



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

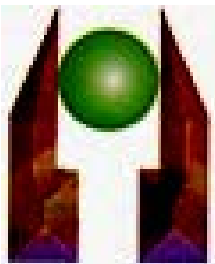
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SERVICIO DE DERMATOLOGÍA
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO O. D.

**CONCENTRACIONES SÉRICAS DEL
COMPLEJO SOLUBLE DE ATAQUE A
MEMBRANA (C5B-9) EN PACIENTES CON
DERMATOMIOSITIS**

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN DERMATOLOGÍA
P R E S E N T A :
DRA. KAREN PATRICIA ARIAS MONTAÑO

ASESOR DE TESIS: DRA. ROSA MARÍA PONCE OLIVERA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO: DRA. ROSA MARIA PONCE OLIVERA



HGM

MÉXICO, D. F.

AGOSTO 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Concentraciones séricas del Complejo soluble de Ataque
a Membrana (C5b-9)
en pacientes con Dermatomiositis**

Dr. Francisco González
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
Hospital General de México, O.D.

Dra. Rosa María Ponce Olivera
PROFESOR TITULAR Y JEFE DE SERVICIO
Dermatología
Hospital General de México, O.D.

AUTOR DE TESIS

DRA. KAREN PATRICIA ARIAS MONTAÑO

TUTOR DE TESIS

DRA. ROSA MARÍA PONCE OLIVERA

Jefe de Servicio Dermatología
Hospital General de México

COTUTORES DE TESIS

DR. ANDRÉS TIRADO SÁNCHEZ

Médico Adscrito al servicio de Dermatología
Hospital General de México

DRA. IVONNE ARELLANO MENDOZA

Médico Adscrito al servicio de Dermatología
Hospital General de México

ÍNDICE

RESUMEN

MARCO TEÓRICO

PARTE I. ANTECEDENTES

I. DERMATOMIOSITIS

A. Definición	3
B. Historia	3
C. Epidemiología	4
D. Patogenia	4
E. Clasificación	6
F. Características clínicas	6
G. Laboratorio	9
H. Histopatología	11
I. Diagnóstico	11
J. Tratamiento	12
K. Pronóstico	14

II. EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

15

III. COMPLEMENTO Y ENFERMEDADES AUTOINMUNES

20

IV. COMPLEMENTO Y DERMATOMIOSITIS

22

PARTE II. CONCENTRACIONES SÉRICAS DEL COMPLEJO SOLUBLE DE ATAQUE A LA MEMBRANA (C5B-9) EN PACIENTES CON DERMATOMIOSITIS

I. Planteamiento del problema	24
II. Hipótesis	24
III. Objetivos	25
IV. Material y métodos	25
V. Definición de variables	26
VI. Descripción general del estudio	27
VII. Análisis de datos	29
VIII. Resultados	30
IX. Discusión	39
X. Conclusión	45

Bibliografía

46

Anexos

RESUMEN

Antecedentes. En los últimos años se han hecho estudios que han tratado de determinar que el complemento interviene en la patogenia de la dermatomiositis, muchos de ellos se encuentran enfocados en probar que los depósitos cutáneos de MAC (Complejo de Ataque a Membrana) son la causa principal de las lesiones cutáneas de la dermatomiositis. Sin embargo, no hay estudios que claramente demuestren la presencia de la forma activa circulante del MAC, el C5b-9, que podría ser considerado como un marcador de colagenopatía al encontrarse elevado en otras enfermedades de la colágena y que podría considerarse como precursor de las lesiones cutáneas, ya que al detectarse en forma soluble podría representar un marcador fiable de actividad de la enfermedad.

Justificación. De encontrarse que la concentración en suero del C5b-9 se correlaciona con la presencia de dermatomiositis, significaría una herramienta para poder justificar el uso de tratamientos bloqueadores del MAC en la dermatomiositis, teniendo aplicaciones incluso en la forma paraneoplásica de la enfermedad. El desarrollo de nuevos tratamientos en la dermatomiositis redundaría en un mejor control de la enfermedad con la consiguiente reducción de los costos de hospitalización y el índice de morbilidad en la dermatomiositis.

Hipótesis. Las concentraciones séricas del C5b-9 son mayores en pacientes con dermatomiositis comparadas con sujetos sin la enfermedad.

Objetivo. Determinar las concentraciones séricas del C5b-9 en pacientes con dermatomiositis y sujetos sin la enfermedad.

Diseño y Duración. Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo, transversal en la población de Consulta Externa del Servicio de Dermatología del Hospital General de México que tuviera el diagnóstico de dermatomiositis por criterios clínicos, bioquímicos e inmunológicos. La duración del estudio será de 3 meses.

Material y Métodos. Se incluyeron pacientes que cubrieron los criterios de selección, requiriendo una muestra calculada de 8 pacientes por grupo (grupo con la enfermedad y control).

Variables. Dentro de las variables, se incluyeron edad, género y concentración plasmática de C5b-9.

Procedimiento. El paciente fue seleccionado de la consulta externa del Servicio de Dermatología, por presentar dermatomiositis; previa autorización por parte del paciente, se procedió a realizar interrogatorio dirigido, exploración física y toma de una muestra de sangre periférica de 3mL.

Análisis de Resultados. Se utilizó una prueba de correlación de Pearson (para establecer la correlación entre C5b-9 y la presencia de dermatomiositis) y una prueba de *t* para muestras independientes (para comparar medias de los resultados de C5b-9 plasmática entre los 2 grupos). Se utilizó el programa SPSS ver.10 para dicho fin.

PARTE I. ANTECEDENTES

I. DERMATOMIOSITIS

A) DEFINICIÓN

La dermatomiositis es una enfermedad de etiología presumiblemente autoinmune que se manifiesta como una miopatía inflamatoria proximal en los músculos extensores, con una dermatosis característica. Aunque la etiología de la dermatomiositis sigue sin conocerse, hay datos que apoyan una patogenia en la que el daño muscular y las lesiones cutáneas están mediados por linfocitos que inducen apoptosis. Tanto la dermatomiositis como la polimiositis pueden aparecer junto con otras enfermedades vasculares del tejido conjuntivo.

La dermatomiositis junto con la polimiositis y la miositis de cuerpos de inclusión, forma parte del grupo de las miopatías inflamatorias que no afectan la transmisión neuromuscular, siendo un grupo de enfermedades caracterizado por inflamación del músculo esquelético, acompañado de debilidad muscular proximal.¹

B) HISTORIA

La dermatomiositis fue descrita en 1887 por Unverricht y en 1863 por Wagner, en un reporte de un paciente con la enfermedad. En el siglo XIX se hicieron 4 descripciones más. En 1931 Henrich y Gottron realizaron la caracterización de las manifestaciones cutáneas, y en 1975 Bohan y Peter propusieron criterios de clasificación de la enfermedad.

C) EPIDEMIOLOGÍA

Las miopatías inflamatorias idiopáticas son enfermedades relativamente raras que se encuentran en todo el mundo. En los adultos tanto la dermatomiositis como la polimiositis afectan a las mujeres dos veces más que a los varones, en una relación de 1.5-2:1, pero el rango se iguala en ancianos y cuando se relaciona con alguna malignidad. En los niños la incidencia no está influenciada por el sexo. El inicio de la enfermedad es a menudo más tardío en varones que en mujeres. El promedio de edad es de 40 años, aunque se considera una enfermedad bimodal, con dos picos: entre los 10 y 15 años y entre los 45 y 60 años, en el caso de la relacionada con malignidad se presenta después de los 50 años. En la dermatomiositis juvenil hay 2 picos de presentación: a los 5-9 años y a años 10-14 años.²

D) PATOGENIA

La patogénesis de la enfermedad cutánea aún no es clara. Se cree que es una enfermedad autoinmunitaria. También se han mencionado factores infecciosos, virales, endocrinos y genéticos, y a veces coincide con una neoplasia interna (15-20%). Los autoanticuerpos nucleares séricos están presentes en más de 95% de los pacientes. Los anticuerpos anti-sintetasa se dirigen contra los antígenos citoplasmáticos; por lo tanto el título de los anticuerpos antinucleares puede ser negativo. Los pacientes con anticuerpos anti-sintetasa suelen tener síndromes de superposición. En la Tabla 2 se muestran los autoanticuerpos séricos en los subtipos de polimiositis y dermatomiositis.

Tabla 2

AUTOANTICUERPOS SÉRICOS EN LOS SUBTIPOS DE POLIMIOSITIS Y DERMATOMIOSITIS					
Auto anticuerpo	Polimiositis (%)	Dermatomiositis (%)	Infancia (%)	Superposición (%)	Neoplasia maligna
Jo1	30	5	0	15	0
PM-Scl	10	<5		10	0
RNPn	10	5	<5	30-40	0
Otros	<5	10		5	
Ku					
Mi-2					
PL-7, PL-12, OJ, EJ					
SRP	<5	<5			

En cuanto a la genética algunos estudios han relacionado al complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) B8, B14, DR3, DRW52, DQA1 con la dermatomiositis, a la inducida por drogas con HLA-B18, B35, DR4 y a la dermatomiositis juvenil al HLA-DR3, pero no es algo bien establecido.

Estudios recientes de la patogénesis de la miopatía han resultado controversiales. Algunos sugieren que la miopatía en dermatomiositis y polimiositis es de patogenia diferente. La dermatomiositis es probablemente mediada por el complemento (complejo de ataque a la membrana) al causar inflamación vascular, mientras que la polimiositis es causada directamente por el efecto citotóxico de los linfocitos CD8+ en el músculo. Y otros estudios de citocinas sugieren que ambos procesos son similares. En otros casos se ha relacionado al factor de necrosis tumoral con las anomalías de la dermatomiositis.

E) CLASIFICACIÓN

Cuando sólo hay inflamación del músculo se denomina polimiositis, si también hay afección de piel dermatomiositis y cuando la afección del músculo es escasa o transitoria, dermatomiositis amiopática. Hay seis tipos clínicos:

Tipo I	Miositis sin lesiones cutáneas (polimiositis)
Tipo II	Polimiositis y lesiones cutáneas (Dermatomiositis clásicas)
Tipo III	Polimiositis o dermatomiositis acompañada de neoplasia (paraneoplásica)
Tipo IV	Polimiositis o dermatomiositis infantil o juvenil (mortal o benigna)
Tipo V	Polimiositis o dermatomiositis relacionada con otra enfermedad del tejido conectivo, como LES o esclerosis sistémica progresiva)
Tipo VI	Dermatomiositis sin miositis (Dermatomiositis amiopática)

La forma paraneoplásica ocurre en 10-20%; se observa después de los 40-50 años y predomina en varones. En cáncer interno, aparece en orden de frecuencia, en pulmón, mama, ovario, estómago, ganglios linfáticos, bazo, médula ósea, colon y recto, útero, próstata y, rara vez piel.

F) CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Dermatomiositis primaria idiopática del adulto

Manifestaciones cutáneas

La lesión clásica de la piel es el eritema macular violáceo distribuido simétricamente, con cambios hacia la poiquilodermia e induración con el tiempo, además de depósitos de mucina secundarios. Estos cambios pueden preceder a la

alteración muscular en un promedio de 6 meses. El color violáceo puede ser indicativo de actividad de la enfermedad y ayuda a excluir otros procesos, como el LES.³

La mayoría de las manifestaciones cutáneas son precipitadas por la radiación ultravioleta y aproximadamente el 50% de los pacientes presentan fotosensibilidad tanto a UVA como a UVB. Las manifestaciones clínicas se dividen en patognomónicas, características y compatibles.

Manifestaciones patognomónicas: Aparecen en el 70% de los pacientes y son:

1. Pápulas de Gottron. Pápulas violáceas en dorso de articulaciones interfalángicas y metacarpofalángicas. Pueden asociarse a telangiectasias.
2. Signo de Gottron. Son máculas o placas eritematosas o violáceas que aparecen en el dorso de las articulaciones interfalángicas, metacarpofalángicas, codos y rodillas.

Manifestaciones características: Se encuentran en casi todos los pacientes y pueden orientar hacia justificar el diagnóstico:

1. Telangiectasias periungueales
2. Eritema en heliotropo. Se presenta en el 30-60% de los pacientes.
3. Eritema maculo violáceo simétrico en el dorso de las manos, en dedos, en brazos, en antebrazos, en la zona central de la cara, en la región posterior del hombro y del cuello (llamado también signo del chal), en el área V del cuello y en el tronco superior (llamado signo en V).

Lesiones compatibles. Hacen sospechar la enfermedad. No son diagnósticas, pero si orientan hacia el diagnóstico:

1. Poiquilodermia atrófica vascular

2. Calcinosis cutis. Las calcificaciones cutáneas son menos comunes en adultos que en niños.

Otras manifestaciones menos comunes son el eritema confluyente en el cuero cabelludo, la alopecia difusa no cicatrizal, el edema facial. Infiltración mucinosa principalmente en la región palmar y en los dedos.⁴ Además de paniculitis en el curso de la enfermedad.⁵ Perforación septal, ictiosis adquirida y vasculitis cutánea asociada como factor predictivo de malignidad.⁶

Manifestaciones no cutáneas

La afección muscular es simétrica, con debilidad que se inicia en semanas a meses y que se manifiesta por la imposibilidad de subir escaleras, levantarse de la silla o peinarse. Se presenta con afección de la cintura pélvica y escapular. La disfagia y la fatiga son síntomas comunes debidos al compromiso secundario en faringe y músculos flexores del cuello. El síndrome de Raynaud es ocasional, y el 50 % de los casos presenta mialgias y rigidez. Las alteraciones cardiacas incluyen cambios en la conducción con arritmia, miocarditis, insuficiencia cardiaca congestiva, derrame con o sin taponamiento pericárdico y pericarditis.

El compromiso gastrointestinal puede ir desde el reflujo gastroesofágico, con disminución del vaciamiento gástrico, disfagia.

Dermatomiositis juvenil

Las lesiones en la piel son similares, excepto por el incremento en la incidencia de calcinosis cutis, y son raras la hipertrichosis y la lipoatrofia. La incidencia de calcinosis es del 30 al 70% frente al 10% de los adultos. Su origen se ha relacionado con el aumento en la excreción de gamma-carboxiglutamato, elemento que aumenta la ligación del calcio.

Dermatomiositis amiopática

También llamada dermatomiositis sin miositis, y se define como una dermatomiositis confirmada por biopsia cutánea durante 6 meses o más, sin evidencia clínica de debilidad muscular proximal ni alteraciones enzimáticas y cambios en el electromiograma. Se habla de dermatomiositis amiopática confirmada cuando estos cambios persisten más de 24 meses.^{7,8}

Dermatomiositis asociada con enfermedad del tejido conectivo

Del 11 al 40% de los casos de dermatomiositis se asocian con otras enfermedades del tejido conectivo. Estas asociaciones son más comunes en mujeres, con una relación de 9 a 1. Las principales asociaciones son con enfermedades del tejido conectivo, esclerodermia, LES, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren (5%).

G) HALLAZGOS DE LABORATORIO

Alteración en la medición de enzimas musculares

Estas enzimas se relacionan con el daño muscular, entre ellas se encuentran la creatinfosfocinasa (CPK), las transaminasas (TGO, TGP), la deshidrogenasa láctica (DHL) y la aldolasa. La que se mide de forma habitual es la CPK, comprende 3 subtipos

(MM, MB, BB), y el más específico de músculo esquelético es el subtipo MM. Se puede elevar con el ejercicio físico o por un traumatismo, no es específica pero si sensible. La presencia de CPK elevada se relaciona con peor pronóstico y asociación con enfermedad pulmonar y malignidad. Las demás enzimas no son tan sensibles, pero resultan útiles cuando los valores de CPK son normales.

Autoanticuerpos

Se dividen en no específicos y específicos de miositis.

Anticuerpos no específicos

ANAS. Son positivos en el 85% de los casos, a títulos bajos.

Anti-RNP, anti PM-Scl y anti Ku. Se asocian con síndrome de sobreposición.

Anticuerpos específicos

Aparecen en un tercio de los casos y son más comunes en la dermatomiositis que en la polimiositis no asociada a malignidad. Son: Anti aminoacil-ARNt sintetasa, Anti ARNt, Anticuerpos contra partículas de reconocimiento de señales, anti Mi 2.

Otros hallazgos de laboratorio

El 20% de los pacientes presentan un aumento del factor reumatoide. El aumento de la velocidad de sedimentación se encuentra en el 50% de ellos, sin relación con la actividad de la enfermedad, pero sí con la malignidad.

En la electromiografía se detecta un aumento de la actividad insercional de fibrilación.

H) ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

En la biopsia cutánea de los pacientes con dermatomiositis se ve una dermatitis de interfase que conlleva atrofia epidérmica, degeneración de la membrana basal, degeneración vacuolar de los queratinocitos basales y cambios dérmicos que consisten en depósito intersticial de mucina y un infiltrado linfocítico escaso.

Las biopsias de músculo presentan cambios característicos, es clásica la combinación de atrofia de fibras musculares de tipo II, necrosis, regeneración e hipertrofia con núcleos centralizados en el sarcolema, más linfocitos de distribución perifascicular y perivascular.

I) EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

Ante todo paciente con sospecha de dermatomiositis y que presente lesiones cutáneas hay que realizar una biopsia que confirme la sospecha, además de la valoración de la fuerza, principalmente en las cinturas pélvica y escapular y medición de las enzimas musculares séricas. Si son positivos hay que solicitar electromiografía y biopsia de músculo, que permitirán hacer el diagnóstico definitivo. Lo anterior para saber si el paciente reúne o no los criterios de clasificación diagnóstica propuestos por Bohan y Peter. (Tabla 3)

Tabla 3

Criterios diagnósticos propuestos por Bohan y Peter	
1. Debilidad proximal simétrica que progresa en semanas o meses	
2. Biopsia muscular con evidencia de miopatía inflamatoria	
3. Elevación de enzimas musculares séricas	
4. Electromiografía con características de miopatía	
5. Erupción cutánea típica de dermatomiositis	
Diagnóstico	Número de criterios
Definitivo	4 criterios de 5
Probable	3 criterios de 5
Posible	2 criterios de 5

En todos los casos en los que se establece el diagnóstico definitivo se debe realizar radiografía de tórax y electrocardiograma, y descartar la presencia de malignidad, y descartar la presencia de malignidad en los pacientes mayores de 45 años.⁹

J) TRATAMIENTO

Los corticoides orales son considerados la primaria línea de tratamiento en la dermatomiositis y la polimiositis. Su justificación es el probable mecanismo citotóxico en la polimiositis y la presencia de complejos inmunes y complemento en la dermatomiositis. La dosis inicial de prednisona es de 0.5-1.5 mg/kg/día, que se mantiene hasta que la CPK se haya normalizado. En los casos graves se administran bolos de metilprednisolona de 30 mg/kg/día, durante 3 días.

La disminución de los niveles de CPK se observa entre la cuarta y octava semanas de tratamiento, y en este momento se inicia la disminución de la dosis. La mejoría del estado muscular aparece al tercer mes. Si esto no ocurre se debe utilizar otro inmunosupresor. El metotrexate es el primer tratamiento adyuvante recomendado como ahorrador de esteroides y para el manejo de casos que no responden a éstos. Se recomienda iniciar con dosis de 7.5-10 mg/semana, aumentando 2.5 mg/semana.

La azatioprina es otra alternativa de inmunosupresión, pero el inicio en la acción es más lento comparado con el metotrexate. Se administra en dosis de 2 a 3 mg/kg/día (100-200 mg/día). La ciclofosfamida no es tan beneficiosa como la azatioprina, y se utiliza sobretodo en los casos de enfermedad pulmonar intersticial. La ciclosporina es un medicamento que disminuye la proliferación de linfocitos T y los genes que codifican la IL 2. Ha sido utilizada como adyuvante o como tratamiento inicial con buenos resultados, especialmente en casos refractarios.¹⁰

En otros estudios se ha demostrado la efectividad de las inmunoglobulinas intravenosas, tanto para el tratamiento de la dermatomiositis del adulto como la juvenil. En cuanto a las inmunoglobulinas se ha demostrado su efectividad en una variedad de desordenes inmunes, el mecanismo de acción de estas es la disminución del depósito de complemento secundario al bloqueo de receptores, además inhibe la producción de citocinas y quemoquinas por linfocitos T y disminuye la producción de inmunoglobulinas. La inmunoglobulina intravenosa previene la destrucción de la microvasculatura mediada por el complejo de ataque a la membrana al inhibir su formación a nivel del ensamblaje de la C5 convertasa, causada por la interacción de las moléculas Ig de la inmunoglobulina intravenosa con los fragmentos de C3b por lo que C3b no es capaz de incorporarse con la C5 convertasa lo cual es necesario para la

formación del complejo de ataque a la membrana. La ausencia de los depósitos del CAM conlleva a neovascularización, reperusión del músculo con resolución de la isquemia muscular y mejoría de la fuerza muscular.¹¹

Por otro lado debido a que la división enzimática de C5 resulta en la producción de potentes productos proinflamatorios C5a y C5b-9, anticuerpos monoclonales se han utilizado para bloquear la activación terminal del complemento al prevenir la división de C5 preservando los componentes anteriores C1-C4, que son moléculas necesarias para el aclaramiento de complejos inmunes, de microorganismos y para la apoptosis. El Eculizumab es un anticuerpo monoclonal anti-C5 que se ha mostrado es efectivo para prevenir el ensamble del complejo terminal C5b-9. Este anticuerpo se ha probado en varias entidades clínicas en las que se ha implicado al complemento en la patogenia, incluyendo la dermatomiositis, donde se ha demostrado evidencia de su actividad clínica.¹²

K) PRONÓSTICO

La expectativa de vida a 5 años es del 80%, y a los 8 años, del 73%. En relación con los anticuerpos se considera que si el anti SRP es positivo, el pronóstico a 5 años es pobre (30% de supervivencia). Si el anti sintetasa es positivo, la expectativa de vida a 5 años es moderada (más del 65%). Si hay anti Mi-2, se infiere un buen pronóstico a 5 años (más del 90% de supervivencia).

Las principales causas de muerte son la enfermedad debida a presencia de malignidad y alteraciones pulmonares y iatrogenia. Se consideran de mal pronóstico la presencia de enfermedad recalcitrante, el retraso en el diagnóstico y el tratamiento, la edad avanzada y la presencia de malignidad.¹³

II. EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Poco después del descubrimiento de la inmunidad humoral, Charles Bordet demostró que el suero contenía un factor termolábil que “complementaba” la acción bacteriolítica termoestable de los anticuerpos. Actualmente se sabe que el complemento no es un simple factor, sino un complejo sistema constituido por cerca de 40 proteínas plasmáticas y de membrana (Tabla 1), que juegan un papel fundamental en la defensa del huésped frente a la infección y en los procesos inflamatorios mediados por mecanismos inmunes. La mayoría de estas proteínas se sintetizan en el hígado, si bien los monocitos, macrófagos y neutrófilos activados las producen localmente en los lugares donde se asienta un proceso inflamatorio.^{14, 15, 16}

Tabla 1.- PROTEÍNAS DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Proteínas	Vías de activación	Proteínas reguladoras	Receptores
Proteínas plasmáticas	C1q, C1r, C1s, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9, B, D	C1-INH, C4b-BP, J, I, H, P, S, SP-40/40	
Proteínas De membrana		DAF, HRF/C8bp, CD59	MCP, CR1, CR2, CR3, CR4, CR5, C3R, C3aR, C5aR, C1qR,

Las proteínas del complemento del plasma se encuentran en un estado quiescente pero se activan rápidamente bajo la influencia de estímulos específicos. Sin

embargo las vías de activación del complemento difieren en el estímulo primario y los componentes involucrados, todos con el objetivo de la activación del tercer componente proteolítico del complemento C3.¹⁷

El complemento puede activarse por tres vías, clásica, alterna y la vía de la lectina que convergen en una vía común “de ataque a la membrana”. La activación enzimática secuencial de sus componentes genera una cascada biológica similar a los sistemas de coagulación, la fibrinólisis o las cininas, que permite una respuesta amplificada frente a los estímulos. Los componentes de la vía clásica y de la secuencia Terminal se designan con la letra C seguida de un número (ej. C1, C2, C5); los de la vía alternativa y algunas proteínas de control se simbolizan con letras y los productos resultantes de la activación y degradación de las moléculas llevan un sufijo literal (ej. C5b, C3a).¹⁸

Vía clásica: La vía clásica se inicia cuando C1 se une a inmunocomplejos que contienen IgM, IgG3, IgG2 o IgG1, también puede activarse por la interacción directa de C1 con ciertos lipopolisacáridos bacterianos, retrovirus (no el VIH), proteína C reactiva, mielina, heparina, DNA, o cristales de urato monosódico. C1 es un complejo pentamolecular dependiente del calcio que se compone de una subunidad de C1q, dos de C1r y dos de C1s. C1s cataliza la conversión de C4 en C4a y C4b, y de C2 en C2a y C2b. En las enfermedades por inmunocomplejos, cuyo prototipo es el lupus eritematoso sistémico, es frecuente hallar bajas concentraciones de C4 y C3 como consecuencia de un consumo secundario a la activación de la vía clásica.

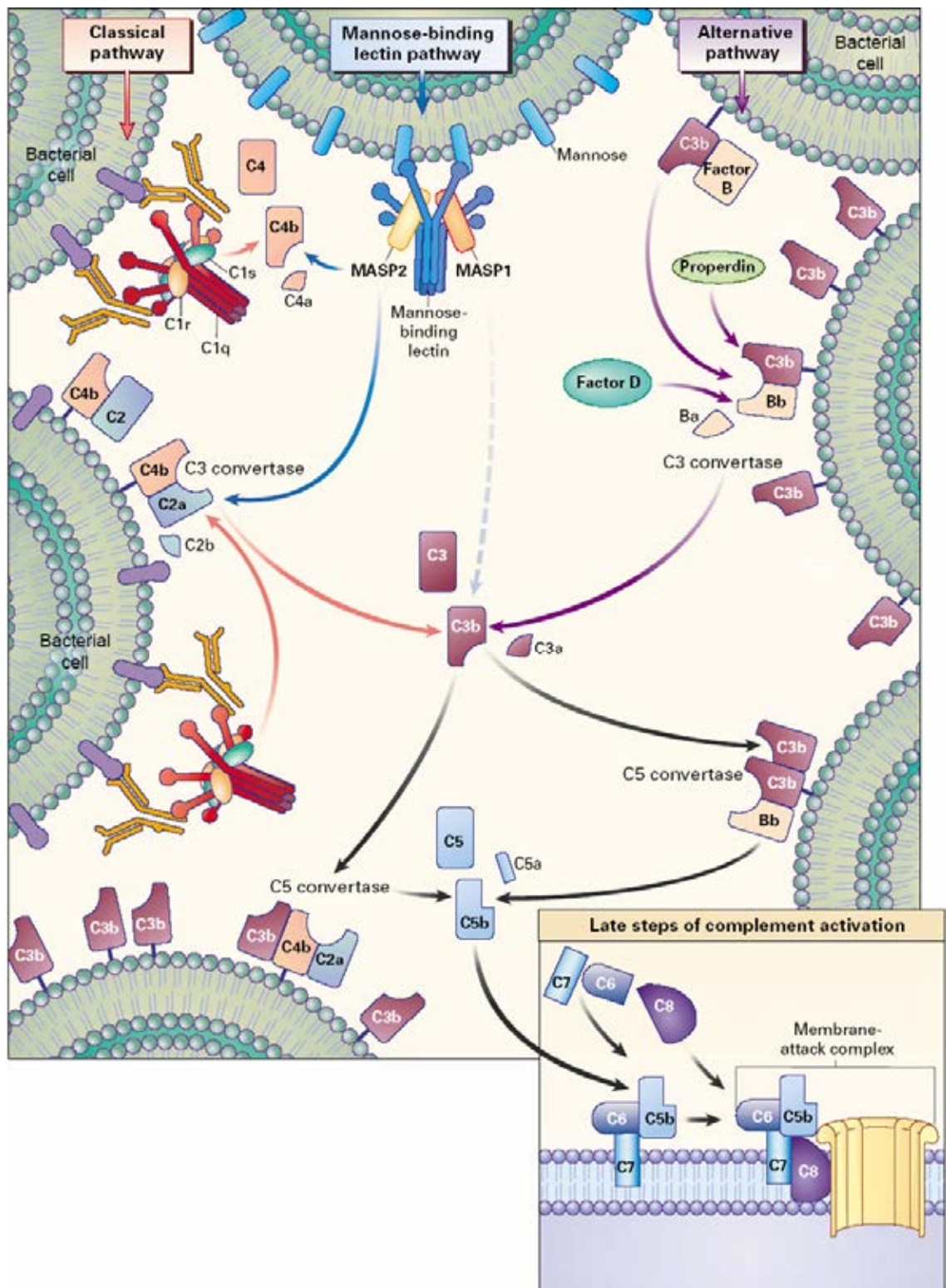
Vía alterna: La vía alterna no precisa de anticuerpos para su funcionamiento. Puede desencadenarse por metabolitos o alteraciones en el DNA.

Vía de la Lectina: Vía independiente de anticuerpos que se activa por la lectina que contiene una serina proteasa asociada a manosa y que actúa directamente sobre C4 iniciando en este punto la activación del complemento.^{19,17}

Vía de ataque a la membrana. La unión de C3b a C4b2a y C3bBb forma las C5 convertasas de la vía clásica (C4b2a3b) y alterna (C3bBb3b), respectivamente. Estas enzimas rompen C5 en un pequeño fragmento con actividad anafilotóxica (C5a) y otro mayor (C5b) que inicia la vía de ataque a la membrana. A C5b se unen secuencialmente C6, C7, C8 y C9. Los complejos C5b67 se separan de la C5-convertasa y se adhieren directamente a la membrana activante, aunque una pequeña proporción de ellos circula y se deposita en células antólogas de la vecindad a las que dañan o destruyen (“lisis inocente”).²⁰

La incorporación de C8 produce cierta disrupción de la membrana, suficiente para causar lisis de células metabolitamente inertes. Finalmente hasta 18 moléculas de C9 se unen a C5b678 y constituyen el complejo de ataque a la membrana (MAC). Esta estructura cilíndrica forma poros en la bicapa lipídica que permiten el paso de iones, con la consiguiente lisis osmótica celular. La lisis por el MAC es un mecanismo de eliminación importante de ciertas bacterias y virus. En general las bacterias grampositivas son resistentes a la acción bacteriolítica del complemento porque su gruesa capa de peptidoglicano parietal restringe el acceso del MAC a la membrana citoplasmática. Los eritrocitos y las células nucleadas pueden escapar de la catálisis a través de mecanismos de endocitosis y exocitosis que eliminan físicamente de sus superficies cantidades limitadas del MAC.

EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO Y SUS VÍAS DE ACTIVACIÓN



Una excesiva activación del sistema de complemento conduce a la activación de diversos mecanismos controladores que por diversos mecanismos permiten regular el daño a células vecinas.²¹

La formación del MAC es regulada por dos proteínas plasmáticas (S y SP-40) y dos proteínas de membrana (HRF/C8bp y CD59), estas últimas protegen del ataque lítico sólo si las proteínas del complemento pertenecen a la misma especie, fenómeno conocido como restricción homóloga. El propio MAC tiene efecto de retroalimentación negativa sobre la formación de las convertasas. Si bien la mayoría de los microorganismos carecen de proteínas de membrana reguladores que eviten la amplificación del C3b depositado sobre sus superficies, algunas han conseguido desarrollar proteínas antigénica o genéticamente relacionadas con aquellas, que les permite evadir la acción del complemento.²² El grupo de proteínas de membrana reguladores del MAC comparten una característica estructural de gran trascendencia clínica, su unión mediante una cola glucolipídica, a un fosfolípido de membrana (fosfatidil-inositol).²³

Los efectos biológicos del complemento están mediados por la interacción de sus productos de activación con receptores celulares específicos. Además de la acción citolítica del MAC, el complemento participa en la inflamación, opsonización microbiana, procesamiento de inmunocomplejos y regulación de la respuesta inmune.

III. COMPLEMENTO Y ENFERMEDADES AUTOINMUNES

El complejo de ataque a la membrana se ha identificado mediante inmunohistoquímica en diferentes desordenes inflamatorios, entre ellos, el lupus eritematoso, en el cual se ha encontrado que es un marcador específico y sensible para lupus eritematoso cutáneo.^{24, 25} También se ha encontrado en lesiones de piel y en riñón de la púrpura de Henoch-Schönlein, en vasculitis por complejos inmunes de la piel, en hepatitis fulminante o aguda, miastenia gravis y enfermedad de Alzheimer.¹⁵ Otros estudios relacionados han identificado los depósitos de C5b-9 en biopsias de pacientes con enfermedades autoinmunes, estos depósitos se han encontrado principalmente en los vasos sanguíneos.²⁶

Las deficiencias hereditarias en los componentes del complemento de la vía clásica incrementa el riesgo de desarrollar lupus y lupus-*like*. El lupus se desarrolla en muchos pacientes que tienen deficiencias completas de C1q (93%) y C4 (75%). La relación entre la deficiencia de los componentes del complemento de la vía clásica y el desarrollo de lupus, indica que estos componentes del complemento tienen un papel protector contra el desarrollo de esta enfermedad. Sólo una pequeña proporción de pacientes que tienen lupus eritematoso sistémico sufren de deficiencias congénitas de los componentes del complemento.

Más allá de la relación de la deficiencia de algunos componentes del complemento con el lupus. Se cree que la activación del complemento es uno de los mecanismos por los cuales ocurren las lesiones en los tejidos en los pacientes con lupus. Esta observación se ha apoyado en estudios experimentales en los que se utilizan anticuerpos anti-C5 como mecanismo para bloquear la activación de C5 con lo que se

encontró disminución de la proteinuria y de la enfermedad renal en modelos con ratones de lupus eritematoso sistémico.²⁷ Si esto se transpola a la experiencia clínica en humanos se podría dar tratamiento con inhibidores selectivos del complemento o factor B, inhibidores de properdina o inhibidores de la función de C5a puede ser igual de efectivo pero con menores efectos inmunosupresores.¹⁷ Y el uso de estos reguladores de complemento como C1 INH, CR1 soluble, bloqueadores de C5 y CD59 proveen un nuevo armamento terapéutico para prevenir y tratar la destrucción por inflamación de tejidos en una gran variedad de enfermedades.

IV. COMPLEMENTO Y DERMATOMIOSITIS

En el caso de la dermatomiositis, una enfermedad del tejido conectivo que tiende a afectar la piel y las fibras del músculo esquelético, el mecanismo postulado de daño es humoral, a través de la lisis mediada por complemento y/o citotóxica dependiente de anticuerpos.²⁸ Algunas observaciones sugieren que la enfermedad puede representar una angiopatía sistémica y varios estudios han establecido un papel primario del complemento como inductor del daño en los vasos en la dermatomiositis, al aportar evidencia de la activación de la cascada del complemento con daño capilar mediado por el complejo de ataque a la membrana.²⁹

Los factores responsables de iniciar el daño vascular, el depósito de anticuerpos y activación del complemento aún no se encuentran bien establecidos y el antígeno blanco en las células endoteliales permanece desconocido.

Se han evidenciado depósitos de C5b-9 en biopsias de músculo esquelético de pacientes con la enfermedad en estadio temprano. Estos depósitos pueden condicionar el daño muscular en la enfermedad que se debe principalmente a un daño directo a la microvasculatura (tropismo vascular de C5b-9).³⁰ En las lesiones cutáneas de la dermatomiositis, el depósito de inmunoglobulinas en la unión dermoepidérmica no provoca daño epidérmico por sí solo.³¹ Estudios previos han demostrado la presencia del complejo de ataque a membrana (C5b-9) a nivel de la membrana basal en lesiones cutáneas de pacientes con dermatomiositis, lo que habla de una posible asociación del C5b-9 en la patogenia de la enfermedad. Con todo esto, se ha hipotetizado que los

depósitos intravasculares de complejos inmunes circulantes pueden mediar el daño vascular y guiar a la activación del MAC (C5b-9).

Aunque se ha observado el complemento en la patogenia de las colagenopatías, no se ha explicado con precisión el papel de este en la dermatomiositis, encontrándose algunos estudios que no permiten asegurar una función patogénica del producto pro-lítico.³²

La actividad del complemento se mide de manera indirecta cuantificando C3 en suero, con la idea de encontrarlo disminuido cuando se gasta por estar activándose en algún tejido, sin embargo la disminución de este componente en ocasiones no es suficiente para lograr definir que se está usando en algún tejido.

Se ha descrito la cuantificación de un fragmento soluble del complejo de ataque a membrana C5b-9, que se forma cuando el complemento está siendo activamente utilizado, que resulta mas sensible para evaluar actividad del complemento en un organismo.³³

**PARTE II. CONCENTRACIONES SÉRICAS DEL COMPLEJO SOLUBLE DE
ATAQUE A LA MEMBRANA (C5B-9) EN PACIENTES CON
DERMATOMIOSITIS**

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha tratado de determinar en diversos estudios la posible asociación del complemento como elemento único en la patogenia de la dermatomiositis, muchos de estos se encuentran enfocados en probar que los depósitos cutáneos de MAC son la causa principal de las lesiones cutáneas de la dermatomiositis. Sin embargo, no hay estudios que claramente demuestren la presencia de la forma activa circulante del MAC, el C5b-9, en la dermatomiositis.

La activación *in situ* del complemento durante la respuesta inflamatoria podría jugar un papel importante en el desencadenamiento de la patogenia de la dermatomiositis. Recientemente se ha descrito el análisis mediante ELISA del C5b-9 que se forma cuando el complemento está siendo activamente utilizado. Se realizó la determinación del fragmento soluble del C5b-9 con el método de ELISA con placas recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón específico para conocer si los pacientes con dermatomiositis, presentan estos fragmentos en sangre, como resultado de que el complemento está siendo consumido y depositado en piel.

II. HIPÓTESIS

Las concentraciones séricas del C5b-9 son mayores en pacientes con dermatomiositis comparadas con pacientes sin la enfermedad.

III. OBJETIVOS

General:

- Determinar las concentraciones séricas del C5b-9 entre pacientes con dermatomiositis.

Particular:

- Comparar las concentraciones séricas del fragmento soluble C5b-9 entre pacientes dermatomiositis y controles sanos.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO

Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo, transversal.

POBLACIÓN DE ESTUDIO Y TAMAÑO DE MUESTRA.

Pacientes de la consulta externa del Servicio de Dermatología del Hospital General de México con diagnóstico clínico de dermatomiositis y controles sanos.

Tamaño de la muestra: Se usó una fórmula de diferencia de medias, considerando las concentraciones de C5b-9 en estudios previos, se determinó un valor de alfa de 5% y una potencia de la prueba de 80%. La desviación estándar fue de 1030.2 ng/mL de C5b-9 en el grupo sin dermatomiositis.

CRITERIOS DE SELECCIÓN PARA LOS CASOS

Criterios de inclusión

1. Pacientes que acudieron a la consulta externa del Servicio de Dermatología del Hospital General de México.
2. Que tuvieran registro como pacientes en el hospital.
3. Con diagnóstico por criterios clínicos y bioquímicos de dermatomiositis.
4. Que aceptaran participar en el estudio.

No inclusión.

1. Diagnóstico de otra enfermedad autoinmune.
2. Enfermedad con deficiencias del complemento

Eliminación.

1. Muestras no conservadas a -70° C.
2. Muestras no separadas en la primera hora de que fueron tomadas.

CRITERIOS DE SELECCIÓN PARA LOS CONTROLES.

Inclusión.

1. Pacientes que acudieron a la consulta externa del Servicio de Dermatología del Hospital General de México como pacientes o familiares de pacientes.
2. Que aceptaran participar en el estudio.

No inclusión.

1. Que tuvieran diagnóstico de alguna enfermedad autoinmune.
2. Enfermedad con deficiencias del complemento

Eliminación.

1. Muestras no conservadas a -70° C.
- 2 Muestras no separadas en la primera hora de que fueron tomadas.

V. DEFINICION DE VARIABLES

Variable dependiente: Dermatomiositis

Categoría: cualitativa

Escala de medición: nominal

Unidad de medición: dicotómica

Definición operacional: Diagnóstico por criterios clínicos (debilidad muscular proximal de miembros superiores e inferiores) y bioquímicos (elevación de creatin fosfoquinasa y deshidrogenasa láctica en suero) de dermatomiositis.

Variable independiente: Complejo soluble de C5b-9

Categoría: cuantitativa.

Escala de medición: numérica-continua.

Unidad de medición: ng/mL

Definición operacional: resultados de la determinación por ELISA de las concentraciones de C5b-9 presente en el suero de pacientes con dermatomiositis en ng/mL.

VI. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Procedimiento

- 1 Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo, transversal, comparativo entre grupos independientes en pacientes que acudan a consulta al Servicio de Dermatología del Hospital General de México con y sin diagnóstico de dermatomiositis.
- 2 Se tomó una muestra de sangre de 3mL para la determinación por medio de ELISA de las concentraciones de C5b-9.
- 3 Al momento de solicitar el consentimiento se informó sobre el proyecto de investigación, los objetivos, las aplicaciones, beneficios y riesgos para el paciente y se solicitó otorgar su consentimiento por escrito.
- 4 La muestra se centrifugó antes de que transcurriera 1hr y se conservó a 70° C.

Determinación de la concentración en suero de C5b-9

La determinación de las concentraciones de C5b-9 presente en el suero se realizó con el método de ELISA con placas recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón específico para C5b-9.

Reactivos.

Datos técnicos: Los reactivos se conservaron en refrigeración entre 2 y 8° C, pero al momento de utilizarlos se tienen a temperatura ambiente (15-30° C).

Estuche de C5b-9 y presentación: El estuche para C5b-9 Enzyme Immunoassay Quidel, San Diego, CA, USA, contiene una placa de microtitulación con 12 x 8 pozos, estándar A, B y C; control alto y bajo, solución de lavado, diluyente de muestra, conjugado C5b-9, substrato concentrado, diluyente de substrato, solución para detener la reacción.

Preparación de reactivos: Se preparó la solución de lavado, con una dilución 1:40 de la muestra de suero con diluyente de muestra, para posteriormente preparar una dilución 1:25 de los controles bajo y alto de C5b-9 con diluyente de muestra; la solución de substrato se preparó antes de usarla.

El procedimiento del ensayo: Se preparó la placa de microtitulación rehidratando los pozos agregando 300 μ L de la solución de lavado usando un sistema automático (Organon Tecnika, microwell system waster 430) para llenar los pozos durante el proceso. Se incubó a temperatura ambiente por 2 minutos, retirándose el líquido de cada pozo, y para retirar el líquido restante se invirtió la placa sobre un papel absorbente. Posterior a esto se agregaron 100 μ L de diluyente de muestra para el pozo que fue usado como blanco, realizándose por duplicado al añadir 100 μ L de cada estándar C5b-9 (A, B y C) y controles con dilución (alto y bajo); se añadió 100 μ L de muestra diluida. Se incubó a temperatura ambiente por 60 \pm 1 min. Se procedió a lavar cinco veces los pozos de la placa.

Se agregó en cada pozo incluyendo el blanco 50 μ L de C5b-9 conjugado. Se incubó a temperatura ambiente por 60 \pm 1 min, y se preparó la solución de sustrato durante esta incubación. Se procedió a lavar 5 veces los pozos de la placa. Se añadió en cada pozo 100 μ L de solución de sustrato. Se incubó a temperatura ambiente por 30 \pm 1 min. Se añadió en cada pozo 50 μ L de solución para detener la reacción y se realizó la medición de absorbancia a 405 nm en el lector automatizado.

Interpretación de los resultados: La curva estándar para el C5b-9 fue generada usando un lector de placas de ELISA.

Los valores de absorbancia de las muestras se compararon en la curva estándar y fueron convertidos a ng/mL. Las concentraciones séricas de C5b-9 se determinaron multiplicando por el factor de dilución de la muestra.

VII. ANÁLISIS DE DATOS

Se usará prueba de t de Student para comparar las diferencias de medias de muestras independientes en grupos de pacientes con y sin dermatomiositis. La concentración de C5b-9 es la principal variable dependiente. Se realizará coeficiente de correlación de Pearson para cada grupo con la concentración de C5b-9.

VIII. RESULTADOS

Pacientes

Se estudió un total de 40 pacientes, de los cuales 20 fueron del sexo femenino (50%) y 20 del sexo masculino (50%), distribuidos en dos grupos. En el grupo de pacientes con dermatomiositis fueron 11 del sexo masculino (55%) y 9 del sexo femenino (45%). En el grupo de controles se incluyeron 9 del sexo masculino (45%) y 11 del sexo femenino (55%).

Los promedios de edad fueron de 31.35 ± 7.15 años (22-45 años) en el grupo de pacientes con dermatomiositis y de 32.20 ± 6.65 años (22-46 años) en el grupo de sujetos sanos.

Concentraciones séricas de C5b9

En cuanto a los valores de C5b9 en pacientes con dermatomiositis se encontraron en el orden de 2832.00 ± 1150.97 ng/ml (rango de 1322-4766 ng/ml).

En los sujetos sanos la medición de C5b9 se observaron valores de 1485.05 ± 570.79 ng/ml (rango de 564-2604).

Se muestran en los siguientes cuadros los valores obtenidos de C5b9 en los pacientes con dermatomiositis, (Cuadro 1) y de los controles (Cuadro 2).

CUADRO 1

CARACTERÍSTICAS Y VALORES DE C5B9 DE LOS PACIENTES CON DERMATOMIOSITIS		
Sexo	Edad (años)	C5b9 (ng/ml)
Masculino	22	1546
Masculino	26	2262
Femenino	34	2877
Femenino	23	3172
Masculino	31	2855
Masculino	37	4530
Masculino	42	1430
Masculino	25	1760
Femenino	28	3350
Femenino	33	2321
Femenino	36	4732
Femenino	32	1950
Femenino	35	2110
Femenino	22	3461
Masculino	29	4766
Masculino	45	1322
Masculino	34	3405
Masculino	44	2120
Femenino	23	1943
Masculino	26	4728

CUADRO 2

CARACTERÍSTICAS Y VALORES DE C5B9 DE LOS CONTROLES		
Sexo	Edad (años)	C5b9 (ng/ml)
Masculino	22	1830
Femenino	26	2150
Femenino	34	1230
Masculino	23	692
Masculino	31	1030
Femenino	37	1831
Femenino	42	1789
Masculino	25	1959
Masculino	28	2604
Femenino	33	564
Femenino	36	680
Femenino	32	1830
Masculino	35	2130
Femenino	22	1530
Masculino	29	1273
Femenino	31	1976
Femenino	46	1539
Femenino	37	1227
Masculino	35	983
Masculino	40	854

CUADRO 3. La comparación estadística entre los dos grupos por la prueba t de Student mostró diferencias significativas con una $p= 0.003$

GRUPO	N	Promedio (ng/ml)	Desviación Estándar
Pacientes con dermatomiositis	20	1485.05	570.79
Sujetos sanos	20	2832.00	1150.97

N: Tamaño de la muestra

En resumen, se presenta el promedio de las concentraciones séricas de C5b9 por grupo como se muestra en la figura 1

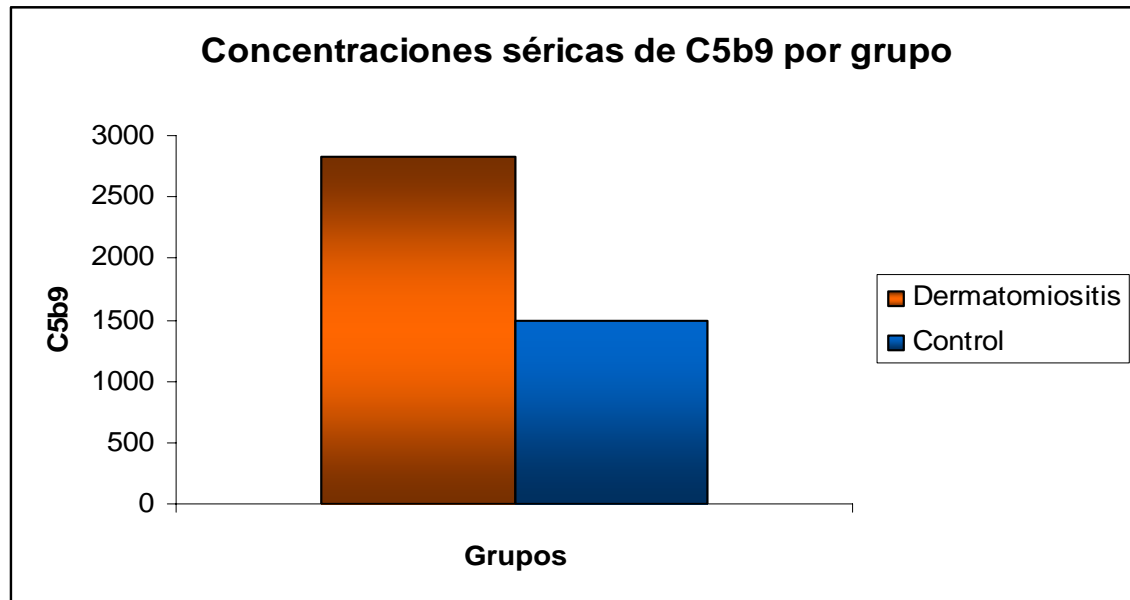


Figura 1 Concentraciones séricas de C5b9 por grupo

Por otro lado se realizó la correlación entre los valores de la concentración sérica de C5b9 con los niveles séricos de las enzimas musculares. En el siguiente cuadro se muestran los valores obtenidos en el grupo de pacientes con dermatomiositis de las enzimas musculares (DHL y CK).

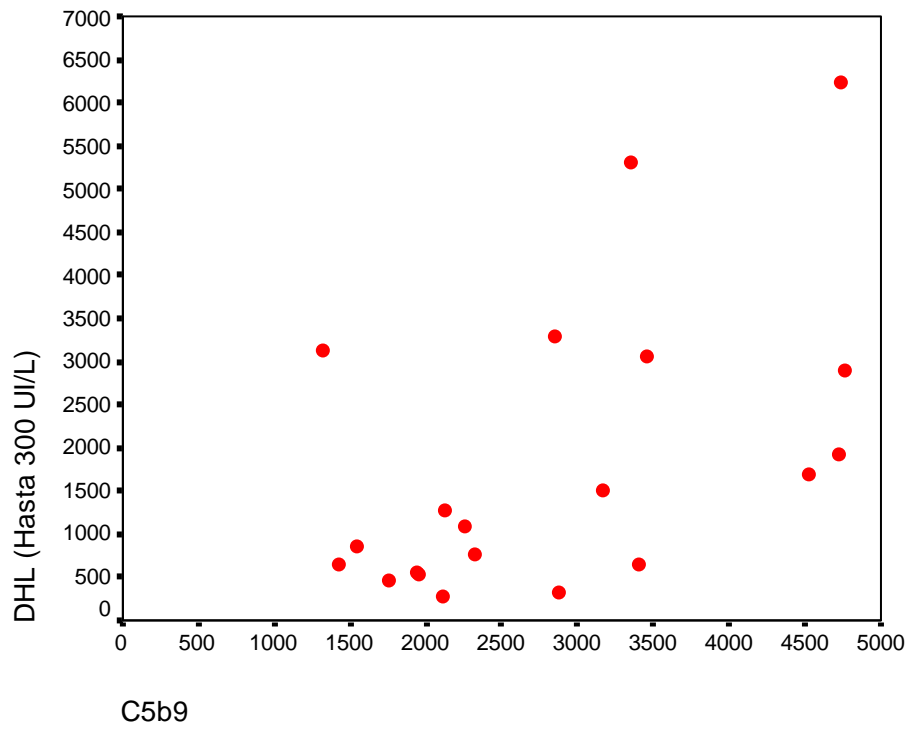
CUADRO 4 Valores de C5b9 y Enzimas musculares en los pacientes con dermatomiositis.

Sexo	Edad (años)	C5b9 (ng/ml)	CK (UI/L)	DHL (UI/L)
Masculino	22	1830	330	850
Femenino	26	2150	420	1100
Femenino	34	1230	294	320
Masculino	23	692	850	1500
Masculino	31	1030	1580	3300
Femenino	37	1831	1650	1690
Femenino	42	1789	434	650
Masculino	25	1959	295	463
Masculino	28	2604	2200	5300
Femenino	33	564	642	760
Femenino	36	680	3300	6227
Femenino	32	1830	369	540
Masculino	35	2130	195	289
Femenino	22	1530	1856	3056
Masculino	29	1273	1723	2899
Femenino	31	1976	1632	3120
Femenino	46	1539	295	652
Femenino	37	1227	943	1276
Masculino	35	983	340	557
Masculino	40	854	1349	1920

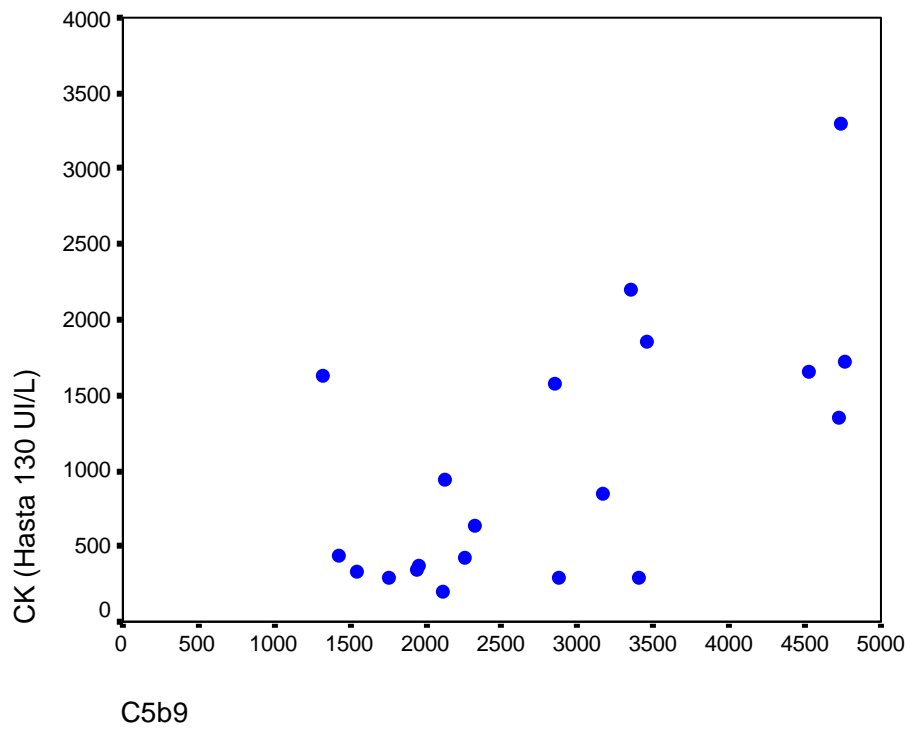
Al realizar la correlación entre los valores de C5b9 y los valores de la enzima muscular deshidrogenasa lactica (DHL) mediante prueba de Pearson con un valor de 0.525 (siendo significativa a un valor de 0.05)y una significancia de 0.017. La distribución de los valores se esquematiza en la Gráfica 1.

Y en el caso de la correlación entre los valores de C5b9 y creatin cinasa (CK) se obtuvo un valor de 0.649 mediante la prueba de Pearson (siendo significativa a un valor de 0.01), con una significancia de 0.002. La distribución de los valores se esquematiza en la Gráfica 2.

GRÁFICA 1



GRÁFICA 2



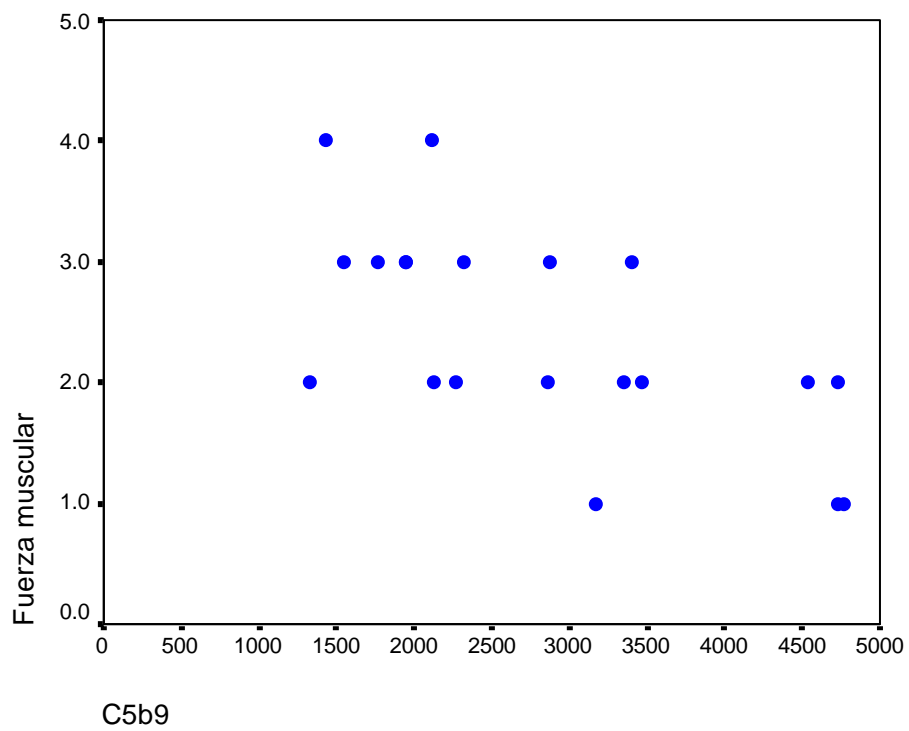
Por otro lado se evaluó la fuerza muscular en los pacientes con dermatomiositis al momento de la toma de la muestra, para realizar la correlación de esta con los valores de C5b9. Los valores se muestran en el siguiente cuadro. (Cuadro 5)

CUADRO 5

Sexo	Edad (años)	C5b9 (ng/ml)	Fuerza muscular
Masculino	22	1830	2/5
Femenino	26	2150	3/5
Femenino	34	1230	2/5
Masculino	23	692	4/5
Masculino	31	1030	3/5
Femenino	37	1831	3/5
Femenino	42	1789	1/5
Masculino	25	1959	2/5
Masculino	28	2604	3/5
Femenino	33	564	2/5
Femenino	36	680	3/5
Femenino	32	1830	2/5
Masculino	35	2130	1/5
Femenino	22	1530	3/5
Masculino	29	1273	4/5
Femenino	31	1976	3/5
Femenino	46	1539	2/5
Femenino	37	1227	3/5
Masculino	35	983	2/5
Masculino	40	854	4/5

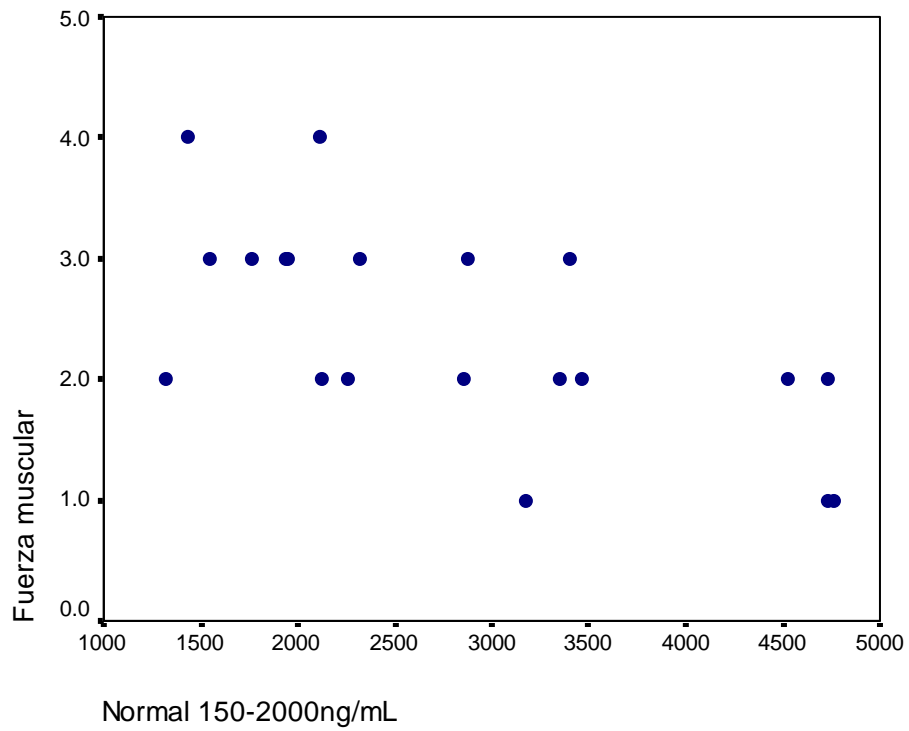
Al realizar la correlación de Pearson se obtuvo un valor de -0.645 , con una significancia de 0.002 (siendo significativo con un valor de 0.01). En la gráfica 3 se muestra la distribución de estos valores.

GRÁFICA 3



Al realizar correlación de Spearman se obtuvo un valor de -0.621 con una significancia de 0.003 (siendo significativo a un valor de 0.1 .)

En la siguiente gráfica se muestra la distribución de los valores obtenidos.



IX. DISCUSIÓN

Las proteínas del complemento son una pieza clave del sistema defensivo humano. La inflamación, la opsonización de microorganismos y la solubilización y aclaramiento de complejos inmunes, son algunas de las funciones importantes de este sistema. La activación del complemento, cuya magnitud está en relación directa con el grado de lesión hística, es un fenómeno biológico que se produce en muchas enfermedades. La medición de los fragmentos o complejos que se generan en la cascada de activación es útil para valorar la actividad de las mismas.

El sistema del complemento puede ser activado por 3 vías, (la vía clásica, vía alterna y la vía de la lectina) llevando a la formación del complejo de ataque a la membrana, y el ensamblaje de esta parte final de la vía del complemento a las células del endotelio conlleva a un incremento de calcio en el citoplasma y la liberación desde los gránulos intracelulares del factor de von Willebrand. Y esta respuesta secretoria inducida por C5b-9 está acompañada de vesiculación de partículas de la membrana desde la superficie endotelial la cual expresa sitios de unión para el factor Va y le da soporte a la actividad de la protrombinasa, y la capacidad de las proteínas del complejo de ataque a la membrana para inducir la vesiculación de endotelio y por ende la exposición de la superficie catalítica del complejo enzimático protrombinasa puede contribuir al depósito de fibrina asociado con el daño endotelial inmune.³⁴

Además de lo anterior es importante conocer que hasta el momento se han descrito deficiencias para la mayoría de las proteínas del complemento, sin embargo, corresponden al menor porcentaje (alrededor del 5%) de las inmunodeficiencias primarias reportadas, esto puede deberse a dos factores: que rutinariamente sólo se

evalúan el C3 y C4 en los pacientes en los que se sospecha alguna deficiencia del complemento, o no representa una causa importante de enfermedad porque la mayoría de estas alteraciones podrían ser muy leves o poco sintomáticas.

Las deficiencias del complemento son raras, pero cuando existen se han asociado con una susceptibilidad incrementada de enfermedad autoinmune o infecciones. La deficiencia del noveno componente del complemento (C9) es la deficiencia más común en Japón pero es rara en otros países. El desarrollo de lupus eritematoso sistémico y síndrome de lupus- *like* y la meningitis por meningococo se ha reportado en pacientes con esta deficiencia, pero muchos de estos individuos con deficiencia de C9 permanecen sanos. La deficiencia hereditaria de esta fracción del complemento que se encuentre asociada a dermatomiositis es rara y quizá se trate de casos coincidentales, permaneciendo poco claro el papel que juega esta deficiencia en el desarrollo y en la severidad de presentación de la dermatomiositis.

Considerando que el complejo de ataque a la membrana al unirse a la membrana de las células resulta en la generación de poros transmembrana que resultan en la muerte celular por necrosis o apoptosis, encontrándose estos depósitos de MAC en los vasos intramusculares, en las fibras musculares y en la unión dermoepidérmica de biopsias de pacientes con dermatomiositis implicando al MAC en la patogénesis de esta enfermedad. Por lo que al existir una deficiencia de C9 puede ser una ventaja al presentar disminución de la severidad de la inflamación en las enfermedades dependientes del complemento debido a que los individuos tienen disminuida la habilidad para la formación del MAC. Histológicamente se ha observado que no existe

necrosis o apoptosis en la piel o el músculo de los pacientes y que estos responden con mayor facilidad al tratamiento con corticoesteroides.³⁵

En este estudio, no se encontró predominio de sexo en ninguno de los grupos contrario a lo que frecuentemente se menciona en la literatura del predominio del sexo femenino. Los promedios de edad de ambos grupos fueron similares (resultado del pareamiento grupal).

Al realizar la evaluación de la medición de los valores de C5b9 en pacientes con dermatomiositis se encontró un promedio de 2832 ng/ml, y en los sujetos sanos el promedio en la medición de este fue de 1485 ng/ml. Y al realizar la comparación estadística de ambos grupos mediante la prueba *t* de Student se encontró una diferencia significativa con una $p = 0.003$.

Lo anterior es relevante ya que hay estudios recientes que se han enfocado en demostrar el papel del complemento en la patogénesis de la enfermedad y de manera más específica el depósito del complejo de ataque a la membrana a nivel de la pared de los vasos y de los tejidos afectados, y aunque en este caso se realizó la medición sérica de los niveles de C5b-9, lo cual representa un menor costo, podría orientar en cuanto a la severidad de la enfermedad.³⁶

Al realizar la correlación entre los valores de concentración sérica de C5b9 con los niveles séricos de las enzimas musculares. Se encontró para deshidrogenasa láctica mediante prueba de Pearson un valor de 0.525 y una significancia de 0.017, por lo que se puede observar que existe una buena correlación entre la elevación de los valores de C5b9 y de deshidrogenasa láctica. Al aplicar esta misma prueba pero con creatin cinasa

se encontró un valor de la prueba de Pearson de 0.649 siendo estadísticamente significativo.

Considerando que estas enzimas musculares se relacionan con el daño muscular, y la que se mide de forma habitual es la creatin cinasa (CK) dentro de los 3 subgrupos que comprende se encuentra la fracción MM que es más específica para músculo esquelético y aunque no es específica si es sensible, y su presencia de forma elevada se relaciona con peor pronóstico, por lo que podríamos considerar que al realizar la medición del complejo de ataque a la membrana C5b9 podemos determinar la severidad de la enfermedad y el pronóstico de la misma.

Al evaluar la fuerza muscular en los pacientes con dermatomiositis al momento de la toma de la muestra y compararla con los valores de C5b9 de estos pacientes mediante una correlación de Pearson se obtuvo un valor de -0.645 estadísticamente significativo. Con esto se puede considerar que ante una mayor severidad de la enfermedad hay una mayor disminución de la fuerza muscular y por lo tanto un valor mayor de C5b9

Al evaluar la fuerza muscular en los pacientes con dermatomiositis al momento de la toma de la muestra y correlacionarla con los valores de C5b9 mediante prueba de Spearman se obtuvo un valor de -0.621 estadísticamente significativo.

En varios estudios se ha demostrado el depósito del complejo de ataque a la membrana en un gran porcentaje de biopsias de la piel con lesiones, en las que los depósitos de C5b9 son a nivel de la unión dermoepidérmica hasta en el 86% de las biopsias estudiadas. Los depósitos en los vasos de la dermis se encontraron hasta en

77% de las biopsias. En este estudio se evalúa la elevación a nivel sérico del MAC siendo un medio más accesible para la determinación del mismo.

En otros estudios se ha indicado que existe un polimorfismo genético que puede tener influencia en la susceptibilidad de presentar alguna enfermedad autoinmune como por ejemplo el lupus eritematoso sistémico. Cuando hay deficiencia de los componentes de la vía clásica del complemento (C1q, C1r, C1s, C4 ó C2) se ha sugerido que existe una eliminación anormal no sólo de los complejos inmunes sino también de las células apoptóticas lo cual contribuye a la ocurrencia de LES, sugiriendo que niveles inapropiados de núcleos apoptótico que pueden ser una fuente de autoantígenos en la enfermedad autoinmune. Recientemente se ha reportado que la lectina ligada a manosa se puede unir a las células apoptóticas iniciando su captación por los macrófagos, y por lo tanto una eliminación anormal de las células apoptóticas relacionadas con la deficiencia de la lectina unida a manosa puede ser fuente de estos autoantígenos. Sin embargo la deficiencia en este factor del complemento (lectina unida a manosa) no es un factor de riesgo extremadamente alto, en contraste con lo que serían las deficiencias de otros componentes del sistema del complemento tales como C1q. Las consecuencias precisas de la deficiencia de la lectina unida a manosa en el inicio y progresión en el lupus eritematoso sistémico aún no son claras, sin embargo con estos hallazgos es posible identificar que en aquellos individuos en los cuales exista algún polimorfismo genético pueda existir el riesgo de desarrollar alguna enfermedad autoinmune.

El balance entre la producción y degradación determina los niveles séricos de la lectina unida a manosa. Como la presencia de depósitos de lectina unida a manosa se ha demostrado en los tejidos de enfermedades autoinmunes, se espera que estos se

consuman durante la fase activa de la enfermedad y que las concentraciones séricas puedan reflejar la actividad de la enfermedad y correlacionarse con los hallazgos clínicos de la misma, y que al iniciar el tratamiento de la enfermedad estos niveles muestren de manera indirecta la disminución de la actividad. Lo anterior se podría relacionar de manera análoga a lo que sucedería con la determinación de los niveles séricos del complejo de ataque a la membrana para poder determinar de manera indirecta la actividad de la dermatomiositis y evaluar la respuesta al tratamiento en la misma.^{37, 38}

Con lo anterior se considera que las proteínas reguladoras del complemento podrían tener una aplicación terapéutica en el futuro. El uso de un tratamiento encaminado a la interferencia con la activación del complemento y por lo tanto prevenir el daño tisular mediado por la cadena del complemento, sería una opción más en el tratamiento de la dermatomiositis donde se ha demostrado la alteración por el sistema del complemento, donde la lesión temprana se inicia en la microvasculatura donde hay depósito del complejo de ataque a la membrana o en los capilares intravasculares.

X. CONCLUSIONES.

Los avances en el estudio y conocimiento del complemento, hacen necesario su entendimiento para poder hacer las correlaciones con los padecimientos clínicos dentro de los cuales se encuentra la dermatomiositis.

Existe asociación entre la dermatomiositis y los niveles elevados de C5b9. Así mismo existe asociación entre los valores elevados de este y los valores de las enzimas musculares, por lo que podría ser de utilidad como medición de la actividad de la enfermedad.

XI. SUGERENCIAS PARA UN TRABAJO FUTURO.

Con base a lo presentado en el presente trabajo, se espera que se continúe con el estudio de la relación del sistema del complemento y sobretodo del complejo de ataque a la membrana en la patogenia de la dermatomiositis y que a partir de esto puedan surgir nuevos proyectos y trabajos enfocados en el estudio y desarrollo de nuevas opciones terapéuticas que se centren en el bloqueo de C5b9 para el control de la dermatomiositis y en la correlación entre la severidad y evolución de la enfermedad y la medición del CAM.

ANEXOS

ANEXO 1. CARTAS DE APROBACIÓN POR EL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN.

ANEXO 2. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

ANEXO 3. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

ANEXO 4. HOJA DE PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA.

ANEXO 2. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Autorización para participar en el estudio de investigación titulado:

Concentraciones séricas del Complejo soluble de ataque a membrana (C5b-9) en pacientes con Dermatomiositis.

Investigadores:

Dr. Andrés Tirado Sánchez. Servicio de Dermatología, Hospital General de México.

Dra. Rosa María Ponce Olivera. Servicio de Dermatología, Hospital General de México.

1. El proyecto de investigación corresponde a Riesgo mínimo, esto es, debido a la extracción de sangre por punción venosa, que se explicará mas adelante.

2. Apartados

I. El médico del estudio invita al paciente a participar en un estudio de investigación debido a que padece una enfermedad llamada Dermatomiositis, que es una enfermedad de la piel y los músculos. En este estudio se evaluará un nuevo estudio de laboratorio que servirá para determinar la severidad de la enfermedad que usted tiene (Dermatomiositis).

El reactivo que se va a medir se llama C5b-9 y se tratará de encontrar si existe una relación entre su enfermedad y la elevación de este producto en sangre. Para llevar a cabo esto se necesitará una muestra de sangre de 3mL que se analizará sin costo alguno y al analizarse se comparará con pacientes que no tengan la enfermedad.

II. Si participa en este estudio, requeriremos que acuda una sola vez, en la que tomaremos todos los datos necesarios para su participación. La toma de muestra de sangre de 3mL (cantidad que generalmente se toma con cualquier estudio de sangre), es el único procedimiento que se realizará y que implicará una pequeña molestia transitoria (dolor leve) en el sitio de la punción. El objetivo de esta toma de muestra es tener la cantidad en sangre de la sustancia llamada C5b-9 que se comparará con mediciones en sangre que haremos en pacientes sin la enfermedad, todo esto para ver si tiene relación con su enfermedad.

III. Además del tiempo que pierde en la consulta, otra de las molestias que puede usted tener es con los procedimientos de este estudio que podrán incluir los siguientes:

La inyección en la vena del brazo para obtener la muestra de sangre de 3mL puede incluir molestias en el sitio de la inyección como dolor leve a moderado, temporal, que no le impide hacer sus actividades normales ni le dejará secuelas en otras partes de su cuerpo.

Debido a que la muestra de sangre se tomará con todas las medidas de higiene, prácticamente evitamos cualquier tipo de contaminación en el sitio de la inyección, que si se presentara sería solo enrojecimiento e hinchazón en el sitio de la inyección, con un poco de dolor, que se quita con el uso de medicamentos que serían proporcionadas por el investigador en caso de presentarse lo anterior en el sitio de la inyección, y que se presente dentro de las dos semanas después de que se tomó la muestra de sangre.

IV. Es posible que este nuevo estudio de laboratorio nos permita, al encontrar relación con su enfermedad, implementar nuevos tratamientos para la dermatomiositis que podrían beneficiarlo a usted y a otros pacientes que padecen la enfermedad. Sin embargo, es importante que conozca que este estudio no es del todo infalible y puede darnos resultados no útiles. Su participación en el estudio podría no beneficiarlo, pero si podría ayudar a otras personas que tienen la misma enfermedad que usted, todo esto gracias a la información que obtengamos.

V. Gracias a la información que se obtenga se podrían desarrollar nuevos tratamientos específicos que nos permitirían controlar con mucha mayor eficacia la enfermedad que usted padece, con lo que se beneficiaría al reducir sus gastos de hospitalización ya que no la requeriría tanto al mantener adecuadamente controlada la dermatomiositis e incrementaría su calidad de su vida ya que los episodios de la enfermedad podrían reducirse al mínimo y muy pocos efectos a su organismo.

VI. El médico del estudio está para servirle y para contestarle cualquier pregunta que pueda tener acerca del estudio de laboratorio que ya le mencionamos o de otra cosa del mismo estudio.

VII. Usted como paciente no renuncia a ninguno de sus derechos legales por el hecho de firmar esta carta de consentimiento. Su firma como paciente indica que ha leído y

comprendido la información de esta carta. Además, al firmarla usted reconoce que se le ha explicado el estudio y que ha podido hacer preguntas sobre todo lo que no entendía bien, y que las preguntas han sido respondidas satisfactoriamente. Asimismo, usted comprende que su participación en el estudio es totalmente voluntaria (no es obligado). El no desear participar en el estudio no le traerá ningún problema, nadie se enojará con usted como paciente o con sus familiares y su decisión no tiene nada que ver en la atención médica a la que el paciente tenga derecho en esta institución de salud.

VIII. El paciente tiene derecho a que nadie sepa que usted participó en el estudio y toda la información que tengamos en este estudio permanecerán confidenciales, dentro de los límites que marque la ley.

Es posible que los resultados del estudio, cualquiera que sean, se publiquen en una revista seria, por lo que usted mediante la firma de este documento lo autoriza, siempre y cuando se mantenga secreta u oculta la identidad del paciente.

IX. En caso necesario, el paciente y la persona que sea el responsable legal tendrán derecho a conocer los resultados del estudio de laboratorio practicado, también a que se les explique lo que significa dicho resultado.

X y XI. Ni al paciente ni a los familiares se le cobrarán nada por el marcador de laboratorio ni por la (s) consulta (s) relacionadas con el estudio. El marcador de laboratorio será gratuito solo durante el estudio.

La atención de problemas de salud que no se relacionen con este estudio seguirá siendo responsabilidad del paciente, como lo hace habitualmente.

Ni el paciente ni los familiares recibirán compensación económica por la participación del paciente en el estudio.

En caso de algún problema relacionado con la investigación y que requiera ser revisado por un médico, este servicio será proporcionado en su totalidad por los investigadores hasta su resolución. No será posible la ayuda económica (indemnización) en caso de algún tipo de complicación relacionada con el estudio debido a que no contamos con recursos suficientes.

XII y XIII.

Nombre o huella digital del paciente _____ Fecha _____

Familiar o Responsable legal _____ Fecha _____

Testigo 1(Nombre y Dirección) _____ Fecha _____

Relación con el paciente _____

Testigo 2 (Nombre y Dirección) _____ Fecha _____

Relación con el paciente _____

XIV. Si el paciente o los familiares creen que el paciente tiene algún problema relacionado con este estudio, por favor contacte (n) de inmediato al Dr. Andrés Tirado Sánchez al celular 5530-48-6622 las 24hrs o al com. 2780-2000 ext. 1052 (lunes a viernes de 7 a 15hrs) o a la Dra. Rosa María Ponce Olivera, Tel. 5652-3999, celular 5554-03-2049 (las 24hrs), com. 2780-2000 ext. 1055 (lunes a viernes de 8 a 16hrs).

XV. En caso de requerir atención médica acudir al Servicio de Dermatología del Hospital General de México de lunes a viernes de 8 a 16hrs o al Servicio de Urgencias del Hospital General de México disponible las 24hrs.

ANEXO 3. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Proyecto de Investigación.- “Concentraciones séricas del Complejo soluble de ataque a membrana (C5b-9) en pacientes con Dermatomiositis”.

México, D.F. a _____ de _____ del 2006

Nombre _____

Número de expediente _____

Edad _____

Sexo _____

Evolución de la Dermatomiositis (Tiempo en meses/años) _____

Tratamiento actual _____

Concentración sérica de C5b-9 _____ Fecha.- _____

ANEXO 4. HOJA DE PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA.

Objetivo.- Detallar los pasos a seguir para una correcta recolección de muestra sanguínea para la determinación de las concentraciones plasmáticas de C5b-9.

Alcances.- Pacientes con carta de consentimiento informado.

Responsable.- Dr. Andrés Tirado Sánchez.

Referencias.- Instrucciones insertas en el estuche comercial Enzyme Immunoassay.

Equipamiento y materiales.- Tubos Vacutainer con anticoagulante EDTA (tapón morado), alcohol, torundas de algodón estéril, aguja para Vacutainer #21, adaptador de aguja (camisilla de plástico), ligadura, guantes de látex #7 estériles desechables, contenedor sólido para material punzocortante (caja roja con tapa blanca), contenedor de bolsa (roja con plástico grueso).

Desarrollo.-

1. La persona responsable de la toma de la muestra debe traer una identificación visible.
2. Preguntar al paciente su nombre y apellidos completos
3. Se identificar el tubo con la información del paciente, el número del expediente y la fecha.
4. Preparar todo el material necesario
5. Sentar al paciente, colocar el brazo del paciente en la paleta de la silla para la toma de la muestra.
6. Realizar asepsia al tapón del tubo
7. Colocar la aguja y el tubo al adaptador del Vacutainer
8. Seleccionar una vena periférica adecuada (extremidad superior derecha preferentemente)
9. Limpiar el área a puncionar con una torunda con alcohol, primero en la zona de punción y posteriormente en círculos excéntricos, esperar a que seque y no volver a tocar sin guantes.
10. Aplicar el torniquete (no mas de 1 minuto).
11. Ponerse los guantes y avisar al paciente de la punción
12. Puncionar en ángulo de 45° con respecto al eje de la piel, con el bisel de la aguja hacia arriba.
13. Extraer 3mL de sangre

14. Liberar el torniquete cuando la sangre comienza a fluir.
15. Colocar un nuevo algodón sobre el sitio de la punción y ejercer una presión suave por 1 a 3 minutos o hasta que no se vea rastro de sangrado.
16. Descartar la aguja y los guantes en los recipientes correspondientes.
17. Llevar el tubo inmediatamente a centrifugar
18. Pipetear el sobrenadante (plasma) y colocarlo en un criotubo previamente rotulado como en el tubo original de la muestra.
19. Posteriormente mantener en congelación a -20 o -30° C hasta su procesamiento.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kovac S, Kovacs SC. Dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 1998; 39:899-920.
2. Hachulla E. Dermatomyositis and polimiositis: clinical aspects and treatment; 152: 455-464.
3. Sontheimer RD. Dermatomyositis: an overview of recent progress with emphasis on dermatologic aspects. *Dermatol Clin* 2002;20: 387-408.
4. Del Pozo J, Almagro M, Martínez W, et al. Dermatomyositis and mucinosis. *Int J Dermatol* 2001; 40:120-124
5. Solans R, Cortes J, et al. Panniculitis: a cutaneous manifestation of dermatomyositis. *J Am Acad Dermatol* 2002; 82:48-51.
6. Hunger RE, Durr C, Brand CU. Cutaneous leukocytoclastic vasculitis in dermatomyositis suggest malignancy. *Dermatology* 2001; 202: 123-126.
7. Caproni M, Cardinali C, Parodi A, et al. Amyopathic dermatomyositis: a review by the Italian group of Immunodermatology. *Arch Dermatol* 2002; 138: 23-27.
8. Azhary RA, Pakzad SY. Amyopathic dermatomyositis: Retrospective review of 37 cases. *J Am Acad Dermatol* 2002;46:560-565.
9. Jorizzo JL. Dermatomyositis practical aspects. *Arc Dermatol.* 2002; 138:114-116.
10. Callen JP. Dermatomyositis. *Lancet* 2000; 355:53-57.
11. Basta, Marinos C. High-Dose Intravenous Immunoglobulin Exerts Its Beneficial Effect in Patients with Dermatomyositis by Blocking Endomysial Deposition of Activated. *Clin Invest.* 1994; 94:1729-1735.
12. Takata K, Bookbinder S, Furie R, et al. A pilot study of eculizumab in patients with dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2002; 46(Suppl 9): S489.
13. Koler RA. Dermatomyositis. *Am Fam Physician* 2001; 64: 1565-1572.
14. Porcel JM, Vergani D. El sistema del complemento: una fascinante cascada biológica. *Medicina Clínica* 1993; 100 (11):428-435.
15. Grönblad M, Habtemariam A, Virri J, Steisalo S, Vanharanta H, Guyer R. Complement membrane attack complexes in pathologic disc tissues. *Spine* 2001; 28: 114-8.
16. Walport MJ. Advances in immunology. *N Eng J Med* 2001; 344: 1058-66.

17. Molina H. Complement and immunity. *Rheum Dis Clin N Am* 2004; 30: 1-18
18. Manderson AP, Pickering MC, Botto M, Walport MJ. Continual low level activation of the classical complement pathway. *J. Exp. Med* 2001; 194 (6): 747-756.
19. Sim RB, Laich A. Serine proteases of the complement system. *Biochem Soc Trans* 2000; 28: 545-550.
20. Carroll MC. The role of complement receptors in induction and regulation of immunity. *Ann Rev Immunol* 1998; 16: 545-546.
21. Magro CM, Crowson AN, Harrist TJ. The use of antibody to C5b-9 in the subclassification of lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 1996; 134: 855-62.
22. Cooper NR. Complement evasion strategies of microorganism. *Inmunol Today* 1991; 12:327-331.
23. Dragon-Durey MA, Fremeaux-Bacchi V. Complement component deficiencies in human disease. *Presse Med* 2006; 35(5 Pt 2): 861-70
24. Helm KF, Peters MS. Deposition of membrane attack complex in cutaneous lesions of lupus erythematosus. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 687-691.
25. Bos JD. The skin immune system: lupus erythematosus as a paradigm. *Arch Dermatol Res* 1994; 287: 23-27.
26. Manzi S, Rairie JE, Carpenter AB, Kelly RH, Jagarlapudi SP, Sereika SM, Medsger TA Jr, Ramsey-Goldman R. Sensitivity and specificity of plasma and urine complement split products as indicators of lupus disease activity. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1178-1188.
27. Wang Y, Hu Q, Madri JA, et al. Amelioration of lupus-like autoimmune disease in NZB/W F1 mice after treatment with a blocking monoclonal antibody specific for complement component C5. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 8563-8568.
28. Choy EH, Hoogendijk JE, Lecky B, Winer JB. Immunosuppressant and immunomodulatory treatment for dermatomyositis and polymyositis. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;3:CD003643.
29. Goncalves FGP, Chimelli L, et al. Immunohistological analysis of CD59 and membrane attack complex of complement in muscle in juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol* 2002; 29: 1301-1307.
30. Emslie Smith AM, Engel AG. Microvascular changes in early and advanced dermatomyositis: a quantitative study. *Ann Neurol* 1990; 27: 343-356.

31. Mascaro JM Jr, Hausmann G, Herrero C, Grau JM, Cid MC, Palou J, Mascaro JM. Membrane attack complex deposits in cutaneous lesions of dermatomyositis. *Arch Dermatol* 1995; 131: 1386-1392.
32. Rother RP, Mojciak CF, McCroskery EW. Inhibition of terminal complement: a novel therapeutic approach for the treatment of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2004; 13: 328- 334
33. Mollnes TE, Lea T, Harboe M. Detection and quantification of the terminal C5b-9 complex of human complement by a sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Scand J Immunol* 1984; 20: 157-166.
34. Hamilton K, Hattori R, et al. Complement proteins C5b-9 Induce vesiculation of the endothelial plasma membrane and expose catalytic surface for assembly of the prothrombinase enzyme complex. *J Biol Chem* 1990; 265 (7): 3809-3814.
35. Ichikawa E, Furuta J , et al. Hereditary complement (C9) deficiency associated with dermatomyositis. *Br J Dermatol* 2001; 144:1080-1083
36. Santmyire B, Dugan E. Skin involvement in dermatomyositis. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15: 714-722.
37. Takahashi R, Tsutsumi A. et al. Association of mannose binding lectin (MBL) gene polymorphism and serum MBL concentration with characteristics and progresion of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:311-314
38. Seelen M A, Van Der Bijl EA, Trouw A, et al. A role for mannose-binding lectin dysfunction in generation of autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2004; 1-9.
39. Kirschfink M. Targeting complement in therapy. *Inmunol Rev* 2001; 180: 177-189.