

**PAPEL DEL PARVOVIRUS B19, DE LOS VIRUS
HERPES Y DE LAS METALOPROTEINASAS 2 Y 9 EN
LA ETIOPATOGENIA DE LA ARTERITIS DE
CÉLULAS GIGANTES**

Tesis presentada por **Alicia Rodríguez Pla**
para aspirar al grado de Doctor en Medicina

Directores

Dr. Josep Angel Bosch Gil

Dr. José Rosselló Urgell

FACULTAT DE MEDICINA
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

2003

A ti, Pepe

AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Josep Angel Bosch Gil por su dirección de esta tesis, sin cuyo apoyo, docencia y estímulo constante no hubiera podido llevarla a cabo. Su gran disponibilidad a pesar de sus múltiples obligaciones y su capacidad de transmitir entusiasmo por el trabajo de investigación me han resultado de lo más alentadoras.
- Al Dr. José Rosselló Urgell por su función tanto de codirector, con lo que ello supone de función docente y estímulo constante en los momentos de desánimo, como por aguantarme durante la elaboración de esta tesis.
- Al Dr. Miquel Vilardell por brindarme la oportunidad de llevar a cabo este proyecto. Sin su apoyo y ayuda nunca hubiera sido posible su finalización.
- Al Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitari Vall d'Hebron. En especial, a la Dra. Roser Solans por guiarme con sus consejos.
- Al Dr. Pere Huguet por su ayuda desinteresada y por su amable colaboración en la realización de las técnicas de anatomía patológica, en la interpretación de los resultados obtenidos, así como por su inestimable labor docente y su disposición a transmitirme una parte de sus conocimientos.
- Al Dr. Juan Emilio Echevarría por su cálida acogida en el Servicio de Microbiología Diagnóstica del Centro Nacional de Microbiología del Instituto Carlos III de Majadahonda, Madrid. Su entusiasmo en el trabajo, su rigor científico, su capacidad docente y su permanente disposición a colaborar en la mejoría de mis conocimientos me han resultado de lo más constructivo durante el período de realización de la tesis.
- A Francisco Pozo, biólogo del Centro Nacional de Microbiología del Instituto Carlos III, por su colaboración a la hora de despejar algunas de mis dudas y

por solucionar muchos de mis problemas en el laboratorio, y a los demás miembros del Servicio de Microbiología Diagnóstica por hacer muy agradable mi estancia.

- A Ana Solsona, María José Trujillo y Dolores Sáez, por contribuir con su gran experiencia técnica a la realización de las determinaciones de anatomía patológica.
- A la Dra. Gemma Codina y la Dra. Teresa Tórtola por ofrecerme la oportunidad de iniciarme en el conocimiento de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitari Vall d'Hebron. A las técnicas de dicho laboratorio por enseñarme la parte práctica.
- A mis padres y a mi hermano por su insistencia constante para que llevara a cabo este trabajo y por su apoyo moral.

A todos, mi más sincero agradecimiento.

ABREVIATURAS

AACE: Anticuerpos anti-célula endotelial

ACG: Arteritis de células gigantes

ACR: American College of Rheumatology

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ANCA: Anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos

ARN: Ácido ribonucleico

AT: Arteria temporal

AVC: Accidente vascular cerebral

bp: Base pairs

CMV: Citomegalovirus

cols.: Colaboradores

DAB: Diaminobenzidina

E: Especificidad

ELAM: Endothelial leuckocyte adhesion molecule

ELISA: Enzyme-linked immunossorbent assay

GCSF: Granulocyte colony stimulating factor

IC: Intervalo de confianza

ICAM-1,-2,-3: Intercellular cell adhesion molecule-1,-2-3

IRC: Insuficiencia renal crónica

IFN- γ : Interferon-gamma

IL: Interleucina

LFA-1,-2,-3: Leukocyte function-associated antigen-1,-2,-3

LR+: Positive likelihood ratio (Razón de verosimilitud positiva)

LR-: Negative likelihood ratio (Razón de verosimilitud negativa)

MHC: Major histocompatibility complex

MMP: Matrix-metalloproteinase

MPO: Mieloperoxidasa

NK: Células natural killer
NOS: Nitric oxide synthase
MT1-MMP: Membrane-type 1 matrix metalloproteinase
OR: Oportunidad relativa (odds ratio)
PAN: Poliarteritis nudosa
PCR: Polymerase chain reaction
PDGF: Platelet-derived growth factor
PECAM-1: Platelet-endothelial cell adhesion molecule
PR3: Proteinasa 3
PMR: Polimialgia reumática
S: Sensibilidad
TBC: Tuberculosis
TGF: Tumoral growth factor
TIMP: Tissue inhibitor of matrix metalloproteinases
TNF: Tumoral necrosis factor
VCAM-1: Vascular cell adhesion molecule
VEB: Virus de Epstein-Barr
VEGF: Vascular endothelial growth factor
VHS: Virus herpes simple
VHH6: Virus herpes humano 6
VLA-4: Very late activation antigen-4
VPN: Valor predictivo de resultado negativo
VPP: Valor predictivo de resultado positivo
VSG: Velocidad de sedimentación globular
VVZ: Virus varicela-zoster

INDICE

INTRODUCCION	1
1. Concepto y clasificación de las vasculitis	2
2. Etiopatogenia de las vasculitis primarias	9
2.1. Mecanismos patogénicos específicos	9
2.2. Respuesta vascular	12
2.3. Moléculas de adhesión celular	14
2.4. Factores dependientes del huésped	19
2.5. Otros factores patogénicos	20
3. Arteritis (temporal) de células gigantes.....	22
3.1. Concepto	22
3.2. Epidemiología	24
3.3. Anatomía patológica	25
3.4. Manifestaciones clínicas	31
3.4.1. Síntomas generales	31
3.4.2. Manifestaciones clínicas secundarias a la isquemia vascular	31
3.4.3. Polimialgia reumática	35
3.5. Diagnóstico	35
3.5.1. Alteraciones de laboratorio	36
3.5.2. Biopsia de la arteria temporal	37
3.5.3. Otras exploraciones diagnósticas	37
3.5.4. Criterios para la clasificación de la ACG	38
3.6. Tratamiento	39
3.7. Pronóstico.....	41
3.8. Etiopatogenia	42
3.8.1. Factores del huésped	43

4. Determinación de ADN vírico mediante PCR	102
4.1. Material	102
4.2. Método.....	103
4.2.1. Desparafinización de las muestras	103
4.2.2. Extracción del ADN	104
4.2.3. PCR para la detección de parvovirus B19	104
4.2.3.1. Primera reacción	104
4.2.3.2. Segunda reacción	106
4.2.3.3. Electroforesis en gel de agarosa	107
4.2.3.4. Controles	107
4.2.3.5. Interpretación de los resultados	108
4.2.4. PCR para la detección de virus herpes	108
4.2.4.1. Primera reacción	108
4.2.4.2. Segunda reacción	110
4.2.4.3. Electroforesis en gel de agarosa.....	112
4.2.4.4. Controles	112
4.2.4.5. Interpretación de los resultados	113
4.2.5. Medidas para disminuir el riesgo de contaminación	113
5. Datos clínico-epidemiológicos obtenidos de la historia clínica	114
6. Hoja de recogida de datos	118
7. Análisis estadístico y epidemiológico	119
RESULTADOS	122
1. Descripción general de los datos	123
2. Parvovirus B19 y virus herpes	126
3. Resultado de la biopsia y expresión de MMP-2 y MMP-9	127
4. Localización de la MMP-2 y la MMP-9 en la biopsia	128

5. Expresión de MMP-2, alteraciones histopatológicas y características clínico-epidemiológicas	136
6. Expresión de MMP-9, alteraciones histopatológicas y características clínico-epidemiológicas.....	141
7. Características histológicas y clínico-epidemiológicas de los pacientes según el resultado de la biopsia	150
DISCUSION	158
1. Consideraciones generales	159
2. Parvovirus B19 y virus herpes en la ACG	165
3. Metaloproteinasa-2 (MMP-2) y 9 (MMP-9) en la ACG	172
3.1. Localización de la MMP-2 y la MMP-9 en la biopsia	176
3.2. Expresión de MMP-2 y MMP-9, alteraciones histopatológicas y características clínico-epidemiológicas.....	180
4. Características histológicas y clínico-epidemiológicas y resultado de la biopsia	185
4.1. Características histológicas y resultado de la biopsia	185
4.2. Características clínico-epidemiológicas y resultado de la biopsia	187
CONCLUSIONES	194
BIBLIOGRAFIA	197
ANEXO	230

Introducción

1. Concepto y clasificación de las vasculitis

Las vasculitis son procesos clínicos y patológicos causados por inflamación de los vasos sanguíneos. La inflamación vascular puede afectar a arterias de cualquier tamaño, produciendo una amplia variedad de manifestaciones clínicas. A grandes rasgos, las vasculitis se pueden dividir en primarias y secundarias. Los síndromes vasculíticos primarios son aquellos que no se asocian a ninguna patología subyacente conocida. Las vasculitis secundarias son complicaciones de muchas enfermedades infecciosas y no infecciosas. La existencia de afectación multisistémica, acompañada por síntomas generales y alteraciones de laboratorio propias de cuadros inflamatorios, sugiere el diagnóstico de vasculitis sistémica [1].

Debido a que la mayoría de las vasculitis carecen de rasgos clínicos y de pruebas de laboratorio patognomónicas y su etiología no está completamente definida, su clasificación es una tarea muy difícil y ninguna de las clasificaciones propuesta ha sido universalmente aceptada [2]. El primer intento para clasificar las vasculitis fue realizado por Zeek en 1952 [3]. Esta autora y sus colaboradores, categorizaron cinco tipos de vasculitis necrotizante basándose en la presentación clínica, los hallazgos patológicos y el tamaño y el tipo de los vasos afectados. Diversos autores han realizado modificaciones de este esquema en un intento de conseguir una clasificación de mayor utilidad. En 1964, Alarcón-Segovia y Brown [4], cambiaron algunos términos algunos términos e incluyeron variantes en cada grupo. En 1975, deShazo [5] realizó una nueva modificación añadiendo algunos términos como el de angeítis leucocitoclástica y el de granulomatosis de Wegener. En 1976, Gilliam y Smiley [6] añadieron más subgrupos y resaltaron el importante solapamiento del tamaño de las arterias afectadas en los distintos tipos de vasculitis sistémicas. En 1978, Fauci y sus colaboradores [7] propusieron una clasificación que tuvo vigencia durante más de una década en la que incluyeron entidades antiguas

como la enfermedad de Buerger y nuevas como la enfermedad de Kawasaki y realizaron modificaciones en los diferentes grupos.

En 1990, la Sociedad Americana de Reumatología (ACR) desarrolló unos criterios de clasificación de las siete vasculitis sistémicas siguientes: poliarteritis nudosa, síndrome de Churg-Strauss, granulomatosis de Wegener, vasculitis por hipersensibilidad, púrpura de Schönlein-Henoch, arteritis de células gigantes y arteritis de Takayasu [8] (tabla 1). La intención de este grupo era identificar hallazgos clínicos que fueran característicos de cada vasculitis y que las diferenciaran de los demás síndromes vasculíticos. Su propósito principal fue estandarizar la forma de evaluar y describir los pacientes con vasculitis en estudios terapéuticos, epidemiológicos y otros estudios, para permitir comparaciones de los resultados de los diferentes centros. Propusieron que los criterios fueran utilizados para describir a los pacientes en los estudios sobre vasculitis.

La Conferencia Internacional de Consenso de Chapel Hill sobre la nomenclatura de las vasculitis sistémicas, intentó establecer un sistema de nomenclatura de las vasculitis estandarizado [9]. Entre los parámetros utilizados para la clasificación incluyeron el tamaño de los vasos sanguíneos afectados (figura 1), la histopatología característica y el patrón de afectación clínica (tabla 2). No obstante, esta clasificación incluía afirmaciones que podrían resultar confusas por lo que el objetivo de establecer un sistema de clasificación que fuera aceptado universalmente y resultara de utilidad clínica no se consiguió.

La clasificación “práctica” revisada por Lie es probablemente una de las clasificaciones descriptivas de las vasculitis de más utilidad clínica [10] (tabla 3).

A pesar de los múltiples intentos para establecer un esquema de clasificación de las vasculitis sistémicas de aceptación universal, los resultados

hasta el momento no han sido alentadores. La creencia de que el conocimiento de la patogenia de algunas vasculitis proporcionaría las bases para el establecimiento de una clasificación racional, no ha resultado cierta [1]. En este sentido, el antígeno de superficie de la hepatitis B se detecta en más de un síndrome vasculítico [11, 12] y los anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) aunque se han asociado con algunas formas de vasculitis necrotizante [13], también existen en individuos sanos y en una serie de enfermedades sin vasculitis [14, 15]. Las clasificaciones de las vasculitis basadas exclusivamente en el tamaño de los vasos sanguíneos biopsiados, no resultan satisfactorias por diferentes razones. Con frecuencia, el tamaño del vaso examinado depende de su accesibilidad o de la técnica utilizada; no siempre predice el tipo, la variedad o la extensión de la afectación vascular sistémica [16]. El tipo de alteración histológica en la pared vascular resulta útil para la clasificación en algunas situaciones, pero las alteraciones histopatológicas típicas no están siempre presentes debido a la variabilidad de la muestra y los efectos del tiempo y el tratamiento en ellas [17]. La clasificación basada exclusivamente en la presentación clínica también puede resultar confusa, ya que la presentación completa de un cuadro vasculítico en ocasiones tarda en aparecer.

Tabla 1. Criterios para la clasificación de las vasculitis según el American College of Rheumatology 1990.

Condición	Criterio	Nº criterios	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Púrpura de Henoch-Schönlein	Púrpura palpable Inicio antes de los 20 años Angor intestinal Granulocitos en la pared vascular	≥ 2	87,8	87,7
Granulomatosis de Wegener	Inflamación nasal u oral Radiografía de tórax anormal (nódulos, infiltrados o cavidades) Microhematuria o cilindros hemáticos Inflamación granulomatosa en la biopsia	≥ 2	88,2	92
Síndrome de Churg-Strauss	Asma Eosinofilia > 10 Neuropatía Infiltrados pulmonares (no fijos) Anormalidad de los senos paranasales Eosinófilos extravasculares	≥ 4	85	99,7
Vasculitis por hipersensibilidad	Inicio posterior a los 16 años Púrpura palpable Erupción maculopapular Granulocitos perivasculares o extravasculares (arteriolas o vénulas)	≥ 3	71	83,9
Poliarteritis nudosa	Pérdida de peso ≥ 4 Kg Dolor a la palpación testicular Mialgia o debilidad Mono o polineuropatía Presión arterial diastólica ≥ 90 mmHg Elevación del BUN o la creatinina Virus de la hepatitis B Anormalidad arteriografía Biopsia de arterias pequeñas o medianas que contengan granulocitos	≥ 3	82,2	86,6
Arteritis (temporal) de células gigantes	Inicio superior a los 50 años Cefalea de aparición reciente o de características diferentes Dolor a la palpación de la arteria temporal o pulso disminuido Velocidad de sedimentación globular ≥ 50 Biopsia con infiltrados inflamatorios de células mononucleares o inflamación granulomatosa	≥ 3	93,5	91,2
Arteritis de Takayasu	Inicio anterior a los 40 años Claudicación de extremidades Pulso de la arteria braquial disminuido Diferencia de presión arterial entre los dos brazos > 10 mmHg Soplo sobre las arterias subclavias o la aorta Anormalidad arteriográfica (estenosis u oclusión de la aorta o de sus ramas principales)	≥ 3	90,5	97,8

Tabla 2. Nombres y definiciones de las vasculitis aceptados por la Conferencia de Consenso de Chapel Hill sobre la nomenclatura de las vasculitis sistémicas.

Vasculitis de grandes vasos	
Arteritis (temporal) de células gigantes	Arteritis granulomatosa de la aorta y de sus ramas principales con afectación preferente de las ramas extracraneales de la arteria carótida. Con frecuencia afecta a la arteria temporal. Habitualmente se presenta en pacientes mayores de 50 años y se asocia con frecuencia a la presencia de polimialgia reumática.
Arteritis de Takayasu	Inflamación granulomatosa de la aorta y de sus ramas principales. Habitualmente se presenta en pacientes menores de 50 años.
Vasculitis de vasos medianos	
Poliarteritis nudosa (poliarteritis nudosa clásica)	Inflamación necrotizante de arterias de pequeño y mediano tamaño sin glomerulonefritis o vasculitis en arteriolas, capilares o vénulas.
Enfermedad de Kawasaki	Arteritis de grandes, medianas y pequeñas arterias, asociada con síndrome ganglionar mucocutáneo. Las arterias coronarias se afectan con frecuencia. La aorta y las venas pueden afectarse. Generalmente se presenta en niños.
Vasculitis de vasos pequeños	
Granulomatosis de Wegener	Inflamación granulomatosa en el tracto respiratorio superior y vasculitis necrotizante en vasos pequeños y medianos (p.ej., capilares, vénulas, arteriolas y arterias). Es frecuente la existencia de glomerulonefritis necrotizante.
Síndrome de Churg-Strauss	Inflamación granulomatosa rica en eosinófilos en el tracto respiratorio con vasculitis necrotizante que afecta vasos pequeños y medianos, asociada con asma y eosinofilia.
Poliangitis microscópica (poliarteritis microscópica)	Vasculitis necrotizante, con escasos o sin depósitos inmunes, que afecta vasos pequeños (p.ej., capilares, vénulas o arteriolas). Puede existir arteritis necrotizante en arterias de pequeño y mediano tamaño. Es frecuente la glomerulonefritis necrotizante. Con frecuencia existe capilaritis pulmonar.
Púrpura de Henoch-Schönlein	Vasculitis con depósitos predominantes de IgA que afecta vasos pequeños (p.ej., capilares, vénulas o arteriolas). Típicamente afecta la piel, el intestino y el glomérulo y se asocia con artralgias o artritis.
Crioglobulinemia esencial	Vasculitis con depósitos de crioglobulinas que afecta vasos pequeños (p.ej., capilares, vénulas o arteriolas) y asociada a la presencia de crioglobulinas séricas. Con frecuencia se afectan la piel y el glomérulo.
Angeítis leucocitoclástica cutánea	Angeítis leucocitoclástica cutánea aislada sin vasculitis sistémica o glomerulonefritis.

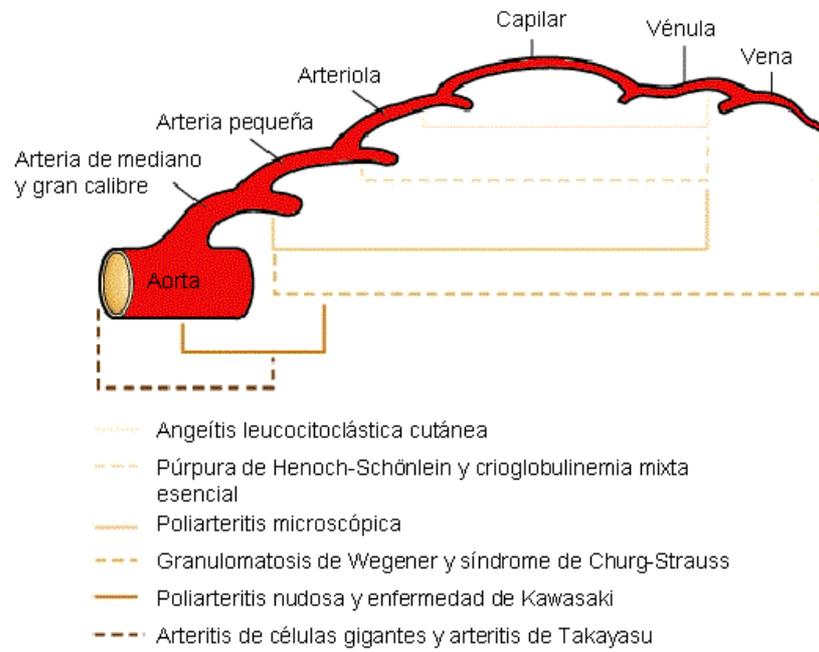


Figura 1. Clasificación de las vasculitis según el tamaño de vasos afectados.

Tabla 3. Clasificación de los síndromes vasculíticos según Lie* [10].

Vasculitis primarias

Vasculitis con afectación de grandes, medianos y pequeños vasos

Arteritis de Takayasu
Arteritis de células gigantes
Angeítis aislada del sistema nervioso central

Vasculitis con afectación predominante de vasos de mediano y pequeño calibre

Poliarteritis nudosa
Síndrome de Churg-Strauss
Granulomatosis de Wegener

Vasculitis con afectación predominante de vasos de pequeño calibre

Angeítis microscópica
Síndrome de Schönlein-Henoch
Angeítis cutánea leucocitoclástica

Miscelánea

Síndrome de Behçet
Enfermedad de Buerger
Síndrome de Cogan
Enfermedad de Kawasaki

Vasculitis secundarias

Vasculitis relacionadas con infecciones
Vasculitis secundarias a enfermedades del tejido conectivo
Vasculitis relacionadas con hipersensibilidad a fármacos
Vasculitis secundaria a crioglobulinemia mixta esencial
Vasculitis relacionada con neoplasias
Vasculitis urticarial hipocomplementémica
Vasculitis post-trasplante de órgano
Síndromes pseudovasculíticos (síndrome antifosfolípido, mixoma atrial, endocarditis, síndrome de Sneddon).

*Lie JT: Nomenclature and classification of vasculitis: Plus ça change, plus c'est la même chose (editorial). *Arthritis Rheum* 1994;37:181-86.

2. Etiopatogenia de las vasculitis primarias

Las vasculitis constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades con la característica común de que las paredes de los vasos sanguíneos son el órgano diana. Las alteraciones histopatológicas en la pared vascular producidas por la inflamación, son consecuencia tanto de la acción de mecanismos inmunológicos como de la respuesta específica de la pared vascular [18]. En las formas de vasculitis primarias o idiopáticas, el agente etiológico que desencadena la respuesta inmune causante del daño histopatológico es, por definición, desconocido [19]. En el daño vascular resultante en los diferentes tipos de vasculitis se han implicado múltiples mecanismos inmunológicos, entre los que destacan el depósito de inmunocomplejos, los anticuerpos anti-célula endotelial y anti-citoplasma de neutrófilo y la inmunidad celular mediada por linfocitos T. Estos mecanismos no son excluyentes entre sí ni exclusivos de un tipo determinado de vasculitis y pueden actuar conjuntamente para mantener o aumentar el daño vascular [20]. La localización y el tipo de daño tisular puede depender de las propiedades diferenciales de cada lecho vascular. Los diferentes síndromes vasculíticos son consecuencia de variaciones en el tipo de respuesta celular endotelial, de los diferentes procesos inmunológicos y de las propiedades de cada lecho vascular, lo que acaba determinando la localización de la enfermedad [1] (Figura 11).

2.1. Mecanismos patogénicos específicos

a) Inmunocomplejos

El depósito de inmunocomplejos circulantes fue uno de los primeros mecanismos propuestos como causante de vasculitis necrotizante [21]. Los complejos inmunes circulantes formados en presencia de un exceso de

antígeno, pueden no ser totalmente eliminados por el sistema mononuclear fagocítico y depositarse en la pared vascular. Asimismo, pueden originarse complejos inmunes directamente en los vasos [7]. En los tejidos, los inmunocomplejos inician los mecanismos inmunopatogénicos a través de la activación del complemento [22], cuyos productos de degradación dan lugar, por una parte, al complejo de ataque de la membrana que produce citólisis y, por otra, actúan atrayendo neutrófilos, cuyas enzimas lisosómicas contribuyen a la destrucción de la pared vascular [7]. Este mecanismo patogénico parece ser el principal en las vasculitis leucocitoclásticas [23], la púrpura de Henoch-Schönlein [24], la crioglobulinemia mixta [25] y, probablemente, las vasculitis necrosantes del grupo de la poliarteritis nudosa (PAN) [26].

b) Anticuerpos anti-célula endotelial

Los anticuerpos anti-célula endotelial (AACE) constituyen un grupo heterogéneo de anticuerpos que se han descrito en muchas enfermedades como la púrpura trombótica trombocitopénica, la esclerosis múltiple, el hipoparatiroidismo autoinmune, el síndrome hemolítico urémico y en muchas enfermedades reumáticas, incluyendo múltiples vasculitis sistémicas, como la granulomatosis de Wegener, la poliarteritis microscópica, la enfermedad de Kawasaki, la tromboangiítis obliterante, la enfermedad de Behçet y la arteritis de Takayasu [27]. Los AACE son un grupo de autoanticuerpos dirigidos contra una variedad de autoantígenos endoteliales, aunque los antígenos reconocidos por estos anticuerpos generalmente no son específicos de las células endoteliales, sino que en la mayoría de los casos también reaccionan con otras células como fibroblastos y/o células mononucleares de la sangre periférica [28]. En la granulomatosis de Wegener y en la poliarteritis microscópica, los títulos de estos anticuerpos se correlacionan con la actividad de la enfermedad [29], lo que sugiere que dichos anticuerpos tienen un papel en la inducción del daño vascular, aunque esto no excluye la posibilidad de que sean generados

como consecuencia del daño vascular [28]. En estudios experimentales se ha observado que estos anticuerpos pueden activar las células endoteliales [30], inducir su apoptosis [31] y causar citotoxicidad dependiente de complemento [32].

c) Anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos

Los anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) reconocen constituyentes del citoplasma de los neutrófilos. Dos autoantígenos principales se han identificado en el interior de los gránulos azurófilos: la proteinasa 3 (PR3) y la mieloperoxidasa (MPO). Los ANCA anti-PR3 (PR3-ANCA) son altamente sensibles y específicos para la granulomatosis de Wegener y los ANCA anti-MPO (MPO-ANCA) están presentes en una proporción variable de pacientes con poliarteritis microscópica y con glomerulonefritis necrotizante con formación de semilunas [33], aunque se han encontrado casos anecdóticos con coexistencia de ambas especificidades antigénicas en el mismo paciente [34]. Los cambios en los títulos de PR3-ANCA y posiblemente MPO-ANCA parecen relacionarse con cambios en la actividad de la enfermedad en algunos estudios [35, 36]. En estudios *in vitro*, se ha demostrado claramente el potencial de estos anticuerpos de interaccionar con los leucocitos polimorfonucleares, produciendo su activación y aumentando su actividad destructiva hacia las células endoteliales a través de los productos tóxicos liberados por los polimorfonucleares activados [37, 38]. Por otra parte, modelos experimentales *in vivo* también apoyan un papel patogénico de los MPO-ANCA [39, 40].

d) Respuesta inmunológica mediada por células T

Los estudios inmunopatológicos han demostrado que en diversos síndromes vasculíticos, como la poliarteritis nudosa [41], la enfermedad de Kawasaki [42], la arteritis de células gigantes [43], la enfermedad de Takayasu [44] y la granulomatosis de Wegener [45], el infiltrado inflamatorio está

principalmente formado por linfocitos T activados y macrófagos. Estos hallazgos apuntan que la respuesta inmune mediada por células T es clave en la patogenia de estas vasculitis. Los mecanismos por los que los linfocitos T son activados para producir daño vascular parecen ser heterogéneos y pueden variar entre los diferentes síndromes vasculíticos [20]. En las diferentes lesiones vasculíticas se han encontrado tanto células T CD4+ con restricción MHC clase II, como células CD8+ con restricción MHC clase I. En las paredes vasculares de pacientes afectados de arteritis de Takayasu se han identificado linfocitos citotóxicos CD8+ secretantes de perforina [44]. Las arterias temporales de pacientes con arteritis de células gigantes contienen primariamente macrófagos y linfocitos CD4+ productores de interleucina-2 (IL-2) e interferón-gamma (IFN- γ) [46]. Los linfocitos CD4+ son activados por el reconocimiento de un péptido específico en asociación con una molécula de la clase MHC II en la superficie de una célula presentadora de antígeno. Tras su activación, secretan factores solubles como interleucina-2 (IL-2) y 6 (IL-6), IFN- γ , factor de necrosis tumoral (TNF) y factor de crecimiento de colonias de granulocitos (GCSF) que contribuyen al reclutamiento y a la activación de células efectoras entre las que se incluyen células T citotóxicas, células B, macrófagos y células natural killer (NK), las cuales, bien directamente o a través de la secreción de diferentes interleucinas, contribuyen al daño vascular [47].

2.2. Respuesta vascular

Una vez en la pared de los vasos, las células inflamatorias segregan citocinas y factores de crecimiento. La pared arterial no permanece pasiva ante el insulto inmune dirigido contra ella, desarrollando un programa de respuesta al ataque que, aunque inicialmente parece tener como objetivo la protección y reparación vascular, con frecuencia se convierte en una respuesta

maladaptativa, que exacerba el daño vascular, retrasa la curación y produce cambios estructurales y funcionales en los vasos, perjudiciales para el paciente [18]. Estos cambios vasculares resultantes de una respuesta maladaptativa a los mediadores segregados por las células inflamatorias, son responsables de la mayor parte de las manifestaciones clínicas y complicaciones isquémicas de los pacientes con vasculitis. Las manifestaciones clínicas focales con frecuencia son secundarias a la disfunción de los órganos isquémicos, como consecuencia de la deficiente irrigación por los vasos afectados. La oclusión vascular puede estar producida por vasoespasmo, trombosis y/o hiperplasia intimal. En los últimos años se ha demostrado que distintos mediadores liberados durante la inflamación poseen actividades vasoactivas, como la sintetasa de óxido nítrico (NOS), protrombóticas, como la IL-1 y TNF, e inducen hiperplasia celular, como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) [48-50]. Por otro lado, citocinas como la IL-1, TNF e IFN- γ , presentan actividad quimiotáctica y contribuyen a mantener los infiltrados inflamatorios atrayendo a los leucocitos que penetran en los vasos gracias a la inducción de moléculas de adhesión [51]. Otros factores de crecimiento con actividad angiogénica pueden contribuir a la neovascularización que ocurre en la pared arterial en algunas vasculitis como la poliarteritis nudosa [41] y la arteritis temporal [52]. Los vasos neoformados proporcionarían nuevos caminos a través de los cuales los leucocitos pueden infiltrar la pared vascular y contribuir al mantenimiento de la inflamación. En las arterias temporales de pacientes con arteritis de células gigantes se ha observado que existen cantidades importantes de aldolasa reductasa, una enzima que funciona mediante la detoxificación de productos tóxicos resultantes de la peroxidación lipídica que tiene lugar durante el proceso inflamatorio y, por tanto, supone un mecanismo de defensa oxidativo. Lo que todavía no se conoce es qué células son las beneficiarias de este mecanismo protector. En el caso de que evitara la apoptosis de las células de músculo liso, se limitaría claramente el daño de la

pared vascular. Sin embargo, las células mononucleares del infiltrado inflamatorio producen altas concentraciones de aldolasa reductasa en su citoplasma lo que podría protegerlas de los efectos citopáticos de los metabolitos tóxicos del oxígeno, lo que en último término sería desfavorable para el paciente ya que amplificaría el insulto inmune [53].

Un mejor conocimiento de la contribución de la respuesta maladaptativa vascular a la enfermedad, probablemente abrirá nuevas áreas de intervenciones terapéuticas [18].

2.3. Moléculas de adhesión celular

Independientemente de los mecanismos inmunológicos que primariamente producen la inflamación vascular, los leucocitos son reclutados en el foco inflamatorio a través de sus interacciones dinámicas con las células endoteliales y la matriz extracelular mediadas por moléculas de adhesión [54]. Éstas se pueden agrupar en tres familias principales según su estructura molecular: las selectinas, las integrinas y la superfamilia de las inmunoglobulinas [55, 56].

Las selectinas son las moléculas de adhesión que vehiculizan el contacto inicial en las interacciones leucocito/endotelio. Son glucoproteínas de membrana. Se conocen 3 selectinas: E, P y L. La selectina E es inducida en la célula endotelial por diversas citocinas como la IL-1 y el TNF. La selectina P se sintetiza en las plaquetas y en el endotelio, donde se almacena y es trasladada a la superficie celular por el influjo de mediadores de la inflamación aguda como la trombina, la histamina y el leucotrieno C4. Algunas citocinas como el TNF- α también inducen su síntesis en la célula endotelial. La selectina L se expresa en todos los leucocitos circulantes excepto en algunas subpoblaciones de linfocitos T de memoria. Después de la activación linfocitaria se desprende

de la membrana celular. Los ligandos de las selectinas son hidratos de carbono específicos.

Las integrinas son proteínas heterodiméricas presentes en una amplia variedad de estirpes celulares. Constituyen los principales receptores que interaccionan con proteínas de la matriz extracelular y algunas también participan en interacciones intercelulares. Las integrinas se expresan constitutivamente en los leucocitos y, aunque su expresión puede ser modulada, su regulación es principalmente funcional. Su expresión no es uniforme en todos los leucocitos. Las integrinas consolidan las interacciones iniciadas por otras moléculas de adhesión, principalmente las selectinas. También son moléculas transductoras de señales y al unirse a sus contrarreceptores producen importantes cambios funcionales en los leucocitos. Su conexión con el citoesqueleto celular hace que tengan un papel importante en el proceso de migración.

Los miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas se caracterizan por contener los denominados dominios inmunoglobulínicos, que consisten en dos láminas peptídicas en estructura beta-plegada y en disposición antiparalela estabilizadas por puentes disulfuro. Las principales moléculas de adhesión que pertenecen a esta familia son ICAM-1, ICAM-2 e ICAM-3 (contrarreceptores de la integrina LFA-1), VCAM 1 (que interacciona con las integrinas VLA-4 y $\alpha_4\beta_7$), LFA-3 (que interacciona con la inmunoglobulina CD2) y PECAM-1 (que interacciona de manera homofílica con ella misma y también con la integrina $\alpha_V\beta_3$). Todas ellas, excepto ICAM-3 se expresan en la célula endotelial en condiciones basales o después de la inducción con citocinas y participan en las interacciones leucocito/endotelio. ICAM-3 se expresa constitutivamente en los linfocitos no estimulados y en células presentadoras de antígenos. Se han descrito otras moléculas de adhesión que pertenecerían a otras familias [57].

En el plasma humano y en otros líquidos biológicos se han detectado selectinas circulantes y algunos miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Las formas solubles de las moléculas de adhesión se desprenden de la membrana celular mediante lisis enzimática o bien son generadas directamente como variantes solubles a las que les faltan los dominios transmembrana y citoplasmático. Estas formas circulantes de moléculas de adhesión probablemente tienen una función reguladora, pero su significado biológico no está completamente claro. Se pueden detectar niveles elevados en una variedad de procesos, incluyendo infecciones, neoplasias y enfermedades inflamatorias crónicas [58]. Debido a que las formas solubles de moléculas de adhesión son liberadas por las células endoteliales tras ser estimuladas por citocinas, se piensa que los niveles elevados de dichas moléculas son consecuencia de la activación de las células endoteliales en respuesta al estímulo inflamatorio. Las moléculas de adhesión de las células endoteliales ICAM-1 y VCAM-1 también son expresadas y liberadas por linfocitos activados y macrófagos. Por consiguiente, su elevación puede reflejar activación inmune y no necesariamente significa activación o daño de las células endoteliales [20].

La transición de un leucocito circulante a un leucocito adherente que infiltra los tejidos requiere una serie de acontecimientos coordinados. En primer lugar, cuando un estímulo adecuado induce al endotelio a expresar selectinas y a los leucocitos ligandos para las selectinas, los leucocitos circulantes en las vénulas postcapilares se enlentecen y ruedan sobre la superficie endotelial. Este fenómeno está mediado principalmente por interacciones entre carbohidratos y selectinas [59]. Posteriormente, las integrinas leucocitarias, basalmente en conformación no adherente, se activan, a través de factores solubles (quimiocinas o citocinas quimiotácticas) [58] o de otras interacciones celulares que implican moléculas coestimuladoras [60]. Los contrarreceptores de las integrinas leucocitarias pueden ser expresados constitutivamente por la

célula endotelial, inducidos o sobreexpresados por el estímulo de citocinas, fundamentalmente la IL-1, el TNF- α y el IFN- γ [59]. Mediante la interacción de integrinas e inmunoglobulinas se produce la adhesión fuerte, la extensión de los leucocitos sobre el endotelio y la subsecuente transmigración a través de las uniones intercelulares hacia el estímulo quimiotáctico [61]. Finalmente, los leucocitos interactúan con proteínas de la matriz extracelular, fundamentalmente a través de determinadas integrinas [62].

Las interacciones mediadas por las moléculas de adhesión forman parte de la respuesta inflamatoria fisiológica al daño, pero en una serie de patologías inflamatorias crónicas, se observa la expresión persistente de ligandos en las células endoteliales o la activación excesiva de las integrinas leucocitarias, lo que probablemente contribuye al reclutamiento leucocitario persistente en los tejidos afectados [63].

El conocimiento sobre la expresión de las moléculas de adhesión en las vasculitis es limitado. Distintos trabajos encuentran una mayor expresión de algunas de estas moléculas en la superficie de las células endoteliales de los leucocitos infiltrantes en pacientes afectados de vasculitis [64-66].

Las interacciones mediadas por las moléculas de adhesión parecen ser muy importantes en el desarrollo final de los infiltrados vasculares en las vasculitis. Se cree que varios de los mecanismos patogénicos que participan en la inflamación y el daño vascular, en algún punto producen aumento de la expresión o la función de las moléculas de adhesión. Las citocinas inductoras, producidas por linfocitos activados y macrófagos durante el proceso inmune específico, pueden ser detectadas en lesiones vasculíticas y coexisten con una expresión aumentada de moléculas de adhesión [64]. La unión de los ANCA a las células endoteliales aumenta la expresión de las moléculas de adhesión [67]. El daño vascular mediado por inmunocomplejos y por el complemento también requiere la expresión y función de las moléculas de adhesión [68].

Debido a que la regulación de la expresión de moléculas de adhesión puede variar entre diferentes lechos vasculares, resulta razonable especular que la expresión diferencial de moléculas de adhesión podría ser responsable en parte de los patrones específicos de afectación vascular en algunas vasculitis [20].

El bloqueo de los eventos adhesivos de las moléculas de adhesión mediante anticuerpos monoclonales o ligandos solubles ha resultado efectivo en la prevención de lesiones en diversos modelos animales de enfermedades autoinmunes humanas [69]. Esto ha llevado a especular sobre posibles nuevas opciones terapéuticas para enfermedades inflamatorias crónicas, entre ellas las vasculitis [20].

En distintas vasculitis se han detectado cantidades elevadas de moléculas de adhesión circulantes. En algunos estudios las concentraciones de dichas moléculas circulantes se correlacionan con las concentraciones de citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6, y con las de proteínas de fase aguda [70]. Los resultados de algunos estudios sugieren que, aunque las concentraciones de moléculas de adhesión solubles disminuyen cuando los pacientes están en remisión clínica, pueden no volver a la normalidad. Estos hallazgos pueden reflejar una exposición persistente de las células endoteliales a un microentorno moderadamente inflamatorio. La utilidad de las moléculas de adhesión para el desarrollo de nuevas terapias así como en la toma de decisiones clínicas a la hora de ajustar el tratamiento o suspenderlo todavía necesita ser estudiada en profundidad.

2.4. Factores dependientes del huésped

a) Predisposición genética

En algunas vasculitis sistémicas se ha encontrado la existencia de una predisposición genética. Los alelos del HLA-DRB1*04 del sistema mayor de histocompatibilidad se asocian a un mayor riesgo de padecer arteritis de células gigantes [71-73]. La enfermedad de Takayasu es más frecuente en mujeres jóvenes de origen hispánico o del sureste asiático y en algunas etnias se ha asociado la susceptibilidad a padecer la enfermedad con algunos antígenos HLA, concretamente con el HLA-B5 en la India y el HLA-B52 y B-39.2 en el Japón [74, 75].

b) Factores hormonales

Algunas vasculitis, como la enfermedad de Takayasu, afectan preferentemente a mujeres en edad fértil lo que ha llevado a sugerir que las hormonas sexuales pueden modular los mecanismos inmunitarios que producen la lesión vascular o la respuesta del propio vaso a la inflamación. Recientemente se ha demostrado que la célula endotelial tiene receptores estrogénicos funcionales y que los estrógenos regulan las vías a través de las cuales determinadas citocinas, como el TNF, inducen la expresión de moléculas de adhesión endoteliales por los leucocitos [51].

c) Edad

Algunas vasculitis, como la enfermedad de Takayasu y la arteritis de células gigantes, están claramente restringidas a unos límites de edad estrictos. La arteritis de células gigantes se diagnostica prácticamente en todos los casos en individuos mayores de 50 años [76, 77]. Se ha especulado que los cambios

sufridos por el sistema inmune con el envejecimiento contribuirían a la patogenia de esta vasculitis [77].

2.5. Otros factores patogénicos

a) Agentes infecciosos

Agentes infecciosos, principalmente virus, han sido implicados en un subgrupo de pacientes con poliarteritis nudosa, crioglobulinemia mixta y otras vasculitis. La poliarteritis nudosa se asocia a la infección por el virus de la hepatitis B hasta en una tercera parte de los casos [78, 79]. El virus de la hepatitis C se ha encontrado asociado a la poliarteritis nudosa [80] y a la crioglobulinemia mixta [81]. Otros virus descritos asociados a las vasculitis son el parvovirus B19 [82, 83] y el virus de la inmunodeficiencia humana [84, 85]. Diferentes estudios sugieren que estos virus participan en la patogenia de las vasculitis a las cuales se asocian [79-81, 84]. Un estudio encontró que *Chlamydia pneumoniae* estaba relacionada con casos de arteritis de células gigantes [86], aunque otros autores no han corroborado esta asociación [87-90]. Además, se han descrito vasculitis en lesiones propias de diversas enfermedades infecciosas bacterianas (sífilis, rickettsiosis), micobacterianas (tuberculosis) y fúngicas (aspergilosis, candidiasis) [91].

b) Fármacos

Aproximadamente en la mitad de los pacientes con vasculitis leucocitoclástica existe el antecedente de ingesta de algún fármaco, por lo que se ha apuntado su posible papel etiopatogénico en esta vasculitis [92].

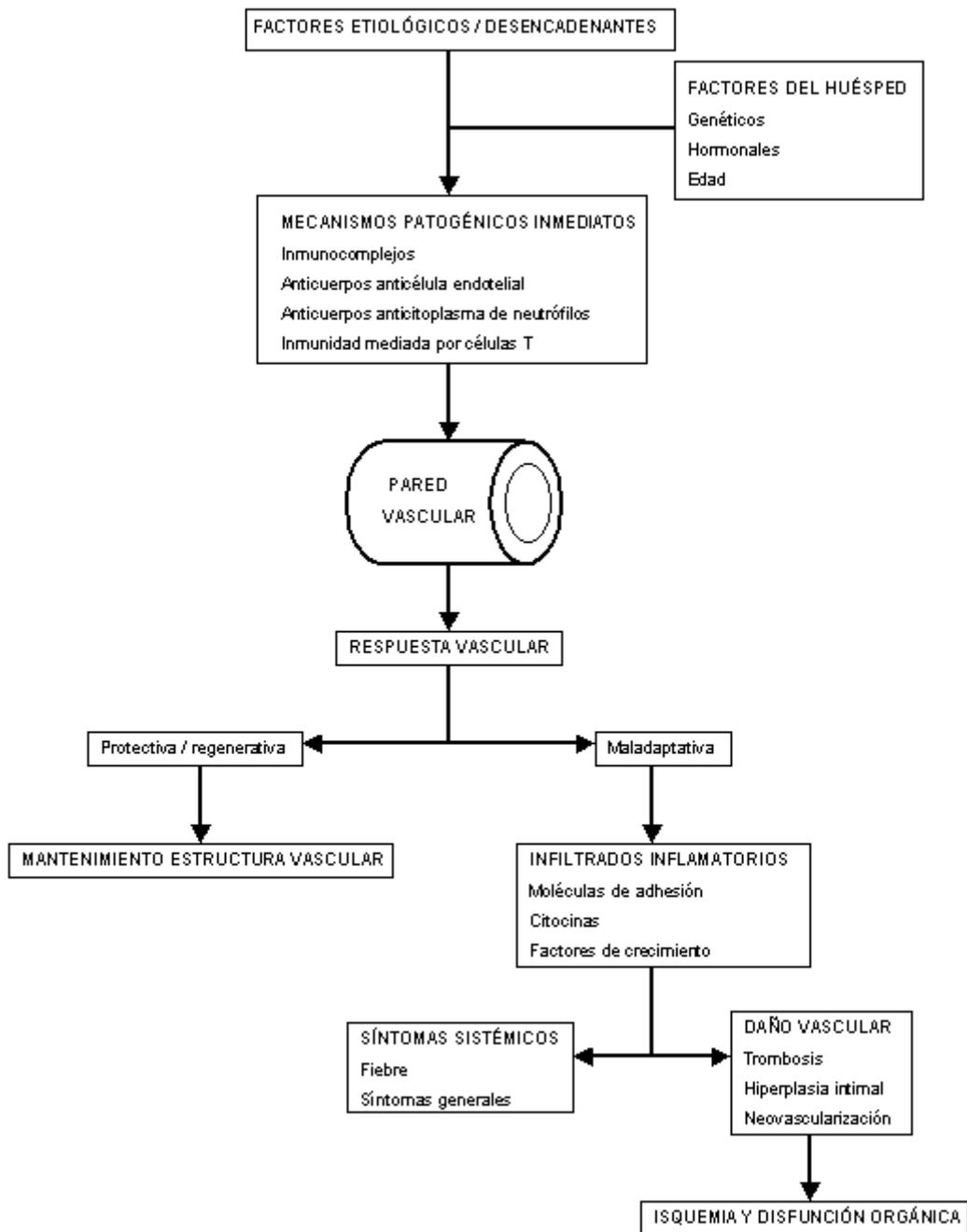


Figura 2. Esquema de la etiopatogenia de las vasculitis

3. Arteritis (temporal) de células gigantes

3.1. Concepto

La arteritis de células gigantes (ACG), también conocida como arteritis temporal, arteritis craneal, arteritis granulomatosa y arteritis de Horton, es una vasculitis granulomatosa sistémica de etiología desconocida, que afecta de forma predominante a vasos de mediano y gran calibre [93]. No todas las zonas del árbol arterial son igualmente susceptibles a esta vasculitis, siendo las zonas afectadas con más frecuencia las ramas de la aorta que irrigan las extremidades superiores y las arterias craneales [94].

En las últimas décadas, se ha reconocido que es una enfermedad heterogénea que puede manifestarse con diversas presentaciones clínicas, dependiendo de la zona del árbol vascular afecta. A la forma de presentación clásica, patrón craneal de la ACG, con afectación de arterias craneales, incluyendo la arteria temporal, se ha añadido la descripción de una variante clínica, forma sistémica de la ACG, con predilección por los grandes vasos, esto es, el cayado aórtico y sus principales ramas [95]. A pesar de las diferencias clínicas entre estas variantes de la enfermedad, en función del tropismo tisular en cada caso, existen datos comunes a ambas, como similitudes en la asociación HLA-DRB1, la frecuente demostración de arteritis temporal en la biopsia de pacientes que presentan afectación de grandes vasos por la ACG, la respuesta terapéutica a los glucocorticoides y la asociación con polimialgia reumática (PMR), que apoyan que ambas formas de presentación derivan de una misma entidad patogénica [96].

La PMR es un síndrome clínico caracterizado por dolor y rigidez matutina a nivel proximal de las extremidades junto con elevación de los reactantes de fase aguda [97]. No existen criterios universalmente aceptados para su

diagnóstico, aunque con frecuencia se utilizan los propuestos por Chuang y cols. [97] o los de Healey [98] (Tabla 4). Entre un 50 y un 75% de los pacientes con ACG también padecen PMR [99, 100]. No está claro si estas dos patologías son entidades diferentes que con frecuencia aparecen juntas o si son manifestaciones diferentes de un mismo proceso patológico, aunque la gran mayoría de los autores tienden a apoyar esta última posibilidad [101].

Tabla 4. Criterios para el diagnóstico de polimialgia reumática.

Criterios de Chuang y cols.* [97]

- Edad al inicio de la enfermedad ≥ 50 años
- Dolor y rigidez de más de 1 mes de duración en al menos dos de las siguientes áreas: cuello, cintura escapular y/o pelviana.
- Velocidad de sedimentación globular > 40 mm/hora
- Exclusión de otros posibles diagnósticos, excepto la arteritis de células gigantes

Criterios de Healey* [98]

- Dolor que persista como mínimo un mes al menos en dos de las siguientes áreas: cuello, cintura escapular y pélvica.
- Rigidez matutina de más de una hora de duración.
- Rápida respuesta al tratamiento con dosis bajas de corticoides (≤ 20 mg/día)
- Ausencia de otras enfermedades capaces de producir los síntomas musculoesqueléticos
- Edad de inicio > 50 años
- Velocidad de sedimentación globular > 40 mm/hora

*Todos los criterios deben estar presentes para el diagnóstico de polimialgia reumática.

Por otra parte, cabe puntualizar que aunque la vasculitis de la arteria temporal se ha asociado clásicamente con la "arteritis temporal", de Horton o

ACG, los estudios histológicos han demostrado que dicha arteria puede estar afectada por otros tipos de vasculitis sistémica [102].

3.2. Epidemiología

La ACG afecta casi exclusivamente a personas mayores de 50 años y, aproximadamente el 90% de los pacientes tienen más de 60 años en el momento del inicio de la enfermedad [103]. Es más frecuente en mujeres que en hombres, con un ratio mujer:hombre de 2-3:1 [104]. La ACG es mucho más frecuente en personas de la raza caucásica que de la raza negra, asiática o hispánica [104, 105].

La ACG es la variedad de vasculitis sistémica más frecuente [106]. La incidencia exacta es desconocida, aunque diversos estudios epidemiológicos coinciden en observar una incidencia 10 veces superior en países del norte de Europa y en regiones del norte de Estados Unidos, pobladas con emigrantes del norte de Europa, que en países de latitudes más al sur. Las tasas de incidencia anuales en personas mayores de 50 años, establecidas en estudios poblacionales, varían desde regiones de latitud norte como 17,0 por 100.000 en Olmsted County, Minnesota [104] y 18,3 por 100.000 en Göterborg, Suecia [105], hasta países de latitud sur con cifras de incidencia significativamente inferiores como 1,58 por 100.000 en Shelby County, Tennessee [107] y 0,4 por 100.000 en Israel [108]. En el norte de España, en Lugo, se ha observado una tasa de incidencia anual media de 11,1 por 100.000 [109].

Diversos estudios epidemiológicos han observado un progresivo aumento de la incidencia de esta patología en diferentes áreas geográficas a lo largo del tiempo, sin poder aclarar los factores responsables de dicho aumento, así como un aumento de su incidencia con la edad [104, 105, 107, 109]. En la actualidad, se ha aceptado que la ACG es una causa importante de morbilidad

en pacientes de edad avanzada. Se considera como uno de los diagnósticos iniciales a tener en cuenta en personas de edad media o avanzada que refieran síntomas tales como dolor musculoesquelético generalizado, cefalea, deterioro del estado general y/o fiebre de origen desconocido, junto con una elevación inexplicada de la velocidad de sedimentación globular [105], que son los síntomas más típicos de esta patología como se explicará más adelante.

3.3. **Anatomía patológica**

La ACG muestra un tropismo muy claro por arterias que presentan una lámina elástica muy bien desarrollada, respetando capilares, arteriolas y venas. No todos los territorios del árbol arterial son igual de susceptibles a esta vasculitis, siendo las arterias que se originan del arco aórtico las que se afectan con más frecuencia [95]. Por su accesibilidad, la biopsia de la arteria temporal es la que se utiliza con más frecuencia para la confirmación histológica de esta patología.

La organización básica de la pared de todas las arterias es parecida. En ella pueden distinguirse una serie capas concéntricas:

- 1) La *túnica íntima*, capa interna cuyas células por lo general tienen su eje mayor orientado longitudinalmente. Está formada por el *endotelio*, un epitelio plano delgado, separado de la elástica interna por tejido conjuntivo laxo que contiene unos pocos fibroblastos, raras células musculares lisas y escasas fibras elásticas y colágenas. El endotelio proporciona al vaso una capa limitante lisa y una barrera de difusión parcialmente selectiva entre la sangre y las otras capas de la pared vascular.
- 2) La *lámina elástica interna*, particularmente bien desarrollada en las arterias de mediano calibre, que consiste en un grupo de fibras elásticas

que constituyen el límite entre la túnica íntima y la túnica media. Es la primera de muchas láminas de elastina que se encuentran en la media.

- 3) La *túnica media*, capa intermedia constituida predominantemente por láminas de elastina dispuestas circularmente e interconectadas entre sí por finos cordones de elastina orientados radialmente. Los espacios entre las láminas elásticas están ocupados por largas fibras musculares lisas, algunos fibroblastos acompañados de fibras colágenas y otros componentes de la matriz extracelular.
- 4) La *lámina elástica externa*, generalmente mucho más delgada que la elástica interna, que separa la túnica media y la adventicia. Es simplemente la más periférica de las muchas láminas elásticas de la media.
- 5) La *túnica adventicia*, capa externa constituida por fibroblastos y haces de colágeno de orientación predominantemente longitudinal y por una red laxa de fibras elásticas delgadas. Esta capa se funde gradualmente con el tejido conjuntivo que acompaña a todos los vasos sanguíneos. En la adventicia y penetrando en la media hasta una cierta distancia en los vasos de mediano y gran calibre, existen los *vasa vasorum*, vasos pequeños que constituyen una microvascularización propia de aquellos vasos que son demasiado grandes para que la totalidad de su pared sea nutrida por difusión a partir de la luz vascular [110] (Figura 3 y 4).

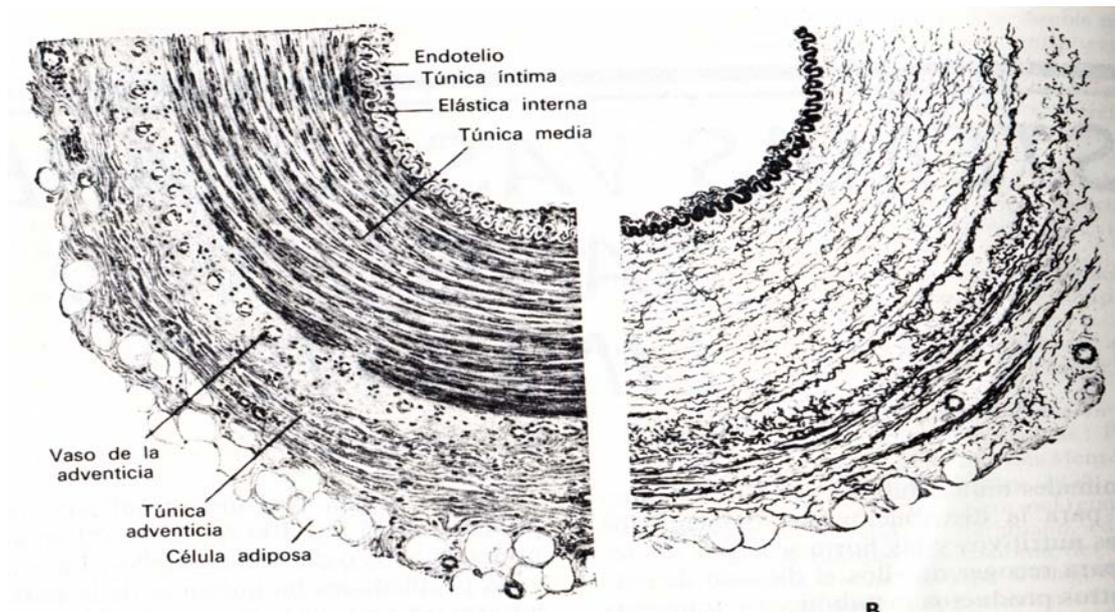


Figura 3. Corte transversal de una arteria. Izquierda: teñido con hematoxilina-eosina. Derecha: teñido con tinción de fibras elásticas.orceína.

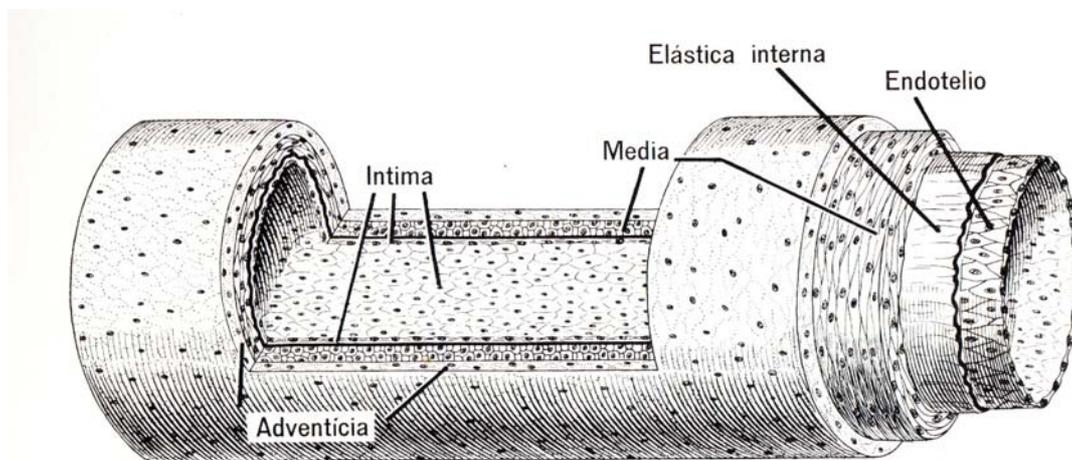


Figura 4. Dibujo esquemático de la estructura de una arteria de calibre medio.

Debido a que la ACG raramente afecta a pacientes de menos de 50 años, la interpretación correcta de los hallazgos histológicos en las biopsias de arterias temporales requiere el conocimiento de los cambios sufridos por dichas arterias relacionados con la edad. En general, estos cambios en las paredes vasculares se inician en la infancia y continúan lentamente hasta la vejez. Se caracterizan primordialmente por un engrosamiento intimal progresivo y por una alteración de la lámina elástica interna. Al describir los cambios de las arterias temporales relacionados con la edad, Lie y cols. [111]. han utilizado el término de “arteriosclerosis”, en un sentido amplio, sin querer hacer referencia a una etiología específica, evitando el término de aterosclerosis, ya que en raros casos se observa el acúmulo de material lipídico en las paredes de estas arterias, a diferencia de lo que se ha observado en otras arterias de calibre similar como las radiales y las coronarias. En aproximadamente una quinta parte de las arterias de los pacientes mayores de 50 años casi invariablemente se observan calcificaciones en las regiones cercanas a la lámina elástica interna y ocasionalmente se extienden hacia la media. Las arterias se pueden clasificar arbitrariamente en cuatro patrones básicos, que representarían la progresiva gravedad de la arteriosclerosis.

- 1) Patrón infantil (Arteriosclerosis grado 0). Observado sólo en fetos y niños menores de 5 años. Las arterias de este grupo presentan las características histológicas de las arterias de mediano tamaño normales descritas en los libros clásicos de histología. La túnica íntima está formada únicamente por una capa endotelial que parece estar pegada a la lámina elástica interna que aparece intacta. La media está compuesta por menos de 10 capas de células de músculo liso circulares entre las que existe escaso colágeno y sólo unas pocas fibras elásticas. La lámina elástica externa es imperfecta y poco definida.

- 2) Patrón juvenil (Arteriosclerosis grado 1). Es el patrón predominante en las arterias de personas de 5 a 30 años y raramente se observa después de la cuarta década. El acúmulo subendotelial de tejido músculo-elástico se traduce en la existencia de una túnica íntima como un componente diferenciado e integral de la pared arterial. El engrosamiento global de la íntima rara vez supera la mitad del grosor de la media y no se produce de manera uniforme en todas las partes de la arteria. La proliferación intimal comienza aparentemente con una reduplicación de la lámina elástica interna en dos o más filas irregulares y onduladas de fibras elásticas accesorias situadas entre la lámina elástica interna y el endotelio. Un número variable de células de músculo liso quedan incluidas entre esas fibras. Se producen concentraciones focales de esta actividad proliferativa que resulta en la formación de cojines músculo-elásticos en forma de duna en los que las células de músculo liso se alinean longitudinalmente envueltas por una red de fibras elásticas. La lámina elástica interna se mantiene bastante intacta salvo por pequeñas rupturas puntuales o su ausencia junto a los cojines músculo-elásticos. No existen cambios evidentes en la media.

- 3) Patrón adulto (Arteriosclerosis grado 2). Este patrón se encuentra en la mayoría de las arterias de pacientes en la cuarta, quinta y sexta décadas y se caracteriza por un engrosamiento intimal difuso que con frecuencia iguala o excede el grosor de la media. Es frecuente la fragmentación de la lámina elástica interna. El aumento de las fibras de colágeno en la íntima produce la desorganización y la separación de las células de músculo liso. La media contiene una mayor cantidad de colágeno y está formada por entre 10 y 15 capas de células de músculo liso.

- 4) Patrón senil (Arteriosclerosis grado 3). La mayoría de las arterias de pacientes mayores de 70 años muestran este patrón. La íntima con

frecuencia muestra el doble de grosor que la media, debido, bien a un mayor aumento del tejido conectivo intimal, a una atrofia de la media o a ambos. La lámina elástica interna frecuentemente está tan degenerada que es difícil diferenciarla del resto de las fibras elásticas intinales. La degeneración de las fibras elásticas se asocia con una tinción irregular y pérdida de afinidad por las tinciones convencionales de fibras elásticas. En la íntima se observan sólo escasas células de músculo liso. El tejido fibro-colágeno intimal está organizado en dos zonas: una capa colagenosa densa interna, con escasas fibras elásticas, y una capa elástica hiperplásica externa.

Las alteraciones anatomopatológicas características de la arteritis temporal que se superponen a los cambios arteriales relacionados con la edad, consisten en un infiltrado inflamatorio en los vasos afectados asociado con una degeneración marcada de la lámina elástica interna [112]. La afectación es característicamente focal y segmentaria. El cuadro histológico clásico de la ACG, observado en el 50% de los casos, consiste en una inflamación granulomatosa en la cual las células gigantes están generalmente cerca de la unión de la media con la íntima. El otro 50% presenta una panarteritis con un infiltrado inflamatorio mixto con predominio de células linfomononucleares, con ocasionales neutrófilos y eosinófilos pero sin células gigantes; por tanto, la presencia de células gigantes, aunque característica, no se requiere para el diagnóstico [17]. La afectación de la íntima es frecuente y se caracteriza por una proliferación celular de fibroblastos y células miointimales que produce edema y disminución de la luz vascular lo que en ocasiones da lugar a oclusión del vaso [113], dato que diferencia esta hiperplasia de la simplemente relacionada con la edad que no compromete la luz vascular [112]. En algunos casos aislados la única alteración histológica que se observa consiste en una vasculitis de los pequeños vasos que rodean la arteria temporal normal [114].

3.4. Manifestaciones clínicas

El inicio de los síntomas de la ACG puede ser abrupto o insidioso, pero en la gran mayoría de los casos, los síntomas están presentes durante semanas o meses antes de que se establezca el diagnóstico [115]. En general, los pacientes con ACG presentan síntomas y signos que son bien de tipo general o secundarios a la isquemia vascular [116]. Asimismo, también es frecuente la existencia de síntomas de polimialgia reumática.

3.4.1. Síntomas generales

Los síntomas generales como astenia, anorexia, malestar general, anemia, pérdida de peso y fiebre, están presentes en la gran mayoría de los pacientes, y en ocasiones constituyen la forma de presentación de la enfermedad [117]. Esta forma de inicio, no es infrecuente en personas de edad avanzada, lo que hace recomendable que la ACG sea incluida en el diagnóstico diferencial de cualquier paciente con fiebre de origen desconocido, anemia o pérdida de peso [118].

3.4.2. Manifestaciones clínicas secundarias a la isquemia vascular

En algún momento de la evolución de la enfermedad, un alto porcentaje de los pacientes con ACG presenta síntomas y signos relacionados con la inflamación de las arterias y secundarios a la subsecuente isquemia. Se pueden dividir en dos grupos, según el territorio arterial afectado: a) secundarios a afectación de arterias craneales; b) secundarios a afectación de arterias extracraneales.

a) Manifestaciones clínicas secundarias a afectación de arterias craneales

En el caso de afectación de las arterias craneales las manifestaciones clínicas más frecuentes son las siguientes:

- 1) Cefalea, que probablemente es el síntomas más frecuente, presente en dos tercios o más de los pacientes [104].
- 2) Hipersensibilidad del cuello cabelludo, que es un síntoma frecuente, especialmente en los pacientes que presentan cefaleas. Generalmente se localiza en la zona de las arterias temporales u occipitales, pero puede ser difusa.
- 3) Síntomas visuales, que son frecuentes e incluyen principalmente diplopia, ptosis, amaurosis fugax, pérdida de visión parcial y amaurosis brusca [119] . La pérdida de visión generalmente está causada por afectación de la arteria ciliar posterior que produce una neuropatía óptica isquémica y, con menos frecuencia, por oclusión de las arteriolas retinianas [94]. La amaurosis es probablemente la manifestación más temida de la ACG.
- 4) Claudicación intermitente que puede afectar a los músculos de la masticación, produciendo claudicación mandibular, que está presente en hasta un 50% de los casos y se considera prácticamente patognomónica de esta patología [104] y, ocasionalmente, a los músculos de la lengua [120] o a los encargados de la deglución. Una estenosis vascular muy importante puede producir gangrena de los músculos irrigados por dicha arteria [115].
- 5) Signos y síntomas relacionados con la arteria temporal, como dolor, inflamación o disminución o ausencia de pulso. En el 50% de los casos

existe algún tipo de alteración de la arteria temporal, siendo la ausencia de pulso el hallazgo físico más significativo clínicamente [104]

- 6) Afectación del sistema nervioso central, aproximadamente en el 30% de los pacientes. Las manifestaciones más frecuentes son los accidentes cerebro-vasculares. Los problemas isquémicos cerebrales son debidos a estenosis u oclusión de la arteria carótida o de la vertebrobasilar [121], ya que las arterias intracraneales, que prácticamente no tienen lámina elástica interna, se afectan muy infrecuentemente en esta patología [122].
 - 7) Dolor retroauricular, a veces percibido como otalgia, suele ocurrir con la afectación de la arteria temporal u occipital. Puede existir hipoacusia neurosensorial que en ocasiones puede recuperarse parcial o totalmente con el tratamiento con glucocorticoides [123], así como afectación vestibular que se manifiesta en forma de vértigo, tinnitus o nistagmos y que puede desaparecer espontáneamente o con el tratamiento [116, 124].
- b) Manifestaciones clínicas secundarias a afectación de arterias extracraneales

De un 10 a un 15% de los pacientes presentan evidencia clínica de afectación de arterias extracraneales de mediano y gran calibre. Los territorios arteriales afectados y las manifestaciones clínicas resultantes son:

- 1) Las arterias que irrigan las extremidades superiores e inferiores, es la afectación extracraneal más frecuente. En este caso puede existir claudicación de la extremidad afectada o parestesias [125, 126]. La exploración física puede revelar ausencia o disminución de pulso en el cuello o las extremidades, soplos sobre las arterias carótidas, subclavias,

- axilares y braquiales, diferencias en las cifras de tensión arterial de las diferentes extremidades y fenómeno de Raynaud [116].
- 2) La afectación de la aorta puede producir insuficiencia valvular, síndrome del arco aórtico y disección o ruptura de un aneurisma aórtico [126, 127]. Los aneurismas aórticos y las disecciones de la aorta son importantes complicaciones tardías [127].
 - 3) La arteritis coronaria es infrecuente y puede ocasionar angor pectoris, insuficiencia cardíaca congestiva e infarto agudo de miocardio [128].
 - 4) La afectación mesentérica con angor o infarto intestinal, aunque poco frecuente, también se ha descrito [116].
 - 5) La afectación del tracto respiratorio se produce en aproximadamente un 10% de los pacientes y se manifiesta en forma de tos persistente, dolor faríngeo y disnea [129]. La vasculitis puede inducir estos síntomas al producir isquemia o hiperirritabilidad de los tejidos afectados [115]. La afectación del parénquima pulmonar es rara, pero se han descrito algunos casos con evidencia radiológica de lesiones pulmonares multinodulares y patrones intersticiales o reticulares difusos que responden al tratamiento con glucocorticoides. En biopsias pulmonares se ha encontrado vasculitis de la arteria pulmonar principal así como de otros vasos pulmonares de mediano y gran calibre [130, 131].
 - 6) La afectación renal es poco frecuente y no está bien definida. El hallazgo más frecuente es la hematuria microscópica transitoria [132]. En algunos casos de pacientes con patrón de ACG con afectación de grandes vasos, se ha encontrado evidencia de vasculitis renal [95]. La ACG generalmente no se asocia con disminución de la función renal, aunque se han descrito algunos casos con afectación de dicha función [132].

- 7) La afectación cutánea es infrecuente, pero las manifestaciones descritas con más frecuencia son nódulos dolorosos sobre las arterias superficiales, secuelas isquémicas incluyendo púrpura, úlceras necróticas, gangrena, urticaria, paniculitis, livedo reticularis o hiperpigmentación [133].
- 8) La afectación del sistema neurológico periférico también puede ocurrir y se manifiesta predominantemente en forma de mononeuropatías, radiculopatía, mononeuritis múltiple y neuropatías periféricas difusas [116]. Presumiblemente, son secundarias a la afectación de las arterias nutrientes [115].

3.4.3. Polimialgia reumática

La existencia de dolor y rigidez en las zonas proximales de las extremidades superiores e inferiores, constituyendo el síndrome clínico conocido como PMR también es bastante frecuente y se ha comunicado en el 40 a 60% de los pacientes con ACG [115].

3.5. Diagnóstico

El diagnóstico de la ACG se basa principalmente en la sospecha clínica, aunque la evaluación de laboratorio puede ser muy útil. Se debería sospechar esta patología cuando una persona de más de 50 años presente un cuadro de cefalea de reciente inicio o de características diferentes a la suya habitual, pérdida de visión transitoria o brusca, cuadro sugestivo de polimialgia reumática, artralgias, fiebre inexplicable por otra patología conocida, pérdida de peso, anemia, síntomas neurológicos, claudicación mandibular y/o elevación de la velocidad de sedimentación globular. La exploración física del paciente puede ayudar a la sospecha o al apoyo del diagnóstico. Se ha de comprobar la

existencia de diferencias en la presión arterial en ambos brazos, nódulos cutáneos dolorosos, disminución o ausencia de pulsos, soplos arteriales y alteraciones de la arteria temporal [115, 116].

3.5.1. Alteraciones de laboratorio

No existe ninguna alteración de laboratorio diagnóstica de ACG, aunque la elevación de los reactantes de fase aguda es la más característica. La velocidad de sedimentación globular determinada por el método de Westergren es el parámetro de laboratorio más utilizado y es superior a 40 mm/h en prácticamente el 100% de los pacientes, aunque un valor más bajo no excluye el diagnóstico [134, 135]. Otros reactantes de fase aguda como la proteína C reactiva, el fibrinógeno y la haptoglobina también se elevan cuando la enfermedad está activa y disminuyen en la fase quiescente [116]. Asimismo, puede existir elevación de los complejos inmunes circulantes o del factor de von Willebrand sérico [136, 137], pero su seguimiento no ha demostrado resultar eficaz en la práctica clínica diaria. Estudios recientes sugieren que las concentraciones de IL-6 en plasma son más sensibles y específicas como indicador de la existencia de vasculitis que otros reactantes de fase aguda [138, 139]. Para la mayoría de los clínicos, la velocidad de sedimentación globular se considera el parámetro de laboratorio más adecuado para establecer el diagnóstico y para el seguimiento del paciente [140].

En aproximadamente un 50% de los pacientes, existe anemia normocrómica y normocítica [141]. Las enzimas hepáticas, especialmente la fosfatasa alcalina, están elevadas en algunos pacientes [142]. El factor reumatoide y los anticuerpos antinucleares generalmente son negativos [115].

3.5.2. Biopsia de la arteria temporal

En todos los pacientes en los que se sospecha ACG se recomienda realizar una biopsia arterial para confirmación histológica. La temporal es la arteria elegida con más frecuencia por su accesibilidad, su alta frecuencia de afectación y la baja tasa de complicaciones como necrosis del cuero cabelludo, infección o sangrado [115, 116]. La ACG, como se expuso anteriormente, tiende a afectar a las arterias de forma focal y segmentada, por lo que una biopsia normal no descarta necesariamente el diagnóstico [143]. Siempre que sea posible, se recomienda realizar la biopsia de un segmento arterial que claramente aparezca alterado en la exploración física, ya que aumentará la rentabilidad diagnóstica. En estos casos, para la confirmación histológica tan sólo se necesita biopsiar un pequeño segmento arterial. Por el contrario, si la arteria no muestra alteraciones aparentes en la exploración física, se recomienda biopsiar de 3 a 4 cm de arteria y realizar varios cortes [115, 116, 144]. Si la primera biopsia es negativa y la sospecha clínica continúa siendo elevada, algunos autores recomiendan biopsiar la arteria contralateral [17, 115, 144]. El rendimiento diagnóstico que se consigue con esta segunda biopsia es del 14-43%. Siempre que sea posible, la biopsia de la arteria temporal debe realizarse antes de iniciar el tratamiento con glucocorticoides, aunque la resolución de las alteraciones histológicas no se produce de forma inmediata y las biopsias pueden presentar arteritis incluso después de más de 2 semanas de tratamiento con glucocorticoides [145, 146].

3.5.3. Otras exploraciones diagnósticas

Otras técnicas también pueden resultar útiles. La ecografía Doppler-color de las arterias temporales puede ser útil para el diagnóstico de ACG así como para elegir el lugar más adecuado para la biopsia [147-150], pero se necesita

más experiencia con ella y por el momento no parece que pueda sustituir al diagnóstico histológico [144].

En casos de sospecha de afectación de los grandes vasos debería valorarse la realización de un angiograma que resulta de utilidad para determinar la extensión de la vasculitis y para diferenciar la AGC de otras causas no vasculíticas como la aterosclerosis [95]. La tomografía axial computarizada y la resonancia magnética pueden ayudar a determinar la afectación de los grandes vasos [144]. La pneumopletismografía ocular también puede ser útil en el diagnóstico, al diferenciar entre una disminución del flujo ocular debida a ACG y la debida a otras causas [151].

3.5.4. Criterios para la clasificación de la ACG

En 1990, la Sociedad Americana de Reumatología (ACR) formuló los criterios de clasificación de la ACG. Estos criterios son de utilidad para diferenciar esta patología de otros tipos de vasculitis y se recomienda su uso en todos los estudios de ACG para describir la población de pacientes que se investiga, pero hay que subrayar sus limitaciones para el uso con fines diagnósticos [76] (Tabla 5).

Tabla 5. Criterios del American College of Rheumatology para la clasificación de la arteritis (temporal) de células gigantes. (Formato tradicional)* [76].

Criterio	Definición
1. Edad al inicio \geq 50 años	Desarrollo de síntomas o de signos después de la edad de 50 años
2. Cefalea de reciente inicio	Dolor de cabeza de reciente comienzo o de características diferentes
3. Alteraciones de la arteria	Dolor a la palpación, disminución de pulso de las arterias temporales relacionado con arteriosclerosis de las arterias carótideas.
4. Elevación de la velocidad de sedimentación globular	Velocidad de sedimentación globular \geq 50 mm/h determinada por el método de Westergren
5. Biopsia de la arteria temporal anormal	Biopsia que muestre vasculitis caracterizada por predominio de infiltrado mononuclear o inflamación granulomatosa, generalmente con células gigantes multinucleadas

*Para la clasificación de un paciente con ACG éste debería cumplir al menos 3 de estos 5 criterios. La presencia de 3 ó más criterios tiene una sensibilidad del 93,5% y una especificidad de 91,2%.

3.6. Tratamiento

Los glucocorticoides constituyen el principal tratamiento de la ACG y la mayoría de los pacientes experimentan una respuesta rápida y espectacular. El tratamiento debería iniciarse nada más establecer el diagnóstico o, en caso de sospecha clínica elevada, tras realización de la biopsia arterial. En el caso de pacientes con sospecha muy alta o con complicaciones vasculares como alteraciones visuales, se debería comenzar el tratamiento sin esperar a la realización de la biopsia arterial [116, 144]. Los glucocorticoides controlan los síntomas rápidamente y previenen el desarrollo de nuevas complicaciones vasculares [152]. Por otra parte, alteran el proceso inflamatorio en la pared vascular, pero esta influencia parece ser mucho más lenta y gradual y las biopsias realizadas hasta más de 2 semanas después del inicio del tratamiento no se alteran sustancialmente [146, 153]. En general, la dosis de inicio es entre

40 y 60 mg de prednisona al día en una sola toma o en dos [142]. Si el paciente no mejora claramente en 3 a 5 días, se puede aumentar la dosis de 10 a 20 mg/día. Los síntomas reversibles del paciente generalmente desaparecen en pocos días o en una o dos semanas. Después de 2 semanas de tratamiento, se puede disminuir la dosis de prednisona a 50 mg/día y al final del primer mes, a 40 mg/día. Posteriormente, se puede reducir la dosis diaria unos 5 mg cada una o dos semanas siempre que los síntomas no reaparezcan y los reactantes de fase aguda no se eleven. A partir de 20 mg/día, el descenso ha de ser más lento. Si los síntomas reaparecen y/o se produce una elevación significativa de los reactantes de fase aguda, se debe aumentar la dosis de prednisona hasta el nivel previo que controlaba los síntomas y continuar con la pauta de descenso habitual [144]. El tratamiento con glucocorticoides a días alternos resulta menos eficaz que la administración diaria [142]. En pacientes con síntomas visuales se ha utilizado el tratamiento inicial con pulsos de glucocorticoides intravenosos, aunque esta pauta no ha demostrado mayor eficacia que la terapia convencional oral [154].

En caso de que se produzcan efectos secundarios de los glucocorticoides o de que los síntomas no puedan ser controlados con prednisona, se puede añadir un fármaco citotóxico. El metotrexato ha sido el más utilizado pero, aunque los resultados de los diferentes estudios son controvertidos, no parece haber demostrado una eficacia clara en la disminución de la dosis de glucocorticoides [155-157]. Otros fármacos como la azatioprina [158], la ciclofosfamida y la dapsona [159], tampoco han demostrado ser eficaces. Por otra parte, el ácido acetilsalicílico ha demostrado tener eficacia complementaria a los glucocorticoides en la disminución de las citoquinas proinflamatorias en las lesiones de la pared vascular de la ACG [160].

3.7. Pronóstico

La mayoría de los pacientes puede abandonar el tratamiento con glucocorticoides después de un período largo, entre 1 y 2 años. Una minoría precisa tratamiento con dosis bajas de glucocorticoides a más largo plazo para controlar sus síntomas [144]. El tratamiento precoz es muy importante. La mortalidad a corto plazo es debida a las complicaciones vasculares y una vez que se ha iniciado el tratamiento con glucocorticoides, la aparición de este tipo de complicaciones es infrecuente. Si la ACG se diagnostica rápidamente y se trata de forma correcta, la esperanza de vida de los pacientes es la misma que la de la población general de su mismo rango de edad [116].

Los efectos secundarios del tratamiento con glucocorticoides de larga duración constituyen la principal causa de morbilidad en la ACG, por lo se debe utilizar la dosis más baja posible para intentar minimizarlos. Las complicaciones del tratamiento con glucocorticoides se producen hasta en el 25% de los pacientes e incluyen fracturas vertebrales por compresión, necrosis avascular de la cabeza femoral, hipertensión, intolerancia a la glucosa/diabetes, cataratas, susceptibilidad aumentada a las infecciones y manifestaciones psiquiátricas. Para disminuir y controlar estas complicaciones, se deben realizar controles regulares de la presión arterial y de la glucemia, así como añadir tratamiento profiláctico de la osteoporosis [116].

Después de varios años es relativamente frecuente el desarrollo de aneurismas aórticos, por lo que se recomiendan controles radiológicos torácicos anuales [144].

3.8. Etiopatogenia

La etiología de la ACG continúa siendo desconocida y la patogenia incierta. Los datos epidemiológicos, así como el estudio del infiltrado inflamatorio en la pared vascular han proporcionado algunas claves. Los datos epidemiológicos apuntan a que diversos factores del huésped actuarían como favorecedores de esta vasculitis y a la contribución de un posible factor ambiental. Los estudios moleculares en las lesiones vasculares apoyan la teoría de que la ACG se desarrolla cuando los linfocitos T reconocen un antígeno en la pared arterial y se activan, desencadenando una reacción inmunológica específica de antígeno que a su vez originaría un programa de respuesta al daño de la pared. Esta respuesta está influida por diversos factores de riesgo, como la edad y determinados factores genéticos del paciente y la naturaleza y la cantidad de antígeno. Los mecanismos destructivos de la pared vascular junto con el tipo de respuesta de ésta al ataque inmunológico serían los determinantes finales del daño vascular [161-163]. El estímulo antigénico que desencadena la reacción inmune es desconocido y se piensa que puede no ser un único factor sino varios [164].

De forma esquemática, se han de tener en cuenta diversos factores: a) factores dependientes del huésped, serían factores favorecedores; b) estímulo antigénico, sería el factor desencadenante; c) mecanismos inmunológicos específicos implicados; d) mecanismos destructivos de la pared y patrón de respuesta vascular, determinantes finales del daño vascular. (Figura 5).

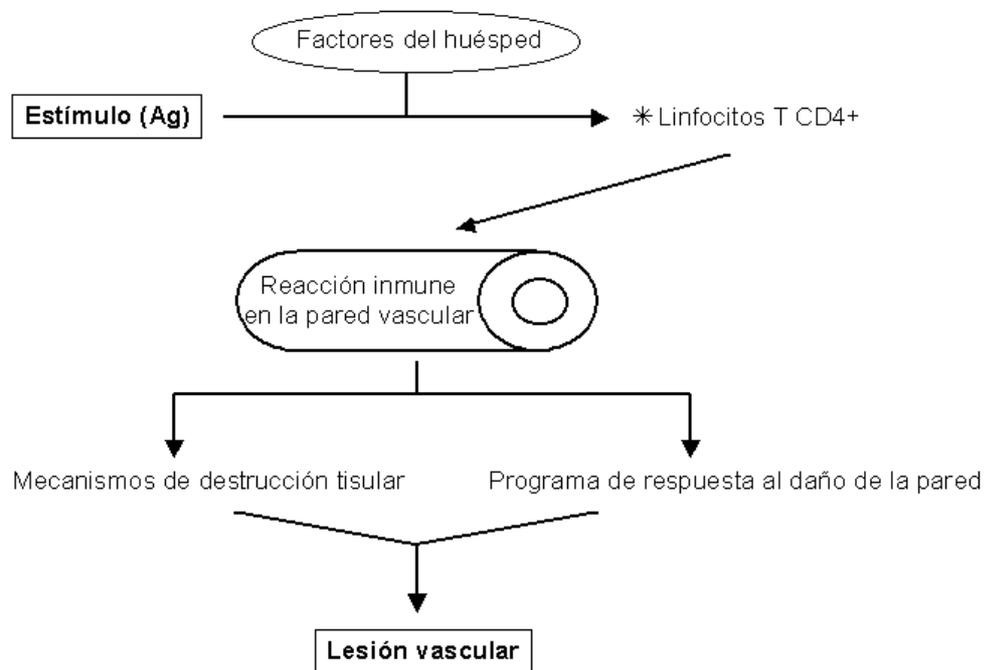


Figura 5. Esquema de la etiopatogenia de la ACG.

3.8.1. Factores del huésped

Se considera que diversos factores de riesgo dependientes del huésped están implicados en la respuesta inmune arterial.

a) Factores genéticos

La existencia de una predisposición genética está apoyada por la presentación de la ACG casi exclusivamente en individuos de la raza caucásica [107], por el hecho de que la enfermedad afecta, en ocasiones, a varios miembros de la misma familia [165] y por la presencia frecuente de

determinados alelos HLA-DRB1 tanto en pacientes con ACG como con PMR [166]. Las variantes alélicas HLA-DRB1*04 y DRB1*01 se asocian con una susceptibilidad aumentada de padecer PMR y ACG [72, 73, 167]. Estos alelos pueden influir en la gravedad de la enfermedad [168]. La comparación de la secuencia de los polimorfismos HLA-DR asociados con la enfermedad y los no asociados ha llevado a formular la hipótesis de que las posiciones de aminoácidos localizados directamente en los lugares de unión al antígeno de los dímeros HLA confieren el mayor riesgo, apoyando la idea de que la unión y la presentación de un antígeno son pasos críticos en esta patología [72]. La distribución geográfica no aleatoria de la ACG, con claro predominio en países del Norte de Europa y en regiones del norte de Estados Unidos [104, 105], es altamente sugestiva de determinantes de riesgo genético, pero también podría indicar la contribución de factores ambientales.

b) Género

Otro factor de riesgo del huésped asociado con esta enfermedad es el género. La frecuencia es de 2 a 3 veces superior en mujeres que en varones [104]. Ante la posible implicación de un factor hormonal, se han buscado diferencias en la expresión citoplasmática de receptores de estrógenos en células inflamatorias y de músculo liso en arterias con y sin vasculitis, pero no se ha podido demostrar ninguno [169, 170].

c) Edad

Se sabe que la edad avanzada es un factor de riesgo muy importante para el desarrollo de ACG. Prácticamente no se ha diagnosticado ningún caso en personas menores de 50 años y la probabilidad de padecer esta patología aumenta con la edad [76]. El sistema inmune sufre importantes cambios con el envejecimiento, conocidos como inmunosenescencia, que se piensa afectan a la inmunorreactividad de los pacientes con ACG. Se sospecha que múltiples

procesos contribuyen a la disminución de la inmunocompetencia en las personas de edad avanzada, pero el deterioro de la función tímica se considera el factor primordial. Las consecuencias funcionales de la inmunosenescencia incluyen una pérdida progresiva de las respuestas vacunales, aumento del riesgo a las infecciones y disminución de la inmunidad antitumoral. Junto con esto, las personas mayores presentan una incidencia más elevada de trastornos clonales y tienen autoanticuerpos con más frecuencia [77]. El modo preciso en que las alteraciones del sistema inmunitario relacionadas con la edad afectan a la inmunorreactividad de los pacientes con ACG todavía no se ha estudiado [163].

d) Otros factores

En 1890, Hutchinson, el clínico que describió el primer caso de un paciente con arteritis temporal, sugirió la idea de que la presión del sombrero podía causar la enfermedad [166]. Algunos autores han encontrado una asociación entre la ACG y diversas patologías tiroideas como la tireotoxicosis [171], enfermedades autoinmunes tiroideas [172], hipotiroidismo [173, 174] e hipertiroidismo [175].

Se ha estudiado la existencia de una posible relación entre diversos factores de riesgo cardiovascular y la ACG. En 1989, Machado y cols. [176] observaron en un estudio de casos y controles que el hábito tabáquico puede estar asociado con la ACG. Un estudio posterior, concluyó que el hábito tabáquico y la existencia de arteriopatía previa son factores asociados de forma independiente con esta vasculitis pero exclusivamente en el sexo femenino [177, 178].

3.8.2. El estímulo antigénico

Aunque el antígeno que desencadena la reacción inmunológica en la pared arterial todavía no ha sido identificado y puede que la arteritis sea una respuesta final desencadenada por diferentes antígenos, se han sugerido tres hipótesis principales. La primera sugiere que los componentes de la pared arterial, como la elastina o elementos de la matriz extracelular, se convierten en autoantígenos como consecuencia de la edad u otros factores. Otra hipótesis es que los antígenos son atrapados en la pared vascular a consecuencia de su depósito intencionado o no desde la corriente sanguínea. Una tercera, apunta la idea de que los macrófagos fagocitan el antígeno fuera de la pared arterial y lo transportan a la pared donde lo expresan a consecuencia de su activación [163].

Dos han sido los factores antigénicos más estudiados: a) el papel de la lámina elástica interna; b) agentes infecciosos.

a) La lámina elástica interna

La preferencia de la ACG por arterias con lámina elástica interna bien desarrollada y la observación de que la reacción inflamatoria en las biopsias positivas, con frecuencia es más intensa alrededor de la lámina elástica interna de la arteria temporal [179], llevó a que durante muchos años se pensara que el tejido elástico de la aorta y de sus ramas principales estaba involucrado de alguna forma en el desarrollo de la ACG. Otras observaciones apoyaban esta hipótesis, como el hecho de que las células gigantes multinucleadas, características de la enfermedad, suelen estar en contacto directo con la lámina elástica y en ocasiones se ha visto que contienen en su citoplasma fragmentos de fibras elásticas fagocitadas [179]. En un estudio *postmortem*, se encontró que existía una relación entre el grado de extensión de la afectación de los vasos cervicales y la cantidad de tejido elástico en la media y en la adventicia;

las reacciones inflamatorias en la carótida y en las arterias vertebrales disminuía y acababa poco después de que las arterias penetraran en el cráneo. Las arterias intracraneales, con paredes delgadas y sólo pequeñas cantidades de tejido elástico, se afectan en raras ocasiones [94]. Experimentalmente, se ha encontrado que las inyecciones de elastina bovina dentro del tejido subcutáneo y de la cavidad peritoneal de las ratas, origina una reacción inflamatoria granulomatosa crónica similar a la observada en la ACG [180]. Asimismo, se ha detectado la presencia de inmunoglobulinas opuestas a las fibras elásticas vasculares en algunos casos de ACG [181].

Estas observaciones condujeron a la hipótesis de que en la ACG se desarrolla una reacción inmune contra alguna sustancia desconocida depositada en los vasos afectados o, quizás, contra alguna estructura de la pared vascular, como el tejido elástico, que se ha convertido en un autoantígeno como resultado de la edad o de otros factores [166]. O'Brien sugiere que la radiación ultravioleta y/o la radiación infrarroja, alteran el tejido elástico en la arteria temporal y desencadenan esta reacción, formulando lo que se conoce como "hipótesis actínica" [182]. Esta hipótesis propone que la principal causa de la lesión de la arteria temporal en la ACG es una degeneración actínica ("elastosis actínica") *in situ* de la lámina y no una degeneración normal de la edad, como proponen otros autores. La afirmación de O'Brien se basa en que las alteraciones de los patrones de tinción del tejido elástico de las arterias temporales afectadas, utilizando una técnica modificada de hematoxilina-eosina [183], son similares a los que aparecen en el tejido cutáneo dañado por el sol [182, 184-186]. En algunas de las biopsias revisadas por este investigador, estos cambios son más marcados en el lado superficial de la arteria temporal, en otros casos la afectación es concéntrica, pero en ningún caso es más marcada en el lado más interno de la arteria. Asimismo, aceptando que la ACG y la PMR son manifestaciones de la misma entidad, este autor propone una variante de la hipótesis actínica para explicar la

etiopatogenia de la PMR. Sugiere que en el caso de esta patología, el “antígeno” estaría constituido por extensos acúmulos de fibras elásticas dañadas actínicamente, situadas en la piel y en los vasos superficiales, que producirían un flujo sistémico de actividad anti-elastina que consumiría la elastina, inicialmente no alterada, existente en tejidos internos. Esta hipótesis podría ser también aplicada a los casos de ACG con afectación de grandes vasos. En los casos de PMR, O’Brien sostiene que la elastólisis se produciría de forma aguda y difusa, mientras que en los de arteritis, la reacción fagocítica sería diferente, localizada y de instauración lenta [182].

En 1996, Pueblitz y Starcher [187] realizaron un estudio experimental utilizando ratones modificados genéticamente deficientes en elastasa. Encontraron que el 60% de los ratones de una cepa que poseía elastasa, mostraba cierto grado de degeneración de las fibras elásticas en las arteriolas de la dermis profunda después de una exposición prolongada a radiación ultravioleta B, en contraposición con tan sólo un 4% de los ratones deficientes en elastasa. Concluyeron que estos hallazgos apoyan una asociación entre la radiación actínica y los síndromes vasculíticos, mediada por la elastasa, enzima que degrada la elastina. Los resultados preliminares de este estudio fueron publicados en forma de resumen, pero aparentemente el estudio no ha sido formalmente publicado.

Otros autores, como Hunder [188], cuestionan esta hipótesis. Sostienen que aunque muchos estudios han documentado el efecto dañino de la radiación solar sobre la piel [189, 190], todavía existe escasa información acerca de su penetración a través de ésta y su efecto sobre estructuras subyacentes. Según este autor, aparte de casos anecdóticos publicados, la evidencia clínica de una relación entre la ACG y el grado de exposición a la luz solar es escasa. De hecho, parece contrastar con el hallazgo de diferentes estudios que han encontrado una incidencia más elevada de la enfermedad en países de

latitudes norte [104, 105], respecto a regiones situadas más al sur [107, 108], donde las tasas de luz solar medias son superiores. En el caso de que la hipótesis actínica fuera cierta, se esperaría que la ACG presentara una variación estacional, con un incremento del número de nuevos casos tras los meses más cálidos, lo que no se ha observado en estudios de grupos de pacientes. Por otra parte, apunta que debido a que la calvicie es más frecuente en hombres, estos están más expuestos a la luz solar que las mujeres y la ACG debería afectarlos con más frecuencia, cosa que no sucede. Asimismo, las arterias de las manos, expuestas a la luz solar, se afectan en raras ocasiones y las arterias del cuero cabelludo, aunque se afectan en ocasiones, lo hacen de forma intermitente, en lugar de forma continua, como sería de esperar dado su grado de exposición al sol. Según Hunder, la hipótesis actínica es incapaz de explicar la relación entre la ACG y la PMR, así como los casos de ACG con afectación extensa de las ramas del cayado aórtico [188].

Por otra parte, los estudios inmunohistológicos del infiltrado inflamatorio en la pared arterial en los últimos años dan más importancia a la adventicia que a la lámina elástica interna en la patogenia de la ACG, como se explicará más adelante.

b) Factores infecciosos

Diversas observaciones han conducido a pensar que los agentes infecciosos podrían estar implicados en la etiopatogenia de la ACG. En primer lugar, la forma de inicio, en ocasiones similar a un síndrome gripal, ha sugerido una posible etiología vírica. En 1973, Mitschek y Aubock, describieron inclusiones citoplasmáticas de apariencia vírica en un caso de arteritis temporal y sugirieron, basándose en la apariencia morfológica, que podrían corresponder a un virus parainfluenza [191]. Por su asociación con la poliarteritis nudosa, se ha estudiado el virus de la hepatitis B y se han descrito casos aislados de asociación de este virus con la ACG [192, 193], pero su

papel etiopatogénico en esta enfermedad no se ha podido confirmar en series más grandes de casos prevalentes, muchos de los cuales habían recibido tratamiento con glucocorticoides durante largo tiempo antes de realizar la determinación serológica [194, 195]. Algunos autores han apuntado la asociación entre la ACG y la infección por *Borrelia* [196, 197].

Un estudio retrospectivo de 100 pacientes con AGC encontró que la prevalencia de una infección concurrente o reciente en estos pacientes era tres veces superior que en el grupo control [198], aunque estos hallazgos no han sido corroborados por otros autores [199]. Por otra parte, el agrupamiento de casos en períodos específicos de tiempo y en determinadas localizaciones geográficas indica que, además de una predisposición genética, pueden estar implicados factores ambientales o estacionales. No obstante, los resultados de los diferentes estudios sobre la posible variación estacional de la incidencia en el momento del inicio de la ACG no son consistentes [199-204]. (Tabla 6).

Tabla 6. Estudios sobre la incidencia estacional de la presentación de ACG/PMR.

Autor	Nº de casos	Hallazgos
Raynauld y cols. [200]	213	No variación estacional
Ramassamy y cols. [201]	109	No variación estacional, pico en Diciembre
Petursdottir y cols. [202]	665	Pico a finales de invierno y otoño
Duhaut y cols. [203]	207*	58% casos en otoño o invierno
Narvaez y cols. [199]	143	No variación estacional, pico en Agosto
Liozon y cols. [204]	184	No variación estacional, pero baja en Julio

*Sólo arteritis temporal con biopsia positiva.

Además, dos estudios epidemiológicos demostraron patrones cíclicos regulares en la tasa de incidencia de la ACG a lo largo del tiempo. Salvarani y cols. [103] en Olmsted County, Minnesota, en un estudio a lo largo de 40 años, demostraron fluctuaciones cíclicas de características epidémicas, en la incidencia de la ACG, con picos cada 6-7 años, que coincidían con los picos de incidencia de la infección por parvovirus B19. En Dinamarca, Elling y cols. [205], durante un período de 12 años, observaron que las fluctuaciones cíclicas en la tasa de incidencia de la ACG y la PMR coincidían con picos epidémicos de *Mycoplasma pneumoniae*, parvovirus B19 y *Chlamydia pneumoniae* en diferentes regiones. Las observaciones de estos estudios abrieron el interés de numerosos investigadores que han buscado la presencia de estos microorganismos a nivel de la arteria temporal. La mayoría de las investigaciones se han centrado, no obstante, en *Chlamydia pneumoniae* y en parvovirus B19.

Parece ser que tan sólo un estudio experimental, publicado exclusivamente como resumen hasta el momento, ha investigado la presencia de DNA de *Mycoplasma pneumoniae* en las biopsias de arterias temporales y en las células mononucleares de la sangre periférica. El número de pacientes incluidos, especialmente de aquellos con ACG con biopsia positiva, fue reducido. Se dividieron los pacientes en 4 grupos: 1) 4 pacientes con ACG con biopsia positiva; 2) 12 pacientes con ACG con biopsia negativa; 3) 7 pacientes con PMR aislada; 4) 8 controles, con un diagnóstico diferente. Los autores no encontraron asociación entre *Mycoplasma* y la ACG [206].

Varios autores han investigado la contribución de *Chlamydia pneumoniae* en la ACG. Las observaciones que animaron al estudio de este microorganismo provinieron principalmente de los resultados del estudio epidemiológico en Dinamarca mencionado anteriormente y del hecho de que este agente generalmente produce síntomas del tracto respiratorio superior, que son

frecuentes en los pacientes con ACG. Además, la respuesta inmunitaria frente a la infección por *C. pneumoniae* es principalmente dependiente de células T y la ACG, como se comentará más adelante, es una enfermedad mediada por una respuesta inmunitaria por células T. Por otra parte, diferentes estudios han sugerido que este microorganismo juega un papel en la patogenia de la aterosclerosis [207-210]. En investigaciones recientes se ha observado que la aterosclerosis, como la ACG, se asocia con inflamación crónica de arterias de mediano y gran calibre y tiene preferencia por personas de edad avanzada [211], lo que ha aumentado el interés por el estudio del papel de *C. pneumoniae* en la ACG. Por último, Ljungstrom y cols. [212] encontraron que un paciente con ACG y otro con PMR presentaban hallazgos serológicos consistentes con un patrón de reinfección por *C. pneumoniae*.

Wagner y cols. [86], realizaron el primer estudio con biopsias de arteria temporal siguiendo esta línea. Incluyeron 14 arterias temporales de 9 pacientes con ACG (a 5 pacientes se les realizó biopsia bilateral; la arteria de uno de los pacientes al que sólo se le realizó una biopsia, no presentaba lesiones histológicas compatibles con ACG), 4 arterias de 3 pacientes con PMR aislada sin signos histológicos de inflamación (a un paciente se le realizó biopsia de ambos lados) y 9 arterias de 5 pacientes sin ACG ni PMR (a 4 de estas personas se les realizó biopsia bilateral). La detección de *C. pneumoniae* se realizó tanto por inmunohistoquímica como por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), encontrándose en 13 biopsias por alguno de los 2 métodos o por ambos, pertenecientes a 8 de los 9 pacientes con vasculitis (en 6 pacientes se detectó tanto por inmunohistoquímica como por PCR, en uno fue positiva sólo por inmunohistoquímica y en otro sólo por PCR) y en una arteria de un paciente con PMR por inmunohistoquímica, pero no por PCR. No se encontró en ninguna de las arterias del grupo control con ninguno de los dos métodos. La *C. pneumoniae* fue localizada principalmente en la adventicia y en

relación con células dendríticas, por lo que estos autores apuntan su papel como células presentadoras de antígeno.

Rimenti y cols. [213] comunicaron el caso de un paciente con infección concurrente por *C. pneumoniae* y ACG confirmada por biopsia. Las determinaciones serológicas sugerían la existencia de una reinfección por este microorganismo en el momento en que se diagnosticó la arteritis temporal (importante aumento de los títulos de IgG sin IgM) y el DNA de este microorganismo se identificó en la biopsia de la arteria temporal mediante PCR. Por el contrario, Haugeberg y cols. [87, 88], no detectaron DNA de *C. pneumoniae* en ninguna de las 20 biopsias de pacientes con arteritis temporal histológicamente compatibles con ACG (12 de ellas con células gigantes). Utilizaron la técnica de PCR realizando un único ensayo y no incluyeron controles. Dumolin y cols. [206], a la vez que estudiaron la presencia de *Mycoplasma pneumoniae* en biopsias de arteria temporal en el ensayo que se ha detallado anteriormente, también estudiaron la presencia de DNA de *C. pneumoniae*, sin encontrarlo en ninguna de las arterias con inflamación ni en las de los grupos control.

En un trabajo reciente, Helweg-Larsen y cols. [89], utilizando biopsias de arterias temporales en fresco, criopreservadas, estudiaron la presencia de DNA de *C. pneumoniae*, junto con la de otros microorganismos a los que haremos referencia más adelante. Dividieron los pacientes en 4 grupos: a) 13 tenían histología típica de ACG; b) 2 habían sido diagnosticados de ACG a pesar de la negatividad de la biopsia; c) 10 tenían PMR aislada, sin signos de vasculitis en la biopsia; y d) 5 tenían otras patologías diferentes. Utilizando la técnica de PCR, no encontraron ADN de *C. pneumoniae* en ninguna de las biopsias estudiadas. Finalmente, Regan y cols. [90] encontraron ADN de Chlamydia en tan sólo una de las 180 biopsias de arteria temporal que estudiaron. Noventa eran arterias temporales con histología compatible con ACG y las otras 90 eran

arterias sin inflamación procedentes de pacientes que finalmente habían sido diagnosticados de una patología diferente de la ACG y de la PMR. Este trabajo incluía el mayor número de biopsias estudiado hasta el momento.

A excepción del estudio de Helweg-Larsen y cols. [89], que utilizaron tejido criopreservado, el resto de los investigadores utilizaron biopsias conservadas en parafina. Desconocemos el tipo de conservación de las biopsias utilizadas por Dumolin y cols. en su estudio, ya que no dan detalles al respecto.

Como se puede observar, los resultados de los diferentes estudios son controvertidos, pero la mayoría de ellos no detectan ADN de *C. pneumoniae* en las arterias temporales. (Tabla 7).

Tabla 7. Estudios de la presencia de *C. pneumoniae* en arterias temporales.

Autor	ACG BAT +	ACG BAT -	PMR	Controles	Asociación
Wagner y cols. [86]	13 (9)*	1 (1)	4 (1)	9 (0)	Sí
Rimenti y cols. [213]	1 (1)	-	-	-	Sí
Haugeberg y cols. [87]	20 (0)	-	-	-	No
Dumoulin y cols. [206]	4 (0)	12 (0)	7 (0)	8 (0)	No
Helweg-Larsen y cols. [89]	13 (0)	2 (0)	10 (0)	5 (0)	No
Regan y cols. [90]	90 (1)	-	-	90 (0)	No

ACG BAT + = Arteritis de células gigantes con biopsia positiva.

ACG BAT - = Arteritis de células gigantes con biopsia negativa.

Nº (Nº) = Número de arterias temporales estudiadas (Número de positivas para *Chlamydia pneumoniae*).

* Esas 13 arterias provenían de 8 pacientes, ya que a 5 de ellos se les había practicado biopsia bilateral. Las 9 positivas provenían de 7 pacientes.

El parvovirus B19 ha sido el segundo microorganismo más estudiado en las arterias temporales. El interés inicial por su estudio en la ACG derivó de las observaciones de los dos estudios epidemiológicos longitudinales a los que nos hemos referido anteriormente. Por otra parte, Staud y cols. [214], observaron un

caso de ACG en un paciente que presentaba en suero títulos altos de IgM específica de parvovirus B19 así como ADN de este microorganismo, pero no determinaron la presencia de este virus en la arteria temporal del paciente.

Gabriel y cols. [83], encontraron una asociación estadísticamente significativa entre la evidencia histológica de ACG y la presencia de ADN de parvovirus B19 en las biopsias de arterias temporales. Utilizaron 50 biopsias de pacientes consecutivos; 13 de ellas eran histológicamente compatibles con ACG y 37 no mostraban inflamación. Realizaron las determinaciones por PCR y 30 de las biopsias fueron sometidas a un segundo análisis de PCR partiendo de nuevas muestras originales utilizando diferentes iniciadores (*primers*), en un centro distinto. Los resultados de las distintas PCR coincidieron en 29 de las 30 determinaciones realizadas.

Salvarani y cols. [215], encontraron resultados que contrastan con los del estudio previo. Determinaron el ADN de parvovirus B19 en 3 tipos de tejido arterial diferente: 1) en biopsias de arteria temporal de 3 grupos de pacientes: 1.a.) pacientes con ACG con biopsia positiva, 1.b.) pacientes con PMR aislada y 1.c.) pacientes sin evidencia de inflamación de la arteria temporal y con un diagnóstico distinto de PMR y ACG; 2) en piezas quirúrgicas de aorta o arteria carótida de pacientes con aterosclerosis; 3) en muestras de aorta fetal. El ADN de parvovirus B19 fue detectado mediante PCR en el tejido arterial de todos los grupos en proporción similar, del 64,5 al 76,7%, excepto en las arterias fetales en las que no se encontró en ningún caso. Los autores concluyen que la presencia de ADN de parvovirus en el tejido arterial podría estar relacionada con la edad avanzada, pero que no existe asociación entre su presencia en muestras arteriales y la evidencia histológica de ACG. En este estudio se utilizó tejido arterial fresco, a diferencia del realizado por Gabriel y cols. [83], en el que se utilizó material parafinado.

Helweg-Larsen y cols. [89], junto a *Chlamydia pneumoniae*, determinaron también la presencia de ADN de parvovirus B19 en el estudio cuyo diseño hemos detallamos anteriormente. Utilizaron tejido fresco criopreservado, pero a diferencia de los resultados de los dos estudios previos, no encontraron parvovirus en ninguna de las biopsias estudiadas tanto de pacientes con alteraciones histológicas propias de la ACG como sin ellas.

Algunos autores también han pensado que los virus herpes podrían estar implicados en la etiología de la ACG, aunque hay pocos estudios experimentales en esta línea. Los virus herpes pueden producir infección persistente y algunos de ellos, como el virus de Epstein-Barr [216] y los herpes simple [217], inducen la formación de células gigantes en humanos en diferentes contextos. Estas observaciones han animado a su estudio en relación con la ACG. Se estudió la existencia de anticuerpos contra el virus herpes zoster en una serie de 22 casos de ACG y no se encontraron diferencias con el grupo control [218]. Buchwald y cols. [219] no encontraron evidencia de infección por el virus de Epstein-Barr en 23 pacientes con PMR. Un estudio serológico en el que se determinaba la presencia en sangre en el momento del diagnóstico de la enfermedad, de virus inductores de células gigantes multinucleadas en humanos, lo cual incluía a los virus parainfluenza, el virus respiratorio sincitial, el virus de las paperas, los herpes virus tipo 1 y 2 y el virus de Epstein-Barr, sólo encontró una relación entre la reinfección con el virus parainfluenza tipo I y el debut de la ACG, especialmente en aquellos pacientes con biopsia positiva [203]. Nordborg y cols. [220], determinaron la presencia de ADN del virus varicela zoster en la biopsia de arteria temporal de 10 pacientes con ACG, pero no encontraron asociación.

Junto con *C. pneumoniae* y parvovirus B19, Helweg-Larsen y cols. [89], estudiaron la presencia de virus herpes simple tipo 1 y 2, virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, virus varicela-zoster y virus herpes humano tipo 6, 7 y 8 en las

30 biopsias de arteria temporal mencionadas previamente, 13 con alteraciones histológicas de ACG y el resto sin signos de inflamación. Como se ha comentado, utilizaron tejido criopreservado, pero ninguna de las muestras resultó positiva para ninguno de los virus herpes.

El papel etiopatogénico de los agentes infecciosos en la ACG es uno de los temas de más interés en la actualidad. Los estudios sobre el posible papel de los virus herpes son escasos, los resultados de los diferentes estudios sobre parvovirus B19 son contradictorios y el número de biopsias incluidas tiende a ser bajo, por lo que éste es un campo que se beneficiaría de una valoración más profunda.

3.8.3. Mecanismos inmunológicos específicos

Tanto la inmunidad humoral como la celular han sido implicadas en la patogenia de la ACG, aunque los estudios inmunohistológicos de los últimos años atribuyen el papel primordial al sistema inmune celular.

a) Inmunidad humoral

En algunas arterias temporales afectadas por ACG se han observado inmunoglobulinas IgG, IgM e IgA así como depósitos de complemento en lugares adyacentes a la lámina elástica interna [221]. Estos depósitos pueden representar anticuerpos contra antígenos de la pared arterial o inmunocomplejos depositados en dicha pared procedentes de la corriente sanguínea, pero la gran mayoría de los estudios no apoyan el papel etiopatogénico de los inmunocomplejos en la ACG [222].

En el suero de algunos pacientes con ACG, PMR o ambas, se han encontrado niveles elevados de inmunocomplejos circulantes durante las fases activas de la enfermedad [223]. Las concentraciones de

inmunocomplejos se correlacionaban de forma positiva con la velocidad de sedimentación globular y con los niveles de γ -globulina y se normalizaban tras el tratamiento o la resolución de la inflamación. Otros autores han encontrado un nivel bajo de inmunocomplejos circulantes en los pacientes con ACG que no difiere del de la población sana [224].

Por último, algunos estudios han sugerido que la prevalencia de anticuerpos anticardiolipina puede estar aumentada en pacientes con ACG. Liozon y cols. [225], apuntan que la presencia de estos anticuerpos puede ser un marcador de la actividad de la ACG y que su elevación en sangre del paciente predice recidivas. Chakravarty y cols. [226], observan que el hallazgo de un nivel elevado de anticuerpos anticardiolipina en suero en el momento del diagnóstico en los pacientes que presentan PMR aislada, supone un riesgo relativo de 4,82 de desarrollo posterior de arteritis temporal. Asimismo, también encuentran que un nivel elevado de estos anticuerpos en los pacientes en el momento de presentación de la arteritis temporal, representa una probabilidad más elevada de desarrollar complicaciones vasculares graves, lo que les lleva a concluir que pronostica un curso más grave. Duhaut y cols. [227], encuentran que la prevalencia de estos anticuerpos está elevada en los pacientes con ACG con biopsia positiva, respecto a aquellos con biopsia negativa, con PMR aislada o al grupo control. En el análisis crudo dichos anticuerpos se relacionan con complicaciones trombóticas, pero apuntan como poco probable que constituyan un factor asociado de forma independiente con dichas complicaciones. Concluyen que probablemente funcionan como anticuerpos reactivos a las lesiones endoteliales producidas en las arterias afectadas.

b) Inmunidad celular

En un intento de aclarar la etiopatogenia de la ACG, se han realizado múltiples estudios histológicos e inmunohistológicos de arterias temporales

afectadas por esta vasculitis. En un principio, como se explicó anteriormente con detalle, la apariencia histológica y la distribución de las lesiones hizo centrar la atención en la lámina elástica y se postuló que su degeneración, bien por la edad o por otros factores, la convertía en autoantígeno contra el que se desarrollaba la reacción inmunitaria finalmente responsable del daño vascular característico de esta vasculitis [182, 185, 186]. Sin embargo, en los últimos años, los estudios inmunohistológicos, señalan que la adventicia juega un papel más importante que la lámina elástica interna en la ACG [162].

Se ha comprobado que el infiltrado inflamatorio está principalmente formado por tres tipos celulares: linfocitos T-helper o CD4, macrófagos activados y células gigantes [43, 228]. Los linfocitos B y las células *natural killer* (NK) están presentes de forma infrecuente y en escaso número [229].

Experimentalmente, la resolución de la inflamación vascular tras la eliminación de las células T tisulares en las arterias temporales de ratones quiméricos SCID indica que son las células reguladoras en último término en las lesiones. La eliminación mediante anticuerpos de las células T de la pared arterial no sólo hace desaparecer las citocinas producidas por las células T sino que también suprime aquellas producidas por los macrófagos, demostrando que los macrófagos presentes en las lesiones están regulados por los linfocitos T [230]. Mediante la expansión de clones de linfocitos CD4 obtenidos de las biopsias de arterias temporales, Weyand y cols. [46] demostraron que una minoría de linfocitos obtenidos de diferentes segmentos de la arteria comparten secuencias idénticas en la tercera región determinante complementaria (CDR3) de los receptores de los linfocitos T. Estas secuencias no se encuentran en los linfocitos de la sangre periférica y, además, se han aislado idénticos clonotipos de células T en la arteria temporal izquierda y derecha del mismo paciente. Esto implica que las células T sufren expansión clonal en la pared arterial,

hallazgo que es altamente sugestivo de una respuesta inmunológica contra un antígeno presente en la pared arterial [231].

Los linfocitos T tisulares sintetizan IL-2 e IFN- γ y, por lo tanto, son linfocitos T-helper tipo 1 (Th1). En los pacientes con PMR no se detecta transcripción *in situ* de IFN- γ , aunque sí de IL-2, lo que sugiere que el IFN- γ es un elemento clave en la amplificación del proceso patológico y en la patogenia de la arteritis temporal y apoya el concepto de que la PMR constituye una forma subclínica de ACG [101]. Wagner y cols. [232], comprobaron que tan sólo de un 2% a un 4% de los linfocitos T de la pared vascular tenían la capacidad de liberar IFN- γ , porcentaje que coincide con el de los linfocitos T que sufren expansión clonal tras su posible activación por un antígeno específico. Estos linfocitos T productores de IFN- γ muestran diversas características que los identifican como las células T que han sido recientemente estimuladas por un antígeno específico. Esta población seleccionada de células T prácticamente sólo se encontró en la adventicia de las arterias temporales afectadas y acumulándose en las áreas que rodean los *vasa vasorum*, microcapilares que proporcionan nutrientes y oxígeno a las capas más externas de la pared vascular que no pueden nutrirse por difusión simple a través del macroendotelio. Esto hace suponer que los linfocitos T alcanzan la pared vascular migrando a través de la capa endotelial de estos *vasa vasorum* y no a través del macroendotelio y que la adventicia es el lugar donde se produce el reconocimiento del antígeno [232].

Las células T se activan cuando reconocen un fragmento de un antígeno en la superficie de una célula presentadora de antígeno. Una vez activadas, las células T sintetizan IL-2 e IFN- γ , citocinas cuyas concentraciones tisulares se han asociado con diferencias en las manifestaciones clínicas [101]. Los pacientes con síntomas de isquemia craneal, como alteraciones visuales o claudicación mandibular, presentan de forma característica concentraciones

elevadas de RNA mensajero de IFN- γ a nivel tisular. Por el contrario, los pacientes que presentan fiebre, expresan de forma característica concentraciones bajas de IFN- γ en la pared vascular y en los pacientes con PMR concomitante, domina la IL-2. Por otra parte, las concentraciones de IFN- γ son predictivas de la presencia de células gigantes multinucleadas [233]. Los linfocitos CD4+ productores de IFN- γ , son asimismo los responsables de inducir la migración de los diferentes tipos funcionales de macrófagos CD68 hacia las distintas capas de la pared arterial.

Los macrófagos CD68 constituyen el segundo tipo celular en el infiltrado inflamatorio de la ACG y han sido identificados en las tres capas de la pared arterial. Se han diferenciado varios tipos de macrófagos en las lesiones, definidos por sus diferentes productos de secreción. Existe una estrecha relación entre la localización y la función de un macrófago, lo que parece indicar que el microambiente de la arteria está directamente involucrado en la regulación de la función de las células inflamatorias. Los macrófagos localizados en la adventicia secretan IL-1 β , IL-6 y factor de crecimiento transformante- β 1 (TGF- β 1). TGF- β 1 es la citocina que se encuentra en mayor cantidad y se produce junto con, pero también en ausencia de IL-1 β y de IL-6. La IL-1 β y la IL-6 provienen de forma consistente de la misma población celular. Mientras que la IL-1 β se considera que tiene función coestimuladora y puede participar en la interacción entre células T y macrófagos, TGF- β 1 se considera una citocina inmunosupresora. La producción de esta citocina puede interpretarse como un mecanismo regulador en el intento de suprimir la respuesta inmune proinflamatoria en la adventicia de los vasos afectados. Alternativamente, TGF- β 1 también puede funcionar mediante su potencial quimiotático y facilitar el reclutamiento de las células inflamatorias en la pared vascular a través de los *vasa vasorum* [234]. Todo esto apoya la hipótesis de

que la adventicia es el lugar donde se produce el reconocimiento del antígeno y la liberación de citocinas proinflamatorias [163].

Las células presentadoras de antígeno todavía no han sido identificadas. Algunos autores apuntan que las células dendríticas podrían desempeñar esta función [43, 86], pero según otros, los macrófagos productores de IL-1 β e IL-6 son los principales candidatos [235]. Según diversas observaciones, el reconocimiento del antígeno en la pared vascular es precedido por una fase de estimulación inmune en la periferia que genera monocitos altamente activados. Estos monocitos sirven como reservorio del material antigénico y mediante su interacción con los *vasa vasorum* activados y su infiltración en la pared vascular, los monocitos activados diseminan este material antigénico en los lugares donde es encontrado por las células T específicas de antígeno. Si una cantidad insuficiente de antígeno alcanza la pared arterial, el proceso patológico se limita principalmente a la periferia con una estimulación mínima de los vasos. Estos casos se manifiestan clínicamente como PMR. Los monocitos circulantes activados sintetizan IL-6, citocina que es un potente inductor de los reactantes de fase aguda, lo que podría explicar su elevación en la ACG. Las concentraciones plasmáticas de IL-6 se correlacionan con el dolor muscular y la rigidez en los pacientes con PMR y además son muy sensibles al tratamiento con glucocorticoides. La producción de IL-6 por los monocitos/macrófagos circulantes enfatiza la naturaleza sistémica de esta patología. Este componente del síndrome está desarrollado por igual en la PMR y en la ACG, lo que apoya el concepto de que es independiente de la vasculitis florida y probablemente precede a las lesiones vasculares [236]. (Figura 6).

El hallazgo de concentraciones elevadas de la molécula de adhesión leucocitaria soluble ELAM-1 en el suero de pacientes con ACG [237], así como la identificación de otras moléculas de adhesión en los miofibroblastos intimaes, en las células inflamatorias de las biopsias arteriales [66] y en los

microvasos neoformados en la pared arterial [238], sugiere el papel de dichas moléculas en el paso de los leucocitos a las lesiones vasculares así como en la mediación de las interacciones intercelulares.

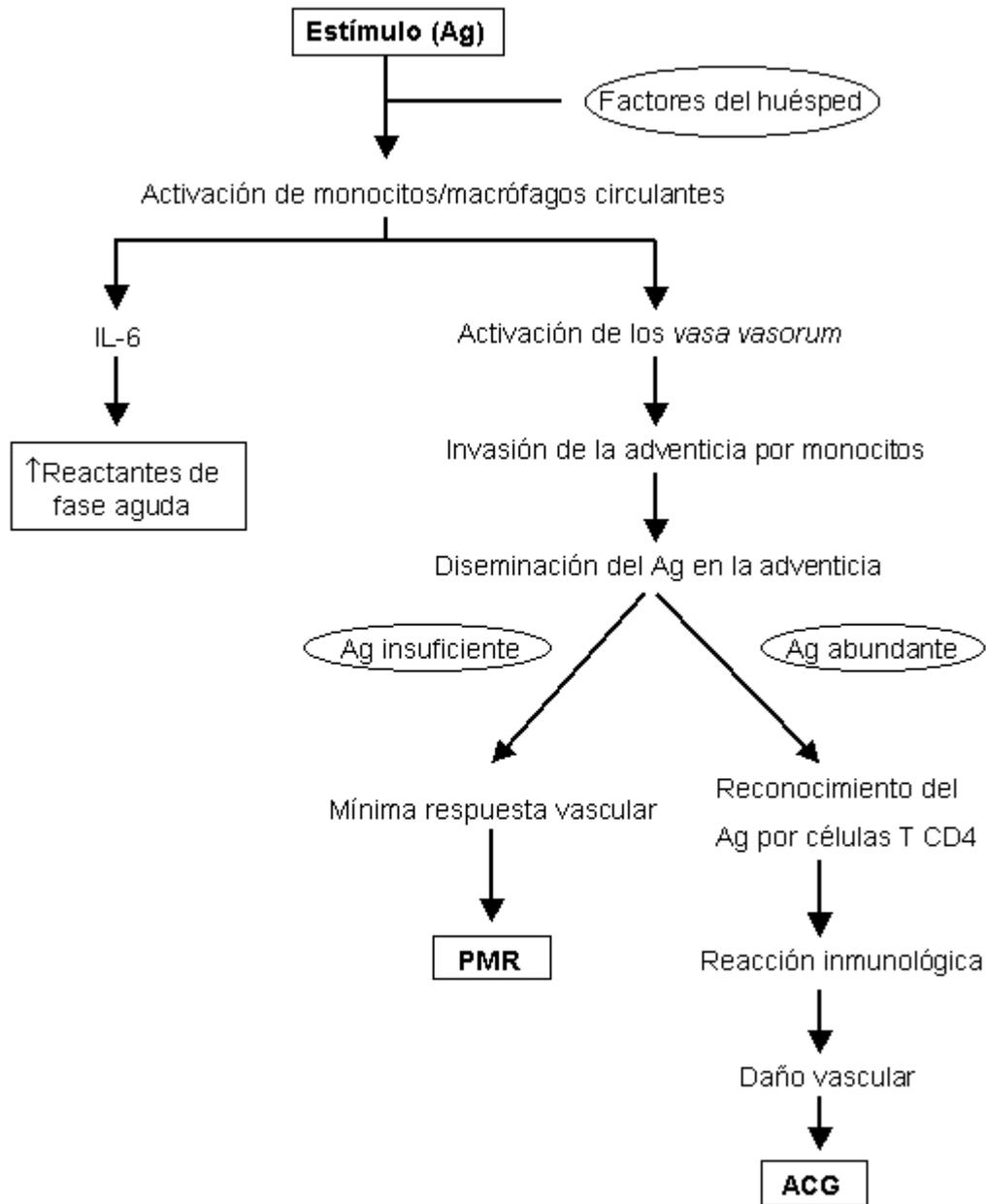


Figura 6. Diagrama esquemático de las fases etiopatogénicas de la ACG.

Algunos macrófagos CD68 localizados en la capa media sintetizan metaloproteinasas de matriz (MMP) [235]. Las MMP son enzimas algunas de las cuales poseen capacidad elastinolítica. La elastina es el principal componente de las fibras elásticas por lo que determinadas MMP son capaces de destruirlas [239]. Los macrófagos que expresan MMP muestran una clara tendencia a localizarse en la proximidad de ambas láminas elásticas y probablemente están involucrados en la destrucción del tejido elástico [235]. Los macrófagos C68 próximos a la lámina elástica interna con frecuencia producen MMP junto con estos productos. Kaiser y cols. [50], identificaron otra clase funcional de macrófagos que producen factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)-A y PDGF-B y cuyo acúmulo a nivel de la unión de la media con la íntima, se asocia con la existencia de hiperplasia intimal. Otros macrófagos situados en el límite de la media con la íntima producen factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), con capacidad angiogénica, que favorece la formación de nuevos *vasa vasorum* en todo el espesor de la pared vascular, con claro predominio en la túnica íntima, con lo que dejan de estar restringidos a la adventicia como sucede en las arterias sin inflamación [52].

Los macrófagos CD68 situados en la túnica íntima producen sintetasa inducible del óxido nítrico (NOS), con capacidad para sintetizar un gas tóxico, el óxido nítrico, con un papel incierto. Por una parte, se piensa que influye en la regulación del tono vascular, pero también ha sido encontrado en áreas de destrucción tisular e inflamación y se ha especulado que podría estar involucrado en la destrucción tisular debido a su acción como radical libre. Por tanto, la función última de la NOS no se conoce con exactitud. Su inducción puede representar tanto un mecanismo defensivo al intentar mantener la luz vascular abierta, como, por el contrario, resultar nocivo al facilitar el proceso inflamatorio [235].

Las células gigantes multinucleadas, las cuales derivan de los macrófagos, constituyen el tercer tipo celular en el infiltrado y se localizan preferentemente cerca de la lámina elástica interna. Se ha comprobado que además de su papel clásico en la digestión y fagocitosis de detritus tisulares, también poseen funciones secretoras [50], produciendo tanto MMP [240], con capacidad elastinolítica, como PDGF, citocina relacionada con el grado de hiperplasia intimal [50] y VEGF, un factor angiogénico [52]. Esto implica que las células gigantes multinucleadas regulan múltiples pasos en el programa de respuesta al daño de la pared vascular, lo que incluye la liberación de MMP que degradan el tejido elástico, de factores de crecimiento inductores de proliferación tisular así como de factores angiogénicos.

En definitiva, el infiltrado vascular en la ACG presenta una distribución topográfica definida, lo que parece indicar que la microanatomía de un vaso determinado puede influir directamente en las características del infiltrado inflamatorio. Esto podría explicar el tropismo tisular de los diferentes síndromes vasculíticos [162]. (Figura 7).

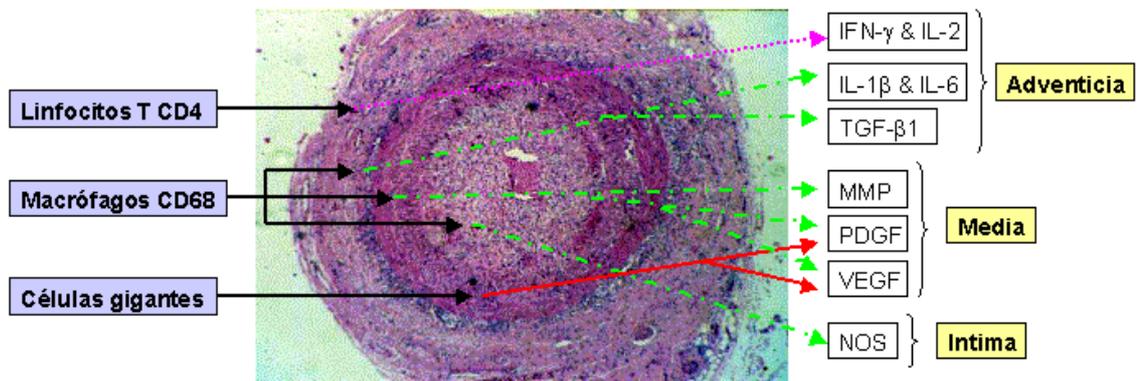


Figura 7. Esquema de la producción de citocinas en la pared vascular.

3.8.4. Consecuencias para la pared vascular

De la acción de todas estas células inflamatorias, a través de sus citocinas, junto con el tipo específico de respuesta vascular al daño en cada caso, ya que cabe destacar que la pared arterial no permanece pasiva en la arteritis, resulta la alteración anatomopatológica típica observada en la arteria temporal de los pacientes con ACG [241].

3.8.4.1. Mecanismos de destrucción de la pared vascular

Uno de los efectos de la reacción inmunológica descrita es la destrucción de ciertos elementos de la pared vascular. Las células de músculo liso

desaparecen y las láminas elásticas se fragmentan. La desintegración de las láminas elásticas requiere la acción de enzimas elastinolíticas, papel que se piensa es llevado a cabo por las MMP expresadas abundantemente en la pared arterial inflamada [235, 242, 243]. Aunque no existen claras evidencias, se ha sugerido que la apoptosis y la necrosis podrían contribuir a la pérdida de células de músculo liso [163, 241].

a) Acción de las metaloproteinasas

Las metaloproteinasas de matriz (MMP) son proteínas calcio-dependientes que contienen zinc y que son activas a pH neutro [244]. Se conocen más de 20 MMP que se han dividido en 4 categorías: estromelinas, enzimas unidas a la membrana, colagenasas y gelatinasas. Las estromelinas (MMP-3, MMP-10 y MMP-11) degradan numerosos componentes de la matriz, incluyendo la gelatina, el agregano (el principal proteoglicano del cartílago) y la fibronectina. Las metaloproteinasas unidas a la membrana (MT-MMP) están ancladas a la superficie celular, donde tienen funciones especializadas. Las colagenasas secretadas (MMP-1 ó colagenasa intersticial, MMP-8 ó colagenasa de los neutrofilos y MMP-13) y la MT1-MMP son las únicas enzimas capaces de producir la ruptura de la triple hélice intacta del colágeno tipo I, II y III. Estos colágenos son las proteínas más abundantes en el cuerpo humano, por lo que el papel de estas colagenasas en el mantenimiento de la homeostasis de la matriz extracelular es muy importante. Estas MMP actúan en un lugar específico de la molécula de colágeno, separando la tripe hélice y permitiendo el acceso de las gelatinasas y de otras proteínas. De esto se deduce que la expresión de colagenasa es el punto limitante para la degradación del colágeno fibrilar [245]. Por último, las gelatinasas o colagenasas tipo IV tienen la capacidad de degradar la laminina, la fibronectina, el colágeno desnaturalizado (gelatina), el colágeno tipo IV, V, VII y X [246-248] y la elastina [239]. Al menos existen dos tipos diferentes de gelatinasas o

colagenasas tipo IV: la MMP-2 ó gelatinasa A que tiene un peso molecular de 72-k δ y la MMP-9 ó gelatinasa B que tiene un peso molecular de 92-k δ .

Las MMP son sintetizadas en forma inactiva o zimógeno con un propéptido en el extremo aminoterminal que debe ser cortado para que la enzima se active. Aunque algunas de estas enzimas son activadas intracelularmente, la activación de la gran mayoría de ellas tiene lugar extracelularmente mediante la acción de numerosas proteasas y de otras MMP. La expresión de la mayoría de estas enzimas está regulada a nivel de su transcripción por factores de crecimiento, hormonas, citocinas y transformación celular. Las actividades proteolíticas de las MMP están controladas de forma precisa mediante la activación desde sus precursores y la inhibición mediante inhibidores endógenos, como las α -macroglobulinas y los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMP) [244, 249]. Las gelatinasas se secretan en asociación con los inhibidores específicos de las MMP o TIMP (MMP-2/TIMP-2 y MMP-9/TIMP-1) que se unen al dominio carboxi-terminal de las progelatinasas [249].

Las MMP constituyen una familia de enzimas que colectivamente degradan todos los componentes de la matriz extracelular [245]. La membrana basal es una estructura de la matriz extracelular sintetizada por células epiteliales y endoteliales y que está compuesta esencialmente por colágeno tipo IV, laminina y perlecán. Otros componentes importantes son el nidógeno/entactina, el colágeno tipo V y la fibronectina entre otras glicoproteínas y proteoglicanos [250]. Su organización estructural en múltiples capas la convierte en una barrera altamente resistente. Las MMP están implicadas en múltiples procesos que requieren la interrupción de la membrana basal y la degradación de otros componentes de la matriz extracelular. De este modo, juegan un papel crucial en los procesos fisiológicos de remodelamiento como el desarrollo embrionario, la involución uterina en el postparto, el

remodelamiento óseo y la curación de las heridas, donde las concentraciones de estas enzimas típicamente son bajas [251]. Por otro lado, en algunas patologías entre las que se incluye la invasión tumoral [252-254], las artropatías [245], como la artritis reumatoide [255] y la artrosis [256, 257], la aterosclerosis [258-260] y los aneurismas de aorta [261], se produce una expresión aberrante de diferentes MMP.

El infiltrado inflamatorio de las arterias temporales con ACG es especialmente prominente a lo largo de la lámina elástica interna [112, 262]. Las células gigantes multinucleadas se localizan muy cerca de dicha lámina elástica y en algunos casos se ha observado que contienen en su citoplasma fragmentos de fibras elásticas presumiblemente fagocitadas [17, 113]. Estas observaciones junto con el hecho de que en las fases avanzadas de la enfermedad resulta difícil reconocer la lámina elástica en la pared arterial, conducen a pensar que la fragmentación del tejido elástico es crucial para el desarrollo de las lesiones histopatológicas que se observan en la ACG [185, 188].

La elastina es el principal componente de las fibras elásticas [239, 263]. Es sintetizada por las células de músculo liso [239] y su papel es crítico para la integridad de muchos tejidos, entre los que se incluyen los vasos sanguíneos. Existen sólo unas pocas enzimas capaces de degradar la elastina, entre las que se encuentran las colagenasas tipo IV o gelatinasas, un subtipo de MMP, de las que se han identificado dos clases: la MMP-2 y la MMP-9 [239]. El papel de estas enzimas ha sido estudiado en distintas patologías vasculares, como en la aterosclerosis [259, 260], los aneurismas de aorta [261, 264] y en la ACG [235, 242, 243, 265].

Tanto la MMP-2 [235], como la MMP-9 [242, 243] han sido identificadas en arterias temporales con ACG en macrófagos situados cerca de áreas donde la lámina elástica interna está degenerada. En el suero de pacientes con ACG

que no habían recibido tratamiento, se han encontrado concentraciones elevadas de MMP-9 [242]. Aunque estas MMP parecen tener un importante papel en la degradación de la lámina elástica interna, hallazgo histopatológico muy característico de la ACG, los resultados de los diferentes estudios no concuerdan respecto al papel específico de cada una de ellas.

b) Peroxidación lipídica de las membranas celulares

En las arterias con ACG, se ha descrito que la peroxidación lipídica de las membranas celulares puede actuar como un mecanismo de daño tisular. Los productos de la peroxidación lipídica se generan por intermediarios reactivos del oxígeno dirigidos contra los componentes lipídicos de la membrana celular [53, 240]. Mientras que los metabolitos tóxicos del oxígeno son difíciles de detectar en los tejidos debido a su vida media extremadamente corta, los aldehídos formados por su interacción con grupos lipídicos se identifican fácilmente mediante anticuerpos específicos. En las arterias temporales, las células diana preferentes de la peroxidación lipídica son las células de músculo liso de la media, pero este daño oxidativo también afecta a la membrana de los macrófagos CD68 de dicha túnica media. En la íntima y en la adventicia, en cambio, este mecanismo lesivo de las membranas celulares inducido por los metabolitos reactivos del oxígeno no se produce. Parece ser que la activación mitocondrial característica de un grupo de macrófagos localizado en la media y cerca de la lámina elástica interna está directamente relacionada con la peroxidación lipídica de las membranas celulares. El aumento de las reacciones enzimáticas de la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias se asocia con la producción de metabolitos reactivos del oxígeno, que pueden inducir la peroxidación lipídica [240]. En estudios experimentales se ha demostrado que algunas de las células del infiltrado inflamatorio pueden autoprotgerse del daño oxidativo mediante la regulación de la aldolasa reductasa, enzima que metaboliza los grupos

aldehído tóxicos, funcionando como un detoxificador del daño oxidativo [53]. Existen evidencias de que el daño oxidativo en la ACG también incluye la nitración, cuya existencia se ha demostrado en áreas de formación de granulomas.[163].

3.8.4.2. Mecanismos de remodelamiento de la pared vascular

Cabe destacar que la pared arterial no permanece pasiva en la arteritis, sino que tiene varias opciones para responder a la reacción inmunológica que tiene lugar en ella. En principio, la pared vascular intenta protegerse del ataque produciendo un exceso de proteínas protectoras, como la proteína del choque de calor, así como mediante procesos regenerativos, que incluyen la proliferación tisular y la curación. Sin embargo, la repuesta de la pared arterial puede ser contraproducente, maladaptativa, ampliando el daño y produciendo alteraciones histopatológicas, lo que resultaría en daño vascular [241]. El paradigma actual mantiene que la hiperplasia intimal representa una respuesta de la pared arterial al daño, esto es, un mecanismo de reparación más que una vía de destrucción tisular [266, 267]. Se piensa que, mediante las señales adecuadas, las células de músculo liso de la media pasan de tener una función contráctil a tenerla secretora, se hacen móviles y migran hasta la capa subendotelial donde comienzan a proliferar. Se cree que el papel de las metaloproteinasas es muy importante en esta fase ya que son necesarias para la ruptura de la membrana basal que permite la migración tisular [241]. Continúa siendo materia de debate si la célula con apariencia de fibroblasto que produce la hiperplasia intimal al proliferar, es realmente la célula de músculo liso [268]. Algunos autores han apuntado que el lugar de origen de los miofibroblastos que migran y dan lugar a la neoíntima que obstruye la luz es la adventicia [269]. La hiperplasia intimal sólo puede producirse en un microambiente que proporcione factores de crecimiento, atribuyéndose un papel clave al PDGF [50].

Por último, otro rasgo histopatológico característico de las arterias afectadas por ACG consiste en la neovascularización. Como se ha apuntado anteriormente, en la túnica media y en la íntima de las arterias sanas no existen los capilares conocidos como *vasa vasorum*, es decir, la pared arterial es prácticamente un tejido avascular. En las arterias temporales inflamadas, se forman nuevos *vasa vasorum* en la media y, especialmente, en la íntima hiperplásica. La formación de nuevos vasos sanguíneos es un proceso complejo regulado por varios mediadores, tanto locales como séricos. El VEGF tisular ha demostrado poseer capacidad angiogénica y se ha visto que es producido tanto por macrófagos CD68 como por las células gigantes en las arterias con ACG. Su producción puede probablemente estar complementada por mediadores en la circulación como la haptoglobina [270].

Por otra parte, las células de músculo liso de la pared vascular también han demostrado presentar funciones secretoras en menor grado y parecen contribuir discretamente a la producción de PDGF [50], MMP-9 [242] y NOS [235].

Las alteraciones anatomopatológicas observadas en las biopsias de arterias temporales con ACG son consecuencia de todos los mecanismos anteriores. Así, en la pared de los vasos afectados se observa un infiltrado inflamatorio de células mononucleares compuesto por linfocitos CD4, macrófagos y células gigantes, o bien una reacción granulomatosa. Es característica la fragmentación de la lámina elástica interna y la hiperplasia intimal que en ocasiones puede ocluir la luz vascular. Finalmente, los *vasa vasorum*, como consecuencia de la neoangiogénesis, se observan en todo el espesor de la pared arterial (Figura 8).

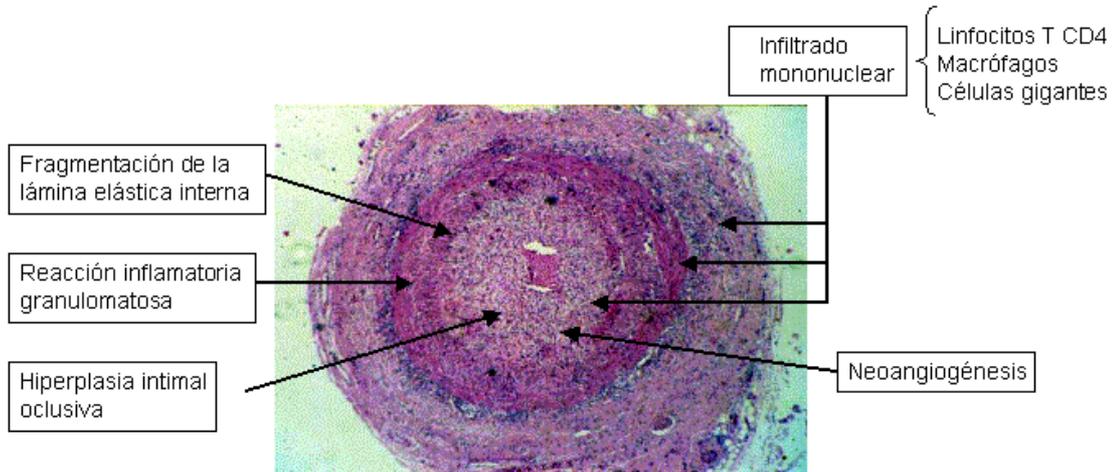


Figura 8. Esquema de las alteraciones anatómo-patológicas en la ACG.

Justificación

La incidencia de la arteritis de células gigantes aumenta con la edad y parece estar aumentando progresivamente a lo largo del tiempo, según se ha evidenciado en algunos estudios epidemiológicos. Hoy en día se considera una importante causa de morbilidad en pacientes de edad avanzada y se presume que adquirirá más relevancia con el progresivo envejecimiento de la población. Por otra parte, su etiología continúa siendo desconocida y los mecanismos patogénicos, aunque son objeto de numerosos estudios por parte de los diferentes investigadores, no están totalmente aclarados. El tratamiento con glucocorticoides controla rápida y eficazmente los síntomas en la gran mayoría de los pacientes, pero aproximadamente el 25% de éstos experimenta alguno de sus efectos secundarios, lo que contribuye al empeoramiento de la calidad de vida de estas personas de edad avanzada que además, frecuentemente presentan comorbilidad previa.

Dado que diversas observaciones apoyan la hipótesis de que uno o varios agentes infecciosos podrían desencadenar el proceso patológico resultante en la arteritis de células gigantes, éstos han sido objeto de varios estudios en los últimos años. *Chlamydia pneumoniae* ha sido el agente más estudiado y parece haber sido descartado por la mayoría de los autores. Algunas de las evidencias observadas apuntan más en la dirección de un posible origen vírico. En este sentido, el parvovirus B19, con ciclos epidémicos similares a las variaciones de la incidencia de la arteritis de células gigantes en algunas regiones, y los virus herpes, capaces por una parte de producir infección latente en los seres humanos que posteriormente puede reactivarse y, en algunos casos, de originar células gigantes multinucleadas, frecuentes en las lesiones de arteritis de células gigantes, han focalizado la atención de algunos investigadores. En el caso de parvovirus B19, los tres estudios realizados hasta el momento sobre su posible papel etiológico en la arteritis de células gigantes no han incluido un número muy elevado de biopsias positivas y, además, sus resultados son discordantes. La presencia de los virus herpes a

nivel de las arterias temporales sólo ha sido objeto de un estudio reciente que incluía un número limitado de biopsias con alteraciones histopatológicas de arteritis de células gigantes.

Puesto que entre los expertos prevalece la idea de que lo más probable es que el proceso vasculítico de la arteritis de células gigantes sea una vía común que puede ser desencadenada por diferentes agentes etiológicos, puede especularse que el hecho de que no se encuentre relación con un factor, infeccioso o no, en una determinada zona geográfica, no descarta forzosamente el papel etiológico de ese factor en otra población o zona geográfica. En caso de que se pudiera demostrar que un determinado agente infeccioso origina esta vasculitis y según el agente del que se tratara, esto podría tener cierta implicación a la hora de instaurar el tratamiento infeccioso específico, pudiendo quizás contribuir a disminuir los efectos secundarios derivados del tratamiento sintomático actual con glucocorticoides.

La fragmentación de la lámina elástica interna es uno de los principales mecanismos de destrucción de la pared vascular en la arteritis de células gigantes, así como de la formación de aneurismas aórticos, una de las complicaciones tardías más temidas de esta vasculitis. Tanto la metaloproteinasa-2 como la metaloproteinasa-9 se han encontrado en las células inflamatorias infiltrantes y en ciertos componentes celulares de la pared en las arterias afectadas por la arteritis de células gigantes y, por su capacidad elastinolítica, se ha apuntado su posible papel en la degeneración de la lámina elástica. Además, a estas enzimas también se les ha atribuido un papel primordial en el desarrollo de la hiperplasia intimal, considerándose que son necesarias para la movilización de las células de músculo liso, probablemente procedentes de la capa media, y su migración hasta la íntima donde proliferan originando dicha hiperplasia intimal, la cual en ocasiones puede comprometer la luz vascular y resultar en isquemia tisular, responsable de graves

manifestaciones clínicas como la amaurosis. Estas metaloproteinasas también se han encontrado en diferentes arterias con patología vascular degenerativa, tanto con aterosclerosis, en arterias coronarias, en las carótidas y en la aorta, como con aneurismas, por lo que se ha sugerido su posible participación en la ruptura de las placas ateroscleróticas y en la degradación de la lámina elástica en los casos de aneurisma. Por otra parte, en las arterias temporales de pacientes de edad avanzada, sin lesiones de vasculitis, también se observa cierto grado de degeneración de la lámina elástica interna y de hiperplasia intimal, sin que hasta el momento se hayan estudiado los mecanismos moleculares subyacentes a estos cambios.

El papel específico de cada una de estas metaloproteinasas en la arteritis temporal no está aclarado. Existen pocos estudios al respecto y los que se han llevado a cabo incluyen un número limitado de arterias y muestran resultados discordantes. Puesto que la degeneración de la lámina elástica interna es uno de los principales mecanismos de daño vascular en la arteritis de células gigantes, se puede aventurar que el conocimiento preciso de los mecanismos moleculares subyacentes que la producen podría ayudar a descubrir alguna diana terapéutica para prevenir la destrucción vascular, así como el desarrollo de aneurismas aórticos. Además, por las características comunes de la ACG con la aterosclerosis, enfermedad inflamatoria vascular principal responsable de la mortalidad y de una importante morbilidad en los países occidentales, dicho conocimiento podría contribuir a abrir nuevas líneas de investigación en esta patología.

Objetivos

Objetivos generales

1. Estudiar la asociación entre determinadas infecciones víricas y la arteritis de células gigantes.
2. Determinar si existen diferencias en la expresión de metaloproteinasas entre las biopsias positivas y las negativas para arteritis de células gigantes, así como su localización en la pared arterial.
3. Analizar si la presencia de las metaloproteinasas o los virus en estudio está relacionada con las características histopatológicas de las biopsias, así como con las variables clínico-epidemiológicas de los pacientes estudiados.
4. Conocer cuáles son los factores predictores del resultado de la biopsia de la arteria temporal en nuestros pacientes.

Objetivos específicos

1. Analizar si la presencia de ADN de parvovirus B19 a nivel de la arteria temporal se asocia con la existencia de hallazgos histológicos compatibles con arteritis de células gigantes.
2. Estudiar si la detección de ADN de diversos virus herpes a nivel de la arteria temporal, en concreto los virus herpes simple, virus de Epstein-Barr, virus varicela-zoster, citomegalovirus y herpes humano tipo 6 se asocia con las alteraciones histológicas características de la arteritis de células gigantes.
3. Estudiar si las arterias positivas para arteritis de células gigantes expresan metaloproteinasa-2 y/o metaloproteinasa-9 en mayor proporción que las negativas.

4. Determinar qué tipo de células expresan la metaloproteínasa-2 y/o la metaloproteínasa-9 y su localización a nivel de la pared arterial.
5. Analizar la relación entre la existencia de metaloproteínasa-2, metaloproteínasa-9 y la de los virus estudiados a nivel de la biopsia de la arteria temporal y las siguientes alteraciones histopatológicas:
 - a) afectación exclusiva de la adventicia
 - b) existencia de células gigantes
 - c) hiperplasia intimal
 - d) degeneración de la lámina elástica interna
 - e) disminución de la luz vascular
 - f) calcificaciones
6. Analizar la relación entre la existencia de metaloproteínasa-2, metaloproteínasa-9 y la de los virus estudiados a nivel de la biopsia de la arteria temporal y:
 - a) la edad, el género y los antecedentes patológicos de los pacientes
 - b) el tiempo de evolución de los síntomas y el tratamiento previo con corticoides
 - c) los signos y síntomas locales y sistémicos
7. Estudiar las características diferenciales de los pacientes según el resultado de la biopsia de la arteria temporal con el fin de contribuir a la mejora del conocimiento del procedimiento diagnóstico en nuestro centro.

Hipótesis

1. En las biopsias positivas para ACG se detecta con más frecuencia que en aquellas sin vasculitis alguno de los siguientes virus: parvovirus B19, virus herpes simple, virus de Epstein-Barr, virus varicela-zoster, citomegalovirus o virus herpes humano tipo 6.
2. La metaloproteínasa-2 se expresa en la misma proporción en las biopsias positivas que en las negativas para ACG, mientras que la metaloproteínasa-9 se detecta con mayor frecuencia en las biopsias positivas para ACG, en relación a las negativas.
3. La metaloproteínasa-2 se expresa en las células de músculo liso de la pared arterial tanto en las biopsias positivas para ACG como en las negativas. Ambas metaloproteínasas se detectan en el citoplasma de los macrófagos cercanos a la lámina elástica interna y en el de las células gigantes en las biopsias positivas para ACG.
4. La expresión de metaloproteínasa-2 a nivel de las células de la pared arterial tanto en las biopsias positivas como en las negativas para ACG, se relaciona con la existencia de degeneración de la lámina elástica interna así como de hiperplasia intimal, independientemente de la existencia de infiltrado inflamatorio y no tiene relación con el tiempo de evolución de los síntomas del paciente, pero sí con la edad avanzada de éste.
5. La expresión de metaloproteínasa-9 en las biopsias arteriales afectadas por ACG, se relaciona con la existencia de degeneración de la lámina elástica interna y de hiperplasia intimal en los lugares próximos a los macrófagos y células gigantes. Su expresión aumenta con el tiempo de evolución de los síntomas y es menor en los pacientes en los que se ha iniciado tratamiento con glucocorticoides antes de la realización de la biopsia.

6. La presencia de parvovirus B19 a nivel arterial se relaciona con una mayor frecuencia de fiebre y anemia entre las manifestaciones clínicas de los pacientes.
7. La presencia de alguno de los virus herpes estudiados se relaciona con la manifestación clínica inicial en forma de síndrome febril. La existencia de virus de Epstein-Barr en las biopsias positivas para ACG se relaciona con la presencia de células gigantes.
8. El resultado positivo de la biopsia de arteria temporal para ACG se asocia con la edad avanzada de los pacientes y con la existencia de síntomas y signos craneales. El engrosamiento de la arteria temporal y la disminución de pulso son importantes predictores del resultado positivo.

Material y métodos

1. Diseño del estudio

El diseño de este estudio es de tipo observacional y transversal.

1.1. Selección de la muestra

Se trata de una muestra amplia de pacientes consecutivos, enmarcada dentro de los muestreos de tipo no probabilístico. Se identificaron todos los pacientes a los que se realizó biopsia de arteria temporal en el Hospital Universitari Vall d'Hebron, por sospecha clínica de ACG, desde el 1 de Enero de 1997 hasta el 31 de Marzo de 2002, revisando los informes emitidos por el Servicio de Anatomía Patológica durante ese tiempo. Se halló una biopsia por paciente.

Las arterias se dividieron en dos grupos en función del resultado de la biopsia: con alteraciones histológicas compatibles con ACG y sin hallazgos histológicos compatibles con ACG. Se compararon los resultados de las diferentes determinaciones realizadas entre estos dos grupos.

1.2. Criterios de inclusión

El criterio inicial fue el de incluir toda biopsia de arteria temporal realizada en el Hospital Universitari Vall d'Hebron por sospecha de ACG durante el período de estudio.

1.3. Criterios de exclusión

El único criterio de exclusión de una biopsia fue que hubiera sido eliminada tras su revisión por el anatomopatólogo. En concreto se excluyeron las muestras consideradas de baja calidad, o aquellas en las que por no quedar

disponible una cantidad de material suficiente se hacía impracticable realizar las determinaciones que planteábamos.

1.4. Tamaño de la muestra y potencia del estudio

El tamaño de la muestra está sujeto al número de biopsias realizadas durante el marco temporal al que nos hemos referido anteriormente. Durante el período referido de cinco años, se encontraron 175 pacientes a quienes se realizó biopsia de arteria temporal por sospecha de ACG. Tras una primera valoración de la calidad y de la disponibilidad de las muestras se rechazaron 28 (16%), por lo que quedaron 147 útiles para el estudio.

Para calcular si el tamaño de la muestra era el adecuado se tuvieron en cuenta las premisas siguientes: tal como se observa de las series más grandes anteriormente publicadas [271, 272], la relación entre el número de biopsias positivas y el de biopsias negativas sería aproximadamente de 1:2, o lo que es lo mismo, habría un 33% de biopsias positivas respecto al total de biopsias solicitadas. Aplicado este porcentaje a nuestra serie de 147 biopsias, nos daría una cantidad de 49 positivas y 98 negativas. En base a los datos publicados sobre la prevalencia de parvovirus B19 en muestras de biopsia de arteria temporal, Gabriel y cols.[83] hallaron un 10,8% en las biopsias negativas y un 53,8% en las positivas. Dejando constante el porcentaje de positivos en las biopsias negativas (10,8%) y asumiendo un riesgo α de 0,05 se obtuvo que la muestra sería suficiente para observar diferencias significativas si el porcentaje de positivos en las biopsias positivas fuera al menos del 35%, con una potencia $(1-\beta)$ adecuada. Concretamente, con 50 biopsias positivas y 100 negativas obtendríamos una potencia del 90%, y con 39 positivas y 78 negativas la potencia sería del 80%.

2. Muestras arteriales

En su momento, las muestras habían sido fijadas en formaldehído al 10% e incluidas en bloques de parafina. A partir de estos bloques en los que estaban conservadas las biopsias, se realizaron diversos cortes de 4 μm de grosor de cada biopsia, para llevar a cabo las diferentes tinciones de histoquímica y de inmunohistoquímica y se obtuvieron dos cortes adicionales de 40-50 μm de grosor de cada biopsia para realizar las determinaciones de DNA vírico mediante PCR.

Cada uno de los cortes realizados para las determinaciones de PCR fue identificado exclusivamente con el número de biopsia, con la finalidad de que dichas determinaciones se realizaran de forma ciega a la positividad o negatividad de la biopsia para ACG así como a los datos obtenidos de la revisión de la historia clínica. Toda la información fue incluida en una hoja de recogida de datos.

Se consideró una biopsia de arteria temporal histológicamente compatible con ACG cuando cumplía los criterios anatomopatológicos propuestos por Lie y el Subcomité para la clasificación de vasculitis del *American College of Rheumatology* (ACR) [17], es decir, cuando existía un infiltrado inflamatorio de predominio linfomononuclear, aunque también podía contener algunos neutrófilos y eosinófilos, al menos en una capa de la pared vascular, o bien cuando existía una reacción granulomatosa con células gigantes. Para el diagnóstico no se requería la observación de células gigantes. El hallazgo de áreas limitadas de necrosis fibrinoide no excluía el diagnóstico. Era necesario descartar la afectación de la arteria temporal por otro tipo de vasculitis diferente a la ACG. Así, un predominio de eosinófilos en el infiltrado inflamatorio apuntaba al diagnóstico de síndrome de Churg-Strauss y una panarteritis con necrosis fibrinoide difusa orientaba al diagnóstico de una

vasculitis necrotizante del tipo de la poliarteritis nudosa. Una biopsia se consideró negativa para ACG cuando no existía infiltrado inflamatorio en la pared vascular, o el que existía no cumplía las características explicadas anteriormente.

3. Determinaciones de anatomía patológica

Todas las técnicas de anatomía patológica se realizaron en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitari Vall d'Hebron. Con la finalidad de realizar las tinciones de la forma más homogénea posible, en los casos de los que éstas se realizaban de forma automatizada, se llevaron a cabo en grupos de 50.

3.1. Material

- **Para el procesamiento de la muestra**

- Cápsulas de plástico HISTOSETTE I
- Formaldehído 3,7 - 4% tamponado a pH =7 PANREAC (formol 10%)
- Bloque dispensador de parafina TISSUE-TEK
- Microtomo electrónico Microm HM 340 E
- Portaobjetos
- Baño caliente
- Estufa MEMERT

- **Para la tinción de las muestras**

- Máquina de tinción TISSUE-TEK DRS
- Montador TISSUE-TEK
- DAKO EnVision System

- **Microscopio**

- Microscopio óptico LEITZ WETZLAR, DIALUX 20 EB, con oculares 12,5x y objetivos de 2,5x, 4x, 10x, 25x y 40x
- Microscopio óptico NIKON, ECLIPSE 400

- **Material fotográfico**

- Máquina fotográfica convencional LEITZ WETZLAR, acoplada al microscopio LEITZ WETZLAR
- Película KODAK, EKTACHROME 64T
- Cámara digital OLIMPUS DP 11, acoplada al microscopio NIKON
- Imágenes grabadas como formato JPG

3.2. Métodos

3.2.1. Procesamiento de las muestras

Inicialmente las arterias llegaron al laboratorio de Anatomía Patológica fijadas en formol y se realizaron 3 cortes transversales de 3 mm de cada muestra, que fueron introducidos de forma paralela en cápsulas de plástico. Posteriormente se incluyeron en parafina y se realizaron cortes de 4 μm con el microtomo electrónico, que fueron recogidos en portaobjetos desde el baño caliente. Estas preparaciones se estufaron antes de proceder a las tinciones de histoquímica e inmunohistoquímica correspondientes (Figura 9).

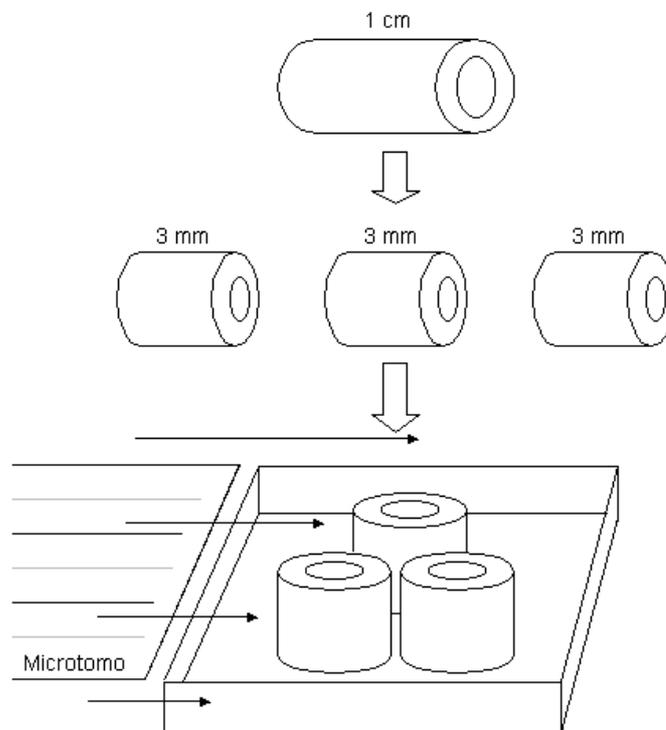


Figura 9. Esquema de la realización de los cortes histológicos.

7.1.1. Tinciones de histoquímica

3.2.2.1. Tinción básica de hematoxilina-eosina [273]

Consta de una fase inicial en la que se colorean los núcleos celulares con la hematoxilina y una fase posterior de contraste citoplasmático y de los componentes extracelulares con la eosina. Esta tinción se realizó de forma automatizada en el aparato TISSUE-TEK DRS. Los colorantes hematoxilina y eosina utilizados fueron fabricados comercialmente.

- **Procedimiento técnico**

- 1) Fijación

2) Soluciones:

1. Solución de hematoxilina de Harris*
2. Etanol ácido al 1%
3. Solución de azulamiento: Agua corriente
4. Solución alcohólica de eosina**

3) Modo de operar:

1. Desparafinar e hidratar.
2. Teñir con hematoxilina de Harris durante 2 minutos
3. Lavar en agua corriente
4. Diferenciar en alcohol ácido al 1% durante 30 segundos
5. Azular en la solución de azulamiento durante 5 minutos. Lavar abundantemente tras el azulado
6. Colorear con eosina durante 2 minutos
7. Lavar en agua corriente
8. Deshidratar, aclarar y montar

• * Preparación de la solución de hematoxilina de Harris [274]:

- Hematoxilina (cristalizada): 1 gramo
- Etanol absoluto: 10 ml

Disolver calentando suavemente:

- Alumbre potásico o amónico: 20 gramos
- Agua destilada: 200 ml

Disolver en caliente. Añadir la solución de hematoxilina y llevar a ebullición. Cuando empieza a hervir se añade:

- Óxido rojo de mercurio: 0,5 gramos

Dejar disolver el óxido removiendo lentamente hasta que la solución adquiera color púrpura. Sumergir inmediatamente en agua fría. Cuando la solución se haya enfriado, filtrar y añadir:

- Ácido acético glacial: 10 m

Tiempo medio de tinción entre 1 y 2 minutos.

- **** Preparación de la solución de eosina alcohólica [274]:**

a) Solución “stock”:

- Eosina Y: 1 gramo
- Agua destilada: 20 ml

Disolver calentando suavemente y dejar enfriar. Añadir:

- Etanol al 95%: 80 ml

b) Solución de trabajo:

- Solución “stock”: 25 ml
- Etanol al 80%: 75 ml

3.2.2.2. Método de la hematoxilina de Verhoeff-van Gieson para fibras elásticas [275]

Las fibras elásticas están compuestas por un núcleo central de naturaleza proteica (elastina) rodeado por un componente microfibrilar periférico, o elastomucina, de naturaleza química similar a la de los mucopolisacáridos. La presencia de esta capa hace que, en condiciones normales, las fibras elásticas sean acidófilas. No obstante, tras la oxidación su componente microfibrilar se torna intensamente basófilo por formación de

grupos ácidos sulfatados sobre su superficie, hecho que se aprovecha en numerosos procedimientos técnicos para conseguir una coloración selectiva. Esta técnica se fundamenta en realizar una coloración diferencial no muy selectiva de las fibras elásticas con una laca de hematoxilina férrica a través de fenómenos electrofísicos de atracción entre la laca catiónica y la elastomucina. Se realizó de forma manual y constaba de las siguientes fases.

- Procedimiento técnico:

- 1) Fijación

- 2) Soluciones:

1. Solución acuosa de cloruro férrico al 10%

2. Solución yodo-yodurada de Lugol:

- Yodo metálico: 2 gramos
- Yoduro potásico: 4 gramos
- Yoduro potásico: 100 ml

3. Solución de Verhoeff:

Se disuelven 1,5 g de hematoxilina en 30 ml de alcohol absoluto aplicando calor suave, se enfría y filtra. Se añaden por el siguiente orden y se mezclan en agitación continua:

- 12 ml de la solución de cloruro férrico al 10%
- 12 ml de la solución de Lugol

4. Solución diferenciadora acuosa de cloruro férrico al 2%

- 3) Modo de operar:

1. Desparafinar e hidratar

2. Teñir con la solución de Verhoeff hasta que los cortes aparezcan de coloración negra (15-45 minutos)
3. Diferenciar con la solución de cloruro férrico al 2% durante algunos minutos verificando mediante lavado en agua destilada y examen al microscopio que solamente están coloreadas de negro las fibras elásticas y los núcleos y que el resto del tejido queda de color gris. Si la diferenciación resulta excesiva, el corte vuelve a tratarse con la solución de Verhoeff.
4. Lavar en agua destilada.
5. Aclarar en etanol al 96% para eliminar la tinción debida al yodo.
6. Lavar en agua destilada durante 5 minutos.
7. Contrastar con la coloración de van Gieson durante 1 ó 2 minutos.
8. Diferenciar con alcohol etílico al 96%.
9. Deshidratar, aclarar y montar.

3.2.2.3. Método tricrómico de Masson [275]

Se utiliza para la demostración de las fibras colágenas, fundamentalmente se tiñe el colágeno de tipo I que forma las gruesas fibras de colágena existentes en los espacios extracelulares y estromas orgánicos. Estos elementos poseen afinidad por los colorantes ácidos debido a su riqueza en grupos fuertemente catiónicos dependientes de los aminoácidos que componen la cadena polipeptídica. Se utilizan diferentes colorantes: colorantes nucleares, habitualmente una laca de hematoxilina férrica; colorantes citoplasmáticos en solución finamente dispersa, la escarlata de Biebrich y colorantes del conjuntivo, derivados del anillo del trifenilmetano, que van en solución coloidal, en verde luz SF.

- Procedimiento técnico:
 - 1) Fijación: con la solución de Bouin

2) Soluciones:

1. Solución de Bouin [274]:

- Solución acuosa saturada de ácido pícrico (ácido pícrico al 1-2% en agua destilada): 750 ml.
- Formalina concentrada: 250 ml.
- Acido acético glacial: 50 ml
- pH final aproximado: 2,2

Tiempo de fijación : 5 horas.

Tras la fijación, lavar abundantemente en alcohol al 70% hasta la decoloración de la muestra para asegurar la total eliminación de ácido pícrico.

2. Solución de hematoxilina férrica de Weigert [274]:

a) Soluciones “stock”:

Solución I:

- Hematoxilina cristalizada: 1 gramo
- Etanol al 95%: 100 ml

Solución II:

- Cloruro férrico anhidro (FeCl_3): 1,5 gramos
- Agua destilada: 100 ml

b) Solución de trabajo:

- Mezclar a partes iguales las soluciones I y II. En este momento la solución se torna de color negroazulado que rápidamente vira a pardonegruzco.

Preparar en fresco y añadir:

- Ácido clorhídrico concentrado: 1,0 ml

El tiempo de tinción con la solución de trabajo es de 10 minutos.

3. Solución de escarlata de Biebrich, fucsina ácida:

- Escarlata de Biebrich al 1% en agua destilada: 90 ml
- Fucsina ácida en solución acuosa al 1%: 10 ml
- Ácido acético glacial: 1 ml

4. Solución acuosa de ácido fosfotúngstico al 5% o solución de ácido fosfomolibdico:

- Ácido fosfotúngstico: 5 gramos
- Ácido fosfomolibdico: 5 gramos
- Agua destilada: 200 ml

5. Solución de verde luz (*light green*) al 2%:

- Verde luz SF amarillento: 2 gramos
- Agua destilada: 99 ml
- Ácido acético glacial: 1 ml

6. Solución diferenciadora: solución acuosa de ácido acético glacial al 1%

3) Modo de operar:

1. Desparafinar e hidratar hasta el agua destilada de manera habitual.
2. En material fijado en soluciones de formaldehído o alcohólicas se recomienda hacer un mordentaje previo con líquido de Bouin durante 1 hora a 56-60°C o toda la noche a temperatura ambiente.

3. Enfriar y lavar en agua destilada hasta que desaparezca el color amarillo.
4. Teñir con hematoxilina férrica durante 10 minutos. Lavar en agua corriente durante 10 minutos.
5. Lavar en agua destilada.
6. Teñir con la solución de escarlata-fucsina ácida durante 2-5 minutos.
7. Lavar en agua destilada.
8. Tratar con la solución de ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico durante 10-15 minutos si se va a colorar con la solución de azul de anilina o en la solución acuosa de ácido fosfotúngstico al 5% durante 15 minutos si se desea teñir con verde luz.
9. Teñir con solución de azul de anilina 15 minutos o con solución de verde luz 5 minutos.
10. Lavar en agua destilada.
11. Diferenciar en la solución de ácido acético al 1% durante 3-5 minutos.
12. Deshidratar, aclarar y montar.

3.2.3. Tinciones de inmunohistoquímica

Las técnicas de inmunohistoquímica se realizaron de forma automatizada, mediante el sistema DAKO EnVision™ Systems, que utiliza un método indirecto de visualización en dos pasos (Figura 10).

- **Procedimiento:**

- 1) En primer lugar, un anticuerpo primario no conjugado se une al antígeno.
- 2) Posteriormente, se aplica un anticuerpo secundario marcado con una enzima (la peroxidasa) dirigido contra el anticuerpo primario, que ahora

es el antígeno, y a continuación se añade la solución de sustrato cromógeno. Todo está incluido en kits de EnVision™.

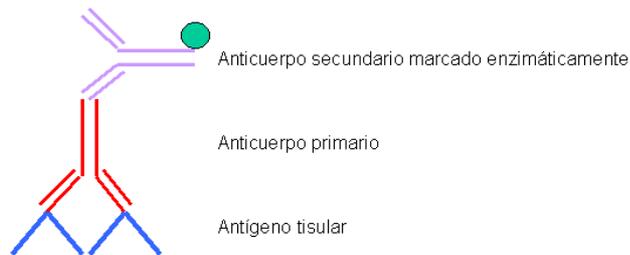


Figura 10. Método indirecto en dos pasos: El anticuerpo secundario marcado enzimáticamente reacciona con el anticuerpo primario unido al tejido.

- **Anticuerpos primarios:**

1. **Para detección de macrófagos:**

- Anticuerpo monoclonal de ratón anti-macrófago humano CD68.
- Clon KP1.
- Dilución: 1:200.
- Casa comercial: DAKO.
- Número de código: M 0814.

2. **Para la detección de metaloproteinasa-2 (MMP-2):**

- Anticuerpo monoclonal de ratón: MMP-2 (72kDa Collagenase IV) Ab-1.
- Clon CA-4001.
- Dilución: 15:1000.
- Casa comercial: Vitro-Neomarkers.

- Referencia: NEM-MS-567-P.
- 3. Para la detección de metaloproteinasa-9 (MMP-9):
 - Anticuerpo policlonal de conejo: MMP-9 (92kDa Collagenase IV) Ab-9.
 - Inmunógeno: un péptido sintético de la región media de la MMP-9 humana.
 - Dilución: 2,5:1000.
 - Casa comercial: Vitro-Neomarkers.
 - Referencia: NEM-RB-1539-P.
- **Kits de EnVision™**
 - K 4007 HRP, Mouse (DAB+) , para los casos en que se utilizan anticuerpos primarios monoclonales, es decir, para la detección de macrófagos CD68 y MMP-2.
 - K 4011 HRP, Rabbit (DAB+), para los casos en que se utilizan anticuerpos primarios policlonales, es decir, para la detección de MMP-9.

Estos kits se basan en la técnica de la peroxidasa y, además del anticuerpo secundario, contienen un reactivo que bloquea la peroxidasa endógena y un sistema de sustrato cromogénico de diaminobenzidina (DAB+) de alta sensibilidad.

- **Tiempos de incubación**
 - Anticuerpos primarios:
 - Anti-CD68: 30 minutos.
 - Anti-MMP-2: 60 minutos.
 - Anti-MMP-9: 45 minutos.

En los casos de anti-MMP-2 y anti-MMP-9 se hicieron pruebas con diferentes tiempos de incubación (de 30 a 60 minutos), obteniendo como óptimos los detallados previamente. En el caso de anti-CD68 el tiempo estaba preestablecido por tratarse de una técnica de rutina en este laboratorio.

- Anticuerpos secundarios:

- 30 minutos.

• Desenmascaramiento del antígeno

El formol, el fijador más universal, parece ser el principal causante de la pérdida de inmunorreactividad del tejido por el entrecruzamiento proteico que produce, lo que contribuye de forma importante al problema de la falta de reproducibilidad y difícil estandarización de las técnicas de inmunohistoquímica. Con el tiempo se han desarrollado diferentes técnicas para la recuperación o el desenmascaramiento de los antígenos afectados por la fijación con formol. En la práctica las más utilizadas son aquellas basadas en el calor (microondas), proteólisis (pepsina, tripsina) y en el efecto combinado de la presión y el calor (olla a presión) [276].

Para nuestras determinaciones utilizamos las siguientes técnicas:

- CD68: Tratamiento previo con calor en olla a presión a 2 atmóferas durante 3 minutos y posteriormente se deja reposar 5 minutos.
- MMP-2: No tratamiento previo, a temperatura ambiente.
- MMP-9: No tratamiento previo, a temperatura ambiente.

En el caso de CD68, se realizó el tratamiento de rutina que había sido establecido previamente. Tanto con la MMP-2 como con la MMP-9 se realizaron diversas pruebas con tratamiento previo de las muestras con calor y

sin éste, es decir, a temperatura ambiente y los mejores resultados en ambos casos se obtuvieron sin tratarlas con calor.

- **Controles**

En cada determinación colorimétrica se incluyeron controles positivos y negativos. Como controles positivos se utilizaron los recomendados por el fabricante, que fueron placenta para el caso de las metaloproteinasas y muestras de cualquier proceso inflamatorio conocido en el que intervienen macrófagos para el caso de CD68. Concretamente utilizamos muestras de piel con alteraciones histológicas de PAN cutánea. Como controles negativos se utilizaron preparaciones de las mismas muestras reemplazando el anticuerpo primario por suero fisiológico durante el procesamiento.

4. **Determinación de ADN vírico mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Todo el proceso dirigido a la determinación de DNA vírico mediante PCR se realizó en el Servicio de Microbiología Diagnóstica en el Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III en Majadahonda, Madrid.

4.1. **Material**

- Cámaras de flujo laminar (Telstar Bio IIA, Terrasa, España)
- Batas
- Guantes desechables
- Tubos de Eppendorf
- Tubos de PCR de 0,2 ml (AB gene, Surrey, Reino Unido)
- Pipetas de 1, 10, 20, 100, 500 y 1000 µl (Gilson, Villiers le Bel, Francia)
- Termociclador PTC 200 (MJ Research, Watertown, EEUU)

- Cubetas para electroforesis (Bio-Rad, Hercules, EEUU)
- Gradillas de transporte
- Gradillas de 96 pocillos
- Gradillas de almacenamiento
- Cajas de almacenamiento
- Centrífuga fría a 4°C (Biofuge fresco, Heraeus, Osterode, Alemania)
- Centrífuga (Biofuge pico, Osterode, Alemania)
- Congelador a – 80°C
- Congelador a – 20°C
- Nevera a 4°C
- Transiluminador para visualización con rayos ultravioleta
- Cámara fotográfica Polaroid con película Polaroid 667

4.2. Método

4.2.1. Desparafinización de las muestras

Inicialmente se procedió a la desparafinización de un corte de 40-50 μm de cada muestra arterial, que habían sido transportados en tubos Eppendorf. Para ello se realizaron 2 incubaciones de 30 minutos cada una de ellas en xilol absoluto (se añadió 1 ml de xilol a cada tubo Eppendorf). Tras cada incubación se procedió a centrifugar las muestras durante 10 minutos a 13.000 revoluciones/minuto en centrífuga fría a 4 °C, aspirándose a continuación el xilol y dejando el sedimento en el fondo de cada tubo. Posteriormente se añadió etanol absoluto (1 ml/tubo) y se centrifugaron de nuevo las muestras durante 10 minutos en las mismas condiciones anteriores. Por último, se procedió a aspirar el etanol y se dejaron reposar las muestras hasta que se evaporó por completo el etanol.

4.2.2. Extracción del ADN

Para la extracción del ADN se utilizó una digestión con proteinasa K. En primer lugar, se procedió a la rehidratación de las muestras con agua destilada (50 μ l/muestra). Separadamente, se preparó la mezcla de reacción compuesta por buffer 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 8,3 conteniendo 0,5% tween 20 y 10 μ g/ml de proteinasa K y se alicuotó a 10 μ l. Se añadieron 40 μ l de muestra a cada uno de estos tubos y se centrifugaron.

Por último, estos tubos se incluyeron en el termociclador y se sometieron a las siguientes condiciones de ciclación:

- Ciclo 1: 56 °C, 45 minutos, para incubación
- Ciclo 2: 96 °C, 10 minutos, para inactivación de la proteinasa
- Ciclo 3: 4 °C, tiempo indefinido

4.2.3. PCR para la detección de parvovirus B19

Para la detección de DNA de parvovirus B19 se utilizó una técnica de PCR sucesiva o anidada casera [277, 278], validada en protocolos internacionales multicéntricos de control de calidad de la Organización Mundial de la Salud [278].

4.2.3.1. Primera reacción

Se añadieron 5 μ l del extracto a los tubos que contenían 45 μ l de mezcla para la primera reacción. Los tubos conteniendo los 50 μ l resultantes se centrifugaron y se colocaron en el termociclador programado de la forma que se detallará a continuación. Los productos amplificados tenían un tamaño de 211 pares de bases (bp).

A) Iniciadores

Las secuencias de los nucleótidos de los iniciadores de la primera reacción, del extremo 5' al 3', fueron las siguientes:

- AGA-AGC-CAG-CAC-TGG-TGC, y
- TGG-TGC-AAA-CCT-TTG-CCT.

B) Tubos de la primera reacción

Se prepararon con un volumen total de 45 μ l y contenían:

- 5 μ l de buffer 10xPCR-II (Roche)
- 6 μ l de 25 mM MgCl₂ (concentración final 3 mM)
- 0.4 μ l de concentraciones 25 mM de dATP, dGTP, dCTP y dTTP (concentración final 200 μ M)
- 2 μ l de concentraciones 5 μ M de cada uno de los iniciadores de la primera reacción (concentración final 0,2 μ M)
- 0.25 μ l de Taq-polimerasa (1,25 u)
- 0,5 μ l de un par de iniciadores específicos para el plásmido control interno
- 100 copias de un plásmido de control interno
- Agua destilada libre de nucleasas hasta 45 μ l

C) Condiciones de ciclación

- Ciclo 1: 2 minutos a 94°C, para desnaturalización del ADN
- Ciclo 2 a 31:
 - 94 °C, 30 segundos, para desnaturalización del ADN
 - 53 °C, 1 minuto, para hibridación de los iniciadores con el ADN problema
 - 72 °C, 30 segundos, para producir la elongación de los productos de reacción

- Ciclo 32: - 72 °C, 5 minutos, para prolongar la elongación
- Ciclo 33: - 4 °C, tiempo indefinido

4.2.3.2. Segunda reacción

Se añadió 1 µl del producto amplificado en la primera reacción a los tubos que contenían 49 µl de mezcla para la segunda reacción. Los tubos conteniendo los 50 µl resultantes se centrifugaron y se colocaron en el termociclador programado con las condiciones de ciclación que se detallarán a continuación. Los productos amplificados tras la segunda reacción tenían un tamaño de 94 bp.

A) Iniciadores

Las secuencias de los nucleótidos de los iniciadores de la segunda reacción, del extremo 5' al 3', fueron las siguientes:

- AAA-AGC-ATG-TGG-AGT-GAG, y
- TGC-TCT-GGG-TCA-TAT-GGA

B) Tubos de la segunda reacción

Se prepararon con un volumen total de 49 µl y contenían:

- 5 µl de buffer 10xPCR-II (Roche)
- 6 µl de 25 mM MgCl₂ 3 mM (concentración final 3 mM)
- 0.4 µl de concentraciones 25 mM de dATP, dGTP, dCTP y dTTP (concentración final de 200 µM)
- 2 µl de concentraciones 5 µM de cada uno de los iniciadores de la segunda reacción (concentración final de 0,2 µM)
- 0.25 µl de Taq-polimerasa (1,25 u)

- 0,5 μ l de un par de iniciadores específicos para el plásmido control interno
- Agua destilada libre de nucleasas hasta 49 μ l

C) Condiciones de ciclación

- Ciclo 1: 2 minutos a 94°C, para desnaturalización del ADN
- Ciclo 2 a 31:
 - 94 °C, 30 segundos, para desnaturalización del ADN
 - 53 °C, 1 minuto, para hibridación de los iniciadores con el ADN problema
 - 72 °C, 30 segundos, para producir la elongación de los productos de reacción
- Ciclo 32: - 72 °C, 5 minutos, para prolongar la elongación
- Ciclo 33: - 4 °C, tiempo indefinido

4.2.3.3. Electroforesis en gel de agarosa

Los productos de amplificación fueron visualizados y medidos mediante gel de electroforesis en agarosa al 4% conteniendo 0,5 μ g de bromuro de etidio por ml en tampón EDTA-Tris-borato y visualizados con luz ultravioleta.

4.2.3.4. Controles

En cada determinación de PCR se incluyeron tubos de controles positivos y negativos, además del plásmido control interno para asegurar que no se había producido ningún problema durante las reacciones de amplificación. El control positivo era una dilución 10^{-8} de una muestra con

partículas víricas observables por microscopía electrónica en suero bovino fetal. El control negativo consistía en suero bovino fetal.

4.2.3.5. Interpretación de los resultados

El tamaño de banda esperado era de 94 bp. En los casos en los que sólo aparecía la banda del control interno, las muestras se consideraban negativas. En los casos en los que no aparecía ninguna banda, se repetían las determinaciones y en aquellos en que no aparecía ninguna banda después de la repetición se asumía que contenían inhibidores enzimáticos. Todos los resultados positivos se confirmaron a partir de una muestra diferente de tejido, realizando de nuevo la desparafinización y la extracción del DNA.

4.2.4. PCR para la detección de virus herpes

Para la detección de DNA de diferentes virus herpes, en concreto, virus herpes simple (VHS) tipo 1 (VHS1) y tipo 2 (VHS2), virus varicela zoster (VVZ), citomegalovirus (CMV), virus herpes humano 6 (VHH6) y virus de Epstein-Barr (VEB), se utilizó una técnica de PCR sucesiva o anidada múltiple [279].

4.2.4.1. Primera reacción

Un total de 5 µl del extracto de DNA se añadieron a los tubos que contenían 45 µl de mezcla para la primera reacción. Los tubos conteniendo los 50 µl resultantes se centrifugaron y se colocaron en el termociclador programado de la forma que se detallará a continuación. Los productos amplificados tenían un tamaño de 194 bp.

A) Iniciadores

La mezcla “sentido-1” contenía las secuencias específicas:

- CGCATCATCTACGGGGACACGGA, común para HSV1 y HSV2
- AAGGTTATATATGGAGATACGGA, para VVZ
- AAGGTCATCTACGGGGACACGGA, para CMV
- GAGGTAATTTATGGTGGTGATTACGGA, para VHH6
- CGAGTCATCTACGGGGACACGGA, para VEB

- La mezcla “antisentido-1” consistía en:

- ATGACGCCGATGTACTTTTTCTT, para HSV1 y HSV2
- ATTACCCCAATGTACTTTTTCTT, para VVZ
- ACTTTGCCGATGTAACGTTTCTT, para CMV
- TGTCTACCAATGTATCTTTTTTTT, para VHH6
- AGCACCCCCACATATCTCTTCTT, para VEB

B) Tubos de la primera reacción

Se prepararon con un volumen total de 45 μ l y contenían:

- 5 μ l de buffer 10xBuffer II (Roche)
- 8 μ l de 25 mM MgCl₂ (concentración final 3 mM)
- 0,4 μ l de concentraciones 25 mM de cada dNTP (concentración final 200 μ M)
- 2 μ l de concentraciones 5 μ M de cada uno de los iniciadores de la primera reacción (concentración final 0,2 μ M)
- 0.25 μ l de Taq-polimerasa (1,25 u)
- 0,5 μ l de un par de iniciadores específicos para el plásmido control interno
- 100 copias de un plásmido de control interno

- Agua destilada libre de nucleasas hasta 45 μ l

C) Condiciones de ciclación

- Ciclo 1: 2 minutos a 94 °C, para desnaturalización del ADN
- Ciclo 2 a 31: - 94 °C, 30 segundos, para desnaturalización del ADN
 - 53 °C, 1 minuto, para hibridación de los iniciadores con el ADN problema
 - 72 °C, 30 segundos, para producir la elongación de los productos de reacción
- Ciclo 32: - 72 °C, 5 minutos, para prolongar la elongación
- Ciclo 33: - 4 °C, tiempo indefinido

4.2.4.2. Segunda reacción

Se añadió 1 μ l del producto amplificado en la primera reacción a los tubos que contenían 49 μ l de mezcla para la segunda reacción. Los tubos conteniendo los 50 μ l resultantes se centrifugaron y se colocaron en el termociclador programado con las condiciones de ciclación que se detallarán a continuación. Los productos amplificados tras al segunda reacción tenían un tamaño diferente para cada uno de los virus herpes humanos estudiados:

- HSV1 o HSV2: 120 bp
- VVZ: 98 bp
- CMV: 78 bp
- VHH: 66 bp
- EBV: 54 bp

Para los virus HSV1 y HSV2 se utilizó un oligonucleótido común ya que los iniciadores específicos de cada clase de virus no eran capaces de diferenciar entre estos virus tan relacionados.

A) Iniciadores

La mezcla “sentido-2” para la segunda reacción contenía:

- GTGTTGTGCCGCGGTCTCAC, para VHS1 y VHS2
- TGAGGGGATAGCTAAAATCG, para VVZ
- GGGCCCAGCCTGGCGCACTA, para CMV
- GCCAAACATATCACAGATCG, para VHH6
- ACCCGGAGCCTGTTTGTAGC, para VEB

La mezcla “antisentido-2” se componía de :

- GGTGAACGTCTTTTCGAACTC, para VHS1 y VHS2
- TATAAAAGTTTTTTCACACTC, para VVZ
- GACGAAGACCTTTTCAAACCTC, para CMV
- ACATAAAATCTTTTCAAACCTC, para VHH6
- GCAGAAGGTCTTCTCGGCCTC, para VEB

B) Tubos de la segunda reacción

Se prepararon con un volumen total de 49 μ l y contenían:

- 10 μ l de 5X Buffer B
- 6 μ l de 25 mM $MgCl_2$ 3 mM (concentración final 3 mM)
- 0.4 μ l de concentraciones 25 mM de dATP, dGTP, dCTP y dTTP (concentración final 200 μ M)
- 2 μ l de concentraciones 5 μ M de cada uno de los iniciadores de la segunda reacción (concentración final 0,2 μ M)

- 0.25 μ l de Taq-polimerasa (1,25 u)
- 0,5 μ l de un par de iniciadores específicos para el plásmido control interno
- Agua destilada libre de nucleasas hasta 49 μ l

C) Condiciones de ciclación

- Ciclo 1: 2 minutos a 94 °C, para desnaturalización del ADN
- Ciclo 2 a 31: - 94 °C, 30 segundos, para desnaturalización del ADN
 - 47 °C, 1 minuto, para hibridación de los iniciadores con el ADN problema
 - 72 °C, 30 segundos, para producir la elongación de los productos de reacción
- Ciclo 32: - 72 °C, 5 minutos, para prolongar la elongación
- Ciclo 33: - 4 °C, tiempo indefinido

4.2.4.3. Electroforesis en gel de agarosa

Los productos de amplificación fueron visualizados y medidos mediante gel de electroforesis en agarosa al 4% conteniendo 0,5 μ g de bromuro de etidio por ml en tampón EDTA-Tris-borato y visualizados con luz ultravioleta.

4.2.4.4. Controles

En cada determinación de PCR se incluyeron controles positivos y negativos, además del plásmido control interno para asegurar que no se había producido ningún problema durante las reacciones de amplificación. El control positivo era una mezcla de plásmidos conteniendo las secuencias de

amplificación de primera reacción de cada uno de los virus a una concentración de 100 moléculas por tubo de reacción de cada uno y el negativo consistía en suero bovino fetal.

4.2.4.5. Interpretación de los resultados

El tamaño de banda esperado para cada uno de los virus herpes era diferente: 120 bp para VHS1 ó VHS2, 98 bp para VVZ, 78 bp para CMV, 66 bp para VHH6 y 54 bp para VEB. En los casos en los que sólo aparecía la banda del control interno, las muestras se consideraban negativas. En los casos en los que no aparecía ninguna banda, se repetían las determinaciones y en aquellos en que no aparecía ninguna banda después de la repetición se asumía que contenían inhibidores enzimáticos. Todos los resultados positivos se confirmaron a partir una muestra original diferente utilizando la misma técnica de PCR.

4.2.5. Medidas para disminuir el riesgo de contaminación

Se tomaron diversas medidas para disminuir el riesgo de contaminación de las muestras que no contenían DNA de los virus buscados por parte de aquellas que sí que lo contenían. En primer lugar, las diferentes partes del proceso se realizaron en 5 habitaciones separadas. En la primera, se preparaban los tubos de reacción; en la segunda, se procedía a la deparafinización, a la extracción del DNA y se realizaba la primera amplificación de la PCR; en la tercera, se realizaba la segunda amplificación; en la cuarta, la electroforesis en gel de agarosa; y en la quinta, la visualización de los productos amplificados mediante rayos ultravioleta y se obtenían las fotografías. En cada una de las habitaciones se utilizaban batas diferentes que bajo ningún concepto eran sacadas fuera de la habitación correspondiente. También se utilizaron guantes desechables y gradillas específicas para

transporte de los distintos productos de amplificación entre las diferentes habitaciones.

5. Datos clínico-epidemiológicos obtenidos de la historia clínica

De los 147 enfermos de los que se pudo procesar la biopsia para estudio se pudo obtener la historia clínica de 125 de ellos. Se había elaborado un criterio mediante el cual se llevarían a cabo varios intentos para recuperar las historias no encontradas en un primer momento y así se hizo. Una vez realizados diez intentos de recuperar la historia clínica para su estudio, fue considerada perdida.

Las siguientes variables clínico-epidemiológicas fueron obtenidas mediante la revisión de la historia clínica de los pacientes:

- Nombre y apellidos
- Edad en el momento de la consulta
- Género
- Dirección
- Teléfono
- Fecha de nacimiento
- Fecha de revisión de la historia clínica
- Número de historia
- Resultado de la biopsia de arteria temporal
- Diagnóstico clínico de ACG o no
- Antecedentes de hábito tabáquico, según se había recogido en la historia
- Antecedentes de ingesta enólica, según constaba en la historia
- Antecedentes patológicos personales de:

- Hipertensión arterial: Cuando constaba explícitamente entre los antecedentes patológicos en la historia clínica y/o cuando se recogía que estaba en tratamiento antihipertensivo
- Diabetes mellitus: En los casos en que se recogía este antecedente patológico en la historia clínica tanto si el paciente no realizaba tratamiento, como si se controlaba únicamente con terapia dietética, con antidiabéticos orales o con insulina
- Hipercolesterolemia: cuando constaban antecedentes de hipercolesterolemia en la historia clínica, tanto si el paciente no realizaba tratamiento como si estaba en terapia dietética o farmacológica. Cuando el paciente realizaba tratamiento específico hipolipemiante, aunque no se recogiera el antecedente explícito de hipercolesterolemia en la historia clínica también se consideró que existía este antecedente
- Cardiopatía isquémica: cuando constaba en la historia clínica que el paciente había presentado episodios de angor pectoris o infarto agudo de miocardio
- Neoplasias cutáneas: específicamente, se recogió si existían antecedentes de melanoma, carcinoma espinocelular, carcinoma basocelular o si se había extirpado una tumoración maligna cutánea aunque el paciente desconociera de qué tipo
- Patología tiroidea: si en la historia constaban antecedentes de hipertiroidismo, hipotiroidismo, tiroiditis autoinmune, bocio o neoplasia tiroidea con o sin tratamiento
- Accidente vascular cerebral: si constaban en la historia clínica antecedentes de ictus isquémico o hemorrágico
- Tromboembolismo pulmonar: si existían episodios previos de tromboembolismo pulmonar según la historia clínica
- Trombosis venosa profunda: si constaba entre los antecedentes del paciente en la historia

- Fechas y períodos de tiempo específicos:
 - Fecha de la primera consulta
 - Fecha de la sospecha clínica de ACG
 - Fecha de la biopsia
 - Fecha de inicio del tratamiento con glucocorticoides
 - Tiempo desde el inicio de los síntomas (días)
- Sintomatología que el paciente refería al inicio:
 - Cefalea
 - Hiperestesia craneal
 - Claudicación mandibular
 - Alteraciones visuales: diplopia, amaurosis brusca, amaurosis fugax, visión borrosa, pérdida de visión parcial o, alteraciones visuales inespecíficas
 - Fiebre o febrícula
 - Pérdida de peso
 - Malestar general
 - Astenia
 - Anorexia
 - Síntomas generales: cuando al menos presentaba uno de los siguientes síntomas: fiebre o febrícula, pérdida de peso, malestar general, astenia o anorexia
 - Síndrome depresivo
 - Dolor en cintura escapular
 - Dolor en cintura pélvica
- Exploración de las arterias temporales:
 - Engrosamiento o tortuosidad
 - Dolor
 - Disminución o ausencia de pulso.
- Datos analíticos característicamente alterados de la ACG:
 - Existencia de anemia normocítica normocrómica

- VSG
- En los casos en que se había descartado el diagnóstico de ACG se recogieron los siguientes datos:
 - El diagnóstico alternativo establecido:
 - Polimialgia reumática
 - Otra vasculitis
 - Artritis reumatoide
 - Otra artritis
 - Síndrome paraneoplásico
 - Otros
 - Diagnóstico no aclarado
 - Los síntomas que condujeron a sospechar inicialmente ACG:
 - Cefalea
 - Hiperestesia craneal
 - Claudicación mandibular
 - Alteraciones visuales
 - Fiebre o febrícula
 - Pérdida de peso
 - Malestar general
 - Astenia
 - Anorexia
 - Síntomas generales
 - Síndrome depresivo
 - Anemia
 - Dolor en cintura escapular
 - Dolor en cintura pélvica
 - Los motivos por los que se descarta la ACG:
 - No respuesta al tratamiento con glucocorticoides
 - Negatividad de la biopsia arterial
 - No elevación de la VSG

- Alteraciones inmunológicas
- Diagnóstico de neoplasia
- Evolución clínica
- Otros

6. **Hoja de recogida de datos**

Se diseñó una hoja de recogida de datos en la que se incluyó la información siguiente (Ver anexo):

- 1) Todos los datos clínico-epidemiológicos obtenidos tras la revisión de la historia clínica, que han sido detallados en el apartado anterior.
- 2) Datos sobre la biopsia de arteria temporal:
 - Su localización: derecha, izquierda o desconocida
 - Número de biopsia
 - Alteraciones histopatológicas observadas en la tinción de hematoxilina-eosina:
 - Infiltrado inflamatorio limitado a la túnica adventicia
 - Infiltrado inflamatorio en todas las capas de la pared vascular
 - Existencia de células gigantes
 - Degeneración de la lámina elástica interna
 - Hiperplasia intimal
 - Disminución de la luz vascular
 - Existencia de calcificación en la pared arterial
 - Presencia de expresión de metaloproteinasa-2 y 9 en la pared arterial, qué tipos de células las expresan y su localización
 - Existencia de macrófagos en la pared vascular

3) Resultado de la determinación de la presencia de parvovirus B19 y diferentes herpes virus en la biopsia de la arteria temporal:

- Tras la primera determinación
- Tras la segunda determinación en los casos de positividad en la primera

7. **Análisis estadístico y epidemiológico**

Para el análisis estadístico se ha llevado a cabo primero una edición de los datos con el fin de observar la existencia de errores, valores faltantes, valores extremos e incoherencias en la base de datos. Una vez llevado a cabo este paso, se ha procedido a realizar la estadística descriptiva de todas las variables calculándose los estadísticos de tendencia central y de dispersión para las variables cuantitativas y cualitativas, así como el estudio de la normalidad de las distribuciones. Para las variables cuantitativas se ha calculado la media como medida de tendencia central y la varianza y la desviación estándar como medidas de dispersión. Los valores de desviación estándar se han presentado entre paréntesis después de la media, del siguiente modo: media(desviación estándar). Cuando las variables cuantitativas no seguían una distribución normal, como en el caso de los tiempos, se ha calculado la mediana como medida de tendencia central y el rango intercuartil como medida de dispersión.

Para estudiar la asociación entre dos variables categóricas, se ha utilizado la prueba de Ji al cuadrado de Pearson cuando el número de efectivos calculados era superior a 5 al menos en el 80% de las casillas de la tabla. En caso contrario y cuando se trataba de tablas simétricas, se aplicó la prueba exacta de Fisher. Para estudiar la asociación entre una variable cuantitativa y otra categórica con dos categorías se aplicó la prueba t de Student cuando la

variable cuantitativa seguía una distribución normal. En caso de no seguir una distribución normal, se aplicó la prueba U de Mann-Whitney.

Como medida de efecto en tablas de 2x2 se calculó la oportunidad relativa (odds ratio, OR) y su intervalo de confianza del 95% (IC 95%) mediante el método de Cornfield.

Con el fin de profundizar en el estudio de la relación entre el resultado de la biopsia y las distintas variables clínico-epidemiológicas, como elementos predictivos de éste se calcularon la sensibilidad (proporción de casos con el factor en estudio en casos con biopsia positiva), especificidad (proporción de negativos en casos de biopsia negativa) y valores predictivos positivo (proporción de biopsias positivas en individuos con el factor) y negativo (proporción de biopsias negativas en individuos sin el factor), así como sus respectivos IC 95%.

Para el análisis multivariable se han elaborado diversos modelos de regresión logística, utilizando el resultado de la biopsia como variable dependiente. Por ejemplo, en el estudio de la asociación entre el resultado de la biopsia y la expresión de metaloproteinasa, se aplicó un modelo de regresión logística fijo con el fin de ajustar dicha relación eliminando el efecto de variables que podían afectarla. En este caso, las variables independientes incluidas en el modelo fueron la edad, el género, el tiempo de evolución de los síntomas antes de la realización de la biopsia, los días de tratamiento con glucocorticoides antes de la biopsia y el año de realización de la biopsia. Con estas variables se elaboró un modelo para la metaloproteinasa-2 y otro para la 9. Como resultados de la aplicación de estos modelos se obtuvieron las OR ajustadas, sus IC 95% y el grado de significación p para cada una de las variables independientes. Para comprobar la bondad del ajuste del modelo se utilizó la prueba de Hosmer y Lemeshow.

Para estudiar qué variables clínico-epidemiológicas eran predictoras del resultado de la biopsia se construyó otro modelo de regresión logística utilizando en este caso también un modelo fijo. Las variables que se seleccionaron fueron las que resultaron significativas en el análisis bivariable. Además de éstas, se incluyeron variables que podían considerarse confusoras de la relación entre las variables independientes en estudio y la variable dependiente (resultado de la biopsia): la edad, el género, el tiempo de evolución de los síntomas antes de la realización de la biopsia, los días de tratamiento con glucocorticoides antes de la biopsia y el año de realización de la biopsia. Como en el caso anterior, se obtuvieron las OR ajustadas, sus IC 95% y el grado de significación p para cada una de las variables independientes. Asimismo, se estudió la capacidad de clasificación del modelo mediante el cálculo de su sensibilidad, especificidad y valor global. Finalmente, para comprobar la bondad del ajuste se utilizó la prueba de Hosmer y Lemeshow.

El programa SPSS para Windows versión 8.0 se utilizó para el análisis estadístico. El programa PEPI (Programs for Epidemiologists) versión 4.0 se empleó para el cálculo de la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos y las razones de verosimilitud positivas (LR+) y negativas (LR-) con sus respectivos intervalos de confianza. En todas las pruebas de contraste de hipótesis se consideraron significativos valores de p inferiores a 0,05.

Resultados

1. Descripción general de los datos

Desde Enero de 1997 hasta marzo de 2002 se realizaron 175 biopsias de arteria temporal en el Hospital Universitari Vall d'Hebron. Se pudo recuperar material biopsico apropiado para estudio en 147 de las ocasiones. De las 147 biopsias estudiadas, 50 (34%) cumplían los criterios histológicos de arteritis temporal, por lo que se consideraron positivas. Las 97 restantes (66%) fueron consideradas negativas según los criterios establecidos. Fue posible obtener la historia clínica correspondiente a 125 de los enfermos a quienes se les practicó la biopsia, 46 (36,8%) presentaban biopsia positiva para ACG y 79 (63,2%) biopsia negativa.

La edad media de los pacientes con biopsia positiva en el momento de su realización era de 76(7,2) años, mientras que la de aquellos cuya biopsia fue negativa era de 73(11) años. Esta diferencia de tres años entre los dos grupos no resultó significativa ($p=0,06$). En cuanto al género, el porcentaje de mujeres en el grupo de biopsias positivas (76%) fue algo mayor que en el de biopsias negativas (61,9%), aunque estas diferencias tampoco resultaron significativas ($p=0,09$). El ratio mujer:hombre en el grupo de pacientes con biopsia positiva fue de 3,2:1.

Aparte de con la edad y el género, se estudió la relación del resultado de la biopsia con otras variables que podrían comprometer la comparabilidad de los grupos. En los pacientes con biopsia positiva el tiempo medio transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta la realización de la biopsia fue de 2,3(1,9) meses y en los pacientes con biopsia negativa fue de 4,5(7,3). Estas diferencias no fueron significativas ($p=0,31$). En relación al tratamiento previo con glucocorticoides, de los 46 pacientes con biopsia positiva de los que se pudo obtener información clínica, 6 (13%) habían recibido tratamiento previo. De los 79 pacientes con biopsia negativa de los que se pudo revisar la historia

clínica, 22 (27,8%) habían iniciado el tratamiento con glucocorticoides antes de la biopsia. En relación a los días de tratamiento previo antes de la realización de la biopsia, en los pacientes con biopsia positiva la mediana (rango intercuartil) fue de 6(8) días y en aquellos con biopsia negativa fue igualmente de 6(13) días. Las diferencias no resultaron significativas ($p=0,28$). La duración del tratamiento con glucocorticoides antes de la biopsia en los pacientes con biopsia positiva osciló entre 1 y 41 días.

De los 79 pacientes con biopsia negativa para ACG de los que se pudo recuperar y revisar la historia clínica, en 7 no se llegó a establecer un diagnóstico concreto, 14 habían sido diagnosticados de ACG en base a criterios clínicos a pesar de ser negativa la biopsia de arteria temporal, 13 padecían PMR, 5 se habían diagnosticado de otra vasculitis, concretamente de poliarteritis microscópica, 4 padecían artritis reumatoide, 2 otra variedad de enfermedad inflamatoria articular, 7 habían sido diagnosticados de neoplasia y 27 de otras patologías diversas.

Las neoplasias que finalmente habían sido diagnosticadas en esos 7 pacientes fueron: tres hematológicas (dos mielomas y un linfoma de Hodgkin), dos ginecológicas (un carcinoma ductal de mama y un adenocarcinoma de endometrio), un hipernefroma y un carcinoma escamoso pulmonar.

Los diagnósticos alternativos de los pacientes incluidos en el grupo de otras patologías se presentan en la tabla 9. Destacan por su mayor frecuencia las infecciones, la patología vascular ocular isquémica no arterítica, las cefaleas inespecíficas y los accidentes vasculares cerebrales. Las infecciones que inicialmente condujeron a descartar ACG en nuestros pacientes fueron de naturaleza muy variada como se muestra en la tabla 9.

Tabla 9. Diagnósticos alternativos incluidos en el grupo de otras patologías.

Patología	Patología específica	N ° Pacientes
Infecciones	Infección respiratoria*	2
	Otitis media crónica (+ anemia por ulcus duodenal)	1
	TBC pulmonar	1
	Meningitis linfocitaria TBC	1
	Sigmoiditis (+ anemia por IRC por aterosclerosis)	1
	Gastroenteritis	1
	Virasis (+ dolor por fracturas osteoporóticas)	1
Patología vascular ocular	Neuritis óptica isquémica no arterítica	3
	Retinopatía hipertensiva	1
Patología vascular cerebral	AVC embolígeno (+ condrocalcinosis)	1
	Hematoma cerebeloso	1
	Trombosis seno yugular izquierdo	1
Cefalea	Cefalea inespecífica	4
	Cefalea atribuida a síndrome depresivo	1
Anemia	Anemia multifactorial	2
	Anemia secundaria a IRC por diabetes mellitus	1
	Anemia refractaria sideroblástica	1
Miscelánea	Miositis orbitaria	1
	Miopatía inflamatoria idiopática	1
	Deterioro general en paciente con cirrosis	1

IRC = Insuficiencia renal crónica. TBC = Tuberculosis. AVC = accidente vascular cerebral.

*+ síndrome hemimotor hemisensitivo de etiología no filiada en un caso

2. Parvovirus B19 y virus herpes

En las 147 biopsias de arteria temporal disponibles se estudió la presencia de ADN de parvovirus B19 y de los virus herpes simple 1 (VHS1) y 2 (VHS2), virus varicela-zoster (VVZ), citomegalovirus (CMV), virus herpes humano 6 (VHH6) y virus de Epstein-Barr (VEB), con el fin de hallar diferencias entre las positivas y las negativas.

Tras la primera determinación, 3 biopsias fueron positivas para parvovirus B19 pero ninguno de estos resultados se confirmó tras una segunda determinación partiendo de nuevas muestras originales (Figura 11). En el caso de los virus herpes, todos los resultados fueron negativos tras la primera determinación.

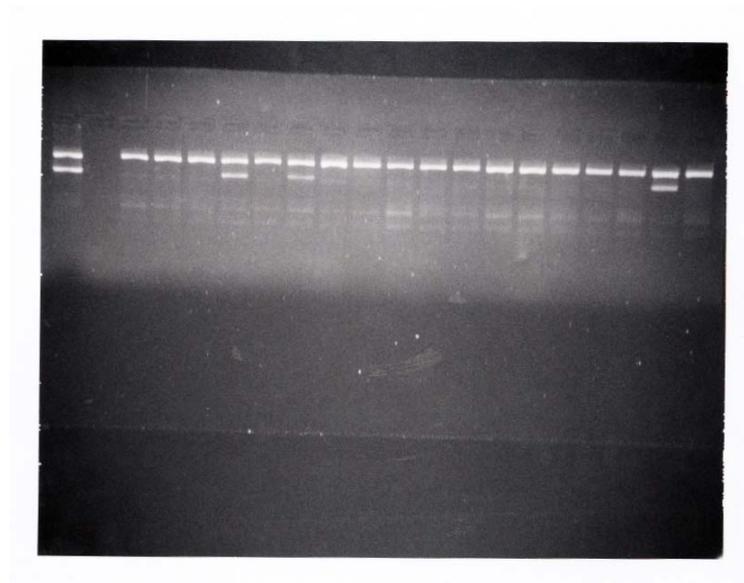


Figura 11. Resultados de PCR para amplificación de ADN de parvovirus B19 en diferentes muestras de biopsias arteriales. La primera línea, separada de las demás, corresponde a un control de peso molecular de 94 bp. En la cuarta y la sexta línea de las amplificaciones de muestras arteriales se observan bandas de PCR correspondientes a amplificación de DNA vírico de 94 bp que corresponde con el parvovirus, resultados que no se pudieron confirmar en una determinación posterior. La penúltima línea corresponde al control positivo y la última al control negativo. El control interno se observó en todos los casos.

3. Resultado de la biopsia y expresión de MMP-2 y MMP-9

En total, fueron 17 las biopsias que expresaban MMP-2. En 9 (18%) de las biopsias positivas para ACG se encontraba expresión de esta MMP y en 8 (8,2%) de las arterias negativas (Gráfico 1). La OR (IC 95%) fue 2,44 (0,88-6,78). A pesar de que se observó expresión con mayor frecuencia en las positivas que en las negativas, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,08$).

La MMP-9 se detectó en 38 de las arterias temporales. Cuando se estudió la asociación entre el resultado de la biopsia y la presencia de MMP-9 se observó que se expresaba en 20 (40%) de las biopsias positivas para ACG, cifra que fue de 18 (18,6%) en las negativas (Gráfico 2). Esta diferencia resultó estadísticamente significativa ($p=0,005$), OR(IC95%) = 2,93 (1,36-6,28).

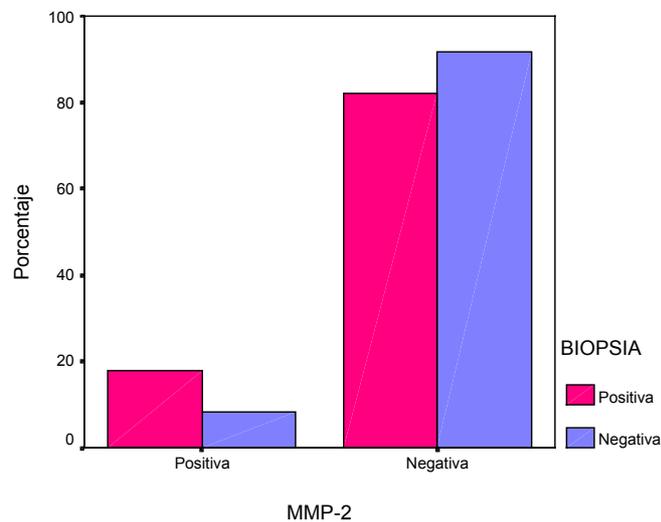


Gráfico 1. Distribución de MMP-2 en las biopsias de arteria temporal.

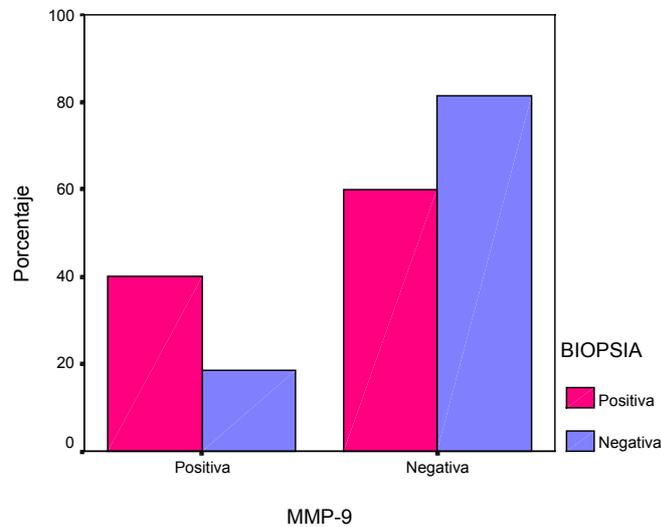


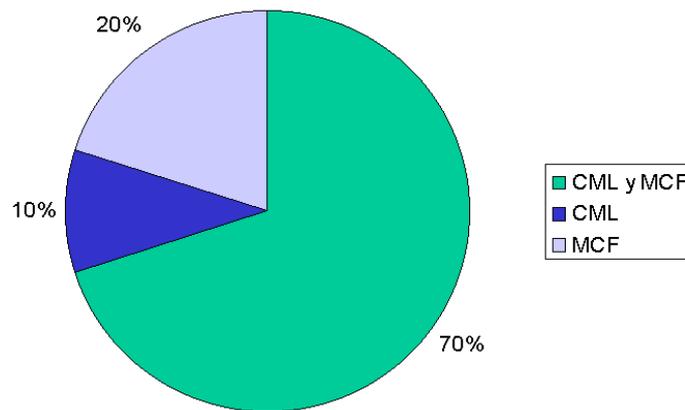
Gráfico 2. Distribución de MMP-9 en las biopsias de arteria temporal.

4. Localización de la MMP-2 y la MMP-9 en la biopsia

Se analizó qué células de la pared arterial expresaban cada una de estas MMP y en qué proporción lo hacían.

En las 9 arterias positivas para ACG en las que se detectó MMP-2, ésta se expresaba en algunos macrófagos de la túnica media e íntima, cercanos a la lámina elástica interna y en células gigantes. Además, en 6 de ellas también se observaba expresión de MMP-2 en células con apariencia de músculo liso de la media y de la íntima. En las 8 arterias temporales negativas para ACG en las que se detectaba la MMP-2, ésta se expresaba de forma exclusiva en células de la media y de la íntima que presentaban apariencia de células de músculo liso. En todos los casos, la intensidad de tinción fue leve o moderada. En la adventicia prácticamente no se encontró expresión de MMP-2 en ninguna de las arterias estudiadas.

De las 20 biopsias positivas para ACG que expresaban MMP-9, 18 (90%) lo hacían en el citoplasma de los macrófagos situados en la capa media e íntima, predominantemente en aquellos cercanos a la lámina elástica interna degenerada y en las células gigantes y 16 (80%) en células con apariencia de músculo liso de la media y de la íntima. En conjunto, 14 (70%) presentaban expresión de MMP-9 tanto en las células inflamatorias como en las constitutivas de la pared vascular, 2 (10%) sólo expresaban MMP-9 en células de músculo liso y no en células inflamatorias y en 4 (20%) se expresaba exclusivamente en macrófagos y en células gigantes pero no en células con apariencia de músculo liso (Gráfico 3).



CML = Células de músculo liso. MCF = Macrófagos.

Gráfico 3. Expresión de MMP-9 en diferentes tipos celulares de la pared arterial en las biopsias positivas para ACG.

En las biopsias negativas para ACG la expresión de esta MMP se observaba en el citoplasma de células de la media y de la íntima con apariencia de músculo liso. Además, se observó expresión de MMP-9 en el endotelio de los vasa vasorum en 12 biopsias, 10 de ellas positivas para ACG y 2 negativas.

Al igual que con la MMP-2, prácticamente en ningún caso se observó expresión de la MMP-9 a nivel de la túnica adventicia. La expresión conjunta tanto de MMP-2 como de MMP-9 en macrófagos y células gigantes se observó en 8 de las biopsias positivas para ACG.

En la figura 12 se muestran diferentes patrones de tinción por inmunohistoquímica de la MMP-2 y la MMP-9 observados en la pared arterial tanto de arterias con ACG como de arterias sin inflamación. Las figuras A, B y C corresponden a la misma arteria sin alteraciones histológicas de ACG en la que se observa cierto grado de hiperplasia intimal que presenta características de ser secundaria a cambios relacionados con la edad. La figura A corresponde a tinción de inmunohistoquímica para MMP-2 en la que se puede ver expresión de esta metaloproteinasa en el citoplasma de células de la media y de la íntima hiperplásica, que presentan apariencia de músculo liso. La figura B muestra tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-9 en el citoplasma de células de apariencia de músculo liso en la capa media y en la íntima de la misma arteria. La figura C muestra un detalle de la figura B. La figura D corresponde a tinción de inmunohistoquímica para MMP-9 de una arteria sin ACG que apenas presenta hiperplasia intimal. La MMP-9 se expresa de nuevo en el citoplasma de células que aparentan ser de músculo liso exclusivamente en la túnica media y en la íntima, observándose claramente la ausencia de expresión en células de la adventicia. Las figuras E y F corresponden a dos arterias temporales diferentes afectadas por ACG, en la primera se observan células gigantes y en la segunda no. La figura E muestra tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-9 en el citoplasma de macrófagos y células gigantes cercanas a la lámina elástica interna, no encontrándose expresión en las células de músculo liso. Por último, la figura F muestra tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-9 en el citoplasma de macrófagos cercanos a la lámina elástica interna y en células con apariencia de músculo liso de la media.

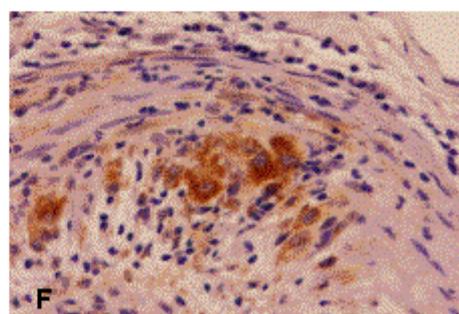
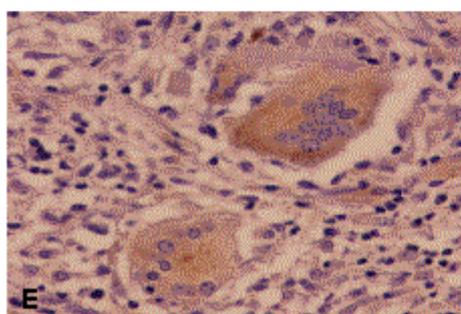
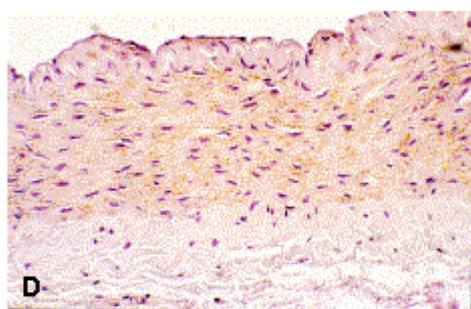
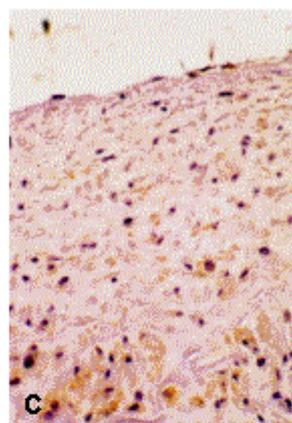
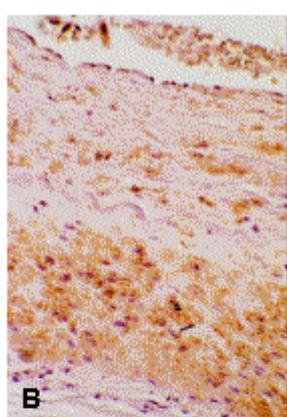
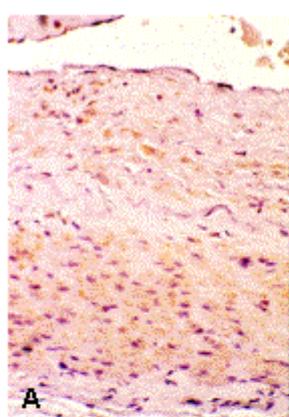


Figura 12. Tinciones de inmunohistoquímica de diferentes arterias temporales. A. Tinción de inmunohistoquímica para MMP-2 positiva en una arteria sin ACG (X250). B. Tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-9 en células de la media y de la íntima con apariencia de células de músculo liso de una arteria sin ACG (X250). C. Detalle de B (X400). D. Tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-9 en células de la media y de la íntima de una arteria sin ACG; destaca la ausencia de expresión en la adventicia (X250). E. Tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-9 en macrófagos cercanos a la lámina elástica y en células gigantes en una arteria con ACG (x400). F. Expresión de MMP-9 en macrófagos cercanos a la lámina elástica interna y en células con apariencia de músculo liso de la media (X400).

En la figura 13 se muestran diferentes cortes histológicos y tinciones de una misma arteria temporal con ACG. La figura A muestra a pequeño aumento una tinción de hematoxilina-eosina de dicha arteria en la que se observa la existencia de un denso infiltrado inflamatorio en la pared arterial así como la existencia de una hiperplasia intimal muy marcada que prácticamente produce desaparición de la luz vascular. Además, se puede observar un infiltrado inflamatorio en la pared de las arterias colaterales. La figura B muestra un detalle de la anterior en la que se pueden observar claramente que el infiltrado es de células linfomononucleares así como la presencia de células gigantes en la proximidad de la lámina elástica interna. También se puede apreciar la existencia de calcificación a nivel de la lámina elástica interna. La figura C corresponde a una tinción de fibras elásticas en la que se observa la práctica desaparición de la lámina elástica interna en toda la circunferencia de la pared arterial. La figura D muestra un detalle de la anterior. En la figura E se puede observar un detalle de las tres capas de la pared arterial con la tinción del tricrómico de Masson en la que el colágeno se tiñe de verde. La figura F muestra un detalle de una tinción de inmunohistoquímica para macrófagos CD68, lo que permite diferenciar estas células en todo el espesor de la pared arterial. En la figura G se observa la tinción positiva para MMP-2 en el citoplasma de macrófagos cercanos a la lámina elástica interna y en las células gigantes. Por último, la figura H muestra la tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-9 prácticamente en las mismas células que la MMP-2.

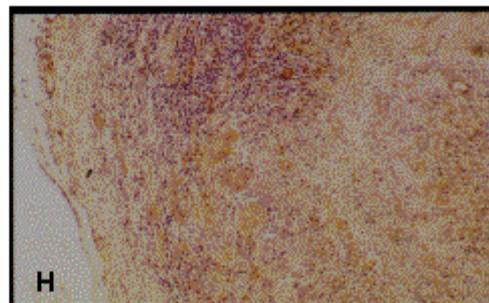
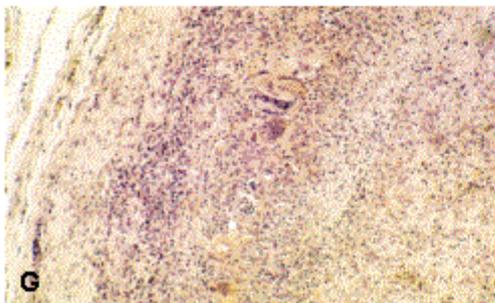
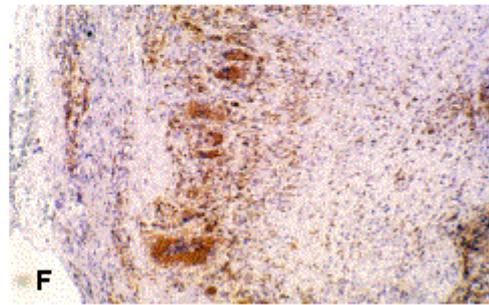
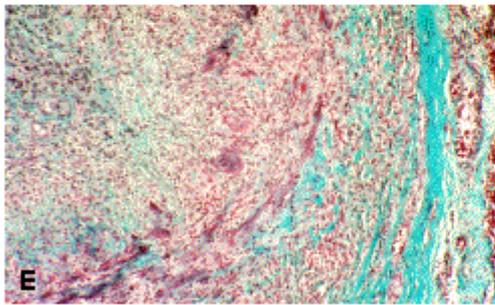
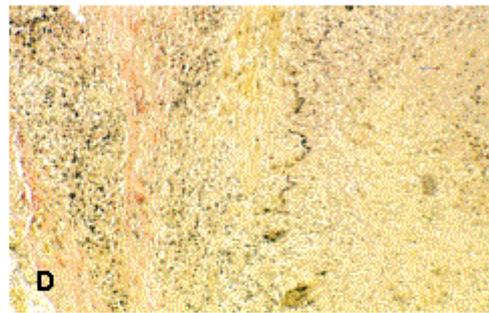
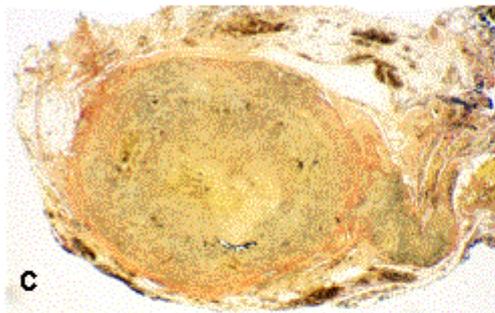
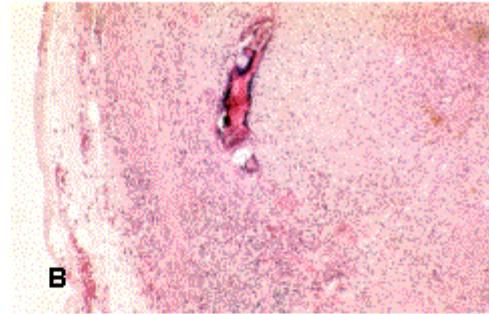
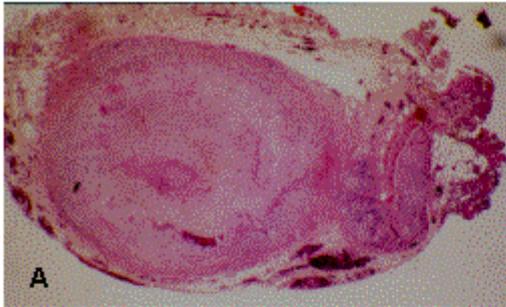


Figura 13. Diferentes cortes histológicos y tinciones de una misma arteria temporal con ACG. A. Tinción de hematoxilina-eosina en la que se observa la existencia de un infiltrado inflamatorio en la pared vascular así como de una hiperplasia intimal pronunciada que prácticamente produce la desaparición de la luz vascular. También se puede observar la existencia de infiltrado inflamatorio en la pared vascular de las arterias colaterales (x25). B. Tinción de hematoxilina-eosina que permite distinguir un infiltrado inflamatorio mononuclear en todas las capas de la pared arterial así como la existencia de células gigantes cerca de la lámina elástica. También puede apreciarse la existencia de calcificación a nivel de la lámina elástica interna (x100). C. Tinción de fibras elásticas en la que se observa la práctica desaparición de la lámina elástica interna en toda la circunferencia de la pared arterial (x25). D. Detalle de la anterior (x100). E. Tinción de tricrómico de Masson para poner de relieve el colágeno (x100). F. Tinción de inmunohistoquímica de macrófagos CD68 en la que se ponen de relieve estas células en todo el espesor de la pared arterial (x100). G. Tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-2 en el citoplasma de macrófagos cercanos a la lámina elástica y en células gigantes (x100). H. Expresión de MMP-9 en el citoplasma de macrófagos cercanos a la lámina elástica interna y en células gigantes (x100).

5. Expresión de MMP-2, alteraciones histopatológicas y características clínico-epidemiológicas

Se estudió la expresión de MMP-2 frente a la ausencia de expresión, en relación a las características histopatológicas de las biopsias. Los resultados se presentan en la tabla 10.

Tabla 10. Asociación entre la expresión de MMP-2 en la pared arterial y las diferentes características histopatológicas de la biopsia.

	MMP-2 (%)*	OR	IC 95%	p
Afectación sólo adventicia**	0 / 25	----	-----	0,047
Células gigantes**	22,2 / 7,1	3,71	0,42 – 32,87	0,41
Hiperplasia intimal	12,6 / 0	1,48	0,19 – 67,59	0,19
Degeneración lámina elástica	13 / 6,3	2,25	0,49 – 10,4	0,29
Disminución de la luz	18,4 / 9,2	2,24	0,79 – 6,37	0,13
Calcificaciones	11,9 / 11,4	1,05	0,38 – 2,93	0,93

OR = razón de riesgo (odds ratio). IC 95% = Intervalo de confianza del 95%. p = grado de significación.

*Porcentaje de MMP-2 positiva según presencia o no del factor.

**Sólo se han calculado considerando las biopsias positivas para ACG.

La afectación exclusiva de la adventicia mostró una asociación estadísticamente significativa con la expresión de MMP-2. Cuando el infiltrado inflamatorio se localizaba exclusivamente en la adventicia, en ningún caso se observó expresión de MMP-2, mientras que cuando el infiltrado inflamatorio afectaba a las 3 capas de la pared arterial el 25% de estas arterias expresaban MMP-2. Para el resto de variables, aunque la asociación fue positiva (mayor porcentaje de MMP-2 en casos en los que existían las diferentes alteraciones histopatológicas), dicha asociación no resultó estadísticamente significativa. Se valoró si la expresión de MMP-2 y su relación con la hiperplasia y la

degeneración de la lámina elástica podían estar relacionadas con el resultado de la biopsia, observándose que en las biopsias positivas, había un 18% de casos con hiperplasia que expresaban la metaloproteinasa, mientras que en las muestras de biopsia negativa este valor era del 9,4%. Con respecto a la degeneración de la lámina elástica, en el caso de las biopsias positivas, el 19,1% de aquellas con degeneración de la lámina elástica expresaban la metaloproteinasa, siendo este valor del 8,8% en las biopsias negativas. No se han podido realizar pruebas estadísticas de asociación debido a la gran relación existente entre el resultado de la biopsia y la hiperplasia y la degeneración de la lámina elástica, lo que se traduce por ejemplo en la falta de casos sin hiperplasia en las biopsias positivas.

Asimismo, se estudió la posible asociación de diversas características clínico-epidemiológicas de los pacientes con la expresión de MMP-2 a nivel de la arteria temporal. Los resultados se muestran en las tablas 11 y 12.

Tabla 11. Asociación entre la expresión de MMP-2 en la pared arterial y diferentes variables clínico-epidemiológicas continuas de los pacientes.

	MMP-2	Media (DE)	Mediana (rango intercuartil)	<i>p</i>
Edad	+	74,6(8,2)	75(12,5)	0,98
	-	73,9(10)	77(13)	
Días de evolución	+	71,3(51,5)	46(82,8)	0,31
	-	116(189,9)	58(78,5)	
Días en tratamiento glucocorticoide	+	6,6(7,4)	5(10,3)	0,95
	-	23(95,6)	3(8,5)	
VSG	+	88,8(26)	90(40,8)	0,85
	-	83,9(30,3)	90(43,5)	

VSG = Velocidad de sedimentación globular. MMP-2 = Metaloproteinasa-2. DE = Desviación estándar. *p* = grado de significación.

Tabla 12. Asociación entre la expresión de MMP-2 y diferentes variables clínico-epidemiológicas categóricas de los pacientes.

	MMP-2 (%)*	OR	IC 95%	p
Género	10,2 / 12,2	0,81	0,27 – 2,46	0,72
Tabaco	9,1 / 12,6	0,69	0,18 – 2,62	0,7
Alcohol	16,7 / 11,2	1,59	0,31 – 8,04	0,63
Hipertensión arterial	13 / 10,2	1,33	0,44 – 3,97	0,61
Diabetes	12 / 11,7	1,03	0,27 – 3,98	1
Hipercolesterolemia	21,9 / 8,3	3,1	1,02 – 9,32	0,06
Patología cardiovascular	12 / 11,7	1,03	0,27 – 3,98	1
Cefalea	14,1 / 9,3	1,61	0,52 – 5,01	0,41
Hiperestesia craneal	19 / 10,6	1,99	0,57 – 6,98	0,28
Claudicación mandibular	21,7 / 9,8	2,56	0,78 – 8,37	0,15
Alteraciones visuales	10,8 / 12,5	0,85	0,25 – 2,86	1
Fiebre	4,3 / 16,5	0,23	0,05 – 1,07	0,045
Astenia	7,9 / 16,1	0,45	0,14 – 1,40	0,16
Anorexia	4,4 / 16,3	0,24	0,05 – 1,12	0,08
Pérdida de peso	6,4 / 15,4	0,38	0,1 – 1,41	0,13
Anemia	11,5 / 13,2	0,86	0,27 – 2,70	0,77
Síndrome depresivo	7,1 / 12,6	0,53	0,07 – 4,40	1
Dolor en cinturas	8,5 / 14,1	0,57	0,17 – 1,89	0,35
Engrosamiento AT	17,6 / 9,9	1,95	0,64 – 5,98	0,23
Dolor palpación AT	16,7 / 11,8	1,5	0,16 – 13,79	0,54
Disminución del pulso AT	14,7 / 11	1,40	0,44 – 4,43	0,55

AT = Arteria temporal. MMP-2 = Metaloproteinasa-2. OR = Oportunidad relativa (odds ratio). IC 95% = Intervalo de confianza del 95%. p = grado de significación.

*Porcentaje de MMP-2 positiva según presencia o no del factor.

Tan sólo se observó una asociación negativa estadísticamente significativa ($p = 0,045$) entre la fiebre y la MMP-2, de forma que un 4,3% de los pacientes con fiebre mostraban expresión de esta MMP frente a un 16,5% de los que no tenían fiebre.

La edad del paciente en el momento del diagnóstico, los días de evolución de los síntomas hasta el diagnóstico, el tratamiento previo con corticoides y la velocidad de sedimentación globular no mostraron asociación con la expresión o no de MMP-2 a nivel arterial.

El antecedente de hábito tabáquico, el género femenino, los síntomas polimiálgicos, las alteraciones visuales y los síntomas y signos generales estudiados (astenia, anorexia, pérdida de peso, anemia y síndrome depresivo), mostraron una asociación negativa, es decir, el porcentaje de positividad de la MMP-2 era superior en los pacientes en los que no estaban presentes estos factores que en los que los presentaban, aunque ninguna de estas asociaciones resultó estadísticamente significativa.

Por el contrario, el hábito enólico, los antecedentes de factores de riesgo cardiovascular (hipertensión arterial, diabetes mellitus e hipercolesterolemia) y de patología cardiovascular (cardiopatía isquémica, accidente vascular cerebral, tromboembolismo pulmonar y trombosis venosa profunda) y los síntomas y signos craneales con excepción de las alteraciones visuales, mostraron una tendencia a la asociación positiva, es decir, los pacientes que presentaban estos factores tenían un porcentaje más elevado de MMP-2 positiva frente a los que no los presentaban, aunque dichas asociaciones tampoco resultaron estadísticamente significativas.

Con el fin de eliminar el efecto de posibles variables confusoras sobre la relación entre el resultado de la biopsia y la expresión de MMP-2 se utilizó un modelo que incluía como variables confusoras la edad, el género, el tiempo de

evolución en días hasta el momento de realización de la biopsia, los días en tratamiento previo con glucocorticoides antes de la biopsia y el año de realización. Los resultados, que se presentan en la tabla 13, confirman los obtenidos mediante el análisis bivariado en lo que se refiere a la ausencia de asociación entre el resultado de la biopsia y la expresión de MMP-2. Esta falta de asociación no se vio modificada por el resto de variables incluidas en el modelo, para las que tampoco se observó asociación significativa con el resultado de la biopsia.

Tabla 13. Análisis de regresión logística para la MMP-2 y resultado de la biopsia.

VARIABLES	β	OR	IC 95%	<i>p</i>
Edad				
< 70		1		
≥ 70	0,144	1,15	0,48 – 2,77	0,75
Género				
Mujer		1		
Hombre	-0,633	0,54	0,23 – 1,23	0,14
Días hasta la biopsia	-0,004	1,00	0,99 – 1,00	0,17
Días de tratamiento	-0,010	0,99	0,96 – 1,02	0,49
Año realización	-0,044	0,96	0,72 – 1,28	0,76
MMP- 2				
No		1		
Sí	0,395	1,49	0,48 – 4,58	0,49
Constante	87,49			0,76

MMP-2 = Metaloproteínasa-2. β = Coeficiente de regresión. OR = Oportunidad relativa (odds ratio). IC 95% = Intervalo de confianza del 95%. *p* = grado de significación.

6. Expresión de MMP-9, alteraciones histopatológicas y características clínico-epidemiológicas

Se estudió la asociación de la expresión de MMP-9 en relación a la misma serie de alteraciones histopatológicas que hemos considerado en el caso de la MMP-2. Los resultados se muestran en la tabla 14. Se observó asociación entre la existencia de hiperplasia intimal, degeneración de la lámina elástica interna, disminución de la luz vascular y afectación de arterias colaterales por la vasculitis y la expresión de MMP-9.

Tabla 14. Asociación entre la expresión de MMP-9 en la pared arterial y las diferentes características histopatológicas de la biopsia.

	MMP-9 (%)*	OR	IC 95%	p
Afectación sólo adventicia**	21,4 / 47,2	0,31	0,07 – 1,28	0,12
Células gigantes**	47,2 – 21,4	3,28	0,78 – 13,77	0,095
Hiperplasia intimal	28,1 / 0	4,15	0,56 – 183,5	0,037
Degeneración de la lámina elástica	33 / 0	14,71	2,24 – 615,2	0,0001
Disminución de la luz	42,1 / 20,2	2,88	1,30 – 6,38	0,008
Calcificaciones	32,2 / 21,6	1,73	0,82 – 3,64	0,15

MMP-9 = Metaloproteinasa-9. OR = Oportunidad relativa (odds ratio). IC 95% = Intervalo de confianza del 95%. p = grado de significación.

*Porcentaje de MMP-9 positiva según presencia o no del factor.

**Sólo se han calculado considerando las biopsias positivas para ACG.

Destacó la importante asociación entre la degeneración de la lámina elástica interna y la expresión de MMP-9. En este sentido, el 33% de las arterias que presentaban degeneración de dicha lámina expresaban esta MMP, mientras que no se observó en ninguna de las arterias con lámina conservada. La asociación de la existencia de disminución de la luz vascular con la

expresión de MMP-9 resultó también muy evidente, y se encontró que el 42,1% de las arterias con disminución de la luz vascular expresaban esta MMP, frente al 20,2% de las arterias con luz conservada. Por último, aunque con una asociación menos fuerte, también la hiperplasia intimal se asoció con la expresión de MMP-9, encontrándose expresión de esta MMP en el 28,1% de las arterias con hiperplasia y en ninguna de las que no la presentaban.

Como en el caso de la MMP-2, se valoró aquí la expresión de MMP-9 y su relación con la hiperplasia y la degeneración de la lámina elástica y su posible relación con el resultado de la biopsia. Se observó que en las biopsias positivas había un 40% de casos con hiperplasia que expresaban la metaloproteinasa, mientras que en las muestras de biopsia negativa este valor era del 21,2%. Con respecto a la degeneración de la lámina elástica, en el caso de las biopsias positivas, el 42,6% de las que tenían degeneración de la lámina elástica expresaban la metaloproteinasa, siendo este valor del 26,5% en las biopsias negativas. Tampoco aquí se han podido realizar pruebas estadísticas de asociación por los mismos motivos argumentados en el caso de la MMP-2.

Por otra parte, se estudió la asociación entre la expresión de MMP-9 a nivel de la biopsia arterial y las variables clínico-epidemiológicas de los pacientes consideradas anteriormente para la MMP-2 (tablas 15 y 16).

Tan sólo el antecedente de hipercolesterolemia y la hiperestesia craneal resultaron factores asociados de forma estadísticamente significativa con la expresión de MMP-9. Catorce de los 32 pacientes (43,8%) con antecedentes de hipercolesterolemia presentaron expresión de MMP-9 a nivel arterial frente a 23 de los 96 (24%) sin hipercolesterolemia. Once de los 21 pacientes (52,4%) con hiperestesia craneal presentaron tinción positiva para MMP-9 frente a 25 de los 104 (24%) que no referían dicho síntoma.

La edad en el momento del diagnóstico, el tiempo de evolución de los síntomas, los días de tratamiento con glucocorticoides antes de la biopsia y la velocidad de sedimentación globular, no mostraron asociación con la presencia de MMP-9. El género femenino, el hábito tabáquico, los antecedentes de hipertensión arterial y de patología cardiovascular, las alteraciones visuales, los síntomas polimiálgicos y los síntomas y signos generales con excepción de la fiebre, es decir, la astenia, la anorexia, la pérdida de peso, la anemia y los síntomas depresivos, mostraron una asociación inversa con la expresión de MMP-9, esto es, esta MMP-9 se expresaba con más frecuencia en la arteria temporal de los pacientes que no presentaban dichos factores. De cualquier modo, ninguna de estas asociaciones resultó estadísticamente significativa. Por otro lado, el hábito enólico, la diabetes mellitus y los síntomas y signos craneales, salvo las alteraciones visuales, mostraron una asociación positiva con la presencia de MMP-9, aunque ninguna de éstas resultó estadísticamente significativa.

Tabla 15. Asociación entre la expresión o no de MMP-9 y diferentes variables clínico-epidemiológicas continuas de los pacientes.

	MMP-9	Media (DE)	Mediana (rango intercuartil)	p
Edad	+	75,1(7,8)	77(7)	0,40
	-	73,5(10,9)	76(15)	
Días de evolución	+	88,9(81,7)	64(76)	0,12
	-	109,1(204,2)	47(80,5)	
Días en tratamiento glucocorticoide	+	9,4(25,3)	3(7)	0,57
	-	25,8(105)	3(9,8)	
VSG	+	80(33,4)	90(53)	0,56
	-	85,4(26,7)	90(38,3)	

VSG = Velocidad de sedimentación globular. MMP-9 = Metaloproteinasa-9. DE = Desviación estándar. p = grado de significación.

Tabla 16. Asociación entre la expresión de MMP-9 y diferentes características clínico-epidemiológicas categóricas de los pacientes.

	MMP-9 (%)*	OR	IC 95%	p
Género	22,4 / 27,6	0,76	0,34 – 1,70	0,51
Tabaco	27,3 / 29,5	0,90	0,37 – 2,17	0,81
Alcohol	33,3 / 28,4	1,26	0,36 – 4,46	0,74
Hipertensión arterial	27,5 / 30,5	0,87	0,40 – 1,86	0,71
Diabetes	36 / 27,2	1,51	0,60 – 3,80	0,38
Hipercolesterolemia	43,8 / 24	2,47	1,07 – 5,72	0,032
Patología cardiovascular	28 / 29,1	0,95	0,36 – 2,50	0,91
Cefalea	31 / 25,9	1,28	0,58 – 2,83	0,54
Hiperestesia craneal	52,4 / 24,0	3,48	1,32 – 9,15	0,009
Claudicación mandibular	34,8 / 27,5	1,41	0,54 – 3,69	0,48
Alteraciones visuales	27,0 / 29,5	0,88	0,37 – 2,08	0,78
Fiebre	30,4 / 27,8	1,13	0,51 – 2,52	0,76
Astenia	28,6 / 29	0,98	0,45 – 2,12	0,96
Anorexia	24,4 / 31,3	0,71	0,31 – 1,63	0,42
Pérdida de peso	25,5 / 30,8	0,77	0,34 – 1,74	0,53
Anemia	27,6 / 31,6	0,83	0,36 – 1,89	0,65
Síndrome depresivo	21,4 / 29,7	0,65	0,17 – 2,46	0,76
Dolor en cinturas	23,4 / 32,1	0,65	0,28 – 1,48	0,30
Engrosamiento AT	32,4 / 27,5	1,26	0,54 – 2,96	0,59
Dolor palpación AT	50 / 27,7	2,61	0,50 – 13,57	0,35
Disminución del pulso AT	29,4 / 28,6	1,04	0,44 – 2,48	0,93

AT = Arteria temporal. MMP-9 = Metaloproteinasa-9. OR = Razón de probabilidad (odds ratio). IC 95% = Intervalo de confianza del 95%. p = grado de significación.

*Porcentaje de MMP-9 positiva según presencia o no del factor.

Siguiendo la misma estrategia que en el caso de la MMP-2, para eliminar el efecto de posibles variables confusoras sobre la relación entre el resultado de la biopsia y la expresión de MMP-9 se aplicó el mismo modelo de regresión logística, sustituyendo en este caso la MMP-2 por la MMP-9. Los resultados (tabla 17) confirman también los observados en el análisis bivariado. Ajustando por todas las demás variables incluidas en el modelo, la asociación entre resultado de la biopsia y expresión de MMP-9 se mantiene elevada y en sentido positivo (OR ajustada = 2,62; IC95% = 1,13 – 6,09) de forma que las biopsias positivas tienen una probabilidad significativamente mayor de expresar MMP-9. Al igual que en el caso de la MMP-2, el resto de variables independientes no muestran asociación significativa con el resultado de la biopsia.

Tabla 17. Análisis de regresión logística para la MMP-9 y resultado de la biopsia.

VARIABLES	β	OR	IC 95%	<i>p</i>
Edad				
< 70		1		
≥ 70	0,002	1,00	0,41– 2,46	1
Género				
Mujer		1		
Hombre	-0,638	0,53	0,22– 1,24	0,14
Días hasta la biopsia	-0,005	1,00	0,99 – 1,00	0,13
Días de tratamiento	-0,008	0,99	0,97– 1,02	0,53
Año realización	-0,036	0,96	0,72 – 1,29	0,81
MMP-9				
No		1		
Sí	0,965	2,62	1,13 – 6,09	0,025
Constante	72,105			0,81

MMP-9 = Metaloproteinasa-9. β = Coeficiente de regresión. OR = Oportunidad relativa (odds ratio). IC 95% = Intervalo de confianza del 95%. *p* = grado de significación.

En las figuras 14, 15 y 16 se muestran algunos ejemplos de la expresión de MMP-2 y MMP-9 en arterias temporales con diferentes patrones histológicos. La figura 14 corresponde a una arteria sin ACG pero con alteraciones histopatológicas relacionadas con la edad, como cierto grado de hiperplasia intimal observada en la tinción de hematoxilina-eosina y degeneración y reduplicación de la lámina elástica interna evidenciada en la tinción de fibras elásticas. La tinción de inmunohistoquímica para MMP-2 es negativa, mientras que la tinción inmunohistoquímica para MMP-9 revela expresión de esta metaloproteinasa a nivel de la túnica media y la íntima, en el citoplasma de células que aparentan ser de músculo liso. Tanto la figura 15 como la 16 pertenecen a arterias temporales con ACG. En ambas en la tinción de hematoxilina-eosina se observa un infiltrado inflamatorio linfomononuclear que afecta a todas las capas de la arteria, hiperplasia intimal marcada y, en la tinción de fibras elásticas, desaparición de la lámina elástica prácticamente por completo. Una característica diferencial entre ellas es que en la figura 15 se observan células gigantes que no se observan en la 16. Respecto a la expresión de metaloproteinasas, en la figura 15 se observa tan sólo expresión de MMP-9 en el citoplasma de los macrófagos de la túnica media y de la íntima cercanos a la lámina elástica interna y en las células gigantes, siendo negativa la expresión de MMP-2. En la figura 16, sin embargo, se observa tanto expresión de MMP-2 como de MMP-9 en el citoplasma de los macrófagos de la media y de la íntima cercanos a la lámina elástica interna, expresándose también la MMP-9 en células de la media y de la íntima con apariencia de músculo liso. La intensidad de tinción de la MMP-9 es superior a la de la MMP-2.

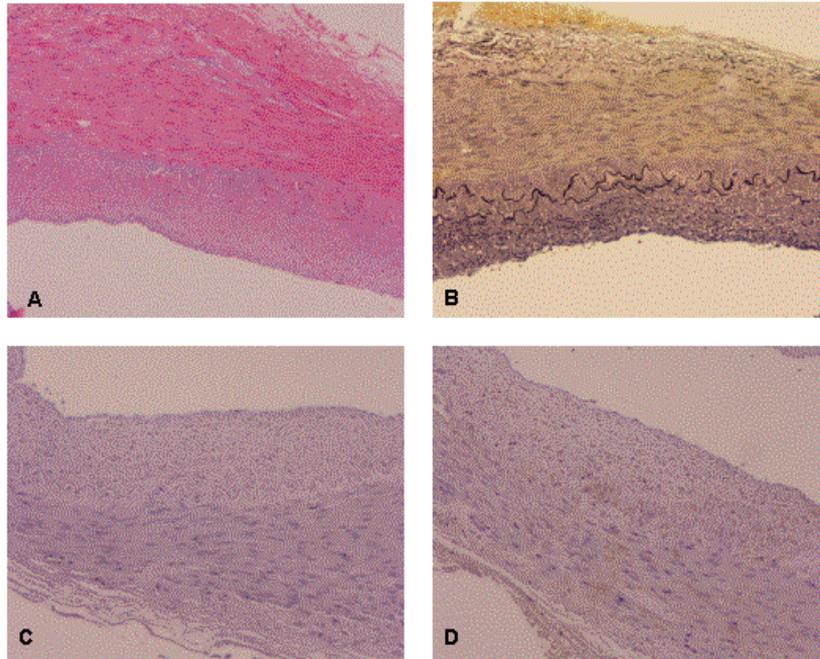


Figura 14. Diversos cortes histológicos y tinciones de una misma arteria temporal sin ACG, pero con cambios relacionados con la edad como la hiperplasia intimal y la degeneración y reduplicación de la lámina elástica interna. A. Tinción de hematoxilina-eosina en la que se aprecia cierto grado de hiperplasia intimal con lo que el grosor de la íntima prácticamente iguala al de la túnica media (100x). B. Tinción de fibras elásticas en la que se puede observar la interrupción de la lámina elástica interna así como su reduplicación y la proliferación de fibras elásticas delgadas en la íntima (100x). C. Tinción de inmunohistoquímica para MMP-2 en la que se observa la ausencia de expresión de esta metaloproteínasa en la pared arterial (100x). D. Tinción de inmunohistoquímica para MMP-9 en la que se puede observar expresión de MMP-9 en el citoplasma de células de la túnica media y de la íntima con apariencia de células de músculo liso (100x).

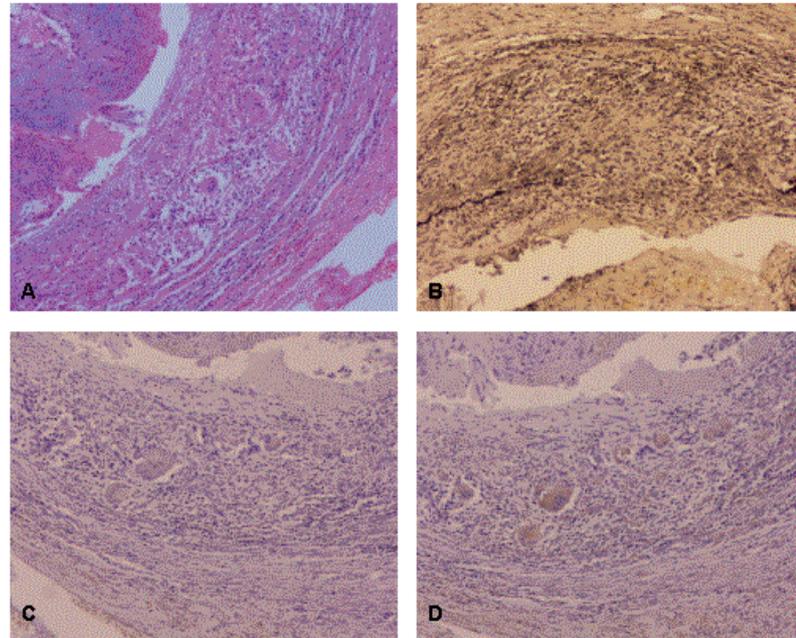


Figura 15. Diferentes cortes histológicos y tinciones de la misma biopsia de arteria temporal con ACG. A. Tinción de hematoxilina-eosina en la que se observa un infiltrado inflamatorio mononuclear que afecta a todas las capas de la pared arterial, con presencia de células gigantes (100x). B. Tinción de fibras elásticas en la que se observa una degeneración importante de la lámina elástica interna con práctica desaparición en algunos lugares (100x). C. Tinción de inmunohistoquímica para MMP-2 en la que se observa ausencia de expresión de dicha metaloproteínasa en la pared arterial (100x). D. Tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-9 en el citoplasma de macrófagos cercanos a la lámina elástica interna y en las células gigantes (100x).

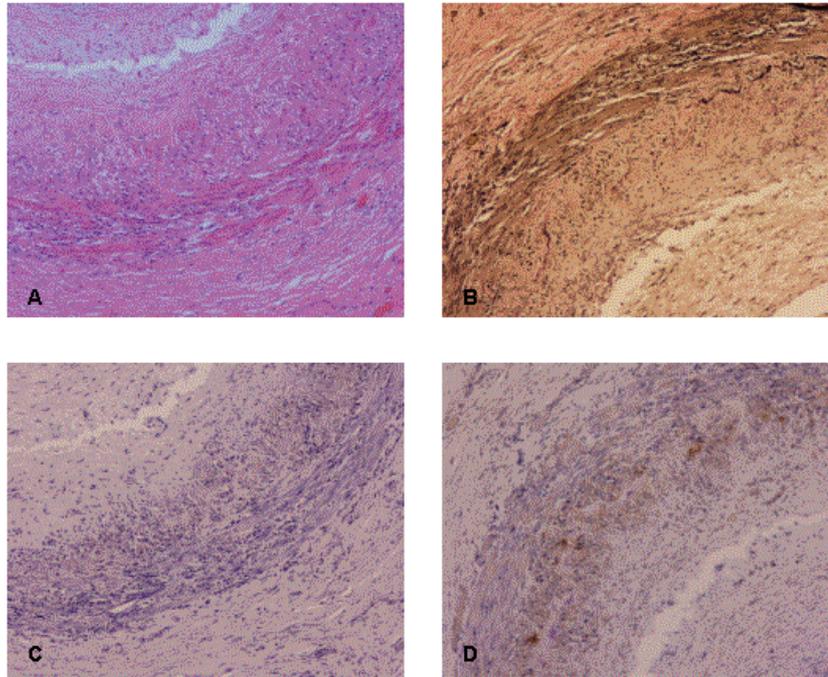


Figura 16. Cortes histológicos y tinciones de una misma arteria temporal con ACG. A. Tinción de hematoxilina-eosina en la que se observa un infiltrado inflamatorio mononuclear en todas las capas de la pared arterial con una importante hiperplasia intimal, pero sin observarse células gigantes (100x). B. Tinción de fibras elásticas en la que se evidencia la práctica desaparición de la lámina elástica interna (100x). C. Tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-2 en el citoplasma de macrófagos de la media e íntima cercanos a la lámina elástica interna (100x). D. Tinción de inmunohistoquímica para MMP-9 que evidencia expresión de esta metaloproteinasa en el citoplasma de los macrófagos de la túnica media e íntima cercanos a la lámina elástica interna, así como en células de la media y de la íntima con apariencia de células de músculo liso. La intensidad de la tinción para MMP-9 es más intensa que para MMP-2 (100x).

7. Características histológicas y clínico-epidemiológicas de los pacientes según el resultado de la biopsia

En primer lugar, se estudió si las diferentes alteraciones histológicas que se han descrito en las arterias temporales de los pacientes de edad avanzada, como la degeneración de la lámina elástica interna, la hiperplasia intimal y la existencia de calcificaciones son más frecuentes en las arterias con ACG que en aquellas sin vasculitis. Además, dado que se ha afirmado que la hiperplasia intimal de las arterias temporales relacionada exclusivamente con la edad avanzada no produce disminución de la luz vascular, se estudió si en nuestras biopsias dicha disminución de la luz se asociaba con la existencia de ACG. Los resultados se muestran en la tabla 18.

Tabla 18. Asociación de diferentes alteraciones histológicas de las arterias temporales relacionadas con la edad y el resultado de la biopsia para ACG.

	Resultado de la biopsia		OR	IC 95%	p
	Positiva (%)	Negativa (%)			
Degen. lámina elástica	94,0	70,1	6,68	1,92 – 23,22	0,001
Hiperplasia intimal	100	87,6	7,71	1,09 – 333,9	0,009
Disminución de la luz	70,0	3,1	73,11	19,97 – 267,98	< 0,0001
Calcificaciones	32,0	44,3	0,59	0,29 – 1,21	0,15

OR = Oportunidad relativa (odds ratio). IC 95 = Intervalo de confianza del 95%. p = grado de significación.

Se observó una asociación positiva significativa muy fuerte entre la existencia de degeneración de la lámina elástica interna (OR = 6,68), la hiperplasia intimal (OR = 7,71) y la disminución de la luz (OR = 73,11) y la

positividad de la biopsia para ACG. La existencia de calcificaciones en la pared arterial mostró una asociación negativa (OR = 0,59) con la existencia de ACG, pero dicha asociación no resultó estadísticamente significativa ($p = 0,15$).

Se compararon las características clínico-epidemiológicas entre los pacientes con biopsia positiva y aquellos con biopsia negativa para ACG. Los resultados se muestran en la tabla 19. Ni los hábitos tóxicos (tabaquismo y enolismo), ni ninguno de los antecedentes patológicos estudiados, incluyendo los factores de riesgo cardiovascular (hipertensión arterial, diabetes mellitus, hipercolesterolemia), los episodios tromboembólicos previos, las enfermedades tiroideas y las neoplasias cutáneas, mostraron una asociación estadísticamente significativa con el resultado de la biopsia de la arteria temporal. Aun así, todos ellos con excepción del antecedente de neoplasia cutánea mostraron una asociación negativa con el resultado de dicha biopsia, es decir, eran más frecuentes en los pacientes con biopsia negativa que en aquellos que tenían biopsia positiva.

Respecto a los síntomas, se encontró que la mayoría de los relacionados con la afectación de las arterias craneales mostraron una asociación estadísticamente significativa, en sentido positivo, con el resultado de la biopsia de la arteria temporal. La cefalea presentó una OR de 4,53, la hiperestesia craneal de 5,89 y la claudicación mandibular de 7,13. Las alteraciones visuales mostraron también una asociación positiva (OR = 1,25), pero ésta no resultó estadísticamente significativa ($p = 0,57$). Los signos relacionados con la afectación de las arterias craneales también mostraron en su mayoría una fuerte asociación con el resultado positivo de la biopsia. Destacaron el engrosamiento (OR = 18,93) y la disminución o ausencia de pulso de la arteria temporal (OR = 11,54). El dolor a la palpación de dicha arteria mostró asociación positiva con el resultado de la biopsia (OR = 1,78), aunque ésta no resultó estadísticamente significativa ($p = 0,49$).

Tabla 19. Asociación entre las características clínico-epidemiológicas de los pacientes y el resultado de la biopsia de arteria temporal.

	Resultado de la biopsia		OR	IC 95%	p
	Positiva (%)	Negativa (%)			
Tabaco	19,1	29,6	0,56	0,24 – 1,34	0,19
Alcohol	2,1	13,6	0,14	0,02 – 1,11	0,06
Hipertensión arterial	44,7	59,3	0,56	0,27 – 1,15	0,11
Diabetes	10,6	24,7	0,36	0,13 – 1,04	0,053
Hipercolesterolemia	21,3	27,2	0,73	0,31 – 1,70	0,46
Patología cardiovascular	12,8	23,5	0,48	0,18 – 1,30	0,14
Patología tiroidea	6,4	9,9	0,62	0,16 – 2,47	0,50
Neoplasia cutánea	6,4	3,7	1,77	0,34 – 9,16	0,67
Cefalea	78,3	44,3	4,53	1,98 – 10,37	< 0,0001
Hiperestesia craneal	32,6	7,6	5,89	2,09 – 16,59	< 0,0001
Claudicación mandibular	37,0	7,6	7,13	2,56 – 19,89	< 0,0001
Alteraciones visuales	32,6	27,8	1,25	0,57 – 2,76	0,57
Fiebre	37,0	36,7	1,01	0,48 – 2,15	0,98
Astenia	58,7	45,6	1,70	0,81 – 3,54	0,16
Anorexia	45,7	30,4	1,93	0,91 – 4,09	0,086
Pérdida de peso	54,3	27,8	3,08	1,44 – 6,60	0,003
Anemia	76,1	65,8	1,65	0,73 – 3,76	0,23
VSG elevada	97,8	81,1	10,5	1,33 – 82,82	0,007
Dolor en cinturas	34,8	39,2	0,83	0,39 – 1,76	0,62
Engrosamiento AT	60,9	7,6	18,93	6,81 – 52,56	<0,0001
Dolor palpación AT	6,5	3,8	1,78	0,34 – 9,14	0,49
Disminución del pulso	56,5	10,1	11,54	4,53 – 29,39	< 0,0001

AT = Arteria temporal. OR = Oportunidad relativa (odds ratio). IC 95% = Intervalo de confianza del 95%. p = grado de significación.

De los síntomas y signos generales estudiados, una VSG por encima de 50 mm fue la variable más fuertemente asociada al resultado positivo de la biopsia (OR = 10,5), seguida de la pérdida de peso, para la que se obtuvo una OR de 3,08. Los demás como la fiebre, la astenia, la anorexia, el síndrome depresivo y la anemia, también mostraron una asociación positiva pero que en ningún caso resultó estadísticamente significativa. El dolor en cinturas, en cambio, mostró una asociación negativa aunque tampoco resultó significativa estadísticamente.

Se estudió también la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de los signos y síntomas clínicos, para profundizar en el conocimiento de éstos como predictores del resultado de la biopsia (tabla 20).

Salvo para la VSG elevada, que presetó la mayor sensibilidad (97,8), la sensibilidad de todas las variables fue en general baja, destacando la cefalea (78,3%), seguida de la anemia (76,1%) y el engrosamiento de la arteria temporal (60,9%). Por el contrario, la especificidad fue por lo general más elevada, destacando la ausencia de dolor a la palpación de la arteria temporal (96,2%) y la ausencia de hiperestesia craneal, de claudicación mandibular, y de engrosamiento de la arteria, todas ellas con una especificidad del 92,4%.

Las manifestaciones clínicas con un mayor valor predictivo de resultado positivo fueron el engrosamiento de la arteria temporal (82,4%), la disminución del pulso (76,5%) y la claudicación mandibular (73,9%). La VSG (93,3%), la cefalea (81,5%), el engrosamiento (80,2%) y la disminución del pulso (78%) son las variables que tuvieron un valor predictivo de resultado negativo más elevado.

Tabla 20. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo de resultado positivo y valor predictivo de resultado negativo de las manifestaciones clínicas como predictores del resultado de la biopsia.

	S (IC 95%)	E (IC 95%)	VP + (IC 95%)	VP - (IC 95%)
Cefalea	78,3 (64,7 – 88,4)	55,7 (44,6 – 66,4)	50,7 (39,2 – 62,2)	81,5 (69,5 – 90,2)
Hiperestesia craneal	32,6 (20,3 – 47,1)	92,4 (84,9 – 96,9)	71,4 (49,8 – 87,5)	70,2 (60,9 – 78,4)
Claudic. mandibular	37 (24 – 51,5)	92,4 (84,9 – 96,7)	73,9 (53,4 – 88,7)	71,6 (62,3 – 79,7)
Alteraciones visuales	32,6 (20,3 – 47,1)	72,2 (61,5 – 81,2)	40,5 (25,7 – 56,8)	64,8 (54,4 – 74,2)
Fiebre	37 (24 – 51,5)	63,3 (52,3 – 73,4)	37 (24 – 51,5)	63,3 (52,3 – 73,4)
Astenia	58,7 (44,1 – 72,2)	54,4 (43,4 – 65,2)	42,9 (31,1 – 55,3)	69,4 (57,1 – 79,9)
Anorexia	45,7 (31,7 – 60,1)	69,6 (58,8 – 79)	46,7 (32,5 – 61,2)	68,8 (58 – 78,2)
Pérdida de peso	54,4 (39,9 – 68,3)	72,2 (61,5 – 81,2)	53,2 (39 – 67,1)	73,1 (62,4 – 82)
Anemia	76,1 (62,2 – 86,7)	34,2 (24,4 – 45,1)	40,2 (30,3 – 50,8)	71,1 (55,3 – 83,7)
VSG elevada	97,8 (89,7 – 99,9)	18,9 (11,2 – 29,0)	42,9 (33,7 – 52,5)	93,3 (71,3 – 99,7)
Dolor en cinturas	34,8 (22,1 – 49,3)	60,8 (49,7 – 71,1)	34 (21,6 – 48,4)	61,5 (50,4 – 71,8)
Engrosamiento AT	60,9 (46,3 – 74,1)	92,4 (84,9 – 96,9)	82,4 (66,9 – 92,5)	80,2 (71,1 – 87,5)
Dolor palpación AT	6,5 (1,7 – 16,7)	96,2 (90 – 99)	50 (14,7 – 85,3)	63,9 (55 – 72,1)
Disminución pulso AT	56,5 (42 – 70,2)	89,9 (81,7 – 95,2)	76,5 (60,2 – 88,4)	78 (68,7 – 85,6)

AT = Arteria temporal. S = Sensibilidad. E = Especificidad. VP + = Valor predictivo del resultado positivo. VP - = Valor predictivo del resultado negativo. IC 95% = Intervalo de confianza del 95%.

Además de calcular la sensibilidad, especificidad y valores predictivos se calcularon los LR (razón de verosimilitud) de resultado positivo y de resultado negativo. Los LR+ más elevados se observaron para el engrosamiento de la arteria, la disminución del pulso, la claudicación mandibular y la hiperestesia craneal. En cuanto a los LR-, una VSG menor o igual a 50 (LR- = 0,11), la ausencia de cefalea y de engrosamiento de la arteria, están muy asociados a una alta probabilidad de resultado negativo de la biopsia (tabla 21).

Tabla 21. Razones de verosimilitud (LR) de resultado positivo y de resultado negativo de las manifestaciones clínicas como predictoras del resultado de la biopsia.

	LR +	LR -
Cefalea	1,77 (1,32 – 2,36)	0,39 (0,22 – 0,70)
Hiperestesia craneal	4,29(1,79 – 10,29)	0,73 (0,59 – 0,90)
Claudicación mandibular	4,87(2,07 – 11,46)	0,68 (0,54 – 0,86)
Alteraciones visuales	1,17(0,68 – 2,02)	0,93 (0,73 – 1,19)
Fiebre	1,01 (0,63 – 1,62)	1 (0,75 – 1,32)
Astenia	1,29(0,92 – 1,81)	0,76 (0,51 – 1,13)
Anorexia	1,50 (0,95 – 2,38)	0,78 (0,58 – 1,06)
Pérdida de peso	1,95 (1,25 – 3,04)	0,63 (0,45 – 0,89)
Anemia	1,16 (0,92 – 1,45)	0,70 (0,38 – 1,27)
VSG elevada	1,21 (1,07 – 1,36)	0,11 (0,02 – 0,84)
Dolor en cinturas	*	*
Engrosamiento AT	8,01(3,59 – 17,9)	0,42 (0,29 – 0,61)
Dolor palpación AT	1,72 (0,36– 8,16)	0,97 (0,89 – 1,06)
Disminución pulso AT	5,58 (2,76 – 11,29)	0,48 (0,35 – 0,68)

* No se calcularon porque el factor era más frecuente en los enfermos con biopsia negativa que en aquellos con biopsia positiva.

AT = Arteria temporal. LR + = Likelihood ratio o razón de verosimilitud del resultado positivo. LR- = Likelihood ratio o razón de verosimilitud del resultado negativo.

Como parte final del análisis de las variables predictoras del resultado de la biopsia se construyó un modelo fijo de regresión logística en el que se incluyeron, por un lado, las variables que resultaron significativas en el análisis bivariado y, por otro, aquellas cuyo efecto se consideró que debía controlarse, como la edad y el género, el tiempo de evolución de los síntomas antes de la

realización de la biopsia, los días de tratamiento previo con glucocorticoides y el año de realización de la biopsia (tabla 22).

Tabla 22. Modelo de regresión logística para el resultado de la biopsia.

VARIABLES	β	OR	IC 95%	p
Edad				0,28
≤ 69		1		
70 – 76	- 1,848	0,16	0,02 – 1,29	
77 – 81	- 1,179	0,31	0,05 – 1,84	
≥ 81	- 0,183	0,83	0,16 – 4,33	
Género				
Mujer		1		
Hombre	-0,311	0,73	0,18 – 3,03	0,67
Días hasta la biopsia	0,002	1,00	0,99 – 1,01	0,65
Días de tratamiento	-0,068	0,93	0,85– 1,03	0,16
Año realización	0,366	1,44	0,88 – 2,38	0,15
Cefalea				
No		1		
Sí	0,570	1,77	0,40 – 7,86	0,45
Hiperestesia craneal				
No		1		
Sí	1,336	3,80	0,57 – 25,18	0,17
Claudic. mandibular				
No		1		
Sí	0,267	1,31	0,22 – 7,82	0,77
Alteraciones visuales				
No		1		
Sí	0,41	1,51	0,34 – 6,83	0,59
Engrosamiento AT				
No		1		
Sí	3,331	27,97	4,32 – 180,89	0,0005
Disminución pulso AT				
No		1		
Sí	2,422	11,27	2,46 – 51,67	0,0018
Pérdida de peso				
No		1		
Sí	1,594	4,92	1,23 – 19,72	0,024
VSG				
≤ 50		1		
> 50	1,115	3,05	0,19 – 49,15	0,43
Constante	-735,7			0,15

VSG = Velocidad de sedimentación globular. β = Coeficiente de regresión. OR = Oportunidad relativa (odds ratio). IC 95% = Intervalo de confianza del 95%. p = grado de significación.

Las variables que resultaron significativa e independientemente asociadas al resultado de la biopsia fueron el engrosamiento arterial (OR = 27,97), la disminución del pulso (OR = 11,27) y la pérdida de peso (OR = 4,92), siendo estas 3 variables fuertes predictores positivos del resultado de la biopsia, es decir, su presencia se halló asociada a una elevada probabilidad de biopsia positiva. Otras variables como la cefalea, la hiperestesia craneal, la claudicación mandibular, las alteraciones visuales y la VSG elevada, que se habían hallado asociadas de forma significativa en el análisis bivariable, perdieron sus significación tras el ajuste multivariable. Respecto a las variables de confusión, en ningún caso se halló asociación entre éstas y el resultado de la biopsia. Así, ni la edad, ni el ser hombre o mujer, ni el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas, ni el tiempo previo de tratamiento con glucocorticoides ni el año de realización de la biopsia tuvieron relevancia a la hora de explicar el resultado. El ajuste del modelo, analizado mediante la prueba de bondad del ajuste de Hosmer y Lemeshow, se consideró bueno ($p = 0,78$). La sensibilidad del modelo fue del 84,8% y la especificidad, del 87,5%, con un porcentaje global de individuos correctamente clasificados del 86,4%.

Discusión

1. **Consideraciones generales**

La ACG es la variedad de vasculitis más frecuente, especialmente en las personas de edad avanzada. Su diagnóstico definitivo solamente puede establecerse demostrando las alteraciones histológicas típicas en la arteria temporal [17]. Debido al mayor conocimiento de esta patología y de sus graves complicaciones potenciales por parte de los clínicos, cada vez se realizan más biopsias de la arteria temporal a pesar de un bajo nivel de sospecha clínica [271]. Como resultado, la tasa de positividad de las biopsias ha disminuido progresivamente de forma significativa a lo largo de las últimas 4 décadas. Así, en un estudio se encontró una tasa de positividad en el condado de Olmsted, Minnesota (EEUU) del 82% en 1960-64 y del 31% en 1970-74 [280], siendo más baja en algunos estudios más recientes, habiéndose descrito tasas del 13,4% [202], del 12,5% [105] y del 11% [281]. Un estudio en Tennessee (EEUU) encontró una tasa de positividad de la biopsia de arteria temporal del 4,4%.

Nuestra tasa de positividad del 34% prácticamente coincide con la del estudio de Gabriel y cols. [271] el cual destaca por el gran número de biopsias incluidas (525) de las que un 33% resultaron positivas para ACG. Es necesario comentar que la técnica de biopsia empleada rutinariamente en nuestro centro difiere en dos aspectos importantes de la utilizada por estos investigadores en su estudio. En primer lugar, en nuestro centro se obtiene un segmento de arteria de aproximadamente 1 cm de longitud frente a segmentos de $3,65 \pm 1,25$ cm obtenidos en el estudio de Gabriel y cols. [271] y, en segundo lugar, la realización de la biopsia contralateral en los casos en los que la primera es negativa no es práctica habitual en nuestro centro. Un dato a tener en cuenta a la hora de valorar esta semejanza de porcentaje de resultados positivos es el número de biopsias que se habían eliminado en cada uno de los estudios. Gabriel y cols. [271] eliminaron 20 de un total de 545 pacientes (3,6%) a los que

se les había realizado biopsia de la arteria temporal por diferentes motivos entre los que destacan la falta de material biopsico disponible, falta de datos en sus historias clínicas, el diagnóstico de una vasculitis sistémica diferente de la ACG y la edad infantil, mientras que en nuestro estudio 28 de las 175 biopsias arteriales (16%) se eliminaron inicialmente por material insuficiente o de mala calidad para la realización de los estudios que nos proponíamos. La similitud de nuestro porcentaje de positividad con el del trabajo citado, hace pensar que el hecho de que el tamaño de las muestras para biopsia sea algo inferior al que se aconseja en la literatura no haya influido en el resultado. Además, es preciso tener en cuenta que, en nuestro caso, el estudio de las biopsias dependía de su disponibilidad y ésta, a su vez, de variables no directamente relacionadas con el proceso patológico. Debido a esto, se puede deducir que el posible sesgo de selección que se haya podido producir es de tipo no diferencial (la proporción de biopsias positivas no diferirá de la encontrada en las biopsias que se han podido estudiar) y, por lo tanto, no se habrá afectado la validez interna del estudio.

La edad media de los pacientes en el momento del inicio de la ACG es de aproximadamente 70 años [115, 271]. Así, la edad media en el momento del diagnóstico de los pacientes con ACG con biopsia positiva en un estudio en Escocia en el período de 1964 a 1977 fue de 73 años [282], en otro estudio en Suecia fue de 71,6 años de 1977 a 1986 [105] y en el condado de Olmsted, Minnesota (EEUU) fue de 72,5 años en el período de 1988 a 1991 [271]. La edad media de los pacientes con biopsia positiva de nuestro estudio fue discretamente superior, 76 años.

En la mayoría de los estudios se ha encontrado que la ACG afecta con más frecuencia al sexo femenino que al masculino. El ratio mujer:varón en el grupo de biopsias positivas de nuestro estudio fue de 3,2:1, coincidiendo con las observaciones de la gran mayoría de los estudios previos en el predominio

de la enfermedad en el sexo femenino. El ratio más elevado hasta donde nosotros sabemos, se encontró en un estudio en Tennessee (EEUU) en el que se incluyeron casos de ACG con biopsia positiva y casos probables y fue de 7,7 [107], y el más bajo, curiosamente, en el noroeste de España donde, considerando solamente pacientes con biopsia positiva, en el período de 1981 a 1990 se encontró un predominio de la ACG en hombres [283], mientras que en el período de 1988 a 1997 la incidencia en ambos sexos se igualó [109]. En Olmsted, Minnesota (EEUU), entre 1950 y 1985 considerando tanto pacientes con ACG con biopsia positiva como con negativa, se encontró una incidencia 3 veces superior en el sexo femenino [104], y en un estudio realizado entre 1988 y 1991, el ratio mujer:hombre en este caso considerando sólo pacientes con ACG con biopsia positiva fue de 2,2:1 [271]. En Suecia, en dos estudios en los que se incluían sólo los casos de ACG con biopsia positiva, se encontró que el ratio mujer:hombre entre 1977 y 1986 era de 3,4 [105] y entre 1976 y 1995 de 3 [202], ambos muy similares al encontrado en nuestros pacientes. Por último, en dos estudios publicados recientemente, uno llevado a cabo por un grupo diferente de investigadores de Barcelona [284] y el otro por un grupo de Israel se han encontrado sendos ratios de 2 [285].

En nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas respecto al tiempo de evolución de los síntomas antes de la biopsia entre los pacientes con biopsia positiva y aquellos con biopsia negativa, dato que coincide con lo encontrado por Gabriel y cols. en su estudio [271]. Estos autores encontraron una duración media de 4,4(6,74) meses en los pacientes con biopsia positiva, que fue discretamente superior a la nuestra de 2,3(1,9), y de 4,9(7,56) meses en aquellos con biopsia negativa, en este caso muy similar a la de nuestro estudio que fue de 4,5(7,3). Huston y cols.[280] encontraron que el tiempo de duración de los síntomas antes del diagnóstico oscilaba desde menos de 1 mes hasta 11 meses con una mediana de 1 mes.

Aunque en general se acepta que siempre que sea posible la biopsia de la arteria temporal debe realizarse antes de iniciar el tratamiento con glucocorticoides ya que éste puede alterar su resultado [115, 286], se ha demostrado que las alteraciones histológicas de arteritis pueden persistir hasta más de dos semanas después del inicio del tratamiento [145, 153]. La actividad clínica intensa de nuestro hospital hace que no siempre sea posible la realización de la biopsia en los primeros momentos tras la sospecha diagnóstica, por lo que con frecuencia es necesario iniciar el tratamiento antes de su práctica. De este modo, el 13% de nuestros pacientes con biopsia positiva habían recibido tratamiento con glucocorticoides antes de la realización de la biopsia arterial siendo la mediana de la duración de este tratamiento 6(8) días. Del mismo modo, un 27,8% de los pacientes con biopsia negativa habían recibido dicho tratamiento antes de la biopsia con una mediana de duración también de 6(13) días. El análisis estadístico no evidenció diferencias significativas del resultado de la biopsia en relación a los días de tratamiento previo con glucocorticoides, lo que concuerda con lo observado por Gabriel y cols. [271] quienes encontraron que el 47% de los pacientes de su estudio habían recibido tratamiento con glucocorticoides antes de la realización de la biopsia de la arteria temporal. Utilizando el análisis de regresión logística múltiple para controlar las diferencias de las manifestaciones clínicas y de laboratorio, demostraron que la tasa de positividad de la biopsia no estaba relacionada con el tratamiento previo con glucocorticoides [145].

El hecho de que solamente pudiéramos recuperar la historia clínica de 125 pacientes (pérdida del 15% de los datos clínicos), limita a estos pacientes nuestro conocimiento sobre las manifestaciones clínicas y el diagnóstico establecido en los casos con biopsia negativa. De esos 125 pacientes, 75 (60%) tenían biopsia negativa. Tan sólo el 20% de éstos habían sido diagnosticados de ACG en base a criterios clínicos a pesar de ser negativa la biopsia de la arteria temporal. En el 80% restante se había descartado

definitivamente esta patología y no se había iniciado o se retiró el tratamiento con glucocorticoides, salvo en el 17,3% de los casos con PMR. Consideramos que el hecho de que tan sólo una pequeña proporción de los pacientes con biopsia negativa fueran diagnosticados de ACG hace que aumente la fiabilidad del resultado de nuestras biopsias a pesar de las limitaciones que se le pudieran suponer a nuestra técnica.

Otro dato a aclarar es que no es práctica habitual en nuestro centro la realización de biopsia de arteria temporal en los casos en los que se sospecha una PMR aislada. Por ello, los 13 pacientes que finalmente fueron diagnosticados de PMR a los que se les realizó biopsia arterial, habían presentado durante su evolución algún síntoma que hizo sospechar la ACG, generalmente cefalea. El resultado negativo de la biopsia sirvió para descartar la ACG y se inició el tratamiento con glucocorticoides a dosis bajas o se disminuyó la dosis iniciada previamente.

El análisis de los diagnósticos alternativos diferentes a la PMR que se habían establecido, nos puede ayudar a hacernos una idea del tipo de manifestaciones clínicas que condujeron a la sospecha errónea de la ACG. Por una parte estaban las vasculitis, en concreto la poliarteritis nudosa, la artritis bien reumatoide o de otro tipo y un caso de una enfermedad sistémica autoinmune, la dermatopolimiositis. En estos casos las manifestaciones clínicas de dolor articular, la elevación de los reactantes de fase aguda, la anemia, la fiebre y otros síntomas generales fueron probablemente las causantes de la sospecha de ACG. Otro gran grupo fue el de las enfermedades infecciosas, en cuyo caso la fiebre inicialmente de origen desconocido, y en ocasiones otros síntomas como la cefalea, bien secundaria a la fiebre o por la misma infección como en el caso de la meningitis, los síntomas respiratorios, frecuentes en los pacientes con ACG, o los síntomas generales como la pérdida de peso, especialmente en el caso de tuberculosis, fueron las manifestaciones que

condujeron a los clínicos a solicitar la biopsia de la arteria temporal. En algunos casos existía otra patología añadida del paciente que aumentaba la sospecha, por ejemplo un ulcus duodenal o insuficiencia renal en un paciente con aterosclerosis que producían anemia.

Los síntomas oculares secundarios a patología vascular ocular de diferente origen, en concreto a aterosclerosis y a retinopatía hipertensiva y diabética, constituyeron otra fuente de confusión. Algo similar sucedió, aunque en escasas ocasiones, con la sintomatología neurológica focal y la cefalea relacionadas con diferentes tipos de accidentes vasculares cerebrales. Por último, en algunos casos la biopsia de arteria temporal se solicitó en pacientes que presentaban síntomas típicos de ACG aunque poco específicos como la cefalea, anemia, problemas oculares y deterioro de su estado general, en los que la negatividad de la biopsia y, en algunos casos la falta de respuesta al tratamiento con glucocorticoides en ausencia de otros signos y síntomas propios de la ACG, hicieron descartar este diagnóstico.

A pesar de que no pudimos disponer de la historia clínica de 22 pacientes a los que se les había realizado una biopsia de la arteria temporal, para llevar a cabo la mayor parte de nuestro estudio, basada principalmente en comparaciones entre las biopsias positivas y negativas, se utilizaron todas las biopsias posibles de arteria temporal, eliminando tan sólo aquellas que, bien por su baja calidad o por insuficiente cantidad de tejido, resultaban inviables para las determinaciones que proponíamos. Se consideró que existían varias razones que aconsejaban incluir, aparte del mayor número posible de biopsias positivas para ACG, también el mayor número de aquellas que no presentan signos histológicos de esta vasculitis. En primer lugar, todas las biopsias se habían realizado por una sospecha de ACG y todas eran de personas mayores, por lo que se podía intuir que la mayoría de las que no presentarían inflamación a nivel de la arteria temporal, sí que presentarían, en cambio, alteraciones

relacionadas con la edad, como son cierto grado de degeneración de la lámina elástica y de hiperplasia intimal. Puesto que estas dos características histológicas son comunes, aunque en diferente grado, a la ACG, consideramos importante estudiar si las MMP intervenían en ambos casos, y la contribución específica de cada una de ellas. En segundo lugar, los virus que nos propusimos estudiar son ubicuos en el ser humano y su detección en una muestra biológica no implica que necesariamente estén causando una patología. En un estudio previo, el parvovirus B19 fue detectado en diferentes muestras arteriales de personas de edad avanzada, independientemente de la existencia de vasculitis, habiéndose relacionado su presencia con la edad avanzada y no con el proceso vasculítico [215]. Estos resultados no concuerdan con los de los otros estudios [83, 89] y aunque esta discordancia puede ser consecuencia de la prevalencia general de este virus concreto en las diferentes poblaciones, consideramos interesante la investigación en nuestra población.

La gran mayoría de las arterias negativas para ACG mostraban cierto grado de hiperplasia intimal, aunque en ningún caso comprometía de forma importante la luz vascular y cierto grado de degeneración de la lámina elástica interna, cambios que probablemente tenían relación con la edad avanzada de los pacientes.

2. Parvovirus B19 y virus herpes en la ACG

Hasta donde nosotros sabemos, este estudio es el que ha incluido el mayor número de biopsias de la arteria temporal para determinar la posible asociación entre la arteritis temporal de células gigantes (ACG) y la presencia de parvovirus B19, virus herpes simple 1 (VHS1) ó 2 (VHS2), virus varicela-zoster (VVZ), citomegalovirus (CMV), virus herpes humano tipo 6 (VHH6) o virus de Epstein-Barr (VEB) en dicha arteria. Los resultados claramente

negativos de nuestro estudio van en contra de la hipótesis de que alguno de estos virus esté implicado en la etiopatogenia de la ACG.

No obstante, antes de considerar estos resultados como definitivos, es necesario discutir qué factores podrían haber influido por sí mismos en ellos, para intentar descartarlos como una posible causa de la negatividad de los resultados. En primer lugar, tanto la técnica de PCR utilizada para la detección de parvovirus B19 como la múltiple utilizada para la detección de los diferentes virus herpes son técnicas de alta sensibilidad y especificidad y han sido validadas en protocolos internacionales multicéntricos de control de calidad [278]. La PCR múltiple de herpes ha sido validada por ensayo multicéntrico para herpes simple (VHS), virus varicela zoster (VVZ) y citomegalovirus (CMV), pero no para el virus herpes humano 6 (VHH6) ni para el virus de Epstein-Barr (VEB), ya que no se conocen ensayos multicéntricos sobre éstos. Su validación se ha hecho para su utilización en detección de virus en líquido cefalorraquídeo, lo cual implica que la sensibilidad debe ser máxima, pues en líquido cefalorraquídeo las concentraciones de genomas víricos durante las infecciones son muy bajas.

Debido a que el plásmido utilizado como sistema de control interno tanto en la PCR de parvovirus como en la múltiple de herpes se incluyó en el tampón de lisis, éste debe ser transportado durante todo el proceso, permitiendo la detección de errores de manipulación. Además, la utilización de un número limitado de moléculas plasmídicas hace posible controlar la presencia de cualquier factor que afecte la sensibilidad de la reacción en cada tubo. Como consecuencia, la posibilidad de falsos negativos disminuye significativamente con la utilización de este sistema de control interno.

Por otra parte, ambas técnicas de PCR son utilizadas de forma rutinaria con fines diagnósticos en el laboratorio en el que se realizó este estudio, por lo que existe un cierto riesgo de falsos positivos debidos a contaminaciones lo que

hace necesaria la confirmación de todos los resultados positivos obtenidos en una primera determinación. El hecho de que ninguno de los 3 resultados positivos iniciales para parvovirus se confirmara tras la segunda determinación parece apuntar que corresponden a contaminaciones, aunque podría deberse a que la concentración de ADN vírico en estas muestras se encuentra en el límite de sensibilidad de nuestra técnica. Aun en el caso de este segundo supuesto, el hecho de que tan sólo existieran 3 resultados positivos a título bajo, tampoco apoyaría un papel importante de este virus en la ACG.

Entre las limitaciones de nuestro estudio, un aspecto a considerar es la influencia de la antigüedad de las muestras sobre la calidad del ADN. Según diversos autores, una antigüedad de las muestras de hasta 5 años no disminuye la calidad del ADN extraído utilizando diferentes métodos [287, 288]. Se puede asumir, por tanto, que el paso del tiempo no ha influido de forma negativa en la calidad del ADN extraído de nuestras biopsias, recogidas en los últimos 4 años.

El efecto de la inclusión en parafina y la fijación con formaldehído sobre el ADN de las muestras estudiadas es otro punto a tener en cuenta. Se sabe que el tejido conservado en parafina, especialmente cuando se han utilizado mezclas de fijadores ácidos, como es el caso del formaldehído de nuestras biopsias, puede sufrir alteraciones de los ácidos nucleicos, es decir, degradación del ADN, lo que dificulta su amplificación mediante PCR. A este respecto, se ha comprobado que el factor limitante principal viene dado por la longitud de pares de bases (bp) de los amplicones resultantes de la primera reacción de la PCR anidada o sucesiva. En general, fragmentos de hasta 400 bp pueden ser amplificados en la primera reacción sin que hayan sido afectados de forma importante por la degradación del ADN [289]. Cuanto más pequeños sean los fragmentos amplificados en la primera reacción, menos probabilidad de que la degradación del ADN producida como consecuencia de

los fijadores utilizados y de la inclusión en parafina influya negativamente en la PCR. En nuestro caso, los productos amplificados en la primera reacción de la PCR de parvovirus B19 tenían 211 bp y los de la PCR de herpes virus 194 bp, por lo que parece poco probable que la degradación del ADN haya influido de forma relevante en nuestros resultados negativos.

El parvovirus B19 puede producir infección persistente y recurrente tanto en pacientes inmunodeprimidos como inmunocompetentes. La infección por parvovirus B19 humano da lugar a una amplia variedad de manifestaciones clínicas entre las que se incluyen la infección asintomática, los síntomas respiratorios, el eritema infeccioso o quinta enfermedad, un síndrome similar en adultos, las crisis aplásicas en pacientes con anemia hemolítica, la supresión crónica de la médula ósea en los huéspedes inmunodeprimidos y el hidrops fetal. El parvovirus B19 también se ha encontrado asociado con un cuadro de anemia neonatal con trombocitopenia, púrpura trombótica trombocitopénica, disfunción hepática, diversos síndromes neurológicos y miocarditis [290]. La infección por este virus también se ha encontrado en pacientes con vasculitis sistémica y artritis inflamatoria [82].

Staud y Corman [214], comunicaron un caso de ACG e infección persistente por parvovirus B19 con concentraciones elevadas de virus en la sangre, pero no llevaron a cabo la detección de ADN viral a nivel de la arteria temporal. Posteriormente, Gabriel y cols. [83], utilizando biopsias incluidas en parafina, estudiaron la presencia de ADN de parvovirus B19 en una serie de 50 pacientes consecutivos a los que se les había realizado biopsia de la arteria temporal. Encontraron ADN de parvovirus B19 en 7 (54%) de las 13 biopsias con alteraciones histológicas de ACG y sólo en 4 (11%) de las 37 biopsias sin ACG. La diferencia resultó estadísticamente significativa ($p = 0,0013$) lo que sugería que el parvovirus B19 podía estar implicado en la patogenia de la ACG. Una gran parte de estos resultados fueron confirmados mediante una técnica

diferente de PCR en otro centro diferente, el Centro para el Control de las Enfermedades de Estados Unidos (CDC) obteniendo un alto grado de correlación de los resultados (97% de acuerdo; $\kappa = 0,9$).

Salvarani y cols. [215], estudiaron la presencia de ADN de parvovirus B19 mediante PCR en diferentes muestras de tejido arterial: 1) biopsias de arteria temporal frescas de 31 pacientes con alteraciones histológicas de ACG, 43 pacientes con PMR aislada y 19 controles apareados por edad con un diagnóstico diferente de ACG y PMR; 2) piezas quirúrgicas en fresco de aorta o arteria carotídea de 32 pacientes con patología aterosclerótica; 3) muestras frescas de 14 aortas fetales obtenidas por autopsia. Detectaron ADN de parvovirus B19 en 20 (64,5%) de las 31 arterias temporales con ACG, en 33 (76,7%) de las 43 arterias temporales de pacientes con PMR aislada, en 14 (73,7%) de las 19 arterias temporales del grupo control, en 21 (65,6%) de las 32 muestras quirúrgicas de aorta o arteria carótida de pacientes con aterosclerosis y en ninguna de las 14 aortas fetales. Las diferencias observadas entre los pacientes con ACG, PMR y los del grupo control no resultaron estadísticamente significativas. Concluyeron que el parvovirus B19 está presente en igual proporción en el tejido arterial de las personas de edad avanzada, independientemente de la existencia de alteraciones histológicas de ACG.

Por último, Helweg-Larsen y cols [89], estudiaron la presencia de ADN de parvovirus B19 en 30 biopsias de arteria temporal de pacientes con sospecha de ACG, 13 con alteraciones histológicas de ACG, 2 de pacientes con clínica de ACG pero con biopsia negativa, 10 de pacientes con PMR aislada y 5 de pacientes con otras enfermedades diferentes de la ACG y la PMR (2 tenían artritis reumatoide y 3 neoplasias). Utilizaron el mismo método de PCR que Gabriel y cols. [83], con iniciadores dirigidos contra regiones codificantes de la proteína estructural NSI junto con un ensayo adicional dirigido

contra la región VPI, con la optimización adicional de utilizar un procedimiento “touch-down”. Todos los resultados fueron negativos para parvovirus B19. A diferencia de Gabriel y cols. [83], que extrajeron el ADN de muestras conservadas en parafina, estos investigadores utilizaron ADN extraído de bloques de biopsias arteriales que habían sido criopreservadas utilizando alcoholes de elevado peso molecular. Aunque no existen datos comparativos del ADN extraído de tejido criopreservado frente al obtenido de tejido incluido en parafina, estos autores sostienen que no existe ninguna razón para pensar que la integridad del ADN obtenido de tejido criopreservado es inferior a la del ADN procedente de tejido parafinado, en el cual la degradación del ADN y la inhibición de la PCR sí que pueden constituir un problema. Concluyeron que sus resultados no confirman la asociación entre el parvovirus B19 y la ACG.

Nuestros hallazgos concuerdan con los de estos últimos autores [89] a pesar de que, a diferencia de ellos, obtuvimos el ADN de biopsias conservadas en parafina como hicieron Gabriel y cols. [83]. Por otra parte, como se ha comentado anteriormente, cuanto mayores sean los fragmentos de ADN amplificados en la primera o en la única reacción de una PCR mayor es la probabilidad de que la degradación del ADN inducida por la parafina y los fijadores utilizados influyan en el resultado. En este sentido, el hecho de que los amplicones obtenidos tras la primera reacción en nuestro estudio fueran de 211 bp, menores que los fragmentos de 292 bp amplificados por los otros investigadores en su estudio [83], hace que sea más probable que se vieran afectados los resultados de estos últimos investigadores que los nuestros.

Por otra parte, aunque nuestras conclusiones coinciden con las de Salvarani y cols. [215], en el hecho de que la presencia de parvovirus B19 a nivel de la arteria temporal no parece estar asociado con la existencia de evidencia histológica de ACG, nuestros resultados difieren de los suyos respecto a la presencia de ADN de parvovirus B19 en aproximadamente el 60-

70% de las arterias temporales de personas mayores tanto con ACG como sin ella. Una posible explicación de esos resultados discordantes, sería la diferente prevalencia del parvovirus en las distintas áreas geográficas. Otra posibilidad es que si los casos por parvovirus B19 descritos en la literatura correspondiesen a infecciones agudas y no a reactivaciones, entonces las diferencias de resultados entre los estudios podrían deberse a que el momento epidemiológico en el que están recogidas las muestras de cada estudio es diferente. Parvovirus B19 produce picos epidémicos bianuales cada 4 ó 5 años, de forma que, buscar este virus durante los picos o durante los períodos interepidémicos no tiene nada que ver tal y como se ha observado en trabajos que buscan ADN de parvovirus B19 en donantes de sangre [291, 292]. Las diferencias de prevalencia son enormes y se ha atribuido a que unas determinaciones se habían llevado a cabo durante el pico epidémico y otras durante el período interepidémico.

Una de las importantes limitaciones de todos los estudios realizados hasta el momento es la falta de realización de determinaciones serológicas, tanto para determinar anticuerpos IgG e IgM anti parvovirus B19 que podrían ayudar a diferenciar una infección antigua de una aguda como para determinar ADN de parvovirus en suero cuya presencia apuntaría hacia una infección aguda.

Por otra parte, como la ACG presenta predilección por personas de edad avanzada, se ha pensado que la reactivación de una infección latente podría ser la causa desencadenante. Los virus herpes tienen la capacidad de producir infección latente que posteriormente puede reactivarse, además pueden originar inflamación mediada por células T y algunos de ellos inducen la formación de células gigantes, como el VHS [217] y el VEB [216]. Estas características despertaron nuestro interés y el de algunos otros investigadores por estudiar su posible papel etiopatogénico en la ACG.

Nuestros resultados negativos para los virus herpes estudiados concuerdan con los de Nordborg y cols. [220], quienes tan sólo estudiaron la presencia del VVZ en 10 arterias con histología de ACG mediante PCR e inmunohistoquímica sin encontrar ningún resultado positivo, así como con los resultados de Helweg-Larsen y cols. [89] que, junto con la presencia de parvovirus B19 y también de *Chlamydia pneumoniae*, en el estudio detallado anteriormente utilizando material criopreservado, también estudiaron la de ADN de los ocho virus herpes mediante PCR. Hasta el momento, ninguno de los estudios realizados ha demostrado un posible papel etiopatogénico de ninguno de los virus herpes en la ACG.

Los resultados de nuestro estudio parecen descartar definitivamente el papel de parvovirus B19 y de los virus herpes VHS, VVZ, CMV, VHH6 y VEB en la etiopatogenia de la ACG. De todos modos, puesto que los resultados de los diferentes estudios son contradictorios, especialmente en el caso de parvovirus, se debería considerar el diseño de nuevos estudios prospectivos en los que se determine la presencia de ADN de este virus en muestras de arteria temporal frescas junto con la detección en suero de anticuerpos anti-IgM y ADN de parvovirus.

3. Metaloproteinasa-2 (MMP-2) y 9 (MMP-9) en la ACG

Hasta donde nosotros sabemos, nuestro trabajo es el que ha estudiado la presencia de metaloproteinasas en el mayor número de arterias temporales y el único que, desde un punto de vista epidemiológico, ha intentado correlacionar estas enzimas con diferentes alteraciones histopatológicas así como con múltiples manifestaciones clínicas de los pacientes. Los estudios sobre el posible papel de las metaloproteinasas en la ACG son realmente escasos y los que se han publicado hasta el momento, incluyen un número muy limitado de biopsias.

Nuestros datos apoyan que la MMP-2 parece estar constitutivamente expresada en determinadas células de la pared arterial sin poder descartarse que tenga alguna responsabilidad en los cambios histopatológicos producidos en las arterias temporales por la edad tanto en pacientes con ACG como sin ella, mientras que la MMP-9 puede tener un papel en la producción del daño tisular en la ACG.

En nuestros pacientes, la expresión de MMP-2 no difería significativamente entre las biopsias positivas y las negativas. Sin embargo, la MMP-9 se expresaba con una frecuencia más de dos veces superior en los pacientes con ACG que en aquellos con biopsia negativa.

Weyand y cols. [235] estudiaron exclusivamente la expresión de MMP-2 mediante inmunohistoquímica en 5 arterias temporales con ACG, encontrando en todas ellas expresión de dicha MMP. Resulta difícil comparar estos datos con los nuestros, por una parte, por el hecho de que estudiaron un número muy limitado de muestras, que pudieron haber sido previamente seleccionadas en base a sus alteraciones histológicas muy marcadas y, por otra, porque no incluyeron arterias sin inflamación.

Nuestros resultados se asemejan a los de Nikkari y cols. [243], quienes encontraron que la MMP-2 se expresaba ubicuamente tanto en las arterias positivas como en las negativas para ACG, mientras que la MMP-9 sólo se expresaba en 6 de las 10 biopsias positivas para ACG que estudiaron, es decir, en un 60% frente al 40% de nuestro estudio. A diferencia de ellos, nosotros encontramos expresión de esta MMP en algunas de las biopsias negativas para ACG. El hecho de que las arterias que estos investigadores incluyeron en el grupo control tuvieran una lámina elástica interna muy bien conservada, en contraste con la gran mayoría de las arterias que nosotros utilizamos como controles, que mostraban cierto grado de degeneración de la lámina elástica relacionada con la edad, pudo ser el factor principal causante de esta

diferencia, aunque también pudo contribuir el diferente número de biopsias estudiadas.

Por otro lado, Sorbi y cols. [242], detectaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa transcripción de la MMP-9 en las arterias temporales de los pacientes con ACG que estudiaron, aunque no especifican en cuántos casos y no intentaron su detección en arterias no inflamadas. Además, estos investigadores encontraron que la actividad de la gelatinasa sérica y la concentración de MMP-9 en suero estaban significativamente elevadas en los pacientes con ACG que no habían recibido tratamiento respecto al grupo de voluntarios sanos, lo que va a favor de un papel de esta MMP-9 en la etiopatogenia de la ACG.

Tomita y cols. [265], encontraron tinción de inmunohistoquímica débilmente positiva para MMP-2 y MMP-9 en las 3 biopsias negativas para ACG que estudiaron. En las 7 biopsias con ACG que utilizaron la intensidad de la tinción fue moderada o intensa para ambas enzimas. Junto con la presencia de MMP, también investigaron la de los inhibidores de las MMP (TIMP) mediante inmunohistoquímica y de su ARN mensajero mediante hibridación *in situ*. Encontraron que en los casos de ACG existía un marcado aumento de las MMP respecto a los TIMP, lo que les hizo sugerir que un desajuste de esta relación podría estar involucrado en la patogenia de la ACG.

Nuestros datos coinciden con los de estos últimos autores en el hecho de que también encontramos expresión de MMP-2 y MMP-9 en arterias no inflamadas y que la intensidad de tinción en estos casos es menor que en las arterias con ACG, pero difieren en el hecho de que no encontramos tinción positiva para las MMP en todas las arterias. Esto último podría explicarse bien por el menor número de muestras estudiadas por ellos o por una diferente sensibilidad de la técnica de inmunohistoquímica utilizada.

En resumen, cabe destacar que tanto en nuestro estudio como en el de Nikkari y cols. [243] y en el de Tomita y cols. [265], la MMP-2 se expresa ubicuamente tanto en arterias temporales con ACG como sin vasculitis. Puesto que las arterias utilizadas como controles en todos estos estudios mostraban cambios relacionados con la edad, no podemos asegurar que esta MMP se exprese de forma constitutiva por las células de la pared arterial, sino que también podría deberse a que esté implicada en el desarrollo de las alteraciones histológicas relacionadas con la edad. Por el contrario, la MMP-9 parece relacionarse más específicamente con la ACG, aunque su hallazgo en algunas de las biopsias sin vasculitis, hace que no se pueda descartar que también pueda jugar algún papel en las alteraciones por la edad.

En consonancia con nuestras observaciones, se ha comprobado que las células de la pared de los vasos sanguíneos normales humanos producen de forma constitutiva MMP-2, TIMP-1 y TIMP-2 *in vitro* [293]. Además, las arterias normales y las arterias con aterosclerosis presentan tinción de inmunohistoquímica positiva para MMP-2, TIMP-1 y TIMP-2, aunque las arterias normales no contiene actividad enzimática, a diferencia del tejido aterosclerótico, lo que sugiere un estrecho control de la actividad de la MMP a través de su inhibidor [259, 294], quizás en relación a una cantidad abundante de zimógeno. Thompson y cols. [261], mediante zimografía de cultivos orgánicos encontraron que tanto la aorta normal, como la que presenta aterosclerosis oclusiva y la aneurismática presentan actividad de gelatinasa de 72-kD, que coincide con la MMP-2 en cantidades similares, lo que sugiere que esta MMP no está selectivamente aumentada en la patología aneurismática.

La situación es diferente con la MMP-9. Se ha comprobado que, a diferencia de las arterias normales, las placas ateroscleróticas presentan tinción de inmunohistoquímica positiva para colagenasa intersticial o MMP-1, MMP-9 y estromelina o MMP-3 y además existe actividad enzimática [259]. En las

lesiones ateroscleróticas de las arterias coronarias también se ha comprobado la expresión de MMP-9 [260]. Otro estudio demostró que en el tejido aórtico patológico, tanto en casos de aterosclerosis como de aneurismas, existe una mayor cantidad de actividad gelatinolítica que en la aorta normal, que principalmente es debida a una producción aumentada de MMP-9 [261].

De todo esto se puede deducir que la MMP-9 juega un papel activo en diversas patologías vasculares, mientras que la MMP-2 parece ocupar un segundo plano. Por último hay que recordar que el hecho de que exista expresión de una metaloproteinasa por inmunohistoquímica no indica nada sobre su actividad enzimática ya que los zimógenos carecen de actividad y los TIMP pueden bloquear las MMP activadas. En nuestro trabajo no hemos determinado la actividad enzimática de estas metaloproteinasas, por lo que no podemos saber si las enzimas estaban activas o no en el momento de su realización. Esto no ha sido estudiado en la ACG y pensamos que podría ser objeto de una investigación más profunda.

3.1. Localización de la MMP-2 y la MMP-9 en la biopsia

Tanto la MMP-2 como la MMP-9 se detectaron en el citoplasma de los macrófagos de la túnica media y de la íntima cercanos a la lámina elástica interna fragmentada, en células gigantes, que característicamente se localizan cerca de dicha lámina elástica y en células de la media y de la íntima con apariencia de músculo liso. Prácticamente no se observó expresión de ninguna de estas MMP en la adventicia.

Weyand y cols. [235] encontraron expresión de MMP-2 en una subpoblación de macrófagos situados de forma preferente en la túnica íntima, particularmente los cercanos a la lámina elástica interna, así como en algunos macrófagos de la media y en las células gigantes. La mayoría de los pacientes

tenían una población pequeña pero diferente de macrófagos situados a lo largo de la lámina elástica interna que expresaban MMP-2. Estos investigadores tan sólo estudiaron la presencia de esta MMP en 5 arterias de pacientes con ACG pero no en arterias no inflamadas. No hacen referencia a la tinción para MMP-2 en células de músculo liso. En la mayoría de nuestras arterias con ACG en las que se expresaba MMP-2 lo hacía tanto en células inflamatorias como en células de músculo liso [235].

Por otro lado, Nikkari y cols. [243] encontraron que la MMP-2 se expresaba en todas las capas arteriales aunque no especificaron qué células la expresaban. A diferencia de ellos, nosotros no encontramos expresión de MMP-2, ni tampoco de MMP-9, en la adventicia. La expresión de MMP-9 en las biopsias con ACG se limitaba a los macrófagos y las células gigantes cercanas a la lámina elástica fragmentada, pero no la encontraban como nosotros en las células de músculo liso.

Sorbi y cols. [242], han sido los únicos investigadores que, además de nosotros, han detectado la presencia de MMP-9 en células con apariencia de músculo liso cercanas a zonas de degeneración de la lámina elástica en las arterias con ACG. A diferencia de la técnica de inmunohistoquímica empleada en nuestro estudio, utilizaron la detección de ARN mensajero de MMP-9 mediante reacción en cadena de la polimerasa. El hecho de que utilizaran una técnica diferente a la de nuestro estudio, refuerza la fiabilidad de este hallazgo, sin embargo no comentan que encontraran MMP-9 en los macrófagos. Estos investigadores sugieren que las células de músculo liso, una vez activadas, pueden ser la principal fuente de MMP-9 y, en último término, ser las responsables de la degeneración de la elastina.

Tomita y cols. [265], encontraron que las arterias sin inflamación expresaban MMP-2 y MMP-9 en fibras elásticas, células de músculo liso y en fibroblastos. En las arterias con ACG estas MMP se localizaban en las fibras

elásticas fragmentadas de la media y en algunos linfocitos. Aunque en nuestro estudio no utilizamos una tinción específica para identificar las células linfocitarias y no podemos asegurar por completo que alguno de ellas no expresara esta MMP, es cierto que la inmensa mayoría de las células inflamatorias que expresaban MMP fueron macrófagos y células gigantes.

Aunque son pocos los estudios que han comentado que encuentren expresión de MMP en las células de músculo liso de la pared arterial en los casos de ACG, se ha comprobado que estas células *in vitro* son capaces de producir secreción de elastasas [293, 295]. Henney y cols. [296] detectaron la presencia de ARN mensajero de estromelisina en los macrófagos y en algunas células de músculo liso de las lesiones ateroscleróticas. Galis y cols. [259], encontraron MMP-1, MMP-2, MMP-3 y MMP-9 en células de músculo liso de arterias, además de en otras células. Brown y cols. [260], encontraron MMP-9 en células de músculo liso de algunas de las arterias de pacientes con aterosclerosis coronaria que estudiaron.

El hecho de que en nuestras biopsias todas las arterias positivas para ACG que expresaban MMP-2 en células inflamatorias también la expresaran en células de músculo liso, que la mayoría de las biopsias positivas para ACG que expresaban MMP-9 lo hacían tanto en células inflamatorias como en células de músculo liso y que exista expresión de MMP en células de músculo liso de biopsias sin ACG, nos lleva a valorar la posibilidad de que la producción de estas MMP por las células de músculo liso de la pared, activadas por algún mecanismo que hasta el momento desconocemos, sea la responsable de la degradación de la lámina elástica y posiblemente también de la hiperplasia intimal que se relacionan con la edad y que sobre estas alteraciones basales, se superpongan los cambios secundarios a la inflamación característica de la ACG. Otra posibilidad sería que las células inflamatorias activasen a las células de músculo liso y éstas comenzaran a secretar metaloproteinasas con lo que

tendrían una función adyuvante. Esta segunda hipótesis no acabaría de explicar la expresión de MMP en las arterias no inflamadas, aunque podría ser que las células de músculo liso de estas arterias se activaran por un mecanismo diferente todavía desconocido. De cualquier modo, puesto que es evidente que las arterias temporales de personas de edad avanzada presentan cierto grado de hiperplasia intimal y de degeneración de la lámina elástica, no parece descabellado especular que tanto la MMP-2 como la MMP-9 pueden jugar un cierto papel en dichos cambios, aunque se desconocen los mecanismos por los que se activarían las células de músculo liso en estos casos. El hecho de que no todas las arterias negativas para ACG que presentan cambios relacionados con la edad expresen MMP podría estar relacionado con que la pared arterial se encuentre en una fase quiescente, sin remodelamiento activo en el momento de realización de la biopsia.

Por último, la MMP-9 se observó en algunos casos en las células endoteliales de los *vasa vasorum*, en 10 casos de arteritis y en 2 arterias sin inflamación. Esto no había sido descrito en estudios previos en pacientes con ACG, pero sí la expresión de MMP-1 en el endotelio de los microvasos formados durante la evolución de las placas ateroscleróticas lo que se ha interpretado como una posible ayuda a la migración de las células endoteliales a través de la matriz vascular durante la angiogénesis característica de la evolución de dicha placa [259]. De este modo, podemos especular que la expresión de MMP-9 en el endotelio de los vasos neoformados en la pared de la arteria temporal podría contribuir a su migración a través de la matriz vascular. La positividad en las 2 arterias sin inflamación podría corresponder asimismo a vasos neoformados en arterias temporales que precisaran irrigación adicional debido a la hiperplasia de la pared relacionada con la edad avanzada.

3.2. Expresión de MMP-2 y MMP-9, alteraciones histopatológicas y características clínico-epidemiológicas

La lesión patológica subyacente en la ACG consiste en una hiperplasia intimal concéntrica que produce oclusión de la luz vascular [50]. En cualquier caso, los mecanismos moleculares que producen la estenosis arterial deben actuar rápidamente y afectar toda la circunferencia del vaso sanguíneo. No se conoce con exactitud el mecanismo de regulación de esa respuesta hiperproliferativa de la túnica íntima ni la forma en que el infiltrado inflamatorio influye en este hecho.

Se ha demostrado que diferentes miembros de la familia de las MMP, enzimas capaces de degradar los diferentes componentes de la matriz extracelular, juegan un papel crucial en el remodelamiento vascular durante el desarrollo, el crecimiento y determinados procesos patológicos [293, 297-300].

En los últimos años, se ha reconocido que existen ciertas similitudes entre la aterosclerosis y la arteritis temporal, al haberse descubierto que los procesos inflamatorios juegan un papel esencial en la patogenia de la aterosclerosis y son mediadores de muchas de las fases de desarrollo del ateroma, desde el reclutamiento inicial leucocitario hasta la ruptura de la placa aterosclerótica inestable, lo que da lugar a graves complicaciones como el infarto de miocardio, accidentes vasculares cerebrales isquémicos y aneurismas arteriales [301]. El desarrollo de la lesión incluye la migración de los leucocitos y las células de músculo liso y el acúmulo de componentes de la matriz extracelular en la túnica íntima y la neoangiogénesis. El alargamiento compensatorio de las arterias durante la evolución de la placa produce cambios importantes en la arquitectura de la pared vascular [302]. En estadios avanzados, cuando el crecimiento de la placa aterosclerótica supera la ectasia compensatoria, la lesión produce estenosis arterial, pudiéndose producir

ruptura y trombosis. Cada una de estas fases cruciales en la evolución de la placa implica modificaciones de la matriz extracelular, un proceso regulado tanto a nivel de la síntesis como de la degradación de los componentes de la matriz [259]. El paradigma actual mantiene que la hiperplasia intimal representa una respuesta de la pared arterial a la lesión y representa un mecanismo de reparación más que una vía de destrucción tisular [303, 304]. Se piensa que mediante las señales adecuadas, las células de músculo liso de la media cambian su función de contráctil a secretora, se hacen móviles y migran a la capa subendotelial donde comienzan a proliferar y secretan componentes de la matriz extracelular [305]. Como parte de este proceso, tanto la membrana basal que generalmente rodea a las células en la media y la matriz intersticial se reorganizan. Según esto, se ha especulado que la matriz extracelular tiene importantes funciones en la modulación de diferentes aspectos de la conducta de las células de músculo liso [306]. Las MMP parecen jugar un papel crítico ya que se requieren para la ruptura de la membrana basal que permite la migración tisular [307].

Además, existe una correlación positiva entre la presentación de arteritis temporal y los aneurismas de aorta, lo que sugiere una patogenia común [308]. En los aneurismas de aorta abdominal se ha observado la existencia de inflamación crónica en la capa más externa de la aorta [309], lo que sugiere que las células inmunes e inflamatorias participan en la destrucción del tejido conectivo asociado con la degeneración aneurismática. Debido a que los aneurismas aórticos se caracterizan por una marcada destrucción y pérdida funcional de la elastina en la media aórtica, la mayoría de los investigadores se han centrado en el estudio de las enzimas que degradan la elastina a la hora de tratar de elucidar los mecanismos patogénicos de los aneurismas. Algunos datos apoyan que las elastasas séricas están implicadas en su fisiopatología [295, 310], así como las metaloproteinasas, especialmente la MMP-9 [261].

En nuestro estudio, la expresión de MMP-2 en las arterias temporales con ACG se relacionó de forma inversa con la existencia de infiltrado inflamatorio limitado a la adventicia, esto podría apuntar a que es necesaria la existencia de infiltrado inflamatorio en la media y/o la íntima para producir esta MMP. Asimismo, es posible que la activación de las células del músculo liso para que produzcan MMP-2 requiera la mediación de algún producto de secreción de estas células inflamatorias de la media y la íntima.

Parece existir una cierta inclinación hacia que la MMP-2 se relacione con la presencia de células gigantes en las arterias con ACG, aunque esta relación no resultara significativa. Asimismo, se observó tendencia a su relación con la hiperplasia intimal, la degeneración de la lámina elástica y la disminución de la luz, aunque tampoco resultaran significativas dichas relaciones. Es relevante señalar que no existe ningún caso sin hiperplasia intimal en el que se exprese MMP-2, por lo que consideramos que la presencia de esta MMP-2 podría estar asociada a la hiperplasia intimal. Cabe destacar que el porcentaje de arterias positivas para ACG con hiperplasia intimal que expresaban MMP-2 era el doble que el de las arterias negativas para ACG con hiperplasia intimal y una relación similar resultó en los casos de degeneración de la lámina elástica interna. Estos porcentajes apuntan a que la expresión de MMP-2 se asocia más con el resultado de la biopsia que con el hecho aislado de la hiperplasia intimal o de la degeneración de la lámina elástica interna, aunque esto no se puede acabar de demostrar por factores como el hecho de que todas las arterias con ACG presentaban hiperplasia intimal.

Cuando se estudió la posible relación entre la expresión de esta MMP-2 a nivel de la biopsia arterial y las diferentes variables clínico-epidemiológicas de los pacientes se observó una relación inversa con la presencia de fiebre. Desconocemos el significado de este hallazgo, pero nos atrevemos a especular que puede estar en relación con que muchos de los pacientes que no fueron

diagnosticados de ACG presentaban enfermedades infecciosas y neoplasias que típicamente se asocian con fiebre. Esta circunstancia, junto con el hecho de que la MMP-2 se asociaba con la existencia de alteraciones histológicas de ACG (aunque la asociación no resultara significativa estadísticamente) puede explicar esta relación. En cualquier caso, cabe remarcar que la asociación resultó tan sólo marginalmente significativa.

Otro dato a destacar es la asociación positiva encontrada entre la hipercolesterolemia (OR = 3,1) y la expresión de MMP-2 en el límite de la significación estadística. De forma característica, la arteria temporal no experimenta el desarrollo de ateromas [111]. Se requerirían estudios adicionales para comprobar si la hipercolesterolemia puede tener una expresión en la arteria temporal a nivel molecular en forma de activación de esta MMP-2.

El análisis de regresión logística para estudiar la relación entre el resultado de la biopsia y la expresión de MMP-2, ajustando por posibles variables confusoras de esta relación como la edad, el género, los días de evolución de los síntomas hasta la biopsia, los días de tratamiento glucocorticoide antes de la biopsia y el año de realización de ésta, permite deducir que ninguna de estas variables afectó la falta de relación entre la MMP-2 y el resultado de la biopsia, hecho observado en los análisis previos.

Respecto a la MMP-9 los resultados obtenidos fueron bastante diferentes. La expresión de MMP-9 en la arteria temporal se asoció de forma altamente significativa con la hiperplasia intimal, la degeneración de la lámina elástica interna y la disminución de la luz. De esto podemos deducir que esta MMP parece jugar un papel muy importante en el desarrollo de todas estas alteraciones patológicas características de la ACG, pero que también puede desempeñar un papel en los cambios asociados a la edad. Asimismo, la presencia de MMP-9 en las arterias positivas para ACG tendía a relacionarse con la existencia de células gigantes (OR = 3,28), aunque, probablemente

debido a que se redujo el número de biopsias incluidas al estudiarlo solamente en aquellas positivas para ACG, esta asociación no resultó estadísticamente significativa. Cuando se llevó a cabo un análisis similar al aplicado en el caso de la MMP-2 para comprobar si la asociación entre la expresión de la metaloproteinasa y la hiperplasia intimal o la degeneración de la lámina elástica interna dependía de si se trataba de biopsias positivas o negativas para ACG, se observó una relación similar. De esta forma se encontró que el porcentaje de positivos a MMP-9 era aproximadamente el doble en las arterias positivas que en las negativas, hecho que se mostró tanto para la hiperplasia como para la degeneración de la lámina elástica. Los resultados no son concluyentes debido a la falta de efectivos en algunas de las celdillas de las tablas de contingencia.

El estudio de la asociación de la MMP-9 con las diferentes variables clínico-epidemiológicas de los pacientes, encontró que tan sólo la hipercolesterolemia y la hiperestesia craneal mostraban una asociación estadísticamente significativa con la expresión de MMP-9. Esto parece indicar que esta MMP está relacionada con signos craneales, su asociación concreta con la hiperestesia craneal podría ser secundaria al dolor isquémico producido por la disminución de la luz vascular. Respecto a la hipercolesterolemia, desconocemos el significado de esta asociación, aunque podría indicar un vínculo común entre la ACG y la aterosclerosis, de forma que en la arteria temporal, que característicamente no está sometida al desarrollo de ateromas, la expresión de esta MMP sería un mecanismo mediante el cual la hipercolesterolemia originaría el remodelamiento arterial característico de esta arteria.

El análisis de regresión logística para estudiar la relación entre el resultado de la biopsia y la expresión de MMP-9, ajustando como en el caso de la MMP-2 por posibles variables confusoras de esta relación como la edad, el género, los días de evolución de los síntomas hasta la biopsia, los días de

tratamiento glucocorticoide antes de la biopsia y el año de realización de ésta, permite deducir que ninguna de estas variables afectó la existencia de asociación entre la MMP-9 y el resultado de la biopsia, hecho observado en los análisis previos.

Por otra parte, las concentraciones tisulares del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) también se ha relacionado con el grado de estenosis de la luz vascular y la producción tisular de PDGF también se ha asociado con los síntomas isquémicos [50]. En estudios experimentales animales se ha demostrado que la migración de las células de músculo liso de la media que dan lugar a la hiperplasia intimal es estimulada por el PDGF y el factor de crecimiento de los fibroblastos (β FGF) que ejercen este efecto estimulador de la migración, al menos en parte, a través de la mediación de la MMP-2 y la MMP-9. Esto ayudaría a explicar nuestros resultados de la asociación entre estas MMP y la hiperplasia intimal, así como la de la MMP-9 con los síntomas craneales.

Sin duda, son necesarios más estudios para aclarar nuestros resultados y consideramos de especial interés la valoración de la actividad gelatinolítica de estas MMP en las arterias con vasculitis y las no inflamadas.

4. Características histológicas y clínico-epidemiológicas y resultado de la biopsia

4.1. Características histológicas y resultado de la biopsia

En las biopsias positivas para ACG existía con más frecuencia degeneración de la lámina elástica interna, hiperplasia intimal y disminución de la luz que en aquellas biopsias sin arteritis, siendo la diferencia muy significativa estadísticamente. Por el contrario, el porcentaje de calcificaciones no difería entre ambos tipos de biopsias.

Se ha comprobado que la arteria temporal experimenta cambios histológicos con la edad consistentes en un engrosamiento intimal progresivo y alteración de la lámina elástica interna sin el desarrollo de ateromas [111], aunque algunos investigadores han encontrado placas de ateroma en contadas ocasiones [112]. La hiperplasia intimal progresiva comienza a partir de los 5 años y se acentúa a partir de los 30 años, edad a partir de la que también es frecuente observar fragmentación y reduplicación de la lámina elástica interna, de forma que una multitud de fibras elásticas delgadas se extienden progresivamente hacia la íntima [111, 112]. Debido a que la ACG afecta raramente a personas menores de 50 años, a la hora de interpretar correctamente desde el punto de vista histológico las biopsias de la arteria temporal es necesario tener en cuenta que las alteraciones características de la ACG se superponen sobre estos cambios producidos por la edad. Esta reduplicación de la lámina elástica interna y la proliferación músculo-elástica de la íntima se piensa que representa un proceso normal del desarrollo arterial y una respuesta de remodelamiento y reparativa de la pared arterial a diferentes estímulos estresantes como la compresión, el frío y alteración del flujo sanguíneo.

Todos nuestros pacientes eran mayores de 50 años y se encontró que la gran mayoría de ellos presentaba hiperplasia intimal en su arteria temporal, aunque fue más frecuente en los pacientes con ACG que sin ella. La degeneración de la lámina elástica interna también resultó más frecuente en estos pacientes, aunque se observó también en la gran mayoría de los pacientes sin ACG. Por otra parte, la disminución de la luz resultó infrecuente en los pacientes sin ACG, como ha sido descrito previamente en la literatura [112]. En cuanto a las calcificaciones, siempre a nivel de la unión de la media con la íntima, resultaron igual de frecuentes en arterias con ACG que en aquellas sin arteritis, encontrándose en algo más de un tercio de los pacientes,

mientras que otros investigadores las encontraron en aproximadamente una quinta parte de los pacientes mayores de 50 años [111].

4.2. Características clínico-epidemiológicas y resultado de la biopsia

Cuando el médico tiene delante, por ejemplo, a un paciente con cefalea, astenia u otro de los síntomas de presentación de la arteritis temporal, debe ser capaz de establecer el diagnóstico de forma correcta y fiable, con el fin de prevenir situaciones como la pérdida irreversible de visión y de minimizar la evaluación y tratamiento inapropiados de los diagnósticos alternativos. Aunque la cefalea es el motivo más frecuente de sospecha clínica de arteritis temporal, no hay un único tipo de cefalea ni otra presentación clínica que sean específicas de la enfermedad, que está por otro lado presente como diagnóstico diferencial en muchos de los complejos diagnósticos en los individuos más mayores. Por estos motivos es importante analizar el valor diagnóstico de los diversos signos y síntomas predictores de la probabilidad de arteritis temporal en pacientes de los que existe sospecha clínica de enfermedad.

El estudio de la relación entre los signos y síntomas clínicos y el resultado de la biopsia se ha abordado tanto desde el punto de vista prospectivo [272, 311-313] como del retrospectivo [271, 281, 314-328]. Este último enfoque, que es el que se ha utilizado con más frecuencia, coincide con el nuestro.

Para entender los resultados del presente estudio, es necesario conocer las características de los enfermos en los que la biopsia fue positiva, y las de aquellos cuyo resultado de la biopsia fue negativo. El mejor conocimiento de los rasgos diferenciadores de estos dos grupos de enfermos puede contribuir a una mejor utilización de la biopsia como elemento diagnóstico de la arteritis de

células gigantes. Para profundizar en el estudio de las diferencias entre los enfermos con biopsia positiva y aquellos con biopsia negativa, se utilizaron una serie de variables que se podrían clasificar en tres grupos: antecedentes patológicos y hábitos tóxicos, signos y síntomas locales, y por último síntomas generales.

Como se ha descrito [329], es de esperar que destaque una mayor asociación del resultado de la biopsia con los síntomas locales, que esta asociación sea algo menor en relación a los síntomas generales, y todavía menor o incluso inversa para los antecedentes patológicos. A la vista de nuestros resultados, esto ha ocurrido también en el presente trabajo. Pero antes de discutir nuestros resultados, es preciso tener muy en cuenta que las manifestaciones clínicas de la arteritis temporal son una consecuencia directa de enfermedad inflamatoria local (arterítica) y sistémica. En este tipo de estudios, los médicos indican la biopsia de la arteria temporal cuando consideran, por los signos y síntomas, que el paciente tiene una elevada probabilidad de tener una biopsia positiva y por lo tanto esto ya justifica la solicitud. Así, es también relevante para la interpretación de estos resultados conocer qué enfermedades padecían los enfermos en los que la biopsia fue negativa, lo cual nos ayudará a entender las diferencias, o la ausencia de diferencias, entre los dos grupos.

Cuando observamos lo ocurrido con respecto a los antecedentes y hábitos tóxicos, lo primero que destaca es que no han sido útiles para establecer diferencias entre los dos grupos, y lo segundo es que para la mayor parte de estas variables las OR fueron inferiores a 1, lo que indica una tendencia a encontrarlos con más frecuencia en los pacientes con biopsia negativa que en aquellos con biopsia positiva. Para estos resultados existen varias explicaciones posibles. Una de ellas puede estar en el tipo de enfermos que se atienden en el Hospital Universitari Vall d'Hebron, de una complejidad y

gravedad cada vez mayores, más pluripatológicos y por tanto con una aproximación al diagnóstico y al tratamiento cada vez también más complejas. Por otro lado, la probabilidad de encontrar signos y síntomas parecidos a los hallados en los enfermos con arteritis de células gigantes es alta, ya que son comunes a muchas enfermedades crónicas que tienen su mayor prevalencia precisamente en pacientes de edades avanzadas. Y este es el caso de patologías como la diabetes mellitus, la hipertensión arterial, la dislipemia y las enfermedades cardiovasculares.

En relación a los síntomas generales puede ocurrir algo similar a lo comentado para los antecedentes. La elevada frecuencia de fiebre, astenia y anorexia, pérdida de peso y anemia en enfermos mayores de las características antes descritas contribuye a disminuir la oportunidad de hallar también diferencias para estas variables, aunque en todos estos casos el sentido de la asociación fue positivo, es decir, había una mayor proporción de enfermos con estas características en los que tuvieron biopsia positiva, lo cual era también de esperar, ya que se ha especulado con que el perfil de citocinas presente en esta enfermedad puede contribuir tanto a los signos y síntomas isquémicos como a los de carácter sistémico como la astenia, la fiebre o la pérdida de peso [138, 233]. Una velocidad de sedimentación globular mayor de 50 mm a la primera hora y la pérdida de peso fueron las únicas variables que resultaron significativas en nuestro caso. El hallazgo de una VSG por encima de 50 mm está muy descrito, habiéndose encontrado valores normales de VSG en personas con ACG sólo en muy raras ocasiones [312, 313, 319, 320]. La pérdida de peso estaba relacionada obviamente con la anorexia, que siendo dos veces más frecuente en los casos de biopsia positiva que en los negativos, no alcanzó por poco la significación estadística. El dolor en cintura escapular o pélvica, signo de polimialgia, fue igualmente frecuente en los positivos que en los negativos. La explicación es que, por un lado, algunos de los enfermos diagnosticados de arteritis de células gigantes tenían además polimialgia, y por

otro, en el grupo de enfermos con biopsia negativa había también un porcentaje de enfermos que tenían polimialgia sin arteritis, lo que contribuye a diluir el efecto y a dificultar el hallazgo de posibles diferencias.

En la literatura existe variedad de situaciones en las que resultan significativas combinaciones diferentes de variables, y esto es debido claramente al tipo de enfermos que se han incluido en los estudios y a las diferentes costumbres y habilidades diagnósticas de los médicos que atienden a estos enfermos y que deciden finalmente a quiénes solicitan la biopsia. Esto hace que la comparabilidad entre los diferentes trabajos sea difícil, debido a diferencias en el diseño y en la selección de los individuos en estudio.

Al analizar los signos y síntomas locales es cuando se encuentran las asociaciones más significativas entre estos y el resultado de la biopsia. Esto no debe extrañar, ya que se trata de signos y síntomas que forman parte del complejo diagnóstico de la arteritis de células gigantes y, por lo tanto deben ser capaces de diferenciar entre aquellos que tienen la enfermedad y los que no la tienen. Esto es así en términos generales, pero todos los signos y síntomas que hemos estudiado se han observado también en alguna proporción en el grupo de biopsia negativa. El engrosamiento de la arteria temporal y la disminución de su pulso han sido las variables con una OR más elevada. El engrosamiento se ha hallado casi 19 veces más en enfermos cuya biopsia fue positiva que en aquellos que resultó negativa; la disminución del pulso fue más de 11 veces más frecuente en el primer grupo que en el segundo. La claudicación mandibular, la hiperestesia craneal y la cefalea, por este orden, resultaron también fuertes predictores del resultado de la biopsia. Estas diferencias entre los dos grupos son explicables en gran parte por el efecto del sesgo de verificación, es decir, el hallazgo de estos signos o síntomas clínicos aumenta mucho la decisión del médico de solicitar la biopsia, ya que conoce que la probabilidad previa de que los enfermos portadores de dichos signos tengan

también la biopsia positiva es muy elevada y, por lo tanto, el rendimiento diagnóstico de la misma será muy alto. Ni el dolor a la palpación de la arteria (síntoma muy subjetivo) ni las alteraciones visuales (que van desde la amaurosis y la diplopia hasta la pérdida de algún grado de visión y la visión borrosa), mostraron asociación con el resultado de la biopsia.

Los LR (likelihood ratio, razón de verosimilitud) son muy interesantes para el clínico porque ayudan a tomar decisiones sobre qué signos o síntomas están más asociados a la probabilidad de un resultado positivo de la biopsia. El LR de resultado positivo (LR+) nos indica cuántas veces es más probable un resultado positivo (en este caso, biopsia positiva), en los que presentan el factor que en los que no lo presentan. Así, por ejemplo, en nuestro caso el LR+ para el engrosamiento de la arteria es de 8, y esto significa que el engrosamiento fue 8 veces más frecuente en los que tuvieron la biopsia positiva que en los que la tuvieron negativa. Dicho de otro modo, fue 8 veces más probable en un grupo que en otro. Utilizando esta técnica, aparte del engrosamiento, otras variables mostraron también gran utilidad para el clínico como la disminución del pulso, la claudicación mandibular y la hiperestesia craneal.

En el otro lado está el LR de resultado negativo (LR-), que nos indica en qué grado la ausencia del signo o síntoma descarta un resultado positivo de la biopsia. En este sentido destacó la VSG sobre todas las demás variables, con un LR- de 0,11, lo cual quiere decir que una VSG por debajo de 50 mm en nuestros pacientes descarta prácticamente que la biopsia sea positiva. La ausencia de cefalea, del engrosamiento de la temporal, un pulso normal, todos ellos con un LR- por debajo de 0,5, son las otras situaciones clínicas que hacen menos probable el diagnóstico, indicando que su ausencia está relacionada con una probabilidad elevada de resultado negativo.

Hoy en día, el ajuste multivariable constituye una herramienta de uso imprescindible en el análisis estadístico y epidemiológico de cualquier base de

datos en los que el efecto que se estudia se asuma multifactorial. Este es el caso del estudio de las variables que pueden explicar o predecir si la biopsia que se realiza va a ser positiva o negativa. La necesidad de aplicar un análisis de regresión logística múltiple viene dada, por un lado, por la exigencia de eliminar el efecto de una serie de variables de confusión, como la edad o el género, el tiempo de evolución de los síntomas, los días de tratamiento con glucocorticoides y el año de realización de la biopsia. Por otro lado, el hecho de que en el análisis bivariado algunas de las variables hayan resultado significativamente asociadas con el resultado de la biopsia, hace conveniente su inclusión en el modelo con el fin de conocer su efecto independiente sobre el resultado que se busca y con el de estimar la capacidad predictiva que tiene el modelo obtenido. En nuestro caso, esta capacidad predictiva ha sido elevada, ya que el porcentaje de pacientes correctamente clasificados (aquellos en los que el modelo, con las variables que se utilizaron, fue capaz de determinar correctamente si correspondían a pacientes con biopsia positiva o con biopsia negativa) alcanzó más del 85 % de la serie. Si a esto se añade que la prueba de bondad del ajuste del modelo dio también un resultado favorable, estamos delante de una buena herramienta para entender lo que ocurre en nuestra base de datos.

En este entorno es muy interesante destacar que las variables incluídas como elementos de confusión no estaban asociadas significativamente con el resultado de la biopsia. Se puede descartar entonces que la edad y el género, en nuestro caso sean predictores del resultado de la biopsia, así como el retraso en el diagnóstico y el uso de glucocorticoides previos a la realización de la biopsia, variables que a priori podría pensarse que están relacionadas con dicho resultado tampoco han mostrado asociación significativa. No debemos asimismo olvidar que estas dos últimas variables también podrían modificar el grado con el que los signos y síntomas están presentes en el momento del diagnóstico, lo cual hace una vez más imprescindible su inclusión en el modelo

para eliminar también su efecto sobre el resto de variables incluídas. El año de realización de la biopsia se incluyó porque pensamos que su efecto merecía también controlarse. La explicación la encontramos en que en estudios de este tipo en los que se recogen datos de enfermos durante un período de tiempo de años pueden cambiar ciertos aspectos que pueden estar a su vez relacionados con el resultado, como por ejemplo diferencias en la gravedad o complejidad de los enfermos que acuden al hospital y cambios en los hábitos de manejo diagnóstico y terapéutico de la enfermedad, que pueden hacer por ejemplo que se soliciten biopsias ante signos o síntomas frente a los que anteriormente no se solicitaban. Aunque la variable año de realización probablemente no puede explicar toda la variabilidad asociada al tiempo en el que el enfermo fue atendido, hemos considerado que servía suficientemente al propósito de ajustar indirectamente por los factores mencionados. Se descartaron variables como la cefalea, la claudicación mandibular y las alteraciones visuales por su ausencia de relación con el resultado de la biopsia, una vez realizado el ajuste multivariable. Aunque la cefalea fue un fuerte predictor de resultado positivo en el análisis bivariable, el carácter inespecífico de este síntoma en la arteritis de células gigantes [330] probablemente ha contribuido a la pérdida de la asociación en el análisis multivariable. La hiperestesia craneal y la VSG elevada obtuvieron ORs por encima de 3, aunque no consiguieron ser variables predictoras significativas. De las variables clínicas quedó el engrosamiento de la arteria como la más predictora de todas, seguida de la disminución del pulso y de la pérdida de peso.

Este análisis demuestra que un número limitado de variables clínicas modifica sustancialmente la probabilidad de diagnosticar la enfermedad en aquellos individuos en los que se sospecha. Con el uso de estas tres variables el clínico puede decidir si se debe o no solicitar una biopsia de la arteria temporal, con una gran probabilidad de acertar.

Conclusiones

1. El parvovirus B19 no parece jugar un papel importante en la etiopatogenia de la arteritis de células gigantes, al menos en nuestra población.
2. Ni los virus herpes simple, ni el virus varicela-zoster, ni el de Epstein-Barr, ni el citomegalovirus, ni el virus herpes humano tipo 6 parecen estar implicados en la etiopatogenia de la arteritis de células gigantes.
3. La metaloproteinasa-2 se expresa con una frecuencia similar en las biopsias positivas y negativas para arteritis de células gigantes, por lo que probablemente no es relevante en el desarrollo de las alteraciones histológicas características de esta arteritis, aunque podría tener un papel en el remodelamiento arterial que se produce con la edad.
4. La metaloproteinasa-9, en cambio, parece participar activamente en el desarrollo de las lesiones histológicas características de la arteritis de células gigantes y también en el remodelamiento vascular relacionado con la edad.
5. Tanto los macrófagos cercanos a la lámina elástica degenerada, como las células gigantes multinucleadas y las células con apariencia de músculo liso de la media y de la íntima probablemente actúan de forma activa en el remodelamiento vascular producido por estas enzimas.
6. La expresión de ambas metaloproteinasas, especialmente la 9, se asocia con la presencia de hipercolesterolemia.
7. La presencia de fiebre se relaciona con una menor expresión de metaloproteinasa-2.

8. La expresión de metaloproteinasa-9 se asocia con manifestaciones clínicas de afectación de los vasos craneales, en concreto con la hiperestesia craneal y el engrosamiento de la arteria temporal.
9. La degeneración de la lámina elástica interna, la hiperplasia intimal y la disminución de la luz vascular son más frecuentes en las arterias temporales con arteritis de células gigantes que en las que tan sólo muestran alteraciones características de la edad.
10. El engrosamiento y la disminución del pulso de la arteria temporal y, en menor grado, la pérdida de peso son capaces de predecir, con una elevada probabilidad de acertar, un resultado positivo de la biopsia temporal para arteritis de células gigantes.

Bibliografía

1. Valente RM, Hall S, O'Duffy JD, Conn DL. Vasculitic Syndromes: Vasculitis and Related Disorders. En: Kelley WN, ed. Textbook of Rheumatology. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997;p. 1079-1122.
2. González-Gay MA, García-Porrúa C. Etiopatogenia y clasificación de las vasculitis sistémicas. En: Alonso Ruíz A, et al., eds. Manual SER de las enfermedades reumáticas. Madrid: Editorial Médica Panamericana S.A., 2000;p. 349-354.
3. Zeek P. Periarteritis nodosa: a critical review. Am J Clin Pathol 1952;22:777-790.
4. Alarcón-Segovia D, Brown ALJ. Classification and etiologic aspects of necrotizing angiitides: an analytic approach to a confused subject with a critical review of the evidence for hypersensitivity in polyarteritis nodosa. Mayo Clin Proc 1964;39:205-222.
5. deShazo RD. The spectrum of systemic vasculitis: a classification to aid diagnosis. Postgrad Med 1975;58(4):78-82.
6. Gilliam JN, Smiley JD. Cutaneous necrotizing vasculitis and related disorders. Ann Allergy 1976;37(5):328-339.
7. Fauci AS, Haynes BF, Katz P. The spectrum of vasculitis: clinical, pathologic, immunologic and therapeutic considerations. Ann Intern Med 1978;89(5 Pt 1):660-676.
8. Hunder GG, Arend WP, Bloch DA, Calabrese LH, Fauci AS, Fries JF, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis. Introduction. Arthritis Rheum 1990;33(8):1065-1067.
9. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. Arthritis Rheum 1994;37(2):187-192.
10. Lie JT. Nomenclature and classification of vasculitis: plus ca change, plus c'est la meme chose (editorial). Arthritis Rheum 1994;37:181-186.
11. Gocke D. Extrahepatic manifestations of viral hepatitis. Am J Med Sci 1975;270:49-52.

12. Duffy JL, MD. Sharp, JT. Polyarthritits, polyarteritis and hepatitis B. *Medicine (Baltimore)* 1976;55:19-37.
13. Jennette JC, Ewert BH, Falk RJ. Do antineutrophil cytoplasmic autoantibodies cause Wegener's granulomatosis and other forms of necrotizing vasculitis? (review). *Rheum Dis Clin North Am* 1993;19:1-14.
14. Jennette JC, Falk RJ. The coming of age of serological testing for antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Mayo Clin Proc* 1994;69:908-910.
15. Savige JA, Davies DJ, Gatenby PA. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): Their detection and significance: Report from workshops. *Pathology* 1994;26:186-193.
16. deShazo RD, Levinson AI, Lawless OJ, Weisbaum G. Systemic vasculitis with coexistent large and small vessel involvement, a classification dilemma. *JAMA* 1977;238:1940-1942.
17. Lie JT. Illustrated histopathologic classification criteria for selected vasculitis syndromes. American College of Rheumatology Subcommittee on Classification of Vasculitis. *Arthritis Rheum* 1990;33(8):1074-1087.
18. Weyand CM. Vasculitis: a dialogue between the artery and the immune system. En: Hoffman GS and Weyand CM, eds. *Inflammatory diseases of blood vessels*. New York: Marcel Dekker, 2002;p. 1-12.
19. Savage COS. Pathogenesis of Systemic Vasculitis. En: Churg A and Churg J, eds. *Systemic Vasculitides*. New York: IGAKU-SHOIN, 1991;p. 7-30.
20. Cid MC. New developments in the pathogenesis of systemic vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 1996;8(1):1-11.
21. Clark E, Kaplan BJ. Endocardial, arterial and other mesenchymal alterations associated with serum sickness disease in man. *Arch Pathol* 1937;24:458-475.
22. Couser WG, Baker PJ, Adler S. Complement and the direct mediation of immune glomerular injury. A new perspective. *Kidney Int* 1985;28:879-890.

23. Boom BW, Out-Luiting CJ, Baldwin WM, Westedt ML, Daha MR, Vermeer BJ. Membrane attack complex of complement in leukocytoclastic vasculitis of the skin. Presence and possible pathogenetic role. *Arch Dermatol* 1987;123(9):1192-1195.
24. Van Hale HM, Gibson LE, Schroeter AL. Henoch-Schönlein vasculitis: direct immunofluorescence study of uninvolved skin. *J Am Acad Dermatol* 1986;15:665-670.
25. Gabrielli A, Sbarbati A, Marchegiani G, Rupoli S, Montroni M, Cinti S, et al. Evidence of immune deposits and of basement membrane alterations in dermal vessels of normal skin of patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 1987;30(8):884-893.
26. Trepo CG, Zucherman AJ, Bird RC, Prince AM. The role of circulating hepatitis B antigen/antibody immune complexes in the pathogenesis of vascular and hepatic manifestations in polyarteritis nodosa. *J Clin Pathol* 1974;27(11):863-868.
27. Baguley E, Hugues, G.R.V. Antiendothelial cell antibodies (editorial). *J Rheumatol* 1989;16:716-717.
28. Kallenberg CGM, Tervaert JWC. Autoantibodies in Vasculitis. En: Hoffman GS and Weyand CM, eds. *Inflammatory Diseases of Blood Vessels*. New York: Marcel Dekker, 2002;p. 37-56.
29. Ferraro G, Meroni PL, Tincani A, Sinico A, Barcellini W, Radice A, et al. AECA in patients with Wegener granulomatosis and micropolyarteritis. *Clin Exp Immunol* 1990;79:47-53.
30. Del Papa N, Guidali L, Sironi M, Shoenfeld Y, Mantovani A, Tincani A, et al. Anti-endothelial cell IgG antibodies from patients with Wegener's granulomatosis bind to human endothelial cells in vitro and induce adhesion molecule expression and cytokine secretion. *Arthritis Rheum* 1996;39(5):758-766.
31. Bordron A, Dueymes M, Levy Y, Jamin C, Leroy JP, Piette JC, et al. The binding of some human antiendothelial cell antibodies induces endothelial cell apoptosis. *J Clin Invest* 1998;101(10):2029-2035.

32. Kaneko K, Savage COS, Pottinger BE, Shah V, Pearson JD, Dillon MJ. AECA can be cytotoxic to EC without cytokine prestimulation and correlate with ELISA antibody measurement in Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol* 1994;8:264-269.
33. Gross WL, Schmitt WH, Caernok E. ANCA and associated diseases: immunologic and pathogenetic aspects. *Clin Exp Immunol* 1993;91:1-12.
34. Guardiola JM, Rodriguez-Pla A, Lopez-Contreras J, Llobet JM, Domingo P, Franco M, et al. Simultaneous presence of C-ANCA and P-ANCA in a patient with concurrent Churg-Strauss syndrome and giant cell temporal arteritis. *Scand J Rheumatol* 2000;29(1):68-69.
35. Egner W, Chapel, H.M. Titration of antibodies against neutrophil cytoplasmic antigens is useful in monitoring disease activity in systemic vasculitides. *Clin Exp Immunol* 1990;82:244-249.
36. Jayne DRW, Gaskin G, Pusey CD, Lockwood CM. ANCA and predicting relapse in systemic vasculitis. *Q J Med* 1995;88:127-133.
37. Mulder AH, Heeringa P, Brouwer E, Limburg PC, Kallenberg CGM. Activation of granulocytes by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): A FcγR II-dependent process. *Clin Exp Immunol* 1994;98:270-278.
38. Savage CO, Pottinger BE, Gaskin G, Pusey CD, Pearson JD. Autoantibodies developing to myeloperoxidase and proteinase 3 antibodies in systemic vasculitis stimulate neutrophil cytotoxicity toward cultured endothelial cells. *Am J Pathol* 1992;141:335-342.
39. Brouwer E, Huitema MG, Klok PA, de Weerd H, Tervaert JW, Weening JJ, et al. Anti-myeloperoxidase associated proliferative glomerulonephritis: An animal model. *J Exp Med* 1993;177:905-914.
40. Heeringa P, Foucher P, Klok PA, Huitema MG, Tervaert JW, Weening JJ, et al. Systemic injection of products of activated neutrophils and H₂O₂ in myeloperoxidase-immunized rats leads to necrotizing vasculitis in the lungs and gut. *Am J Pathol* 1997;151(1):131-140.
41. Cid MC, Grau JM, Casademont J, Campo E, Coll-Vinent B, López-Soto A, et al. Immunohistochemical characterization of inflammatory cells and

- immunologic activation markers in muscle and nerve biopsy specimens from patients with systemic polyarteritis nodosa. *Arthritis Rheum* 1994;37:1055-1061.
42. Terai M, Kohno Y, Namba M, Umemiya T, Niwa K, Nakajima H, et al. Class II histocompatibility antigen expression on coronary arterial endothelium in a patient with Kawasaki disease. *Hum Pathol* 1990;21:231-234.
 43. Cid MC, Campo E, Ercilla G, Palacin A, Vilaseca J, Villalta J, et al. Immunohistochemical analysis of lymphoid and macrophage cell subsets and their immunologic activation markers in temporal arteritis. Influence of corticosteroid treatment. *Arthritis Rheum* 1989;32(7):884-893.
 44. Seko Y, Minota S, Kiwasaki A, Shinkai Y, Maeda K, Yagita H, et al. Perforin-secreting killer cell infiltration and expression of a 65-kD heat-shock protein in aortic tissue of patients with Takayasu's arteritis. *J Clin Invest* 1994;93:750-758.
 45. Rasmussen N, Petersen J. Cellular immune responses and pathogenesis in c-ANCA positive vasculitides. *Clin Exp Immunol* 1993;94:440-446.
 46. Weyand CM, Schonberger J, Oppitz U, Hunder NN, Hickey KC, Goronzy JJ. Distinct vascular lesions in giant cell arteritis share identical T cell clonotypes. *J Exp Med* 1994;179(3):951-960.
 47. Roitt IM. Lymphocyte activation. En: Roitt IM, ed. *Essential Immunology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994;p. 162-193.
 48. Mantovani A, Dejana E. Cytokines as communication signals between leukocytes and endothelial cells. *Immunol Today* 1989;10:370-375.
 49. Mantovani A, Bussolino F, Dejana E. Cytokine regulation of endothelial cell function. *FASEB J* 1992;6:2591-2599.
 50. Kaiser M, Weyand CM, Bjornsson J, Goronzy JJ. Platelet-derived growth factor, intimal hyperplasia, and ischemic complications in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1998;41(4):623-633.
 51. Cid MC, Kleinman HK, Grant DS, Schnaper HW, Fauci AS, Hoffman GS. Estradiol enhances leukocyte binding to tumor necrosis factor (TNF)-

- stimulated endothelial cells via an increase in TNF-induced adhesion molecules E-selectin, intercellular adhesion molecule type 1, and vascular cell adhesion molecule type 1. *J Clin Invest* 1994;93(1):17-25.
52. Kaiser M, Younge B, Bjornsson J, Goronzy JJ, Weyand CM. Formation of new vasa vasorum in vasculitis. Production of angiogenic cytokines by multinucleated giant cells. *Am J Pathol* 1999;155(3):765-774.
 53. Rittner HL, Hafner V, Klimiuk PA, Szweda LI, Goronzy JJ, Weyand CM. Aldose reductase functions as a detoxification system for lipid peroxidation products in vasculitis. *J Clin Invest* 1999;103(7):1007-1013.
 54. Cid MC, Coll-Vinent B, Bielsa I. Endothelial Cell Adhesion Molecules. En: Hoffman GS and Weyand CM, eds. *Inflammatory Diseases of Blood Vessels*. New York: Marcel Dekker, 2002;p. 13-28.
 55. Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* 1994;84:2068-2101.
 56. Mojcik FC, Shevac EM. Adhesion molecules. A rheumatologic perspective. *Arthritis Rheum* 1997;40:991-1004.
 57. Cid MC, Esparza J, Juan M. Moléculas de adhesión en las interacciones entre los leucocitos, el endotelio y la matriz extracelular (I). Estructura, distribución y función biológica. *Med Clin (BARC)* 1997;108:472-477.
 58. Rot A. Chemokines link the two steps of leukocyte adhesion to endothelium. *Immunologist* 1993;1:145-149.
 59. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994;76:301-314.
 60. Collins TL, Kassner PD, Bier BE, Burakoff SJ. Adhesion receptors in lymphocyte activation. *Curr Opin Immunol* 1994;6:385-393.
 61. Oppenheimer Marks N, Lipsky PE. Transendothelial migration of T cells in chronic inflammation. *Immunologist* 1994;2:58-64.
 62. Shimizu Y, Shaw S. Lymphocyte interactions with extracellular matrix. *Faseb J* 1991;5(9):2292-2299.

63. Gorski A. The role of cell adhesion molecules in immunopathology. *Immunol today* 1994;15:251-255.
64. Bradley JR, Lockwood, C.M., Thiru, S. Endothelial cell activation in patients with systemic vasculitis. *Q J Med* 1994;87:741-745.
65. Leung DYM, Kurt-Jones E, Newburger JW, Cotran RS, Burns JC, Pober JS. Endothelial cell activation and increased interleukin-1 secretion in the pathogenesis of acute Kawasaki disease. *Lancet* 1990;2:1298-1302.
66. Wawryk SO, Ayberk H, Boyd AW, Rode J. Analysis of adhesion molecules in the immunopathogenesis of giant cell arteritis. *J Clin Pathol* 1991;44(6):497-501.
67. Mayet WJ, Meyer zum Buschenfelde KH. Antibodies to proteinase 3 increase adhesion of neutrophils to human endothelial cells. *Clin Exp Immunol* 1993;94(3):440-446.
68. Brady HR. Leukocyte adhesion molecule and kidney diseases. *Kidney Int* 1994;45:1285-1300.
69. Albeda SM, Wayne Smith C, Ward PA. Adhesion molecules and inflammatory injury. *Faseb J* 1994;8:504-512.
70. Furukawa S, Imai K, Matsubara T, Yone K, Yachi A, Okumura K, et al. Increased levels of circulating intercellular adhesion molecule 1 in Kawasaki disease. *Arthritis Rheum* 1992;35(6):672-677.
71. Cid MC, Ercilla G, Vilaseca J, Sanmarti R, Villalta J, Ingelmo M, et al. Polymyalgia rheumatica: a syndrome associated with HLA-DR4 antigen. *Arthritis Rheum* 1988;31(5):678-682.
72. Weyand CM, Hicok KC, Hunder GG, Goronzy JJ. The HLA-DRB1 locus as a genetic component in giant cell arteritis. Mapping of a disease-linked sequence motif to the antigen binding site of the HLA-DR molecule. *J Clin Invest* 1992;90(6):2355-2361.
73. Weyand CM, Hunder NN, Hicok KC, Hunder GG, Goronzy JJ. HLA-DRB1 alleles in polymyalgia rheumatica, giant cell arteritis, and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1994;37(4):514-520.

74. Numano F. Differences in clinical presentation and outcome in different countries for Takayasu's arteritis. *Curr Opin Rheumatol* 1997;9:12-15.
75. Kerr GS. Takayasu's arteritis. *Curr Opin Rheumatol* 1994;6:32-38.
76. Hunder GG, Bloch DA, Michel BA, Stevens MB, Arend WP, Calabrese LH, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1990;33(8):1122-1128.
77. Miller RA. The aging immune system: primer and prospectus. *Science* 1996;273(5271):70-74.
78. Gocke DJ, Hsu K, Morgan C, Bombardini S, Locksin M, Christina CL. Association between polyarteritis nodosa and Australia antigen. *Lancet* 1970;2:1149-1153.
79. Michalak T. Immune complexes of hepatitis B surface antigen in the pathogenesis of periarteritis nodosa. A study of seven necropsy cases. *Am J Pathol* 1978;90:619-632.
80. Cacoub P. Polyarteritis nodosa and hepatitis C virus infection. *Ann Intern Med* 1992;116:605-606.
81. Levey JM, Bjornsson B, Banner B, Kuhns M, Malhotra R, Whitman N, et al. Mixed cryoglobulinemia in chronic hepatitis C infection. A clinicopathologic analysis of 10 cases and review of recent literature. *Medicine (Baltimore)* 1994;73(1):53-67.
82. Finkel TH, Torok TJ, Ferguson PJ, Durigon EL, Zaki SR, Leung DY, et al. Chronic parvovirus B19 infection and systemic necrotising vasculitis: opportunistic infection or aetiological agent? *Lancet* 1994;343(8908):1255-1258.
83. Gabriel SE, Espy M, Erdman DD, Bjornsson J, Smith TF, Hunder GG. The role of parvovirus B19 in the pathogenesis of giant cell arteritis: a preliminary evaluation. *Arthritis Rheum* 1999;42(6):1255-1258.
84. Gherardi R, Belec L, Mhiri C, Gray F, Lescs MC, Sobel A, et al. The spectrum of vasculitis in human immunodeficiency virus-infected patients. A clinicopathologic evaluation. *Arthritis Rheum* 1993;36(8):1164-1174.

85. Gherardi R, Lebargy F, Gaulard P, Mhiri C, Bernaudin JF, Gray F. Necrotizing vasculitis and HIV replication in peripheral nerves. *N Engl J Med* 1989;321(10):685-686.
86. Wagner AD, Gerard HC, Freseman T, Schmidt WA, Gromnica-Ihle E, Hudson AP, et al. Detection of *Chlamydia pneumoniae* in giant cell vasculitis and correlation with the topographic arrangement of tissue-infiltrating dendritic cells. *Arthritis Rheum* 2000;43(7):1543-1551.
87. Haugeberg G, Bie R, Nordbo SA. *Chlamydia pneumoniae* not detected in temporal artery biopsies from patients with temporal arteritis. *Scand J Rheumatol* 2000;29(2):127-128.
88. Haugeberg G, Bie R, Nordbo SA. Temporal arteritis associated with *Chlamydia pneumoniae* DNA detected in an artery specimen. *J Rheumatol* 2001;28(7):1738-1739.
89. Helweg-Larsen J, Tarp B, Obel N, Baslund B. No evidence of parvovirus B19, *Chlamydia pneumoniae* or human herpes virus infection in temporal artery biopsies in patients with giant cell arteritis. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41(4):445-449.
90. Regan MJ, Wood BJ, Hsieh YH, Theodore ML, Quinn TC, Hellmann DB, et al. Temporal arteritis and *Chlamydia pneumoniae*: failure to detect the organism by polymerase chain reaction in ninety cases and ninety controls. *Arthritis Rheum* 2002;46(4):1056-1060.
91. Lie JT. Vasculitis associated with infectious agents. *Curr Opin Rheumatol* 1996;(8):26-29.
92. Michel BA, Hunder GG, Bloch DA, Calabrese LH. Hypersensitivity vasculitis and Henoch-Schonlein purpura: a comparison between the two disorders. *J Rheumatol* 1992;19:721-728.
93. Hunder GG. Giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica. *Med Clin North Am* 1997;81(1):195-219.
94. Wilkinson IMS, Russell, R.W.R. Arteries of the head and neck in giant cell arteritis. a pathological study to show the pattern of arterial involvement. *Arch Neurol* 1972;(27):378-391.

95. Klein RG, Hunder GG, Stanson AW, Sheps SG. Large artery involvement in giant cell (temporal) arteritis. *Ann Intern Med* 1975;83(6):806-812.
96. Brack A, Martinez-Taboada V, Stanson A, Goronzy JJ, Weyand CM. Disease pattern in cranial and large-vessel giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1999;42(2):311-317.
97. Chuang TY, Hunder GG, Ilstrup DM, Kurland LT. Polymyalgia rheumatica. A 10 year epidemiologic and clinical study. *Ann Intern Med* 1982;97:672-680.
98. Healey LA. Long-term follow-up of polymyalgia rheumatica: evidence for synovitis. *Semin Arthritis Rheum* 1984;13(4):322-328.
99. Healey LA. Relation of giant cell arteritis to polymyalgia rheumatica. *Baillieres Clin Rheumatol* 1991;5(3):371-378.
100. Healey LA. The relationship of polymyalgia rheumatica to giant cell arteritis--single or separate syndromes? *J Rheumatol* 1986;13(6):1190.
101. Weyand CM, Hicok KC, Hunder GG, Goronzy JJ. Tissue cytokine patterns in patients with polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Ann Intern Med* 1994;121(7):484-491.
102. Lie JT. When is arteritis of the temporal arteries not temporal arteritis? *J Rheumatol* 1994;21(2):186-189.
103. Salvarani C, Gabriel SE, O'Fallon WM, Hunder GG. The incidence of giant cell arteritis in Olmsted County, Minnesota: apparent fluctuations in a cyclic pattern. *Ann Intern Med* 1995;123(3):192-194.
104. Machado EB, Michet CJ, Ballard DJ, Hunder GG, Beard CM, Chu CP, et al. Trends in incidence and clinical presentation of temporal arteritis in Olmsted County, Minnesota, 1950-1985. *Arthritis Rheum* 1988;31(6):745-749.
105. Nordborg E, Bengtsson BA. Epidemiology of biopsy-proven giant cell arteritis (GCA). *J Intern Med* 1990;227(4):233-236.
106. Watts RA, Scott DGI. Epidemiology of the vasculitides. *Curr Opin Rheumatol* 2003;15:11-16.

107. Smith CA, Fidler WJ, Pinals RS. The epidemiology of giant cell arteritis. Report of a ten-year study in Shelby County, Tennessee. *Arthritis Rheum* 1983;26(10):1214-1219.
108. Friedman G, Friedman B, Benbassat J. Epidemiology of temporal arteritis in Israel. *Isr J Med Sci* 1982;18(2):241-244.
109. Gonzalez-Gay MA, Garcia-Porrúa C. Systemic vasculitis in adults in northwestern Spain, 1988-1997. Clinical and epidemiologic aspects. *Medicine (Baltimore)* 1999;78(5):292-308.
110. Fawcett DW. Sistemas vasculares sanguíneo y linfático. En: Fawcett DW, ed. *Tratado de histología Bloom-Fawcett*. Madrid: Emalsa, Interamericana, McGraw-Hill, 1987;p. 369-410.
111. Lie JT, Brown AL, Jr., Carter ET. Spectrum of aging changes in temporal arteries. Its significance, in interpretation of biopsy of temporal artery. *Arch Pathol* 1970;90(3):278-285.
112. Parker F, Healey LA, Wilske KR, Odland GF. Light and electron microscopic studies on human temporal arteries with special reference to alterations related to senescence, atherosclerosis and giant cell arteritis. *Am J Pathol* 1975;79(1):57-80.
113. Banks PM, Cohen MD, Ginsburg WW, Hunder GG. Immunohistologic and cytochemical studies of temporal arteritis. *Arthritis Rheum* 1983;26(10):1201-1207.
114. Esteban MJ, Font C, Hernandez-Rodriguez J, Valls-Sole J, Sanmarti R, Cardellach F, et al. Small-vessel vasculitis surrounding a spared temporal artery: clinical and pathological findings in a series of twenty-eight patients. *Arthritis Rheum* 2001;44(6):1387-1395.
115. Hunder GG. Giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica. En: Kelley WN, et al., eds. *Textbook of Rheumatology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997;p. 1123-1132.
116. Jacobs MR, Allen NB. Giant cell arteritis. En: Churg A and Churg J, eds. *Systemic vasculitides*. New York: Igaku-Shoin, 1991;p. 143-157.

117. Calamia KT, Hunder GG. Giant cell arteritis (temporal arteritis) presenting as fever of undetermined origin. *Arthritis Rheum* 1981;24(11):1414-1418.
118. Strachan RW, How J, Bewsher PD. Masked giant-cell arteritis. *Lancet* 1980;1(8161):194-196.
119. Mehler MF, Rabinowich L. The clinical neuro-ophthalmologic spectrum of temporal arteritis. *Am J Med* 1988;85(6):839-844.
120. Helfrich DJ, Mulhern LM, Luparello FJ, Smith W, Jr. Giant cell arteritis of the tongue presenting as macroglossia. *J Rheumatol* 1988;15(6):1026-1028.
121. Ruegg S, Engelter S, Jeanneret C, Hetzel A, Probst A, Steck AJ, et al. Bilateral vertebral artery occlusion resulting from giant cell arteritis: report of 3 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2003;82(1):1-12.
122. Michotte A, de Keyser J, Dierckx R, Impens N, Solheid C, Ebinger G. Brain stem infarction as a complication of giant-cell arteritis. *Clin Neurol Neurosurg* 1986;88(2):127-129.
123. Kramer MR, Neshar G, Sonnenblick M. Steroid-responsive hearing loss in temporal arteritis. *J Laryngol Otol* 1988;102(6):524-525.
124. Amor-Dorado JC, Llorca J, Garcia-Porrúa C, Costa C, Perez-Fernandez N, Gonzalez-Gay MA. Audiovestibular manifestations in giant cell arteritis: a prospective study. *Medicine (Baltimore)* 2003;82(1):13-26.
125. Samanta A, Sheldon P. Polymyalgia rheumatica with bilateral subclavian artery occlusion. *Br J Rheumatol* 1987;26(6):469-470.
126. Perruquet JL, Davis DE, Harrington TM. Aortic arch arteritis in the elderly. An important manifestation of giant cell arteritis. *Arch Intern Med* 1986;146(2):289-291.
127. Evans JM, Bowles CA, Bjornsson J, Mullany CJ, Hunder GG. Thoracic aortic aneurysm and rupture in giant cell arteritis. A descriptive study of 41 cases. *Arthritis Rheum* 1994;37(10):1539-1547.

128. Kay RH, Pooley R, Herman MV. Unsuspected giant cell arteritis diagnosed at open heart surgery. *Arch Intern Med* 1982;142(7):1378-1379.
129. Larson TS, Hall S, Hepper NG, Hunder GG. Respiratory tract symptoms as a clue to giant cell arteritis. *Ann Intern Med* 1984;101(5):594-597.
130. Doyle L, McWilliam L, Hasleton PS. Giant cell arteritis with pulmonary involvement. *Br J Dis Chest* 1988;82(1):88-92.
131. Glover MU, Muniz J, Bessone L, Carta M, Casellas J, Maniscalco BS. Pulmonary artery obstruction due to giant cell arteritis. *Chest* 1987;91(6):924-925.
132. Truong L, Kopelman RG, Williams GS, Pirani CL. Temporal arteritis and renal disease. Case report and review of the literature. *Am J Med* 1985;78(1):171-175.
133. Goldberg JW, Lee ML, Sajjad SM. Giant cell arteritis of the skin simulating erythema nodosum. *Ann Rheum Dis* 1987;46(9):706-708.
134. Martinez-Taboada VM, Blanco R, Armona J, Uriarte E, Figueroa M, Gonzalez-Gay MA, et al. Giant cell arteritis with an erythrocyte sedimentation rate lower than 50. *Clin Rheumatol* 2000;19(1):73-75.
135. Wons RL, Korn JL. Temporal arteritis without an elevated erythrocyte sedimentation rate. Case report and review of the literature. *Am J Med* 1986;80:959-964.
136. Persellin ST, Daniels TM, Rings LJ, Kazmier FJ, Bowie EJ, Hunder GG. Factor VIII-von Willebrand factor in giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica. *Mayo Clin Proc* 1985;60(7):457-462.
137. Smith AJ, Kyle V, Cawston TE, Hazleman BL. Isolation and analysis of immune complexes from sera of patients with polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Ann Rheum Dis* 1987;46(6):468-474.
138. Roche NE, Fulbright JW, Wagner AD, Hunder GG, Goronzy JJ, Weyand CM. Correlation of interleukin-6 production and disease activity in polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1993;36(9):1286-1294.

139. Weyand CM, Fulbright JW, Hunder GG, Evans JM, Goronzy JJ. Treatment of giant cell arteritis: interleukin-6 as a biologic marker of disease activity. *Arthritis Rheum* 2000;43(5):1041-1048.
140. Park JR, Jones JG, Hazleman BL. Relationship of the erythrocyte sedimentation rate to acute phase proteins in polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Ann Rheum Dis* 1981;40(5):493-495.
141. Love DC, Berler DK, O'Dowd GJ, Brooks JZ, Love RA. Erythrocyte sedimentation rate and its relationship to hematocrit giant cell arteritis. *Arch Ophthalmol* 1988;106(3):309-310.
142. Hunder GG, Sheps SG, Allen GL, Joyce JW. Daily and alternate-day corticosteroid regimens in treatment of giant cell arteritis: comparison in a prospective study. *Ann Intern Med* 1975;82(5):613-618.
143. Klein RG, Campbell RJ, Hunder GG, Carney JA. Skip lesions in temporal arteritis. *Mayo Clin Proc* 1976;51(8):504-510.
144. Hunder GG, Valente RM. Giant cell arteritis: clinical aspects. En: Hoffman GS and Weyand CM, eds. *Inflammatory diseases of blood vessels*. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002;p. 425-441.
145. Achkar AA, Lie JT, Hunder GG, O'Fallon WM, Gabriel SE. How does previous corticosteroid treatment affect the biopsy findings in giant cell (temporal) arteritis? *Ann Intern Med* 1994;120(12):987-992.
146. Evans JM, Batts KP, Hunder GG. Persistent giant cell arteritis despite corticosteroid treatment. *Mayo Clin Proc* 1994;69(11):1060-1061.
147. Puechal X, Chauveau M, Menkes CJ. Temporal Doppler-flow studies for suspected giant-cell arteritis. *Lancet* 1995;345(8962):1437-1438.
148. Puechal X, Menkes CJ. Ultrasonography in temporal arteritis. *N Engl J Med* 1998;338(11):760-761.
149. Barrier J, Potel G, Renaut-Hovasse H, Hanh TH, Peltier P, Chamary V, et al. The use of Doppler flow studies in the diagnosis of giant cell arteritis. Selection of temporal artery biopsy site is facilitated. *Jama* 1982;248(17):2158-2159.

150. Schmidt WA, Kraft HE, Vorpahl K, Volker L, Gromnica-Ihle EJ. Color duplex ultrasonography in the diagnosis of temporal arteritis. *N Engl J Med* 1997;337(19):1336-1342.
151. Bosley TM, Savino PJ, Sergott RC, Eagle RC, Sandy R, Gee W. Ocular pneumoplethysmography can help in the diagnosis of giant-cell arteritis. *Arch Ophthalmol* 1989;107(3):379-381.
152. Aiello PD, Trautmann JC, McPhee TJ, Kunselman AR, Hunder GG. Visual prognosis in giant cell arteritis. *Ophthalmology* 1993;100(4):550-555.
153. Achkar AA, Hunder GG, Gabriel SE. Effect of previous corticosteroid treatment on temporal artery biopsy results. *Ann Intern Med* 1998;128(5):410.
154. Rosenfeld SI, Kosmorsky GS, Klingele TG, Burde RM, Cohn EM. Treatment of temporal arteritis with ocular involvement. *Am J Med* 1986;80(1):143-145.
155. van der Veen MJ, Dinant HJ, van Booma-Frankfort C, van Albada-Kuipers GA, Bijlsma JW. Can methotrexate be used as a steroid sparing agent in the treatment of polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis? *Ann Rheum Dis* 1996;55(4):218-223.
156. Jover JA, Hernandez-Garcia C, Morado IC, Vargas E, Banares A, Fernandez-Gutierrez B. Combined treatment of giant-cell arteritis with methotrexate and prednisone. a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 2001;134(2):106-114.
157. Hoffman GS. Treatment of giant-cell arteritis: where we have been and why we must move on. *Cleve Clin J Med* 2002;69 Suppl 2:SII117-120.
158. De Silva M, Hazleman BL. Azathioprine in giant cell arteritis/polymyalgia rheumatica: a double-blind study. *Ann Rheum Dis* 1986;45(2):136-138.
159. Reinitz E, Aversa A. Long-term treatment of temporal arteritis with dapsone. *Am J Med* 1988;85(3):456-457.
160. Weyand CM, Kaiser M, Yang H, Younge B, Goronzy JJ. Therapeutic effects of acetylsalicylic acid in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 2002;46(2):457-466.

161. Weyand CM, Goronzy JJ. Giant cell arteritis as an antigen-driven disease. *Rheum Dis Clin North Am* 1995;21(4):1027-1039.
162. Weyand CM, Goronzy JJ. Multisystem interactions in the pathogenesis of vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 1997;9(1):3-11.
163. Weyand CM, Goronzy JJ. Giant cell arteritis: pathogenesis. En: Hoffman GS and Weyand CM, eds. *Inflammatory Diseases of Blood Vessels*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2002;p. 413-423.
164. Weyand CM. The Dunlop-Dottridge Lecture: The pathogenesis of giant cell arteritis. *J Rheumatol* 2000;27(2):517-522.
165. Wernick R, Davey M, Bonafede P. Familial giant cell arteritis: report of an HLA-typed sibling pair and a review of the literature. *Clin Exp Rheumatol* 1994;12(1):63-66.
166. Bengtsson BA. Giant cell arteritis. *Curr Opin Rheumatol* 1990;2(1):60-65.
167. Haworth S, Ridgeway J, Stewart I, Dyer PA, Pepper L, Ollier W. Polymyalgia rheumatica is associated with both HLA-DRB1*0401 and DRB1*0404. *Br J Rheumatol* 1996;35:632-635.
168. Salvarani C, Boiardi L, Mantovani V, Ranzi A, Cantini F, Olivieri I, et al. HLA-DRB1 alleles associated with polymyalgia rheumatica in northern Italy: correlation with disease severity. *Ann Rheum Dis* 1999;58(5):303-308.
169. Petursdottir V, Nordborg E, Moraghebi N, Persson M, Nordborg C. Estrogen receptors in giant cell arteritis. An immunocytochemical, western blot and RT-PCR study. *Clin Exp Rheumatol* 1999;17(6):671-677.
170. Petursdottir V, Moslemi AR, Persson M, Nordborg E, Nordborg C. Estrogen receptor alpha in giant cell arteritis: a molecular genetic study. *Clin Exp Rheumatol* 2001;19(3):297-302.
171. Thomas RD, Croft DN. Thyrotoxicosis and giant-cell arteritis. *Br Med J* 1974;2(916):408-409.

172. Dent RG, Edwards OM. Autoimmune thyroid disease and the polymyalgia rheumatica-giant cell arteritis syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1978;9(3):215-219.
173. Wiseman P, Stewart K, Rai GS. Hypothyroidism in polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Br Med J* 1989;298(6674):647-648.
174. Melsom RD, Barnes CG, Boucher BJ. Hypothyroidism and temporal arteritis presenting concurrently. *Br J Rheumatol* 1988;27(5):409.
175. MacGregor GA. Hyperthyroidism and giant-cell arteritis. *Br Med J* 1974;2(922):42.
176. Machado EB, Gabriel SE, Beard CM, Michet CJ, O'Fallon WM, Ballard DJ. A population-based case-control study of temporal arteritis: evidence for an association between temporal arteritis and degenerative vascular disease? *Int J Epidemiol* 1989;18(4):836-841.
177. Duhaut P, Pinede L, Demolombe-Rague S, Loire R, Seydoux D, Ninet J, et al. Giant cell arteritis and cardiovascular risk factors: a multicenter, prospective case-control study. *Groupe de Recherche sur l'Arterite a Cellules Geantes. Arthritis Rheum* 1998;41(11):1960-1965.
178. Duhaut P, Pinede L, Demolombe-Rague S, Loire R, Seydoux D, Ninet J, et al. Horton's disease, polymyalgia rheumatica, and cardiovascular risk factors. A case-control, prospective multicenter study. *Ann Med Interne (Paris)* 1998;149(7):433-440.
179. Kimmelstiel P, Gilmour MT, Hodges HH. Degeneration of elastic fibers in granulomatous giant cell arteritis (temporal arteritis). *Arch Pathol* 1952;54:157-168.
180. Papajiannis SP, Spina M, Gotte L. Sequential degradation and phagocytosis of heterologous elastin. *Arch Pathol* 1970;89(5):434-439.
181. Liang GC, Simkin PA, Mannik M. Immunoglobulins in temporal arteries. An immunofluorescent study. *Ann Intern Med* 1974;81(1):19-24.
182. O'Brien JP. A concept of diffuse actinic arteritis. The role of actinic damage to elastin in 'age change' and arteritis of the temporal artery and in polymyalgia rheumatica. *Br J Dermatol* 1978;98(1):1-13.

183. O'Brien JP. A controlled hematoxylin-eosin for actinic elastosis-lysis. Its versatility and use for vascular damage (actinic arteriopathy) in the skin and orbit. *Am J Dermatopathol* 1994;16(1):31-50; discussion 36.
184. O'Brien JP, Regan W. A study of elastic tissue and actinic radiation in "aging," temporal arteritis, polymyalgia rheumatica, and atherosclerosis. The actinic storm in the modern world. *J Am Acad Dermatol* 1991;24(5 Pt 1):765-776.
185. O'Brien JP, Regan W. Are we losing focus on the internal elastic lamina in giant cell arteritis? *Arthritis Rheum* 1992;35(7):794-798.
186. O'Brien JP, Regan W. Actinically degenerate elastic tissue is the likely antigenic basis of actinic granuloma of the skin and of temporal arteritis. *J Am Acad Dermatol* 1999;40(2 Pt 1):214-222.
187. Pueblitz S, Starcher, B. Elastosis and temporal arteritis revisited: observations on UVB irradiated hairless/elastase-deficient mice and human temporal artery biopsies. *Am J Dermatopathol* 1996;18:37.
188. Hunder GG, Lie JT, Goronzy JJ, Weyand CM. Pathogenesis of giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1993;36(6):757-761.
189. Witeman DC, Green AC. Melanoma and sun exposure: where are we now? *Int J Dermatol* 1999;38:481-489.
190. Autier P, Doré JF, Gefeller O, Cesarini JP, Lejeune F, Koelmel KF, et al. Melanoma risk and residence in sunny areas. *Br J Cancer* 1997;76(11):1521-1524.
191. Mitschek G, Aubock L. Discovery of virus-like cytoplasmic inclusions in temporal arteritis (Morton and Magath's disease). *Ann Anat Pathol (Paris)* 1973;18(4):449-458.
192. Bacon PA, Doherty SM. Hepatitis-B antibody in polymyalgia rheumatica. *Lancet* 1975;2:476-478.
193. Plouvier B, Wattré P, Devulder B. HBsAg in superficial artery of patient with polymyalgia rheumatica [letter]. *Lancet* 1978;1:933.

194. Liang M, Greenberg H, Pincus T, Robinson WS. Hepatitis-B antigen in polymyalgia rheumatica [letter]. *Lancet* 1976;1:43.
195. Bridgeford PH, Lowenstein M, Bocanegra TS, Vasey FB, Germain BF, Espinoza LR. Polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis: histocompatibility typing and hepatitis-B infection studies. *Arthritis Rheum* 1980;23(4):516-518.
196. MacDonald AB. Giant cell arteritis and *Borrelia* infection. *J Clin Neuroophthalmol* 1987;7(3):180-181.
197. Pizzarello LD, MacDonald AB, Semlear R, DiLeo F, Berger B. Temporal arteritis associated with *Borrelia* infection. A case report. *J Clin Neuroophthalmol* 1989;9(1):3-6.
198. Russo MG, Waxman J, Abdoh AA, Serebro LH. Correlation between infection and the onset of the giant cell (temporal) arteritis syndrome. A trigger mechanism? *Arthritis Rheum* 1995;38(3):374-380.
199. Narvaez J, Clavaguera MT, Nolla-Solé JM, Valverde-García J, Roig-Escofet D. Lack of association between infection and polymyalgia rheumatica. *J Rheumatol* 2000;27:953-957.
200. Raynauld JP, Bloch DA, Fries JF. Seasonal variation in the onset of Wegener's granulomatosis, polyarteritis nodosa and giant cell arteritis. *J Rheumatol* 1993;20(9):1524-1526.
201. Ramassamy A, Roblot P, Texereau M, Barrier J, Becq-Giraudon B. [Seasonal factor and Horton's disease]. *Rev Med Interne* 1998;19(1):71-72.
202. Petursdottir V, Johansson H, Nordborg E, Nordborg C. The epidemiology of biopsy-positive giant cell arteritis: special reference to cyclic fluctuations. *Rheumatology (Oxford)* 1999;38(12):1208-1212.
203. Duhaut P, Bosshard S, Calvet A, Pinede L, Demolombe-Rague S, Dumontet C, et al. Giant cell arteritis, polymyalgia rheumatica, and viral hypotheses: a multicenter, prospective case-control study. Groupe de Recherche sur l'Arterite a Cellules Geantes. *J Rheumatol* 1999;26(2):361-369.

204. Liozon E, Loustaud V, Ly K, Vidal E. Association between infection and onset of giant cell arteritis: can seasonal patterns provide the answer? *J Rheumatol* 2001;28(5):1197-1198.
205. Elling P, Olsson AT, Elling H. Synchronous variations of the incidence of temporal arteritis and polymyalgia rheumatica in different regions of Denmark; association with epidemics of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *J Rheumatol* 1996;23(1):112-119.
206. Dumoulin C, Pereyre S, Clerc M, Rivel J, Puechal X, Bebear C, et al. Do *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* play a role in giant cell arteritis (GCA)? *Arthritis Rheum* 2001;44(9):S342.
207. Muhlestein JB, Anderson JL, Hammond EH, Zhao L, Trehan S, Schwobe EP, et al. Infection with *Chlamydia pneumoniae* accelerates the development of atherosclerosis and treatment with azithromycin prevents it in a rabbit model. *Circulation* 1998;97(7):633-636.
208. Muhlestein JB. *Chlamydia pneumoniae*-induced atherosclerosis in a rabbit model. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 3:S505-507.
209. Ouchi K, Fujii B, Kudo S, Shirai M, Yamashita K, Gondo T, et al. *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic and nonatherosclerotic tissue. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 3:S441-443.
210. Rosenfeld ME, Blessing E, Lin TM, Moazed TC, Campbell LA, Kuo C. *Chlamydia*, inflammation, and atherogenesis. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 3:S492-497.
211. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126.
212. Ljungstrom L, Franzen C, Schlaug M, Elowson S, Vidas U. Reinfection with *Chlamydia pneumoniae* may induce isolated and systemic vasculitis in small and large vessels. *Scand J Infect Dis* 1997;104(Suppl.):37-40.
213. Rimenti G, Blasi F, Cosentini R, Moling O, Pristera R, Tarsia P, et al. Temporal arteritis associated with *Chlamydia pneumoniae* DNA detected in an artery specimen. *J Rheumatol* 2000;27(11):2718-2720.

214. Staud R, Corman LC. Association of parvovirus B19 infection with giant cell arteritis. *Clin Infect Dis* 1996;22(6):1123.
215. Salvarani C, Casali B, Cantini F, Olivieri I, Macchioni P, Bajocchi G, et al. Detection of parvovirus B19 DNA by polymerase chain reaction in giant cell arteritis: a case-control study. *Arthritis Rheum* 2002;46(11):3099-3101.
216. Krueger GR, Papadakis T, Schaefer HJ. Persistent active Epstein-Barr virus infection and atypical lymphoproliferation. Report of two cases. *Am J Surg Pathol* 1987;11:972-981.
217. Teitelbaum CS, Streeten BW, Dawson CR. Histopathology of herpes simplex virus keratouveitis. *Curr Eye Res* 1987;6:189-194.
218. Barrier JH, De Haldat de Lys F, Billaudel S, Peltier P, Ponge T. Herpes zoster: serological study and cranial giant cell arteritis. *J Rheumatol* 1986;13:6-7.
219. Buchwald D, Sullivan JL, Leddy S. "Chronic Epstein-Barr virus infection" syndrome and polymyalgia rheumatica. *J Rheumatol* 1988;15:479-482.
220. Nordborg C, Nordborg E, Petursdottir V, LaGuardia J, Mahalingam R, Wellish M, et al. Search for varicella zoster virus in giant cell arteritis. *Ann Neurol* 1998;44(3):413-414.
221. Wells KK, Folberg R, Goeken JA, Kemp JD. Temporal artery biopsies. Correlation of light microscopy and immunofluorescence microscopy. *Ophthalmology* 1989;96(7):1058-1064.
222. Gallagher P, Jones K. Immunohistochemical findings in cranial arteritis. *Arthritis Rheum* 1982;25(1):75-79.
223. Papaioannou CC, Gupta RC, Hunder GG, McDuffie FC. Circulating immune complexes in giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica. *Arthritis Rheum* 1980;23(9):1021-1025.
224. Malmvall BE, Bengtsson BA, Nilsson LA, Bjursten LM. Immune complexes, rheumatoid factors, and cellular immunological parameters in patients with giant cell arteritis. *Ann Rheum Dis* 1981;40(3):276-280.

225. Liozon E, Roblot P, Paire D, Loustaud V, Liozon F, Vidal E, et al. Anticardiolipin antibody levels predict flares and relapses in patients with giant-cell (temporal) arteritis. A longitudinal study of 58 biopsy-proven cases. *Rheumatology (Oxford)* 2000;39(10):1089-1094.
226. Chakravarty K, Pountain G, Merry P, Byron M, Hazleman B, Scott DG. A longitudinal study of anticardiolipin antibody in polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *J Rheumatol* 1995;22(9):1694-1697.
227. Duhaut P, Berruyer M, Pinede L, Demolombe-Rague S, Loire R, Seydoux D, et al. Anticardiolipin antibodies and giant cell arteritis: a prospective, multicenter case-control study. Groupe de Recherche sur l'Arterite a Cellules Geantes. *Arthritis Rheum* 1998;41(4):701-709.
228. Andersson R, Jonsson R, Tarkowski A, Bengtsson BA, Malmvall BE. T cell subsets and expression of immunological activation markers in the arterial walls of patients with giant cell arteritis. *Ann Rheum Dis* 1987;46(12):915-923.
229. Martinez-Taboada V, Brack A, Hunder GG, Goronzy JJ, Weyand CM. The inflammatory infiltrate in giant cell arteritis selects against B lymphocytes. *J Rheumatol* 1996;23(6):1011-1014.
230. Brack A, Geisler A, Martinez-Taboada VM, Younge BR, Goronzy JJ, Weyand CM. Giant cell vasculitis is a T cell-dependent disease. *Mol Med* 1997;3(8):530-543.
231. Martinez-Taboada V, Hunder NN, Hunder GG, Weyand CM, Goronzy JJ. Recognition of tissue residing antigen by T cells in vasculitic lesions of giant cell arteritis. *J Mol Med* 1996;74(11):695-703.
232. Wagner AD, Bjornsson J, Bartley GB, Goronzy JJ, Weyand CM. Interferon-gamma-producing T cells in giant cell vasculitis represent a minority of tissue-infiltrating cells and are located distant from the site of pathology. *Am J Pathol* 1996;148(6):1925-1933.
233. Weyand CM, Tetzlaff N, Bjornsson J, Brack A, Younge B, Goronzy JJ. Disease patterns and tissue cytokine profiles in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1997;40(1):19-26.

234. Wahl SM. Transforming growth factor beta: the good, the bad, and the ugly. *J Exp Med* 1994;180:1587-1590.
235. Weyand CM, Wagner AD, Bjornsson J, Goronzy JJ. Correlation of the topographical arrangement and the functional pattern of tissue-infiltrating macrophages in giant cell arteritis. *J Clin Invest* 1996;98(7):1642-1649.
236. Wagner AD, Goronzy JJ, Weyand CM. Functional profile of tissue-infiltrating and circulating CD68+ cells in giant cell arteritis. Evidence for two components of the disease. *J Clin Invest* 1994;94(3):1134-1140.
237. Carson CW, Beall LD, Hunder GG, Johnson CM, Newman W. Serum ELAM-1 is increased in vasculitis, scleroderma, and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1993;20(5):809-814.
238. Cid MC, Cebrian M, Font C, Coll-Vinent B, Hernandez-Rodriguez J, Esparza J, et al. Cell adhesion molecules in the development of inflammatory infiltrates in giant cell arteritis: inflammation-induced angiogenesis as the preferential site of leukocyte-endothelial cell interactions. *Arthritis Rheum* 2000;43(1):184-194.
239. Senior RM, Griffin GL, Fliszar CJ, Shapiro SD, Goldberg GI, Welgus HG. Human 92- and 72-kilodalton type IV collagenases are elastases. *J Biol Chem* 1991;266:7870-7875.
240. Rittner HL, Kaiser M, Brack A, Szweda LI, Goronzy JJ, Weyand CM. Tissue-destructive macrophages in giant cell arteritis. *Circ Res* 1999;84(9):1050-1058.
241. Weyand CM, Goronzy JJ. Arterial wall injury in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1999;42(5):844-853.
242. Sorbi D, French DL, Nuovo GJ, Kew RR, Arbeit LA, Gruber BL. Elevated levels of 92-kd type IV collagenase (matrix metalloproteinase 9) in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1996;39(10):1747-1753.
243. Nikkari ST, Hoyhtya M, Isola J, Nikkari T. Macrophages contain 92-kd gelatinase (MMP-9) at the site of degenerated internal elastic lamina in temporal arteritis. *Am J Pathol* 1996;149(5):1427-1433.

244. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274(31):21491-21494.
245. Mengshol JA, Kimberlee SM, Brinckerhoff CE. Matrix metalloproteinases as therapeutic targets in arthritic diseases. *Arthritis Rheum* 2002;46(1):13-20.
246. Welgus HG, Fliszar CJ, Seltzer JL, Schmid TM, Jeffrey JJ. Differential susceptibility of type X collagen to cleavage by two mammalian interstitial collagenases and 72-kDa type IV collagenase. *J Biol Chem* 1990;265(23):13521-13527.
247. Wilhelm SM, Collier IE, Marmer BL, Eisen AZ, Grant GA, Goldberg GI. SV40-transformed human lung fibroblasts secrete a 92-kDa type IV collagenase which is identical to that secreted by normal human macrophages. *J Biol Chem* 1989;264(29):17213-17221.
248. Collier IE, Wilhelm SM, Eisen AZ, Marmer BL, Grant GA, Seltzer JL, et al. H-ras oncogene-transformed human bronchial epithelial cells (TBE-1) secrete a single metalloprotease capable of degrading basement membrane collagen. *J Biol Chem* 1988;263(14):6579-6587.
249. Esparza J, Vilardell C, Calvo J, Juan M, Vives J, Urbano-Márquez A, et al. Fibronectin upregulates gelatinase B (MMP-9) and induces coordinated expression of gelatinase A (MMP-2) and its activator MT1-MMP (MMP-14) by human T lymphocyte cell lines. A process repressed through RAS/MAP kinase signaling pathways. *Blood* 1999;94(8):2754-2766.
250. Laurie GW, Leblond CP, Martin GR. Localization of type IV collagen, laminin, heparan sulfate proteoglycan and fibronectin to the basal lamina of basement membranes. *J Cell Biol* 1982;95:340.
251. Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *Faseb J* 1991;5(8):2145-2154.
252. Stahle-Backdahl M, Parks WC. 92-kd gelatinase is actively expressed by eosinophils and stored by neutrophils in squamous cell carcinoma. *Am J Pathol* 1993;142(4):995-1000.
253. Soini Y, Hurskainen T, Hoyhtya M, Oikarinen A, Autio-Harmainen H. 72 KD and 92 KD type IV collagenase, type IV collagen, and laminin mRNAs

- in breast cancer: a study by in situ hybridization. *J Histochem Cytochem* 1994;42(7):945-951.
254. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: multifunctional contributors to tumor progression. *Mol Med Today* 2000;6:149-156.
255. Pap T, Shigeyama Y, Kuchen S, Fernihough JK, Simmen B, Gay RE, et al. Differential expression pattern of membrane-type matrix metalloproteinases in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43(6):1226-1232.
256. Imai K, Ohta S, Matsumoto T, Fujimoto N, Sato H, Seiki M, et al. Expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase and activation of progelatinase A in human osteoarthritic cartilage. *Am J Pathol* 1997;151(1):245-256.
257. Woessner JF, Jr., Gunja-Smith Z. Role of metalloproteinases in human osteoarthritis. *J Rheumatol(Suppl.)* 1991;27:99-101.
258. Nikkari ST, O'Brien KD, Ferguson M, Hatsukami T, Welgus HG, Alpers CE, et al. Interstitial collagenase (MMP-1) expression in human carotid atherosclerosis. *Circulation* 1995;92(6):1393-1398.
259. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994;94(6):2493-2503.
260. Brown DL, Hibbs MS, Kearney M, Loushin C, Isner JM. Identification of 92-kd gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions: association of active enzyme synthesis with unstable angina. *Circulation* 1995;91(8):2125-2131.
261. Thompson RW, Holmes DR, Mertens RA, Liao S, Botney MD, Mecham RP, et al. Production and localization of 92-kilodalton gelatinase in abdominal aortic aneurysms. An elastolytic metalloproteinase expressed by aneurysm-infiltrating macrophages. *J Clin Invest* 1995;96(1):318-326.
262. Gonzales EB, Miller SB. Polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis: making the diagnosis. *J Musculoskeletal Med* 1992;9:117-124.

263. Okada Y, Katsuda S, Okada Y, Nakanishi I. An elastinolytic enzyme in the culture medium of human arterial smooth muscle. *Cell Biol Int* 1993;17:863-869.
264. Vine N, Powell JT. Metalloproteinases in degenerative aortic disease. *Clin Sci (Lond)* 1991;81(2):233-239.
265. Tomita T, Imakawa K. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in giant cell arteritis: an immunocytochemical study. *Pathology* 1998;30(1):40-50.
266. Ghanchi FD, Dutton GN. Current concepts in giant cell (temporal) arteritis. *Surv Ophthalmol* 1997;42(2):99-123.
267. Amano J, Ishiyama S, Nishikawa T, Tanaka H, Nagai R, Marumo F, et al. Proliferation of smooth muscle cells in acute allograft vascular rejection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;113(1):19-25.
268. Ross R. Cellular and molecular studies of atherogenesis. *Atherosclerosis* 1997;131(Suppl):S3-4.
269. Wilcox JN, Scott, N.A. Potential role of the adventitia in arteritis and atherosclerosis. *Int J Cardiol* 1996;54(Suppl.):S21-35.
270. Cid MC, Grant DS, Hoffman GS, Auerbach R, Fauci AS, Kleinman HK. Identification of haptoglobin as an angiogenic factor in sera from patients with systemic vasculitis. *J Clin Invest* 1993;91:977-985.
271. Gabriel SE, O'Fallon WM, Achkar AA, Lie JT, Hunder GG. The use of clinical characteristics to predict the results of temporal artery biopsy among patients with suspected giant cell arteritis. *J Rheumatol* 1995;22(1):93-96.
272. Hayreh SS, Podhajsky PA, Raman R, Zimmerman B. Giant cell arteritis: validity and reliability of various diagnostic criteria. *Am J Ophthalmol* 1997;123(3):285-296.
273. Aguilar D, Bustos M, Caracuel MD. Coloraciones histopatológicas rutinarias de mayor interés. En: García del Moral R, ed. *Laboratorio de anatomía patológica*. Madrid: McGraw-Hill - Interamericana de España, 1993;p. 155-174.

274. García del Moral R, Quesada MJ, Aguilar D. Fundamentos generales de coloración. En: García del Moral R, ed. Laboratorio de anatomía patológica. Madrid: McGraw-Hill - Interamericana de España, 1993;p. 119-142.
275. López Caballero JJ, Peña MC, de Federico MJ. Coloraciones para fibras colágenas y elásticas del tejido conjuntivo. coloraciones para sustancia amiloidea. En: García del Moral R, ed. Laboratorio de anatomía patológica. Madrid: McGraw - Hill - Interamericana de España, 1993;p. 175-195.
276. Riera Velasco JR. Estandarización y control de calidad en inmunohistoquímica (1ª parte). Rev Esp Patol 1999;32(4):573-581.
277. Mosquera MM, de Ory F, Moreno M, Echevarria JE. Simultaneous detection of measles virus, rubella virus, and parvovirus B19 by using multiplex PCR. J Clin Microbiol 2002;40(1):111-116.
278. Saldanha J, Lelie N, Yu MW, Heath A, et the B19 Collaborative Study Group. Establishment of the first World Health Organization International Standard for human parvovirus B19 DNA nucleic acid amplification techniques. Vox Sang 2002;82(1):24-31.
279. Tenorio A, Echevarría JE, Casas I, Echevarría JM, Tabarés E. Detection and typing of human herpesviruses by multiplex polymerase chain reaction. J Virol Methods 1993;44:261-269.
280. Huston KA, Hunder GG, Lie JT, Kennedy RH, Elveback LR. Temporal arteritis: a 25-year epidemiologic, clinical, and pathologic study. Ann Intern Med 1978;88(2):162-167.
281. Kent RB, 3rd, Thomas L. Temporal artery biopsy. Am Surg 1990;56(1):16-21.
282. Jonasson F, Cullen JF, Elton RA. Temporal arteritis. A 14-year epidemiological, clinical and prognostic study. Scott Med J 1979;24(2):111-117.
283. Gonzalez-Gay MA, Alonso MD, Agüero JJ, Bal M, Fernandez-Cambor B, Sanchez-Andrade A. Temporal arteritis in a northwestern area of Spain: study of 57 biopsy proven patients. J Rheumatol 1992;19(2):277-280.

284. Narvaez J, Nolla-Sole JM, Valverde-Garcia J, Roig-Escofet D. Sex differences in temporal arteritis and polymyalgia rheumatica. *J Rheumatol* 2002;29(2):321-325.
285. Nir-Paz R, Gross A, Chajek-Shaul T. Sex differences in giant cell arteritis. *J Rheumatol* 2002;29:1219-1223.
286. Salvarani C, Cantini F, Boiardi L, Hunder GG. Polymyalgia rheumatica and giant-cell arteritis. *N Engl J Med* 2002;347(4):261-271.
287. Goelz SE, Hamilton SR, Vogelstein B. Purification of DNA from formaldehyde fixed and paraffin embedded human tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;130:118-126.
288. Merkelbach S, Gehlen J, Handt S, Füzesi L. Novel enzyme immunoassay and optimized DNA extraction for the detection of polymerase-chain-reaction-amplified viral DNA from paraffin-embedded tissue. *Am J Pathol* 1997;150(5):1537-1546.
289. Bielawski K, Zaczek A, Lisowska U, Dybikowska A, Kowalska A, Falkiewicz B. The suitability of DNA extracted from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues for double differential polymerase chain reaction analysis. *Int J Mol Med* 2001;8:573-578.
290. Young NS. B19 parvovirus. *Baillieres Clin Haematol* 1995;8:25-56.
291. Prowse C, Ludlam CA, Yap PL. Human parvovirus B19 and blood products. *Vox Sang* 1997;72(1):1-10.
292. Sakata H, Ihara H, Sato S, Kato T, Ikeda H, Sekiguchi S. Efficiency of donor screening for human parvovirus B19 by the receptor-mediated hemagglutination assay method. *Vox Sang* 1999;77(4):197-203.
293. Galis ZS, Muszynski M, Sukhova G, Simon-Morrissey E, Unemori EN, Lark MW, et al. Cytokine-stimulated human vascular smooth muscle cells synthesize a complement of enzymes required for extracellular matrix digestion. *Circ Res* 1994;75:181-189.
294. Galis Z, Sukhova G, Libby P. Microscopic localization of active proteases by in situ zymography: detection of matrix metalloproteinase activity in vascular tissue. *FASEB J* 1995;9:974-980.

295. Cohen JR, Sarfati I, Danna D, Wise L. Smooth muscle cell elastase, atherosclerosis and abdominal aortic aneurysms. *Atherosclerosis* 1992;216:327-332.
296. Henney AM, Wakeley PR, Davies MJ, Foser K, Hembry R, Murphy G, et al. Localization of stromelysin gene expression in atherosclerotic plaques by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:2632-2636.
297. Herron GS, Banda MJ, Clark EJ, Gavrilovic J, Werb Z. Secretion of metalloproteinases by stimulated capillary endothelial cells. II. Expression of collagenase and stromelysin activities is regulated by endogenous inhibitors. *J Biol Chem* 1986;261:2814-2818.
298. Herron GS, Werb Z, Swyer K, Banda MJ. Secretion of metalloproteinases by stimulated capillary endothelial cells. I. Production of procollagenase and prostromelysin exceeds expression of proteolytic activity. *J Biol Chem* 1986;261:2810-2813.
299. Yanagi H, Sasaguri Y, Sugama K, Morimatsu M, Nagase H. Production of tissue collagenase (matrix metalloproteinase 1) by human aortic smooth muscle cells in response to platelet-derived growth factor. *Atherosclerosis* 1991;91:207-216.
300. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis. *Circ Res* 2002;90:251-262.
301. Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res* 2001;89(9):763-771.
302. Glagov S, Weisenber E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1987;316:1371-1375.
303. Amano J, Ishiyama S, Nishikawa T, Tanaka H, Nagai R, Marumo F, et al. Proliferation of smooth muscle cells in acute allograft vascular rejection. *J Thorac Cardiovascular Surg* 1997;113(1):19-25.
304. Gibbons G, Dzau V. The emerging concept of vascular remodeling. *N Engl J Med* 1994;330:1431-1438.

305. Thyberg J, Blomgren K, Hedin U, Dryjski M. Phenotypic modulation of smooth muscle cell during the formation of neointimal thickenings in the rat carotid artery after balloon injury: An electron-microscopic and stereological study. *Cell Tissue Res* 1995;281:421-433.
306. Assoian RK, Marcantonio EE. The extracellular matrix as a cell cycle control element in atherosclerosis and restenosis. *J Clin Invest* 1996;98:2436-2439.
307. Bendeck MP, Zempo N, Clowes AW, Galardy RE, Reidy MA. Smooth muscle cell migration and matrix metalloproteinase expression after arterial injury in the rat. *Circ Res* 1994;75(539-545).
308. Evans JM, O'Fallon WM, Hunder GG. Increased incidence of aortic aneurysm and dissection in giant cell (temporal) arteritis. A population-based study. *Ann Intern Med* 1995;122(7):502-507.
309. Brophy CM, Reilly JM, Walker Smith GJ, Tilson MD. The role of inflammation in nonspecific aneurysm disease. *Ann Vasc Surg* 1991;5:229-233.
310. Cohen JR, Mandell C, Chang JB, Wise L. Elastin metabolism of the infrarenal aorta. *J Vasc Surg* 1988;7:210-214.
311. Dixon AS, Beardwell C, Kay A, Wanka J, Wong YT. Polymyalgia rheumatica and temporal arteritis. *Ann Rheum Dis* 1966;25(3):203-208.
312. Brittain GP, McIlwaine GG, Bell JA, Gibson JM. Plasma viscosity or erythrocyte sedimentation rate in the diagnosis of giant cell arteritis? *Br J Ophthalmol* 1991;75(11):656-659.
313. Duhaut P, Pinede L, Bornet H, Demolombe-Rague S, Dumontet C, Ninet J, et al. Biopsy proven and biopsy negative temporal arteritis: differences in clinical spectrum at the onset of the disease. Groupe de Recherche sur l'Arterite a Cellules Geantes. *Ann Rheum Dis* 1999;58(6):335-341.
314. Bevan AT, Dunnill MS, Harrison MJ. Clinical and biopsy findings in temporal arteritis. *Ann Rheum Dis* 1968;27(3):271-277.

315. Fauchald P, Rygvold O, Oystese B. Temporal arteritis and polymyalgia rheumatica. Clinical and biopsy findings. *Ann Intern Med* 1972;77(6):845-852.
316. Hall S, Persellin S, Lie JT, O'Brien PC, Kurland LT, Hunder GG. The therapeutic impact of temporal artery biopsy. *Lancet* 1983;2(8361):1217-1220.
317. Hedges TR, 3rd, Gieger GL, Albert DM. The clinical value of negative temporal artery biopsy specimens. *Arch Ophthalmol* 1983;101(8):1251-1254.
318. Roth AM, Milsow L, Keltner JL. The ultimate diagnoses of patients undergoing temporal artery biopsies. *Arch Ophthalmol* 1984;102(6):901-903.
319. McDonnell PJ, Moore GW, Miller NR, Hutchins GM, Green WR. Temporal arteritis. A clinicopathologic study. *Ophthalmology* 1986;93(4):518-530.
320. Vilaseca J, Gonzalez A, Cid MC, Lopez-Vivancos J, Ortega A. Clinical usefulness of temporal artery biopsy. *Ann Rheum Dis* 1987;46(4):282-285.
321. Fernandez-Herlihy L. Temporal arteritis: clinical aids to diagnosis. *J Rheumatol* 1988;15(12):1797-1801.
322. Gonzalez EB, Varner WT, Lisse JR, Daniels JC, Hokanson JA. Giant-cell arteritis in the southern United States. An 11-year retrospective study from the Texas Gulf Coast. *Arch Intern Med* 1989;149(7):1561-1565.
323. Stuart RA. Temporary artery biopsy in suspected temporal arteritis: a five year survey. *N Z Med J* 1989;102(874):431-433.
324. Chmielewski WL, McKnight KM, Agudelo CA, Wise CM. Presenting features and outcomes in patients undergoing temporal artery biopsy. A review of 98 patients. *Arch Intern Med* 1992;152(8):1690-1695.
325. Baldursson O, Steinsson K, Bjornsson J, Lie JT. Giant cell arteritis in Iceland. An epidemiologic and histopathologic analysis. *Arthritis Rheum* 1994;37(7):1007-1012.

326. Skaug TR, Midelfart A, Jacobsen G. Clinical usefulness of biopsy in giant cell arteritis. *Acta Ophthalmol Scand* 1995;73(6):567-570.
327. Gur H, Rapman E, Ehrenfeld M, Sidi Y. Clinical manifestations of temporal arteritis: a report from Israel. *J Rheumatol* 1996;23(11):1927-1931.
328. Genereau T, Lortholary O, Guillevin L, Cacoub P, Galezowski N, Cherin P, et al. Temporal 67gallium uptake is increased in temporal arteritis. *Rheumatology (Oxford)* 1999;38(8):709-713.
329. Smetana GW, Shmerling RH. Does this patient have temporal arteritis? *Jama* 2002;287(1):92-101.
330. Solomon S, Cappa KG. The headache of temporal arteritis. *J Am Geriatr Soc* 1987;35(2):163-165.

Anexo

ENCUESTA DE ARTERITIS DE CÉLULAS GIGANTES

Nombre y apellidos : _____

Edad: Sexo: 1- hombre 2- mujer Número de orden:

Dirección: _____

Teléfono:

Fecha de nacimiento:

Fecha de revisión historia:

Número de historia:

Biopsia: Pos (1)/Neg (2): Diagnóstico historia: ACG (1)/No ACG (2):

ANTECEDENTES DE HÁBITOS TÓXICOS

Tabaquismo: 1. Sí 2. No

Enolismo: 1. Sí 2. No

ANTECEDENTES PATOLÓGICOS PERSONALES

Hipertensión arterial: 1. Sí 2. No

Diabetes mellitus: 1. Sí 2. No

Dislipemia: 1. Sí 2. No

Cardiopatía isquémica: 1. Sí 2. No

Accidente vascular cerebral: 1. Sí 2. No

Tromboembolismo pulmonar: 1. Sí 2. No

Trombosis venosa profunda: 1. Sí 2. No

Patología tiroidea: 1. Sí 2. No

Neoplasias cutáneas: 1. Melan. 2. Carcinoc. 3. Basoc. 4. Ocas. 5. No

FECHAS DE INTERÉS

Fecha de la primera consulta:

Fecha del diagnóstico clínico:

Fecha de la biopsia:

Fecha de inicio del tratamiento corticoideo:

Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta primera consulta (días):

SINTOMATOLOGÍA

Cefalea	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Astenia	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Hiperestesia craneal	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Anorexia	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Claudicación mandibular	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Síntomas constitucionales	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Alteraciones visuales	<input type="checkbox"/>	1. Diplopa 2. Anisocoria bilateral 3. Anisocoria fugaz 4. Visión borrosa 5. Pérdida visión 6. Escotomas 7. No.	Síndrome depresivo	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Fiebre/febrícula	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Anemia	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Pérdida de peso	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Dolor orbita escapular	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Malestar general	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Dolor orbita pélica	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No

EXPLORACIÓN ARTERIAS TEMPORALES

• **Derecha:** Engrosada/borrrosa 1. Sí 2. No Dolorosa 1. Sí 2. No Disminución de pulso 1. Sí 2. No

• **Izquierda:** Engrosada/borrrosa 1. Sí 2. No Dolorosa 1. Sí 2. No Disminución de pulso 1. Sí 2. No

DATOS ANALÍTICOS

VSG: Anemia: 1. Sí 2. No

BIOPSIA DE ARTERIA TEMPORAL

Localización: 1. Derecha
 2. Izquierda
 3. Desconocida

Número de biopsia:

Alteraciones histopatológicas:

Infiltrado sólo adventicial 1. Sí
 2. No

Hiperplasia intimal 1. Sí
 2. No

Infiltrado en toda la pared 1. Sí
 2. No

Calcificación 1. Sí
 2. No

Células gigantes 1. Sí
 2. No

Interposición elástica interna 1. Sí
 2. No

Determinación de metaloproteinasas:

Metaloproteinasa 2: 1. Sí
 2. No Localización: _____

Metaloproteinasa 9: 1. Sí
 2. No Localización: _____

Determinación de virus:

	1ª determinación:	2ª determinación:
Parvovirus B19:	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo
Herpes virus simplex I y II:	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo
Virus varicela zoster:	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo
Citomegalovirus:	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo
Virus herpes humano 6:	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo
Virus Epstein-Barr:	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo	<input type="checkbox"/> 1. Positivo 2. Negativo

DIAGNÓSTICO ALTERNATIVO

• **Diagnóstico:** 1. PKR, 2. Oira vascular, 3. AR, 4. Oira sistémica, 5. Sínd. Paraneoplásico, 6. Oira, 7. Sin dx. _____

• **Síntomas que conducen a la confusión:**

Cefalea	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Pérdida de peso	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Síndrome depresivo	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Hiperestesia craneal	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Malestar general	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Dolor cintura escapular	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Claudicación mandibular	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Asíntoma	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Dolor cintura pélvica	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Alteraciones visuales	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Anorexia	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Ataxia	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Fiebre/febriçita	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Síntomas constitucionales	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	Elevación de VSG	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No
Otros	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No						

• **Motivos por los que se descarta la ACG:**

No respuesta a corticoides	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	_____
Negatividad biopsia arterial	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	_____
No elevación de VSG	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	_____
Alteraciones inmunológicas	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	_____
Diagnóstico neuropático	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	_____
Evolución clínica	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	_____
Otros	<input type="checkbox"/>	1. Sí 2. No	_____

• **Comentarios:** _____

