



Università degli Studi Del Molise
Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute
“Vincenzo Tiberio”

Tesi di Dottorato in Medicina Traslationale e Clinica
XXXV ciclo
(Coordinatore Ch.mo Prof. Giovanni Scapagnini)
Settore Scientifico Disciplinare MED/16 - Reumatologia

AUTOANTICORPI E MIOPATIE INFIAMMATORIE

Relatore

Ch.mo Prof. Ennio Lubrano di Scorpaniello

Candidato

Dott. Antonio Carriero

ANNO ACCADEMICO: 2021/2022

INDICE

LISTA DELLE ABBREVIAZIONI	III
----------------------------------	-----

PARTE PRIMA

1. MIOPATIE INFIAMMATORIE IDIOPATICHE	1
1.1 Definizione	1
1.2 Classificazione	2
1.3 Epidemiologia	9
1.4 Eziologia	10
1.4.1 Genetica	10
1.4.2 Fattori ambientali	11
1.5 Patogenesi	13
1.5.1 Polimiosite	15
1.5.2 Dermatmiosite	15
1.5.3 Miosite necrotizzante immuno-mediata	17
1.5.4 Miosite a corpi inclusi	17
1.5.5 Miosite associata a cancro	18
1.5.6 Sindrome antisintetasi	18
1.6 Clinica	19
1.7 Diagnosi	22
1.7.1 Diagnosi differenziale	24
1.8 Terapia	24
1.8.1 Terapia non farmacologica	24
1.8.2 Terapia farmacologica	25
1.9 Prognosi	27
2. AUTOANTICORPI NELLE MIOPATIE INFIAMMATORIE IDIOPATICHE	29
2.1 Autoanticorpi miosite specifici	29
2.2 Autoanticorpi miosite associati	31

PARTE SECONDA

3. INTRODUZIONE ALLA RICERCA E SCOPI DELLO STUDIO	33
4. MATERIALI E METODI	37
4.1 Pazienti	37
4.2 Protocollo di studio	37
4.3 Analisi di laboratorio	38
4.4 Analisi statistica	40
5. RISULTATI	41
5.1 Caratteristiche dei pazienti arruolati nello studio	41
5.2 Profilo autoanticorpale	44
5.3 Profilo autoanticorpale nei vari sottotipi di MII	46
5.4 Correlazioni clinico-laboratoristiche	51
5.5 Caratteristiche cliniche dei pazienti anti-DFS70 positivi	56
6. DISCUSSIONE	58
7. CONCLUSIONI	64
BIBLIOGRAFIA	66

LISTA DELLE ABBREVIAZIONI

ACR: American College of Rheumatology;
ADM: dermatomiosite amiotopatica;
ALT: alanina-aminotransferasi;
ANA: Antinuclear Antibodies - anticorpi antinucleo;
AR: Artrite Reumatoide;
ARS: amminoacil trasfer RNA sintetasi;
AST: aspartato-aminotransferasi;
ASyS: sindrome antisintetasi;
AZT: azatioprina;
C3: frazione del complemento 3;
C4: frazione del complemento 4;
CADM: Clinically Amyopathic Dermatomyositis;
CAM: miosite associata a cancro;
CMV: citomegalovirus;
CPK: creatinchinasi;
CS: corticosteroidi;
CsA: ciclosporina;
CYC: ciclofosfamide;
DFS70: dense fine speckled autoantigen of 70 Kd;
DM: dermatomiosite;
dsDNA: double stranded DNA;
EBV: Epstein-Barr virus;
EMG: elettromiografia;
ENA: Extractable Nuclear Antigens;
ENMC: European Neuromuscular Centre;
EULAR: European League Against Rheumatism;
FDG: fluorodesossiglucosio;
Hep-2: Human epiteloma type 2 cells;
HIV: Human immunodeficiency virus;
HLA: human leukocyte antigen;
HMGCR: 3-idrossi-3-metil-glutaril-coenzima A reduttasi;
HTLV: Human T-lymphotropic virus 1;
IB: Immunoblotting;
IBM: miosite a corpi inclusi - inclusion body myositis;
ICAP: International Consensus on ANA Pattern.
ICPIs: inibitori del check-point immunitario;
IFI: immunofluorescenza indiretta;
IFN α : interferone α ;

ILD: interstiziopatia polmonare – interstitial lung disease;
IMCCP: International Myositis Classification Criteria Project;
IMNM: miosite necrotizzante immuno-mediata - immune-mediated necrotizing myopathy;
IVIg: immunoglobuline endovenose;
JAK: janus chinasi;
JDM: dermatomiosite giovanile;
JPM: polimiosite giovanile;
kD: kilodalton;
LDH: lattico deidrogenasi;
LEDGFp75: lens epithelium derived growth factor p75;
LES: Lupus Eritematoso Sistemico;
MAA: autoanticorpi miosite associati;
MAC: membrane attack complex;
MDA-5: anti-melanoma differentiation associated protein 5;
MHC-I: major histocompatibility complex class I;
MII: miopatie infiammatorie idiopatiche;
MMF: micofenolato mofetile;
MSA: anticorpi miosite specifici;
MTX: metotrexato;
NK: Natural Killer;
NuRD: Nucleosome Remodeling Deacetylase;
OM: miositi overlap;
PCR: proteina C reattiva;
PET/TC: Tomografia a Emissione di Positroni/Tomografia Computerizzata;
PFR con DLCO: prove di funzionalità respiratoria con diffusione alveolo-capillare del monossido di carbonio;
PM: polimiosite;
RE: reticolo endoplasmatico;
RM: risonanza magnetica;
RNA: acido ribonucleico - RiboNucleic Acid;
ROS: specie reattive dell'ossigeno;
RP-ILD: interstiziopatia polmonare rapidamente progressiva;
RTX: rituximab;
SRP: signal recognition particle;
SS: Sindrome di Sjogren;
SSc: sclerosi sistemica;
TNF- α : Tumor necrosis factor α ;
UCTD: Connettivite Indifferenziata;

UPR: proteine mal-ripiegate;

UV: ultraviolette;

VES: velocità di eritrosedimentazione delle emazie.

PARTE PRIMA

1. MIOPATIE INFIAMMATORIE IDIOPATICHE

1.1 Definizione

Le Miopatie Infiammatorie Idiopatiche (MII), dette anche miositi, sono un gruppo eterogeneo di patologie reumatiche rare, immuno-mediate ad eziologia multifattoriale e coinvolgimento d'organo multisistemico, con un particolare coinvolgimento dei muscoli scheletrici (Dalakas MC, 2015; Lundberg IE et al., 2021).

Sono incluse in questa definizione la polimiosite (PM), la dermatomiosite (DM), le forme di miosite giovanile, la miosite necrotizzante immuno-mediata (IMNM, *immune-mediated necrotizing myopathy*), la miosite a corpi inclusi (IBM, *inclusion body myositis*), le miositi overlap associate a connettiviti o ad artrite reumatoide (OM), la miosite associata a cancro (CAM) e la sindrome antisintetasi (ASyS).

Clinicamente si presentano con debolezza muscolare cronica e progressiva che interessa prevalentemente la muscolatura prossimale (cingoli scapolare e pelvico) in modo simmetrico; ne deriva una affaticabilità muscolare che compromette numerose attività della vita quotidiana. Sono comunque frequenti anche manifestazioni extra-muscolari che coinvolgono la cute, le articolazioni, l'interstizio polmonare ed il cuore.

Queste manifestazioni sono accompagnate da aumentati livelli sierici degli enzimi muscolari creatin chinasi (CPK), aldolasi, lattico deidrogenasi (LDH) e da alterazioni elettromiografiche ed istopatologiche peculiari, come il riscontro a carico della muscolatura scheletrica di un infiltrato infiammatorio con una distribuzione ed un aspetto caratteristico nelle diverse affezioni (Bohan A & Peter JB, 1975; Targoff IN et al., 1997)

Il termine di MII comprende quindi un insieme eterogeneo di condizioni che presentano una vasta gamma di manifestazioni cliniche, reperti istopatologici, nonché profili sierologici e diversa suscettibilità al trattamento.

1.2 Classificazione

La loro classificazione ha rappresentato e rappresenta ancora oggi una grande sfida. I criteri classificativi di Bohan e Peter, proposti nel 1975 (Bohan A & Peter JB, 1975), sono stati un fondamentale passo avanti nella distinzione dei sottogruppi delle MII e sono ancora oggi ampiamente utilizzati.

Questa classificazione individua cinque gruppi: polimiosite; dermatomiosite; dermatomiosite (o polimiosite) associata a cancro; dermatomiosite (o polimiosite) dell'infanzia; dermatomiosite (o polimiosite) associata a connettiviti, Sclerosi sistemica (SSc), Lupus Eritematoso Sistemico (LES), Sindrome di Sjogren (SS), Connettivite Indifferenziata (UCTD) oppure alla Artrite reumatoide (AR), oggi nota anche come miosite overlap.

I cinque criteri fondamentali sono (Tabella I):

- 1) debolezza muscolare prossimale simmetrica all'esame obiettivo;
- 2) incremento degli enzimi muscolari;
- 3) istologia muscolare positiva;
- 4) miopatia irritabile alla elettromiografia (EMG)
- 5) *rash* tipico della DM.

Tabella I. Criteri classificativi di Bohan e Peter per polimiosite e dermatomiosite.
Oldroyd A & Chinoy H 2018

Criteria	Description
A	Proximal and symmetrical muscle weakness of the pelvic and scapular girdle, anterior flexors of the neck, progressing for weeks to months, with or without dysphagia or involvement of respiratory muscles
B	Elevation of the serum levels of skeletal muscle enzymes: creatine kinase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase and aldolase
C	Electromyography characteristic of myopathy (short and small motor units, fibrillation, positive pointy waves, insertional irritability and repetitive high-frequency firing)
D	Muscle biopsy showing necrosis, phagocytosis, regeneration, perifascicular atrophy, perivascular inflammatory exudate
E	Typical cutaneous changes: (1) Heliotrope rash with periorbital oedema and violaceous erythema (2) Gottron's sign: vasculitis in the elbow, metacarpophalangeal and proximal interphalangeal joints
Polymyositis	(1) Definite – all of A–D (2) Probable – any three of A–D (3) Possible – any two of A–D
Dermatomyositis	(1) Definite – E plus and three of A–D (2) Probable – E plus and two of A–D (3) Possible – E plus and one of A–D

Exclusion criteria: congenital muscular dystrophies, central or peripheral neurological disease, infectious myositis, metabolic/endocrine myopathies and myasthenia gravis.

In base al numero di criteri soddisfatti, la diagnosi può essere *definita, probabile o possibile*.

Si possono quindi formulare le diagnosi di: 1) DM definita se sono soddisfatti almeno quattro criteri, compreso quello dermatologico; 2) PM definita in presenza di tutti e quattro i criteri, tranne quello dermatologico; 3) DM o PM possibile o probabile quando non sono soddisfatti i criteri di esclusione e non tutti i criteri necessari sono presenti.

La sensibilità raggiunge il 94% a scapito di una specificità del 29%.

È inoltre necessario, per la classificazione di Bohan e Peter, escludere preventivamente qualsiasi altra miopatia (Bohan A & Peter JB, 1975).

Nel corso dei decenni, con la scoperta di nuovi strumenti diagnostici, sono emersi numerosi limiti di questi criteri, la cui postulazione si basava su osservazioni esclusivamente cliniche eseguite su un campione monocentrico di 153 pazienti. In particolare, non sono descritte le modalità di esclusione di altri tipi di miopatia né sono state verificate la sensibilità e la specificità dei criteri stessi nel distinguere PM e DM da altre patologie neuromuscolari e/o dermatologiche; la IBM non è inclusa nel gruppo delle MII, in quanto non era ancora stata identificata come entità clinica indipendente; molte caratteristiche cliniche necessarie per la classificazione sono osservatore-dipendente e non viene specificato quante di queste debbano essere presenti per soddisfare ogni criterio. Inoltre, l'unica differenza tra PM e DM, secondo i criteri del 1975, è la presenza o meno del *rash* tipico di DM e ciò aumenta il rischio di incorrere in errori classificativi (Lundberg IE et al., 2016). Nel corso dei decenni dalla loro ideazione, infatti, si stima che i criteri di Bohan e Peter abbiano portato a una sovra-diagnosi di PM a spese di DM, IBM e OM (Meyer A et al., 2015).

Oltretutto, si deve tener presente che criteri diagnostici e criteri classificativi sono concetti differenti: i primi sono utilizzati sul singolo paziente per giungere a una specifica diagnosi, mentre i secondi sono necessari per l'arruolamento di pazienti analoghi in studi clinici, ove è d'obbligo standardizzare i campioni perché i risultati siano riproducibili e accettabili dalla comunità scientifica (Lundberg IE et al., 2016).

Rispetto al 1975, oggi sono molti di più gli strumenti abitualmente utilizzati nella diagnosi e nel follow-up delle MII. L'esame istologico del muscolo scheletrico permette di per sé di fare diagnosi di un preciso sottotipo di MII. Inoltre, ulteriori indicazioni sono fornite dalla risonanza magnetica (RM) con mezzo di contrasto, in grado di indagare il livello di infiammazione muscolare e dunque l'attività di malattia, e dagli auto-anticorpi circolanti, che identificano fenotipi clinici specifici (Ghirardello A et al., 2013). Lo sforzo impiegato per ideare criteri classificativi che meglio distinguano i vari tipi di MII è giustificato dalla necessità di stratificare al meglio i pazienti dal punto di vista terapeutico e, conseguentemente, prognostico. Varie sono state le pubblicazioni a questo proposito. Nel 1997 fu proposta una modifica ai criteri di Boahn e Peter, che escludeva la IBM dal gruppo delle MII in quanto considerata una miopatia non infiammatoria (Targoff IN et al., 1997). Successivamente un gruppo di ricercatori dell'European Neuromuscular Centre (ENMC) mise a punto una classificazione fortemente incentrata sulle caratteristiche istologiche del muscolo scheletrico dei pazienti: la applicazione di tale classificazione rimane però relegata alla ricerca più che alla clinica (Hoogendijk JE et al., 2004). Le più recenti pubblicazioni relative all'argomento rientrano nel progetto "International Myositis Classification Criteria Project" (IMCCP), portato avanti dai massimi esperti nel campo delle MII al fine di fornire criteri maggiormente standardizzabili ed efficaci nel distinguere le MII da altre condizioni clinicamente simili ed i singoli sottotipi di MII l'uno dall'altro. Con questo intento, la European League Against Rheumatism e la American College of Rheumatology (EULAR/ACR) hanno stilato nel 2017 una nuova classificazione (Lundberg IE et al., 2017). Per la distinzione tra MII da altre patologie si è scelto un approccio basato sulla probabilità di essere affetti da MII, rivelatosi migliore dal punto di vista statistico rispetto ad altri metodi vagliati.

Sulla base di parametri epidemiologici, clinici, laboratoristici, istologici si possono individuare i seguenti sottogruppi di MII: polimiosite; miosite a corpi inclusi; dermatomiosite; dermatomiosite amiotatica (ADM); dermatomiosite giovanile (JDM); miosite giovanile non JDM. Tre sottogruppi non possono essere classificati

come entità a sé stanti a causa dell'insufficiente numerosità dei campioni oggetto di studio: miopatia necrotizzante immuno-mediata, che viene inserita nello spettro della PM; dermatomiosite ipomiopatica; polimiosite giovanile (JPM).

Secondo quanto stabilito dai criteri EULAR/ACR, è possibile classificare un soggetto come affetto da MII definita quando si raggiunge uno score pari o superiore a 7,5 in assenza di biopsia muscolare o di 8,7 in presenza della stessa. Ciò corrisponde ad una probabilità superiore al 90% di avere una miopatia infiammatoria idiopatica.

I criteri EULAR/ACR hanno mostrato una sensibilità (93%) e una specificità (88%) in presenza del dato bioptico, ridotte rispettivamente al 87% e al 82% in sua assenza.

I criteri EULAR/ACR costituiscono dunque l'attuale caposaldo nella classificazione delle MII. Tuttavia, l'uso di questi criteri è comunque limitato a scopi di ricerca con l'intento di dare uniformità negli studi clinici.

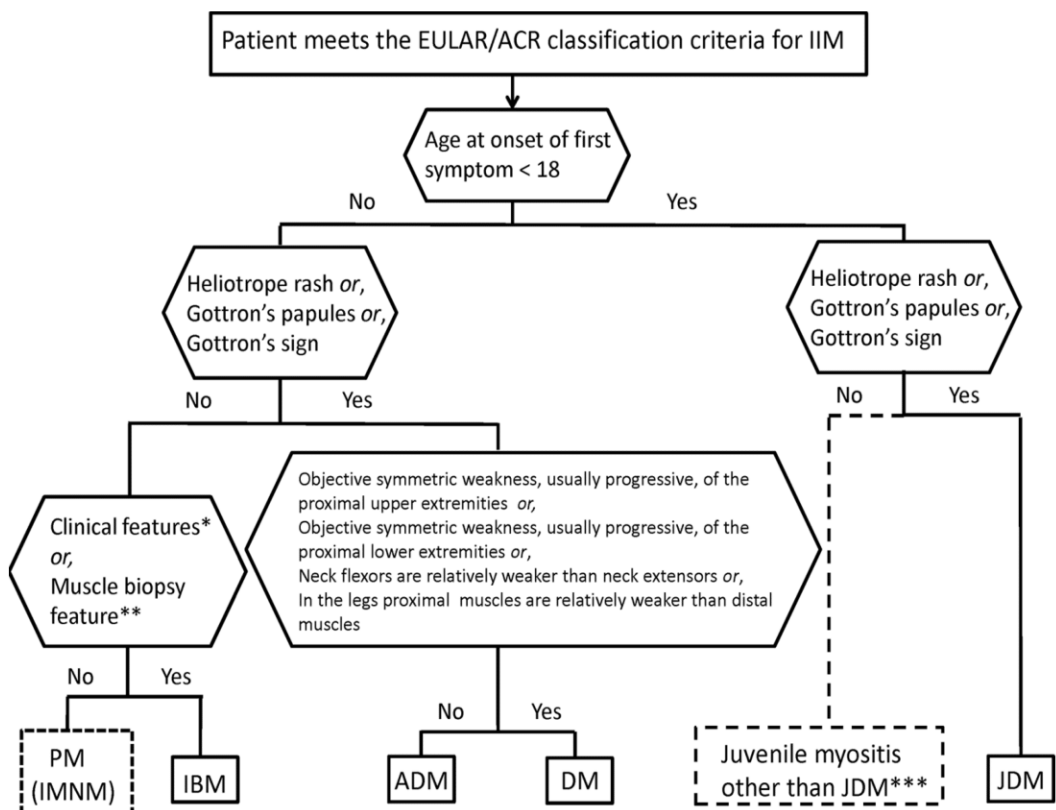
Tabella II. Criteri di classificazione EULAR/ACR per le miopatie infiammatorie idiopatiche adulte e giovanili e i loro principali sottogruppi. (Lundberg I et al., 2017)

Table 2 The European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology (EULAR/ACR) classification criteria for adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies (IIMs)			
When no better explanation for the symptoms and signs exists, these classification criteria can be used			
Variable	Score points		Definition
	Without muscle biopsy	With muscle biopsy	
Age of onset			
Age of onset of first symptom assumed to be related to the disease ≥ 18 years and < 40 years	1.3	1.5	$18 \leq$ Age (years) at onset of first symptom assumed to be related to the disease < 40
Age of onset of first symptom assumed to be related to the disease ≥ 40 years	2.1	2.2	Age (years) at onset of first symptom assumed to be related to the disease ≥ 40
Muscle weakness			
Objective symmetric weakness, usually progressive, of the proximal upper extremities	0.7	0.7	Weakness of proximal upper extremities as defined by manual muscle testing or other objective strength testing, which is present on both sides and is usually progressive over time
Objective symmetric weakness, usually progressive, of the proximal lower extremities	0.8	0.5	Weakness of proximal lower extremities as defined by manual muscle testing or other objective strength testing, which is present on both sides and is usually progressive over time
Neck flexors are relatively weaker than neck extensors	1.9	1.6	Muscle grades for neck flexors are relatively lower than neck extensors as defined by manual muscle testing or other objective strength testing
In the legs, proximal muscles are relatively weaker than distal muscles	0.9	1.2	Muscle grades for proximal muscles in the legs are relatively lower than distal muscles in the legs as defined by manual muscle testing or other objective strength testing
Skin manifestations			
Heliotrope rash	3.1	3.2	Purple, lilac-coloured or erythematous patches over the eyelids or in a periorbital distribution, often associated with periorbital oedema
Gottron's papules	2.1	2.7	Erythematous to violaceous papules over the extensor surfaces of joints, which are sometimes scaly. May occur over the finger joints, elbows, knees, malleoli and toes
Gottron's sign	3.3	3.7	Erythematous to violaceous macules over the extensor surfaces of joints, which are not palpable
Other clinical manifestations			
Dysphagia or oesophageal dysmotility	0.7	0.6	Difficulty in swallowing or objective evidence of abnormal motility of the oesophagus
Laboratory measurements			
Anti-Jo-1 (anti-histidyl-tRNA synthetase) autoantibody present	3.9	3.8	Autoantibody testing in serum performed with standardised and validated test, showing positive result
Elevated serum levels of creatine kinase (CK)* or lactate dehydrogenase (LD)* or aspartate aminotransferase (ASAT/AST/SGOT)* or alanine aminotransferase (ALAT/ALT/SGPT)*	1.3	1.4	The most abnormal test values during the disease course (highest absolute level of enzyme) above the relevant upper limit of normal
Muscle biopsy features—presence of:			
Endomysial infiltration of mononuclear cells surrounding, but not invading, myofibres		1.7	Muscle biopsy reveals endomysial mononuclear cells abutting the sarcolemma of otherwise healthy, non-necrotic muscle fibres, but there is no clear invasion of the muscle fibres
Perimysial and/or perivascular infiltration of mononuclear cells		1.2	Mononuclear cells are located in the perimysium and/or located around blood vessels (in either perimysial or endomysial vessels)
Perifascicular atrophy		1.9	Muscle biopsy reveals several rows of muscle fibres, which are smaller in the perifascicular region than fibres more centrally located
Rimmed vacuoles		3.1	Rimmed vacuoles are bluish by H&E staining and reddish by modified Gomori trichrome stains

*Serum levels above the upper limit of normal.

La distinzione in sottogruppi di MII viene raggiunta grazie a un algoritmo ramificato come mostrato in Figura 1.

Figura 1. Sistema ad albero per i sottogruppi di MII. Il sottogruppo PM (linee tratteggiate) include la IMNM. Per la diagnosi di IBM uno tra: * ipostenia dei flessori delle dita e mancato miglioramento alla terapia o **biopsia muscolare: vacuoli orlati ***Miosite giovanile diversa da JDM (juvenile dermatomyositis): è stata sviluppata basandosi su opinione di esperti ed estrapolazioni dall'adulto. (Lundberg I et al., 2017)



Tali criteri presentano dei limiti, il più rilevante dei quali è la mancata comprensione nella classificazione di alcuni sottotipi di MII abbastanza frequenti: la miosite associata a cancro e la sindrome antisintetasi.

L'ASyS, peculiare forma di MII recentemente riconosciuta, è caratterizzata dalla presenza di autoanticorpi diretti contro le amminoacil trasfer RNA sintetasi (ARS), enzimi citoplasmatici che catalizzano in modo ATP-dipendente il legame di un amminoacido al corrispondente tRNA. Sono stati riconosciuti 8 autoanticorpi

reagenti contro differenti ARSs: anti-Jo-1, anti-PL-7, anti-PL-12, anti-EJ, anti-OJ, anti-KS, anti-ZO. Questi anticorpi, presenti in maniera mutualmente esclusiva nel siero dei pazienti, definiscono l'entità clinica della ASyS che possiede poi sfumature diverse in relazione al tipo di anti-ARS che la contraddistingue.

La sindrome antisintetasi è caratterizzata dalla presenza di miosite, interstiziopatia polmonare (ILD), artriti non erosive, rash cutaneo, mani da meccanico, fenomeno di Raynaud e sintomi costituzionali (Noguchi E et al., 2017).

Tra gli anticorpi miosite specifici (MSA), gli anticorpi anti-ARS sono rilevati nel 25-35% dei pazienti affetti da MII. Tra gli anti-ARS, gli anticorpi anti-Jo-1 sono di più frequente riscontro, identificati precisamente nel 15-30% delle PM e nel 60-70% delle ILD.

La diagnosi e la gestione della ASyS sono ancora difficili a causa di sintomi spesso mascherati e/o aspecifici all'esordio della malattia. Infatti, solo il 19% dei casi presenta la triade clinica completa (ILD, miosite e artrite non erosiva) all'esordio della malattia, mentre la presentazione più comune è una manifestazione isolata seguita da una seconda o terza componente della triade entro un anno (Mahler M et al., 2014).

Considerazioni analoghe possono essere fatte per la dermatomiosite clinicamente amiotopica (Clinically Amyopathic Dermatomyositis, CADM) che comprende la DM amiotopica, definita dalla presenza per 6 mesi o più di manifestazioni cutanee tipiche, confermate dalla biopsia, senza evidenza clinica di debolezza muscolare prossimale e senza anomalie nei livelli sierici degli enzimi muscolari, e la DM ipomiopatica, nella quale si riscontrano invece lievi alterazioni degli indici di miocitolisi ma un quadro clinico muscolare silente (Lundberg IE et al., 2018).

Una parte dei pazienti affetti da CADM presenta una positività per l'anticorpo anti-proteina 5 associata alla differenziazione del melanoma, MDA-5 (anti-melanoma differentiation associated protein 5), identificando un quadro clinico preciso, inizialmente riscontrato nella popolazione dell'Asia Orientale, caratterizzato da una interstiziopatia polmonare rapidamente progressiva (RP-ILD) ed un alto tasso

di mortalità. Connotati cutanei della “sindrome anti-MDA-5” sono l’ulcerazione delle papule di Gottron, papule palmari ed eritema periungueale.

1.3 Epidemiologia

Le MII sono patologie rare: si stima che la loro incidenza varia da 11 a 660 nuovi casi per milione di abitanti l’anno e la loro prevalenza sia compresa tra 3 e 34 casi su 100.000 abitanti. Il *trend* in aumento di incidenza e prevalenza delle MII, registrato uniformemente in molte pubblicazioni, è quasi certamente da attribuire al perfezionamento delle tecniche diagnostiche ed alla riduzione della mortalità dovuta a queste patologie (Lundberg IE et al., 2021; Meyer A et al., 2015).

Similmente alle altre malattie autoimmunitarie, le MII sono più frequenti nelle femmine con un rapporto complessivo M:F di 1:2, e nella etnia afroamericana (Mastaglia FL & Phillips BA, 2002); al contrario la IBM è più frequente negli uomini tra i 50 e i 70 anni con un rapporto M:F di 3:1 e la miosite associata a cancro è più frequenti negli uomini con un rapporto M:F di 2:1 (Cox S et al., 2010). L’età di esordio delle MII segue un andamento bimodale: il primo picco si verifica prima dei 15 anni (miosite giovanile) e il secondo tra i 45 e i 54 anni (Cox S et al., 2010). Solamente la miosite giovanile ha un andamento stagionale, aspetto che probabilmente riflette un ruolo di specifiche infezioni virali nella sua eziologia multifattoriale.

Non esiste un gradiente geografico se si considerano le MII come un gruppo unico. Al contrario, se si considera la prevalenza relativa di DM è stato osservato un aumento della frequenza di quest’ultima in funzione della latitudine geografica (Okada S et al., 2003), seguendo un gradiente da Nord a Sud, verosimilmente in relazione alla maggiore esposizione ai raggi UV, coinvolti nella patogenesi della DM associata alla presenza di anticorpi anti-Mi-2 (Hengstman GJD et al., 2000).

I dati epidemiologici relativi alle MII sono certamente condizionati dalla mancanza di uniformità nei criteri diagnostici utilizzati, ragione per cui spesso risultano di difficile interpretazione (Meyer A et al., 2015).

1.4 Eziologia

Nonostante la continua ricerca, non esiste ancora un modello che descriva in modo definitivo la patogenesi delle MII. I fattori eziologici alla base delle MII sono numerosi e variano tra i diversi sottotipi.

L'ipotesi ad oggi più probabile è quella che prevede, similmente alle altre patologie autoimmuni, che in un soggetto geneticamente predisposto (portatore per lo più degli antigeni HLA-DRB1 e DRA1), l'intervento di un fattore esogeno come un'infezione, l'esposizione a raggi UV o a farmaci (ad esempio statine, D-penicillamina, cloroquina), sia in grado di scatenare una reazione immunitaria di tipo umorale e/o cellulomediata, che determina il danno muscolare.

1.4.1 Genetica

L'associazione più robusta riguarda i geni dell'Human Leucocyte Antigen (HLA), siti sul cromosoma 6. Gli alleli HLA-DRB1*03:01 sono correlati alla PM e l'HLA-B*08:01 alla DM.

Gli alleli HLA-DRB1*03:01, HLA-DRB1*01:01 e HLA-DRB1*13:01 sono stati associati alla IBM (Rothwell S et al., 2016).

Inoltre, differenti HLA sono stati associati a sottogruppi di MII definiti dagli MSA.

Gli anticorpi anti-Jo-1 sono stati associati a diversi alleli dell'aplotipo ancestrale 8.1 (8.1AH) come HLA-B*08:01, HLA-DQB1*02:01 e HLA-DRB1*03:01 (Miller FW et al., 2018).

È stato inoltre osservato che è una arginina in posizione 74 dell'aplotipo HLA-DRB1 a conferire il rischio più alto per il riscontro degli anti-Jo-123. Ed osservazioni analoghe sono state fatte per altri autoanticorpi come gli anti-Mi-2, gli anti-MDA-5 e gli anti-TIF1- γ (Rothwell S et al., 2019).

Vi sono anche geni non-HLA che conferiscono un aumentato rischio di malattia come IL-18R1, PTPN22 e RGS1 che sono stati associati alla PM e GSDMB, PLCL1 e BLK che sono stati associati alla DM.

La IBM è invece risultata associata a CCR5, a varie varianti dei geni VCP, SQSTM1, FYCO1, STAT4, TRAF6 e UBE2L3 (Rothwell S et al., 2016; Miller FW et al., 2018).

1.4.2 Fattori ambientali

Numerosi studi hanno indagato come possibili *trigger* scatenanti delle MII, in soggetti geneticamente predisposti, alcuni fattori ambientali come infezioni (virali, batteriche, parassitarie), farmaci, esposizione ai raggi ultravioletti, impianti in silicone e in collagene ed esposizione lavorativa a polveri (Miller FW et al., 2018). Nel tessuto muscolare dei pazienti affetti da MII non è mai stata dimostrata la presenza di sequenze virali, come Coxsackie, virus influenzali, Paramyxovirus, CMV ed EBV; tuttavia, è verosimile che tali agenti virali, pur non colonizzando direttamente il muscolo, agiscano da *trigger* di un processo auto-immune a carico di quest'ultimo (Dalakas MC, 2020).

Dalakas MC e colleghi hanno dimostrato una relazione tra IBM ed infezioni retrovirali, infatti i 4 soggetti infettati da HIV o HTLV-1 hanno sviluppato un quadro clinico ed istopatologico compatibile con IBM ove si è osservata la presenza di un clone virus specifico di linfociti T CD8+ invadenti le fibrocellule che può spiegare la patogenesi della IBM attraverso una cross-reazione contro gli antigeni stessi dei miociti (Dalakas MC et al., 2007).

Diversi farmaci sono stati associati con fattori di rischio per lo sviluppo di MII.

Le statine, potenti agenti ipocolesterolemizzanti, si possono associare a mialgie e innalzamento degli enzimi muscolari, ma non a debolezza muscolare. Si è dimostrato che gli anticorpi anti-HMGCR, caratteristici della IMNM, hanno lo stesso bersaglio delle statine; da qui è emersa l'ipotesi che le statine potessero agire da *trigger*. Le statine infatti aumentano l'espressione ectopica di HMGCR sulle membrane delle fibrocellule, diventando così possibile bersaglio di un processo autoimmune. Inoltre, l'espressione aumentata di HMGCR è stata evidenziata anche nelle cellule muscolari in rigenerazione per cui è stato ipotizzato che il danno muscolare immuno-mediato, iniziato in presenza di statine, può essere sostenuto anche dopo la sospensione della statina, attraverso un aumento persistente dell'espressione di HMGCR associato alla riparazione muscolare. Fino al 65% dei pazienti IMNM HMGCR-positivi ha una storia di esposizione alle statine (Dalakas MC 2020; Mammen AL et al., 2011; Allenbach Y et al., 2020).

Gli inibitori del *check-point* immunitario (ICPIs), utilizzati nel trattamento di alcune neoplasie, possono agire da *trigger* per l'insorgenza di MII: sono stati riportati casi in cui pembrolizumab, ipilimumab e nivolumab sono stati associati allo sviluppo di DM e IMNM, quest'ultima talvolta assieme alla miastenia gravis (Dalakas MC 2020).

Anche farmaci come interferoni ed inibitori del TNF- α e la D-penicillamina, utilizzata nel trattamento del morbo di Wilson, possono contribuire allo sviluppo delle MII (Liu SW et al., 2013; Carroll GJ et al., 1987).

L'esposizione alle radiazioni ultraviolette (UV) è implicata nella patogenesi della DM, in modo particolare nelle forme con positività anticorpale anti-Mi-2, dimostrata dalla capacità delle radiazioni UV di aumentare l'espressione di Mi-2 (componente del complesso *Nucleosome Remodeling Deacetylase* – NuRD) nei cheratinociti (Burd CJ et al., 2008).

Un altro fattore di rischio ambientale per lo sviluppo di MII è il fumo di sigaretta, che è stato associato nello specifico alla comparsa di ASyS con anticorpi anti-Jo-1 soprattutto nei pazienti portatori dell'allele HLA-DRB1*03:01 (Rothwell S et al., 2019).

Un altro fattore di rischio per lo sviluppo di MII è l'associazione con il cancro, infatti, una percentuale di circa il 25% di pazienti affetti da MII, prevalentemente DM, è strettamente preceduta o seguita dalla diagnosi di una neoplasia (circa due anni).

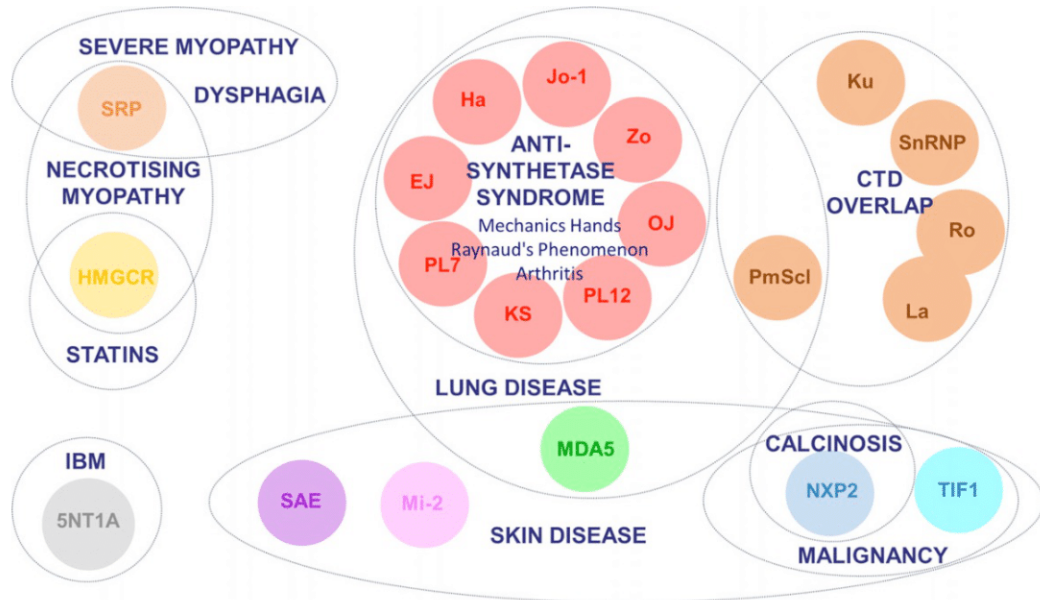
Infine, è stata riportata un' aumentata incidenza di MII (ed in generale di altre patologie autoimmuni) tra i soccorritori e i sopravvissuti dell'attentato terroristico al *World Trade Center*, verosimilmente per l'aumentata esposizione ambientale a polveri (Webber MP et al., 2015).

1.5 Patogenesi

La patogenesi delle MII ad oggi non è ancora completamente chiarita. A favore di un meccanismo autoimmune sono la presenza di infiltrati infiammatori muscolari, la associazione con altre malattie autoimmuni e la frequente positività di autoanticorpi circolanti (Suber TL et al., 2008). Gli anticorpi miosite specifici sono primariamente, se non esclusivamente, espressi in corso di MII: le evidenze scientifiche suggeriscono che ciascun anticorpo, mutualmente esclusivo rispetto agli altri, definisca una vera sindrome, con proprie manifestazioni cliniche e prognosi (Love LA et al., 1991). Tra gli MSA rientrano gli anticorpi diretti contro gli enzimi amminoacil-tRNA-sintetasi: Jo1, PL7, PL12, EJ, OJ, KS, ZO, HA, YRS. La ASyS, caratterizzata dalla positività per gli anticorpi anti-ARS, è stata recentemente scorporata dal gruppo delle MII e considerata un'entità clinica a sé stante con formali criteri classificativi (Connors GR et al., 2010; Solomon J et al., 2011) e contraddistinta da uno specifico fenotipo clinico che include miosite (PM, DM o IMNM), interstiziopatia polmonare, fenomeno di Raynaud, febbre ed artrite (Malik A et al., 2016; Witt LJ et al., 2016).

Oltre agli anticorpi anti-ARS rientrano tra gli MSA anche gli anti-Mi2, anti-SRP, anti-HMGCR, e i più recentemente identificati anti-TIF1 γ , anti-NXP2, anti-MDA5, anti-SAE1 ed anti-SAE2 (Betteridge Z et al., 2016). L'idea dominante è che tali autoanticorpi riescano a sottoclassificare i pazienti affetti da MII, creando gruppi omogenei di individui che condividono, oltre alla positività anticorpale, caratteristiche cliniche, prognosi e risposta alle terapie.

Figura 2. Gli MSA sottoclassificano i pazienti affetti da MII e creano gruppi omogenei di individui che condividono caratteristiche cliniche simili. (Betteridge Z et al., 2016)



Molti antigeni bersagliati da tali anticorpi sono espressi ubiquitariamente nell'organismo. Recenti studi hanno dimostrato che gli antigeni Jo1 e Mi2 (una subunità del NuRD), scarsamente espressi nel muscolo normale, sono sovraespressi sulle fibre muscolari rigeneranti. Questo suggerisce che la rigenerazione muscolare conseguente a un danno del muscolo scheletrico possa portare all'esposizione di antigeni sconosciuti al sistema immunitario e innescare così una risposta infiammatoria che, in caso di rottura della tolleranza immunologica in individui predisposti, persiste anche dopo la scomparsa del danno attraverso la produzione di anticorpi specifici. Questi ultimi richiamano linfociti T e macrofagi a livello muscolare, mediando la prosecuzione del danno tissutale (Suber TL et al., 2008; Casciola-Rosen L et al., 2005).

Nonostante quanto esposto, l'ipotesi che anche altre componenti, oltre quella autoimmune, concorrano alla patogenesi delle MII, è supportata dalla mancanza di una chiara correlazione tra infiammazione ed ipostenia muscolare e dalla risposta inefficace alla terapia immunosoppressiva di alcuni pazienti con MII

(Rayavarapu S et al., 2013). È opportuno fare riferimento alle attuali conoscenze riguardo la patogenesi di ciascun sottogruppo di MII a partire dalla analisi istopatologica delle biopsie muscolari.

1.5.1 Polimiosite

Gli infiltrati infiammatori riscontrati alla biopsia muscolare in corso di PM sono composti prevalentemente da linfociti T CD8+ e macrofagi (Findlay AR et al., 2015). I linfociti T CD8+ endomisiali sembrano essere i principali attori del danno tissutale: riconoscono antigeni sconosciuti al sistema immunitario presentati dalle fibre non necrotiche sul complesso MHC-I (*major histocompatibility complex class I*). Tale complesso è assente a livello del muscolo scheletrico sano, ma viene sovraespresso ubiquitariamente sulle fibre muscolari dei pazienti con PM (Mammen AL, 2010; Lazarou IN, Guerne P-A, 2013). L'esito dell'attivazione dei linfociti T CD8+ è la necrosi delle fibre, tramite perforina 1 e granzima (Goebels N et al., 1996). Molto più rari, invece, sono i fenomeni apoptotici, probabilmente per la resistenza alla apoptosi propria del tessuto muscolare (Mammen AL, 2010). Un elemento cardine della istopatologia della PM è la presenza di complessi MHC-I/CD8+ che la differenziano da altre forme di miopatia. Evidenze scientifiche suggeriscono che il pattern istopatologico tipico della PM sia in realtà raro, come è rara la rispettiva entità clinico-sierologica pura (Lazarou IN, Guerne P-A, 2013): i criteri di Boahn e Peter hanno portato negli anni ad una sovradiagnosi di questa forma (Meyer A et al., 2015), che ad oggi è invece divenuta una diagnosi di esclusione, ovvero da considerare quando non sono presenti reperti clinici, laboratoristici ed istopatologici suggestivi di altre forme di MII (Milisenda JC et al., 2014). Molte biopsie inizialmente etichettate come PM si rivelano al follow-up distrofie infiammatorie, IMNM o IBM (Lazarou IN, Guerne P-A, 2013).

1.5.2 Dermatomiosite

I reperti istopatologici tipici di DM sono la localizzazione perifascicolare di atrofia, degenerazione e rigenerazione delle fibre ed un infiltrato infiammatorio

prevalentemente perivascolare (Mammen AL, 2010). La DM è considerata una microangiopatia complemento-mediata, evidenza corroborata da molti studi che rilevano la precoce deposizione di MAC (*membrane attack complex*, complesso finale nella cascata del complemento) a livello dei capillari endomisiali e il depauperamento dei microvasi (Lazarou IN, Guerne P-A, 2013; Kissel JT et al., 1986). La conseguenza di questi fenomeni è una sofferenza ipossica della porzione del fascicolo muscolare più distante dai capillari, con ischemia e atrofia delle fibre periferiche ed espressione di MHC-I a livello prevalentemente perifascicolare. Va tuttavia precisato che non sono mai stati identificati anticorpi endotelio-specifici responsabili della attivazione del complemento a questo livello, evidenza che potrebbe suggerire vie alternative di attivazione della cascata del complemento (Lazarou IN, Guerne P-A, 2013; Mammen AL, 2010). L'infiltrato infiammatorio della DM è soprattutto composto da linfociti T CD4+ e da linfociti B a livello perivascolare e perimisiale e da cellule dendritiche plasmocitoidi a livello perifascicolare. Queste ultime sono cellule effettrici dell'immunità innata responsabili della secrezione di alti livelli di interferone α (IFN α). La teoria secondo cui sarebbero l'IFN α e i suoi geni a valle a mediare il danno perifascicolare non è sufficientemente supportata: essa, infatti, non spiegherebbe il depauperamento capillare né la precoce deposizione di complemento microvascolare, oltre a non essere un pattern citochinico specifico della DM (Dalakas MC, 2011).

Oltre ai suddetti effetti dell'IFN-I, vi sono altri meccanismi non immuno-mediati come la risposta da sovraccarico del reticolo endoplasmatico (RE) e la risposta da stress delle proteine mal-ripiegate (UPR). Lo stress del RE può portare al danno ossidativo attraverso la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) a seguito della disfunzione mitocondriale conseguente ad un aumento della concentrazione citoplasmatica di Ca⁺⁺.

Il danno cellulare basato su meccanismi diversi amplifica la risposta immunitaria mediante il rilascio di citochine pro-infiammatorie creando un circolo vizioso (Loredò Martinez M et al., 2020).

1.5.3 Miosite necrotizzante immuno-mediata

L'istologia muscolare tipica della miosite necrotizzante immuno-mediata è caratterizzata da molte fibre necrotiche invase da macrofagi, scarso infiltrato infiammatorio, depositi di MAC a livello vascolare ed assenza di MHC-I (Dalakas MC, 2011). I criteri diagnostici, stilati ENMC e diffusamente accettati (Hoogendijk JE et al., 2004), sanciscono l'indipendenza della IMNM rispetto alla PM, considerandola un'entità nosologica distinta. Sebbene non rientrino nei criteri formali, gli autoanticorpi anti-SRP e anti-HMGCR sono fortemente associati a questa forma di MII. Esistono infatti tre sottotipi di miopatia necrotizzante immuno-mediata: IMNM sieronegativa, i cui aspetti patogenetici sono meno noti; IMNM anti-HMGCR (3-idrossi-3-metil-glutaril-coenzima A reduttasi) e anti-SRP (*signal recognition particle*), forme sieropositive, in cui le specificità anticorpali sono verosimilmente patogenetiche. Molto nota e rilevante è l'associazione tra la miosite anti-HMGCR+ e la pregressa esposizione alle statine: l'upregolazione dell'enzima HMGCR, implicato nella sintesi del colesterolo, nonché target dei farmaci ipocolesterolemizzanti, dovuta all'azione delle statine, giustificherebbe lo sviluppo degli autoanticorpi (Pinal-Fernandez I & Mammen AL, 2016). Nonostante il processo patofisiologico alla base della IMNM non sia completamente chiaro, la letteratura suggerisce che potrebbe trattarsi di un meccanismo umorale: troverebbero così spiegazione i depositi di MAC e i macrofagi, possibili effettori di citotossicità cellulo-dipendente anticorpo-mediata (ADCC) (Dalakas MC, 2011).

1.5.4 Miosite a corpi inclusi

La IBM condivide con la PM alcuni reperti istopatologici già citati ma se ne distacca per gli aspetti degenerativi, quali la presenza di vacuoli (o inclusioni) con orletto basofilo situati all'interno delle fibre e di depositi di β amiloide liberi nel citoplasma o all'interno dei vacuoli stessi. Se prese singolarmente, l'infiammazione muscolare e la degenerazione non sono specifiche di IBM: è la loro combinazione ad esserlo (Pinal-Fernandez I & Mammen AL, 2016). I meccanismi alla base dell'accumulo di amiloide sono legati al misfolding proteico

aberrante: la letteratura suggerisce infatti che anomalie della funzione del proteasoma, delle *heat shock proteins* e della autofagia concorrano alla patogenesi della IBM (Askanas V & Engel WK, 2011). Resta poco chiaro se sia la degenerazione o la infiammazione il *primum movens* della patologia.

1.5.5 Miosite associata a cancro

Sono state formulate principalmente due ipotesi per quanto riguarda la patogenesi della miosite associata a cancro. Da una parte, l'esposizione sulla membrana cellulare di neo-antigeni da parte delle cellule neoplastiche o delle miofibrille in rigenerazione può avviare la risposta immunitaria per mimetismo molecolare.

Inoltre, la perdita di tolleranza verso il *self* può essere indotta dalla prolungata presentazione antigenica o dalla modificazione post-traduzionale di proteine *self* nel contesto di un alterato microambiente tumorale (Suber TL et al., 2008). A tal proposito, va considerato che mutazioni di antigeni ubiquitari e coinvolti nella carcinogenesi come, ad esempio TIF1- γ , possono causare l'espressione o lo smascheramento di onco-antigeni in grado di stimolare la produzione di autoanticorpi, i quali potrebbero cross-reagire con antigeni muscolari e cutanei (de Vooght J et al., 2020; Ghirardello A et al., 2011).

La CAM potrebbe quindi essere considerata alla stregua di una manifestazione paraneoplastica, come confermato dalla almeno parziale regressione della miopatia dopo la remissione del tumore (Manger B & Schett G, 2014).

1.5.6 Sindrome antisintetasi

I meccanismi alla base della ASyS devono ancora essere del tutto chiariti.

Tuttavia, la presenza di anticorpi ARS è una caratteristica distintiva di questa sindrome e della stessa patogenesi. Infatti, tali autoanticorpi, di cui l'anti-Jo-1 è il principale, hanno come bersaglio epitopi *self* i cui titoli appaiono concordi con l'attività della malattia e possono precedere di mesi la diagnosi. È stato dimostrato

che nei pazienti affetti da ASyS con ILD, la proteina Jo-1 espressa a livello polmonare assume una conformazione atipica (Casciola-Rosen L et al., 2005).

L'innesco della ASyS sembra avvenire a livello polmonare a seguito dell'esposizione a fattori *trigger* come fumo o infezioni virali. Ciò può portare, in soggetti predisposti geneticamente, all'esposizione aberrante dell'antigene *self* e alla perdita della tolleranza. Di conseguenza, si attiva in maniera incontrollata l'immunità sia innata che adattativa (Gallay L et al., 2018).

Le ARS svolgono altre peculiari funzioni nel processo immunitario. L'istidil-t-RNA sintetasi sembra agire da chemochina regolando la migrazione linfocitaria e l'attivazione monocitaria. Oltre che nel siero, livelli di anticorpi anti-Jo-1 sono stati evidenziati nel lavaggio bronco-alveolare a testimoniare l'importante ruolo svolto dal polmone nella patogenesi (Opinc AH & Makowska JS, 2021).

Un ruolo chiave è stato attribuito alle cellule NK (*Natural Killer*) che nelle forme attive di ASyS assumono un fenotipo caratterizzato dall'aumento di CD57 e *Ig-like transcript 2* e dalla diminuzione di NKp30. Ne consegue una ridotta capacità di rilasciare IFN- γ , mentre la capacità di rilasciare enzimi proteolitici e degranulare è implementata. Questo fenotipo di cellule NK infiltra il perimio e circonda le miofibrille. Anche nel tessuto polmonare si è riscontrato un numero elevato di cellule NK rispetto ai controlli sani (Opinc AH & Makowska JS, 2021).

1.6 Clinica

Le MII presentano un quadro assai eterogeneo di presentazione clinica. Ogni paziente presenta un grado variabile di coinvolgimento a livello muscolare ed extra-muscolare, delineando così tre profili clinici: esclusivamente muscolare, esclusivamente extra-muscolare e coinvolgimento misto.

Il principale bersaglio delle miopatie infiammatorie idiopatiche è il muscolo scheletrico: i distretti muscolari colpiti vanno incontro a progressiva disfunzione, con conseguente ipostenia. Una marcata ipostenia prossimale, prevalentemente a livello dei cingoli scapolare e pelvico, causa frequentemente difficoltà nel salire

le scale, alzarsi dalla posizione seduta, sollevare oggetti dal pavimento. È inoltre tipico il coinvolgimento dei muscoli flessori e soprattutto degli estensori del collo, che causa la manifestazione clinica della “testa cadente” (Dalakas MC, 2015; Bohan A & Peter JB, 1975; Lundberg IE, 2016; Mammen AL, 2016). La muscolatura distale, interessata solo tardivamente nella maggior parte delle MII, è invece colpita precocemente e in modo più specifico nella IBM: in particolare l’ipostenia dei flessori delle dita e del carpo dei flessori dorsali della caviglia causa difficoltà nella manipolazione degli oggetti e caduta del piede (Dimachkie MM & Barohn RJ, 2012). I muscoli del volto, generalmente risparmiati nelle MII, possono essere coinvolti in maniera lieve nella IBM, mentre la muscolatura oculare estrinseca è sempre risparmiata (Dalakas MC & Hohlfeld R, 2003).

L’atrofia muscolare, precoce e localizzata ai quadricipiti e agli avambracci nella IBM, si può manifestare nelle altre MII a vari gradi, specie se il decorso è severo e cronico, ed è spesso evidenziata dall’*imaging* muscolare più che dall’esame obiettivo. Mialgia e dolenzia muscolare, contrariamente a quanto ci si potrebbe aspettare, non sono frequentemente presenti nella storia della malattia (Dalakas MC, 2015; Dalakas MC & Hohlfeld R, 2003). I muscoli respiratori sono eccezionalmente coinvolti nel processo infiammatorio: qualora lo siano, determinano dispnea e, nei casi gravi, insufficienza respiratoria per immobilizzazione del diaframma (Dalakas MC, 2015).

Lo spettro clinico delle MII non si ferma alla infiammazione ed al danno del muscolo scheletrico: si tratta infatti di malattie sistemiche che possono colpire anche altri organi. Le manifestazioni extra-muscolari sono più rare nella IBM e nella IMNM rispetto alle altre MII e comprendono: rash cutaneo tipico della DM, febbre, artralgie, disfagia e/o disfonia da interessamento della muscolatura di orofaringe ed esofago superiore, disturbi della conduzione cardiaca, valvulopatie, miocarditi, ILD, etc (Dalakas MC & Hohlfeld R, 2003; Cavazzana I et al., 2017). L’ILD, in particolare, rappresenta la seconda causa di morbosità nei pazienti con MII: in circa il 50% dei casi può condurre a morte per insufficienza respiratoria. I tipi di MII più frequentemente gravati da ILD sono la sindrome da antisintetasi (SAS), le

miositi overlap e la dermatomiosite amiotopica con positività per anticorpi anti-MDA5, quest'ultima caratterizzata da un'ILD rapidamente progressiva (Cavazzana I et al., 2017; Gil B et al., 2016).

La DM si distingue clinicamente dalle altre MII per alcune manifestazioni cutanee tipiche, necessarie per la diagnosi secondo i criteri di Bohm e Peter. Le lesioni patognomoniche della DM sono le papule di Gottron, lesioni rilevate, rosso scuro o violacee, desquamanti, localizzate sulle superfici estensorie delle articolazioni metacarpofalangee ed interfalangee prossimali e distali ed il rash eliotropo, un eritema violaceo delle palpebre superiori, spesso accompagnato da edema periorbitario (Mammen AL, 2016). Molti altri reperti cutanei possono presentarsi in corso di DM: rash eritematoso di volto e collo (segno dello scialle), del torace anteriore (*V sign*), delle ginocchia, dei gomiti, dei malleoli e delle spalle (segno del mantello); ipercheratosi delle mani con fessurazione delle dita (mani da meccanico), tipica della ASyS; teleangectasie periungueali e, specialmente nella JDM, calcificazioni sottocutanee. Meno frequenti ma comunque possibili sono le discheratosi ed il fenomeno di Raynaud, quest'ultimo generalmente associato alle miositi overlap e alla ASyS (Dalakas MC & Hohlfield R, 2003).

È necessario precisare che la DM può manifestarsi come CADM, in cui il coinvolgimento muscolare è clinicamente assente, e come DM *sine dermatite* in cui, a fronte di una biopsia muscolare diagnostica per DM, non si riscontrano manifestazioni cutanee (Mammen AL, 2016; Gil B et al., 2016).

Ultimo aspetto meritevole di nota è l'aumentato rischio di sviluppare un tumore maligno in associazione alla miosite, prima o dopo il suo esordio. La DM, tra tutte le MII, è quella più fortemente associata a questo rischio, in particolare se concomita la positività per gli auto-anticorpi anti-TIF1 γ o per anti-NXP2 (Betteridge Z & McHugh N, 2016). Sebbene non ci siano linee guida univoche, in letteratura è raccomandata l'esecuzione di opportuni test di screening oncologico al momento della diagnosi di MII, con mantenimento di un alto livello di sorveglianza per i primi tre anni dall'esordio della malattia muscolare (Tiniakou E & Mammen AL, 2017).

1.7 Diagnosi

Il primo passo per una diagnosi di MII è il forte sospetto clinico basato sulle tipiche manifestazioni muscolari ed extramuscolari della malattia che devono essere indagate da un'attenta valutazione anamnestica e dall'obiettività clinica.

Il sospetto clinico deve tuttavia essere confermato da indagini laboratoristiche, strumentali ed istopatologiche. Infine, è necessario escludere altre possibili cause di miopatia compatibili con il quadro clinico (Iaccarino L et al., 2014; Witt LJ et al., 2016; Oldroyd A & Chinoy H, 2018; Lyoyd TE et al., 2014).

La diagnosi dovrebbe basarsi innanzitutto su una clinica compatibile con MII, ovvero una ipostenia prossimale e simmetrica.

Le indagini laboratoristiche presentano diverse alterazioni biochimiche, alcune delle quali sono aspecifiche come, ad esempio, PCR (proteina C reattiva), VES (velocità di eritrosedimentazione delle emazie) e α 2-globuline, mentre altre sono abbastanza specifiche come gli enzimi muscolari e la sierologia.

I più importanti parametri agli esami ematochimici sono il CPK, le aldolasi e i meno specifici LDH, aspartato-aminotransferasi (AST) ed alanina-aminotransferasi (ALT): tutti questi enzimi sono dismessi dalle fibre muscolari danneggiate e la loro misurazione riveste un ruolo fondamentale nel follow-up dei pazienti con MII (Mammen AL, 2016). La positività autoanticorpale ha un ruolo ormai documentato in ambito diagnostico e prognostico, anche grazie alle moderne tecniche di laboratorio che permettono di espandere sempre più il numero di anticorpi indagabili (Lundberg IE et al., 2016).

La EMG è uno strumento importante del danno muscolare nelle MII, mostrando un quadro di miopatia irritabile caratterizzato dalla seguente triade: potenziali di fibrillazione a riposo, potenziali di unità motoria polifasici con ampiezza e durata ridotte, scariche ripetitive ad alta frequenza durante sforzo massimale. L'IBM in particolare può avere un quadro misto miopatico e neurogeno. L'EMG è uno strumento molto sensibile, ma il pattern descritto non è specifico delle miopatie infiammatorie idiopatiche, essendo comune a tutte le forme di danno muscolare con perdita di fibre (Lundberg IE et al., 2016; Lazarou IN & Guerne P-A, 2013).

La RM con mezzo di contrasto ha una alta sensibilità nell'identificare l'edema proprio della infiammazione muscolare che, pur non essendo un tratto altamente specifico delle MII, è più raramente presente in altre miopatie. L'utilità della RM nel follow-up risiede nella capacità di evidenziare anche il danno cronico, con evidenza di infiltrazione adiposa e atrofia muscolare nei pazienti con alto livello di cronicità del danno muscolare. L'ecografia muscolare e la PET/TC con fluorodesossiglucosio (FDG) trovano ancora limitata applicazione (Lundberg IE et al., 2016; Lazarou IN & Guerne P-A, 2013).

L'analisi istopatologica tramite biopsia muscolare riveste ancora un ruolo fondamentale: oltre ad essere estremamente specifica, per molti autori rimane lo strumento più sensibile nella diagnosi di MII e permette di distinguere i cinque sottotipi (PM, DM, IBM, IMNM, ASyS) (Lundberg IE et al., 2021). L'unico caso in cui la biopsia muscolare può essere considerata di secondaria importanza sono le forme di MII con il rash patognomnico della DM e/o con autoanticorpi specifici presenti e coerenti con il quadro clinico (Lazarou IN & Guerne P-A, 2013). Gli elementi istologici di maggior importanza e utilità nella diagnosi di MII e nella distinzione tra i vari sottotipi sono la distribuzione della atrofia, le caratteristiche e la localizzazione dell'infiltrato infiammatorio, l'espressione di MHC-I e la deposizione di MAC. La biopsia rimane inoltre l'unico strumento in grado di diagnosticare la DM *sine dermatitis*. Talora la sensibilità dell'analisi istopatologica può essere inficiata dallo scarso infiltrato infiammatorio delle sezioni analizzate: è importante, perciò, scegliere correttamente il muscolo sul quale eseguire la biopsia, in base alla clinica o all'imaging. Il processamento del campione e l'interpretazione dei reperti sono momenti fondamentali dell'analisi poiché, in alcuni casi, le caratteristiche istopatologiche riscontrate potrebbero essere limitate, parcellari e non particolarmente specifiche di MII (Lundberg IE et al., 2016; Lazarou IN & Guerne P-A, 2013; Lundberg IE et al., 2021).

1.7.1 Diagnosi differenziale

Molte condizioni possono mimare la MII, in particolare: distrofie muscolari, miopatie metaboliche, miopatie mitocondriali, miopatie endocrine, miopatie indotte da farmaci, miopatie infettive, malattie del motoneurone e miastenia *gravis*.

Nessuna di queste condizioni è associata alle manifestazioni cutanee della DM, ma la diagnosi differenziale dei fenotipi di MII con presentazione esclusivamente muscolare può risultare molto più impegnativa (Larson ST & Wilbur J, 2020).

1.8 Terapia

Gli obiettivi della terapia nelle miopatie infiammatorie idiopatiche sono il miglioramento della forza muscolare, la risoluzione del quadro dermatologico in corso di DM e la prevenzione dello sviluppo di complicanze extramuscolari (Dalakas MC & Hohlfeld R, 2003).

1.8.1 Terapia non farmacologica

L'esercizio fisico, preferibilmente sotto la guida di un fisioterapista, durante le fasi di remissione di malattia è un trattamento fondamentale in aggiunta alla terapia farmacologica e dovrebbe essere iniziato non appena le condizioni cliniche del paziente lo consentono.

In questi pazienti, infatti, si osserva un miglioramento della qualità di vita. Durante le fasi di attività di malattia invece sono preferibili mobilizzazioni passive per evitare le contratture e sono controindicati esercizi attivi sotto carico (Lundberg IE et al., 2021).

I benefici dell'attività fisica sono causati dall'attivazione di una vasta gamma di pathway molecolari che promuovono la neovascolarizzazione capillare, il rimodellamento muscolare ed attenuano la risposta immunitaria (Lundberg IE et al., 2021; Munters LA et al., 2016)

La valutazione foniatrica e fisiiatrica svolgono un ruolo fondamentale nella gestione dei pazienti con disfagia grave, al fine di ridurre il rischio di polmoniti *ab ingestis* (Castro C et al., 2012).

Infine, i pazienti devono essere istruiti fin dalle prime fasi sui benefici della fotoprotezione, poiché essa può influenzare il decorso della patologia.

1.8.2 Terapia farmacologica

I **corticosteroidi (CS)** sono universalmente riconosciuti come farmaci di prima linea, in particolare in caso di debolezza muscolare o in caso di ILD con riduzione dell'espressione di molecole infiammatorie come IL-1 α/β , ICAM-1, MHC-I nonché, dal punto di vista clinico, con recupero della forza muscolare (Lundberg I et al., 2000).

Una dose di carico iniziale di prednisone (1 mg/kg/die) deve essere somministrata durante le prime 4-6 settimane di malattia, con una successiva riduzione graduale, se il quadro clinico lo consente, del 20% del dosaggio del prednisone ogni mese fino a raggiungere la dose minima efficace (solitamente 5-10 mg/die) da continuare per un totale di 9-12 mesi.

Nei casi di miosite grave o in caso di grave ILD, è possibile somministrare CS in boli di metilprednisolone per via endovenosa alla dose di 1000 mg/die per 3-5 giorni consecutivi (Oddis CV & Aggarwal R, 2018). Il miglioramento della forza muscolare avviene solitamente nel secondo semestre di trattamento e se il controllo di malattia non è adeguato, è opportuno aggiungere un immunosoppressore, anche perché i CS sono legati a numerosi effetti indesiderati a lungo termine, oltre che a riacutizzazioni di malattia più frequenti se utilizzati in monoterapia (Dalakas MC, 2010).

Il **metotrexato (MTX)** è spesso usato in associazione al CS come terapia iniziale della miosite e nel trattamento dei pazienti che sviluppano riacutizzazioni di malattia conseguenti alla riduzione del CS. In prima linea, è raccomandata una dose di 15-20 mg/settimana. Un ampio studio clinico ha dimostrato in soggetti

affetti da JDM una risposta migliore con la combinazione prednisone e MTX rispetto al solo prednisone (Oddis CV & Aggarwal R, 2018; Ruperto N et al., 2016). L'**azatioprina** (AZT) è l'immunosoppressore di scelta nei pazienti con una patologia epatica o polmonare sottostante. La dose orale è di 2-3 mg/kg/die e consente di ottenere risultati funzionali migliori a lungo termine rispetto ai soli glucocorticoidi (Oddis CV & Aggarwal R, 2018; Bunch TW, 1981).

Il **micofenolato mofetile** (MMF) è un agente di seconda linea, tranne nei casi di miosite moderata o grave associata a ILD, in cui può essere utilizzato come farmaco di prima linea. Il dosaggio del MMF deve essere aumentato progressivamente fino a raggiungere una dose target di 2000-3000 mg/die (Ernste FC & Reed AM, 2013).

La **ciclofosfamide** (CYC) è un potente agente immunosoppressivo utile nel trattamento di forme di MII refrattarie o gravi, come in caso di ILD rapidamente progressiva, miosite grave o vasculite sistemica. È disponibile sia in formulazione endovenosa (500 mg in bolo ogni 15 giorni per 6 mesi o mensilmente 0,75g/m² fino alla dose target) che orale (1,5-2 mg/kg/die). Purtroppo, il suo uso è limitato da una notevole tossicità multisistemica che ne limita l'utilizzo a gravi situazioni cliniche (Oddis CV & Aggarwal R, 2018).

Gli inibitori della calcineurina, **ciclosporina** (CsA) e **tacrolimus**, sono impiegati come seconda linea e agiscono sopprimendo l'attivazione delle cellule T. La dose raccomandata per la CsA è di 3-5 mg/kg/die, mentre il tacrolimus dovrebbe mantenere livelli plasmatici di 8-10 ng/ml. Il loro utilizzo ha preso piede nelle miositi refrattarie o gravi con o senza ILD associata, che richiedono uno stretto monitoraggio (Ernste FC & Reed AM, 2013).

Le **immunoglobuline endovenose** (IVIg) sono agenti di seconda o terza linea con proprietà antinfiammatorie e immunomodulanti. Vengono utilizzate in concomitanza con altre terapie o in seguito al loro fallimento. Sono note per accelerare la risposta al trattamento e sono sicure in pazienti in gravidanza, oncologici o con infezioni in atto.

In caso di resistenza al trattamento, le IVIg possono essere somministrate alla dose di 2 g/kg per 2-5 giorni al mese in base alla risposta del paziente, di solito non superando i 3-4 cicli. La loro farmacodinamica comprende diversi meccanismi immunomodulatori, il loro uso è ben tollerato e comporta un miglioramento della qualità di vita (Wang DX et al., 2012).

Il **rituximab** (RTX) è un farmaco biotecnologico che agisce attraverso la deplezione dei linfociti B CD20+, coinvolti nella patogenesi di diversi fenotipi di MII. Il farmaco consente una significativa riduzione degli steroidi ed un miglioramento muscolo-cutaneo nei pazienti con MII altrimenti refrattaria. Risulta soprattutto efficace nei pazienti anti-Jo-1 o anti-Mi-2 e con JDM. Il RTX va somministrato al tempo 0 ed a distanza di due settimane, alla dose di 1000 mg per somministrazione (Nalotto et al., 2013; Oddis CV et al., 2013).

Le terapie con **anti-TNF- α** non vengono solitamente utilizzate poiché hanno portato a risultati contrastanti (Efthimiou P, 2006).

Abatacept, un farmaco che determina l'inibizione della co-stimolazione delle cellule T, è associato a importanti segni di miglioramento sia dal punto di vista clinico che istologico e viene somministrato per via endovenosa a una dose compresa tra 500 e 1000 mg, in base al peso del paziente (Tjärnlund A et al., 2018). Recentemente è stato studiato, con risultati incoraggianti, il **Tofacitinib** (un JAK inibitore) per il trattamento dell'impegno polmonare progressivo in forme severe di DM MDA-5+ o di ASyS non-Jo-1+ (Pineton de Chambrun M et al., 2020) e delle manifestazioni cutanee refrattarie di DM (Paik JJ et al., 2022).

1.9 Prognosi

Per evitare o cercare di ritardare il più possibile l'atrofia muscolare, la perdita funzionale e quindi la perdita di autonomia dei pazienti affetti da MII è fondamentale una diagnosi ed un trattamento precoci.

I maggiori predittori prognostici nelle MII sono il fenotipo di malattia, i marcatori autoanticorpali, il ritardo diagnostico, l'età di insorgenza della patologia, la gravità

della patologia all'esordio, l'estensione della malattia muscolare ed extramuscolare e l'eventuale concomitante presenza di una neoplasia.

Circa il 40% dei pazienti riesce a raggiungere la remissione di malattia grazie alle terapie, mentre la rimanente parte è destinata ad un decorso remittente recidivante (Briani C et al., 2006).

I tassi di sopravvivenza a 10 anni mostrano ampie variazioni che vanno dal 20% al 90% in funzione dello studio condotto ed al tipo di MII considerata. Il picco di mortalità è più alto nel primo anno di malattia e le principali cause di morte nei pazienti sono le neoplasie maligne e le patologie cardio-polmonari (Lundberg IE et al., 2021)

2. AUTOANTICORPI NELLE MIOPATIE INFIAMMATORIE IDIOPATICHE

La determinazione del profilo anticorpale in corso di MII contribuisce all'identificazione del fenotipo clinico, è di notevole importanza nel cercare di predire le manifestazioni d'organo ed ha un elevato valore prognostico. Gli autoanticorpi hanno come bersaglio antigeni *self* intracellulari ad espressione pressoché ubiquitaria e coinvolti in molteplici processi cellulari come regolazione genica e trascrizione.

Gli autoanticorpi riscontrati nelle MII sono classicamente divisi in due categorie: autoanticorpi miosite specifici, quasi esclusivi delle miositi ed autoanticorpi miosite associati (MAA), che non sono specifici per le MII in quanto rilevabili anche in pazienti con altre patologie del tessuto connettivo, e tra le MII sono generalmente rilevabili nelle forme *overlap* (Mammen AL, 2010).

Gli MSAs e gli MAAs sono normalmente misurati tramite saggi immunoenzimatici ELISA, ma purtroppo non sono disponibili in tutti i centri. Inoltre, molti pannelli per le MII disponibili in commercio presentano livelli di accuratezza non uniformati.

Si stima che l'80% dei pazienti affetti da MII risulta positivo a qualche autoanticorpo e circa il 45% di essi è positivo ad un MSA (Ghirardello A et al., 2013; Alenzi F, 2020).

2.1 Anticorpi miosite specifici

I principali autoantigeni target della risposta anticorpale miosite-specifica appartengono a tre distinti gruppi proteici: le aminoacil-tRNA sintetasi, la proteina nucleare Mi-2 e il complesso proteico denominato "*Signal Recognition Particle*"

Per la ASyS, sono stati identificati al momento 8 degli anticorpi diretti contro le 21 aminoacil-tRNA sintasi che sono tra loro mutualmente esclusivi: **anti-Jo-1** (presente nel 20% delle ASyS), anti-EJ, anti-PL-7 e anti-PL-12 sono i più frequenti mentre anti-OJ, anti-KS, anti-Zo e anti-Ha sono di meno comune riscontro.

Nei pazienti positivi ad anticorpi anti-Jo1, anti-PL-7, anti-EJ è comune la miosite e la concomitante presenza di miosite ed artrite si osserva frequentemente nei pazienti con anticorpi anti-Jo-1. Nei pazienti con anticorpi anti-PL-7, anti-PL-12, anti-KS ed anti-OJ è più prevalente e clinicamente severa l'ILD.

La valutazione del dato laboratoristico risulta estremamente utile nell'inquadramento del paziente in quanto le caratteristiche istopatologiche della ASyS possono rientrare nei criteri classificativi della DM ed inoltre è frequente osservare anche manifestazioni cutanee tipiche di DM in corso di ASyS (Gasparotto M et al, 2019; McHugh NJ & Tansley SL, 2018).

Gli **anti-Mi-2** sono autoanticorpi diretti contro Mi-2, conosciuto anche come complesso NuRD che partecipa alla regolazione dell'espressione genica e al rimodellamento della cromatina. Sono anticorpi tipici della DM e compaiono in quasi il 30% dei pazienti. Solitamente i pazienti con anticorpi anti-Mi-2 non hanno un rischio aumentato di ILD, di cancro e di poliartrite. Gli anti-Mi-2 sono legati ad un'insorgenza relativamente acuta della DM con importanti manifestazioni cutanee come il segno dello scialle o del collo a V. Sono noti per essere associati ad una buona risposta alla terapia (Liang L et al., 2020).

I pazienti con anticorpi **anti-SRP-positivi** sono frequentemente, ma non esclusivamente, affetti da IMNM. L'antigene coinvolto è la *signal recognition particle* impegnata nella traslocazione delle proteine appena sintetizzate nel reticolo endoplasmico. Il coinvolgimento cardiaco è spesso presente in questa popolazione, che presenta un esordio severo con alti livelli di CPK e prognosi grave anche a causa della scarsa risposta al trattamento (Hengstman GJD et al., 2006).

Gli anticorpi **anti-MDA-5** (noti anche come CADM-140) hanno come bersaglio l'RNA elicasi codificata dal gene 5 associato alla differenziazione del melanoma. Di solito determinano un fenotipo che consiste in una ILD rapidamente progressiva, artrite, CADM e, occasionalmente, ulcerazioni di papule e segno di Gottron ed alopecia non cicatriziale. Le manifestazioni muscolari sono lievi o assenti per tutta la durata della malattia ma la prognosi è infausta (Fiorentino D et al., 2011).

Gli anticorpi anti-SAE sono diretti contro il piccolo enzima attivatore del modificatore ubiquitina-simile che media la regolazione della trascrizione genica. La disfagia e le manifestazioni cutanee sono comuni e anticipano di gran lunga lo sviluppo della miopatia; le neoplasie sono più frequenti in questi pazienti che nella popolazione generale (Jia E et al., 2019).

Gli anticorpi anti-TIF1- γ sono diretti contro il fattore trascrizionale intermedio 1 gamma e conferiscono un rischio maggiore di malignità, oltre a manifestazioni caratteristiche che comprendono papule ipercheratosiche sui palmi delle mani e sulla pianta dei piedi, lesioni simili alla psoriasi e chiazze "red-on-white".

Gli anticorpi anti-NXP-2 sono diretti contro la proteina 2 della matrice nucleare, che agisce da regolatore trascrizionale. Si trova comunemente tra i pazienti affetti da JDM con interessamento severo già all'esordio e presenza di calcinosi cutanea. Gli anticorpi anti-NXP-2 si associano a tumori nei maschi e negli adulti (Fiorentino DF et al., 2013).

La positività agli anti-HMGCR, che sono diretti contro la 3-idrossi-3-metilglutaril coenzima A reduttasi, suggeriscono una IMNM associata all'esposizione a statine. La presentazione può essere simile a quella dei casi con gli anti-SRP positivi (Grable-Esposito P et al., 2010).

2.1 Anticorpi miosite associati

Gli MAA sono caratteristici invece di altri tipi di connettivite e possono associarsi a miosite primaria o secondaria. I più frequenti sono quelli rivolti contro il complesso PM/Scl, l'antigene nucleare Ku, le riboproteine Ro/SSA e U1RNP. Gli anticorpi anti PM/Scl sono tipici anche delle forme di sclerodermia senza miosite e delle forme overlap di scleromiosite.

Gli **anti-PM-Scl** sono degli anticorpi diretti contro un complesso antigenico localizzato nel nucleolo costituito da 2 proteine 110 kD (PM/Scl-100), principale autoantigene, e 80 kD (PM/Scl-75). Gli autoanticorpi principalmente identificati sono contro l'antigene PM/Scl-100, mentre in alcuni pazienti si rilevano gli autoanticorpi contro l'antigene PM/Scl-70.

Questi anticorpi sono di frequente riscontro in individui adulti con miosite accompagnata da manifestazioni cutanee e polmonari di tipo sclerodermico. Sono riportati casi di JDM in cui i rash cutanei presenti all'esordio tendono a scomparire lasciando il posto ad un quadro di sclerodermia; tipicamente questi soggetti sono positivi per anticorpi anti-PM-Scl ed è stato perciò coniato il termine "scleromiosite" per definirne la loro condizione.

Gli **anti-Ku** sono degli anticorpi diretti contro l'antigene Ku che ha una localizzazione nucleare ed è costituito da due proteine di peso molecolare 70 kD e 80 kD ed ha la funzione di regolare una protein chinasi DNA-dipendente, che catalizza la fosforilazione di fattori di trascrizione, tra i quali l'RNA polimerasi I e II. Gli autoanticorpi anti-Ku si rilevano nei pazienti affetti da miositi overlap associate a connettiviti.

Gli **anti-Ro/SSA** sono presenti in oltre il 30% dei casi di miosite, spesso associati agli anti-ARS. È stato dimostrato che, nei pazienti con DM/PM anti-Jo1 positiva, hanno un significato prognostico negativo, correlando con forme più severe di ILD, miosite, artrite e CAM (Ghirardello A et al., 2013).

Gli anticorpi **anti-U1RNP** si rilevano solitamente nei pazienti affetti da miositi *overlap* associate a connettiviti, più spesso SSc e LES (McHugh NJ & Tansley SL, 2018).

PARTE SECONDA

3. INTRODUZIONE ALLA RICERCA E SCOPI DELLO STUDIO

Autoanticorpi sierici non-organo specifici si rinvencono nell'60-80% dei pazienti affetti da PM/DM. Tali anticorpi non sono diretti verso antigeni propri dei tessuti muscolari, bensì verso complessi intracellulari ubiquitari, nucleari o citoplasmatici. Essi riconoscono epitopi altamente conservati e talvolta possono inibire in vitro la funzione biologica del target antigenico (Ghirardello A et al., 2005).

La classificazione dei pazienti con miosite autoimmune sulla base del profilo degli MSA proposta da Love LA et al. (Love LA et al., 1991) permette di identificare gruppi di pazienti con caratteristiche cliniche (muscolari ed extramuscolari), sieroimmunologiche ed immunogenetiche simili.

A tutt'oggi, per la classificazione di PM e DM, si utilizzano ancora i criteri proposti da Bohan e Peter del 1975 (Bohan A & Peter JB, 1975), ma il rilievo sierico dei MSA o dei MAA rappresenta un valido aiuto per la diagnosi, la classificazione ed in alcuni casi per la prognosi di queste malattie. Il loro riscontro consente inoltre di distinguere in fase precoce le miositi primitive o secondarie ad altre connettiviti, da quelle paraneoplastiche (Ghirardello A et al., 2005).

Recentemente è stata descritta una nuova specificità degli anticorpi antinucleo (ANA) caratterizzata all'Immunofluorescenza Indiretta su cellule Hep-2 (IFI), da un pattern fluoroscopico definito "*dense fine speckled*" (DFS) per la fluorescenza finemente granulare del nucleo nelle cellule in interfase e della cromatina nelle cellule in metafase. L'antigene associato a tale quadro fluoroscopico, noto anche come "*lens epithelium derived growth factor p75*" (LEDGFp75), è una proteina di 70 kD che è ubiquitariamente espressa nei tessuti dell'organismo e che svolge funzioni di risposta allo stress (Ochs RL et al., 2016).

Gli anticorpi diretti contro il target antigenico *dense fine speckled* di 70 kD (DFS70) sono comunemente riscontrati tra i sieri che afferiscono ai laboratori clinici con richiesta di ANA *screening*. Il pattern fluoroscopico associato alla presenza di anticorpi anti-DFS70 è stato designato con la sigla alfanumerica AC-02 nella

recente classificazione introdotta dall'International Consensus on ANA Pattern (ICAP) (Conrad K et al., 2016).

La frequenza con cui tale pattern viene riscontrato in coorti di pazienti sottoposti a screening ANA, ha una frequenza media del 7.6% e che varia, a seconda degli studi, dal 0.8% al 16.6% (Ochs RL et al., 2016).

Gli anticorpi anti-DFS70 sono stati descritti in pazienti con diverse condizioni infiammatorie croniche, nei tumori, nelle malattie reumatologiche e anche in soggetti apparentemente sani, mostrando dati di prevalenza discrepanti a seconda della popolazione analizzata (Ochs RL et al., 1994; Basu A et al., 2012; Albesa R et al., 2019; Mahler M, Hanly JG, Fritzler MJ, 2012; Peker BO et al., 2019; Carbone T et al., 2020).

Inoltre, l'antigene da essi riconosciuto ha mostrato interessanti implicazioni nei tumori, nell'infezione da HIV e nei processi infiammatori.

Gli anticorpi anti-DFS70 sembrano avere una bassa prevalenza nelle malattie reumatiche autoimmuni, mentre ricorrono più frequentemente in individui sani. La prevalenza di anti-DFS70 nelle malattie reumatiche autoimmuni inoltre risulta ancora inferiore se si considerano solo i pazienti dove questi sono presenti in monospecificità: 0.5% nelle malattie reumatiche autoimmuni considerate globalmente, 8.1% nelle connettiviti indifferenziate, 0.7% nel Lupus Eritematoso Sistemico, 1% nella Sindrome di Sjogren e 0.9% nelle MII (Conrad K, Röber N et al., 2016).

In letteratura scientifica sono riportati pochi studi che hanno indagato la presenza di anticorpi anti-DFS70 in DM e PM ed è stato dimostrato che vi è una bassissima prevalenza di questi anticorpi.

Watanabe A et al. non hanno riscontrato anticorpi anti-DFS70 su un totale di 25 pazienti con PM o DM (Watanabe A et al., 2004); Muro et al. hanno riscontrato anticorpi anti-DFS70 in 4 pazienti su un totale di 80 pazienti con PM o DM (5%) (Muro Y et al., 2008) e nel 6.4% in una coorte di pazienti con DM (Muro Y et al., 2013); Vázquez-Del Mercado M et al. hanno riscontrato anticorpi anti-DFS70 in 1 paziente su un totale di 71 pazienti con DM (1.4%) (Vázquez-Del Mercado M et al.,

2017); Hayashi N et al. hanno infine riscontrato anticorpi anti-DFS70 in 1 paziente su un totale di 33 pazienti con PM o DM (3%) (Hayashi N et al., 2021).

Al contrario, per quanto a noi noto, non esistono ad oggi studi che abbiano esaminato la frequenza degli anticorpi anti-DFS70 nelle MII come gruppo.

Questi autoanticorpi possono giocare un ruolo protettivo o patogenetico ma, ad oggi, il loro significato, tanto clinico quanto biologico, resta ancora non definito.

Oltre a un possibile ruolo patogenetico, è stato ipotizzato che gli anticorpi anti-DFS70, in alcune condizioni, possano avere anche un effetto protettivo. Infatti, in uno studio condotto su pazienti con DM ha evidenziato una tendenza degli anticorpi anti-DFS70 ad aumentare con la guarigione, al contrario degli anti-MDA5, autoanticorpi specifici di malattia, che si negativizzano (Muro Y et al., 2013).

L'influenza di fattori demografici, genetici o legati all'etnia, così come gli effetti delle terapie sulla produzione di questi anticorpi, è ancora scarsamente caratterizzato.

Per tutte queste ragioni è importante lo sviluppo, il perfezionamento e la diffusione di metodiche di laboratorio per l'identificazione degli autoanticorpi da impiegare nella diagnostica delle miositi.

Scopi dello studio

Questo studio ha lo scopo di caratterizzare il profilo autoanticorpale dei pazienti con MII, indagare preliminarmente in particolare gli anticorpi anti-DFS70 ed analizzarne il ruolo come potenziali *biomarker*.

Nello specifico gli scopi dello studio sono stati quelli di:

- caratterizzare il profilo autoanticorpale (ANA, ENA, MSA, MAA, anticorpi associati alla SSc, anti-DNA) dei pazienti affetti da MII;
- stabilire eventuali differenze nell'espressione autoanticorpale nei diversi sottotipi di MII ed individuare correlazioni tra i dati clinici e laboratoristici;
- misurare la prevalenza degli anticorpi anti-DFS-70 nei diversi sottotipi di MII;

- verificare l'utilità clinica della profilazione autoanticorpale analizzando le correlazioni con manifestazioni cliniche, storia di neoplasia e presenza di anticorpi anti DFS-70.

Lo studio e i dati raccolti consentiranno di verificare eventuali concordanze e/o discordanze con quanto è stato descritto finora in letteratura e successivamente di formulare ipotesi per stimolare studi futuri che possano confermare tali osservazioni.

4. MATERIALI E METODI

4.1 Pazienti

Tra novembre 2019 e giugno 2022 sono stati arruolati in questo studio un totale di trentanove pazienti affetti da MII giunti consecutivamente alla nostra osservazione.

I criteri di eleggibilità per i pazienti prevedevano un'età uguale o superiore ai 18 anni e una diagnosi di un qualsiasi sottotipo di MII effettuata da un reumatologo esperto, sulla base di dati clinici, strumentali, di laboratorio e istologici, se disponibili. Sono stati esclusi i pazienti affetti da miopatie di altra natura.

4.2 Protocollo di studio

Il protocollo di studio includeva la raccolta di:

- dati clinico-anamnestici quali età, sesso, comorbidità, storia presente o passata di esposizione tabagica, insorgenza del primo sintomo o segno da attribuire ad una MII, coinvolgimento cutaneo (rash eliotropo, papule di Gottron, segno di Gottron, calcinosi, ulcere, *mechanic hands*), debolezza muscolare, mialgia, astenia, fenomeno di Raynaud, febbre, sindrome secca, disfagia, dispnea, tosse, febbre, artrite, perdita di peso, ipertensione polmonare, miocardite, sierosite, insufficienza renale, storia di neoplasie, anamnesi farmacologica prossima e remota;
- la valutazione clinica;
- un prelievo ematico per la valutazione dei seguenti parametri di laboratorio di routine quali: VES, PCR, CPK, LDH, aldolasi, mioglobina, AST, ALT, leucociti, proteinuria delle 24 ore, C3 e C4;
- valutazione istologica, quando disponibile, tramite la biopsia muscolare;
- valutazione strumentale dell'impegno dei vari organi mediante: videocapillaroscopia periungueale, prove di funzionalità respiratoria con diffusione alveolo-capillare del monossido di carbonio (PFR con DLCO) e

con TC del torace ad alta risoluzione, EMG, scintigrafia e manometria esofagea ed ecocolordoppler cardiaco.

Il consenso informato è stato firmato da tutti i pazienti coinvolti.

4.3 Analisi di laboratorio

Tutti i campioni ematici sono stati prelevati tramite venipuntura periferica ed il siero è stato ottenuto tramite centrifugazione a 3000 giri al minuto per 10 minuti a 4 °C e le aliquote ricavate da tale procedura sono state poi conservate a -80°C fino all'analisi.

I campioni di siero sono stati analizzati tramite Immunofluorescenza indiretta e con Immunoblotting.

Le variabili sierologiche analizzate al momento del prelievo sono riportate in Tabella III.

ANA screening

La ricerca degli ANA è stata eseguita con il kit commerciale di immunofluorescenza indiretta ANA HEp-2000 (HEp-2000 Fluorescent ANA-Ro Test System, Immuno Concepts N.A., Sacramento, CA, USA) e un preparatore di vetrini automatizzato Gemini Combo, Stratec Biomedical). La soglia di positività è stata considerata pari a 1:80. La lettura dei preparati è stata eseguita con microscopio a fluorescenza automatizzato e sistema di acquisizione di immagini (Image navigator, Alifax, Polverara (PD)).

Immunoblotting

Tutti i sieri sono stati analizzati per la ricerca di anticorpi IgG diretti contro il DFS70 (sequenza dell'antigene DFS70: residui amminoacidici 349-435) e le seguenti specificità antigeniche: MDA-5, TIF1- γ , SAE1, SAE2, NXP-2, Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, OJ, KS, ZO, HA, SRP, Mi-2, HMGCR, U1-RNP, SSaRo52/60, PMScl100/75, Ku, Scl-70, CENP-A, CENP-B, RNA Polymerase III, Th/to, Fibrillarin, Sm, Sm/RNP, SSB/La, PCNA,

con la tecnica dell'Immunoblotting (IB) (Alphadia, Wavre, Belgium), utilizzando lo strumento automatizzato Blu Diver Instrument (BDI).

L'interpretazione semi-quantitativa è stata ottenuta con il sistema di scanner e il Software Dr Dot (Alifax) utilizzando come unità di misura le Unità Arbitrarie (UA).

Ricerca di altri anticorpi

Tutti i campioni di siero sono stati analizzati per la ricerca di anticorpi anti-dsDNA mediante IFI su *Crithidia luciliae* (Euroimmun, Padova (PD)).

Tabella III. Pannello sierologico esaminato

AUTOANTICORPI ESAMINATI			
MSA:	MAA:	Anticorpi associati alla SSc	Altri:
MDA-5	U1-RNP	Scl-70	DFS70
TIF1- γ	SSaRo52/60	CENP-A	Sm
SAE1	PMScl100/75	CENP-B	Sm/RNP
SAE2	Ku	RNA Polymerase III	SSB/La
NXP-2		Th/to	PCNA
Jo-1		Fibrillarin	dsDNA
PL-7			ANA
PL-12			
EJ			
OJ			
KS			
ZO			
HA			
SRP			
Mi-2			
HMGCR			

4.4 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata con GraphPad Prism 7 software (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) ed SPSS 23 (Chicago, IL). Il test di D'Agostino e Pearson è stato usato per valutare la distribuzione normale dei dati. I dati sono mostrati come media \pm SD per le variabili continue e la mediana con range è stata utilizzata per distribuzioni continue non normali. Le analisi sono state divise per variabili continue e discrete. Per le prime è stato usato il test T di Student o il Mann-Whitney per campioni indipendenti; per le altre è stato impiegato il test di Fisher esatto. L'ANOVA a una via con la correzione di Bonferroni per distribuzioni normali o il test di Kruskal-Wallis per distribuzioni non normali, sono stati utilizzati per confrontare i dati relativi a tre o più gruppi. Un valore di $p \leq 0,05$ è stato considerato come statisticamente significativo.

5. RISULTATI

5.1 Caratteristiche dei pazienti arruolati nello studio

Durante il periodo di studio, sono stati esaminati 39 pazienti adulti affetti da MII, tra i quali le diagnosi erano suddivise come segue: dermatomiosite (n= 15), polimiosite (n= 9), sindrome da *overlap* (n= 11), sindrome da antisintetasi (n= 4). I pazienti affetti da MII, suddivisi in diversi sottotipi di malattia e le loro principali caratteristiche cliniche e demografiche, sono riportate di seguito nella Tabella IV.

Tabella IV. Caratteristiche dei pazienti arruolati

Pazienti affetti da MII arruolati nello studio (n = 39)		
Genere	Maschi	7 (17.9)
	Femmine	32 (82.1)
Età alla diagnosi	(mediana e range)	51 (5 - 69)
Durata di malattia in anni	(mediana e range)	7 (0 - 37)
Diagnosi di MII (n, %)	DM	15 (38.5)
	PM	9 (23.1)
	OM (4 SSc, 1 AR, 1 LES, 1 SS, 1 Crioglobulinemia, 2 UCTD)	11 (28.2)
	ASyS	4 (10.2)
Manifestazioni cliniche cutanee (n, %)	Nessuna	13 (33.3)
	Rash eliotropo	12 (30.8)
	Papule di Gottron	11 (28.2)
	Segno di Gottron	11 (28.2)
	Calcinosi	3 (7.7)
	Ulcere	4 (10.2)
	Mechanic hands	6 (15.4)
Fenomeno di Raynaud		14 (35.9)

Acrocianosi		4 (10.2)
Debolezza muscolare	Assente	14 (35.9)
	Arti superiori	3 (7.7)
	Arti inferiori	2 (5.1)
	Quattro arti	20 (51.3)
Mialgie		36 (92.3)
Astenia		34 (81.2)
Sindrome secca		8 (20.5)
Disfagia		20 (51.3)
Dispnea		23 (59)
Artrite		16 (41)
Ipertensione polmonare		8 (20.5)
Miocardite		2 (5.1)
Sierosite		5 (12.8)
Insufficienza renale		1 (2.5)
Storia di neoplasie		3 (7.7)
VES	(media \pm DS)	30 \pm 18
PCR (mg/dL)	(mediana e range)	0.63 (0.2 - 15)
CPK	(mediana e range)	695 (35 - 15629)
LDH	(mediana e range)	346 (74 - 1896)
Aldolasi (n= 34)	(mediana e range)	8.9 (2.1 - 101)
Mioglobina	(media \pm DS)	943 \pm 1189
AST	(mediana e range)	22 (15 - 409)
ALT	(mediana e range)	21 (12 - 281)
Leucociti	(media \pm DS)	7957 \pm 3192
Creatinina	(mediana e range)	0.62 (0.3 - 1.6)
Proteinuria 24 ore g/24h (n= 15)	(mediana e range)	0.2 (0 - 0.82)
C3	(mediana e range)	1.1 (0.2 - 1.3)

C4	(media \pm DS)	0.24 \pm 0.07
BNP	(mediana e range)	21 (10 - 2783)
TC torace positiva per ILD (n= 29)		10
Scintigrafia esofagea patologica (n= 9)		7
Terapie pregresse	CS (n, %)	39 (100)
	MMF (n, %)	2 (5.1)
	MTX (n, %)	9 (23)
	AZT (n, %)	6 (15.4)
	CYC (n, %)	4 (10.3)
	RTX (n, %)	1 (2.6)
	CsA (n, %)	5 (12.8)
	Colchicina (n, %)	0 (0)
	IVIg (n, %)	2 (5.1)
	Nessuna (n, %)	0 (0)
Terapie in atto	CS (n, %)	31 (79.4)
	MMF (n, %)	7 (18)
	MTX (n, %)	19 (48.7)
	AZT (n, %)	5 (12.8)
	CYC (n, %)	1 (2.6)
	RTX (n, %)	4 (10.3)
	CsA (n, %)	4 (10.3)
	Colchicina (n, %)	1 (2.6)
	IVIg (n, %)	1 (2.6)
	Nessuna (n, %)	0 (0)

5.2 Profilo autoanticorpale

Anticorpi sierici MSA o MAA sono stati trovati in 25/39 pazienti (64.1%). In particolare, gli MSA sono stati trovati in 16/39 pazienti (41%), gli MAA in 14/39 (35.9%).

Il profilo autoanticorpale dei pazienti affetti da MII è mostrato nella Tabella V.

I MSA sono risultati presenti in associazione agli MAA in 5 pazienti su 39 (12.8%): di questi, 3 erano anti-Jo-1 ed anti-SSaRo52 positivi; 1 paziente era anti-HMGCR ed anti-PM-Scl100 positivo ed 1 paziente era NXP-2 ed SSaRo52 positivo.

Tra gli MSA, gli anti-Jo-1 erano presenti in 6 pazienti (15.4%); gli anti-Mi-2 in 5 pazienti (12.8%); gli anti-NXP-2 in 4 pazienti (10.2%) e gli anti-HMGCR nel solo paziente con la concomitante positività per gli anti-PM-Scl100.

Tre pazienti (7.7%) presentavano una doppia positività per gli MSA: un paziente era positivo per gli anti-Mi-2, gli anti-SRP e gli anti-Sm/RNP; un paziente era positivo per gli anti-Mi-2 e gli anti-SRP ed un paziente era positivo per gli anti-Jo-1 e gli anti-TIF1- γ .

Tra gli MAA, gli anticorpi anti-SSaRo52 sono risultati presenti in 7 pazienti (17.9%); gli anti-SSaRo60 in 5 pazienti (12.8%); gli anti-PM-Scl100 in 2 pazienti (5.1%); gli anti-Ku in 2 pazienti (5.1%) e gli anti-PM-Scl75 in 1 paziente (2.6%).

Otto pazienti (20.5%) presentavano almeno una doppia positività ad un MAA o ad un altro anticorpo associato alle connettiviti, con 2 pazienti che presentavano una concomitante positività per 5 anticorpi: 1 paziente è risultato positivo per gli anti-SSaRo52, gli anti-SSaRo60, gli anti-SSB, gli anti-SM e gli anti-Sm/RNP mentre un altro è risultato positivo per gli anti-SSaRo52, gli anti-SSaRo60, gli anti-SSB, agli anti-RNP e gli anti-Sm-RNP.

Gli anticorpi anti-DFS70 sono risultati positivi in 2 pazienti su 39 affetti da MII (5.1%): un paziente è risultato esclusivamente positivo agli anti-DFS70 ed un altro è risultato positivo anche agli anti-SSaRo60.

Gli anticorpi ANA sono risultati positivi in 28 pazienti su 39 (71.8%).

Tra gli 11 pazienti risultati ANA negativi (28.2%) all'IFI, è stato possibile riscontrare in Immunoblot la sola positività degli MSA in 2 pazienti (entrambi anti-NXP-2

positivi), la sola positività degli MAA in 1 paziente (positivo per gli anti-PM-Scl100) ed una concomitante positività di MSA e MAA in 2 pazienti (entrambi anti-Jo-1 ed anti-SSaRo52 positivi).

34 pazienti su un totale di 39 (87.2) è risultato positivo ad almeno un autoanticorpo (MSA, MAA, DFS70, ANA, altri).

Tabella V. Profilo autoanticorpale dei pazienti affetti da MII

Sierologia (n, %)		
Autoanticorpi miosite specifici		16 (41)
(MSA)	Jo-1	6 (15.4)
	SRP	2 (5.1)
	TIF1- γ	1 (2.6)
	NXP-2	4 (10.2)
	Mi-2	5 (12.8)
	HMGCR	1 (2.6)
	MDA-5, SAE1, SAE2, PL-7, PL-12, EJ, OJ, KS, ZO, HA	0 (0)
Autoanticorpi miosite associati		14 (35.9)
(MAA)	SSaRo52	7 (17.9)
	SSaRo60	5 (12.8)
	PM-Scl100	2 (5.1)
	PM-Scl75	1 (2.6)
	Ku	2 (5.1)
Altri		8 (20.5)
	SSB	3 (7.7)
	RNP 68kD	2 (5.1)

	Sm	2 (5.1)
	Sm-RNP	4 (10.2)
	PCNA	1 (2.6)
	Ds-DNA	0 (0)
	Scl-70	1 (2.6)
	CENP-A	1 (2.6)
	CENP-B	1 (2.6)
	Fibrillarin	1 (2.6)
	RNA Polimerase III	0 (0)
	Th/To	0 (0)
DFS70		2 (5.1)
ANA		28 (71.8)
MSA o MAA		25 (64.1)
MSA + MAA		5 (12.8)
Qualsiasi autoanticorpo		34 (87.2)

5.3 Profilo autoanticorpale nei vari sottotipi di MII

Le frequenze degli MSA, MAA, DFS70, ANA e degli altri autoanticorpi nelle varie forme di MII sono riportate in Tabella VI ed in Figura 3.

Gli MSA sono risultati positivi:

- nel 53.3% dei pazienti con DM
- nel 33.3% dei pazienti con PM
- nel 18.2% dei pazienti con OM
- nel 75% dei pazienti con ASyS.

Gli MAA sono risultati positivi:

- nel 6.6% dei pazienti con DM
- nel 55.5% dei pazienti con PM
- nel 63.6% dei pazienti con OM
- nel 25% dei pazienti con ASyS.

Gli MSA o gli MAA sono risultati positivi rispettivamente nel 53.3%, 66.7%, 72.7% e 75% dei pazienti con DM, PM, OM e ASyS.

Una concomitante positività per MSA e MAA è risultata nel 6.6%, 22.2%, 9.1% e 25 % dei pazienti con DM, PM, OM e ASyS.

Gli anticorpi anti-DFS70 sono risultati positivi in 2 pazienti:

- 1 paziente con PM, ANA positività e concomitante positività per DFS70 e SSaRo60
- 1 paziente con con DM, ANA negatività e positività solo per DFS70.

Gli ANA sono risultati positivi rispettivamente nel 60%, 77.8%, 81.8% e 75% dei pazienti con DM, PM, OM e ASyS.

La positività ad un qualsiasi autoanticorpo di quelli indagati (come da Tabella III), è risultata rispettivamente nel 80%, 88.9%, 90.9% e 100% dei pazienti con DM, PM, OM e ASyS.

L'anticorpo anti-Jo1 è risultato più frequente nei pazienti con ASyS rispetto ai pazienti con OM ($p= 0.0088$) e rispetto ai pazienti con DM ($p= 0.0157$).

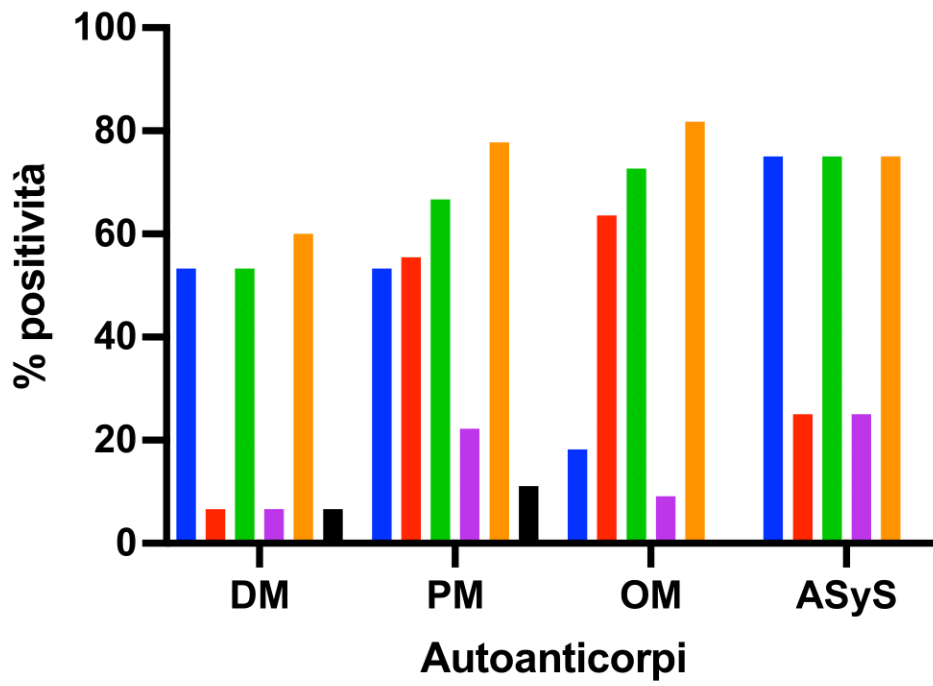
Gli MAA sono risultati più frequentemente presenti nei pazienti con PM rispetto ai pazienti con DM ($p= 0.0147$) e nei pazienti con OM rispetto ai pazienti con DM ($p= 0.0033$). In particolare, l'anticorpo anti-SSaRo52 è risultato più frequente nei pazienti con PM rispetto ai pazienti con DM ($p= 0.0329$), mentre l'anticorpo anti-SSaRo60 è risultato più frequente nei pazienti con PM rispetto ai pazienti con DM ($p= 0.0415$).

Tabella VI. Frequenza (%) degli autoanticorpi nelle varie forme di miopatia infiammatoria idiopatica (PM, DM, overlap).

	Pz totali n= 39	DM n= 15	PM n= 9	OM n= 11	ASyS n= 4	p
Autoanticorpo	(n, %)					
MSA	16 (41)	8 (53.3)	3 (33.3)	2 (18.2)	3 (75)	ns
Jo-1	6 (15.4)	1 (6.6)	2 (22.2)	0	3 (75)	0.0088 ASyS vs OM 0.0157 ASyS vs DM
SRP	2 (5.1)	1 (6.6)	1 (11.1)	0	0	ns
TIF1-γ	1 (2.6)	1 (6.6)	0	0	0	ns
NXP-2	4 (10.2)	3 (20)	0	1 (9.1)	0	ns
Mi-2	5 (12.8)	4 (26.7)	1 (11.1)	0	0	ns
HMGCR	1 (2.6)	0	0	1 (9.1)	0	ns
MDA-5, SAE1, SAE2, PL-7, PL- 12, EJ, OJ, KS, ZO, HA	0	0	0	0	0	ns
MAA	14 (35.9)	1 (6.6)	5 (55.5)	7 (63.6)	1 (25)	0.0147 PM vs DM 0.0033 OM vs DM
SSaRo52	7 (17.9)	1 (6.6)	4 (44.4)	1 (9.1)	1 (25)	0.0329 PM vs DM
SSaRo60	5 (12.8)	0	3 (33.3)	2 (18.2)	0	0.0415 PM vs DM
PM-Scl100	2 (5.1)	0	0	2 (18.2)	0	ns
PM-Scl75	1 (2.6)	0	0	1 (9.1)	0	ns

Ku	2 (5.1)	0	0	2 (18.2)	0	ns
SSB	3 (7.7)	0	2 (22.2)	1 (9.1)	0	ns
RNP 68kD	2 (5.1)	0	1 (11.1)	1 (9.1)	0	ns
Sm	2 (5.1)	0	1 (11.1)	1 (9.1)	0	ns
Sm-RNP	4 (10.2)	1 (6.6)	2 (22.2)	1 (9.1)	0	ns
PCNA	1 (2.6)	1 (6.6)	0	0	0	ns
Ds-DNA	0 (0)	0	0	0	0	ns
Scl-70	1 (2.6)	0	0	1 (9.1)	0	ns
CENP-A	1 (2.6)	0	1 (11.1)	0	0	ns
CENP-B	1 (2.6)	0	1 (11.1)	0	0	ns
Fibrillarin	1 (2.6)	1 (6.6)	0	0	0	ns
RNA Polimerase III	0	0	0	0	0	ns
Th/To	0	0	0	0	0	ns
DFS70	2 (5.1)	1 (6.6)	1 (11.1)	0	0	ns
ANA	28 (71.8)	9 (60)	7 (77.8)	9 (81.8)	3 (75)	ns
MSA o MAA	25 (64.1)	8 (53.3)	6 (66.7)	8 (72.7)	3 (75)	ns
MSA + MAA	5 (12.8)	1 (6.6)	2 (22.2)	1 (9.1)	1 (25)	ns
Qualsiasi autoanticorpo	34 (87.2)	12 (80)	8 (88.9)	10 (90.9)	4 (100)	ns

Figura 3. Autoanticorpi nei vari sottotipi di MII



- MSA
- MAA
- MSA o MAA
- MSA + MAA
- ANA
- DFS70

5.4 Correlazioni clinico-laboratoristiche

L'anticorpo anti-Jo1, che è risultato positivo in 6 pazienti (1 DM, 2 PM, 3 ASyS) su un totale di 39 pazienti è risultato significativamente associato ad interstiziopatia polmonare, documentata con TC del torace, ($p= 0.0003$, odds ratio= infinito, 95% Intervallo di Confidenza (I.C.) = 5.95 - infinito) ed artrite ($p= 0.0294$, odds ratio= 10.45, 95% I.C.= 1.348 – 127.3) come si evince dalla Figura 4; i pazienti con anti-Jo1, seppur senza raggiungere la significatività statistica, presentavano inoltre manifestazioni cutanee, debolezza muscolare, ed in un caso di concomitante positività di anti-Jo1 ed anti-TIF1- γ concomitante presenza di ILD ed ipertensione polmonare.

L'anticorpo anti-Mi2, che è risultato positivo in 5 pazienti (4 DM ed 1 PM con concomitante positività degli anti-SRP) è risultato significativamente associato alla presenza di anomalie alla capillaroscopia ($p= 0.0519$, odds ratio 9.2, 95% I.C.= 1.153 – 116.3) come mostrato in Figura 5 ed è inoltre risultato associato alla presenza di manifestazione cutanee e debolezza muscolare, mentre nessun paziente ha presentato ILD, artrite o manifestazioni cardiache.

L'anticorpo anti-NXP-2, che è risultato positivo in 4 pazienti (3 DM ed 1 OS con concomitante positività degli anti-Scl-70) è risultato associato a manifestazioni cutanee (anche calcinosi cutanea) ed a debolezza muscolare e ad assenza di ILD ed artrite (nei 3 casi su 4 ove era presente in monospecificità).

L'anticorpo anti-HMGCR è risultato positivo in un solo paziente con OM (PM/SSc) con concomitante positività per gli anti-PM-Scl100 e fenotipo clinico caratterizzato da ILD, coinvolgimento muscolare, cutaneo (*mechanic hands*), vascolare ed esofageo e con scarsa risposta ai trattamenti farmacologici.

Per quanto riguarda l'associazione con neoplasie, nella nostra casistica vi sono stati 2 casi (5.1%) di neoplasie maligne, in particolare 2 melanomi in 2 pazienti con PM ed entrambi positivi sia per gli anticorpi anti-Jo1 che per gli anticorpi anti-SSaRo52.

Gli anti-PM-Scl75 sono risultati positivi in un solo paziente con OM (PM/UCTD) che ha presentato un quadro clinico-laboratoristico caratterizzato da concomitante

positività degli anticorpi anti-Ku, incremento di CPK ed LDH, mialgie, fenomeno di Raynaud con normalità della capillaroscopia, disfagia, artrite, ipertensione polmonare ed epatopatia HCV correlata come comorbidità.

Gli anti-Ku sono risultati positivi in 2 pazienti con OM (entrambi PM/UCTD), ed il paziente risultato monospecifico per anti-Ku ha presentato un quadro clinico-laboratoristico caratterizzato da ANA 1:2560 fine *speckled*, lieve incremento CPK, moderato incremento di VES e PCR, debolezza muscolare ai 4 arti, mialgie, astenia, *mechanic hands*, febbre, fenomeno di Raynaud con normalità della capillaroscopia, disfagia ed artrite.

Non è stata osservata alcuna differenza nei valori tra i vari sottogruppi di MII (DM, PM, OS, ASyS) per quanto riguarda i valori di VES ($p= 0.2741$), PCR ($p= 0.1918$) e CPK ($p= 0.4189$) come mostrato in Figura 6.

Figura 4. Manifestazioni cliniche dei pazienti anti-Jo-1 positivi ed anti-Jo-1 negativi.

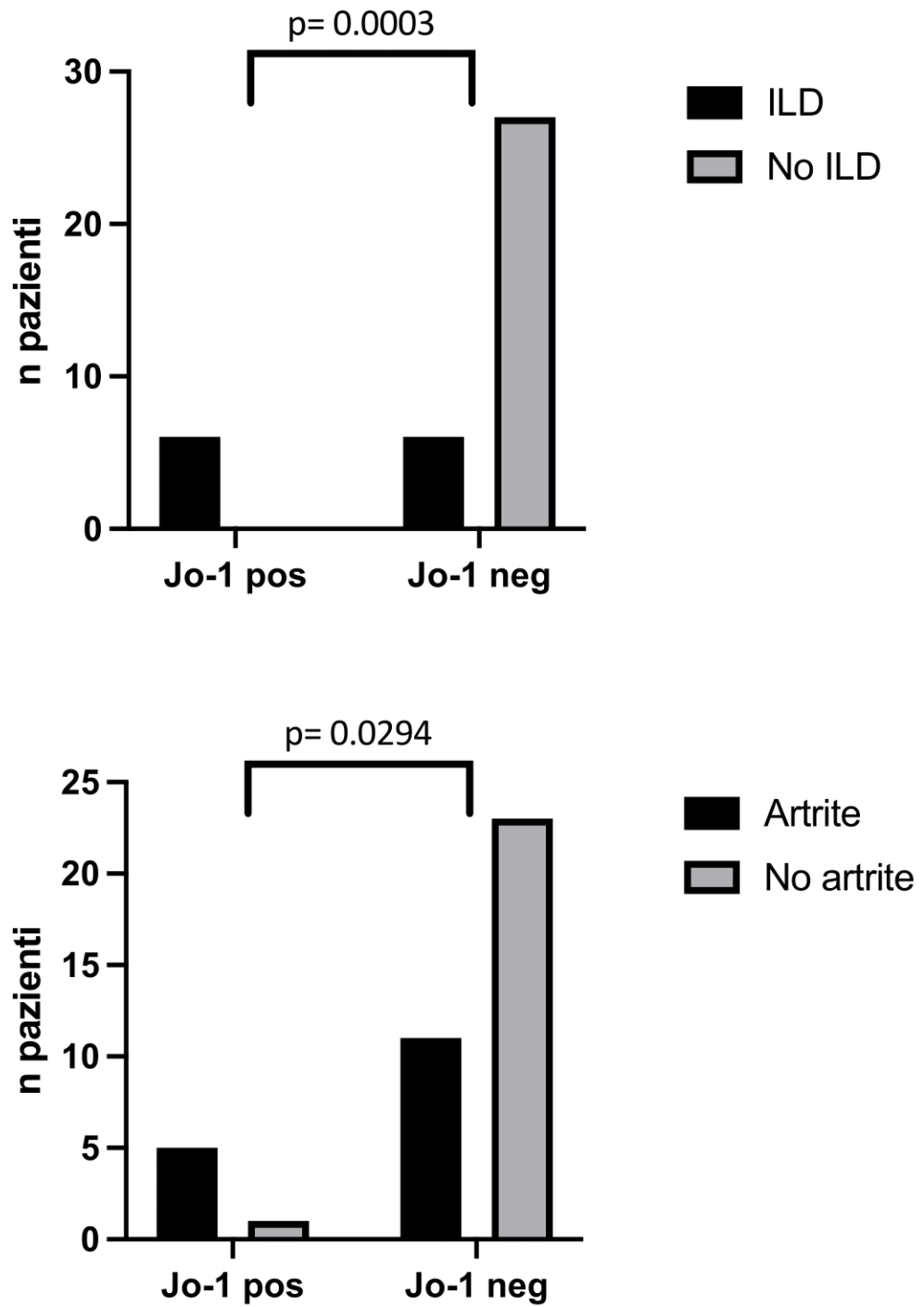


Figura 5. Manifestazioni cliniche dei pazienti anti-Mi2 positivi ed anti-Mi2 negativi.

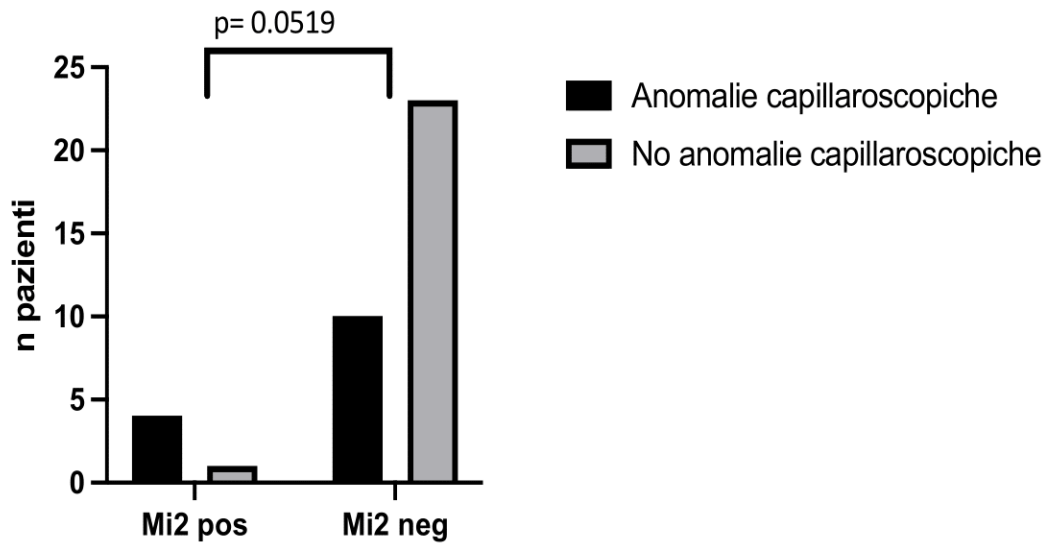
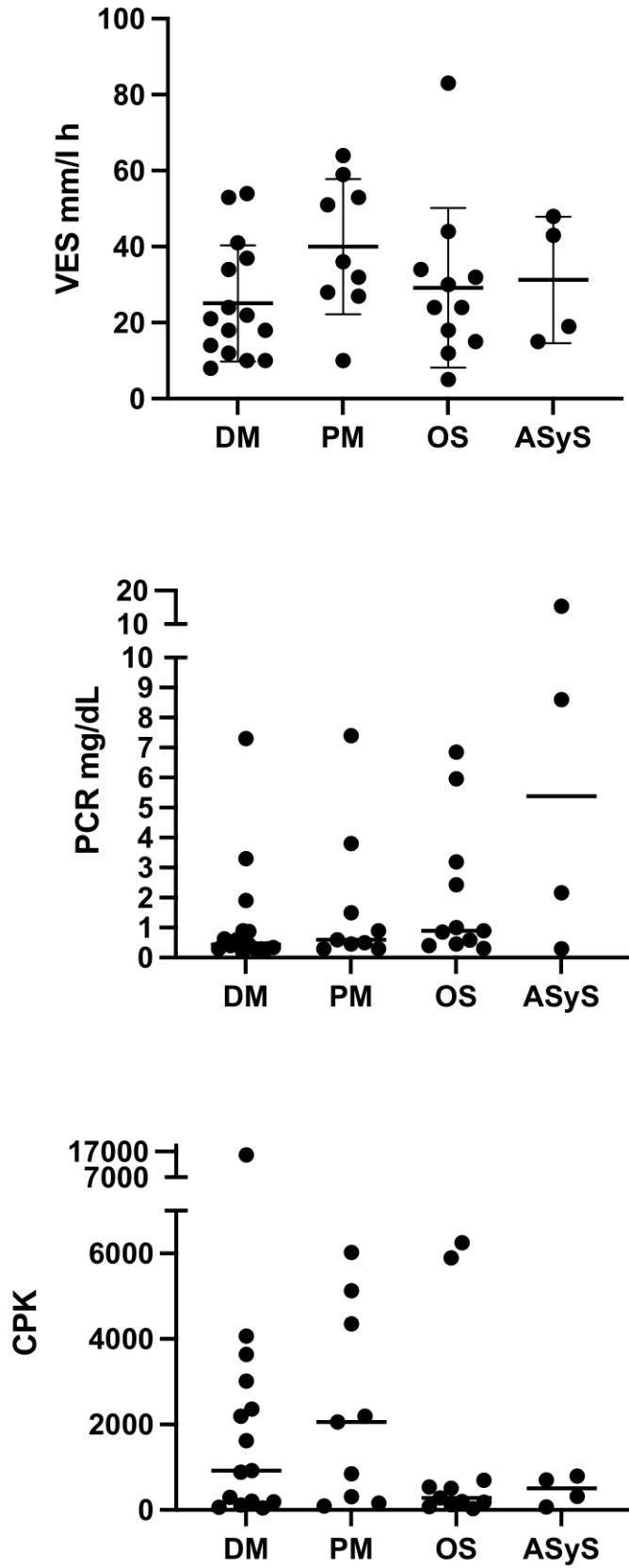


Figura 6. Parametri di laboratorio nei sottotipi di MI



5.5 Caratteristiche cliniche dei pazienti anti-DFS70 positivi

Il pattern DFS70 like in IFI non è stato osservato in nessuno dei 39 campioni di siero di pazienti con MII analizzati. I sieri risultati positivi con la metodica di Immunoblotting per gli anti-DFS70 sono stati 2/39 e ne consegue pertanto una prevalenza del 5.1% nel gruppo delle MII. Un paziente aveva una diagnosi di DM 1/15 (6.7%) ed un paziente una diagnosi di PM 1/9 (11.1%). I sieri risultati positivi in IB per gli anti-DFS70 erano risultati in un caso ANA negativi all'IFI e nell'altro caso ANA 1:160 *speckled* positivi.

Il paziente ANA 1:160 *speckled* in IFI, anti-DFS70 positivo in IM e con diagnosi di PM è risultato inoltre positivo agli anti-SSaRo60, mentre il paziente ANA negativo in IFI ed anti-DFS70 positivo non è risultato positivo ad altri autoanticorpi.

Entrambi i pazienti sono risultati anti-dsDNA negativi in IFI.

Considerato la bassa prevalenza di questi autoanticorpi, non è stato possibile stabilire eventuali differenze tra i pazienti anti-DFS70 positivi e negativi sia all'interno di ogni singolo sottotipo di MII, che tra vari sottotipi di MII per quanto riguarda la *ratio* F/M, l'età media, la durata di malattia ed ulteriori variabili cliniche, laboratoristiche e strumentali.

Le caratteristiche clinico-laboratoristiche dei 2 pazienti anti-DFS70 positivi sono riportate in Tabella VII.

Tabella VII. Caratteristiche dei pazienti con MII risultati positivi agli anti-DFS70

Paziente	Diagnosi	Autoanticorpi	Caratteristiche cliniche	Esami di laboratorio o strumentali alterati	Comorbidità
1	DM	DFS70	ipostenia 4 arti, astenia, rash eliotropo, papule di Gottron, segno di Gottron, disfagia	CPK, capillaroscopia, scintigrafia esofagea ed EMG	nessuna
2	PM	ANA 1:160 speckled (IFI), DFS70, SSaRo60	mialgie, dispnea	CPK	tiroidite, ipertensione arteriosa sistemica, psoriasi, dislipidemia

6. DISCUSSIONE

Questo studio ha indagato la prevalenza degli autoanticorpi MSA, MAA, ANA, ENA ed anti-DFS70 in vari sottotipi di MII (DM, PM, OM, ASyS).

Nel nostro studio gli MSA sono risultati presenti nel 41% dei pazienti affetti da MII, con una percentuale quasi sovrapponibile a quella del 45% segnalata in letteratura (Ghirardello A et al., 2013; Alenzi F, 2020). Tali percentuali di positività sono variate in funzione del sottotipo di MII, infatti, gli MSA sono risultati positivi nel 53.3% delle DM, nel 33.3% delle PM, nel 18.2% delle OM e nel 75% delle ASyS.

Nel nostro studio è stata confermata, nei pazienti con positività degli anti-Jo1, una concomitante presenza di miosite, artrite ed ILD ed in particolare nei 2 pazienti con concomitante presenza degli anti-Jo1 e degli anti-SSaRo52, entrambi con diagnosi di PM, avevano avuto una diagnosi di melanoma e vi sono state forme più severe di ILD, miosite ed artrite come segnalato da altri autori (Ghirardello A et al., 2013; Teel A et al., 2022). Va segnalato che uno di questi 2 pazienti anti-Jo1 ed anti-SSaRo positivi, era negativo all'IFI per gli ANA, pertanto, è stato possibile riscontrare gli autoanticorpi solo grazie all'IB.

L'anticorpo anti-Jo1, che è risultato positivo in 6 pazienti (1 DM, 2 PM, 3 ASyS) è risultato significativamente associato ad ILD ($p= 0.0003$) e ad artrite ($p= 0.0294$).

L'anticorpo anti-Jo1 è risultato più frequente nei pazienti con ASyS rispetto ai pazienti con OM ($p= 0.0088$) e rispetto ai pazienti con DM ($p= 0.0157$).

Nessuno degli altri sette altri anticorpi anti amminoacil-tRNA sintetasi (anti-EJ, anti-PL-7, anti-PL-12, anti-OJ, anti-KS, anti-Zo e anti-Ha) è risultato positivo nel nostro studio.

Gli anticorpi anti-Mi-2 sono risultati presenti in 6 pazienti: 1 paziente con PM con concomitante positività per gli anti-Sm-RNP e gli anti-SRP e 5 pazienti con DM su un totale di 15 pazienti con DM (33.3%) con percentuali sovrapponibili a quelle segnalate in letteratura scientifica ed anche nella nostra casistica sono risultati associati ad importanti manifestazioni cutanee e miosite e non sono risultati associati ad ILD, poliartrite e cancro (Liang L et al., 2020). Può essere pertanto confermato il ruolo protettivo di questi autoanticorpi nei confronti dello sviluppo

di ILD come osservato anche da altri ricercatori (Negalur NV et al., 2021) e confermato da una recente *review* sistematica (Teel A et al., 2022).

Inoltre, l'anticorpo anti-Mi2, è risultato significativamente associato alla presenza di anomalie alla capillaroscopia ($p= 0.0519$).

Gli anticorpi anti-SRP sono risultati presenti in 2 pazienti: 1 paziente con PM con concomitante positività per gli anti-SRP, gli anti-Mi-2 e gli anti-Sm-RNP ed in 1 paziente con DM e concomitante positività per gli anti-SRP e gli anti-Mi-2. Entrambi i pazienti hanno avuto un quadro clinico laboratoristico tipico (Hengstman GJD et al., 2006) caratterizzato da un esordio severo con elevati valori di CPK e da coinvolgimento cardiaco che si è manifestato con ipertensione arteriosa sistemica.

Nei nostri pazienti non vi sono state positività per gli anticorpi anti-MDA-5 e per gli anti-SAE.

Gli anticorpi anti-TIF1- γ sono risultati positivi in un paziente con DM e concomitante positività per gli anti-Jo1 che ha manifestato un quadro clinico caratterizzato da segno di Gottron, artrite, astenia, ILD ed ipertensione polmonare. Dal punto di vista laboratoristico è da segnalare un incremento del marcatore tumorale CA 15-3, sicuramente meritevole di stretto monitoraggio nel tempo, considerato il rischio maggiore di malignità conferito dagli anticorpi anti-TIF1- γ e considerato anche il fatto che una percentuale di circa il 25% di pazienti affetti da MII, prevalentemente DM, è strettamente preceduta o seguita dalla diagnosi di una neoplasia (Fiorentino DF et al., 2013).

Gli anticorpi anti-NXP-2 sono risultati positivi in 4 pazienti e nessuno di questi presentava ILD a conferma della pressoché assenza di ILD nei pazienti portatori di questo autoanticorpo come recentemente confermato 2 *review* sistematiche (Li L. et al., 2021; Teel A et al., 2022).

Nella nostra casistica è confermata inoltre l'associazione della positività degli anticorpi anti-NXP-2 con la manifestazione clinica della calcinosi cutanea (Fiorentino DF et al., 2013); infatti, su 3 pazienti che presentavano calcinosi cutanea, uno era anti-NXP-2 positivo (ed SSaRo52 positivi) e con diagnosi di DM,

un paziente era anti-Mi2, Sm-RNP ed SRP positivo e con diagnosi di DM ed il terzo paziente era negativo a qualsiasi anticorpo e con diagnosi di OM (DM/crioglobulinemia).

Per terminare con gli MSA, gli anti-HMGCR sono risultati positivi in un solo paziente con OM (PM/SSc) con concomitante positività per gli anti-PM-Scl100 e fenotipo clinico caratterizzato daILD, coinvolgimento muscolare con elevati valori di CPK, LDH e transaminasi, cutaneo con *mechanic hands*, vascolare con fenomeno di Raynaud ed ulcere acrali ed esofageo con disfagia. In questo paziente sono da segnalare due caratteristiche in particolare, la prima è il coinvolgimento cardiaco che è sicuramente determinato dalla concomitante diagnosi di SSc ma è di certo anche determinato dalla positività degli anticorpi anti-HMGCR che solitamente si associano ad una presentazione clinica simile a quella dei pazienti positivi per gli anti-SRP, ossia un esordio severo con alti livelli di CPK ed un frequente coinvolgimento cardiaco. La seconda caratteristica da segnalare è che questo paziente non ha una storia di esposizione alle statine, pertanto rientra nel 35% dei casi di MII anti-HMGCR positivi ove non vi è stata un precedente trattamento con questi farmaci (Dalakas MC 2020; Mammen AL et al., 2011; Allenbach Y et al., 2020; Grable-Esposito P et al., 2010).

Per quanto riguarda gli MAA, nel nostro studio sono risultati positivi nel 35.9%.

Tali percentuali di positività sono variate in funzione del sottotipo di MII, infatti, gli MAA sono risultati positivi nel 6.6% delle DM, nel 55.5% delle PM, nel 63.6% delle OM e nel 25% delle ASyS.

Gli MAA più frequenti sono risultati gli anti-SSaRo52 con il 17.9%, seguiti dagli anti-SSaRo60 con il 12.8%, gli anti-PM-Scl100 e gli anti-Ku entrambi con il 5.1% ed infine gli anti-PM-Scl75 con il 2.6%.

Nella nostra casistica non vi sono state positività per anti-U1RNP, anti-RNA Polimerase III ed anti-Th/To.

La positività ad almeno un MSA o un MAA è stata trovata nel 64.1%, dato questo comparabile con la casistica di Negalur NV e colleghi del 2021, leggermente inferiore al 75% di un'altra casistica indiana di Srivastava P ed altri (Srivastava P et

al., 2016), leggermente superiore alla percentuale del 54.1% di una casistica brasiliana del 2013 (Cruellas MG et al., 2013) e superiore al 47% di una casistica italiana del 2010 (Ghirardello A et al., 2010). Quest'ultimo dato di maggior prevalenza degli MSA o degli MAA nel nostro studio rispetto alla minore prevalenza di questi autoanticorpi nello studio del 2010 di Ghirardello e colleghi, può essere sicuramente interpretato alla luce dell'avanzamento tecnologico che vi è stato nelle metodiche di laboratorio nel corso dei 10 anni che separano i due studi.

Infatti, anche confrontando i risultati del nostro studio con i risultati di prevalenza dei singoli MSA o MAA nei vari sottotipi di MII che sono emersi in una recentissima revisione sistematica, possiamo notare che non vi sono differenze significative a parte quelle dovute a cause ambientali come la vicinanza o lontananza dall'Equatore e l'esposizione a radiazione ultravioletta (Aguilar-Vazquez A et al., 2021).

Il quadro fluoroscopico osservabile in IFI definito "*dense fine speckled - DFS70*" è caratterizzato da una fluorescenza granulare uniformemente distribuita nei nuclei delle cellule in interfase e a livello della cromatina nelle cellule in metafase con una caratteristica eterogeneità nella grandezza, brillantezza e distribuzione dei granuli (Infantino M et al., 2019; Infantino M et al., 2018). Questi anticorpi sono di recente diventati oggetto di interesse da parte della comunità scientifica poiché descritti in patologie molto eterogenee tra loro, incluse le condizioni infiammatorie croniche, i tumori e le malattie reumatologiche sistemiche di natura autoimmune. Considerando che gli anticorpi anti-DFS70 sono stati descritti anche in soggetti apparentemente sani, la natura di questi autoanticorpi e dei fattori che ne inducono la produzione resta tuttora sconosciuta (Ochs RL et al., 1994; Basu A et al., 2012; Albesa R et al., 2019; Mahler M, Hanly JG, Fritzler MJ, 2012; Peker BO et al., 2019; Carbone T et al., 2020).

In particolare, nelle MII gli anti-DFS70 sono stati riscontrati in percentuali che vanno dallo 0% al 6.4%, inoltre, la prevalenza risulta ancora inferiore se si considerano solo i pazienti dove questi anticorpi sono presenti in monospecificità:

0.5% nelle malattie reumatiche autoimmuni considerate globalmente, 8.1% nelle connettiviti indifferenziate, 0.7% nel Lupus Eritematoso Sistemico, 1% nella Sindrome di Sjogren e 0.9% nelle MII (Conrad K, Röber N et al., 2016).

In letteratura scientifica sono riportati pochi studi che hanno indagato la presenza di anticorpi anti-DFS70 in DM e PM ed è stato dimostrato che vi è una bassissima prevalenza di questi anticorpi.

Watanabe A et al. non hanno riscontrato anticorpi anti-DFS70 su un totale di 25 pazienti con PM o DM (Watanabe A et al., 2004); Muro et al. hanno riscontrato anticorpi anti-DFS70 in 4 pazienti su un totale di 80 pazienti con PM o DM (5%) (Muro Y et al., 2008) e nel 6.4% in una coorte di pazienti con DM (Muro Y et al., 2013); Vázquez-Del Mercado M et al. hanno riscontrato anticorpi anti-DFS70 in 1 paziente su un totale di 71 pazienti con DM (1.4%) (Vázquez-Del Mercado M et al., 2017); Hayashi N et al. hanno infine riscontrato anticorpi anti-DFS70 in 1 paziente su un totale di 33 pazienti con PM o DM (3%) (Hayashi N et al., 2021).

Al contrario, per quanto a noi noto, non esistono ad oggi studi che abbiano esaminato la frequenza degli anticorpi anti-DFS70 nelle MII come gruppo e nei vari sottotipi.

Gli anticorpi anti-DFS70 sono risultati positivi nel 5.1% dei casi, ossia in 2 pazienti su 39 affetti da MII: un paziente è risultato esclusivamente positivo agli anti-DFS70 ed un altro è risultato positivo anche agli anti-SSaRo60. Un paziente aveva una diagnosi di DM 1/15 (6.7%) ed un paziente una diagnosi di PM 1/9 (11.1%). I sieri risultati positivi in IB per gli anti-DFS70 erano risultati nel caso del paziente con monospecificità e diagnosi di DM, ANA negativi all'IFI, e nell'altro caso con positività per anti-DFS70 e per anti-SSaRo60 e con diagnosi di PM, ANA 1:160 *speckled* positivi all'IFI.

I dati ottenuti nel nostro gruppo mostrano una prevalenza comparabile a quella rilevata dagli altri studi e non mostrano clinico-laboratoristiche distintive.

Oltre a un possibile ruolo patogenetico, è stato ipotizzato che gli anticorpi anti-DFS70, in alcune condizioni, possano avere anche un effetto protettivo. Infatti, in uno studio condotto su pazienti con DM ha evidenziato una tendenza degli

anticorpi anti-DFS70 ad aumentare con la guarigione, al contrario degli anti-MDA5, autoanticorpi specifici di malattia, che si negativizzano (Muro Y et al., 2013).

Per quanto riguarda il possibile significato della positività anti-DFS70 come marcatore “negativo” di patologia autoimmune sistemica, in caso di monospecificità per anti-DFS70, nel nostro studio questo non può essere confermato poiché un paziente con DM è risultato monospecifico per gli anti-DFS70.

Questi autoanticorpi possono giocare un ruolo protettivo o patogenetico ma, ad oggi, il loro significato, tanto clinico quanto biologico, resta ancora non definito.

L’originalità del nostro studio è rappresentata dalla simultanea valutazione della espressione degli MSA, degli MAA e degli anticorpi anti-DFS70 in un gruppo di pazienti con numerosi sottotipi di MII (DM, PM, OS, ASyS) e delle relative correlazioni clinico, laboratoristiche e strumentali. Infatti, negli altri studi la ricerca degli anti-DFS70 è effettuata in popolazioni con numerose malattie reumatiche autoimmuni o con altre condizioni.

Il nostro studio presenta però alcune debolezze. Una di queste è rappresentata dalla natura trasversale di osservazione della nostra coorte: infatti, quest'ultima contiene regimi terapeutici eterogenei che potrebbero causare dei *bias*, inoltre non essendoci ulteriori dosaggi dei sieri cadenzati nel tempo, non è stato possibile seguire l’evoluzione degli MSA, degli MAA e l’eventuale positivizzazione di ulteriori pazienti per gli anticorpi anti-DFS70 o l’eventuale negativizzazione per gli anti-DFS70 dei 2 pazienti risultati positivi nel nostro studio. Un'altra limitazione del nostro studio riguarda il campione limitato di pazienti, l’assenza di soggetti con miosite a corpi inclusi, l’assenza di soggetti con miosite necrotizzante immuno-mediata e l’assenza di un gruppo di controllo di soggetti sani.

7. CONCLUSIONI

Dal nostro studio è emerso che la prevalenza degli autoanticorpi MSA, MAA, ANA, anti-DFS70 o per qualsiasi autoanticorpo nelle MII è risultata del 41%, 35.9%, 35.9%, 5.1% e 87.2% ed è consistente con quanto precedentemente pubblicato sullo stesso argomento.

Gli anticorpi anti-Jo1 sono risultati significativamente associati ad interstiziopatia polmonare e ad artrite, in caso di concomitante positività con gli anti-TIF1- γ sono risultati associati alla presenza diILD ed ipertensione polmonare ed in caso di concomitante positività con gli anti-RoSSa52 sono risultati associati ad una storia di melanoma.

Gli anticorpi anti-Mi2 sono risultati significativamente associati alla presenza di anomalie alla capillaroscopia, quasi esclusivamente presente in pazienti con diagnosi di DM ed inoltre non sono risultati associati adILD, poliartrite e cancro.

Gli anticorpi anti-NXP-2, così come gli anti-Mi2 non sono risultati associati adILD e pertanto può essere confermato il ruolo protettivo di questi autoanticorpi nei confronti dello sviluppo diILD come anche osservato anche da altri ricercatori.

Gli anticorpi anti-HMGCR sono risultati positivi in associazione agli anti-PM-Scl100 in un paziente con OM (PM/SSc) e senza precedente esposizione alle statine.

Gli anticorpi anti-DFS70 sono risultati presenti solo nel 5.1% dei pazienti, sia in monospecificità che associati ad altri MAA e non sono risultati associati a particolari fenotipi clinici, laboratoristici o strumentali, e pertanto il loro significato, tanto clinico, quanto biologico, resta ancora indefinito.

Complessivamente i dati del nostro studio, benché preliminari, hanno evidenziato che il fenotipo di malattia è fortemente caratterizzato dal profilo autoanticorpale dei pazienti affetti da MII; la caratterizzazione autoanticorpale è pertanto un biomarcatore capace di definire uno specifico subset di malattia con manifestazioni cliniche specifiche, caratteristiche prognostiche distintive e differente risposta alla terapia.

Pertanto, i nostri risultati suggeriscono un razionale nell'ulteriore sempre più sensibile e specifica caratterizzazione autoanticorpale dei pazienti, sia nell'ottica

di una diagnosi precoce, sia nell'ottica della stratificazione del rischio in base al profilo anticorpale dei singoli soggetti ed anche come predittore di risposta alle terapie.

In questa prospettiva, inoltre, la scoperta di ulteriori autoanticorpi specifici per fenotipi di MII potrebbe aprire la strada all'identificazione di nuovi meccanismi patogenetici implicati in queste malattie e da qui l'eventuale sviluppo di nuove terapie specifiche.

Studi multicentrici, con popolazioni più numerose, con lungo follow-up e con effettuazione della profilazione autoanticorpale in varie tempistiche e con dei gruppi di controllo di soggetti sani, saranno necessari per comprendere il significato clinico di questi dati preliminari e definire se un intervento terapeutico precoce, in funzione del profilo autoanticorpale, possa garantire una maggiore sopravvivenza, un miglioramento degli *outcomes* di malattia ed un miglioramento della qualità di vita dei nostri pazienti.

BIBLIOGRAFIA

- Aguila LA, Lopes MRU, Pretti FZ, et al. Clinical and laboratory features of overlap syndromes of idiopathic inflammatory myopathies associated with systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, or rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2014;33(8):1093-1098. doi: 10.1007/s10067-014-2730-z
- Aguilar-Vazquez A, Chavarria-Avila E, Pizano-Martinez O et al. Geographical Latitude Remains as an Important Factor for the Prevalence of Some Myositis Autoantibodies: A Systematic Review. *Front Immunol.* 2021 Apr 22;12:672008. doi: 10.3389/fimmu.2021.672008.
- Albesa R, Sachs U, Infantino M, Manfredi M, Benucci M, Baus Y, Lutterbeck S, Andrade L, Morris K, Friedenberg A, Casas S, Bossuyt X, Mahler M. Increased prevalence of anti-DFS70 antibodies in young females: experience from a large international multi-center study on blood donors. *Clin Chem Lab Med.* 2019 Feb 11. doi: 10.1515/cclm-2018-1233.
- Alenzi F. Myositis Specific Autoantibodies: A Clinical Perspective. *Open Access Rheumatol.* 2020;Volume 12:9-14. doi:10.2147/OARRR.S231195
- Allenbach Y, Benveniste O, Stenzel W, Boyer O. Immune-mediated necrotizing myopathy: clinical features and pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):689-701. doi:10.1038/s41584-020-00515-9
- Askanas V, Engel WK. Sporadic inclusion-body myositis: conformational multifactorial ageing-related degenerative muscle disease associated with proteasomal and lysosomal inhibition, endoplasmic reticulum stress, and accumulation of amyloid- β 42 oligomers and phosphorylated tau. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 2011;40(4 Pt 2):e219-235. doi: 10.1016/j.lpm.2010.11.024
- Basu A, Rojas H, Banerjee H, Cabrera IB, Perez KY, De León M, Casiano CA. Expression of the stress response oncoprotein LEDGF/p75 in human cancer: a study of 21 tumour types. *PLoS One.* 2012; 7:e30132. doi: 10.1371/journal.pone.0030132
- Betteridge Z, McHugh N. Myositis-specific autoantibodies: an important tool to support diagnosis of myositis. *J Intern Med.* 2016;280(1):8-23. doi:10.1111/joim.12451
- Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N Engl J Med.* 1975;292(7):344-347. doi:10.1056/NEJM197502132920706
- Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (second of two parts). *N Engl J Med.* 1975;292(8):403-407. doi:10.1056/NEJM197502202920807
- Briani C, Doria A, Sarzi-Puttini P, Dalakas MC. Update on idiopathic inflammatory myopathies. *Autoimmunity.* 2006;39(3):161-170. doi:10.1080/08916930600622132

- Bunch TW. Prednisone and azathioprine for polymyositis. Long-term followup. *Arthritis Rheum.* 1981;24(1):45-48. doi:10.1002/art.1780240107
- Burd CJ, Kinyamu HK, Miller FW, Archer TK. UV radiation regulates Mi-2 through protein translation and stability. *Journal of Biological Chemistry.* 2008;283(50):34976-34982. doi:10.1074/jbc.M805383200
- Carbone T, Esposito C, Pafundi V, Carriero A, Padula MC, Padula AA, D'Angelo S. Understanding the Biological Significance of Anti-DFS70 Antibodies: Effect of Biologic Therapies on Their Occurrence in Inflammatory Arthritis. *J Rheumatol.* 2020 Aug 1;47(8):1295-1296. doi: 10.3899/jrheum.191146.
- Carroll GJ, Will RK, Peter JB, Garlepp MJ, Dawkins RL. Penicillamine induced polymyositis and dermatomyositis. *J Rheumatol.* 1987;14(5):995-1001.
- Casciola-Rosen L, Nagaraju K, Plotz P, et al. Enhanced autoantigen expression in regenerating muscle cells in idiopathic inflammatory myopathy. *J Exp Med.* 2005;201(4):591-601. doi:10.1084/jem.20041367
- Casciola-Rosen L, Nagaraju K, Plotz P, et al. Enhanced autoantigen expression in regenerating muscle cells in idiopathic inflammatory myopathy. *Journal of Experimental Medicine.* 2005;201(4):591-601. doi:10.1084/jem.20041367
- Castro C, Gourley M. Diagnosis and treatment of inflammatory myopathy: issues and management. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2012;4(2):111-120. doi:10.1177/1759720X11425092
- Cavazzana I, Fredi M, Selmi C, Tincani A, Franceschini F. The Clinical and Histological Spectrum of Idiopathic Inflammatory Myopathies. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2017;52(1):88-98. doi:10.1007/s12016-015-8517-4
- Connors GR, Christopher-Stine L, Oddis CV, Danoff SK. Interstitial lung disease associated with the idiopathic inflammatory myopathies: what progress has been made in the past 35 years? *Chest.* 2010;138(6):1464-1474. doi:10.1378/chest.10-0180
- Conrad K, Andrade LE, Chan EK, Mahler M, Meroni PL, Pruijn GJ, et al. From autoantibody research to standardized diagnostic assays in the management of human diseases - report of the 12th Dresden Symposium on Autoantibodies. *Lupus.* 2016;25:787-96. doi: 10.1177/0961203316644337.
- Conrad K, Röber N, Andrade LE, Mahler M. The Clinical Relevance of Anti-DFS70 Autoantibodies. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2017 Apr;52(2):202-216. doi: 10.1007/s12016-016-8564-5.
- Cox S, Limaye V, Hill C, Blumbergs P, Roberts-Thomson P. Idiopathic inflammatory myopathies: diagnostic criteria, classification and epidemiological features. *Int J Rheum Dis.* 2010;13(2):117-124. doi:10.1111/j.1756-185X.2010.01472.x

- Cruellas MG, Viana Vdos S, Levy-Neto M et al. Myositis-specific and myositis-associated autoantibody profiles and their clinical associations in a large series of patients with polymyositis and dermatomyositis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013 Jul;68(7):909-14. doi: 10.6061/clinics/2013(07)04.
- Dalakas MC, Hohlfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet Lond Engl*. 2003;362(9388):971-982. doi:10.1016/S0140-6736(03)14368-1
- Dalakas MC, Rakocevic G, Shatunov A, Goldfarb L, Raju R, Salajegheh M. Inclusion body myositis with human immunodeficiency virus infection: Four cases with clonal expansion of viral-specific T cells. *Ann Neurol*. 2007;61(5):466-475. doi:10.1002/ana.21103
- Dalakas MC. Immunotherapy of myositis: issues, concerns and future prospects. *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6(3):129-137. doi:10.1038/nrrheum.2010.2
- Dalakas MC. Inflammatory Muscle Diseases. Longo DL, ed. *N Engl J Med*. 2015;372(18):1734-1747. doi:10.1056/NEJMra1402225
- Dalakas MC. Inflammatory myopathies: Update on diagnosis, pathogenesis and therapies, and COVID-19-related implications. *Acta Myologica*. 2020;39(4):289-301. doi:10.36185/2532-1900-032
- Dalakas MC. Review: An update on inflammatory and autoimmune myopathies. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2011;37(3):226-242. doi:10.1111/j.1365-2990.2010.01153.x
- de Vooght J, Vulsteke JB, de Haes P, Bossuyt X, Lories R, de Langhe E. Anti-TIF1-γ autoantibodies: Warning lights of a tumour autoantigen. *Rheumatology (United Kingdom)*. 2020;59(3):469-477. doi:10.1093/rheumatology/kez572
- Dimachkie MM, Barohn RJ. Inclusion body myositis. *Semin Neurol*. 2012;32(3):237-245. doi:10.1055/s-0032-1329197
- Efthimiou P. Tumor Necrosis Factor-α in Inflammatory Myopathies: Pathophysiology and Therapeutic Implications. *Semin Arthritis Rheum*. 2006;36(3):168-172. doi: 10.1016/j.semarthrit.2006.07.003
- Ernste FC, Reed AM. Idiopathic Inflammatory Myopathies: Current Trends in Pathogenesis, Clinical Features, and Up-to-Date Treatment Recommendations. *Mayo Clin Proc*. 2013;88(1):83-105. doi: 10.1016/j.mayocp.2012.10.017
- Findlay AR, Goyal NA, Mozaffar T. An overview of polymyositis and dermatomyositis. *Muscle Nerve*. 2015;51(5):638-656. doi:10.1002/mus.24566
- Fiorentino D, Chung L, Zwerner J, Rosen A, Casciola-Rosen L. The mucocutaneous and systemic phenotype of dermatomyositis patients with antibodies to MDA5 (CADM-140): A retrospective study. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(1):25-34. doi: 10.1016/j.jaad.2010.09.016

- Fiorentino DF, Chung LS, Christopher-Stine L, et al. Most Patients With Cancer-Associated Dermatomyositis Have Antibodies to Nuclear Matrix Protein NXP-2 or Transcription Intermediary Factor 1 γ . *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2954-2962. doi:10.1002/art.38093
- Gallay L, Gayed C, Hervier B. Antisynthetase syndrome pathogenesis: knowledge and uncertainties. *Curr Opin Rheumatol.* 2018;30(6):664-673. doi:10.1097/BOR.0000000000000555
- Ghirardello A, Bassi N, Palma L, et al. Autoantibodies in Polymyositis and Dermatomyositis. *Curr Rheumatol Rep.* 2013;15(6):335. doi:10.1007/s11926-013-0335-1
- Ghirardello A, Rampudda M, Ekholm L, Bassi N, Tarricone E, Zampieri S, Zen M, Vattei GA, Lundberg IE, Doria A. Diagnostic performance and validation of autoantibody testing in myositis by a commercial line blot assay. *Rheumatology (Oxford).* 2010 Dec;49(12):2370-4. doi: 10.1093/rheumatology/keq281.
- Ghirardello A, Zampieri S, Iaccarino L, et al. Myositis specific and myositis associated autoantibodies in idiopathic inflammatory myopathies: a serologic study of 46 patients. *Reumatismo.* 2005 Jan-Mar;57(1):22-8. doi: 10.4081/reumatismo.2005.22.
- Ghirardello A, Zampieri S, Tarricone E, Iaccarino L, Gorza L, Doria A. Cutting edge issues in polymyositis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2011;41(2):179-189. doi:10.1007/s12016-010-8238-7
- Gil B, Merav L, Pnina L, Chagai G. Diagnosis and treatment of clinically amyopathic dermatomyositis (CADM): a case series and literature review. *Clin Rheumatol.* 2016;35(8):2125-2130. doi:10.1007/s10067-015-2928-8
- Goebels N, Michaelis D, Engelhardt M, et al. Differential expression of perforin in muscle-infiltrating T cells in polymyositis and dermatomyositis. *J Clin Invest.* 1996;97(12):2905-2910. doi:10.1172/JCI118749
- Greenberg SA. Cytoplasmic 5'-nucleotidase autoantibodies in inclusion body myositis: Isotypes and diagnostic utility. *Muscle Nerve.* 2014;50(4):488-492. doi:10.1002/mus.24199
- Hayashi N, Uto K, Imanishi A et al. Prevalence of anti-dense fine speckled 70 antibodies in healthy individuals and patients with antinuclear antibody-associated autoimmune rheumatic diseases in Japan. *Medicine (Baltimore).* 2021 Mar 5;100(9):e24556. doi: 10.1097/MD.00000000000024556.
- Hengstman GJD, ter Laak HJ, Vree Egberts WTM, et al. Anti-signal recognition particle autoantibodies: marker of a necrotising myopathy. *Ann Rheum Dis.* 2006;65(12):1635-1638. doi:10.1136/ard.2006.052191

- Hengstman GJD, van Venrooij WJ, Vencovsky J, Moutsopoulos HM, van Engelen BGM. The relative prevalence of dermatomyositis and polymyositis in Europe exhibits a latitudinal gradient. *Ann Rheum Dis.* 2000;59(2):141-142. doi:10.1136/ard.59.2.141
- 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 NMD.* 2004;14(5):337-345. doi: 10.1016/j.nmd.2004.02.006
- Iaccarino L, Ghirardello A, Bettio S, et al. The clinical features, diagnosis and classification of dermatomyositis. *J Autoimmun.* 2014;48-49:122-127. doi: 10.1016/j.jaut.2013.11.005
- Infantino M, Shovman O, Gilburd B, et al. Improved accuracy in DFS pattern interpretation using a novel HEp-2 ELITE system. *Clin Rheumatol.* 2019;38:1293-1299. doi: 10.1007/s10067-018-04412-1.
- Infantino M, Shovman O, Pérez D, et al. A better definition of the anti-DFS70 antibody screening by IIF methods. *J Immunol Methods.* 2018;461:110-116. doi: 10.1016/j.jim.2018.07.001.
- Jia E, Wei J, Geng H, et al. Diffuse pruritic erythema as a clinical manifestation in anti-SAE antibody-associated dermatomyositis: a case report and literature review. *Clin Rheumatol.* 2019;38(8):2189-2193. doi:10.1007/s10067-019-04562-w
- Kissel JT, Mendell JR, Rammohan KW. Microvascular Deposition of Complement Membrane Attack Complex in Dermatomyositis. *N Engl J Med.* 1986;314(6):329-334. doi:10.1056/NEJM198602063140601
- Larson ST, Wilbur J. Muscle Weakness in Adults: Evaluation and Differential Diagnosis. *Am Fam Physician.* 2020;101(2):95-108.
- Lazarou IN, Guerne P-A. Classification, Diagnosis, and Management of Idiopathic Inflammatory Myopathies. *J Rheumatol.* 2013;40(5):550-564. doi:10.3899/jrheum.120682
- Li L, Liu C, Cheng L, Yan S, Chen H, Li Y. Assessment of diagnostic utility, clinical phenotypic associations, and prognostic significance of anti-NXP2 autoantibody in patients with idiopathic inflammatory myopathies: a systematic review and meta-analysis. *Clin Rheumatol.* 2021 Mar;40(3):819-832. doi: 10.1007/s10067-020-05291-1.
- Liang L, Zhang YM, Chen H, et al. Anti-Mi-2 antibodies characterize a distinct clinical subset of dermatomyositis with favourable prognosis. *European Journal of Dermatology.* 2020;30(2):151-158. doi:10.1684/ejd.2020.3750

- Liu SW, Velez NF, Lam C, et al. Dermatomyositis induced by anti-tumor necrosis factor in a patient with juvenile idiopathic arthritis. *JAMA Dermatol.* 2013;149(10):1204-1208. doi:10.1001/jamadermatol.2013.5220
- Lloyd TE, Mammen AL, Amato AA, Weiss MD, Needham M, Greenberg SA. Evaluation and construction of diagnostic criteria for inclusion body myositis. *Neurology.* 2014;83(5):426-433. doi:10.1212/WNL.0000000000000642
- Loreda Martinez M, Zampieri S, Franco C, Ghirardello A, Doria A, Gatto M. Nonimmune mechanisms in idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol.* 2020;32(6):515-522. doi:10.1097/BOR.0000000000000748
- Love LA, Leff RL, Fraser DD, et al. A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patient groups. *Medicine (Baltimore).* 1991;70(6):360-374.
- Lundberg I, Kratz AK, Alexanderson H, Patarroyo M. Decreased expression of interleukin-1 α , interleukin-1 β , and cell adhesion molecules in muscle tissue following corticosteroid treatment in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Arthritis Rheum.* 2000;43(2):336. doi:10.1002/1529-0131(200002)43:2<336:AID-ANR13>3.0.CO;2-V
- Lundberg IE, de Visser M, Werth VP. Classification of myositis. *Nat Rev Rheumatol.* 2018;14(5):269-278. doi:10.1038/nrrheum.2018.41
- Lundberg IE, Fujimoto M, Vencovsky J, et al. Idiopathic inflammatory myopathies. *Nat Rev Dis Primers.* 2021;7(1). doi:10.1038/s41572-021-00321-x
- Lundberg IE, Miller FW, Tjärnlund A, Bottai M. Diagnosis and classification of idiopathic inflammatory myopathies. *J Intern Med.* 2016;280(1):39-51. doi:10.1111/joim.12524
- Lundberg IE, Tjärnlund A, Bottai M, et al. 2017 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies and their major subgroups. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(12):1955-1964. doi:10.1136/annrheumdis-2017-211468
- Mahler M, Hanly JG, Fritzler MJ. Importance of the dense fine speckled pattern on HEp-2 cells and anti-DFS70 antibodies for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 2012;11:642-5. doi: 10.1016/j.autrev.2011.11.005
- Mahler M, Miller FW, Fritzler MJ. Idiopathic inflammatory myopathies and the anti-synthetase syndrome: A comprehensive review. *Autoimmun Rev.* 2014;13(4-5):367-371. doi: 10.1016/j.autrev.2014.01.022
- Malik A, Hayat G, Kalia JS, Guzman MA. Idiopathic Inflammatory Myopathies: Clinical Approach and Management. *Front Neurol.* 2016;7. doi:10.3389/fneur.2016.00064

- Mammen AL, Chung T, Christopher-Stine L, et al. Autoantibodies against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase in patients with statin-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum.* 2011;63(3):713-721. doi:10.1002/art.30156
- Mammen AL. Autoimmune Myopathies. *Contin Lifelong Learn Neurol.* 2016;22(6):1852-1870. doi: 10.1212/01.CON.0000511070.50715.ab
- Mammen AL. Dermatomyositis and polymyositis: Clinical presentation, autoantibodies, and pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1184:134-153. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.05119.x
- Mammen AL. Dermatomyositis and polymyositis: Clinical presentation, autoantibodies, and pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* Jan 2010;1184:134-153.
- Manger B, Schett G. Paraneoplastic syndromes in rheumatology. *Nat Rev Rheumatol.* 2014;10(11):662-670. doi:10.1038/nrrheum.2014.138
- Mastaglia FL, Phillips BA. Idiopathic inflammatory myopathies: epidemiology, classification, and diagnostic criteria. *Rheum Dis Clin North Am.* 2002;28(4):723-741.
- McHugh NJ, Tansley SL. Autoantibodies in myositis. *Nat Rev Rheumatol.* 2018;14(5):290-302. doi:10.1038/nrrheum.2018.56
- Meyer A, Meyer N, Schaeffer M, Gottenberg J-E, Geny B, Sibia J. Incidence and prevalence of inflammatory myopathies: a systematic review. *Rheumatol Oxf Engl.* 2015;54(1):50-63. doi:10.1093/rheumatology/keu289
- Milisenda JC, Selva-O'Callaghan A, Grau JM. The diagnosis and classification of polymyositis. *J Autoimmun.* 2014;48-49:118-121. doi: 10.1016/j.jaut.2014.01.025
- Miller FW, Lamb JA, Schmidt J, Nagaraju K. Risk factors and disease mechanisms in myositis. *Nat Rev Rheumatol.* 2018;14(5):255-268. doi:10.1038/nrrheum.2018.48
- Munters LA, Loell I, Ossipova E, et al. Endurance Exercise Improves Molecular Pathways of Aerobic Metabolism in Patients With Myositis. *Arthritis & Rheumatology.* 2016;68(7):1738-1750. doi:10.1002/art.39624
- Muro Y, Sugiura K, Morita Y, Tomita Y. High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF autoantibody-positive patients with autoimmune rheumatic disease. *Lupus.* 2008 Mar;17(3):171-6. doi: 10.1177/0961203307086311.
- Muro Y, Sugiura K, Nakashima R, Mimori T, Akiyama M. Low prevalence of anti-DFS70/LEDGF antibodies in patients with dermatomyositis and other systemic autoimmune rheumatic diseases. *J Rheumatol.* 2013;40:92. doi: 10.3899/jrheum.121168.

- Nalotto L, Iaccarino L, Zen M, et al. Rituximab in refractory idiopathic inflammatory myopathies and antisynthetase syndrome: personal experience and review of the literature. *Immunol Res.* 2013;56(2-3):362-370. doi:10.1007/s12026-013-8408-9
- Negalur NV, Ekbote GG, Raval DN, et al. The Association of Myositis Specific Antibodies in Patients with Inflammatory Myositis: Preliminary Data in Indian Patients. *Ann Indian Acad Neurol.* 2021 Jul-Aug;24(4):552-558. doi: 10.4103/aian.AIAN_1151_20.
- Noguchi E, Uruha A, Suzuki S, et al. Skeletal muscle involvement in antisynthetase syndrome. *JAMA Neurol.* 2017;74(8):992-999. doi:10.1001/jamaneurol.2017.0934
- Ochs RL, Mahler M, Basu A, et al. The significance of autoantibodies to DFS70/LEDGFp75 in health and disease: integrating basic science with clinical understanding. *Clin Exp Med.* 2016;16:273. doi: 10.1007/s10238-015-0367-0.
- Ochs RL, Stein TW Jr, Peebles CL, Gittes RF, Tan EM. Autoantibodies in interstitial cystitis. *J Urol.* 1994;151:587-92. doi: 10.1016/s0022-5347(17)35023-1.
- Oddis C v., Aggarwal R. Treatment in myositis. *Nat Rev Rheumatol.* 2018;14(5):279-289. doi:10.1038/nrrheum.2018.42
- Oddis C v., Reed AM, Aggarwal R, et al. Rituximab in the treatment of refractory adult and juvenile dermatomyositis and adult polymyositis: A randomized, placebo-phase trial. *Arthritis Rheum.* 2013;65(2):314-324. doi:10.1002/art.37754
- Okada S, Weatherhead E, Targoff IN, Wesley R, Miller FW, International Myositis Collaborative Study Group. Global surface ultraviolet radiation intensity may modulate the clinical and immunologic expression of autoimmune muscle disease. *Arthritis Rheum.* 2003;48(8):2285-2293. doi:10.1002/art.11090
- Oldroyd A, Chinoy H. Recent developments in classification criteria and diagnosis guidelines for idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol.* 2018;30(6):606-613. doi:10.1097/BOR.0000000000000549
- Opinc AH, Makowska JS. Antisynthetase syndrome – much more than just a myopathy. *Semin Arthritis Rheum.* 2021;51(1):72-83. doi: 10.1016/j.semarthrit.2020.09.020
- Paik JJ, Shneyderman M, Gutierrez-Alamillo L, et al. Long-term extension study of tofacitinib in refractory dermatomyositis. *Arthritis & Rheumatology.* 2022;74(2):371-372. doi:10.1002/art.41944
- Peker BO, Şener AG, Tarhan EF, Kaya S. Investigation of anti-DFS70 antibody in patients with systemic autoimmune rheumatic diseases. *Clin Rheumatol.* 2019;8. doi: 10.1007/s10067-019-04730-y.

- Pinal-Fernandez I, Mammen AL. Spectrum of immune-mediated necrotizing myopathies and their treatments. *Curr Opin Rheumatol*. 2016;28(6):619-624. doi:10.1097/BOR.0000000000000335
- Pineton de Chambrun M, Hervier B, Chauveau S, Tandjaoui-Lambiotte Y, Combes A, Uzunhan Y. Tofacitinib in antisynthetase syndrome-related rapidly progressive interstitial lung disease. *Rheumatology*. 2020;59(12):e142-e143. doi:10.1093/rheumatology/keaa323
- Rayavarapu S, Coley W, Kinder TB, Nagaraju K. Idiopathic inflammatory myopathies: pathogenic mechanisms of muscle weakness. *Skelet Muscle*. 2013;3(1):13. doi:10.1186/2044-5040-3-13
- Rothwell S, Chinoy H, Lamb JA, et al. Focused HLA analysis in Caucasians with myositis identifies significant associations with autoantibody subgroups. *Ann Rheum Dis*. 2019;78(7):996-1002. doi:10.1136/annrheumdis-2019-215046
- Rothwell S, Chinoy H, Lamb JA. Genetics of idiopathic inflammatory myopathies: Insights into disease pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol*. 2019;31(6):611-616. doi:10.1097/BOR.0000000000000652
- Rothwell S, Cooper RG, Lundberg IE, et al. Dense genotyping of immune-related loci in idiopathic inflammatory myopathies confirms HLA alleles as the strongest genetic risk factor and suggests different genetic background for major clinical subgroups. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(8):1558-1566. doi:10.1136/annrheumdis-2015-208119
- Ruperto N, Pistorio A, Oliveira S, et al. Prednisone versus prednisone plus ciclosporin versus prednisone plus methotrexate in new-onset juvenile dermatomyositis: a randomised trial. *The Lancet*. 2016;387(10019):671-678. doi:10.1016/S0140-6736(15)01021-1
- Solomon J, Swigris JJ, Brown KK. Myositis-related interstitial lung disease and antisynthetase syndrome. *J Bras Pneumol Publicacao Of Soc Bras Pneumol E Tisiologia*. 2011;37(1):100-109.
- Srivastava P, Dwivedi S, Misra R. Myositis-specific and myositis-associated autoantibodies in Indian patients with inflammatory myositis. *Rheumatol Int*. 2016;36:935–43. doi: 10.1007/s00296-016-3494-3.
- Suber TL, Casciola-Rosen L, Rosen A. Mechanisms of disease: autoantigens as clues to the pathogenesis of myositis. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008;4(4):201-209. doi:10.1038/ncprheum0760
- Suber TL, Casciola-Rosen L, Rosen A. Mechanisms of disease: Autoantigens as clues to the pathogenesis of myositis. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008;4(4):201-209. doi:10.1038/ncprheum0760

- Targoff IN, Miller FM, Medsger TA, et al. Classification criteria for the idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol* 1997; 9: 527-35.
- Teel A, Lu J, Park J, et al. The Role of Myositis-Specific Autoantibodies and the Management of Interstitial Lung Disease in Idiopathic Inflammatory Myopathies: A Systematic Review. *Semin Arthritis Rheum.* 2022 Dec;57:152088. doi: 10.1016/j.semarthrit.2022.152088.
- Tiniakou E, Mammen AL. Idiopathic Inflammatory Myopathies and Malignancy: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2017;52(1):20-33. doi:10.1007/s12016-015-8511-x
- Tjärnlund A, Tang Q, Wick C, et al. Abatacept in the treatment of adult dermatomyositis and polymyositis: a randomised, phase IIb treatment delayed-start trial. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(1):55-62. doi:10.1136/annrheumdis-2017-211751
- Vázquez-Del Mercado M et al. Detection of autoantibodies to DSF70/LEDGFp75 in Mexican Hispanics using multiple complementary assay platforms. *Auto Immun Highlights.* 2017 Dec;8(1):1. doi: 10.1007/s13317-016-0089-7.
- Wang DX, Shu XM, Tian XL, et al. Intravenous immunoglobulin therapy in adult patients with polymyositis/dermatomyositis: a systematic literature review. *Clin Rheumatol.* 2012;31(5):801-806. doi:10.1007/s10067-012-1940-5
- Watanabe A, Kodera M, Sugiura K, Usuda T, Tan EM, Takasaki Y, et al. Anti-DFS70 antibodies in 597 healthy hospital workers. *Arthritis Rheum* 2004;50:892–900. doi: 10.1002/art.20096.
- Webber MP, Moir W, Zeig-Owens R et al. Nested case-control study of selected systemic autoimmune diseases in World Trade Center rescue/recovery workers. *Arthritis Rheumatol.* 2015 May;67(5):1369-76. doi: 10.1002/art.39059.
- Witt LJ, Curran JJ, Streck ME. The Diagnosis and Treatment of Antisynthetase Syndrome. *Clin Pulm Med.* 2016;23(5):218-226. doi:10.1097/CPM.0000000000000171