULE-1)

5.3.2.1 VCAM y linfocitos T CD3 positivos

No se ha observado expresión de VCAM en los linfocitos T en ninguna de las piezas estudiadas de piel sana, DM ni lupus eritematoso.

5.3.2.2 VCAM y macrófagos CD68 positivos

En piel sana los macrófagos no expresan el VCAM mientras que en la DM se ha observado expresión del VCAM en un 10% de los macrófagos y en el lupus eritematoso en el 5-10%.

5.3.2.3 VCAM y células de Langerhans CD1a positivas

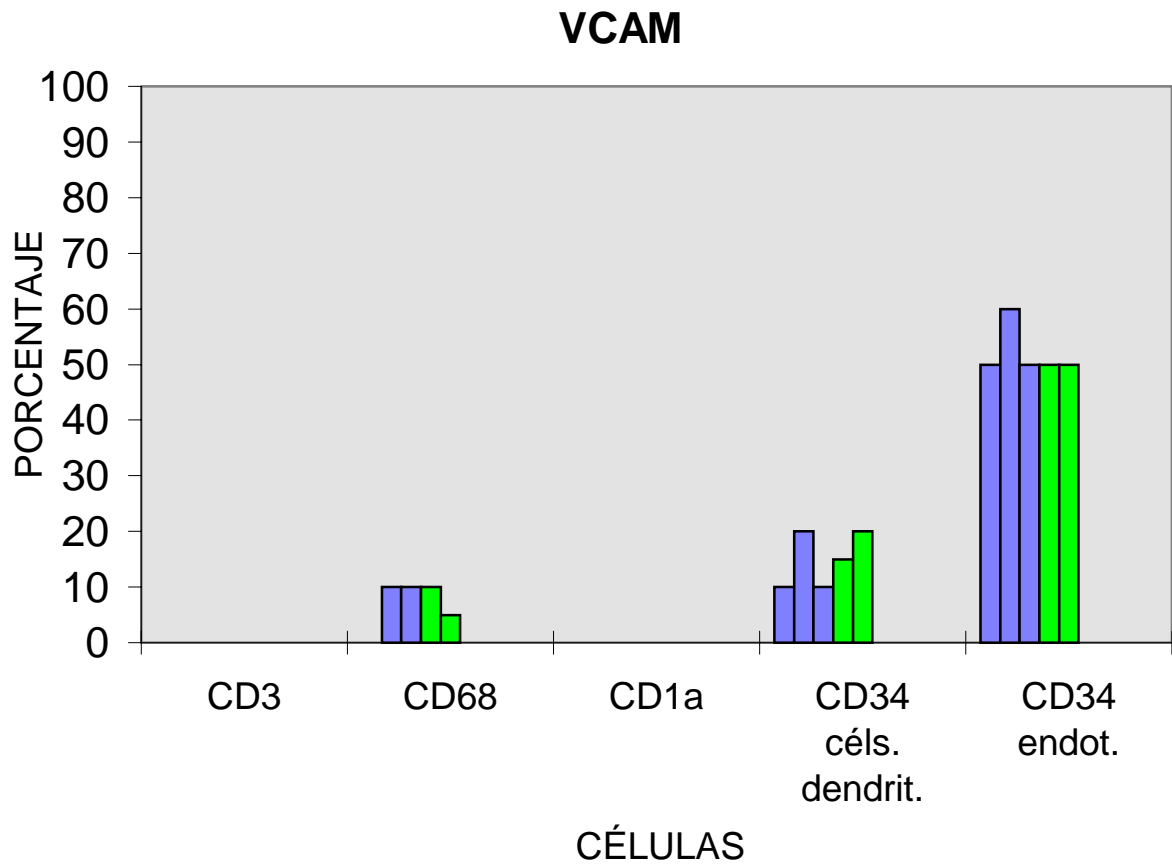
No hay coexpresión en ninguna de las piezas de piel sana, DM ni lupus eritematoso.

5.3.2.4 VCAM y células dendríticas CD34 positivas

En piel sana las células dendríticas CD34 positivas no expresan el VCAM mientras que en la DM se ha observado expresión del VCAM en un 10-20% de las células dendríticas CD34 positivo y en el lupus eritematoso en el 15-20%.

5.3.2.5 VCAM y endotelios CD34 positivos

No se observó coexpresión en piel sana mientras que en la DM entre el 50 y 60% y en el lupus eritematoso el 50% de las células endoteliales expresan el VCAM.



Gráfica 11. Comparación del porcentaje de células inflamatorias que expresan el VCAM en 3 biopsias de DM (lila), 2 de lupus eritematoso (verde) y 4 de piel sana (rojo). En resumen, no existe expresión de VCAM en ninguna de las células en piel sana. En la DM y en el LE los linfocitos T y las células de Langerhans tampoco expresan el VCAM. Sin embargo los macrófagos CD68 positivos, las células dendríticas CD34 positivas y las células endoteliales CD34 positivas sí expresan el VCAM en la DM y en el lupus eritematoso.

5.3.3 ICAM-1 (INTERCELLULAR CELL ADHESION MOLECULE-1)

5.3.3.1 ICAM-1 y linfocitos T CD3 positivos

En piel sana los linfocitos T no expresan el ICAM 1. En las biopsias de DM el 40-50% y en las de lupus eritematoso el 50-60% de los linfocitos T coexpresan el ICAM-1.

5.3.3.2 ICAM-1 y macrófagos CD68 positivos

En piel sana no hay coexpresión mientras que en la DM entre el 20 y 30% de los macrófagos CD68 expresan el ICAM-1. En el lupus eritematoso el 30% de los macrófagos CD68 expresan el ICAM-1.

5.3.3.3 ICAM-1 y células de Langerhans CD1a positivas

En piel sana no existen células de Langerhans que expresen el ICAM-1. En la DM y en el lupus eritematoso el 10 % de las células de Langerhans CD1a expresan el ICAM-1.

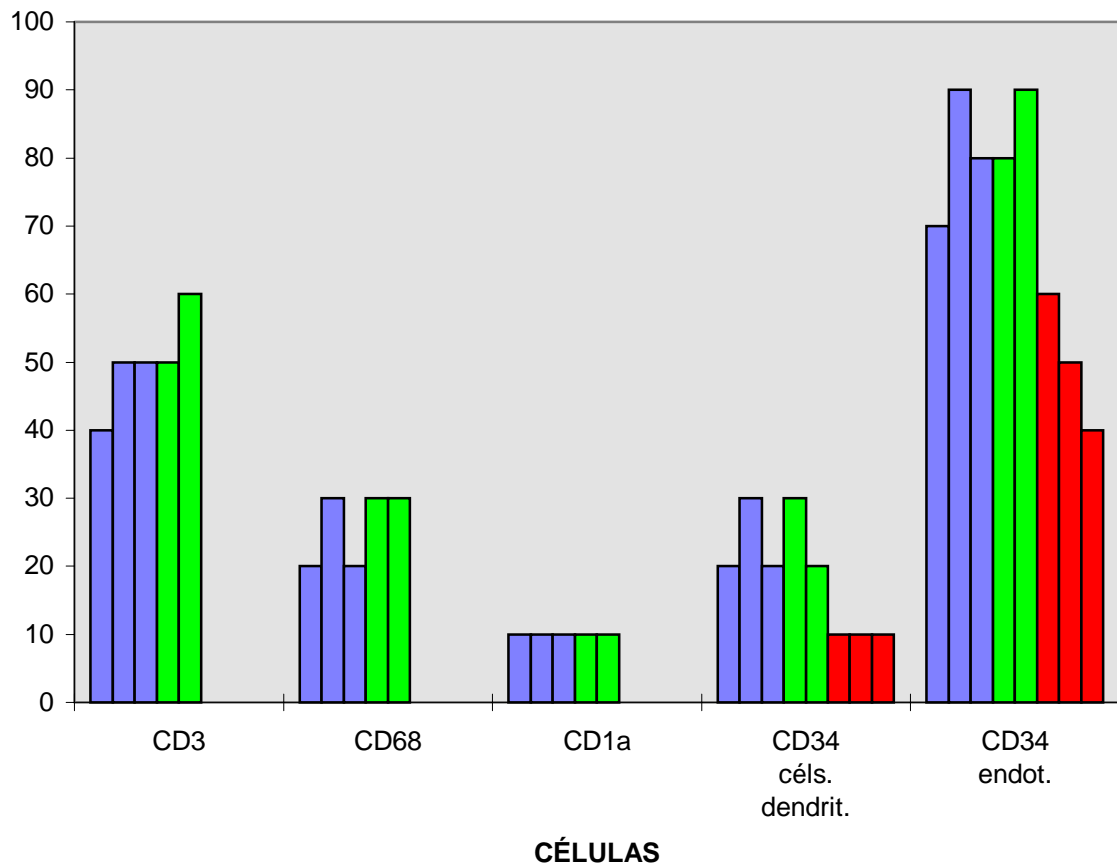
5.3.3.4 ICAM-1 y células dendríticas CD34 positivas

En piel sana el 10% de las células dendríticas expresan el ICAM-1. En la DM y en el lupus eritematoso entre el 20 y 30% de las células dendríticas CD34 positivas se tiñeron conjuntamente con el ICAM-1 (fig.10).

5.3.3.5 ICAM-1 y endotelios CD34 positivos

Entre el 40-60% de los endotelios de la piel sana muestran coexpresión. En la DM el 70-90% y en el lupus eritematoso entre el 80 y 90% de las células endoteliales captan a la vez el CD34 y el ICAM-1.

ICAM-1



Gráfica 12. Comparación del porcentaje de células inflamatorias que expresan el ICAM en 3 biopsias de DM (lila), 2 de lupus eritematoso (verde) y 3 de piel sana (rojo). No existe expresión de ICAM en ninguna de las células en piel sana excepto en las células dendríticas CD34 positivas y en los endotelios vasculares CD34 positivos, en los que hay coexpresión en un 10% y entre un 40 y 60% respectivamente. En la DM y en el lupus eritematoso, sin embargo, todas las células expresan el ICAM-1.

5.4 COMPLEJO DE ATAQUE DE MEMBRANA (MAC)

En la piel sana se observa en 2 de los 15 casos estudiados (13%) depósitos finos en la membrana basal, en las restantes biopsias (87%) no hay depósitos. En ningún caso se han observado depósitos gruesos. Tampoco se han encontrado depósitos en los vasos. Las fibras elásticas se tiñen con el MAC en 14 biopsias (93%). Los depósitos sobre las fibras elásticas son finos en 5 casos (33%), gruesos dispersos en 7 casos (47%) y gruesos generalizados en 1 caso (7%).

Se han encontrado depósitos de MAC en la unión dermo-epidérmica en 28 de 29 biopsias de DM estudiadas (97%). En 1 caso no se observó depósitos de MAC (3%). Los depósitos son gruesos y continuos en 24 biopsias (83%), gruesos e incontinuos en 3 biopsias (10%) y finos o focales en 1 caso (7%).

En todas las biopsias de DM (100%) se han encontrado depósitos de MAC en los vasos de la dermis papilar, media y reticular. En 9 biopsias (31%) se marcó entre el 20 y 30% de los vasos, en 7 (24%) entre el 10 y 20% de los vasos y en 13 casos (45%) menos del 10% de los vasos. Estos depósitos son focales, afectando sólo a un segmento (entre el 10 y 30%) del vaso (fig.11).

No se ha encontrado relación entre los depósitos de MAC y los infiltrados inflamatorios perivasculares. Es decir, los depósitos de MAC se encuentran tanto en los vasos próximos como en vasos distantes a los infiltrados inflamatorios.

El hallazgo de MAC en las células de los infiltrados inflamatorios se ha encontrado en 10 biopsias (34%). En estos casos se marcan menos del 10% de las células del infiltrado inflamatorio de forma poco intensa.

En 27 de las piezas (93%) se marca el tejido elástico. En 6 biopsias (21%) se encuentran depósitos finos, en 15 (52%) depósitos gruesos dispersos y en 6 (21%) depósitos gruesos generalizados.

No se encontraron depósitos de MAC en las 3 biopsias de piel no lesional de pacientes con DM activa.

De las 6 biopsias de lupus eritematoso se encontraron depósitos de MAC en la unión dermoepidérmica en 4 casos (depósitos gruesos e incontínos en 3 casos y finos en un caso) y en los vasos sólo en 2 casos (en ambos casos se encontraron depósitos focales en menos del 10% de los vasos) .

5.5 Caracterización fenotípica de las células de morfología dendrítica en músculo sano y músculo afecto de DM.

5.5.1 CELULAS FACTOR XIIIa

No se han observado células factor XIIIa positivas en músculo sano ni en músculo afecto de DM.

5.5.2 CELULAS DENDRITICAS CD34 POSITIVAS.

En músculo sano el anticuerpo CD34 tiñe los endotelios vasculares y escasas células de morfología dendrítica en los septos interfasciculares (fig.12).

En la DM, sin embargo existe un importante aumento de células dendríticas CD34 positivas en el tejido conectivo interseptal, en la zona adyacente a las fibras musculares atroficas periféricas típicas de la DM y también invadiendo estas fibras (fig.13). En el tejido conectivo de músculo afecto de DM existe una media de 54 células dendríticas CD34 positivas mientras que músculo sano existe una media de 11 células. Alrededor de los vasos también existen más células CD34 positivas en el músculo afecto de DM (20 células) que en el músculo normal (7 células). Las células CD34 positivas también pueden observarse rodeando los infiltrados inflamatorios focales. Únicamente se encuentra como media unas 10 células dendríticas CD34 positivas formando parte de los infiltrados inflamatorios y éstos sobre todo se encuentran en la periferia de dichos infiltrados inflamatorios (fig.14). Hemos objetivado células musculares fagocitadas tanto por las células dendríticas CD34 positivas como por macrófagos (macrofagia) (fig.15).

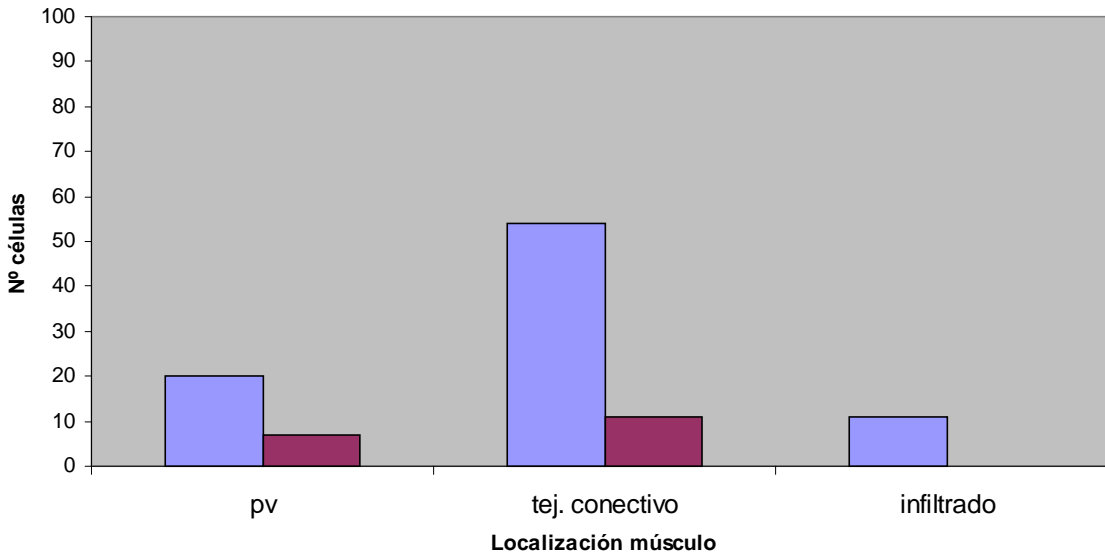
En la tabla V se refleja numéricamente el valor de la media y de la desviación estándar del número de células CD34 positivas en cada uno de los compartimentos del músculo.

Tabla V: Media y desviación estándar del número de células CD34 en los compartimentos musculares.

	CD34	
	Músculo sano (n=5)	Músculo DM (n=8)
Perivascular	6,8 ± 1,9	20 ± 6
Tejido conectivo	11 ± 8,6	54 ± 17
Infiltrado	0 ± 0	11 ± 6

En la gráfica 13 se observa la diferencia entre la media del número de células CD 34 positivas en la DM respecto a músculo sano en cada uno de los compartimentos del músculo.

CD 34 Media Músculo



Gráfica 13. Media del número de células CD34 positivas en músculo afecto de DM (en lila) respecto a músculo sano (en rojo).

Utilizando el modelo estadístico de regresión de Poisson todas las diferencias reflejadas en la gráfica 3 son estadísticamente significativas. Es decir, existen significativamente más células dendríticas CD34 positivas en el músculo afecto de DM que en el músculo sano en la zona perivascular, en el tejido conectivo y en el infiltrado inflamatorio (tabla VI).

En la tabla VI se resume la diferencia proporcional y la significación p para cada una de las localizaciones.

Tabla VI: diferencia proporcional y significación p.

Musculo	CD34	
	Diferencia proporcional (*IC95%)	
		p
Perivascular		
DM vs normal	196% (104% a 328%)	< 0,001
Tej. conectivo		
DM vs normal	385% (268% a 541%)	< 0,001

*IC:intervalo de confianza

5.5.3 MACROFAGOS

Los macrófagos CD68 y MAC 387 positivos se identifican formando un 40% de las células del tejido conectivo septal y formando el 15-30% de los infiltrados inflamatorios. Asimismo se identifican macrófagos llenos de miocitos en fase de necrosis (a este fenómeno se le denomina macrofagia). Por medio de la comparación de laminillas secuenciales y por su localización se ha objetivado que son una subpoblación de células diferentes a las células dendríticas CD34 positivas.

5.5.4 LINFOCITOS B

El CD20 marca los linfocitos B. Los linfocitos B se encuentran sobretodo en la zona perivascular pero tambien a nivel perimisial y menos en la zona endomisial. Forman entre el 30 y el 60% de los infiltrados inflamatorios. Se distinguen de las células dendríticas por su morfología redonda no dendrítica.

5.5.5 LINFOCITOS T

El CD3 se ha utilizado para marcar los linfocitos T. Los linfocitos T forman entre el 20 y el 75% de las células de los infiltrados inflamatorios. Se distinguen de las células dendríticas por su morfología redonda no dendrítica.

5.5.6 CELULAS DE LANGERHANS

Mediante tinciones con S100 y CD1a no se han identificado células de Langerhans ni en musculo sano ni en músculo de DM.

5.5.7 MARCADOR DE ACTIVACIÓN: HLA-DR

Muchas de las células del infiltrado inflamatorio así como el 75% de las células endoteliales son HLA-DR positivas. Mediante la comparación de laminillas secuenciales se ha objetivado que el 80% de las células mononucleadas, el 20% de los macrófagos y el 10% de las células dendríticas CD34 positivas expresan el HLA-DR.

5.6 RESULTADOS EXPLORACIÓN FOTOBIOLOGICA

La historia clínica que se realizó a los 10 pacientes que se sometieron a la exploración fotobiológica reveló los siguientes datos: De los 10 pacientes, 2 presentaban un brote de DM mientras que los 8 restantes estaban inactivos. En 7 de ellos (70%) la enfermedad se había iniciado en primavera o verano. Cuatro (40%) referían empeoramiento de las lesiones cutáneas preexistentes con exposición a la luz solar. Dos (20%) refirieron relación directa entre la aparición de las lesiones cutáneas nuevas y la exposición solar.

La exploración fotobiológica se realizó en 10 pacientes afectos de DM y se demostró una mínima dosis eritema patológica en 2 pacientes con lesiones activas y en un paciente en remisión; en las 2 pacientes con lesiones activas en el momento de realizar la exploración, se produjo eritema en el área de los 20 segundos (++) (fig.16) y en el otro caso sin lesiones activas se produjo en el de los 30 segundos (+). El eritema estuvo presente más de 48 horas en los 3 casos pero a la semana éste había desaparecido por completo. El eritema en ningún caso se extendió más allá del area irradiada. No aparecieron en ningún caso placas induradas ni ampollas ni otro tipo de lesiones a parte del eritema.

Se tomaron 3 biopsias cutáneas de las dos pacientes con lesiones activas y con alteración de las pruebas fotobiológicas. La tercera paciente con alteración de las pruebas fotobiológicas no dió su consentimiento para la realización de las biopsias. Se obtuvieron 2 biopsias de un paciente: a las 6 horas post irradiación del área anterior al eritema aparecido a los 20 segundos (es decir del área irradiado durante 10 segundos) y la segunda del mismo área a las 24 horas post irradiación. Del otro paciente sólo se obtuvo la biopsia de las 24 horas post irradiación.

El estudio inmunohistoquímico de las biopsias de piel clínicamente sana los 10 segundos anteriores al eritema revelaron escasas células dispersas en la dermis

compatibles con piel normal. En las mismas áreas, a las 6 y 24 horas después de la irradiación se podían observar queratinocitos necróticos basales aislados denominados "sunburn cells" y un discreto infiltrado inflamatorio perivascular.

El estudio inmunohistológico de estas biopsias indicó los siguientes datos:

Las células dendríticas factor XIIIa positivas se distribuyen en dermis papilar formando una banda subepidérmica (contándose entre 30 y 40 células por campo) y en dermis media tanto perivascular como intersticial (entre 8 y 15 células por campo).

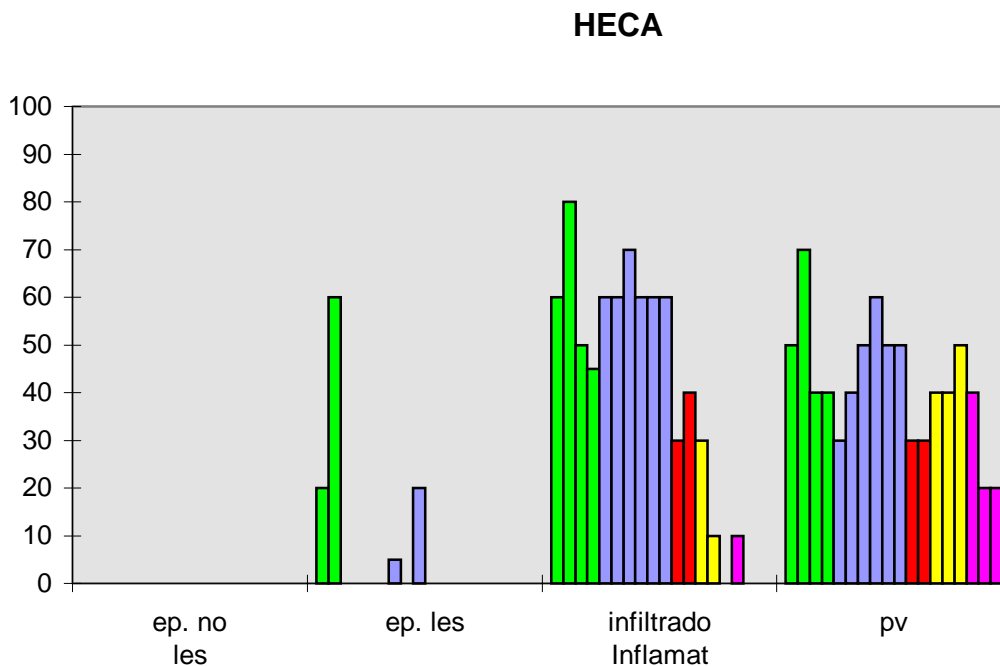
Las células dendríticas CD34 positivas se observaron distribuidas entre los haces de colágeno de la dermis media y reticular tanto perivascular como intersticial (contándose entre 30 y 55 células por campo).

El ICAM-1 marcó más del 90% de las células endoteliales y entre el 5 y 10% de los queratinocitos.

No se observó expresión de VCAM en las biopsias estudiadas.

El ELAM, al igual que en piel sana, marcó menos del 5% de las células endoteliales.

El HECA marcó el 10% de las células inflamatorias de la dermis en una de las muestras pero en las otras 2 biopsias no se observó marcaje. En la zona perivascular entre el 20 y 40% de las células fueron HECA positivas tal y como se refleja en la gráfica 14.



Gráfica 14. Comparación del porcentaje de células HECA positivas en el lupus eritematoso (verde), DM (lila), piel sana (rojo), piel sana de DM (amarillo) y la piel de DM 6 horas postirradiación (1ª barra fucsia) y 24 horas después de la irradiación (2ª y 3ª barra fucsia). En la epidermis no lesional (ep no les) no existen células HECA positivas en ningún caso; en la epidermis lesional (Ep les) en 2 biopsias de lupus eritematoso y 2 de DM hay linfocitos HECA positivos representando el 20 y el 60% de todas las células en el caso del lupus eritematoso y el 5 y 20% respectivamente en la DM. En los infiltrados inflamatorios en el lupus eritematoso hay entre el 40 y 80%, en la DM entre el 60 y 70%, en la piel sana entre el 30 y 40%, en la piel sana de DM entre el 0 y 30%, en la piel de DM 6 horas postirradiación no se detectan células HECA positivas mientras que a las 24 horas en un caso se marcan el 10% de las células y en el otro tampoco hay marcaje. En la zona perivascular en el lupus

eritematoso hay entre el 40 y 70%, en la DM entre el 40 y 60%, en la piel sana el 30%, en la piel sana de DM entre el 40 y 50%, en la piel de DM 6 horas postirradiación el 40% y a las 24 horas el 20% de células HECA positivas.

Así, podemos decir que el estudio inmunohistológico de las lesiones fotoinducidas no reveló cambios en cuanto a la distribución de las células dendríticas y moléculas de adhesión respecto a piel normal excepto en el caso del HECA cuya expresión en el infiltrado inflamatorio está disminuída respecto a piel normal. Sin embargo, a pesar de que encontramos una disminución del porcentaje de células HECA positivas, cuando contamos el número absoluto de células positivas no hubo diferencia respecto a piel sana. Consecuentemente, la disminución del porcentaje de células HECA positivas se debe a un aumento de células HECA negativas en el infiltrado inflamatorio y no a una disminución absoluta en el número de células HECA positivas.

En cuanto a los depósitos de MAC, tanto en las biopsias de pacientes afectos de DM tomadas a las 6 como a las 24 horas después de la irradiación para la determinación de la dosis eritema mínimo se observaron depósitos de MAC en la membrana basal y en los vasos. Existen depósitos gruesos y contínuos en la membrana basal en los 3 casos y depósitos focales de MAC en el 10 al 30% de los vasos. El patrón de distribución del MAC es igual al que se encuentra en las lesiones activas de DM y es fácilmente diferenciable de los hallazgos encontrados en piel sana donde no se observaron depósitos de MAC excepto en 2 casos en los que los depósitos fueron finos y discontinúos. No encontramos depósitos de MAC en ninguna de las 5 biopsias (piel sana y placa de psoriasis antes y 24 horas después del tratamiento con PUVA y piel de espalda del área anterior al eritema, 24 horas después de la irradiación) del paciente afecto de psoriasis.

Fig.1. Distribución de las células dendríticas factor XIIIa positivas en piel sana.

Fig.2. Disminución del número de células dendríticas factor XIIIa positivas en la DM.

Fig.3. Aumento del número de células dendríticas factor XIIIa positivas alrededor de algunos de los vasos de la dermis reticular en la DM.

Fig.4 (Izquierda). Distribución de las células dendríticas CD34 positivas en piel sana.

Fig.5 (Derecha). Aumento del número de células dendríticas CD34 positivas en dermis media en la DM.

Fig.6. Marcaje con HECA-452 en la DM. Entre un 60 y 70% de las células de los focos inflamatorios y entre un 30 y 60% en zona perivascular son positivas. En la epidermis lesional se detectan pequeños focos de células redondas que representan linfocitos T HECA positivos.

Fig.7. Arriba-izquierda se muestra la tinción del HECA con fluoresceína (verde). Arriba-derecha se muestra el marcaje de los linfocitos T CD3 positivos con rodamina (rojo). Abajo: doble inmunofluorescencia: en amarillo se observa que el 70-80% de los linfocitosT son HECA positivos.

Fig.8. Arriba-izquierda se muestra la tinción del HECA con fluoresceína (verde). Arriba-derecha se muestra el marcaje de una célula de Langerhans CD1a positiva con rodamina (rojo). Abajo: doble inmunofluorescencia: en amarillo se observa que la célula de Langerhans es HECA positiva.

Fig.9. Arriba-izquierda se muestra la tinción del HECA con fluoresceína (verde). Arriba-derecha se muestra el marcaje de las células endoteliales CD34 positivas con rodamina (rojo). Abajo: doble inmunofluorescencia: en amarillo se observa que el 80-90% de las células endoteliales son HECA positivas.

Fig.10. En rojo (rodamina) se observan las células dendríticas CD34 positivas. El ICAM-1 se visualiza en verde (fluoresceína). En amarillo se muestra que el 20-30% de las células dendríticas CD34 positivas son HECA positivas.

Fig.11. Depósitos del complejo de ataque de membrana (MAC) en la unión dermo-epidérmica y en los vasos de la DM.

Fig.12. Distribución de las células dendríticas CD34 positivas en músculo sano. Se marcan las células endoteliales y algunas células de morfología dendrítica en los septos interfasciculares.

Fig.13. Numerosas células dendríticas CD34 positivas en los septos interfasciculares adyacentes a las fibras musculares atroficas de la DM.

Fig.14 Células dendríticas CD34 positivas rodeando los infiltrados inflamatorios focales de músculo afecto de DM.

Fig.15. Fibras musculares necróticas en estadio de lesión subletal dentro de células dendríticas CD34 positivas.

Fig.16. Espalda de paciente afecta de DM activa 24 horas después de la realización de las pruebas de fotobiología. Esta paciente presenta una dosis eritema mínima (MED) a los 20 segundos.

6. DISCUSIÓN

La dermatomiositis (DM) es una enfermedad autoinmune sistémica, caracterizada por debilidad muscular proximal simétrica asociada a una erupción cutánea típica que resulta clave en su diagnóstico (Bohan y Peter, 1975; Dalakas, 1991). La introducción de fármacos inmunomoduladores ha mejorado notablemente el pronóstico de la DM. A pesar de esto, sigue habiendo pacientes refractarios en los que la enfermedad es causa de gran morbilidad e incluso de evolución fatal (Grau y cols., 1994). Por ello, son necesarios avances en la inmunopatogenia de la DM que posibiliten el desarrollo de nuevos tratamientos.

En los últimos años la investigación de la inmunopatogenia de la DM se ha centrado en el estudio de tres fenómenos observados en los dos órganos diana: piel y músculo.

1. La caracterización de los **infiltrados inflamatorios** presentes en las lesiones, tanto en piel (Hausmann y cols., 1991) como en músculo (Pedro-Botet y cols., 1988) de pacientes con DM.
2. El papel de las **células endoteliales** en la migración de las células inflamatorias, a través de la expresión de **moléculas de adhesión** (Sontheimer, 1989; Hausmann y cols., 1996).
3. El depósito de inmunoglobulinas y componentes del complemento, sobre todo el **complejo de ataque de membrana (MAC)** (Kissel y cols., 1986; Mascaró y cols., 1995), en las lesiones tisulares.

Adicionalmente a estos fenómenos estudiados se abre un interrogante sobre el efecto de la **radiación ultravioleta** en la etiopatogenia de la DM. A pesar de que es conocido su efecto inmunosupresor, tanto local sobre la piel como sistémico, (Ullrich, 1995; Norris y cols., 1991) y que en muchos casos parece que la exposición solar desencadena o empeora la enfermedad, queda por estudiar el efecto de la radiación ultravioleta sobre cada uno de estos tres fenómenos.

A continuación se comentarán las aportaciones del presente trabajo en cada uno de estos apartados.

6.1 INFILTRADOS INFLAMATORIOS.

CELULAS DENDRITICAS EN LESIONES CUTÁNEAS DE LA DM.

Los infiltrados inflamatorios focales en piel afecta de DM están compuestos fundamentalmente por linfocitos T helper, gran número de macrófagos y alguna célula de Langerhans (Hausmann y cols., 1991). Dados los avances en el campo de la inmunohistoquímica que demostraban la importancia de las células dendríticas en los procesos inmunológicos (Caux y cols.,1996) nos pareció interesante conocer si los recientemente descritas células dendríticas factor XIIIa positivas y las células dendríticas CD34 positivas forman también parte de los infiltrados inflamatorios de la DM.

CELULAS DENDRITICAS FACTOR XIIIa

Las células dendríticas factor XIIIa positivas se encuentran en la médula ósea, circulantes en sangre periférica, y en el tejido conectivo de diversos órganos incluida la piel, en donde reciben el nombre de dendrocitos dérmicos (Headington, 1986). En la piel se encuentran localizados a lo largo y ancho de la dermis siguiendo una distribución perivascular y perianexial. Se ha podido demostrar que actúan como células presentadoras de antígeno (Cerio y cols., 1989). De hecho, la mayoría son HLA-DR positivas y expresan diferentes moléculas de adhesión. Su origen, sin embargo, es desconocido (Gibran y cols., 1996; Schepers y Ackerman, 1997).

El presente estudio ha confirmado la distribución subepidérmica en banda y perivascular e intersticial en la dermis media de las **células dendríticas factor XIIIa** positivas en piel sana que ha sido hallada por otros autores (Cerio y cols. 1989; Mori y cols., 1994).

Pues bien, los infiltrados en las lesiones de DM carecen de éstas células y su número está muy reducido en dermis papilar y media ($P < 0,001$). Tan solo alrededor de algunos vasos de la dermis reticular existe un aumento focal de significado incierto.

Esta disminución de células dendríticas factor XIIIa positivas también se ha comprobado en las lesiones cutáneas del lupus eritematoso. En contraste, la piel no lesional de pacientes con DM no muestra esta disminución.

Estos resultados concuerdan con los hallados en otro estudio en el que se analizaron las células dendríticas en la esclerodermia y utilizaron como controles piel sana y piel afectada de DM y lupus eritematoso (Aiba y cols.,1994). El estudio encontró una reducción de las células dendríticas factor XIIIa positivas en las tres enfermedades pero esta disminución era más marcada en el caso de la DM y el lupus eritematoso. Casi simultáneamente se publicaron los resultados de otro estudio realizado en piel afectada de lupus eritematoso, donde se apreciaba un incremento del número de células dendríticas factor XIIIa positivas en la zona perivascular (Mori y cols.,1994). La aparente discrepancia de estos resultados contrapuestos puede deber su explicación al hecho de estudiar diferentes zonas en la dermis; así Mori y cols. habían centrado su estudio en el número total de células dendríticas factor XIIIa positivas en la piel mientras que Aiba y cols. se habían limitado a la dermis papilar. Con el objetivo de esclarecer estas diferencias, hemos realizado el estudio en cada compartimento dérmico por separado. Este proceder nos ha permitido encontrar que el número de células dendríticas factor XIIIa positivas varía según el compartimento dérmico estudiado: El número total de células dendríticas factor XIIIa positivas está muy disminuído en la dermis papilar y media tanto perivascular como intersticial. Sin embargo, en la dermis reticular están focalmente aumentados sobre todo alrededor de algunos vasos.

Se han estudiado las células dendríticas factor XIIIa positivas en otras patologías inflamatorias y autoinmunes de la piel. Su número está aumentado en la dermatitis atópica (Cerio y cols., 1989) y en la psoriasis (Cerio y cols., 1989; Nickoloff y Griffiths, 1990; Morganroth y cols., 1991; Van den Oord y De Wolf-Peeters, 1994), enfermedades de etiopatogenia diferente a las conectivopatías.

La razón por la cual existe un aumento o una disminución del número de células dendríticas factor XIIIa positivas en las diferentes enfermedades inflamatorias es desconocida.

Posiblemente, participen en reacciones inmunológicas diferentes según la enfermedad, el estadio o la actividad de la misma, el desencadenante o de otros factores desconocidos.

Estudios in vitro han demostrado que un mecanismo de acción del factor XIIIa podría ser la regulación de la biosíntesis del colágeno (Paye y cols.,1989). Así, posiblemente, el factor XIIIa de las células dendríticas factor XIIIa positivas actúe modulando las interacciones celulares y de la matriz intercelular y en las enfermedades autoinmunes su disminución resulte en una alteración de la matriz extracelular que a su vez intervendría en la patogénesis de estas enfermedades. Sin embargo, y dado que todavía no se conoce la función inmunológica de las células dendríticas factor XIIIa positivas es imposible dilucidar el significado del número disminuído de éstas células en la DM.

Parece ser, según algunos estudios que las células dendríticas factor XIIIa positivas son un subtipo de macrófagos o de células de Langerhans. Otros autores opinan que se trata de poblaciones celulares distintas (Cerio y cols., 1990; Adany,1988; Nemeth y Penneys, 1989, Cerio y Wilson-Jones, 1990; Nickoloff y Griffiths, 1990; Adany y Muzbek, 1987; Gray, 1987; Richters y cols., 1994; Lenz y cols., 1993; Duraiswamy y cols., 1994). Nuestro estudio apoya esta última hipótesis dado que, mediante los estudios inmunohistoquímicos realizados y la comparación de laminillas de cortes secuenciales de la misma biopsia, hemos encontrado que macrófagos, células de Langerhans y células dendríticas factor XIIIa positivas forman poblaciones celulares bien diferenciadas. Si se compara la distribución de las células dendríticas factor XIIIa positivas en la DM con la de las células de Langerhans epidérmicas puede advertirse un paralelismo interesante. Así, en la epidermis lesional de la DM existe una disminución del número y tamaño de las células de Langerhans y nosotros hemos encontrado que el número de células dendríticas factor XIIIa positivas

está disminuído en la dermis. Estímulos externos activan las células de Langerhans epidérmicas e inducen su migración a sangre periférica y a ganglios linfáticos. Aquí inducen la diferenciación de los linfocitos T vírgenes a linfocitos T memoria que a su vez migran a la piel para formar parte de los infiltrados inflamatorios. Es probable que las células dendríticas factor XIIIa positivas se comporten de la misma manera, lo que explicaría su disminución en la DM y patologías de etiopatogenia semejante. Sin embargo, son necesarios estudios funcionales y dinámicos para comprobar esta hipótesis.

Por otro lado, hemos encontrado que al igual que las células de Langerhans, el 90% de las células dendríticas factor XIIIa positivas expresan en su superficie el complejo mayor de histocompatibilidad, HLA-DR. Este hallazgo apoya el que las células dendríticas factor XIIIa positivas puedan actuar funcionalmente como células presentadoras de antígeno y probablemente intervengan en las reacciones inmunológicas cutáneas que ocurren en la DM.

CELULAS DENDRITICAS CD34 POSITIVAS

El CD34 es una glicoproteína transmembrana de 110 kilodaltones que se encuentra en las membranas celulares de las células progenitoras hematopoyéticas de la médula ósea. Recientemente se ha descrito su presencia en la dermis humana tanto en algunas células de morfología dendrítica como en las células endoteliales (Narvaez y cols.,1996). Las células dendríticas cutáneas que son positivas para el CD34 constituyen un subgrupo de células dendríticas localizadas en dermis media y reticular. Se encuentran a nivel perivascular, intersticial y alrededor de las glándulas ecrinas (Nickoloff, 1991). Las células endoteliales también son positivas con el anticuerpo monoclonal anti CD34.

En nuestro estudio hemos observado que en piel sana las células dendríticas CD34 positivas se encuentran efectivamente distribuídas entre los haces de colágeno de la dermis media y reticular tanto intersticial como perivascular tal como ha sido descrito (Narvaez y cols.,1996; Aiba y cols., 1994; Skobieranda y

cols.,1995). En contraste, en la dermis media intersticial de las lesiones cutáneas de la DM hemos encontrado un incremento de las células dendríticas CD34 positivas en relación con la piel sana ($p < 0,001$). Por el contrario, en la DM existe una depleción de dichas células en la zona perivascular de la dermis media y de la dermis reticular ($p < 0,001$).

Apenas hay estudios en la literatura sobre las células dendríticas CD34 positivas en procesos inflamatorios cutáneos que puedan arrojar luz sobre la interpretación de estos hallazgos. Se ha encontrado una práctica desaparición de las células CD34 positivas en las lesiones de esclerodermia y se ha sugerido que las células CD34 positivas pueden constituir las células diana contra las que se dirigirían los autoanticuerpos que intervienen en la reacción autoinmune en la esclerodermia (Aiba y cols.,1994). También en las lesiones de morfea están muy disminuídas en número respecto a piel sana y se ha sugerido que las células CD34 positivas funcionarían regulando la activación de los fibroblastos y/o la producción de colágeno (Skobieranda y Helm,1995).

Aiba y cols. utilizaron como controles, además de piel sana, biopsias procedentes de lesiones de lupus eritematoso y de DM. Tanto en el lupus eritematoso como en la DM encontraron un aumento de células CD34 positivas respecto a piel sana. Una vez más, la discrepancia con nuestro estudio se debe a los compartimentos estudiados: Incluyeron todas las células debajo de la dermis papilar sin diferenciar entre la zona perivascular e intersticial. En nuestro trabajo se ha estudiado cada compartimento cutáneo por separado y así se ha comprobado que el número de células dendríticas CD34 positivas está incrementado en la zona intersticial de la dermis media y disminuído en la zona perivascular si se compara con la piel sana.

La disminución de las células dendríticas CD34 positivas en la zona perivascular es muy interesante dado que las investigaciones actuales apuntan a que la lesión endotelial desempeña un papel crucial en la etiopatogenia de la DM. Por otra parte, se ha demostrado que mientras la expresión de CD34 in vitro disminuye,

de forma recíproca aumenta la de las moléculas de adhesión en las células endoteliales (Delia y cols.,1993). Se ha demostrado mediante estudios de biología molecular que el CD34 se expresa en el lado luminal de los vasos, sobre los procesos membranosos interdigitantes que unen células endoteliales adyacentes (Fina y cols.,1990). El estudio de Delia y cols., también ha confirmado que en condiciones en las que existe un aumento de la expresión de las moléculas de adhesión ICAM-1 y ELAM-1 existe recíprocamente una disminución del RNA mensajero que codifica el CD34. También en la enfermedad del injerto contra huésped con infiltrado inflamatorio existe un aumento importante de la expresión de la molécula de adhesión ELAM-1 junto con una disminución dramática del CD34.

Todos estos datos, junto con el hecho de que topográficamente el CD34 se encuentre en la zona de los procesos interdigitales del lado luminal de las células endoteliales donde ocurre la adhesión leucocitaria, sugieren que el CD34 es clave en la regulación de la adhesión celular (Van de Rijn y Rouse, 1994). Posiblemente el CD34 expresado sobre las células dendríticas de la zona perivascular intervenga también de forma recíproca en las señales de comunicación intercelular y en la migración celular transendotelial.

Al igual que las células dendríticas factor XIIIa positivas, las células dendríticas CD34 positivas tampoco forman parte significativa de los infiltrados inflamatorios. Aunque posiblemente estén relacionadas entre sí en su ontogenia y procedan de la misma estirpe celular, las células dendríticas factor XIIIa positivas, las células dendríticas CD34 positivas, los macrófagos y las células de Langerhans son poblaciones celulares bien diferenciadas (Foucar y Foucar,1993; O'Neill, 1994; Peters y cols.,1996). Además, estudios recientes indican asimismo que un tipo de célula dendrítica puede convertirse en otra en su proceso de maduración o según el microambiente en el que se encuentre (Strunk y cols., 1996; Caux y cols., 1996).

Se puede concluir, a la luz de lo explicado, que en la DM existen cambios en la distribución de las células dendríticas localizadas en la *unidad microvascular dérmica*, encrucijada entre la dermis y la circulación sistémica donde se cree que ocurren los cambios primarios de la DM. Posiblemente cambios antigénicos externos, cambios microambientales en las citocinas o la lesión microvascular primaria podrían resultar en un cambio en la distribución de las células dendríticas y éstas a su vez ser responsables de la respuesta inmune en la DM.

6.2 MOLECULAS DE ADHESION.

Las moléculas de adhesión juegan un papel importante en la regulación de los fenómenos inflamatorios porque permiten y controlan el acceso de las células inflamatorias, a través de los endotelios vasculares, hacia los focos inflamatorios (Cronstein y Weissmann, 1993).

Mediante el estudio de las moléculas de adhesión en la DM hemos observado que los linfocitos T, los macrófagos y las células endoteliales expresan las moléculas de adhesión ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule-1) y ELAM (endothelial cell adhesion molecule), corroborando los hallazgos encontrados anteriormente por el mismo grupo de investigación (Hausmann y cols., 1996). El estudio de doble inmunofluorescencia nos ha permitido concretar con mayor exactitud el porcentaje y el tipo de células inflamatorias que expresa cada molécula de adhesión.

En piel sana linfocitos T, macrófagos y células de Langerhans no expresan ni el ICAM-1 ni el VCAM. En la DM el ICAM-1 se expresa en entre el 40 y 50% de los linfocitos T, en entre el 20 y 30% de los macrófagos, y en el 10% de las células de Langerhans. El VCAM-1 sólo se expresa por parte del 10% de los macrófagos. Linfocitos T y células de Langerhans no expresan el VCAM-1.

El ICAM-1 se expresa sobre células endoteliales de piel normal y sobre queratinocitos, linfocitos y macrófagos de enfermedades inflamatorias (Swerlick y Lawley, 1993; Cronstein y Weissmann, 1993). En los vasos y células inflamatorias de la DM hemos encontrado mayor expresión de ICAM-1 que en piel normal. Esta expresión de ICAM-1 no es igual en las diferentes células inflamatorias y puede indicar la influencia de citoquinas pro-inflamatorias producidas en mayor medida en ciertos microambientes y no en otros. También hemos observado expresión de ICAM-1 por parte del 5-10% de los queratinocitos, predominantemente en la zona suprabasal suprayacente a los infiltrados inflamatorios focales. Se sabe que la expresión de ICAM-1 es inducida por un

lado por citoquinas como el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina-1 y por otra parte por la radiación ultravioleta (Norris,1993; Norris y cols.,1991). De forma análoga, en la DM la radiación ultravioleta, uno de los factores que parece desencadenar la enfermedad, o las citocinas liberadas por las células inflamatorias podría estimular la expresión de ICAM-1 en la epidermis.

La expresión de VCAM es considerada como uno de los factores más importantes en el proceso de migración transendotelial de las células inmunológicamente activas (Rice y cols.,1991). Nosotros hemos demostrado su expresión por una parte de las células inflamatorias y de los vasos cercanos a los focos inflamatorios. Su expresión es menos extensa sin embargo que la de ICAM-1. Posiblemente el ICAM-1 y el VCAM intervengan en diferentes fases del proceso de migración transendotelial.

En lo que respecta al ELAM, éste sólo es expresado por células endoteliales. En la piel sana su expresión se reduce a un número muy escaso de células endoteliales aisladas mientras que en la DM del 20 al 30% de los vasos son positivos. Nosotros hemos observado que esta positividad afecta a unos segmentos del vaso y no a toda la circunferencia de éste. La expresión segmentaria del ELAM está también descrita en otras enfermedades inflamatorias cutáneas tal y como se ha podido comprobar por estudios ultraestructurales realizados en la dermatitis atópica, el psoriasis y el líquen plano (Groves y cols.,1991; Rohde y cols.,1992). Experimentos in vivo han demostrado que primero ocurre la adhesión de neutrófilos mientras que la adhesión de linfocitos T ocurre más tarde cuando la expresión de ELAM es más sostenida (Munro y cols.,1991; Picker y cols.,1991). Hemos observado expresión de ELAM de forma esporádica en zonas sin infiltrado inflamatorio. Esto indica, posiblemente que la expresión de ELAM ocurra antes que las células inflamatorias salgan de los vasos. Dado que las células inflamatorias no expresan el ELAM no se realizó el estudio de doble inmunofluorescencia con esta molécula de adhesión.

Hasta el momento actual no existen estudios sobre la expresión de las moléculas de adhesión en las células dendríticas. En este estudio se demuestra que las células dendríticas CD34 positivas en piel sana no expresan el VCAM. Sin embargo en las lesiones de DM un 10-20% de las células dendríticas CD34 positivas expresan el VCAM. En el lupus eritematoso existe coexpresión en el 15-20%. Por otro lado, en piel sana el 10% de las células dendríticas CD34 positivas expresan el ICAM-1 mientras que en la DM y en el lupus eritematoso este porcentaje se ve incrementado al 20-30%.

Así hemos demostrado que al igual que los linfocitos T CD3 positivos, los macrófagos CD68 positivos y los endotelios vasculares, las células dendríticas CD34 positivas también coexpresan las moléculas de adhesión ICAM-1 y VCAM. A pesar de que las células dendríticas CD34 positivas que se encuentran en la DM están sólo discretamente aumentadas y no forman parte significativa del infiltrado inflamatorio, la demostración de que estas células expresan moléculas de adhesión tipo VCAM, marcador que no se detecta en piel sana, y un aumento en la expresión de ICAM-1 **apunta a que las células dendríticas CD34 positivas juegan un papel en el desarrollo de la reacción inmunológica en la DM.**

Se ha estudiado una nueva molécula de adhesión, el antígeno asociado al linfocito cutáneo (*cutaneous lymphocyte associated antigen* o CLA) que hasta la fecha no se ha investigado en la DM. El CLA es reconocido por el anticuerpo monoclonal IgM de rata HECA-452 (Duijvestijn y cols., 1988). El CLA es una glicoproteína de la superficie celular que se une específicamente a la E-Selectina (ELAM-1). Se ha propuesto que el CLA podría actuar como un receptor de reclutamiento cutáneo (*skin homing receptor*) para la migración selectiva de los linfocitos T hacia la piel. Asimismo se sabe que en la piel normal otras células como los macrófagos y las células de Langerhans pueden también expresar el HECA.

En este trabajo hemos investigado la expresión de HECA-452 en piel y músculo de individuos afectados de DM y la hemos comparado con piel y músculo normal.

En piel sana hemos encontrado que entre un 30 y 40% de las escasas células mononucleares que se encuentran normalmente en el intersticio son HECA positivas. Con la doble inmunofluorescencia hemos demostrado que el HECA se expresa en un 10-30% de los linfocitos CD3 positivos, en menos del 1% de los macrófagos, en un 20-40% de las células dendríticas CD34 positivas y en un elevado porcentaje (70-80%) de células endoteliales. Las células de Langerhans no expresan el HECA.

En la DM el HECA marca entre el 60 y 70% de las células de los focos inflamatorios dérmicos y entre el 40 y 60% de las de la zona perivascular. En la epidermis de 2 biopsias de lesiones de DM hemos observado que entre un 5 y 20% de las células son linfocitos T CD3 positivos que expresan el HECA-452. Estas células se agrupan formando pequeños focos intraepidérmicos por encima de las zonas inflamatorias. La expresión de HECA se ve incrementada en todas las células: Los linfocitos CD3 positivos expresan el HECA en un 70-80%, los macrófagos en un 40-60%, las células de Langerhans en un 10-20%, las células dendríticas CD34 positivas en un 40-60% y las células endoteliales en un 80-90%.

No existe expresión de HECA por parte de las células inflamatorias de músculo de DM ni de músculo sano. Es de destacar, que, como ya hemos dicho, en piel más del 50% de las células inflamatorias CD3 positivos y CD68 positivos expresan este marcador, mientras que en músculo, el HECA no se expresa en las células de las mismas características. Esto **permite confirmar el papel de estos receptores en el reclutamiento de las células inflamatorias hacia la piel.** Estos datos son acordes con el concepto de que el HECA es un marcador de células que migran a la dermis específicamente y no hacia otros órganos. Este aumento de la coexpresión en las células inflamatorias de la DM hace pensar que el HECA interviene en algún paso de la migración de éstas

células hacia la piel y posiblemente también en su activación cuando se desarrolla un proceso inflamatorio.

La DM constituye un buen modelo para el estudio de los mecanismos específicos de reclutamiento que ocurren en los procesos inflamatorios dado que se pueden investigar paralelamente los dos órganos afectados por esta enfermedad: la piel y el músculo. Así el haber encontrado que la población de células HECA positivas, células portadoras del CLA, sólo se encuentra en los infiltrados inflamatorios cutáneos estando ausentes del músculo sugiere que intervienen otros mecanismos independientes de las interacciones entre los linfocitos T y el CLA con la E-selectina en la aparición de los fenómenos inflamatorios cutáneos y la miositis en la DM. En un estudio reciente con biopsias de placas de psoriasis y de membrana sinovial de pacientes afectados de artritis psoriásica se han encontrados resultados acordes con nuestro trabajo (Jones y cols.,1997). Encontraron un porcentaje de linfocitos HECA positivos mucho mayor en las placas cutáneas de psoriasis que en las membranas sinoviales.

Nosotros hemos encontrado células endoteliales HECA-452 positivos, siendo mayor ésta expresión en la DM que en la piel sana. Jones y cols. también encontraron endotelios HECA positivos en las placas de psoriasis aunque no cuantificaron el porcentaje de positividad ni lo compararon con piel sana (Jones y cols.,1997). En otro estudio, contrariamente, no encontraron positividad de las células endoteliales en piel sana (Bos y cols.,1993). Esta discrepancia puede deberse a que en este último estudio no utilizaron un marcador de células endoteliales como el CD34 y utilizaron una técnica de doble tinción que es menos sensible que la doble inmunofluorescencia. Se sabe que las vénulas endoteliales altas de los ganglios linfáticos expresan el CLA (Duijvestijn y cols.,1988) pero el significado de su expresión sobre las células endoteliales no es conocido. Posiblemente también las células endoteliales del ganglio pueden intervenir en los fenómenos de reclutamiento de las células inflamatorias hacia la piel.

Dado que en la DM la enfermedad cutánea precede a la miositis en muchos casos, la profundización en el conocimiento sobre los mecanismos que

intervienen en los procesos inflamatorios en órganos diferentes y su posible interrelación podría en el futuro ayudar a predecir y prevenir la aparición de la miopatía en la DM.

Lamentablemente no se puede realizar doble inmunofluorescencia de las células factor XIIIa positivas porque éste anticuerpo funciona bien en tejido fijado en formol y parafina pero no en tejido congelado.

6.3 COMPLEJO DE ATAQUE DE MEMBRANA (MAC) EN LA DM.

Se ha comprobado en estudios recientes que en la DM se forman depósitos de MAC o del complejo lítico de la cascada del complemento (C5b-9) tanto a nivel muscular (Casademont y cols.,1990; Estruch y cols., 1992; Casademont y cols.,1993; Mendell y cols.,1996) como cutáneo (Mascaró y cols.,1995; Crowson y Magro 1996). Estos hallazgos han conducido a suponer que la DM se inicia como resultado de un daño de la microvasculatura mediado por el sistema del complemento. El depósito intravascular de complejos inmunes activaría la cascada del complemento resultando en el depósito del MAC y la perforación de la membrana endotelial, lesionándola. La isquemia resultante daría lugar a microinfartos y la sucesión final de los fenómenos inflamatorios ya conocidos (Kissel y cols., 1986; Mendell y cols.,1996).

Los depósitos de MAC no son exclusivos de la DM y así se han encontrado en diversas enfermedades cutáneas. Se han documentado depósitos de MAC a nivel de la unión dermo-epidérmica en el lupus eritematoso (Biesecker y cols., 1982; Helm y cols.,1993), la epidermolisis ampollosa adquirida y el pénfigoide (Mooney y cols., 1992; Dahl y cols.,1984). También se ha encontrado MAC en las papilas dérmicas en la dermatitis herpetiforme (Dahl y cols.,1985), a nivel de los espacios intercelulares de la epidermis en el pénfigo vulgar y en el pénfigo foliáceo (Kawana y cols.,1989; Kawana y cols.,1990) y en los vasos dérmicos en la vasculitis leucocitoclásica, en la púrpura de Schonlein Henoch y en el lupus eritematoso (Kawana y cols., 1990; Boom y cols.,1987; Boom y cols.,1989; Crowson y cols.,1994).

En nuestro estudio hemos querido conocer la localización exacta y el patrón de distribución de los depósitos de MAC en las lesiones cutáneas de pacientes afectos de DM. En lo que respecta a la unión dermo-epidérmica hemos encontrado que prácticamente todas las biopsias de DM (97%) presentan depósitos de MAC, ratificando los resultados publicados anteriormente (Mascaró y cols., 1995). Además, los depósitos de MAC son predominantemente

gruesos y continuos. En la misma unión dermo-epidérmica los depósitos de inmunoglobulinas y de complemento C3 se encuentran, por el contrario, de forma inconstante en las biopsias de DM (Whitacker y Engel, 1972). De estos hallazgos se desprende que el estudio de los depósitos de MAC de forma rutinaria sería más útil para el diagnóstico de la DM que el estudio que se realiza actualmente de inmunoglobulinas y la fracción C3 del complemento.

Cuando posteriormente hemos estudiado los depósitos de MAC en los vasos de la piel de DM, hemos comprobado que son mas bien escasos. Basta comprobar que en casi la mitad de las biopsias estudiadas se encontró MAC en menos del 10% de los vasos. Además, los depósitos de MAC son focales, hallándose en segmentos de los vasos que en total no superan el 30% de su perímetro. Esta distribución segmentaria también se ha hallado en las biopsias musculares de DM (Emslie-Smith y Engel, 1990).

Dado el papel que se atribuye al MAC en inducir fenómenos inflamatorios nosotros profundizamos este aspecto del estudio y analizamos la relación entre los depósitos de MAC y los infiltrados inflamatorios dérmicos. Hemos encontrado que los vasos marcados con el MAC, además de ser escasos no coinciden necesariamente con los focos inflamatorios. Esto sugiere que los depósitos de MAC no son responsables directos de la migración de las células inflamatorias.

El papel patogénico de los depósitos de MAC en la unión dermoepidérmica, en los vasos y en algunas células de los infiltrados inflamatorios todavía no es conocida. Se ha sugerido que su hallazgo podría deberse a un artefacto como por ejemplo por la exposición solar (Kawana y cols., 1990; Cheong y col., 1994), pero esto no explicaría que los depósitos de MAC se encuentren sólo en piel afectada de DM y no en piel sana. También se ha sugerido que se debería a un epifenómeno secundario a la reacción inflamatoria local o sistémica. Esto último parece poco probable dado que existen casos de DM con muchos depósitos de MAC en piel y escasos depósitos en el músculo. Además en la actualidad no se puede saber si los depósitos de MAC indican presencia de complejos C5b-9

citolíticos o por lo contrario se trata de complejos S-C5b-9 no líticos. Si la necrosis endotelial no es un hecho primario en la DM los depósitos de MAC en los vasos podrían interpretarse como un fenómeno inflamatorio desprovisto de significado patogénico. El hecho de no encontrar correlación entre los focos inflamatorios y los vasos con depósitos de MAC parece indicar que se trata de dos mecanismos diferentes independientes pero no permite dilucidar qué papel juegan en la etiopatogenia de la enfermedad o si primero actúa el MAC a nivel de unos vasos y luego se forman los infiltrados inflamatorios alrededor de otros vasos. Posiblemente las condiciones microambientales locales y la expresión diferencial de diferentes moléculas de adhesión en diferentes vasos sea responsable de la diferente ubicación de los depósitos de MAC y de los focos inflamatorios.

Aunque no podemos saber qué papel etiopatogénico conceder al MAC en la DM, sí parece tener utilidad con fines diagnósticos como hemos comentado anteriormente dada su casi constante presencia en la unión dermo-epidérmica. En este sentido, el MAC también permitiría distinguir biopsias cutáneas de DM y de lupus eritematoso dada la presencia de depósitos más gruesos y más continuos en la DM.

Los datos que se presentan en este trabajo indican que se encuentran depósitos de MAC de forma sistemática en las lesiones cutáneas de DM y que no existe relación entre los focos inflamatorios y los vasos que presentan depósitos de MAC. Este estudio es descriptivo y requiere más datos experimentales para poder dilucidar el papel del MAC en la etiopatogenia de las lesiones cutáneas de la DM.

6.4 CELULAS DENDRITICAS EN MÚSCULO AFECTO DE DM.

La caracterización de las células inflamatorias en músculo afecto de DM es útil en el diagnóstico y en su diferenciación de las otras dos miopatías inflamatorias idiopáticas: la polimiositis y la miopatía por cuerpos de inclusión. Por otro lado,

dado que el proceso patológico se manifiesta como un infiltrado inflamatorio en los músculos afectados, su estudio inmunohistoquímico puede ser de ayuda en el esclarecimiento etiopatogénico de esta enfermedad.

Estudios previos han demostrado que en la DM existe un predominio de linfocitos B frente a una menor proporción de linfocitos T y macrófagos, tanto infiltrando las fibras musculares como en la zona perivascular y perimisial (Arahata y Engel, 1986; Pedro-Botet y cols., 1988). El predominio de células B en los infiltrados musculares se ha interpretado como evidencia de existencia de un proceso humoral en la etiopatogenia de la DM (Mantegazza y cols.,1997). Las células inflamatorias expresan marcadores de activación pero sólo se ha demostrado expresión de los antígenos de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad en áreas perifasciculares representando probablemente el fenómeno de estrés celular (Giorno y Ringel, 1986; Karpati y cols.,1988; Pedrol y cols, 1995). También se sabe que existe una microangiopatía por inmunoglobulinas y fracciones del complemento que ocasiona la oclusión de las arteriolas y capilares intramusculares (Emslie-Smith y Engel, 1990). Estudios de microscopía electrónica demuestran que existe daño endotelial y una disminución en el número de capilares que presentan estructuras tubuloreticulares, pérdida de la membrana plasmática endotelial y existencia de organelas citoplasmáticas anormales (Casademont y cols.,1990; Estruch y cols.,1992). La microangiopatía aparece de forma precoz, antes de la aparición del infiltrado inflamatorio y del daño muscular (Emslie-Smith y Engel, 1990). Actualmente se cree que la célula endotelial es la diana de la respuesta autoinmune, es decir que en la DM existen anticuerpos dirigidos contra antígenos endoteliales cuya identidad aún es desconocida (Whitaker y Engel,1972; Kissel y cols, 1986). La obstrucción de las arteriolas intramusculares produce isquemia que podría ser la causa de la atrofia perifascicular característica de la DM (Dalakas y Sivakumar,1996). El daño capilar también puede ser un indicador pronóstico de la enfermedad. Así, parece ser que los pacientes sin daño capilar evidente presentan un curso más leve, con una respuesta al tratamiento lenta, mientras que la presencia de daño capilar indica un curso más agudo con mayor morbilidad y mortalidad pero con mayor

respuesta al tratamiento precoz con inmunosupresores (Casademont y cols.,1993). Resumiendo, en la DM existe una microangiopatía, infiltrados inflamatorios y atrofia perifascicular distal característica.

El objetivo de nuestro trabajo en músculo de DM fue profundizar en el estudio del inmunofenotipo de los infiltrados inflamatorios analizando las células dendríticas en el músculo y su relación con los endotelios vasculares y con las zonas de atrofia perifascicular.

De acuerdo con estudios anteriores (Arahata y Engel, 1986; Pedro-Botet y cols., 1988) en músculo de DM hemos encontrado infiltrados inflamatorios focales compuestos por linfocitos B predominantemente y un menor número de linfocitos T y macrófagos.

En el músculo tanto sano como de DM, no hemos encontrado presencia de células dendríticas factor XIIIa positivas. Tampoco existen células de Langerhans, las células presentadoras de antígenos clásicas de la piel. Así, podemos concluir que en el proceso inmunológico de presentación de antígenos en músculo no intervienen las células dendríticas factor XIIIa positivas ni las células de Langerhans, a diferencia de lo que ocurre en la piel.

Este también es el primer estudio de células dendríticas CD34 positivas en la miopatía de la DM. Hemos encontrado un aumento de estas células en tejido conectivo de los septos interfasciculares y en la zona perivascular ($p < 0,001$). El hallazgo de un aumento de las células dendríticas CD34 positivas en los septos perifasciculares en la proximidad de las zonas de atrofia fascicular, la presencia de estas células invadiendo desde los septos las fibras musculares periféricas y encontrarlas fagocitando las células musculares necróticas indica que podrían intervenir en los fenómenos inflamatorios de la DM. Sólo existían escasas células CD34 positivas (una media de 11 células) formando parte de los infiltrados inflamatorios. Sin embargo sí se han observado rodeando los infiltrados inflamatorios focales característicos de la DM en el músculo. Aún queda por

definir si las células dendríticas CD34 positivas tienen capacidad de presentación de antígenos y su papel en la etiopatogenia de las lesiones musculares de la DM.

6.5 EFECTO DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN LA DM.

La fotosensibilidad puede definirse como una respuesta anormal a la radiación ultravioleta. Entre las enfermedades autoinmunes que se caracterizan por fotosensibilidad se encuentran el lupus eritematoso y la DM. En el lupus eritematoso, la fotosensibilidad constituye uno de los 11 criterios de diagnóstico de la asociación americana de reumatología. Aunque no es muy evidente que la radiación ultravioleta constituya un factor desencadenante de la DM, es conocido que al menos en un subgrupo de pacientes la exposición a la luz solar puede provocar o empeorar esta enfermedad y que los brotes suelen aparecer en primavera (Cheong y cols., 1994, Sontheimer, 1996). También se sabe que la radiación ultravioleta altera las propiedades morfológicas y funcionales de las células inmunológicamente activas de la piel y modula la expresión de moléculas de adhesión (Ullrich, 1995; Norris y cols., 1991) pero aún no se ha estudiado su efecto sobre las lesiones inflamatorias de la DM.

Durante la última década, se han publicado diversas investigaciones sobre lesiones cutáneas fotoinducidas en pacientes con lupus eritematoso. Mediante la aplicación de radiación ultravioleta en un pequeño fragmento de piel se han podido provocar lesiones localizadas con características clínicas e histológicas específicas de lupus eritematoso (Velthuis y cols., 1990; Lehmann y cols., 1990; Kind y cols., 1993). Tanto la radiación ultravioleta A como la B pueden provocar estas lesiones. En las lesiones inducidas por la radiación ultravioleta B, las alteraciones epidérmicas son las más acusadas observándose vacuolización de los queratinocitos basales y suprabasales y borramiento de la unión dermoepidérmica mientras que el infiltrado inflamatorio se limita a la dermis papilar y media. Contrariamente, las lesiones inducidas por la radiación ultravioleta A exhiben una leve afectación epidérmica y un infiltrado linfocitario que llega a la dermis reticular. Posiblemente la radiación ultravioleta B tenga más efectos a nivel de la epidermis porque absorbe el 95% de dicha radiación, mientras que la radiación ultravioleta A daña en menor medida a la epidermis porque penetra más profundamente en la dermis. Se han inducido lesiones

clínica e histológicamente compatibles con lupus eritematoso en 64% de pacientes con lupus eritematoso subagudo, 42% con lupus eritematoso discoide y 25% con lupus eritematoso sistémico (Lehmann y cols., 1990).

De los 10 pacientes afectos de DM en los que realizamos la exploración fotobiológica, en 7 de ellos la enfermedad se había iniciado en primavera o verano, 4 referían empeoramiento de lesiones cutáneas preexistentes con exposición a la luz solar y 2 refirieron relación directa entre la aparición de lesiones cutáneas nuevas y la exposición solar. Así de los 10 pacientes estudiados, 6 parecen presentar fotosensibilidad.

La exploración fotobiológica demostró una dosis eritema mínima (MED) patológica en 3 de los pacientes. El eritema persistió más de 48 horas pero a la semana había desaparecido completamente. En ningún caso se extendió el eritema más allá del área irradiada. No aparecieron en ningún caso placas induradas ni ampollas ni otro tipo de lesiones. En un estudio reciente de exploración fotobiológica en pacientes con DM se encontró fotosensibilidad en 5 de 10 pacientes y una dosis eritema mínima reducida en sólo 2 de los 10 pacientes. Sólo en 1 paciente pudieron inducir lesiones clínicamente compatibles con DM pero que histológicamente fueron inespecíficas aunque los resultados del estudio de inmunofluorescencia demostraron depósitos lineales de C3 en la membrana basal compatibles con DM (Cheong y cols., 1994). Al igual que en nuestro estudio posiblemente sean necesarias exposiciones repetidas y de mayor intensidad para inducir lesiones de DM tal y como sucede en el LE.

En las biopsias cutáneas de piel clínicamente sana irradiada, en el área de los 10 segundos anteriores al eritema inducido, se encontraron pocas células dispersas en la dermis, imagen compatible con la de piel normal. En biopsias del mismo área realizadas 24 horas después de la irradiación se podían observar algunas "sunburn cells" y un discreto infiltrado inflamatorio perivascular compatible con el que se observa en la piel fotoexpuesta.

No se objetivaron cambios en cuanto a la distribución de las células dendríticas respecto a la piel normal. A diferencia de lo que ocurre con las células de Langerhans que se encuentran disminuídas en zonas fotoexpuestas (Ullrich,1995) nosotros no hemos encontrado diferencia en el número de células dendríticas factor XIIIa positivas ni de células dendríticas CD34 positivas en piel fotoexpuesta comparado con piel no fotoexpuesta.

En condiciones normales la radiación ultravioleta posee diferentes efectos sobre las células presentadoras de antígenos clásicas de la piel: las células de Langerhans. La radiación ultravioleta altera sus propiedades morfológicas y funcionales y provoca una disminución en su número en la epidermis, induce la secreción de citocinas y modula la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1, B7) (Norris y cols.,1997). Posiblemente, los dendrocitos dérmicos y las células dendríticas CD34 positivas intervengan en procesos inmunológicos diferentes a la inmunosupresión provocada por la radiación ultravioleta.

Tampoco se objetivaron cambios en cuanto a la distribución de las moléculas de adhesión respecto a la piel normal. Un estudio previo en placas de psoriasis sí evidencia cambios en la expresión de moléculas de adhesión después de la irradiación con ultravioleta B (Cai y cols., 1996). Encuentran una disminución significativa de la expresión de ICAM-1 y de ELAM y una inducción de la expresión de VCAM-1 después de irradiación de las placas con 6-14 dosis eritema mínimo. Sin embargo, estos cambios no se producían con dosis de radiación ultravioleta B menores. En nuestro trabajo hemos estudiado biopsias de piel irradiada con menos de una dosis eritema mínimo (1MED) dado que nuestro objetivo fue estudiar los cambios iniciales antes de producirse las lesiones clínicas. No obstante sería interesante efectuar el estudio con dosis mayores. La expresión diferencial de moléculas de adhesión tras la exposición a la radiación ultravioleta B puede ser el resultado de la secreción de citocinas inducidas por la radiación ultravioleta B. Estudios previos en piel sana expuesta a la radiación ultravioleta B demuestran un aumento en la expresión de ELAM en células endoteliales (Norris y cols.,1991), a diferencia de lo que se ha encontrado en la

psoriasis (Cai y cols.,1996). Dado que clínicamente el comportamiento de la psoriasis frente a la exposición solar es opuesto al de la DM (la psoriasis mejora mientras que la DM parece empeorar con la radiación solar) probablemente la expresión de moléculas de adhesión tras la irradiación sea diferente en los dos casos. Posiblemente las citoquinas secretadas y el patrón de expresión de moléculas de adhesión después de la irradiación con ultravioleta B sea distinta en las diferentes enfermedades.

Se sabe que en la migración intervienen tres pasos diferentes: primero el deslizamiento de las células en el endotelio vascular, segundo, adhesión firme a dicho endotelio y por último migración transendotelial hacia el tejido (Cronstein y Weissmann,1993). La única molécula de adhesión que interviene específicamente en la migración de las células inmunocompetentes hacia la piel es el antígeno asociado al linfocito cutáneo (CLA) reconocido por el anticuerpo monoclonal HECA-452 (Walton y cols., 1997). En nuestro estudio hemos analizado la expresión de HECA en piel irradiada y la hemos comparado con su expresión en piel sana, en la DM y en el lupus eritematoso. La expresión de HECA sobre las células intersticiales de las zonas irradiadas en pacientes afectados de DM está disminuída en relación a piel normal, tanto a las 6 como a las 24 horas después de la irradiación. Sin embargo, a pesar de que encontramos una disminución del porcentaje de células HECA positivas, cuando contamos el número absoluto de células positivas no hubo diferencia respecto a piel sana. Consecuentemente, la disminución del porcentaje de células HECA positivas se debe a un aumento de células HECA negativas en el intersticio y no a una disminución absoluta en el número de células HECA positivas. Así, parece ser, que con las dosis de radiación ultravioleta utilizadas, la migración de los linfocitos HECA positivos es más tardía, o bien la radiación ultravioleta no tiene efecto sobre la migración de las células HECA positivas hacia la piel. Esta última hipótesis está de acuerdo con otro estudio en el que la irradiación de la piel con 1 MED durante 3 a 4 días no cambió la expresión de HECA sobre las células de la linfa que drena de los vasos cutáneos (Hunger y cols.,1999). Estos autores, sin embargo no estudiaron la piel. También es posible que otras intensidades y

tiempos de exposición a la radiación ultravioleta sí tengan un efecto sobre el número de células HECA positivas. Hemos encontrado más células HECA positivas en la zona perivascular que en las células intersticiales en piel sana y piel irradiada. En la DM y en el lupus eritematoso, por el contrario, existen más células HECA positivas en los infiltrados inflamatorios. Ésto podría indicar que algún estímulo provoca primero la extravasación de los linfocitos HECA positivos hacia la zona perivascular y posteriormente migran hacia los focos inflamatorios. Esta hipótesis no explicaría por qué existe un mayor porcentaje de células positivas a las 6 horas postirradiación que a las 24 horas. Son necesarios más estudios, con un mayor número de pacientes, intensidades de radiación ultravioleta mayores durante más tiempo y biopsias secuenciales, además de estudios dinámicos para averiguar el papel exacto de la radiación ultravioleta en la migración de las células inmunocompetentes.

Sin embargo, en los depósitos de MAC, sí que se encontraron diferencias respecto a la piel sana. Incluso en una zona irradiada en la que no se observan lesiones clínicas de DM se observaron depósitos a nivel de la membrana basal y en los vasos siguiendo un patrón similar al que se encuentra en las lesiones activas de DM.

Parece, por lo tanto, que el MAC intervendría en las fases iniciales de las lesiones inducidas por la radiación ultravioleta y que los infiltrados inflamatorios y el aumento en las moléculas de adhesión aparecerían en fases posteriores. Estos hallazgos estarían en línea con los resultados obtenidos en otra enfermedad autoinmune: el pénfigo. Se han detectado depósitos de MAC sin acantólisis a las 5 horas después de irradiación con UVB. Sin embargo, a las 24 horas ya pudo observarse acantólisis, demostrando que los depósitos de MAC aparecen antes que la acantólisis (Kawana y Nishiyama, 1990).

Para descartar que la radiación ultravioleta B fuera un inductor inespecífico de la unión del MAC a la epidermis, realizamos el mismo ensayo en un paciente afecto de otra enfermedad inflamatoria, la psoriasis. En las biopsias realizadas al

paciente afecto de psoriasis no observamos depósitos de MAC en piel sana, ni en la placa de psoriasis, ni antes ni después de la irradiación. Tampoco se han observado depósitos de MAC en la piel irradiada con ultravioleta B de voluntarios sanos ni de pacientes afectados de otras fotodermatosis (Kawana y Nishiyama, 1990). Sería interesante estudiar si existen depósitos de MAC después de la irradiación en pacientes con DM en fase de remisión para saber si los depósitos de MAC dependen de la actividad de la enfermedad.

Son necesarios más estudios, en un número mayor de pacientes, con mayores tiempos de exposición e intensidades mayores de radiación ultravioleta para acabar de elucidar el papel exacto de la radiación ultravioleta en el desencadenamiento de las lesiones de la DM.

Este estudio demuestra que la radiación ultravioleta juega un papel en la etiopatogenia de la DM y consecuentemente todos los pacientes afectados de DM deberían minimizar su exposición solar o utilizar filtros solares de amplio espectro para conseguir reducir el empeoramiento o para prevenir un brote de DM en al menos un subgrupo de pacientes.

7. CONCLUSIONES

1. Las células dendríticas factor XIIIa positivas no forman parte de las células del infiltrado inflamatorio de las lesiones cutáneas de la dermatomiositis
2. El número de células dendríticas factor XIIIa positivas en el intersticio de la dermis en las lesiones cutáneas de la dermatomiositis está muy disminuido en relación con el patrón propio de la piel sana. Sin embargo, existe un discreto aumento de estas células en la zona perivascular de la dermis.
3. El hecho de que la mayoría de células dendríticas factor XIIIa positivas, como hemos dicho situados preferentemente alrededor de los vasos dérmicos, expresan en su superficie los antígenos del sistema mayor de histocompatibilidad HLA-DR sugiere que estas células ejercen un papel en el desarrollo de las lesiones cutáneas, aunque por el momento es desconocido.
4. La demostración de que existe una disminución de las células dendríticas factor XIIIa positivas en las lesiones cutáneas de la dermatomiositis apoya la teoría de que estas células serían de una estirpe celular funcionalmente similar a la de las células de Langerhans. Es un hecho previamente conocido que las células de Langerhans están paracticamente ausentes en la epidermis suprayacente a los infiltrados inflamatorios de las lesiones cutáneas de la dermatomiositis.
5. De forma similar a lo que ocurre con las células de Langerhans, no existen células dendríticas factor XIIIa positivas en el músculo sano. Nuestro estudio ha permitido demostrar la ausencia de estas células también en el músculo afecto por la dermatomiositis. Ello representa un hecho más que apoya la evidencia de que los mecanismos que originan y desarrollan la inflamación en piel y músculo son distintos.
6. El número de células dendríticas CD34 positivas está aumentado en el intersticio de la dermis de las lesiones cutáneas de dermatomiositis, aunque se observa una disminución de las mismas en la zona perivascular.

7. Se ha comprobado un notable aumento de estas células en el tejido septal del músculo afecto por la dermatomiositis. Desde los septos, las células dendríticas CD34 positivas invaden la zona periférica del músculos en las áreas en las que existe atrofia perifascicular. Se encuentran también junto a macrófagos en las zonas donde existe necrosis de las fibras musculares así como rodeando los infiltrados inflamatorios, pero no formando parte de los mismos.
8. El papel de las células dendríticas CD34 positivas en estos procesos inflamatorios es desconocido por el momento. El aumento de expresión de las moléculas de adhesión VCAM e ICAM-1 por estas células en relación con la piel sana es un argumento a favor de su participación específica en estos procesos.
9. El HECA-452 (marcador del antígeno asociado al linfocito cutáneo-CLA) se expresa en un 60-70% de las células de los infiltrados inflamatorios cutáneos. No existe expresión de HECA-452 en las mismas células inflamatorias del músculo. El CLA participa en el reclutamiento específico de las células inflamatorias hacia la piel afecta de DM.
10. Se ha demostrado el depósito constante del complejo de ataque de membrana (MAC) en la unión dermoepidérmica y en los vasos del plexo vascular superficial, aunque no únicamente en la zona donde existe infiltrado inflamatorio, sino también en zonas alejadas del mismo.

11.El estudio de los depósitos del complejo de ataque de membrana en las lesiones cutáneas fotoinducidas muestra ya su presencia en las muestras obtenidas por biopsia realizada a las seis horas después de la exposición lumínica. Esta observación apoya la teoría que supone la participación precoz del complejo de ataque de membrana en el desarrollo de las lesiones inflamatorias de piel y músculo en la dermatomiositis.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Adany R, Glukhova MA, Kabakov AY, Muszbekl. Characterization of connective tissue cells containing factor XIIIa. *J Clin Pathol* 1988;41: 49-56.
- Adany R, Muszbek L. Cells containing XIII subunit a in benign and soft tissue tumours. *Histopathology* 1987;11:1341-1343.
- Adany R. Identification of factor XIIIa in cutaneous tissue. *Histopathology* 1988;13:362-363.
- Aiba S, Tabata N, Ohtani H, Tagami H. CD34 positive spindle-shaped cells selectively disappear from the skin lesion of scleroderma. *Arch Dermatol* 1994;130: 593-597.
- Alderuccio F, Chan EKL, Tan EM. Molecular characterization of an autoantigen of PM-Scl in polymyositis/scleroderma overlap syndrome: a unique and complete human cDNA encoding an apparent 75-kD acidic protein of the nucleolar complex. *J Exp Med* 1991;173:941-952.
- Altman DA, Fivenson DP, Lee MW. Minocycline hyperpigmentation: a model for in situ phagocytic activity of factor XIIIa positive dermal dendrocytes. *J Cutan Pathol* 1992;9:340-5.
- Arad-Dann H, Isenberg D, Ovadia E, Shoenfeld I, Sperling J, Sperling R: Autoantibodies against a nuclear 56-kDa protein: a marker for inflammatory muscle disease. *J Autoimmun* 1989;79:360-374.
- Arahata K, Engel AG. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. *Ann Neurol* 1984; 16: 193-208.
- Arahata K, Engel AG. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies III: Immunoelectron microscopy aspects of cell-mediated muscle fiber injury. *Ann Neurol* 1986; 19: 112-125.
- 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: 493-499.
- Arrese Estrada J, Piérard GE. Factor-XIIIa-Positive dendrocytes and the dermal microvascular unit. *Dermatologica* 1990; 180: 51-53.
- Baker B, Garioch JJ, Hardman C, Powles A, Fry L. Induction of CLA antigen expression by group A streptococcal antigens in psoriasis. *Arch Dermatol Res* 1997; 289: 671-676.
- Banker BQ, Engel AG. The polymyositis and dermatomyositis syndrome. In: Engel AG, Banker BQ, eds. *Myology*. New York: Mc Graw-Hill, 1986: 1385-1422.
- Berg EL, Yoshino T, Rott LS, Robinson MK, Warnock RA, Kishimoto TK, Picker LJ, Butcher EC. The cutaneous lymphocyte antigen is a skin lymphocyte homing receptor for the vascular lectin endothelial cell-leukocyte adhesion molecule 1. *J Exp Med* 1991;174:1461-1466.
- Bernard P, Bonnetblanc JM. Dermatomyositis and malignancy. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 128S-132S.
- Bielsa I, Herrero C, Collado A, Cobos A, Palou J, Mascaró JM. Histopathologic findings in cutaneous lupus erythematosus. *Arch Dermatol* 1994; 130: 54-58.

- Bielsa I, Herrero C, Ercilla G. Immunogenetic findings in cutaneous lupus erythematosus. *J Am Acad Dermatol* 1991; 25: 251-257.
- Biesecker G, Lavin L, Ziskind M, Koffler D. Cutaneous localization of the membrane attack complex in discoid and systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 1982;306: 264-270.
- Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis. *N Engl J Med* 1975; 292: 344-347.
- Bombardieri S, Hughes GRV, Neri R, Del Brovo P, Del Bono L. Cyclophosphamide in severe polymyositis. *Lancet* 1989; 1: 1138-1139.
- Boom BW, Mommaas M, Daha MR, Vermeer BJ. Complement-mediated endothelial cell damage in immune complex vasculitis of the skin: ultrastructural localization of membrane attack complex. *J Invest Dermatol* 1989;89:68S-72S.
- Boom BW, Out Luiting CJ, Baldwin WM, Westedt ML, Daha MR, Vermeer BJ. Membrane attack complex of complement in leukocytoclastic vasculitis of the skin. *Arch Dermatol* 1987;123:1192-1195.
- Bos JD, De Boer OJ, Tibosch E, Das PK, Pals ST. Skin-homing T lymphocytes: detection of cutaneous lymphocyte associated antigen (CLA) by HECA-452 in normal human skin. *Arch Dermatol Res* 1993; 285:179-183.
- Bos JD, Zonnefeld I, Das PK, Krieg SR, Van der Loos, ChM, Kapsenberg ML. The skin immune system (SIS): distribution and immunophenotype of lymphocytes subpopulations in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1987; 88: 569-573.
- Braun-Falco O, Burg G. Das entzündliche infiltrat bei psoriasis vulgaris. *Arch Klin Exp dermatol* 1970: 236-297.
- Cai JP, Harris K, Falanga V, Taylor JR, Chin YH. UVB therapy decreases the adhesive interaction between peripheral blood mononuclear cells and dermal microvascular endothelium and regulates the differential expression of CD54, VCAM-1, and E-selectin in psoriatic plaques. *Br J Dermatol* 1996;134:7-16.
- Campo A, Hausmann G, Schepers C, Herrero C. Dermato/polimiositis. *Jano* 1999;56:48-61.
- Casademont J, Grau JM, Estruch R, Botet JC, Urbano-Marquez A. Relationship between capillary and muscle damage in dermatomyositis. *Int J Dermatol* 1990;29(2): 117-120.
- Casademont J, Grau JM, Masanés F, Herrero C, Urbano-Marquez A. Analysis of the outcome of idiopathic inflammatory myopathies with particular emphasis on muscle capillary damage. *Scand J Rheumatol* 1993;22(6):292-298.
- Casademont J, Grau JM. Miopatías inflamatorias. En: *Enfermedades autoinmunes sistémicas y reumáticas*. Barcelona Ed. Doyma Libros, 1997; Cap.11: 137-144.
- Casciola-Rosen L, Rosen A. Ultraviolet light-induced keratinocyte apoptosis: a potential mechanism for the induction of skin lesions and autoantibody production in LE. *Lupus* 1997; 6: 175-180.

- Caux C, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D, Banchereau J. GM-CSF and TNF-alpha cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells. *Nature* 1992;360: 258-261.
- Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, Dezutter-Dambuyant C, De Saint-Vis B, Jacquet C, Yoneda K, Imamura S, Schmitt D, Banchereau J. CD34+ hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to GM-CSF and TNF alpha. *J Exp Med* 1996;184: 695-706.
- Cerio R, Griffiths CEM, Cooper KD, Nickoloff BJ and Headington JT. Characterization of factor XIIIa positive dermal dendritic cells in normal and inflamed skin. *Br J Dermatol* 1989;121:421-31.
- Cerio R, Spaul J, Oliver GF, Wilson Jones E. A study of factor XIIIa and MAC 387 immunolabeling in normal and pathological skin. *Am J Dermatopathol* 1990;12(3):221-233.
- Cerio R, Spaul J, Wilson Jones E. Histiocytoma cutis: A tumor of dermal dendrocytes (dermal dendrocytoma). *Br J Dermatol* 1989;120:197-206.
- Cerio R, Spaul JR, Wilson-Jones E. Identification of factor XIIIa in cutaneous tissue. *Histopathology* 1988;13:362-363.
- Cerio R, Wilson Jones E. Factor XIIIa in fibrovascular tumors. *J Cutan Pathol* 1990;17(4):251.
- Cervera R, Ramirez G, Fernandez-Sola J, D´Cruz D, Casademont J, Grau JM, Asherson RA, Khamashta MA, Urbano-Marquez A, Hughes GR. Antibodies to endothelial cells in dermatomyositis: association with interstitial lung disease. *BMJ* 1991;302(6781):880-881.
- Charbord P, Tavian M, Humeau L, Peault B. Early ontogeny of the human marrow from long bones: An immunohistochemical study of hematopoiesis and its microenvironment. *Blood* 1996;87: 4109 - 4119.
- Cheong WK, Hughes GRV, Norris PG, Hawk JLM. Cutaneous photosensitivity in dermatomyositis. *Br J Dermatol* 1994;131:205-208.
- Cherin P, Piette JC, Wechsler B, Bletry O, Ziza JM, Lakari R. Intravenous gammaglobulin as first line therapy in polymyositis and dermatomyositis: a report of 11 cases. *J Rheumatol* 1994; 21: 1092-1097.
- Cid MC, Grau JM, Casademont J, Tobias E, Picazo A, Coll-Vinent B, Pedrol E, Urbano-Marquez A. Leucocyte/endothelial cell adhesion receptors in muscle biopsies from patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Clin Exp Immunol* 1996;104(3):467-473).
- Comola M, Johnson MA, Howel D, Brunson C. Spatial distribution of muscle necrosis in biopsies from patients with inflammatory muscle disorders. *J Neurol Sciences* 1987; 82: 229-244.
- Cronstein BN, Weissmann G. The adhesion molecules of inflammation. *Arthritis Rheum* 1993;36:147-157.
- Crowson AN, Magro CM. Deposition of membrane attack complex in cutaneous lesions of lupus erythematosus. *J Am Dermatol* 1994;31:515-516.
- Crowson AN, Magro CM. The role of microvascular injury in the pathogenesis of cutaneous lesions of dermatomyositis. *Hum Pathol* 1996;27:15-19.

- Dahl MV, Falk RJ, Carpenter R, Michael AF. Deposition of the membrane attack complex of complement in bullous pemphigoid. *J Invest Dermatol* 1984;82:132-135.
- Dahl MV, Falk RJ, Carpenter R, Michael AF. Membrane attack complex of complement in dermatitis herpetiforme. *Arch Dermatol* 1985; 121:70-72.
- Dalakas MC, Dambrosia JM, Soueidan SA, Stein DP, Otero C et al. A controlled trial of high dose intravenous immune globulin, infusions as treatment for dermatomyositis. *N Engl J Med* 1993; 329: 1993-2000.
- Dalakas MC, Engel WK. Total body irradiation in the treatment of intractable polymyositis/dermatomyositis. In: Dalakas MC, ed. *Polymyositis/dermatomyositis*. Boston: Butterworths; 1988: 281-291.
- Dalakas MC, Pezeshkpour GH, Gravell M, Sever JL. Polymyositis in patients with AIDS. *JAMA* 1986; 256: 2381-2383.
- Dalakas MC, Pezeshkpour GH. Neuromuscular diseases associated with human immunodeficiency virus infection. *Ann Neurol* 1988; 23(suppl): 38-48.
- Dalakas MC, Sivakumar K. The immunopathologic and inflammatory differences between dermatomyositis, polymyositis and sporadic inclusion body myositis. *Curr Opin Neurol* 1996;9(3):235-239.
- Dalakas MC. Clinical, immunopathologic, and therapeutic considerations of inflammatory myopathies. *Clin Neuropharmacol* 1992; 15: 327-351.
- Dalakas MC. Polymyositis, dermatomyositis and inclusion-body myositis. *N Engl J Med* 1991; 325: 1487-1498.
- De Vries IY, Langefeld-Wildschut EG, Van Reijssen FC, Bihari IC, Bruijnzeel-Koomen FM, Thepen T. Nonspecific T cell homing during inflammation in atopic dermatitis: Expression of CLA antigen and integrins on skin infiltrating T cells. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 694-701.
- Delia D, Lamougnani MG, Resnati M, Dejana E, Aiello A, Fontanella E, Soligo D, Pierotti MA, Greaves MF. CD34 expression is regulated reciprocally with adhesion molecules in vascular endothelial cells in vitro. *Blood* 1993;81(4): 1001-1008.
- Denton CP, Bickerstaff MC, Shiwen X et al. Serial circulating adhesion molecule levels reflect disease activity in systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1995; 34: 1048-1054.
- Derrick EK, Barker JNWN, Khan A, Price ML, MacDonald DM. The tissue distribution of factor XIIIa positive cells. *Histopathology* 1993; 22: 157-162.
- Duijvestijn AM, Horst E, Pals S, Rouse BN, Steere AC, Picker LJ, Meijer CJLM, Butcher EC. High endothelial differentiation in human lymphoid and inflammatory tissues defined by monoclonal antibody HECA-452. *Am J Pathol* 1998; 130:147-155.
- Duraiswamy N, Tse Y, Hammerberg C, Kang S, Cooper KD. Distinction of class II MHC Langerhans' cell-like interstitial dendritic antigen-presenting cells in murine dermis from dermal macrophages. *J Invest Dermatol* 1994;103:678-83.
- Elder JT, Reynolds NJ, Cooper KD, Griffiths CEM, Hardas BD, Bleicher PA. CD₁ gene expression in human skin. *J Dermatol Sci* 1993;6:206-213.

- Emslie-Smith AM, Arahata K, Engel AG. Major histocompatibility complex class-I antigen expression, immunolocalization of interferon subtypes and T-cell mediated cytotoxicity in myopathies. *Hum Pathol* 1989; 20: 224-231.
- Emslie-Smith AM, Engel AG. Microvascular changes in early and advanced dermatomyositis: a quantitative study. *Ann Neurol* 1990; 27: 343-356.
- 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. *Human Pathol* 1986; 17: 704-721.
- Estruch R, Grau JM, Fernandez-Sola J, Casademont J, Monforte R, Urbano-Marquez A. Microvascular changes in skeletal muscle in idiopathic inflammatory myopathy. *Hum Pathol* 1992;23(8):888-895.
- Euwer RL, Sontheimer RD. Amyopathic dermatomyositis: A review. *J Invest Dermatol* 1993;100:123S-127S.
- Fear JD, Jackson P, Gray C, Miloszewski KJA, Losowsky MS. Localization of factor XIII in human tissues using an immunoperoxidase technique. *J Clin Pathol* 1984;37:560-3.
- Fina L, Molgaard HV, Robertson D, Bradley NJ, Monaghan P, Delia D, Sutherland DR, Baker MA, Greaves MH. Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells. *Blood* 1990; 75:2417-2423.
- Fivenson DP, Nickoloff BJ. Distinctive dendritic cell subsets expressing factor XIIIa, CD_{1a}, CD_{1b}, and CD_{1c}, in mycosis fungoides and psoriasis. *J Cutan Pathol* 1995;22:223-228.
- Fleischmajer R, Perlish JS, Reeves JTR. Cellular infiltrates in scleroderma skin. *Arthritis Rheum* 1987; 20:975-984.
- Foucar K, Foucar E. The mononuclear phagocyte and immunoregulatory effector (M-PIRE) system: evolving concepts. *Semin Diagn Pathol* 1993; 7:4-18.
- Furie M, Nindl M, Kawabe K, Makamura K, Ishibashi Y, Sagawa K. Epitopes for CD_{1a}, CD_{1b}, and CD_{1c} antigens are differentially mapped on Langerhans' cells, dermal dendritic cells, keratinocytes and basement membrane zone in human skin. *J Am Acad Dermatol* 1992;27:419-426.
- Gibran NS, Nickoloff BJ, Holbrook KA. Ontogeny and characterization of factor XIIIa+ cells in developing human skin. *Anat Embryol* 1996;193: 35-41.
- Giorno R, Ringel SP. Analysis of macrophages, activated cells and T cell subsets in inflammatory myopathies using monoclonal antibodies. *Pathol Immunopathol Res* 1986; 5: 491-499.
- Goebels N, Michaelis D, Engelhardt M, Huber SS, Bender A, Pongratz D, Johnson MA, Wekerle H, Tschopp J, Jenne D, Hohlfield R. Differential expression of perforin in muscle-infiltrating T cells in polymyositis and dermatomyositis. *J Clin Invest* 1996;97(12): 2905-2910.
- Grabbe S, Beissert S, Schwarz T, Granstein RD. Dendritic cells as initiators of tumor immune responses: a possible strategy for tumor immunotherapy? *Immunology today* 1995;168(3): 117-121.

- Grau JM, Hausmann G, Casademont J, Herrero C. Amyopathic dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26: 505.
- Grau JM, Herrero C, Casademont J, Fernández-Solá J, Urbano Marquez A. Cyclosporine A as a first choice therapy for dermatomyositis. *J Rheumatol* 1994; 21: 381-382.
- Grau JM, Miro O, Pedrol E, Casademont J, Masanés F, Herrero C, Hausman G, Urbano-Marquez A. Interstitial lung disease related to dermatomyositis. Comparative study with patients without lung involvement. *J Rheumatol* 1996;23(11): 1921-1926.
- Gray C. Cells containing factor XIIIa in benign and soft tissue tumours. *Histopathology* 1987;11:1343.
- Gray MH, Smoller BR, McNut SN, Hsu A. Immunohistochemical demonstration of factor XIIIa expression in neurofibromas. A practical means of differentiating these tumord from neurotized melanocytic nevi and schwannomas. *Arch Dermatol* 1990;126: 472-476.
- Griffin TD, Murphy GF, Sueki H, Telegan B, Johnson WC, Citre CM, Yu RJ, Van Scott EJ. Increased factor XIIIa transglutaminase expression in dermal dendrocytes after treatment with a-hydroxy acids: Potential physiologic significance. *J Am Acad Dermatol* 1996;34:196-203.
- Groves RW, Allen MH, Barker JN, Haskard DO, MacDonald DM. Endothelial leukocyte molecule-1 (ELAM-1) expression in cutaneous inflammation. *Br J Dermatol* 1992;124:117-123.
- Hagiwara E, Adams EM, Plotz PH, Klinman DM. Abnormal numbers of cytokine producing cells in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Clin Exp Rheumatol* 1996;14(5): 485-491.
- Hart DNJ, Fabre JW. Demonstration and characterization of Ia-positive dendritic cells in the interstitial connective tissue of rat heart tissues but not brain. *J. Exp Med* 1981; 153: 347-361.
- Hashimoto Y, Nawata Y, Kurasawa K, Takabayashi K, Oda K, Mikata A, Iwamoto I. Investigation of EB virus and cytomegalovirus in rapidly progressive interstitial pneumonitis in polymyositis/dermatomyositis by in situ hybridation and polymerase chain reaction. *Clin Immunol Immunopathol* 1995; 77: 298-306.
- Hausmann G, Herrero C, Cid MC, Casademont J, Lecha M, Mascaró JM. Immunopathologic study of skin lesions in dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 1991;25(1): 225-230.
- Hausmann G, Mascaró Jr JM, Herrero C, Cid MC, Palou J, Mascaró J.M. Cell adhesion molecule expression in cutaneous lesions of dermatomyositis. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1996; 76: 222-225.
- Headington JT, Cerio R. Dendritic cells and the dermis:1990. *Am J Dermatopath* 1990;12 (3): 217-220.
- Headington JT. The dermal dendrocyte. In: *Advances in Dermatology*. Callen JP, Dahl MV, Golitz LE et al., eds. Vol 1. Chicago: Year Book Medical Publisher Inc., 1986:159-71.

- Heckmatt J, Hasson N, Saunders C. Cyclosporin in juvenile dermatomyositis. *Lancet* 1989; 1: 1063-1066.
- Helm KF, Peters MS. Deposition of membrane attack complex in cutaneous lesions of lupus erythematosus. *J Am Acad dermatol* 1993; 28: 687-691.
- Henriksson P, Becker S, Lynch G, MCDonagh J. Identification of intracellular factor XIIIa in human monocytes and macrophages. *J Clin Invest* 1985;76:528-534.
- Herrero C, Bielsa I, Font J, Lozano F, Ericilla G, Lecha M, Ingelmo M, Mascaró JM. Subacute cutaneous lupus erythematosus: clinical pathologic findings in 13 cases. *J Am Acad Dermatol* 1988; 19: 1057-1062.
- Herrero C, Font J, Bielsa I. Esclerodermia. Tema monográfico. Enfermedades autoinmunes sistémicas. *Medicina Integral* 1991; 17: 234-245.
- Hill MB, Phipps A, Milford-Ward A, Greaves M, Hughes P. Further characterization of anti-endothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus by controlled immunoblotting. *Br J Rheum* 1996;35:1231-1238.
- Hunger RE, Yawalker N, Braathen LR, Brand CU. The HECA-452 epitope is highly expressed on lymph cells derived from human skin. *Br J Dermatol* 1999; 141: 565-569.
- Iaonnone F, Cauli A, Yanni G, Kingsley GH, Isenberg DA, Corrigall V, Panayi GS. T- lymphocyte immunophenotyping in polymyositis and dermatomyositis. *Br J Rheumatol* 1996; 35(99):839-845.
- Ishikawa O, Ishikawa H. Macrophage infiltration in the skin of patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1992; 19: 1202-1206.
- Jalkanen S, Saari S, Kalimo H, Lammintausta K, Vainio E, Leino R, Duijvestijn AM, Kalimo K. Lymphocyte migration into the skin: The role of lymphocyte homing receptor (CD44) and endothelial cell antigen (HECA-452).
- Jara M, Amérigo J, Duce S, Borbujo J. Dermatomyositis and flagellate erythema. *Clin Exp Dermatol* 1997; 21: 440-441.
- Jones SM, Dixey J, Hall ND, Mc Hugh NJ. Expression of the cutaneous lymphocyte antigen and its counter receptor E-selectin in the skin and joints of patients with psoriatic arthritis. *Br J Rheumatol* 1997; 36: 748-757.
- Jones SM, Mathew CM, Dixey J, Lovell CR, McHugh NJ. VCAM-1 expression on endothelium in lesions from cutaneous lupus erythematosus is increased compared with systemic and localized scleroderma. *Br J Dermatol* 1996; 135: 678-686.
- Karpati G, Pouliot Y, Carpenter S. Expression of immunoreactive major histocompatibility complex products in human skeletal muscles. *Ann Neurol* 1988; 23: 64-72.
- Kawana S, Georghegan WD, Jordon RE, Nishiyama S. Deposition of membrane attack complex of complement in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus skin. *J Invest dermatol* 1989; 92: 588-592.
- Kawana S, Nishiyama S. Involvement of membrane attack complex of complement in UV-B induced acantholysis in pemphigus. *Arch Dermatol* 1990;121:588-592.

- Kawana S, Shen GH, Kobayashi Y, Nishiyama S. Membrane attack complex of complement in Henoch-Schönlein purpura of skin and nephritis. *Arch Dermatol Res* 1990;282:183-187.
- Kerscher M, Dirschka T, Volkenandt M. Treatment of localized scleroderma by UVA 1 phototherapy. *Lancet* 1995; 348: 1166.
- Kind P, Lehmann P, Plewig G. Phototesting in lupus erythematosus. *J Invest Dermatol* 1993;100:53S-57S.
- Kissel JT, Mendell JR, Rammohan KW. Microvascular deposition of complement membrane attack complex in dermatomyositis. *N Engl J Med* 1986; 314: 329-334.
- Koizumi H, Kumakiri M, Yamanaka K, Tomizawa K, Endo M, Ohkawara A. Dermal dendrocyte hamartoma with stubby white hair: A novel connective tissue hamartoma of infancy. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:318-321.
- Kozsik F, Strunk D, Simonitsch I, Picker LJ, Stingl G, Payer E. Expression of monoclonal antibody HECA-452 defined E-Selectin ligands on Langerhans cells in normal and diseased skin. *J Invest Dermatol* 1994; 102:773-780.
- Lehmann P, Hölzle E, Kind P, Goerz G, Plewig G. Experimental reproduction of skin lesions in lupus erythematosus by UVA and UVB radiation. *J Am Acad Dermatol* 1990;22:181-187.
- Lenz A, Heine M, Schuler G, Romani N. Human and Murine dermis contain dendritic cells. Isolation by means of a novel method and phenotypical and functional characterization. *J Clin Invest* 1993;92:2587-96.
- Liang, K.-Y and S. L. Zeger. 1986. Longitudinal data analysis using generalized linear models. *Biometrika* 73: 13-22
- Mantegazza R, Bernasconi P, Confalonieri P, Cornelio F. Inflammatory myopathies and systemic disorders: a review of immunopathogenetic mechanisms and clinical features. *Neurol* 1997;244:277-287.
- Marti RM, Hausmann G, Estrach T, Cid MC, Palou J, Herrero C, Mascaró JM. T cell population of primary and secondary cutaneous B cell lymphomas does not express the cutaneous lymphocyte associated antigen (CLA). *Arch Dermatol Res* 1997; 289: 327-330.
- Mascaro Jr. JM, Hausmann G, Herrero C, Grau J, Cid MC, Palou J, Mascaró JM. Membrane attack complex deposits in cutaneous lesions of dermatomyositis. *Arch Dermatol* 1995; 131: 1386-1392.
- mathews MB, Bernstein RM. myositis autoantibody inhibits histidyl-tRNA synthetase: a model for autoimmunity. *Nature* 1983;304:177-179.
- Menagé H, Sattar NK, Haskard DO, Hawk JLM, Breathnach SM. A study of the kinetics and pattern of E-selectin VCAM-1 and ICAM-1 expression in chronic actinic dermatitis. *Br. J. Dermatol* 1996, 134: 262-268.
- Mendell JR, Garcha TS, Kissel JT. The immunopathogenic role of complement in human muscle disease. *Curr Opin Neurol* 1996;9(3):226-234.
- Meunier L, Gonzalez-Ramos A, Cooper KD. Heterogeneous populations of class II MHC cells in human dermal cell suspensions. Identification of a small

subset responsible for potent dermal antigen-presenting cell activity with features analogous to Langerhans' cells. *J Immunol* 1993;151:4067-80.

Meyer O, Haim T, Dryll A, et al. Vascular endothelial cell injury in progressive systemic sclerosis and other connective tissue disease. *Clin Exp Rheumatol* 1983; 1: 29-34.

Mierau R, Dick T, Bartz-Bazzanella P, Keller E, Albert DE, Genth E. Strong association of dermatomyositis-specific Mi-2 autoantibodies with tryptophan at position 9 of the HLA-DR beta chain. *Arthritis Rheum* 1996; 39; 868-876.

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: 373-379.

Miller RW, Leitman SF, Cronin ME. A randomized double-blind controlled trial of plasma exchange and leukapheresis in patients with polymyositis/dermatomyositis. *N Engl J Med* 1992; 326: 1380-1384.

Miro O, Laguno M, Alonso JR, Casademont J, Herrero C, Selva A, Urbano-Marquez A, Grau JM. Clinical course of idiopathic inflammatory myopathies: complications, survival and prognostic factors. *Med Clin* 1999;112(14):521-526.

Miro O, Laguno M, Grau JM. Relapses in idiopathic inflammatory myopathies. *Muscle Nerve* 1999;22(8):1159-1160.

Mooney E, Falker RJ, Gammon WR. Studies on complement deposits in epidermolysis bullosa acquisita and bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 1992;128: 58-60.

Morgan O, Rodgers-Johnson P, Mora C, Char G. HTLV-1 and polymyositis in Jamaica. *Lancet* 1989; 2: 1184-1187.

Morganroth GS, Chan LS, Weinstein GD, Voorhees JJ, Cooper KD. Proliferating cells in psoriatic dermis are comprised primarily of T cells, endothelial cells and factor XIIIa perivascular dendritic cells. *J Invest Dermatol* 1991;96: 333-340.

Mori M, Pimpinelli N, Romagnoli P, Bernacchi E, Fabbzi P, Giannotti B. Dendritic cells in cutaneous lupus erythematosus: A clue to the pathogenesis of lesions. *Histopathology* 1994;24:311-21.

Munro JM, Pober JS, Cotran RS. Recruitment of neutrophils in the local endotoxin response: association with de novo endothelial expression of endothelial leukocyte molecule-1. *Lab Invest* 1991;64:295-299.

Murphy G, Messadi D, Fonferko E, Hancock WW. Phenotypic transformation of macrophages to Langerhans' cells in the skin. *Am J Pathol* 1986;123:401-406.

Narvaez D, Kanitakis J, Faure M, Claudy A. Immunohistochemical study of CD34 positive dendritic cells of the human dermis. *Am J Dermatopathol* 1996; 18 (3): 283-288.

Nemes A, Thomázy V. Factor XIIIa and the classic histiocytic markers in malignant fibrous histiocytoma: A comparative immunohistochemical study. *Human Pathology* 1988;19:822-9.

Nemes Z, Thomázy V. Identification of histiocytic reticulum cells by the immunohistochemical demonstration of factor XIIIa in human lymph nodes. *J Pathol* 1986; 149: 121-132.

Nemeth AJ, Penneys NS. Factor XIIIa is expressed by fibroblasts in fibrovascular tumors. *J Cutan Pathol* 1989;16:266-271.

Nestle FO, Nickoloff BJ, Burg G. Dermatofibroma: An abortive immunoreactive process mediated by dermal dendritic cells? *Dermatology* 1995;190:265-8.

Nestle FO, Nickoloff BJ. A fresh morphological and functional look at dermal dendritic cells. *J Cutan Pathol* 1995; 22: 385-393.

Nestle FO, Nickoloff BJ. Cutaneous Lymphomas. Role of Dendritic Cells in Benign and Malignant Lymphocytic infiltrates of the Skin. *Dermatologic Clinics* 1994;12(2): 271-282.

Nestle FO, Nickoloff BJ. Dermal dendritic cells are important members of the skin immune system. *Adv Experimental Medicine and Biology* 1995;378:111-6.

Nestle FO, Zheng X-G, Thompson CB, Turka LA, Nickoloff BJ. Characterization of dermal dendritic cells obtained from normal human skin reveals phenotypic and functionally distinctive subsets. *J Immunol* 1993;151:6535-6545.

Nickoloff BJ, Griffiths CEM. Lymphocyte trafficking in Psoriasis: A new perspective emphasizing the dermal dendrocyte with active dermal recruitment mediated via endothelial cells followed by intra-epidermal T-cell activation. *J Invest Dermatol* 1990;95:35S-37S.

Nickoloff BJ, Griffiths CEM. Not all spindle-shaped cells embedded in a collagenous stroma are fibroblasts: Recognition of the "collagen-associated dendrophage." *J Cutan Pathol* 1990;17(4):252-254.

Nickoloff BJ, Wood GS, Chu M, Beckstead JH, Griffiths CEM. Disseminated dermal dendrocytomas. A new cutaneous fibrohistiocytic proliferative disorder? *Am J Surg Pathol* 1990;14(9):867-871.

Nickoloff BJ. The human progenitor cell antigen (CD34) is localized on endothelial cells, dermal dendritic cells, and perifollicular cells in formalin fixed normal skin, and on proliferating endothelial cells and stromal spindle-shaped cells in Kaposi's sarcoma. *Arch Dermatol* 1991;127:523-529.

Noorduyn LA, Beljaards RC, Pals ST, Van Heerde P, Radaszkiewicz T, Willemze R, Meijer CJLM. Differential expression of the HECA-452 antigen (CLA) in cutaneous and non cutaneous T cell lymphomas. *Histopathology* 1992; 12: 59-64.

Norris DA, Whang K, David-Bajar K, Bennion S. The influence of ultraviolet light on immunological cytotoxicity in the skin. *Photochemistry and photobiology*, 1997; 65(4): 636-646.

Norris DA. Pathomechanisms of photosensitive lupus erythematosus. *J Invest Dermatol* 1993;100:58S-68S.

Norris P, Poston RN, Thomas DS, Thornhill M, Hawk J, Haskard DO. The expression of endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-

- 1) in experimental cutaneous inflammation: a comparison of ultraviolet B erythema and delayed hypersensitivity. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 763-770.
- O'Neill HC. The lineage relationship of dendritic cells with other haematopoietic cells. *Scand J Immunol* 1994;39: 513-516.
- 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.
- Park JH, Olsen NJ, King L Jr, Vital T, Buse R, Kari S, Hernanz-Schulman M, Price RR. Use of magnetic resonance imaging and P-31 magnetic resonance spectroscopy to detect and quantify muscle dysfunction in the amyopathic and myopathic variants of dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 68-77.
- Paye M, Nusgens V, Lapière CM. Factor XIII of blood coagulation modulates collagen biosynthesis by fibroblasts in vitro. *Haemostasis* 1989;19: 274-283.
- Pedro-Botet JC, Grau JM, Casademont J, Urbano-Marquez A, Rozman C. Characterization of mononuclear exudates in idiopathic inflammatory myopathies. *Virchows Archiv A Pathol Anat histopathol* 1988; 412:371-374.
- Pedrol E, Grau JM, Casademont J, Cid MC, Masanés F, Fernandez-Sola J, Urbano-Marquez A. Idiopathic inflammatory myopathies. Immunohistochemical analysis of the major histocompatibility complex antigen expression, inflammatory infiltrate phenotype and activation cell markers. *Clin neuropath* 1995;14:179-184.
- Penneys NS. Factor XIII expression in skin: Observations and a hypothesis. *J Am Acad Dermatol* 1990;22:484-488.
- Peters JH, Gieseler R, Thiele B, Steinbach F. Dendritic cells: from ontogenic orphans to myelomonocytic descendants. *Immunol Today* 1996;17(6):273-278.
- Picker LJ, Kishimoto TK, Smith CW, Warnock RA, Butcher EC. ELAM-1 is an adhesion molecule for skin-homing T cells. *Nature* 1991; 349: 796-799.
- Piérard GE, Arrese-Estrada J, Piérard-Franchimont C, Deleixhe-Mauhin F. Is there a link between dendrocytes, fibrosis and sclerosis? *Dermatologica* 1990;181:264-265.
- Reed AM, Stirling JD. Association of the HLA DQA1 0501 allele in multiple racial groups with juvenile dermatomyositis. *Hum Immunol* 1995; 44: 131-135.
- Regezi JD, Nickoloff BJ, Headington JT. Oral submucosal dendrocytes: Factor XIIIa+ and CD34+ dendritic cell population in normal tissue and fibrovascular lesions. *J Cutan Pathol* 1992;19:398-406.
- Reid MB, Gray C, Fear JD, Bird CC. Immunohistological demonstration of factors XIIIa and XIIIb in reactive and neoplastic fibro-histiocytic lesions. *Histopathology* 1986;10:1171-1178.
- Requena L, Grilli R, Soriano L, Escalonilla P, Fariña C, Martín L. Dermatomyositis with a pityriasis rubra pilaris-like eruption: a little known distinctive cutaneous manifestation of dermatomyositis. *Br J Dermatol* 1997; 136: 768-771.
- Rice GE, Munro JM, Corless CH, Bevilacqua MP. Vascular and non vascular expression of INCAM-110. *Am J Pathol* 1991;138:385-393.

Richters CD, Hoekstra MJ, Van Baare J, DuPont JS, Hoefsmit ECM, Kamperdijk EWA. Isolation and characterization of migratory human skin dendritic cells. *Clin Exp Immunol* 1994;98:330-6.

Richters CD, Hoekstra MJ, Van Baare JV, DuPont JS, Hoefsmit ECM, Kamperdijk EWA. Migratory properties and functional capacities of human skin dendritic cells. *Br J Dermatol* 1995;133:721-7.

Rohde D, Schlüter-Wigger W, Mielke V, Von der Driesch P, Von Gaudecker B, Sterry W. Infiltration of both T cells and neutrophils in the skin is accompanied by the expression of endothelial leukocyte molecule-1 (ELAM-1). An immunohistochemical and ultrastructural study. *J Invest Dermatol* 1992;98:794-799.

Santamaria LF, Moser R, Perez MT, Picker LJ, Blaser K, Hauser C. Migration of skin homing T cells across cytokine activated human endothelial cell layers involves interaction of the cutaneous lymphocyte associated antigen (CLA), the very late antigen-4 (VLA-4), and the lymphocyte function associated antigen-1 (LFA-1). *J Immunol* 1995; 154: 1543-1550.

Schaumburg-Lever G, Gehring B, Kaiserling E. Ultrastructural localization of factor XIIIa. *J Cutan Pathol* 1994: 129-134.

Schepers C, Ackerman AB. Dermal dendritic cells. *Dermatopathology: Practical and Conceptual* 1997; 3 (2) : 47-61.

Schepers C, Herrero C, Hausmann G. Cutaneous autoimmune diseases and malignancy. *Skin Cancer* 1995, 19: 241-252.

Schepers C, Herrero C. Esclerodermia y síndromes esclerodermiformes. En: *Enfermedades autoinmunes sistémicas y reumáticas*. Barcelona Ed. Doyma Libros, 1997; Cap.9: 107-119.

Schneider C, Gold RR, Dalakas MC, Schmied M, Lassmann H, Toyka KV, Hartung HP. MHC Class 1-mediated cytotoxicity does not induce apoptosis in muscle fibres nor in inflammatory T cells: studies in patients with polymyositis, dermatomyositis and inclusion body myositis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55(12): 1205-1209.

Sepulveda-Merrill C, Mayall S, Hamblin AS, Breathnach SM. Antigen-presenting capacity in normal human dermis is mainly subserved by CD_{1a} cells. *Br J Dermatol* 1994;131:15-22.

Silverman JS, Tamsen A. Early ontogeny of factor XIIIa⁺ dendritic cells in developing human long bone marrow. *Blood* 1996;88: 4072 - 4078.

Skobieranda K, Helm KF. Decreased expression of the human progenitor cell antigen (CD34) in morphea. *Am J Dermatopathol* 1995;17(5): 471-475.

Smith KJ, Skelton HG, Frisman DM, Angritt P. Verrucous lesions secondary to DNA viruses in patients infected with the human immunodeficiency virus in association with increased factor XIIIa-positive dermal dendritic cells. *J Am Acad Dermatol* 1992;27:943-50.

Sontheimer R. Photoimmunology of lupus erythematosus and dermatomyositis: A speculative review. *Photochemistry and photobiology* 1996;63(5):583-594.

Sontheimer Rd, Matsubara T, Seelig LC. A macrophage phenotype for a constitutive class II antigen-expressing, human dermal perivascular dendritic cell. *J Invest Dermatol* 1989; 93: 154-159.

Sontheimer RD. Perivascular dendritic macrophages as immunobiological constituents of the human dermal microvascular unit. *J Invest Dermatol* 1989; 93: 96S-101S.

Southwood TR, Ryder CAJ, Chapman S. Rapid changes in magnetic resonance imaging (MRI) of muscle after treatment of juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1992; 35:S94.

Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organ of mice I. Morphology, quantification, tissue distribution. *J Exp Med* 1973; 137: 1142-1162.

Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organ of mice II. Functional properties in vitro. *J Exp Med* 1974; 139: 380-397.

Steinman RM, Nussenzweig MC. Dendritic cells: Features and functions. *Immunol Rev* 1980; 53:127-47.

Steinman RM, Witmer M. Lymphoid dendritic cells are potent stimulators of primary mixed leukocyte reaction in mice. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 5132-5136.

Stewart MI, Smolle BR. Dermal dendrocytes are decreased in collagenomas. *J Cutan Pathol* 1993;20:504-7.

Strunk D, Rappersberger K, Egger C, Strobl H, Krömer E, Elbe A, Maurer D, Stingl G. Generation of human dendritic cells/Langerhans cells from circulating CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1996;4: 1292-1302.

Sueki H, Telegan B, Murphy GF. Computer-assisted three dimensional reconstruction of human dermal dendrocytes. *J Invest Dermatol* 1995;105:704-8.

Sueki H, Whitaker D, Buchsbaum M, Murphy GF. Sueki: Novel interactions between dermal dendrocytes and mast cells in human skin. Implications for hemostasis and matrix repair. *Lab Investigation* 1993;69(2):160-72.

Swerlick RA, Lawley TJ. Role of microvascular endothelial cells in inflammation. *J Invest Dermatol* 1993;100:111S-115S.

Targoff IN, Johnson AE, Miller FW. Antibody to signal recognition particle in polymyositis. *Arthritis Rheum* 1990;33:1361-1370.

Targoff IN. Humoral immunity in polymyositis/dermatomyositis. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 116S-123S.

Topaloglu H, Muntoni F, Dubowitz V, Sewry C. Expression of HLA class 1 antigens in skeletal muscle is a diagnostic marker in juvenile dermatomyositis. *J Child Neurol* 1997; 12(1): 60-63.

Trimble CL, Gray MH, McNutt NS. The distribution of factor XIIIa-positive cells in the human fetus and placenta. *Virch Arch Pathol Anat* 1992; 420: 513-518.

Tse Y, Cooper KD. Cutaneous dermal Ia cells are capable of initiating delayed type hypersensitivity responses. *J Invest Dermatol* 1990;94:267-72.

- Ullrich SE. Modulation of immunity by ultraviolet radiation: Key effects on antigen presentation. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 30S-36S.
- Urbano-Marquez A, Casademont J, Grau JM. Polymyositis/dermatomyositis: the current position. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 191-195.
- Van de Rijn M, Rouse RV. CD34. A review. *Appl Immunohistochem* 1994; 2 (2): 71-80.
- Van den Oord JJ, De Wolf-Peeters C. Epithelium lining macrophages in psoriasis. *Br J Dermatol* 1994;130: 589-594.
- Van Neer F, Zemelman V, Cerio R, Lantry J, Staughton RCD. The role of factor XIIIa-positive dermal dendrocytes in HIV-1-positive psoriatics. *Br J Dermatol* 1993;128:29-33.
- Vázquez-Abad D, Rothfield NF. Sensitivity and specificity of anti-jo-1 antibodies in autoimmune diseases with myositis. *Arthritis Rheum* 1996;39(2):292-296.
- Velthuis PJ, Van Welden H, Van Wichen D, Baart de la Faille H. Immunohistopathology of light induced skin lesions in lupus erythematosus. *Acta Derm Venereol (Stock)* 1990;70:93-98.
- Vencovsky J, Jirasek A, Valenta J, Trnavsky K. Clinical-morphological correlation of polymyositis and dermatomyositis. *Scand J Rheumatol* 1988; Suppl 67: 32-35.
- 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.
- Walsh LF, Goerdts S, Pober JS, Sueki H, Murphy GF. MS-1 Sinusoidal endothelial antigen is expressed by factor XIIIa, HLA DR dermal perivascular dendritic cells. *Lab Invest* 1991;65:732-41.
- Walton LJ, Thornhill MH, Macey MG, Farthing PM. Cutaneous lymphocyte associated antigen (CLA) and integrins are expressed by mononuclear cells in skin and oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1997; 26: 402-407.
- Weber-Matthiesen K, Sterry W. Organisation of the monocyte/macrophage system in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1990;95: 83 - 89.
- Westphal JR, Boerbooms AMT, Schalwijk CJM. Anti-endothelial cell antibodies in sera of patients with autoimmune diseases: comparison between ELISA and FACS analysis. *Clin Exp Immunol* 1994; 96: 444-449.
- Whitaker JN, Engel WK. Vascular deposits of immunoglobulin and complement in idiopathic inflammatory myopathy. *N Engl J Med* 1972; 286: 333-338.
- Wiley CA, Nerenberg M, Cros D, Soto-Aguilar MC. HTLV-1 polymyositis in a patient also infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1989; 320: 992-995.
- Yu HS, Chiang CH, Kang JW, Yu CL. The cytotoxic effect of neonatal lupus erythematosus and maternal sera on keratinocyte cultures is complement-dependent and can be augmented by ultraviolet irradiation. *Br J Dermatol* 1996;135:297-301.

