

Miopatías Necrotizantes Autoinmunes: Reconocimiento como nuevo subgrupo de Miopatía Inflamatoria Idiopática

GIANNI SCHIAPPACASSE POYANCO

Médico Internista, Unidad de Reumatología, Servicio de Medicina Interna, Hospital Dr. Gustavo Fricke, Viña del Mar.

Palabras Clave:

- Miopatía Inflamatoria Idiopática
- Anticuerpos específicos de miositis
- Miopatía necrotizante autoinmune
- Anticuerpo anti partícula de reconocimiento de señal
- Anticuerpo anti Hidroxi 3 metilglutaril-CoA reductasa

RESUMEN

Miopatía Necrotizante Autoinmune (MNA) fue reconocida como nuevo subgrupo de miositis luego de observar en biopsias musculares la presencia de necrosis con escaso o ausente infiltrado inflamatorio, sumado a la expresión de dos anticuerpos específicos de miositis (Anticuerpo anti Partícula de Reconocimiento de Señal, anti-SRP; y Anticuerpo anti Hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa, anti-HMGCR), ambos fuertemente asociados al hallazgo histológico descrito y a fenotipos clínicos característicos a cada anticuerpo, los cuales comparten importantes similitudes representadas por severa debilidad muscular proximal, gran elevación de creatinquinasa (CK), escasa manifestación de síntomas y signos extramusculares, y resistencia al uso de inmunosupresión habitual. Si bien en primera instancia los criterios de clasificación propuestos estaban basados en la histología, la observación de necrosis en otros subgrupos de miositis, sumado a la homogeneidad del comportamiento clínico de pacientes que expresaban anticuerpos anti-SRP o anti-HMGCR independiente de la histología presentada, llevó en el año 2016 al Grupo de Trabajo del Centro Europeo Neuromuscular (ENMC) a establecer criterios diagnósticos de MNA basados en el comportamiento clínico (debilidad muscular proximal con CK total elevada) más la presencia del anticuerpo respectivo (anti-SRP o anti-HMGCR), reservando la necesidad de realizar biopsia muscular en el caso que la serología resulte negativa, siendo así reconocidas tres entidades distintas de MNA: **Miopatía anti-SRP, Miopatía anti-HMGCR y Miopatía Necrotizante seronegativa**. La presente revisión expresa el actual conocimiento de MNA y sus subtipos, refiriéndose a aspectos históricos, clínicos, histológicos, inmunopatológicos, y de pronóstico y tratamiento.

Correspondencia: Dr. Gianni SCHIAPPACASSE
gianni259@hotmail.com

Keywords:

- Idiopathic Inflammatory Myopathy
- Specific Myositis Antibodies
- Necrotizing Autoimmune Myopathy
- Anti-signal recognition particle Antibody
- Anti-3-Hydroxy Methylglutaryl-CoA Reductase -Antibody

SUMMARY

Necrotizing autoimmune myopathy (NAM) was recognized as a new subgroup of myositis after the observation of necrosis with mild or absent inflammatory infiltrates in muscle biopsies, in addition of expression of two specific myositis antibodies (antiSRP and antiHMGCR), which are strongly associated to the mentioned histologic findings, with different clinical phenotypes depending on the presence of each antibody, but sharing some features like severe proximal muscle weakness, significant elevation of creatin phosphokinase (CK), mild extramuscular involvement and resistance to commonly used immunosuppressants. The first proposed approach to classification criteria was histology-based, nonetheless the observation of necrosis in some other types of myositis and the homogeneity of clinical features in patients expressing antiSRP or antiHMGCR despite the histologic findings led to a new classification scheme led by the European Neuromuscular Center in 2016, which recognizes three different clinical entities of NAM, based on the antibody expression plus the presence of proximal muscle weakness, relying histology to a secondary place thus eliminating the need for immediate biopsy to establish a diagnosis: those are antiSRP myopathy, antiHMGCR myopathy and seronegative necrotizing myopathy, being the last one the only needing muscle biopsy. The present review shows the actual knowledge about NAM and its subtypes, referring to historic, clinical, histologic, immunopathologic, prognostic and therapeutic issues.

Introducción. Aspectos Históricos y Evolución en Criterios de Clasificación de Miositis

Miopatías Inflamatorias Idiopáticas (MII), también conocidas como Miositis, constituyen un amplio y heterogéneo grupo de patologías, que comparten como característica clásica debilidad muscular secundaria a inflamación crónica del tejido muscular. De naturaleza sistémica, generalmente comprometen, en grado variable, órganos extramusculares tales como piel, pulmón, articulaciones y tracto digestivo¹⁻³.

Durante años, los criterios de Bohan y Peter^{4,5} fueron utilizados como base para describir las características de los pacientes con miositis, sustentados en la presencia de debilidad muscular proximal, elevación de enzimas musculares, electromiografía con alteraciones compatibles con miopatía y biopsia muscular alterada. Inicialmente se establecieron dos subgrupos, Polimiositis (PM) y Dermatomiositis (DM), los cuales fueron diferenciados a partir de la presencia o ausencia clínica de compromiso cutáneo, y años más tarde por fenotipo histopatológico

manifestado: invasión de endomisio por tejido inflamatorio linfocitario en fibras musculares no necróticas en polimiositis, y atrofia perifascicular con presencia de infiltrado inflamatorio en perimisio en dermatomiositis^{6, 7}. Concomitantemente, un nuevo grupo iba siendo caracterizado^{8,9}, cuya clínica incluía compromiso muscular de lenta progresión, patrón de debilidad asimétrico con compromiso de musculatura tanto proximal como distal, con biopsia que evidenciaba una histopatología muy similar a la de pacientes con polimiositis, excepto por la presencia de vacuolas de inclusión en fibras musculares, subgrupo bautizado como Miopatías por Cuerpos de Inclusión (MCI). En el año 1991, Dalakas⁷ propone criterios de clasificación para los tres subtipos de miopatías hasta ahora descritos, con fuerte respaldo en los hallazgos histológicos observados a la biopsia muscular, y en el año 1995, Griggs¹⁰ establece criterios diagnósticos para Miopatías por Cuerpos de inclusión.

Los últimos 25 años, gracias al constante avance en técnicas de inmunohistoquímica e histopatología (lo que permitió una mejor descripción e interpretación de muestras de tejido muscular), pero principalmente por el progresivo descubrimiento de nuevos anticuerpos espe-

cíficos de miositis (MSA, por sus siglas en inglés)¹¹⁻¹³, han sido testigos de una revolución en el conocimiento y la comprensión de los mecanismos histopatológicos y fisiopatológicos involucrados en la generación de MII. El descubrimiento de la fuerte asociación existente entre cada MSA con un determinado fenotipo clínico de miopatía, y la exclusividad mutua observada entre cada MSA (un paciente generalmente posee sólo un MSA), llevó a la descripción de nuevos subgrupos, determinando diferencias tanto en el pronóstico como en el grado de respuesta a tratamiento inmunosupresor en cada uno de ellos. Lo anterior implicó un cambio de paradigma, ya que no sólo sumó a la serología como elemento necesario para la determinación diagnóstica de subgrupo específico de miopatía, sino que, además, causó un desplazamiento progresivo de la histopatología como piedra angular en la confirmación diagnóstica. Como consecuencia, se generó una permanente necesidad de formular y revisar nuevos criterios de clasificación a medida que los nuevos hallazgos iban siendo publicados^{2, 14-17}, lo que ha impedido el establecimiento de un set de criterios universalmente reconocidos. En este contexto de avances y nuevos descubrimientos, hay consenso en la abundante literatura existente, en reconocer desde la primera década del presente siglo, dos nuevos subgrupos de miopatías, ambas escindidas desde polimiositis: **Miopatías Necrotizantes Autoinmunes (MNA)**^{15,18}, grupo que será abordado en la presente revisión, y **Miopatías Asociadas a Síndrome Antisintetasa**^{19,20}, las cuales fueron reconocidas al descubrir la asociación existente entre los diversos anticuerpos aminoacil tRNA sintetetasas (ASS) con manifestaciones clínicas características (debilidad muscular proximal, compromiso pulmonar intersticial, manos de mecánico, fenómeno de Raynaud y Artritis inflamatoria no erosiva), que si bien son de expresión común en los Síndromes Antisintetasa, se manifiestan con porcentaje de presentación variable según el autoanticuerpo expresado (compromiso pulmonar intersticial se presenta en un 50% de los casos en Síndrome Antisintetasa Jo-1, pero sube a 90% en PL-12).

En la actualidad, y basado en características tanto clínicas, serológicas e histopatológicas, son reconocidos cinco subgrupos de miopatías^{21,22}: Polimiositis; Dermatomiositis (subdividida a su vez en diversos fenotipos clínicos asociados a MSA característicos de DM, tales como MDA-5, MI-2, TIF-1y, y otros más); Miopatías por Cuerpos de Inclusión; Miopatías asociadas a Síndromes

Antisintetasa y Miopatías Necrotizantes Autoinmunes, estos tres últimos subgrupos separados y reconocidos como entidades independientes de Polimiositis. Dado el reconocimiento de nuevos subtipos, Polimiositis es actualmente considerada una patología de muy baja prevalencia, que debe ser planteada como diagnóstico de exclusión, siendo necesario descartar la presencia de otros subgrupos de MII así como otras causas de compromiso muscular (hereditarias, degenerativas, etc.)¹.

Miopatía Necrotizante Autoinmune fue reconocida como nuevo subgrupo tras observar en biopsias de ciertos pacientes con polimiositis, la presencia de necrosis de fibras musculares con escaso o ausente infiltrado inflamatorio¹⁸. Estos pacientes compartían como características adicionales una mayor severidad en la debilidad del compromiso muscular, gran elevación de creatinquinasa (CK) y escasas manifestaciones de compromiso sistémico extramuscular, junto con presentar en muestras de suero de algunos de ellos **anticuerpo anti SRP** (Anticuerpo anti Partícula de Reconocimiento de Señal), el cual ya había sido identificado en el año 1986 en grupos de pacientes con manifestaciones clínicas de polimiositis, y ya reconocido como anticuerpo específico de miositis (MSA)²³. Tras estos hallazgos, en el año 2003, luego del 119° encuentro del grupo de trabajo del Centro Europeo Neuromuscular (ENMC)¹⁵, se definieron los primeros criterios de MNA, basados fundamentalmente en hallazgos histopatológicos, siendo reconocidas por primera vez como una entidad separada de polimiositis. No obstante, pocos años más tarde, nuevos descubrimientos hicieron necesario replantear los criterios en los que fueron basados esos iniciales criterios de clasificación: en el año 2010 se identificaron por primera vez un grupo de anticuerpos que posteriormente serían reconocidos como los **Anticuerpos anti HMGCR** (Anticuerpo anti Hidroxi 3 metilglutaril-CoA reductasa), por screening en sueros de pacientes con MNA “sero-negativa”, a través de la utilización de técnicas de inmunoprecipitación de antígenos desde extractos de células HeLa. Se observó que el suero de estos pacientes contenía anticuerpos que inmunoprecipitaba antígenos proteicos con peso molecular de 100 y de 200 kDa²⁴, observándose adicionalmente que la mayoría de los individuos portadores de estos sueros tenía historia de utilización previa de estatinas, proporcionando el primer vínculo de uso de este grupo de fármacos con el desarrollo de miopatía necrotizante. Un año más tarde, en 2011, estos antígenos inmunoprecipitados fue-

ron identificados como HMGCR en su forma monomérica (100 kDa) y dimérica (200 kDa)²⁵. Dado que HMGCR constituye el blanco farmacológico de las estatinas, permitió asociar con más fuerza el uso del fármaco con esta nueva entidad patológica.

En los siguientes años, posteriores estudios evidenciaron que la presencia de necrosis en biopsias musculares puede ser encontrada en un significativo número de pacientes con otros subtipos de MII, así como en otras miopatías (necrosis constituye la característica predominante en el 16% de pacientes con manifestaciones clínicas y serológicas de DM²⁶, en el 15% de pacientes que expresan Jo-1 con Síndrome Antisintetasa²⁶, en el 20% de esclerodermia asociado a miositis²⁷, y también es común en algunas miopatías hereditarias²⁸). A la inversa, cerca del 20% de pacientes con anticuerpos SRP^{29,34} y HMGCR^{25,30} tienen infiltrado inflamatorio perivascular en sus biopsias musculares, pero son clínicamente indistinguibles de otros pacientes con MNA^{31,32}. Dadas las limitaciones y la falta de certeza observadas en las muestras de biopsias para establecer subgrupos, versus la utilidad demostrada por los MSA como marcadores de clasificación, identificando subgrupos de pacientes con buen correlato clínico y pronóstico; tras el 224° encuentro del grupo de trabajo del ENMC (2016), se redefinieron los criterios de clasificación de MNA reconociéndose tres subtipos, basados primeramente en criterios serológicos y clínicos: **Miopatía anti SRP**, **Miopatía anti HMGCR** y **MNA seronegativa**. La presencia de niveles séricos elevados de CK más la constatación de debilidad proximal son suficientes para el diagnóstico de Miopatía anti-SRP y Miopatía anti-HMGCR en pacientes que posean el anticuerpo respectivo; mientras que en pacientes que sean seronegativos, será necesario la obtención de biopsia para demostrar la presencia de rasgos histopatológicos característicos de MNA¹⁶.

Manifestaciones Clínicas

Debilidad muscular de predominio proximal constituye la principal manifestación clínica, y en la gran mayoría de los casos la única, dada la escasa frecuencia de compromiso extramuscular^{29,33,34}. Existe consenso en los principales trabajos en la descripción del compromiso muscular: predominio proximal, simétrico, mayor afectación de las extremidades inferiores que las superiores, siendo los músculos flexores de la cadera los más severamente comprometidos al momento del diagnóstico. Con

un patrón de presentación predominantemente subagudo, en el 75% de los casos se produce la primera consulta antes de los 12 meses del inicio del cuadro, mientras que el 25% restante presenta un perfil de progresión crónico que puede simular una distrofia muscular^{29,33}. MNA se caracteriza por la mayor severidad en el compromiso muscular al ser comparado con los restantes subgrupos de MII; al comparar entre subtipos de MNA, esta manifestación clínica es mayor en pacientes con miopatía anti-SRP que en anti-HMGCR³³ (2/3 de los pacientes con miopatía anti-SRP expresan debilidad muscular $\leq 3/5$ según escala de fuerza muscular de Medical Research Council) (MRC). Al comparar por edades, en pacientes con miopatía anti-SRP, la severidad en el compromiso muscular ha demostrado ser mayor en pacientes que debutan a edades más tempranas versus aquellos de edad con debut más avanzada^{29,34}. Respecto a otros aspectos, disfagia fue frecuentemente encontrada, especialmente en anti-SRP en más de la mitad de los casos^{29,33,34}. Disnea por compromiso de musculatura respiratoria se describe en un 12% de pacientes anti-SRP, usualmente en pacientes muy severamente afectados, reportándose necesidad de ventilación mecánica en algunos de ellos^{29,33}. Atrofia muscular también es frecuente, con mayor presencia en el grupo anti-SRP en más del 60% de los casos, con manifestación principal como escápulas aladas, planteando como diagnóstico diferencial Distrofia Muscular Fascio-escápulo-humeral²⁹.

Manifestaciones extramusculares son de escasa presentación, aunque son descritas con cierto patrón de frecuencia en anti-SRP y de manera anecdótica con algunos casos en reportes de anti-HMGCR^{29,33,34}. Compromiso pulmonar intersticial puede ser encontrado de un 10% al 20% de pacientes anti-SRP, con un patrón no específico, con síntomas respiratorios generalmente leves. Reportes iniciales destacaban la alta prevalencia (hasta 40%) de compromiso cardíaco en pacientes SRP³⁵, asociación que no ha sido demostrada en últimas publicaciones. Otras manifestaciones como Fenómeno de Raynaud, exantema cutáneo o artritis, son descritas en menos del 5% de pacientes^{29,30,34}.

El riesgo de asociación de desarrollo de cáncer con miopatía, el cual es definido por la probabilidad de su manifestación 3 años antes o 3 años después del diagnóstico, en MNA es variable según el subtipo. MNA seronegativa ha sido asociada con mayor riesgo de malignidad (al menos ocho veces mayor riesgo que en población

general), impresionando existir asociación más débil en anti-HMGCR. No hay reportes que informen de prevalencia elevada de cáncer en subtipo anti-SRP³⁶.

Laboratorio

Elevación de creatinquinasa (CK) es significativamente mayor en pacientes con MNA al ser comparados con otros subgrupos, con valores promedio sobre 6000 UI/L en los reportes publicados, siendo frecuente en algunos casos cifras mayores a 10000 o incluso sobre 20000 UI/L^{29,33,34}. No hay diferencias reportadas en elevación promedio de CK entre los tres subtipos de MNA³⁴. Respecto a asociación con actividad de enfermedad, es conocido que en algunas formas de miositis valores de CK puede no representar actividad. En DM, por ejemplo, la disfunción muscular se produce por inflamación perivascular alrededor de perimisio, con resultado de atrofia de fibra muscular en zona perivascular, sin disrupción de la membrana celular, y consecuentemente sin liberación de CK, lo que explica cifras levemente elevadas o incluso normales en fase activa de la enfermedad. No obstante, en MNA, dado la prominente necrosis de fibras musculares, la actividad de enfermedad está casi siempre asociada con el grado de elevación de CK, lo que permite su utilización para monitoreo de respuesta a tratamiento inmunosupresor (primero ocurre descenso de CK, para luego de semanas a meses reflejarse en recuperación de fuerzas), y para la detección de reactivación de enfermedad. Otros marcadores, con elevación menos predecible, inespecíficos de tejido muscular dado su presencia en otros tipos celulares, son transaminasas pirúvica y oxalacética (GPT y GOT respectivamente), lactato-deshidrogenasa (LDH) y aldolasa^{29,33,34}.

Como fue señalado, el estudio de anticuerpos específicos es esencial tanto para el diagnóstico como para la clasificación de miositis, existiendo dos anticuerpos fuertemente asociados a MNA: anti-SRP y anti-HMGCR. SRP es un complejo ribonucleoproteico formado por 6 cadenas polipeptídicas de 9, 14, 19, 54, 68 y 72 kDa unidas a una pequeña molécula de ARN de 7S (Svedberg). Difusa y extensamente distribuida por el citoplasma celular, su función consiste en reconocer y transportar péptidos en formación desde el ribosoma a la membrana celular del retículo endoplasmático rugoso (RER) para que continúen su proceso de traducción^{37,38}. HMGCR es la enzima que controla la vía del mevalonato, vía metabólica impli-

cada en la formación de colesterol. Anclada en la membrana del RER, constituye el blanco para la acción inhibitoria ejercida por las estatinas, utilizados ampliamente como hipolipemiantes³⁷. Los dos anticuerpos contra estos dos autoantígenos fueron reconocidos por técnicas de inmunoprecipitación^{23,24}, actualmente validada como *gold-standard*, con especificidad reportada de 94% a 100% y sensibilidad de 95% a 100%³⁹. No obstante su alto costo y baja disponibilidad clínica, ha llevado al desarrollo alternativo de kits basados en técnicas de ELISA o de *Western-Blot*, ambas con alta sensibilidad en pacientes con elevada probabilidad pretest (CK total muy elevada con debilidad proximal severa). Es importante destacar que algunos de los kits de ELISA utilizan como antígeno a testear sólo la subunidad de 54 kDa del complejo SRP, lo que puede llevar a falsos negativos en aquellos pacientes que no demuestren reactividad a este antígeno, pero sí a alguna de las otras subunidades o a la partícula de RNA, como fue destacado por Suzuki en un reporte de 100 pacientes anti-SRP en población japonesa (82% de sensibilidad para el kit)²⁹.

Estudios Complementarios

Electromiografía (EMG) puede demostrar utilidad en las fases iniciales del proceso diagnóstico para confirmar la presencia de un patrón de miopatía (potenciales de unidad motora de corta duración, polifásicos de baja amplitud y precozmente reclutados, siendo también frecuente observar fibrilaciones, incremento de actividad espontánea y ondas agudas positivas) permitiendo descartar de otras causas de debilidad muscular, como neuropatía o miastenia gravis, aunque estos hallazgos también pueden ser vistos en pacientes con miopatías tóxicas, distrofias musculares, algunas miopatías congénitas y con otros subtipos de MII^{1,3}.

Resonancia Nuclear Magnética (RM) evidencia la distribución y severidad tanto de la enfermedad activa como del daño muscular crónico. En secuencia STIR, presencia de hiperintensidad intramuscular refleja edema muscular activo con inflamación o necrosis de la fibra, con regresión de imágenes en caso de tratar exitosamente enfermedad autoinmune subyacente. Por otro lado, secuencia T1 son utilizadas para valorar reemplazo muscular por tejido graso, lo cual constituye consecuencia del crónico y severo proceso miopático. En este contexto, si bien RM tiene limitado valor en diagnosticar pacientes con MNA dado la escasa discriminación entre

los diversos subgrupos de miopatía, tiene gran utilidad en la evaluación de la evolución temporal de la enfermedad muscular. El grado de reemplazo graso versus el de edema permite establecer pronóstico y justificar funcionalidad en pacientes con gran debilidad con enfermedad inactiva pero gran reemplazo graso. Por otro lado, dado que el compromiso muscular ocurre en parche, alternando zonas de músculo afectadas con áreas de músculo sano, en caso de plantearse necesidad de biopsia, la realización de RM permite una adecuada selección de la zona a biopsiar^{3,40}.

Biopsia Muscular

La presencia de necrosis junto con zonas de regeneración de fibras musculares (esta última característica más frecuente de observar), de distribución dispersa, con ausencia o escaso infiltrado inflamatorio (si está presente formado principalmente por macrófagos), constituye la descripción clásica de MNA^{16,41}. No obstante, de un 15% a un 25% de pacientes presentan significativo infiltrado inflamatorio linfocitario alrededor de fibras no necróticas^{24,25,29}. Sobreexpresión del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo I (MHC-I) sobre el sarcolema de fibras no necróticas puede ser observado en el 50% de los casos^{30,33}, mientras que el depósito de Complejo de Ataque Membrana (MAC por sus siglas en inglés), va del 15% al 65% en anti-HMGCR y alrededor de 20% en anti-SRP, siendo mucho menos observado en MNA-seronegativa^{33,42}. El depósito de MAC (C5b-9) en el sarcolema de fibras no necróticas y de regeneración, a través de la activación de complemento mediado por complejo antígeno-anticuerpo, constituye una de las evidencias que respalda el rol patogénico directo de ambos anticuerpos en el desarrollo de la miopatía^{37,42}.

Como fue señalado, según lo establecido por recientes criterios, la realización de biopsia muscular no es necesaria para el diagnóstico de miopatía anti-SRP ni anti-HMGCR, requiriéndose sí para el diagnóstico de Miopatía seronegativa¹⁶.

Epidemiología

Estimaciones de prevalencia de MII la sitúan en 10 a 30 casos por 100000 habitantes^{43,44}, representando MNA de un 10% a un 30% del total de pacientes con MII^{33, 34}. Analizando por subtipo de MNA, las tres se distribuyen con una frecuencia de presentación similar, sin observar

un predominio significativo de una por sobre otra, según estudio realizado por Watanabe en población japonesa³³. En cuanto a sexo y edad, existe un claro predominio en población femenina (60-70%)^{29,33,34}, con una amplia dispersión en las edades de inicio para ambas patologías (desde niños hasta adultos sobre 80 años), siendo más frecuente una edad de debut entre los 40 y 55 años para ambas patologías^{29,33-45}. No existe un predominio racial que determine diferencias étnicas en la prevalencia de anti-SRP o anti-HMGCR³¹. Tanto Miopatía anti-SRP como anti-HMGCR han sido descritas en niños y adolescentes, en un bajo porcentaje, y algunas veces con un curso crónico de presentación, siendo por tanto un importante diagnóstico diferencial de Distrofia Muscular de cintura pélvico-humeral, sobre todo en los casos en los cuales la mutación no ha sido encontrada, por lo que la búsqueda de anticuerpos es recomendada dado que MNA constituye una afección tratable^{29,46}.

Etiopatogenia

Si bien los mecanismos fisiopatológicos subyacentes aún permanecen desconocidos, existe fuerte evidencia que apoya la naturaleza autoinmune de la patología: 1. Asociación directa entre los niveles plasmáticos de autoanticuerpos (anti-HMGCR y anti-SRP) con los niveles de CK y la severidad de debilidad muscular. Estudios han observado que tras la instauración de tratamiento inmunosupresor, junto con la mejora de la debilidad muscular y de la regresión de valores de CK, ocurre también disminución, e incluso ausencia de títulos de anticuerpos en suero^{29,47-49}. 2. El reconocimiento de SRP y de HMGCR presentes en el sarcolema de fibras musculares por sus respectivos autoanticuerpos conduce a la formación de complejo antígeno-anticuerpo⁴²; sumado a la detección de complemento con la presencia de C1q y de MAC (C5b-9) sobre la membrana celular de fibras no necróticas, respalda la hipótesis de activación de la vía clásica del complemento mediada por complejo antígeno-anticuerpo^{42,50}. 3. Presencia de macrófagos en endomisio^{42, 52} con sobreexpresión de citoquinas con perfil Th1 (IL-1 β , IL-6, IFN γ) así como NOS2 y STAT1, sugiere su rol patogénico activo en el daño de fibras musculares^{37,42}.

Los mecanismos patogénicos desencadenantes de la formación de autoanticuerpos y de la expresión de proteínas citoplasmáticas (SRP) y de RER (HMGCR) sobre la membrana celular de fibras musculares no ha sido dilucidado. No obstante, la fuerte asociación de anti-HMGCR

con el uso de estatinas ha llevado al planteamiento de posibles mecanismos de inicio de autoinmunidad para este subtipo de MNA. En este contexto, el aumento en los niveles de HMGCR secundario al uso de estatinas, puede conducir a un aberrante procesamiento de la proteína con la subsecuente producción de neoantígenos. Alternativamente, la unión de estatinas a HMGCR puede cambiar la conformación inicial de la proteína, exponiendo nuevos epítopes o epítopes crípticos a la célula presentadora de antígeno (CPA), y potencialmente despertar actividad en Linfocito T CD4 (LT)⁵².

Factores de riesgo genéticos han sido identificados tanto en miopatía anti-SRP como anti-HMGCR, dado principalmente por alelos MHC. En este contexto, MHC II DRB1*11:01 ha sido fuertemente asociado con miopatía anti-HMGCR, con un OR (odds ratio) mayor a 20 en población caucásica y mayor a 50 en población de raza negra⁵³⁻⁵⁵. Este alelo se encuentra en el 70% de los individuos con autoanticuerpos anti-HMGCR, pero sólo en un 10% a 15% de la población general⁵³⁻⁵⁵. En población japonesa, se ha encontrado asociación con MHC II DRB1*08:03 con desarrollo de miopatía anti-SRP, destacándose un OR de 2,5⁵⁵.

Entre los factores de riesgo ambientales identificados, la exposición a estatinas es el más importante para el desarrollo de MNA, específicamente miopatía anti-HMGCR. Mammen describió una clara asociación entre la exposición a estatinas y el desarrollo de la enfermedad en el subgrupo HMGCR (66% en estudio en población estadounidense), la que se hacía más significativa luego de realizar ajuste por edad (90% de asociación entre consumo de estatinas y presentación de enfermedad en mayores de 50 años), lo cual no ha sido observado en los otros dos grupos de MNA²⁵. En población europea, si bien con porcentajes más bajos, Allenbach encontró un 44% de asociación⁴⁵. No obstante, en población asiática, tanto estudios realizados en Japón como en China, dan cuenta de baja prevalencia de consumo de estatinas previo al desarrollo de miopatía anti-HMGCR (18% y 14% respectivamente)^{55,56}. Dos explicaciones han sido formuladas para lo anterior: 1. Diferencias étnicas podrían estar implicadas en que las estatinas no desempeñen un rol activador de enfermedad en este grupo³²; y 2. Se ha demostrado la presencia de estatinas en ciertos alimentos de consumo frecuente en la dieta de población asiática (ciertos tipos de champiñones, arroz de levadura roja y té negro), lo cual sugiere como posibilidad que la

débil asociación encontrada entre miopatía anti-HMGCR y consumo médico de estatinas pueda ser explicada por la alta exposición a estas otras fuentes alimentarias de este fármaco³¹.

Además de estatinas, las infecciones virales han sido reconocidas como potenciales activadores de MNA. Como respaldo a esto, se ha observado un patrón de presentación estacional de miopatía anti-SRP, con un peak durante los meses de otoño⁵⁸. Adicionalmente, tanto la subunidad de 54 kDa de SRP como HMGCR comparte regiones homólogas con proteínas del virus Varicela Zóster (VVZ) y el virus papiloma humano tipo 58 (VPH)³¹, por lo que es posible que la exposición a estos virus pudiese generar respuesta inmune contra proteínas humanas a través de mecanismos de mimetismo molecular.

Pronóstico y Tratamiento

No existen ensayos clínicos randomizados que guíen las decisiones terapéuticas en MNA, siendo las recomendaciones existentes derivadas de reportes de series de casos y de la opinión de expertos. No obstante, hay acuerdo en la refractariedad al uso de inmunosupresión convencional para la mayoría de los pacientes¹⁶, requiriendo la utilización de más de un fármaco inmunosupresor en la mayoría de los estudios publicados^{29,33,34,59}. En este contexto, en gran parte de los reportes los glucocorticoides fueron utilizados como terapia de 1° línea, siendo necesario en la evolución la adición de un 2° o 3° agente inmunosupresor, ya sea para evitar efectos colaterales por dosis elevadas de esteroides o bien por respuesta no satisfactoria a ellos (en un reporte de 37 pacientes con miopatía anti-SRP, el 67% utilizó tres o más inmunosupresores³⁴; respecto a miopatía anti-HMGCR, en una revisión sistemática de 16 reportes de casos y 100 pacientes, el 83% utilizó dos o más agentes inmunosupresores⁵⁹). Resulta destacable, además, la amplia gama de agentes empleados en los diversos reportes, destacando en ellos la ausencia de una estandarización que guíe la elección por uno u otro (Metotrexato – Azatioprina – Ciclosporina – Micofenolato – Inmunoglobulina – Rituximab^{29,33,34,59}).

En línea con lo expuesto en el párrafo precedente, los reportes coinciden en un pobre pronóstico neuromuscular en MNA, destacando una significativa persistencia de debilidad muscular a pesar de intensa inmunosupresión en un importante porcentaje de pacientes, observándose principalmente en miopatía anti-SRP. En un reporte

estadounidense de 21 pacientes con miopatía anti-SRP seguidos durante un período de 2 años, se observó que el 52% de ellos (11 pacientes) mantenía debilidad significativa a pesar de intensa inmunosupresión ($MRC \geq 4/5$), y con persistencia de CK elevado (> 500 UI/L). Del 48% restante (10 pacientes) que tuvo recuperación de fuerzas total o cercano al máximo ($MRC \leq 3/5$), tan sólo el 40% de ellos (4 de 10) logró valores de CK normal o cercano al valor normal (< 500 UI/L), sugiriendo actividad subclínica en un importante número de pacientes³⁴. Un reporte japonés informa resultados similares: en 81 pacientes con miopatía anti-SRP seguidos durante 2 años, el 56% fue refractario a varios regímenes de inmunosupresión, y el 12% mostró progresiva debilidad muscular, con mínima respuesta a tratamiento²⁹. En este mismo estudio, al término de los 2 años, clasificaron a sus pacientes según el grado de recuperación de fuerzas, utilizando como medición Escala de Rankin modificada. 59 pacientes (73%) fueron clasificados con buena respuesta (“good outcome”) con un resultado de Escala de Rankin modificada de 0 a 2, y 22 pacientes (27%) fueron clasificados con pobre respuesta (“poor outcome”), con un resultado de Escala de Rankin modificada de 3 a 5. Fueron comparadas variables clínicas antes de iniciar inmunoterapia entre los dos grupos, encontrando que el debut de la enfermedad en edad pediátrica (< 15 años) constituye un claro factor de riesgo de mala respuesta y de progresión de debilidad, asociación también descrita en otros estudios²⁹. Adicionalmente, encontraron que la severidad de la debilidad de extremidades, el grado de atrofia muscular y la presencia de disfagia podrían constituir potenciales factores de mal pronóstico²⁹. Reportes de tratamiento en pacientes con Miopatía-HMGCR impresiona con mejor respuesta al ser comparada con miopatía anti-SRP: un estudio retrospectivo en población japonesa de 39 pacientes, el 23% (9 pacientes) reportó dificultades en actividades de vida diaria luego de un período de seguimiento, con resultado de Escala de Rankin modificada de 3 a 5³³; por otro lado, en el estudio de la revisión sistemática de 16 reportes de casos y 100 pacientes ya señalado, se informa que el 90% tuvo mejora en fuerza muscular y disminución de niveles de CK luego de terapia inmunosupresora⁵⁹.

La ausencia de guías de tratamiento y de estandarización en los regímenes de inmunosupresión, llevó al establecimiento de recomendaciones de pautas de tratamiento durante el 224° encuentro del grupo de trabajo del ENMC (2016)¹⁶, las cuales son mostradas en la Figura 1.

En ellas se plantea iniciar manejo con corticoesteroides junto con o seguido de otro agente inmunosupresor, destacando la opción de metotrexato. En caso de falla a este esquema, en miopatía anti-SRP se sugiere la utilización de rituximab, y en miopatía anti-HMGCR el uso de inmunoglobulina intravenosa (IgIV). Ambas recomendaciones (rituximab e IgIV) son respaldadas por escasos reportes de casos. Para rituximab, en el reporte estadounidense de 37 pacientes con miopatía anti-SRP, de 17 pacientes a quienes se siguió luego de la administración de rituximab, en 13 de ellos (76%) hubo respuesta con recuperación completa de fuerzas tras la administración del fármaco, mientras que en 4 (24%) no hubo respuesta³⁴. Para IgIV el respaldo es aún menor. Consta de un reporte de 3 pacientes en quienes se utilizó IgIV por contraindicación al uso de otros inmunosupresores. En los 3 hubo respuesta satisfactoria, con recuperación de fuerzas. No obstante, en 2 de ellos se mantuvieron valores elevados de CK, sugiriendo persistencia de actividad subclínica⁶⁰.

Conclusiones

El progresivo descubrimiento de nuevos anticuerpos específicos de miositis (MSA), ha permitido identificar a nuevos subgrupos de miopatías, con elementos histológicos, clínicos y de laboratorio característicos. En este contexto, el hallazgo tanto de anticuerpo anti-SRP y anticuerpo anti-HMGCR constituye un elemento clave para la caracterización de Miopatía necrotizante autoinmune (MNA) como nuevo subgrupo, y para el reconocimiento tanto de Miopatía anti-SRP y Miopatía anti-HMGCR como entidades diferentes, siendo probable que Miopatía necrotizante seronegativa pueda representar una entidad (o entidades) con manifestaciones fenotípicas con mecanismos etiopatogénicos y, probablemente, anticuerpos, aún no identificados. En este sentido, resulta importante destacar que el reconocimiento de anti-SRP y anti-HMGCR como nuevas entidades no solo nació de la asociación del respectivo anticuerpo con aspectos histológicos, clínicos o de laboratorio característicos, sino que, además, el reconocimiento de ambos autoanticuerpos permitió iniciar el entendimiento de los mecanismos etiopatogénicos involucrados en la generación de ambas entidades patológicas, lo que permite el respaldo tanto de su naturaleza autoinmune, como de la asociación a factores de riesgo tanto genéticos como ambientales observados, destacando la asociación a estatinas en el caso de miopatía anti-HMGCR.

Por otra parte, el reconocimiento de nuevos subgrupos de miositis, ha llevado a establecer claras diferencias pronósticas y de respuesta a tratamiento en cada uno de ellos, siendo reconocida MNA, y especialmente miopatía anti-SRP, como refractaria a tratamiento a inmunosupresor convencional, determinando en muchos casos, mal pronóstico neuromuscular, permitiendo por tanto definir estrategias de manejo más agresivas según sea el caso.

Es clara la necesidad de estudios de mejor calidad que respalden los diversos aspectos abordados en la presente revisión, sobre todo en lo concerniente al establecimiento de estrategias de manejo. No obstante, tanto MII y MNA se encuentran en un estado de constante avance, con múltiples estudios en desarrollo, lo que permitirá en un futuro una mejor caracterización de la patología.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dalakas MC. Inflammatory muscle diseases. *N Engl J Med.* 2015; 373:393-4.
2. Lundberg IE, Miller FW, Tjärnlund A, Bottai M. Diagnosis and classification of Idiopathic Inflammatory Myopathies. *J Int Med.* 2016; 280(1):39-51.
3. Mammen AL. Autoimmune muscle disease. *Handb Clin Neurol.* 2016; 133:467-84.
4. Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N Engl J Med.* 1975; 292:344-7.
5. Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (second of two parts). *N Engl J Med.* 1975; 292:403-7.
6. Dalakas MC, ed. *Polymyositis and dermatomyositis.* Boston: Butterworths, 1988.
7. Dalakas MC. Polymyositis, dermatomyositis and inclusión-body myositis. *N Engl J Med.* 1991; 325:1487-98.
8. Carpenter S, Karpati G. Inclusion body myositis: a distinct variety of idiopathic inflammatory myopathy. *Neurology.* 1978; 28(1):8-17.
9. Lotz BP, Engel AG, Nishino H, Stevens JC, Litzy WJ. Inclusion body myositis. *Brain.* 1989; 112:727-42.
10. Griggs RC, et al. Inclusion body myositis and myopathies. *Ann Neurol.* 1995; 38:705-13.
11. Betteridge Z, McHugh N. Myositis Specific Autoantibodies: an important tool to support diagnosis of myositis. *J Int Med.* 2016; 280(1):8-23.
12. Ghirardello A, Borella E, Beggio M, Franceschini F, Fredi M, Doria A. Myositis Autoantibodies and clinical phenotypes. *Auto Immun Highlights.* 2014; 5:69-75.
13. Benveniste O, Stenzel W, Allenbach Y. Advances in serological diagnostics of inflammatory myopathies. *Curr Opin Neurol.* 2016; 29:662-73.
14. Lundberg IE, de Visser M, Werth VP. Classification of myositis. *Nat Rev Rheumatol.* 2018; 14(5):269-78.
15. Hoogendijk JE, Amato AA, Lecky BR, et al. 119th ENMC International Workshop: trial design in adult idiopathic inflammatory myopathies, with the exception of inclusion body myositis. 10-12 October 2003, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord.* 2004; 14:337-45.
16. Allenbach Y, Mammen AL, Stenzel W, Benveniste O. Immune Mediated Necrotizing Myopathies Working Group. 224th ENMC International Workshop: Clinico-sero-pathological classification of immune-mediated necrotizing myopathies. 14-16 October 2016, Zandvoort, The Netherlands. *Neuromuscul Disord.* 2018; 28:87-99.
17. Lundberg IE, Tjärnlund A, Bottai M, Werth V, et al. 2017 European League against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification criteria for Adult and Juvenile Idiopathic Inflammatory Myopathies and their Major Subgroups. *Arthritis Rheumatol.* 2017; 69(12):2271-82.
18. Miller T, Al-Loz M, Lopate G, Pestronk A. Myopathy with antibodies to the signal recognition particle: clinical and pathological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2002; 73:420-8.
19. Legout L, Fauchais AL, Machulla E, et al. The Antisynthetase Syndrome: A subgroup of inflammatory myopathies not to be unrecognized. *Rev Med Interne.* 2002; 23:273-82.
20. Cojocar M, Cojocar IM, Chicos B. New insights into Antisynthetase Syndrome. *Maedica.* 2016; 11(2):130-5.
21. Selva-O'Callaghan A, Pinal-Fernandez I, Trallero-Aragúas E, Milisenda JC, Grau-Junyent JM, Mammen AL. Classification and management of adult inflammatory myopathies. *Lancet Neurol.* 2018; 17(9):816-28.
22. McGrath E, Doughty C, Amato A. Autoimmune Myopathies: Updates on Evaluation and Treatment. *Neurotherapeutics.* 2018; 15(4): 976-994.
23. Reeves WH, Nigam SK, Blodel G. Human Autoantibodies reactive with the Signal Recognition Particle. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986; 83:9505-11.
24. Christopher-Stine L, Casciola-Rosen LA, Hong G, et al. A novel autoantibody recognizing 200 kDa and 100 kDa proteins is associated with an immune-mediated necrotizing myopathy. *Arthritis Rheum.* 2010; 62:2757-66.
25. Mammen AL, Chung T, Christopher-Stine L, et al. Autoantibodies against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase (HMGCR) in patients with sttin-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum.* 2011; 63:713-21.
26. Pinal-Fernandez I, Casciola-Rosen LA, Christopher-Stine L, Corse AM, Mammen AL. The prevalence of individual histopathologic features varies according to autoantibody status in muscle biopsies from patients with dermatomyositis. *J Rheumatol.* 2015; 42(8):1448-54.
27. Paik JJ, Wigley FM, Loyd TE, Corse AM, Casciola-Rosen L, Shah AA, et al. Spectrum of muscle histopathologic findings in forty-two scleroderma patients with weakness. *Arthritis Care Res.* 2015; 67(10):1416-25.
28. Schneider I, Stoltenburg G, Deschauer M, Winterholler M, Hanisch F. Limb girdle muscular dystrophy type 2L presenting as necrotizing myopathy. *Acta Myol.* 2014; 33(1):19-21.
29. Suzuki S, Nishikawa A, Kuwana M, et al. Inflammatory myopathy with anti-signal recognition particle antibodies: case series of 100 patients. *Orphanet J Rare Dis.* 2015; 10:61.
30. Alshehri A, Choksi R, Bucelli R, Pestronk A. Myopathy with an-

- ti-HMGCR antibodies: perimysium and myofiber pathology. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2015; 2:e124.
31. Pinal-Fernandez I, Casal-Dominguez M, Mammen AL. Immune-mediated necrotizing myopathy. *Curr Rheumatol Rep*. 2018; 20:21.
 32. Pinal-Fernandez I, Mammen AL. Spectrum of immune-mediated necrotizing myopathies and their treatments. *Curr Opin Rheumatol*. 2016; 28:619-24.
 33. Watanabe Y, Uruha A, Suzuki S, Nakahara J, Hamanaka K, et al. Clinical Features and prognosis in anti-SRP and anti-HMGCR necrotizing Myopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016; 87:1038-44.
 34. Pinal-Fernandez I, Parks C, Werner JL, et al. Longitudinal course of disease in a large cohort of myositis patients with autoantibodies recognizing the signal recognition particle. *Arthritis Care Res*. 2017; 69:263-70.
 35. Kao AH, Lacomis D, Lucas M, Fertig N, Oddis CV. Anti-signal recognition particle autoantibody in patients with and patients without idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum*. 2004; 50(1):209-15.
 36. Allenbach Y, Keraen J, Bouvier AM, et al. High risk of cancer in autoimmune necrotizing myopathies: usefulness of myositis specific antibody. *Brain*. 2016; 139:2131-5.
 37. Ladislau L, Arouche-Delaperche L, Allenbach Y, Benveniste O. Potential Pathogenic Role of anti-Signal Recognition Protein and Anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA Reductase Antibodies in Immune-Mediated Necrotizing Myopathies. *Curr Rheumatol Rep*. 2018; 20(9):56.
 38. Keenan RJ, et al. The signal recognition particle. *Annu Rev Biochem*. 2001; 70:755-75.
 39. Anquetil C, Boyer O, Wesner N, Benveniste O, Allenbach Y. Review: Myositis-specific autoantibodies, a cornerstone in immune mediated necrotizing myopathy. *Autoimmun Rev*. 2019; 18(3): 223-30.
 40. Van de Vlekkert J, Maas M, Hoogendijk JE, et al. Combining MRI and muscle biopsy improves diagnostic accuracy in subacute-onset idiopathic inflammatory myopathy. *Muscle Nerve*. 2015; 51:253-8.
 41. Allenbach Y, Benveniste O. Peculiar clinicopathological features of immune-mediated necrotizing myopathies. *Curr Opin Rheumatol*. 2018, 30:655-63.
 42. Allenbach Y, Arouche-Delaparche L, Preusse C, et al. Necrosis in anti-SRP+ and anti-HMGCR+ myopathies: role of autoantibodies and complement. *Neurology*. 2018; 90:e507-17.
 43. Smoyer-Tomic K, Amato A, Fernandes A. Incidence and prevalence of idiopathic inflammatory myopathies among commercially insured, Medicare supplemental insured, and Medicaid enrolled populations: an administrative claims analysis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2012; 13:103.
 44. Sevansson J, Arkema EV, Lundberg IE, Holmqvist M. Incidence and prevalence of idiopathic inflammatory myopathies in Sweden: a nationwide population-based study. *Rheumatology (Oxford)*. 2017; 56(5):802-10.
 45. Allenbach Y, Drouot L, Rigolet A, et al. Anti-HMGCR autoantibodies in European patients with autoimmune necrotizing myopathies: inconstant exposure to statin. *Medicine (Baltimore)*. 2014; 93:150-57.
 46. Tansley SL, Betteridge ZE, Simou S, et al. Anti-HMGCR autoantibodies in juvenile idiopathic inflammatory myopathies identify a rare but clinically important subset of patients. *J Rheumatol*. 2017; 44(4):488-92.
 47. Werner JL, Christopher-Stine L, Ghazarian SR, et al. Antibody levels correlate with creatine kinase levels and strength in anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum*. 2012; 64(12):4087-93.
 48. Arlet JB, Dimitri D, Pagnoux C, et al. Marked efficacy of a therapeutic strategy associating prednisone and plasma Exchange followed by rituximab in two patients with refractory myopathy associated with antibodies the signal recognition particle (SRP). *Neuromuscul Disord*. 2006; 16(5):334-6.
 49. Benveniste O, Drouot L, Jouen F, et al. Correlation of anti-signal recognition particle autoantibody levels with creatine kinase activity in patients with necrotizing myopathy. *Arthritis Rheum*. 2011; 63(7):1961-71.
 50. Stenzel W, Goebel HH, Aronica E. Review: immune-mediated necrotizing myopathies a heterogeneous group of diseases with specific myopathological features. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2012; 38(7):632-46.
 51. Chung T, Christopher-Stine L, Paik JJ, et al. The composition of cellular infiltrates in anti-HMG-CoA reductase-associated myopathy. *Muscle Nerve*. 2015; 52(2):189-95.
 52. Mohassel P, Mammen AL. Anti-HMGCR Myopathy. *J Neuromuscul Dis*. 2018; 5:11-20.
 53. Limaye V, Bundell C, Hollingsworth P, et al. Clinical and genetic associations of autoantibodies to 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in patients with immune-mediated myositis and necrotizing myopathy. *Muscle Nerve*. 2015; 52(2):196-203.
 54. Mammen AL, Gaudet D, Brisson D, et al. Increased frequency of DRB1*11:01 in anti-hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Care Res*. 2012; 64(8):1233-7.
 55. Ohnuki Y, Suzuki S, Shiina T, et al. HLA-DRB1 alleles in immune-mediated necrotizing myopathy. *Neurology*. 2016; 87(18):1954-5.
 56. Watanabe Y, Suzuki S, Nishimura H, et al. Statins and myotoxic effects associated with anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase autoantibodies: an observational study in Japan. *Medicine (Baltimore)*. 2015; 94(4):e416.
 57. Ge Y, Lu X, Peng Q, Shu X, Wang G. Clinical characteristics of anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase antibodies in Chinese patients with idiopathic inflammatory myopathies. *PLoS One*. 2015;10(10):e0141616.
 58. Leff RL, Burgess SH, Miller FW, Love LA, Targoff IN, Dalakas MC, et al. Distinct seasonal patterns in the onset of adult idiopathic inflammatory myopathy in patients with anti-Jo-1 and anti-signal recognition particle autoantibodies. *Arthritis Rheum*. 1991; 34(11):1391-6.
 59. Nazir S, Lohani S, Tachamo N, Poudel D, Donato A. Statin-Associated Autoimmune Myopathy. A Systematic Review of 100 Cases. *J Clin Rheumatol*. 2017; 23(3):149-154.
 60. Mammen AL, Tiniakou E. Intravenous immune globulin for statin-triggered autoimmune myopathy. *N Engl J Med*. 2015; 373:1680-2.