



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

**ANTICUERPOS ANTINUCLEARES  
ESPECÍFICOS DE LA ESCLERODERMIA  
COMO DETERMINANTES DEL  
PRONÓSTICO Y DE LOS DIFERENTES  
PATRONES CLÍNICOS DE LA  
ENFERMEDAD**



**Tesis presentada para optar al grado de Doctor**

**Doctorando:**

Alejandra Fernández Luque

**Directora:**

Dra. Carmen Pilar Simeón Aznar

**Tutor:**

Dr. Vicent Fonollosa Plá

**UAB**

Universitat Autònoma  
de Barcelona

**UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA**

Programa de Doctorat en Medicina

Departament de Medicina

BARCELONA 2016



*A Manolo, Sofía y Lucas.*

*A mis padres.*

*A la memoria de Nines.*

## ■ ■ AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Han sido muchas las personas que me han acompañado durante esta etapa de mi formación que ahora concluye y que han contribuido, ya sea directa o indirectamente, a la realización de esta tesis. A todas ellas me gustaría mostrar mi más sincero agradecimiento.

Gracias especialmente a la directora de esta tesis, Carmen Pilar Simeón, no sólo por haberme enseñado todo lo que sé sobre la esclerodermia, un mundo del que lo conoce todo, sino por su calidad personal infinita, por demostrarme que la excelencia no está reñida con la humildad. Gracias por tu paciencia y tu cariño, y por haber ejercido también de “mami” en los momentos de crisis.

Al Dr. Vicent Fonollosa, protagonista principal de la historia de la esclerodermia en nuestro país, por su capacidad de liderazgo y haber sabido transmitirnos la pasión e interés por esta enfermedad.

A Alfredo, Edu y Adrián, por su compañerismo y su ayuda desinteresada acompañados siempre de la mejor sonrisa.

A Maria José Rodrigo y Ana Marín, porque sin su contribución desde el laboratorio, esta tesis no podría haberse llevado a cabo.

A todos los compañeros del servicio de Enfermedades autoinmunes del Hospital Vall d’Hebron (“la tercera”), mi segundo hogar durante algunos años y donde crecí como médico. Gracias a todos y cada uno de ellos por haberme enseñado tanto y haberme hecho sentir como en una gran familia. Quería hacer mención especial al Dr. Miquel Vilardell, por ser un ejemplo y transmitirnos sus valores, por recordarnos constantemente que el paciente siempre es lo más importante. Gracias por la cálida acogida en el servicio, por tu cercanía y por tu preocupación constante por el bienestar de los residentes.

Al Dr. Albert Selva, por ser fuente inagotable de motivación. Por contagiarnos su pasión y entusiasmo por la medicina, y, ahora en la distancia, seguir siendo una referencia cuando tengo dudas sobre casos raros con los que se desenvuelve como nadie.

A Ane y a Gemma, mis compañeras y hermanas de fatigas, que espero que sigan siéndolo a pesar de no tenerlas tan cerca.

A mis compañeros del Hospital de Mollet, por las risas, por el compañerismo, por hacer que ir a trabajar cada día sea un lujo.

A mis compañeros de residencia del Hospital Vall d'Hebron, muchos ya más amigos que compañeros, con los que he compartido tanto. Gracias sobre todo a "los malignos", por conseguir que, incluso algo tan duro como las guardias se convirtiera en un recuerdo feliz.

A mis amigos fuera de las fronteras hospitalarias: La Gesta, a los Lomos, los portonoveses, los catalano-mallorquines y las Berlinburguesas, por ser una parte esencial en mi vida.

A mi familia, que cada vez es más grande: a mis padres y hermanas, por vuestro estímulo y vuestro ejemplo, por inculcarme los valores del trabajo, y por vuestro apoyo y respeto en cada decisión que he ido tomando en la vida. Os quiero. Y a "las nuevas adquisiciones", especialmente a ti, Nines, por tu cariño sin límites y por ser un ejemplo constante. Nunca dejaré de echarte de menos.

Y, por último, el agradecimiento más especial para Manolo, Sofía y Lucas, por hacerme sentir cada día la más afortunada y por ser para mí, simplemente, todo.

## ■ ■ ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

- A**
- ACA:** Anticuerpos anticentrómero.
  - ACR:** American College of Rheumatology.
  - AMA:** Anticuerpos antimitocondriales.
  - ANA:** Anticuerpos antinucleares.
  - ANu:** Anticuerpos antinucleolares.
  - ATA-I:** Antitopoisomerasa I / anti-Scl-70.
- B**
- BNP:** Péptido natriurético cerebral.
- C**
- CENP:** Proteínas centroméricas.
  - CF:** Clase funcional.
  - CREST:** Calcinosis, Raynaud, Esclerodactilia, Esófagopatía, Telangiectasias
  - CRE:** Crisis renal esclerodérmica.
  - CSGR:** Grupo de investigación canadiense sobre Esclerodermia.
  - CTGF:** Factor de crecimiento del tejido conectivo.
  - CVF:** Capacidad vital forzada.
- D**
- DLCO:** Capacidad de difusión de monóxido de carbono
- E**
- ECG:** Electrocardiograma.
  - ELISA:** Enzimoimmunoanálisis.
  - EMG:** Electromiograma.
  - EMTC:** Enfermedad Mixta del Tejido Conectivo
  - ENA:** Antígenos extraíbles del núcleo.
  - EPI:** Enfermedad pulmonar intersticial
  - ES:** Esclerosis Sistémica / Esclerodermia
  - ES sine ES:** ES sine esclerodermia
  - ET-1:** Endotelina-1.
  - EULAR:** European League Against Rheumatism
  - EUSTAR:** European League Against Rheumatism Scleroderma Trials and Research
- F**
- FGF:** Factor de crecimiento de fibroblastos.
  - FR:** Fenómeno de Raynaud.
- G**
- GAVE:** Ectasias vasculares del antro gástrico.
- H**
- HAP:** Hipertensión Arterial Pulmonar.
  - HLA:** Complejo mayor de histocompatibilidad.
  - HR:** Hazard ratio

- I**
- IB:** Inmunoblot.
  - IC:** Intervalo de confianza.
  - IECA:** Inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina.
  - IFI:** Inmunofluorescencia indirecta.
  - IFN:** Interferón.
  - IMC:** Índice de masa corporal.
  - ISRCS:** Investigational Scleroderma Renal Crisis Survey.
  - IP:** Inmunoprecipitación.
- L**
- LES:** Lupus eritematoso sistémico.
- M**
- mRSS:** Modified Rodnan skin score.
- N**
- NINE:** Neumonía intersticial no específica.
  - NIU:** Neumopatía intersticial usual.
  - NT-proBNP:** Porción amino terminal del pro-péptido natriurético cerebral.
  - NYHA:** New York Heart association.
- O**
- OR:** Odds ratio.
- P**
- PAPm:** Presión de la arteria pulmonar media.
  - PDGF:** Factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
  - PDGFR:** Receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
  - PCP:** Presión de enclavamiento capilar pulmonar.
  - PET:** Tomografía por emisión de protones.
  - PFR:** Pruebas de función respiratoria.
  - PM:** Polimiositis.
  - Pre-ES:** Preesclerodermia.
- R**
- RESCLE:** Grupo español de estudio de la Esclerodermia.
  - RGE:** Reflujo gastroesofágico.
  - RNAp:** Anticuerpos anti RNA polimerasa III.
  - RNP:** Ribonucleoproteínas nucleolares.
  - RVP:** Resistencias vasculares pulmonares.
- S**
- SPECT:** Tomografía computarizada de emisión monofotónica.
- T**
- TACAR:** Tomografía axial computarizada de alta resolución pulmonar.
  - TEGD:** Tránsito esófagogastroduodenal.
  - TGF-B:** Factor de crecimiento transformante beta.
- U**
- UD:** Úlceras digitales.
- V**
- VSG:** Velocidad de sedimentación globular.



**AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS****ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS**

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. <i>GENERALIDADES ESCLERODERMIA</i> .....	3
1.1.1. DEFINICIÓN/EPIDEMIOLOGÍA .....	3
1.1.2. PATOGENIA .....	3
1.1.3. CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN .....	6
1.1.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS .....	14
1.1.5. PRONÓSTICO .....	24
1.1.6. TRATAMIENTO .....	26
1.2. <i>LOS ANTICUERPOS Y LA ESCLERODERMIA</i> .....	28
1.2.1. ASPECTOS CLÍNICOS DE LOS ANTICUERPOS EN LA ESCLERODEMIA .....	28
1.2.2. CONSIDERACIONES EPIDEMIOLÓGICAS Y GENÉTICAS DE LOS ANTICUERPOS EN LA ES .....	29
1.2.3. ANTICUERPOS Y PATOGÉNESIS .....	30
1.2.4. CARACTERÍSTICAS DE LOS ANTICUERPOS DE LA ESCLERODERMIA .....	31
1.2.4.1. <i>ANAs específicos de Esclerodermia</i> .....	31
1.2.4.2. <i>ANAs asociados a Esclerodermia</i> .....	31
1.2.4.3. <i>Otros anticuerpos</i> .....	32
1.2.5. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS .....	34
1.2.6. PERFILES CLÍNICOS DE LOS ANTICUERPOS ESPECÍFICOS DE LA ES .....	36
1.2.6.1. <i>Anticentrómero (ACA)</i> .....	36
1.2.6.2. <i>Antitopoisomerasa I o Scl70 (ATA-I)</i> .....	37
1.2.6.3. <i>Anti RNA polimerasa III (RNAP)</i> .....	39
1.2.6.4. <i>Anti U3-RNP o fibrilarina</i> .....	42
1.2.6.5. <i>Anti Th/To</i> .....	43
1.2.6.6. <i>Anti U1-RNP</i> .....	44
1.2.6.7. <i>Anti Pm/Scl</i> .....	45
1.2.6.8. <i>AntiKu</i> .....	47
1.2.6.9. <i>Otros (Anti Ro 52, Anti U11/U12 RNP, Anti Nor 90)</i> .....	48
1.2.7. IMPLICACIÓN DE LOS ANTICUERPOS EN LA SUPERVIVENCIA .....	50
1.3. <i>DETERMINACIÓN DEL PODER PRONÓSTICO DE LOS SUBTIPOS CUTÁNEOS VERSUS PERFIL INMUNOLÓGICO</i> .....	53
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	61
2.1. <i>JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO</i> .....	63
2.2. <i>OBJETIVOS</i> .....	64
<b>3. PACIENTES Y MÉTODOS</b> .....	67
3.1. <i>PACIENTES</i> .....	69
3.2. <i>DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS</i> .....	70
3.3. <i>ANÁLISIS INMUNOLÓGICOS</i> .....	72
3.4. <i>MÉTODOS ESTADÍSTICOS</i> .....	72
<b>4. RESULTADOS</b> .....	75
4.1. <i>PRIMER ESTUDIO</i> .....	77
4.2. <i>SEGUNDO ESTUDIO</i> .....	88
4.3. <i>TERCER ESTUDIO</i> .....	92
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	97
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	121
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	125



# INTRODUCCIÓN



## **1.1. GENERALIDADES ESCLERODERMIA**

### **1.1.1. Definición/Epidemiología**

La esclerosis sistémica o esclerodermia (ES) es una enfermedad autoinmune y sistémica de causa desconocida que afecta al tejido conectivo. Se caracteriza por alteraciones vasculares a nivel de la microcirculación, activación del sistema inmunológico con producción de autoanticuerpos y por una producción excesiva de la matriz extracelular colágena que condiciona fibrosis en diferentes órganos internos y, en el caso de la piel, endurecimiento o esclerosis cutánea <sup>1</sup>.

La ES es una enfermedad poco frecuente, con una prevalencia muy variable según el área geográfica o etnia estudiada, que oscila entre 7 y 489 casos por millón de habitantes <sup>2</sup>. La incidencia estimada varía entre 3.7 y 22 casos/millón de habitantes/año <sup>3,4</sup>.

Afecta predominantemente a mujeres (3/1 a 10/1) y la edad media del diagnóstico es de 40 años <sup>5</sup>.

### **1.1.2. Patogenia**

Actualmente se desconoce el proceso que desencadena la enfermedad, pero se considera que es una mezcla de factores genéticos y ambientales que lleva al desarrollo de tres procesos patogénicos fundamentales e interrelacionados entre sí: lesión endotelial y daño vascular, desregulación de la producción de tejido conectivo y activación de la inmunidad y autoinmunidad.

Se han postulado diferentes agentes ambientales como posibles desencadenantes de la ES, como infecciones víricas (citomegalovirus, parvovirus B19), bacterias como el *Helicobacter pylori*, pesticidas o exposición a metales pesados; sin embargo, ninguno se ha definido de forma contundente como agente responsable del desarrollo de la enfermedad.

Se sabe que los factores genéticos juegan un papel esencial en la patogenia, tanto en su desarrollo como en la expresión clínica. No hay un claro patrón hereditario, pero sí una clara

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

agregación familiar, con un riesgo relativo estimado de padecer la enfermedad 15 veces mayor en hermanos de pacientes con ES y 13 veces mayor en familiares de primer grado, si bien el riesgo absoluto es bajo (1.6 a 1.7%)<sup>6</sup>. Además, en gemelos monocigóticos se ha encontrado una concordancia en la presencia de anticuerpos específicos de la ES que puede llegar hasta el 90%<sup>6,7</sup>.

Por otro lado, hay diferencias fenotípicas entre diferentes razas, grupos étnicos o regiones geográficas<sup>8</sup>, lo que también apoya la hipótesis de que los factores genéticos contribuyen al desarrollo de la enfermedad.

Se han descrito alteraciones en la expresión de genes fundamentalmente implicados en la autoinmunidad, la producción de colágeno y la respuesta vascular, pero siempre en estudios con cohortes de pacientes muy pequeñas y con resultados que además no se han podido reproducir<sup>7</sup>. En los últimos años se han comenzado a utilizar estudios de asociación del genoma completo (GWAS, genome wide association studies) que han dado importantes resultados identificando nuevos marcadores genéticos y nuevas rutas involucradas en la patogenia de diferentes enfermedades autoinmunes<sup>9</sup>.

A pesar de que se han realizado importantes avances en el conocimiento de la base genética de la ES<sup>10-12</sup>, todavía el número de *loci* conocidos hasta el momento que explican su componente genético es limitado en comparación con otras patologías autoinmunes como la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa o el LES<sup>13</sup>.

La asociación de ciertos complejos mayores de histocompatibilidad (HLA) tipo II con fenotipos clínicos y autoanticuerpos determinados<sup>14</sup> ha sido establecida en diferentes trabajos. Se ha observado una mayor susceptibilidad de padecer la enfermedad según los genes del sistema HLA, con resultados heterogéneos según la población estudiada. Así, mientras que en estudios realizados en raza caucásica demuestran que los haplotipos HLA-DR5 y DR-3 confieren una mayor susceptibilidad<sup>15,16</sup>, en la población japonesa son el HLA-DR1\*1502 y HLA-DQB1\*0601<sup>17</sup>.

A continuación se detallan los 3 procesos patogénicos de la enfermedad:

- ◀ La **vasculopatía** de la ES afecta a todas las capas de los pequeños vasos y capilares. Se produce vasoconstricción, hiperplasia de las capas íntima y adventicia, inflamación y trombosis, siendo el hallazgo fundamental la hiperplasia fibrótica de la capa íntima de los vasos <sup>18</sup>.

Se cree que el daño sobre la célula endotelial es el factor inicial desencadenante de la enfermedad <sup>19</sup>. Éste produce un desbalance entre sustancias vasoconstrictoras y vasodilatadores y una alteración de los fenómenos reparativos vasculares (vasculogénesis y angiogénesis). Así aumentan las sustancias vasoconstrictoras como la Endotelina 1 y disminuyen vasodilatadores como el Óxido nítrico.

La Endotelina 1 es crucial en la patogenia de la ES: promueve la proliferación celular, la hipertrofia de la pared arterial, estimula la fibrosis y la cascada inflamatoria de la enfermedad <sup>20,21</sup>. A parte de tener un potente efecto vasoconstrictor también disminuye los niveles de Óxido nítrico, que tiene un papel crucial en la relajación vascular <sup>22</sup>.

Por otro lado, por el daño de la célula endotelial se produce una pérdida de capilares desde fases precoces en la enfermedad <sup>23</sup> y en la ES todos los factores que intervienen en la reparación del daño vascular están alterados <sup>24</sup>.

- ◀ La **fibrosis** en la ES es un proceso muy complejo y no del todo conocido, que básicamente consiste en una activación de los fibroblastos y una diferenciación y sobreproducción de colágeno, que conlleva una acumulación de éste en la matriz extracelular. Todo este mecanismo depende de diferentes citoquinas (TGF- $\beta$ , CTGF, ET-1 y FGF, principalmente) <sup>25,26</sup>.

- ◀ La **inmunidad** en la ES está alterada, tanto la innata como la adquirida.

La inmunidad innata no se conoce en profundidad, si bien hay evidencia en diferentes trabajos de la implicación de mastocitos y células *natural killer* en la patogenia de la enfermedad <sup>27,28</sup>, así como de diferentes citocinas, especialmente el interferón (IFN). Recientes estudios demuestran un aumento de la expresión de IFN de tipo I en la ES <sup>29</sup>, al igual que en otras enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico (LES).

El papel de la inmunidad adquirida es más conocido en la ES. Hay un amplio espectro de autoanticuerpos específicos de la enfermedad que tienen una probable conexión con el daño tisular. Además, el linfocito T actúa en las fases iniciales de la enfermedad como inductor de la fibrosis posterior <sup>30,31</sup>.

### **1.1.3. Criterios de clasificación**

La ES es una enfermedad que presenta una gran variabilidad clínica con un pronóstico que difiere mucho dependiendo del subtipo clínico. Mientras la mayor parte de enfermos alcanzan una larga supervivencia, otros experimentan un curso tórpido y de forma rápidamente progresiva.

Por este motivo, la consecución de unos criterios de clasificación homogéneos es de gran importancia tanto para el diagnóstico como para el pronóstico de la enfermedad. La clasificación de la ES ha sido y sigue siendo en la actualidad un motivo de discusión e investigación.

#### **Criterios de Clasificación oficiales del Colegio Americano de Reumatología (ACR):**

El primer intento de clasificación de la enfermedad data de 1980. Los primeros criterios los desarrolló el Colegio Americano de Reumatología (*Tabla 1*), y son los que se han utilizado durante años para clasificar la enfermedad. Nació como un intento de establecer unas directrices que permitiesen comparar grupos de pacientes de diferentes centros para poder desarrollar ensayos clínicos<sup>32</sup>. Sin duda, supusieron un avance muy importante en la definición de la enfermedad, sin embargo, a pesar de presentar una sensibilidad del 92% y una especificidad del 94%, tienen una baja sensibilidad para detectar a enfermos con poca afección cutánea<sup>33,34</sup>, y un número no menospreciable de enfermos con ES limitada establecida o con el subtipo sine esclerosis cutánea que no reúnen ni el criterio mayor (esclerosis proximal a metacarpofalángicas) ni 2 de los criterios menores, quedan excluidos de los estudios. Tampoco permiten realizar un diagnóstico precoz de la enfermedad en pacientes que presenten fenómeno de Raynaud (FR), alteraciones capilaroscópicas y autoanticuerpos positivos y que requieren un control médico similar a la de los enfermos con ES ya establecida para detectar la evolución hacia ésta, ni sirven para establecer grupos clínicos y pronósticos<sup>1</sup>.

Además, enfermos con síndromes esclerodermiformes como la fascitis eosinofílica o esclerodermia localizada como la morfea generalizada pueden cumplir los criterios de clasificación de ES, por lo que pierden especificidad.

<b>Criterio Mayor</b>
<p><b>Esclerosis cutánea proximal:</b> Induración de la piel proximal a articulaciones metacarpofalángicas o metatarsofalángicas, afectando otras partes de las extremidades, fascias, cuello, tronco, habitualmente bilateral, simétrica y casi siempre incluye esclerodactilia</p>
<b>Criterios menores</b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Esclerodactilia</li> <li>2. Cicatrices puntiformes en pulpejos, o pérdida de sustancia en pulpejos de los dedos</li> <li>3. Fibrosis pulmonar bibasal</li> </ol>

**Tabla 1:** Criterios de clasificación de la ES (ACR 1980)

La presencia del criterio mayor y dos o más criterios menores dan una sensibilidad del 92% y una especificidad del 94% para el diagnóstico de ES

### **Clasificación de la ES en subtipos cutáneos:**

En las últimas décadas se han intentado dividir a los pacientes con ES en diferentes subtipos según características clínicas e inmunológicas determinadas, y así identificar subgrupos de pacientes que tengan una evolución clínica y pronóstico similar.

Se han establecido diferentes criterios de clasificación, todos ellos considerando como característica clínica definitoria la extensión de la esclerosis cutánea.

Una revisión realizada por Johnson *et al*<sup>35</sup> de diferentes criterios de clasificación de la ES sugeridos entre 1966 y 2005 por diferentes autores, concluyeron que la propuesta de LeRoy<sup>1</sup> era la que tenía más validez, fiabilidad y un buen valor predictivo, además de ser la más utilizada hasta el momento y referenciada.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

En la clasificación de LeRoy (*Tabla 2*) los enfermos se dividen en 2 subgrupos:

- ES cutánea difusa, pacientes con esclerosis cutánea distal y proximal a codos y rodillas.
- ES cutánea limitada, pacientes con esclerosis cutánea distal a codos o rodillas o sin esclerosis.

Además de la extensión de la esclerosis cutánea, los autores definen una serie de características clínicas, capilaroscópicas e inmunológicas que acompañan a los diferentes subtipos.

Los pacientes con ES difusa presentan FR generalmente el primer año o de manera concomitante a la afección cutánea, mayor riesgo de compromiso articular, más frecuencia de enfermedad pulmonar intersticial (EPI), crisis renal esclerodérmica (CRE), compromiso gastrointestinal o miocárdico y presentan peor supervivencia que los pacientes con ES limitada. En los pacientes con ES limitada, el FR se manifiesta generalmente mucho antes que las otras afecciones orgánicas de la enfermedad, además de presentar calcinosis, telangiectasias y mayor frecuencia de Hipertensión arterial pulmonar (HAP). El pronóstico de los pacientes con ES limitada en general es mejor que el de los pacientes con ES difusa.

Los dos subtipos se diferencian además desde el punto de vista serológico: en la ES difusa hay una mayor presencia de anticuerpos antitopoisomerasa / anti-Scl-70 (ATA-I), mientras que los pacientes con ES limitada expresan más frecuentemente anticuerpos anticentrómero (ACA), con una especificidad serológica del 82% y 93% respectivamente <sup>36</sup>.

Tras esta clasificación se han dejado atrás los antiguos términos de “CREST” y “esclerosis sistémica progresiva” que se correspondían con la forma limitada y difusa de la enfermedad, respectivamente. El término síndrome de CREST propuesto por Winterbauer *et al* en 1964 <sup>37</sup>, incluía pacientes con calcinosis, FR, afección esofágica, esclerodactilia y telangiectasias, y eran considerados enfermos con buen pronóstico, a pesar de que no todos presentan un curso benigno, y el término esclerosis sistémica progresiva se atribuía a un mal pronóstico, si bien hay pacientes englobados en este grupo que no presentaban un curso rápidamente progresivo de la enfermedad ni afecciones orgánicas graves.

Esclerodermia	Limitada	Difusa
Raynaud	Años	< 1 año
Afectación cutánea	Distal a codos y rodillas, cara o ausente	Proximal y distal a codos y rodillas
Afección visceral	- HAP Tardía - Telangiectasias - Calcinosis	- EPI temprana, CRE - GI difusa - Roces tendinosos
Anticentrómero	70-80%	Excepcional
Antitopoisomerasa I	Raro	30%
Capilaroscopia	Megacapilares y escasa pérdida	Pérdida importante y escasa dilatación

**Tabla 2:** Clasificación de la ES según criterios de LeRoy <sup>1</sup>

**EPI:** enfermedad pulmonar intersticial; **CRE:** crisis renal esclerodérmica;

**GI:** gastrointestinal; **HAP:** hipertensión pulmonar.

Sin embargo, la división de pacientes con esclerodermia en 2 grupos, difusa y limitada en los últimos años se ha considerado incompleta y con limitaciones, ya que no incluye pacientes con ES en fases iniciales o preesclerodermia (pre-ES), que presentan alteraciones capilaroscópicas, inmunología específica y FR; e incluye dentro del subtipo limitada aquellos pacientes con esclerodermia sine esclerosis (ES sine ES), que no presentan evidencia de afección cutánea pero sí afección orgánica característica de ES (afección esofágica distal o hipomotilidad del intestino delgado, EPI, HAP, afección miocárdica o CRE ), FR o cambios vasculares equivalentes ( úlceras digitales, cicatrices puntiformes en pulpejos, alteraciones capilaroscópicas) y presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) <sup>38</sup>.

Se consideraba que los pacientes con ES sine ES presentan una evolución similar a aquellos pacientes con ES limitada <sup>39,40</sup>, pero en trabajos recientes se han observado diferencias en cuanto a la manifestaciones respiratorias y cardíacas <sup>41</sup>, lo que supone un infradiagnóstico de esta entidad.

Actualmente, se considera que la clasificación más adecuada de la ES es en 4 subtipos: ES difusa, ES limitada, sine esclerodermia y preesclerodermia (*Tabla 3*). Se definen por la extensión de la esclerosis cutánea y se asocian a determinadas afecciones viscerales, capilaroscópicas e inmunológicas.

<b>Esclerodermia cutánea limitada</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fenómeno de Raynaud durante años, ocasionalmente décadas.</li> <li>• Esclerosis limitada distal a codos y rodillas pudiendo afectarse cara y cuello</li> <li>• Alteraciones capilaroscópicas: dilatación con escasa pérdida</li> <li>• Incidencia tardía de hipertensión arterial pulmonar, calcinosis, enfermedad gastrointestinal, telangiectasias o enfermedad pulmonar intersticial difusa</li> <li>• Enfermedad renal muy rara</li> <li>• Anticuerpos anticentroméricos (ACA) en el 70 a 80%</li> </ul>
<b>Esclerodermia cutánea difusa</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fenómeno de Raynaud, menos de un año de evolución</li> <li>• Esclerosis proximal a codos y rodillas. Presencia de roces tendinosos</li> <li>• Alteraciones capilaroscópicas: pérdida capilar</li> <li>• Incidencia precoz y significativa de enfermedad renal, intersticial pulmonar, gastrointestinal difusa y miocárdica. Desarrollo de hipertensión pulmonar</li> <li>• Anticuerpos ATA-I (30%) y anti-RNA polimerasa I,II ó III (RNAp) (12-15%)</li> </ul>
<b>Esclerodermia sine esclerodermia</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fenómeno de Raynaud o equivalentes (úlceras, alteraciones capilaroscópicas)</li> <li>• No esclerosis cutánea</li> <li>• Anticuerpos antinucleares. Pueden estar presentes: ATA-I, ACA o RNAp.</li> <li>• Afecciones viscerales típicas de esclerodermia: hipomotilidad esofágica distal o intestinal, enfermedad pulmonar intersticial, hipertensión pulmonar, enfermedad cardíaca, crisis renal esclerodérmica.</li> </ul>
<b>Pre-Esclerodermia</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fenómeno de Raynaud</li> <li>• Alteraciones capilaroscópicas</li> <li>• Autoanticuerpos antinucleares (ANAs) específicos (ATA-I, ACA, RNAp, U3 RNP, Pm-Scl, Th/To) o ANAs positivos con patrón de inmunofluorescencia nucleolar</li> </ul>

**Tabla 3:** Clasificación en subtipos cutáneos de la ES

### **Clasificación de la Esclerodermia en estadíos iniciales:**

En 1996 se propuso incluir en la clasificación de ES un grupo de enfermos que presentaban FR, alteraciones capilaroscópicas y/o anticuerpos antinucleares (ATA-I, ACA o patrón IFI nucleolar), y que incluso habían presentado úlceras digitales <sup>39</sup>.

En el 2001, LeRoy y Medsger <sup>42</sup> modificaron su clasificación para incluir a estos pacientes, porque consideraban que presentaban una alta probabilidad de desarrollar una enfermedad definida, sobre todo en forma de ES limitada (*Tabla 4*). La llamaron esclerodermia limitada, término que

se ha cambiado más recientemente por el de preesclerodermia o esclerodermia temprana o precoz, para evitar confusiones con el término esclerodermia cutánea limitada <sup>43,44</sup>.

<b>A. Esclerodermia limitada</b>
<p>I. Fenómeno de Raynaud objetivo documentado por:</p> <p>1) Observación directa de 2 de las siguientes manifestaciones: palidez acra, cianosis o sufusión o</p> <p>2) Respuesta a la exposición al frío por: Test de Nielsén asociado a:</p> <p>IIa. Alteraciones capilaroscópicas: dilatación o pérdida capilar</p> <p>IIb. Presencia de anticuerpos selectivos de la ES: ACA, ATA-I, antifibrilarina, anti Pm-Scl, RNAP.</p> <p>Si el fenómeno de Raynaud es subjetivo tienen que cumplir los 2 criterios ii) para tener ES limitada definida. ES limitada puede formar parte de un síndrome overlap con otras conectivopatías</p>
<b>B. Esclerodermia cutánea limitada:</b>
Criterios de ES limitada y cambios cutáneos distales.
<b>C. Esclerodermia cutánea difusa:</b>
Criterios de ES limitada y cambios proximales cutáneos
<b>D. Fascitis difusa con eosinofilia:</b>
Cambios cutáneos proximales sin criterios de ES limitada ni de ES cutánea limitada.

**Tabla 4:** Clasificación de la ES según criterios de LeRoy and Medsger <sup>42</sup>

A su vez, dentro de los pacientes con preesclerodermia, se observó que algunos de ellos presentaban afecciones viscerales incipientes sugestivas de ES cuando se realizaban exploraciones específicas <sup>45</sup>, por lo que, para una mejor clasificación de la ES se debería dividir el subgrupo preesclerodermia en 2: preesclerodermia o ES muy temprana, cuando se descartan afecciones viscerales incipientes, y ES temprana o inicial, cuando en las exploraciones complementarias correspondientes se detectan afecciones viscerales leves que no se pueden diagnosticar de afecciones establecidas de ES o bien que presenten úlceras digitales o telangiectasias.

Estas alteraciones orgánicas subclínicas serían por ejemplo una DLCO disminuida en las pruebas funcionales respiratorias (PFR) o un esfínter esofágico inferior hipotenso.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Más adelante se hablará de los últimos criterios de clasificación de la ES propuestos en 2013 de forma conjunta por la ACR y el grupo EULAR (*European League Against Rheumatism*), que son los que hasta ahora se consideran más sensibles y específicos, y consiguen acercarse a los criterios diagnósticos. Cabe destacar que mientras los pacientes con pre-ES o ES muy temprana nunca cumplen estos criterios, algunos pacientes con ES inicial o temprana sí pueden hacerlo en aquellos casos en que desarrollan alteraciones vasculares en forma de lesiones en los pulpejos de los dedos o telangiectasias.

### **Clasificación basada en la combinación de subtipos cutáneos y anticuerpos:**

La clasificación de la ES por subtipos cutáneos, sin embargo, también presenta limitaciones, ya que pacientes con un mismo subtipo cutáneo pueden presentar gran variabilidad en las afecciones viscerales y la gravedad de las mismas.

Esto ha llevado a que se hayan propuesto subclasificaciones dentro de los subgrupos cutáneos según el perfil inmunológico. Así Steen<sup>46</sup> considera que son los diferentes anticuerpos específicos de la enfermedad los que marcan el comportamiento clínico y pronóstico de la misma, observando una diferente gravedad de las afecciones viscerales según el anticuerpo presentado. Propone, por tanto, una clasificación de la enfermedad en al menos 7 grupos diferentes en función del perfil inmunológico, repartidos en 2 grandes subtipos cutáneos.

De esta forma el subtipo ES limitada se subclasificaría en 4 grupos inmunológicos según la positividad de los siguientes autoanticuerpos: ACA, Th/To, Pm/Scl y U1-RNP, y el subtipo ES difusa en 3 subgrupos por los anticuerpos ATA-I, RNAp o U3-RNP.

Más recientemente, el Profesor Medsger<sup>47</sup> también recomienda la utilización de los anticuerpos para subclasificar los pacientes de los 2 grandes subtipos cutáneos (*Tabla 5*).

Parece evidente que la combinación del subtipo cutáneo y el perfil inmunológico aporta mayor especificidad en la predicción del desarrollo de las diferentes afecciones

orgánicas y de su gravedad. Sin embargo, la utilización de esta clasificación está limitada por la dificultad de determinar todos los diferentes autoanticuerpos específicos de la ES, cuya técnica no está disponible en todos los centros.

Antígeno	Patrón IFI ANA	Frecuencia aproximada	Subtipo clínico	Afección orgánica
ATA-I	Moteado	10-40%	ES difusa	EPI
RNAP	Moteado fino Nucleolar	4-25%	ES difusa	- CRE - Esclerosis cutánea
U3 RNP	Nucleolar	1-5%	ES difusa	- Cardiomiopatía - Miopatía - HAP
Pm-Scl	Nucleolar	3-6%	Overlap	Miopatía
U1 RNP	Moteado	5-35%	Overlap	Miopatía
ACA	Centromérico	15-40%	ES limitada	- HAP, - Afección esofágica - Protector EPI
Th/To	Nucleolar	1-7%	ES limitada	- HAP - EPI - Afección intestinal

**Tabla 5:** Asociaciones clínico serológicas en ES

### **Nuevos criterios de clasificación de Esclerosis sistémica de la ACR/EULAR 2013:**

La última propuesta de clasificación de la ES ha surgido recientemente mediante la valoración de manera conjunta de una serie de ítems por parte de la ACR y el *European League Against Rheumatism* (EULAR), con el objetivo de incluir a todos los pacientes que realmente tienen ES, y poder reconocerlos precozmente. Estos criterios han sido testados en diferentes cohortes de enfermos con ES, otras enfermedades sistémicas autoinmunes y síndromes esclerodermiformes, observándose una sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de la enfermedad del 91% y 92% respectivamente <sup>48</sup>.

Estos criterios superan la mayor parte de limitaciones de los establecidos en 1980 en relación a sensibilidad y especificidad, consiguiendo el práctico solapamiento entre los criterios de clasificación y diagnósticos. Sin embargo, no distinguen entre los diferentes subtipos de la enfermedad

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

y únicamente determinan la presencia de ES, por lo que para los subtipos clínicos se tendrá que utilizar la clasificación en subtipos cutáneos: ES limitada, ES difusa y ES sineES para la enfermedad definida, y preesclerodermia y esclerodermia inicial o precoz, para las fases iniciales.

Los criterios de clasificación de la ACR/EULAR 2013 están recogidos en la *Tabla 6*.

Ítem	Subítem	Puntuación
Endurecimiento cutáneo de dedos de ambas manos que se extiende a región proximal de articulaciones metacarpofalángicas		9
Endurecimiento de la piel de los dedos	Dedos edematosos	2
	Esclerodactilia	4
Lesiones en pulpejos	Úlceras digitales	2
	Cicatrices puntiformes en pulpejos	3
Telangiectasia		2
Alteraciones en la capilaroscopia periungueal		2
Hipertensión arterial pulmonar y/o Enfermedad pulmonar intersticial		2
Autoanticuerpos específicos	ACA	3
	ATA-I	
	RNAP	

**Tabla 6:** Criterios ACR/EULAR para la clasificación de la ES de 2013

Pacientes con una puntuación igual o mayor a 9 se pueden catalogar como pacientes con ES definida

### 1.1.4. Manifestaciones clínicas

La ES es una enfermedad sistémica muy heterogénea que puede afectar a múltiples localizaciones y con diferente gravedad.

Mientras la clínica cutánea es la más característica y representativa de la enfermedad, es la afección orgánica la que condiciona la mortalidad y mayor morbilidad y, por tanto, el pronóstico. Según el tipo de manifestaciones orgánicas y su gravedad, la ES puede ir desde una enfermedad con evolución lenta y relativamente indolente, a presentar un deterioro rápidamente progresivo que conlleva un pronóstico infausto.

Las características clínicas más relevantes se detallan a continuación:

### **Afección cutánea**

La afección cutánea es la manifestación más característica de la enfermedad y es clave para la clasificación de los pacientes con ES.

Se manifiesta como una induración de la piel que presenta tres fases clínicas evolutivas: una primera fase edematosa, que se sigue de una segunda en forma de endurecimiento cutáneo y, finalmente, una última fase de atrofia cutánea <sup>49</sup>.

El grado de extensión de afección cutánea varía según el subtipo de ES y puede cambiar en un mismo paciente a lo largo de la enfermedad.

El único método validado del que disponemos para cuantificar el grado de afección cutánea es el índice de Rodnan (modified Rodnan skin score-mRSS), en el que se utiliza una escala del 0 al 3 (según sea piel normal hasta induración extrema) que se aplica en 17 áreas anatómicas diferentes <sup>50</sup>.

El grado de afección cutánea se relaciona con la presencia de mayor afección orgánica, lo que explica que la ES difusa tenga peor pronóstico que la ES limitada <sup>51</sup>. Así, el mRSS presenta un valor pronóstico dentro de la enfermedad <sup>52</sup>.

Característicamente, cuando la fibrosis cutánea afecta a la cara puede producir disminución de las arrugas y una limitación de la apertura bucal (microstomía) por endurecimiento de la piel y mucosa peribucal. A nivel de los dedos se produce la esclerodactilia pudiendo ocasionar tanto a nivel de manos sobre todo, y de pies, contracturas en flexión de las articulaciones con gran limitación funcional secundaria.

Dentro de las manifestaciones cutáneas se encuentran las telangiectasias y la calcinosis, que no son infrecuentes en pacientes con ES.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Las primeras son dilataciones post-capilares de las vénulas o neo-vascularización <sup>53</sup>, que aparecen inicialmente en la cara y en las manos y se extienden en el transcurso de la enfermedad a tronco y raramente a extremidades inferiores.

La calcificación se produce por precipitación de cristales de fosfato cálcico en piel y partes blandas que afectan fundamentalmente a partes acras (dedos, antebrazos).

### **Fenómeno de Raynaud, úlceras digitales y vasculopatía digital**

El FR es la manifestación clínica más frecuente de la ES, siendo además el primer síntoma en más del 90% de enfermos <sup>54</sup>.

Se define como episodios recurrentes de vasoespasmo en partes acras desencadenados generalmente por un estímulo, que suele ser el frío.

Mientras en pacientes con ES limitada puede preceder en varios años a otras manifestaciones de la enfermedad, en la ES difusa aparece normalmente a la vez que otras afecciones <sup>55</sup>.

El FR no es sólo una alteración funcional. Traduce una alteración estructural de la microcirculación, con proliferación de la íntima, fibrosis y trombosis intraluminal.

Estas alteraciones de la pared vascular pueden producir hasta en casi un 50% de los pacientes complicaciones vasculares <sup>56</sup>; la más frecuente es la afección vascular digital en forma de úlceras, localizadas predominantemente en el pulpejo de los dedos o en prominencias óseas, seguidas de isquemia, necrosis digital e incluso infecciones de partes blandas y osteomielitis.

### **Afección gastrointestinal**

La afección gastrointestinal se puede dar en cualquier parte del aparato digestivo alterando las funciones de motilidad, digestión, absorción y excreción. El tracto digestivo superior es el más frecuentemente afectado: entre un 70 y un 90% de los pacientes desarrollan alteración

esofágica <sup>57,58</sup>, que no siempre es sintomática. Típicamente se manifiesta con una disminución de presión del esfínter esofágico inferior y una alteración de la motilidad de los 2/3 inferiores del esófago que traduce una pérdida de ondas peristálticas <sup>59</sup>, lo que condiciona reflujo gastroesofágico, disfagia, pirosis y síntomas respiratorios secundarios al reflujo.

El compromiso de otras áreas del tracto intestinal es mucho menos frecuente en la ES.

La afección del estómago se manifiesta característicamente como retraso del vaciamiento y, en algunos pacientes en forma de ectasias vasculares del antro gástrico (GAVE), también conocido como estómago “en sandía” <sup>60</sup>. La GAVE se podría considerar como un componente del espectro de alteraciones vasculares de la ES debido a las similitudes anatomopatológicas con los otros cambios vasculares de la enfermedad.

A nivel del intestino delgado la alteración de la motilidad favorece el sobrecrecimiento bacteriano <sup>61</sup>. Finalmente es relativamente frecuente la incontinencia fecal por sustitución del esfínter anal interno por colágeno, que afecta al 38% de los pacientes <sup>62</sup>.

### **Afección pulmonar**

La afección pulmonar es la segunda en orden de frecuencia en la ES. Más de un 70% de los pacientes la presentan <sup>63</sup>, dividida en enfermedad pulmonar intersticial (EPI) e hipertensión arterial pulmonar (HAP). Actualmente es la principal causa de mortalidad de la enfermedad <sup>64</sup>.

- ◀ **Hipertensión arterial pulmonar:** Es la afección vascular más grave de la enfermedad y se presenta en aproximadamente el 9% de los pacientes <sup>65</sup>. Se manifiesta clínicamente por disnea y en los estadios finales con signos de insuficiencia cardiaca derecha.

El diagnóstico de la HAP es exclusivamente hemodinámico. Se realiza mediante cateterismo cardiaco derecho, y se define como una presión arterial pulmonar media (PAPm) en reposo  $\geq 25$ mmHg asociada a una presión capilar pulmonar (PCP)  $\leq 15$ mmHg y unas resistencias vasculares pulmonares (RVP)  $>$  a 3 unidades Wood <sup>66</sup>.

Histopatológicamente los cambios observados en la arteria pulmonar son similares a los de la vasculopatía digital, con presencia de hiperplasia de la íntima, proliferación

de adventicia, fenómenos de trombosis in situ y diversos grados de inflamación y arteriopatía plexiforme <sup>18</sup>.

Todos los pacientes con ES están en riesgo de desarrollar HAP a lo largo del transcurso de la enfermedad, pero hay un subgrupo en los que este riesgo es mayor, que son los que presentan: afección cutánea limitada de larga evolución, telangiectasias y ACA o ANAs con patrón nucleolar por IFI y sin la presencia de ATA-I <sup>67,68</sup>.

Además, existen otros factores asociados a mayor riesgo de HAP: valores desproporcionadamente bajos de capacidad de difusión de monóxido de carbono (DLCO) en las pruebas de función respiratoria (PFR), ratio de la capacidad vital forzada (CVF) / porcentaje esperado de la DLCO  $>1.6$  <sup>68,69</sup>, diferentes parámetros ecocardiográficos <sup>68,70</sup>, valores elevados del péptido natriurético cerebral (BNP) o su porción amino terminal del pro-péptido natriurético cerebral (NT-proBNP) <sup>71</sup> e incluso la presencia de pérdida de densidad capilar en la capilaroscopia <sup>72</sup>.

El cribado precoz de la HAP se realiza mediante Ecocardiograma y PFR, y es de vital importancia, ya que los pacientes diagnosticados en clases funcionales bajas de la NYHA (I y II) tienen mejor pronóstico a largo plazo que los diagnosticados con clase funcional más evolucionada (III y IV) <sup>73</sup>.

◀ **Enfermedad Pulmonar Intersticial:** La EPI es la afección pulmonar más frecuente y relevante de la enfermedad con una prevalencia aproximada del 60% clínica y 90% en las autopsias realizadas <sup>74</sup>. Se cree que se produce por una combinación de factores inflamatorios y lesiones fibróticas.

La EPI actualmente es la principal causa de mortalidad de la ES <sup>64</sup>. En un 45-55% de los pacientes con ES y EPI se produce un deterioro en las PFR y, de estos, un 16% desarrollará una EPI grave que se define como una CVF  $<55\%$  <sup>51</sup>.

Los principales factores pronósticos de desarrollar una EPI grave son: CVF o DLCO  $<70\%$  en las PFR, una extensión  $>20\%$  de cambios de EPI en la Tomografía axial computerizada de alta resolución pulmonar (TACAR) o el deterioro rápidamente progresivo de la función pulmonar (definido como un descenso de 10% de CVF o 15% de la DLCO en los 12 meses previos). Los pacientes que cumplan estas características serían tributarios de recibir tratamiento específico <sup>75</sup>. La presencia de ACA o la ausencia de lesiones en TACAR en el momento del diagnóstico se han relacionado con un riesgo menor de presentar EPI grave <sup>76,77</sup>.

Respecto al patrón histológico, el más prevalente es el de neumonía intersticial no específica (NINE) que se presenta en el 76% de los casos, seguido por la neumopatía intersticial usual (NIU) en el 11% de los pacientes <sup>78</sup>.

Dado el gran impacto de la EPI en la ES, al igual que ocurre con la HAP, es fundamental una detección precoz de la misma. Se recomienda realizar una TACAR pulmonar a todos los pacientes con ES al diagnóstico de la enfermedad así como PFR completas periódicas tanto para evaluar la gravedad de la EPI como para monitorizarla.

### **Afección renal**

El riñón se puede afectar de varias formas dentro de la ES. La más característica y relevante es la crisis renal esclerodérmica (CRE), que se define por los criterios de Traub <sup>79</sup>, como la presencia de hipertensión arterial grave de inicio brusco y/o insuficiencia renal oligoanúrica. Son comunes la microangiopatía trombótica, la anemia y la insuficiencia cardíaca, y algunos pacientes desarrollan encefalopatía hipertensiva y retinopatía <sup>80</sup>.

En hasta un 10% de los casos la CRE cursa sin hipertensión (CRE normotensiva) y parece asociarse al uso previo de antagonistas del calcio o inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina (IECA) <sup>80,81</sup>.

Normalmente aparece en los primeros años de diagnóstico de la ES e incluso en algunos casos es la clínica que lleva al diagnóstico de la enfermedad <sup>82</sup>.

Su incidencia ha disminuido en los últimos años hasta ser actualmente en Europa de 5%. Afecta a un 10% de pacientes con ES difusa y a un 2% con ES limitada <sup>81</sup>.

Antes de la introducción de los IECA, la CRE era la primera causa de muerte y presentaba una incidencia mucho mayor que la actual, de hasta un 20%. Actualmente justifica sólo el 4% de las muertes de los pacientes con ES <sup>83</sup>.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Los factores que aumentan el riesgo de sufrir CRE son: una duración de la enfermedad menor de 4 años, ES difusa con afectación cutánea rápidamente progresiva, presencia de anticuerpos RNAP, la exposición previa a dosis altas de corticoides, los roces tendinosos y nuevos eventos cardiacos <sup>81,84,85</sup>. Steen, además, demostró que la reducción del flujo renal debido a sepsis, deshidratación y disfunción cardiaca es un potencial desencadenante de CRE <sup>80</sup>, y recientemente estudios genéticos han evidenciado que los antígenos de histocompatibilidad HLA-DRB1\*0407 y \*1304 son un factor de riesgo independiente para el desarrollo de CRE <sup>86</sup>.

Por otro lado, se ha considerado el uso profiláctico de IECAs para intentar prevenir la CRE, teniendo en cuenta sus buenos resultados en el tratamiento de la misma <sup>87</sup>. Sin embargo, el hecho de que existan casos de CRE en pacientes con exposición previa a IECAs, unido a la teoría de que el tratamiento con IECAs puede enmascarar la hipertensión arterial que acontece en una CRE y, con ello, dificultar el diagnóstico, pone en serias dudas el beneficio de su uso de forma preventiva <sup>88</sup>. Además, no hay una explicación fisiopatológica racional que lo apoye, ya que la mayor parte de pacientes con ES no presentan hiperreninemia antes del desarrollo de una CRE <sup>89</sup>.

De hecho, hay datos extraídos de estudios retrospectivos que sugieren que la exposición previa a IECAs no sólo no reduce el riesgo de CRE, sino que se asocia con una peor evolución y mayor riesgo de requerir diálisis permanente <sup>90-92</sup>.

En un reciente estudio de ISRCS (Investigational Scleroderma Renal Crisis Survey) se encontró que el uso de IECAs previo al debut de la CRE se relacionaba con un riesgo dos veces mayor de mortalidad (2.42, 95% CI 1.0-5.75,  $p=0.046$ ) <sup>93</sup>.

Por tanto, se puede afirmar que, en el momento actual, el papel de los IECAs en la prevención de la CRE no está resuelto.

Las características histopatológicas de la CRE consisten en una vasculopatía obliterativa de las arteriolas renales que provocan una isquemia del glomérulo.

Por otro lado, la afección renal subclínica afecta aproximadamente al 50% de pacientes con ES y se puede asociar con otras manifestaciones vasculares<sup>94</sup>. Esta afección subclínica raramente progresa a una insuficiencia renal terminal, sin embargo se ha asociado en estudios recientes con un peor pronóstico de otras complicaciones vasculares, como la HAP<sup>81,95</sup>.

### **Afección cardiaca**

La afección cardiaca primaria debida directamente a la ES es muy heterogénea. Puede afectar al miocardio, pericardio, al sistema de conducción, endocardio y menos frecuentemente, a las válvulas cardiacas<sup>96</sup>. Hasta hace unos años se consideraba que la aterosclerosis y las lesiones coronarias macrovasculares no estaban aumentadas en la ES, al contrario de lo que ocurría en otras enfermedades sistémicas como el LES o la artritis reumatoide donde predomina más la inflamación<sup>97</sup>, pero recientemente se ha evidenciado un riesgo aumentado de enfermedad coronaria en pacientes con ES respecto al de la población general<sup>98</sup>.

Así, Man *et al* concluyeron que la ES se asocia con un mayor riesgo de presentar infarto de miocardio, infarto cerebral o patología vascular periférica<sup>99</sup>. De la misma manera en una amplia cohorte australiana se observó una prevalencia de enfermedad coronaria tres veces mayor en los pacientes con ES que en la población general<sup>100</sup>.

Sin embargo, al contrario que en otras enfermedades autoinmunes, los mecanismos potenciales de una aterosclerosis acelerada en el curso de la ES todavía no están claros. Se necesitan más estudios para demostrar la posible contribución de la inflamación activa y el daño vascular fibroproliferativo.

La prevalencia de la patología cardiaca en la ES es variable y difícil de determinar por la diversidad de las manifestaciones clínicas y los diferentes métodos diagnósticos utilizados.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Actualmente, el uso de técnicas como el ecocardiograma, la tomografía cardiaca, la tomografía computarizada de emisión monofotónica (SPECT) miocárdica, la resonancia magnética cardiaca, la tomografía por emisión de positrones (PET) o la ventriculografía nuclear, que presentan una alta sensibilidad para su diagnóstico, permite una detección precoz tanto de las patologías cardiacas estructurales como funcionales asociadas a la ES <sup>101</sup>.

Con frecuencia, la afección cardiaca es silente y hay una clara disparidad entre su prevalencia determinada por estudios clínicos y la encontrada tras resultados histológicos. Así, en algún estudio se recoge una prevalencia clínica global del 10%, siendo ésta en la autopsia mayor del 50% <sup>102</sup>.

Los hallazgos histopatológicos típicos incluyen un compromiso del miocardio con fibrosis en placas sin afección de epicardio pero con presencia de hipertrofia de la capa íntima arteriolar de las arterias intramurales coronarias <sup>103</sup>.

Cada vez hay mayor evidencia de que la afección miocárdica es debida a procesos isquémicos focales repetidos que llevan a fibrosis miocárdica con lesiones irreversibles, con una alteración de la microcirculación y vasorreactividad alterada, con o sin anormalidades vasculares estructurales. Esto lleva a una disfunción del ventrículo izquierdo sistólica o diastólica y también del ventrículo derecho <sup>104</sup>.

Recientemente se ha demostrado que el uso de vasodilatadores, incluyendo antagonistas del calcio y IECAs, mejoran tanto la perfusión como la función, lo que apoya el papel del daño de la microcirculación <sup>97</sup>.

Cuando se manifiesta clínicamente, la patología cardiaca asociada a la ES supone un factor pronóstico importante <sup>97</sup>. En los últimos años, ante la mejoría del pronóstico de la CRE con el uso de IECAs, la afección cardiaca y la pulmonar son las principales causas de muerte asociadas a la enfermedad en los pacientes con ES <sup>96</sup>.

En una cohorte de 953 pacientes con ES y subtipo cutáneo difusa se encontró una prevalencia del 15% de afección cardíaca basada en hallazgos clínicos, ecocardiografía, electrocardiografía o Holter. Además, se estudió la distribución de las muertes en estos pacientes en función del tiempo transcurrido entre el debut de la enfermedad y el momento de la muerte, y se observó que de las muertes asociadas a la ES un 20% eran debidas a patología cardíaca, con un claro mayor impacto de esta afección en la mortalidad en los primeros 5 años<sup>51</sup>.

La afección cardíaca se presenta tanto en la forma limitada como en la forma difusa de la enfermedad, si bien su prevalencia es mayor en esta última. Se ha encontrado asociación entre los anticuerpos ATA-I y RNAP, la presencia de miopatía o afección cutánea rápidamente progresiva y el desarrollo de afección cardíaca<sup>105,106</sup>.

### **Afección osteoarticular**

Las artralgias son muy frecuentes en la ES, al contrario que la artritis que se presenta con un porcentaje de 16%<sup>107</sup>. Se puede observar solapamiento con artritis reumatoide en el 1-5% de los pacientes con ES<sup>108</sup>, que es más frecuente en pacientes con ES limitada.

La presencia de roces tendinosos es del 11% de los pacientes europeos con ES, asociándose a mayor afección vascular digital, muscular, renal y una peor supervivencia<sup>107</sup>. Además, el 20% de los enfermos presentan acroosteolisis o resorción ósea del penacho distal de las falanges<sup>109</sup>, hallazgo muy característico de la enfermedad.

### **Afección muscular**

En la ES se pueden presentar 2 tipos de miopatías: la no inflamatoria descrita como debilidad muscular unida a alteraciones de los enzimas musculares y patrón miógeno en EMG, presente hasta en un 53% y la *inflamatoria*, menos frecuente, que afecta al 17% de pacientes con ES que clínicamente es indistinguible a la presentada en entidades como la polimiositis o dermatomiositis<sup>110</sup>. Se asocia a presencia de anticuerpos anti Pm/Scl<sup>111</sup> o antiKu<sup>112</sup>.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Los hallazgos histológicos de los pacientes con ES y miopatía inflamatoria son muy heterogéneos e incluyen fenómenos de necrosis, fibrosis, anomalías vasculares e inflamación.

### **Otras manifestaciones clínicas**

Otras manifestaciones menos frecuentes de la enfermedad son el síndrome seco asociado o no al síndrome de Sjögren, la cirrosis biliar primaria, neuropatía periférica (neuralgia del trigémino), atrapamiento nervioso (túnel carpiano), disfunción eréctil en los varones y afectación tiroidea.

#### ***1.1.5. Pronóstico***

La ES es una enfermedad muy heterogénea con un pronóstico muy variable. Presenta una elevada mortalidad debida generalmente a las propias complicaciones orgánicas específicas.

Hace unos años se publicaron las causas de muerte de la cohorte de pacientes con ES del grupo EUSTAR<sup>83</sup> que incluía un total de 5860 pacientes. El 55% de todas las muertes registradas estaban directamente relacionadas con la ES y el 54.6% de los pacientes fallecidos pertenecían al subtipo con ES difusa. Las principales causas de muerte eran la EPI (19%) y la HAP (14%). Un 14% de las muertes se atribuyeron a afección cardíaca (la mayoría por arritmias) y sólo un 4% fueron secundarias a CRE. Los porcentajes de las causas de muerte no relacionadas con la ES fueron las siguientes: 13% infecciones, 13% neoplasias y 12% causas cardiovasculares.

Resultados similares hemos observado posteriormente en el estudio realizado por el Grupo español (RESCLE)<sup>40</sup> en el que un 55% de las muertes se debían a una causa directamente relacionada con la ES, de las cuales la más frecuente fue la HAP aislada (16.6%), seguida de la EPI (13%) y HAP relacionada con EPI en el 12.3%. La CRE fue una causa poco frecuente de muerte (8.7%).

De las causas no relacionadas con la ES el cáncer suponía el 11.6%, seguido por la insuficiencia cardiaca (no atribuida a la ES) en 8.7%.

También un metanálisis realizado recientemente que incluye los datos de 17 estudios, estimó un 47.6% de muertes debidas a complicaciones directas de la ES, y, de éstas, un 73% eran por causa cardiopulmonar. Por otro lado, este estudio objetivó que las afecciones gastrointestinal y renal grave se habían reducido en las últimas 2 décadas considerablemente, representando actualmente sólo un 18% de las muertes <sup>113</sup>.

Estudios recientes evidencian una mejoría del pronóstico en los últimos años, probablemente debido a la detección precoz de algunas complicaciones orgánicas, con un mejor manejo y tratamiento de las mismas, especialmente de la CRE <sup>64</sup>.

En el metanálisis previamente citado, se analizó la supervivencia de la ES antes y después de 1990, encontrando que a los 10 años del debut de la enfermedad, ésta era mayor en la época actual que antes de 1990; sin embargo no se consiguió la significación estadística que sí se encontró en la supervivencia a los 5 años de seguimiento de los pacientes. A raíz de estos datos, el autor sugiere que los nuevos tratamientos utilizados para la patología pulmonar parenquimatosa y vascular han mejorado la esperanza de vida, pero fracasan en mantener su efecto de forma prolongada.

Ferri *et al* publicaron recientemente un interesante estudio donde revisaron la literatura médica y encontraron que había un incremento considerable en la supervivencia de los enfermos con ES en las últimas décadas a los 10 años, que pasaba del 54% en los pacientes reclutados entre 1955 y 1985 al 83.5% en pacientes reclutados entre 1999 y 2011 <sup>114</sup>. Los autores, en su cohorte de pacientes reclutados entre el 2000 y el 2011, objetivaron una supervivencia a los 10 años calculada desde la aparición del FR del 95%, similar a la de Simeón-Aznar *et al* (93%) <sup>40</sup>.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Nihtyanova *et al* nos muestran en otro trabajo reciente unas tasas de supervivencia en una cohorte de enfermos en el Reino Unido del 94%, 81.7% y 69.2% a los 5, 10 y 15 años, respectivamente para la ES limitada y del 85.5%, 71.6% y 55.1% para la ES difusa <sup>115</sup>.

Respecto a los factores pronósticos de mortalidad de la ES, se han identificado los siguientes en los estudios multivariados:

- Extensión cutánea: el subtipo cutáneo difuso, sobre todo con rápida progresión cutánea;
- Afección orgánica: CVF <70%, HAP, CRE, derrame pleural, arritmia clínicamente significativa en ECG ;
- Autoinmunidad: presencia de ATA-I y ausencia de ACA;
- Epidemiológicos: edad al diagnóstico >60 años, raza no caucásica, sexo masculino;
- Genéticos: presencia de alelos HLA-DRB\*0802 y DQA1\*0501;
- Serológicos: VSG >15, hemoglobina <12.5;
- Capilaroscópicos: patrón activo <sup>116</sup>.

### **1.1.6. Tratamiento**

En la actualidad, todavía no disponemos de un tratamiento curativo ni que pueda modificar el curso de la ES, por lo que el abordaje de la enfermedad se basa en tratar las complicaciones orgánicas e intentar impedir la progresión de éstas, así como el tratamiento sintomático de las diferentes manifestaciones clínicas.

En la siguiente tabla se recogen las recomendaciones terapéuticas de las complicaciones más frecuentes de la ES, publicadas por el grupo EUSTAR en el 2009 <sup>117</sup>. Este grupo publicará próximamente una actualización de las mismas.

Número	Recomendación	Evidencia
I	<b>Vasculopatía Digital Grave</b>	
	1. Un meta-análisis de antagonistas de los receptores de la endotelina y un meta-análisis de prostanoideos indica que nifedipino e iloprost reducen la frecuencia y severidad de los ataques del FR-ES. Los antagonista del calcio dihidropiridínicos, usualmente el nifedipino oral, deben ser considerados para el tratamiento de primera línea del FR-ES y el Iloprost intravenoso u otro prostanoides intravenoso para el tratamiento del FR-ES severo.	A
	2. Dos ECA indican que los prostanoideos intravenosos (particularmente iloprost) son eficaces para curar las UD-ES. Los prostanoideos intravenosos se deben de considerar para el tratamiento de UD activas en pacientes con ES.	A
	3. Bosentan no ha confirmado su eficacia en el tratamiento de UD activas. Bosentan ha confirmado eficacia en dos ECA para prevenir las UD en ES, especialmente en pacientes con múltiples UD. Se puede considerar el uso de Bosentan en pacientes con UD múltiples después de fallo a antagonistas del calcio o terapia prostanoides	A
II	<b>Hipertensión arterial pulmonar</b>	
	4. Dos ECA de alta calidad indican que bosentan mejora la capacidad de ejercicio, la CF y algunos parámetros hemodinámicos en la HAP. Bosentan debe ser fuertemente considerado para el tratamiento de la HAP-ES.	A/B
	5. Dos ECA de alta calidad indican que sitaxsentan mejora la capacidad de ejercicio, la CF y algunos parámetros hemodinámicos en la HAP. Sitaxsentan puede ser considerado para tratar la HAP-ES	A/B
	6. Un ECA de alta calidad indica que sildenafil mejora la capacidad de ejercicio, CF y algunos parámetros hemodinámicos en HAP. Sildenafil se puede considerar para tratar la HAP-ES.	A/B
	7. Un ECA de alta calidad indica que epoprostenol intravenoso en infusión continua mejora la capacidad de ejercicio, CF y parámetros hemodinámicos en HAP. La retirada repentina del fármaco puede ser peligrosa para la vida. Epoprostenol debe ser considerado para el tratamiento de la HAP-ES grave	A
III	<b>Compromiso cutáneo</b>	
	8. Dos ECA han mostrado que MTX mejora la afección cutánea en la ES inicial. Otros efectos beneficiosos en otros órganos no se han observado. MTX debe ser considerado para el tratamiento de las manifestaciones cutáneas de la ES inicial.	A
IV	<b>Enfermedad pulmonar intersticial</b>	
	9. Tras el resultado de 2 ECA y a pesar de su conocida toxicidad, CFM debe ser considerada para el tratamiento de la EPI-ES	A
V	<b>CRE</b>	
	10. A pesar de la ausencia de ECA, los expertos consideran que los IECA tiene que usarse en el tratamiento de la CRE	C
	11. Cuatro estudios retrospectivos sugieren que los esteroides están asociados con un riesgo elevado de CRE. Hay que controlar de manera estricta la presión arterial y la función renal en pacientes con corticoterapia	C
VI	<b>Compromiso gastrointestinal</b>	
	12. A pesar de la ausencia de ECA específicos en la ES, el comité de expertos considera que los IBP deben usarse para la prevención de el RGE asociado a la ES, úlceras esofágicas y estenosis esofágicas	B
	13. A pesar de la ausencia de ECA específicos, el comité de expertos considera que el uso de fármacos proquinéticos debe usarse para el manejo de las alteraciones de la motilidad sintomáticas (disfagia, dispepsia, pseudo-obstrucción, etc.).	C
	14. A pesar de la ausencia de ECA específicos, el comité de expertos cree que cuando la malabsorción está causada por el sobrecrecimiento bacteriano, el uso de antibióticos rotatorio puede ser útil	D

**Tabla 7:** Recomendaciones EULAR 2009 para el tratamiento de las complicaciones de la Esclerosis Sistémica.

**ECA:** ensayo clínico aleatorizado; **CF:** Clase funcional de la NYHA; **MTX:** metotrexato; **CFM:** ciclofosfamida; **IECA:** inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina; **IBP:** inhibidores de la bomba de protones; **RGE:** reflujo gastroesofágico.

### **1.2. LOS ANTICUERPOS Y LA ESCLERODERMIA**

#### ***1.2.1. Aspectos clínicos de los anticuerpos en la Esclerodemia***

Los anticuerpos antinucleares son la marca de las enfermedades autoinmunes y en la ES están presentes en más del 95% de pacientes <sup>46</sup>. Son biomarcadores atractivos de la enfermedad debido a su alta especificidad, la exclusividad mutua, su persistencia durante el curso de la enfermedad y, sobre todo, la relación de cada uno de ellos con perfiles clínicos determinados <sup>118</sup>.

Los ANA específicos de la ES normalmente son excluyentes entre sí, de tal manera que es excepcional que en un paciente se detecten 2 ó más tipos. Así, en un estudio de 5423 pacientes, en sólo 28 (0.52%) coexistían el ATA-I y el ACA <sup>119</sup>, los 2 anticuerpos más frecuentes.

Están presentes normalmente al principio de la enfermedad y se mantienen durante todo el curso de la misma, y, por otro lado, es muy infrecuente su presencia en otras enfermedades autoinmunes y excepcional en patologías no inmunomediadas <sup>118</sup>.

Los primeros autoanticuerpos relacionados con la ES fueron identificados en 1960 <sup>120</sup>, y se asociaron con los 2 tipos de esclerodermia que se conocían. Los anticuerpos ATA-I se relacionaron clínicamente con la ES difusa y los anticuerpos ACA, con la ES Limitada. En la década de los 90, se identificaron nuevos anticuerpos específicos de esta enfermedad, que se relacionaron con diferencias significativas en la frecuencia y la especificidad de la afectación de los diferentes órganos <sup>121,122</sup>.

Actualmente se conocen siete anticuerpos antinucleares específicos para la ES. Así, pacientes con ES limitada presentan generalmente uno de los siguientes cuatro anticuerpos: ACA, anti Th/To, Pm/Scl y U1-RNP; y los pacientes con ES difusa pueden presentar ATA-I, RNAP y U3-RNP <sup>46</sup>.

Por tanto, los ACA y ATA-I son los ANAs clásicos de la ES, pero a éstos se unen los anticuerpos antinucleolares (ANu) que aunque se detectan de forma menos frecuente, también son altamente específicos de la enfermedad. Los ANu tienen un patrón nucleolar en la IFI en las células Hep-2 y se dirigen contra diferentes proteínas nucleolares como la RNA polimerasa, pequeñas ribonucleoproteínas nucleolares (snRNP, Th/To) y contra componentes de la fibrilarina (U3RNP). El anticuerpo anti Pm-Scl, marcador del síndrome de solapamiento Escleromiositis, también presenta, en la mayor parte de casos, un patrón nucleolar en la IFI.

Dentro de los ANu, los más frecuentes son los RNAp, cuya importancia queda demostrada por su reciente inclusión como criterio en la última clasificación de la enfermedad consensuada por expertos europeos y americanos.

El objetivo de los nuevos criterios de clasificación de la ACR/EULAR (38) era incluir a todos los pacientes que realmente tienen ES y reconocerlos de manera precoz. En éstos, y por primera vez, la detección de ACA, ATA-I o RNAp, constituye un ítem que conlleva una puntuación de 3 puntos<sup>48</sup>.

### ***1.2.2. Consideraciones epidemiológicas y genéticas de los anticuerpos en la ES***

Los hallazgos clínicos y la frecuencia de los subtipos cutáneos en la ES varía según la zona geográfica y la etnia. Gran parte de esta variación puede ser explicada por la diferente prevalencia de los anticuerpos específicos de la ES entre las distintas poblaciones.

Así, los ACA son los anticuerpos específicos más frecuentes en pacientes con ES de raza caucasiana (30% aproximadamente), frente un 4% en afroamericanos o un 3% de pacientes tailandeses<sup>23,123</sup>. En enfermos afroamericanos la presencia de ATA-I, U3-RNP, U1RNP y antiRo es mayor que en otras poblaciones caucasianas.

Los anticuerpos anti Pm-Scl se detectan en aproximadamente el 4% de pacientes de raza blanca o afroamericanos, y en cambio no se han aislado en ningún paciente de cohortes japonesas<sup>124</sup>.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Incluso en Europa se encuentran diferencias en la prevalencia de anticuerpos específicos si comparamos poblaciones de Reino Unido, Francia, Italia y Suecia. En una larga cohorte de paciente suecos con ES, el anticuerpo más frecuentemente aislado fue el U1RNP, siendo éste el doble de prevalente que el ATA-I (21.4 VS 9.4%) <sup>125</sup>.

Sin embargo, tanto en Francia como en Italia hay una prevalencia mayor de ATA-I y el RNAp es comparativamente menos frecuente que en las cohortes de EEUU y Reino Unido <sup>111,126-128</sup>. En Italia sólo un 8% presentan RNAp frente al 25-33% de otros países <sup>127</sup>.

Como ya se comentó en apartados previos, todos estos datos apoyan la teoría de que los factores genéticos juegan un papel fundamental en el desarrollo de la enfermedad, tanto por la susceptibilidad a la misma como en la determinación de la expresividad clínica e inmunológica. Además, son precisamente los autoanticuerpos los que más se han asociado a un substrato genético determinado. Se ha demostrado una clara asociación de determinados HLA clase II con la presencia de anticuerpos específicos, especialmente los ATA-I y ACA. Más adelante en el texto se especificarán estas asociaciones cuando se comente cada anticuerpo por separado.

Finalmente, la relación mujer/hombre en los enfermos con ES difiere en los diferentes estudios, aunque en todos ellos hay un claro predominio del sexo femenino. También hay diferencias por sexo en las especificidades serológicas: así, por ejemplo, ACA es particularmente predominante en mujeres con ES (92-95% de pacientes ACA positivas son mujeres frente al 83% de pacientes con ATA-I) <sup>129</sup>. En contraste, los anticuerpos anti U3-RNP son más frecuentes en hombres <sup>130</sup>.

### **1.2.3. Anticuerpos y patogénesis**

Hay fuertes asociaciones entre anticuerpos específicos de la esclerodermia y distintos subtipos fenotípicos de la misma, pero los mecanismos implicados todavía son inciertos.

Las dianas frente a las que se dirigen estos anticuerpos son componentes específicos de la célula, incluyendo proteínas ribonucleares, cinetocoros, topoisomerasa y enzimas RNA polimerasa <sup>118</sup>.

Es posible que los anticuerpos específicos jueguen un papel patogénico directo en la propagación y amplificación de reacciones autoinmunes y en la patología de la ES.

#### **1.2.4. Características de los Anticuerpos de la Esclerodermia**

##### **1.2.4.1. ANAs específicos de Esclerodermia**

Los ANA son los anticuerpos más representativos de la ES. Existen al menos 7 específicos en la enfermedad, de los que los anticuerpos ACA y ATA-I son los más frecuentes. A éstos se unen los anticuerpos ANu, que son menos prevalentes y se caracterizan por producir patrones nucleolares en las células de epitelio humano tipo 2 (HEp-2). Los ANu se dirigen contra diferentes proteínas nucleolares como la RNA polimerasa, pequeñas ribonucleoproteínas nucleolares (snRNP, Th/To), el antígeno localizado en el lugar de ensamblaje del ribosoma en el nucleolo (Pm-Scl) y componentes de la fibrilarina (U3RNP). De ellos, sin embargo, los RNAP presentan con más frecuencia un patrón moteado en la IFI que el nucleolar <sup>120</sup>.

El tipo de ANA, los autoantígenos diana, la frecuencia y las asociaciones clínicas se resumen en la *Tabla 8*.

Otros ANA descritos en la ES, son el anti-U11/12 RNP y anti human upstream-binding factor (Nor-90) <sup>131,132</sup>. Los anti-U11/12 RNP, que no se pueden determinar en laboratorios habituales, se considera que identifican pacientes con una alta prevalencia de EPI <sup>133</sup>.

##### **1.2.4.2. ANAs asociados a Esclerodermia**

En un pequeño número de pacientes con ES se determinan autoanticuerpos que pueden estar presentes en otras enfermedades del tejido conectivo. En estos casos suele haber una superposición de la clínica propia de la ES con la de otras enfermedades sistémicas: son los llamados "Síndromes overlap".

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Dentro de estos anticuerpos, los más característicos son: anti-PmScl, anti-U1RNP, anti-Ro (SSA), anti-La (SSB) y anti-Ku.

Autoanticuerpo (AC)	Autoantígeno Diana	Frecuencia En ES	Principal técnica de detección	Principales asociaciones clínicas
<b>AC específicos</b>				
ACA	Proteínas CENP (A, B y C)	30%	IFI, ELISA para CENP-B, IB	ES limitada, isquemia digital (CENP-C), mujer
ATA-I	Topoisomerasa	20%	ID, ELISA, IB, IP	EPI
RNAP	RNA pol III (+/- I y II)	10%	IFI, IP	CRE, ES difusa
Anti-U3RNP	Fibrilarina 34kDa	5%	IFI, IP	HAP, afro-americanos, musculoesquelética
Anti Th/To	RNAsa MRP/RNAsa P	5%	IFI, IP	ES limitada, EPI
<b>AC asociados a ES</b>				
Anti PmScl	Componentes del exosoma humano Pm-Scl 100, Pm-Scl 70.	5%	IFI, ID, IB, IP	Solapamiento con miositis
AntiRo/AntiLa		5%	ID, IB, IP	Sd.Sjögren secundario
Anti-U1RNP	Proteínas espliceosoma (70K, A y C)	5%	IFI, ID, IP	Dedos en salchicha, solapamiento con EMTC
Anti-Ku	Subunidades 70Kda y 80Kda	<5%	IP	Solapamiento con LES, miositis
AntiJo/otras antisintetasas	Histidil y otras Sintetasas tRNA	<5%	ID, IB, IP	Solapamiento con miositis
Antifosfolípido	Cardiolipina, $\beta$ 2GP1	Variable	ELISA	Isquemia digital, daño endotelial
AMA	Piruvato deshidrogenasa	<5	IFI, ELISA, IB	Solapamiento con Cirrosis Biliar Primaria

**Tabla 8:** Principales autoanticuerpos asociados con ES

**ACA:** anticuerpos anticentrómero; **ATA-I:** Anticuerpos anti-Topoisomerasa; **IFI:** inmunofluorescencia indirecta; **IB:** Inmunoblott; **ID:** difusión en gel Ouchterlony; **IP:** Inmunoprecipitación de proteínas o RNA; **ES limitada:** subtipo cutáneo limitada; **ES difusa:** subtipo cutáneo difusa; **EPI:** Enfermedad pulmonar intersticial; **CRE:** Crisis renal esclerodérmica; **HAP:** Hipertensión arterial pulmonar.

### 1.2.4.3. Otros anticuerpos

Recientemente se han descrito anticuerpos contra antígenos no nucleares, incluyendo anticuerpos contra antígenos de la superficie celular (*Tabla 9*). Los anticuerpos contra el PDGFR (receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas), por ejemplo, parece que

estimulan una cascada inflamatoria específica, activando fibroblastos y los anticuerpos contra metaloproteinasas de la matriz extracelular pueden producir una desregulación del recambio de la propia matriz extracelular. Sin embargo, la especificidad de estos anticuerpos no queda clara. Se ha detectado un mismo tipo de anticuerpos con actividad agonista PDGF en el suero de pacientes con afección esclerodermiforme secundaria a la enfermedad injerto contra huésped. Además se ha descrito un efecto beneficioso de inhibidores de la señal PDGFR en casos resistentes de síndrome esclerodermiforme por enfermedad injerto contra huésped<sup>33,134</sup>.

Nuevos anticuerpos	Papel
Anti célula endothelial	Induce la apoptosis de las células endoteliales
Anti-Fibrillin 1 (Anti-FBN 1)	Activa los fibroblastos humanos
Anti-Metaloproteinasa de matriz 1 and 3 (Anti-MMP)	Previene la degradación de proteínas ECM
Anti-PDGFR	Estimula los fibroblastos humanos normales a través de Ha-Ras-ERK1/2-ROS
Anti-Nag-2	Induce la apoptosis de las células endoteliales

**Tabla 9:** Nuevos autoanticuerpos

Balada *et al* no evidenciaron relación entre la presencia de anticuerpos anti-PDGFR-alfa en la ES con características clínicas y serológicas, y encontraron que también se podían detectar en controles<sup>33</sup>. Otros grupos obtuvieron posteriormente resultados similares: Loizos *et al* encontraron autoanticuerpos anti-PDGFR en el mismo porcentaje de pacientes con ES que de controles (en un tercio de sueros)<sup>135</sup>. Classen *et al* no consiguieron evidenciar anticuerpos anti-PDGFR en pacientes con ES y sugirieron que los ligandos y receptores de PDGF, que sí que están ampliamente expresados en lesiones esclerodérmicas, pueden jugar un papel en la enfermedad independientemente de la presencia de anticuerpos<sup>136</sup>.

Por tanto, el potencial patogénico de estos anticuerpos y el papel de los mismos tiene que establecerse todavía.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Por otro lado, los anticuerpos anti-cardiolipina y anti-beta2 glicoproteína 1 que se asocian típicamente con el síndrome antifosfolípido, se aíslan en el 19% de los pacientes con ES. Se relacionan con isquemia digital severa, complicaciones macrovasculares, HAP y mortalidad <sup>137</sup>.

### **1.2.5. Métodos de detección de Autoanticuerpos**

El método más usado para el despistaje de la presencia de ANAs es la **IFI (inmunofluorescencia indirecta)**, que consiste en la detección de autoanticuerpos mediante la utilización de un anticuerpo específico frente las inmunoglobulinas humanas conjugado con un fluorocromo sobre un substrato celular <sup>138</sup>. Es un método altamente sensible que utiliza líneas celulares tumorales humanas, las células HEp-2 <sup>118</sup>, ya que sus grandes núcleos permiten diferenciar un mayor número de patrones <sup>138</sup>. En ocasiones se utilizan otro tipo de substratos tisulares como son el hígado o riñón de ratón, pero son menos sensibles y pueden no detectarse determinados anticuerpos como el patrón anticentromérico <sup>139</sup>.

Sin embargo, estos substratos pueden ser útiles para otros anticuerpos que a veces se aíslan en pacientes con ES como los anticuerpos antimitocondriales (AMA).

Los patrones de IFI reflejan la distribución topográfica de los antígenos, por lo que muchas veces nos dan una valiosa información e incluso permiten identificar los autoanticuerpos. En ocasiones, como es el caso del ACA, el propio patrón es suficientemente específico.

El patrón nucleolar es muy característico de la ES. Los ANu, sin embargo, aunque por IFI pueden tener unas características determinadas (por ej. Anti-Pm-Scl, patrón homogéneo nucleolar o el anti-U3RNP patrón granular grueso nucleolar), requieren generalmente otro tipo de técnicas adicionales para establecer completamente la identidad del autoanticuerpo, como el ELISA (enzimoinmunoanálisis), la inmunodifusión o la inmunoprecipitación <sup>139</sup>.

Además la IFI no es un método de detección perfecto y para algunas especificidades como el anti-Ro (SSA), que se expresa en pequeñas cantidades y se suele degradar durante el procesamiento de las células Hep-2 <sup>138</sup>, los ANAs pueden ser negativos o a títulos bajos.

Las técnicas de difusión de gel como la **inmunolectroforesis** o **inmunodifusión doble Ouchterlony** tienen todavía validez para detectar antígenos extraíbles del núcleo (ENA). Tradicionalmente anticuerpos como Ro (SSA), La (SSB), U1RNP, Sm, Jo-1, ATA-I y PmScl, se identificaban de este modo. Sin embargo estas técnicas son muy prolongadas y relativamente poco sensibles.

Actualmente se utilizan más las técnicas de **enzimoanálisis (ELISA)** que están más automatizadas, son más baratas y permiten un despistaje más amplio de anticuerpos, aunque presentan más resultados falsos positivos <sup>139</sup>. La técnica ELISA da resultados semi-cuantitativos. Es un método excelente para detectar anticuerpos como anti-RNA polimerasa III, pero parece ser por ejemplo menos específico para ATA-I. Para otras especificidades menos habituales como anti-Fibrilarina está en desarrollo y todavía necesita validación <sup>140</sup>.

Los métodos de **Inmunoblot** pueden aportar ventajas para reconocer el autoantígeno más específico. Los Lineblots son métodos derivados que contienen unos perfiles seleccionados de autoantígenos bien purificados, bien recombinantes y son semi-cuantitativos.

En la actualidad se han comercializado técnicas de laboratorio (blot) basadas en la identificación de anticuerpos específicos. Entre las más utilizadas se cuenta la técnica comercial de EUROLINE (EUROIMMUN<sup>®</sup>) o blot en papel que permite detectar 12 anticuerpos específicos de ES en la misma tira reactiva, contra los siguientes antígenos: ATA-I, CENP A, CENP B, RNAP-III (RP11), RNAPIII (RP155), Fibrillarin, NOR-90, Th/To, PM-Scl100, Pm-Scl75, Ku, PDGFR, Ro-52.

Finalmente, la **inmunoprecipitación (IP)** es el “gold standard” para detectar un amplio abanico de autoanticuerpos específicos que son complicados de detectar por otras técnicas.

Esta técnica está limitada a laboratorios especializados debido a la dificultad e intensidad de la misma. Hasta hace unos años ciertos anticuerpos antinucleolares sólo se podían detectar por este método, como son el antiTh/To, anti U3RNP o fibrilarina o el perfil completo de RNAP. Además la IP puede detectar autoantígenos cuya especificidad es desconocida <sup>139</sup>.

### **1.2.6. Perfiles clínicos de los anticuerpos específicos de la ES**

#### **1.2.6.1. Anticentrómero (ACA)**

Los ACA fueron descritos por primera vez por Moroi *et al* en 1980 <sup>141</sup> y su prevalencia en pacientes con ES oscila entre 16-39%, por variaciones en función de las áreas geográficas y las etnias <sup>142</sup>.

Son anticuerpos altamente específicos de la ES que se encuentran de forma excepcional en sujetos sanos o con otras enfermedades del tejido conectivo. La detección de ACA, al igual que la de ATA-I o RNAP, se ha incluido como ítem en los últimos criterios de clasificación de la enfermedad de 2013 de ACR/EULAR conllevando su presencia una puntuación de 3 puntos <sup>48</sup>.

Identifican anticuerpos que se unen a proteínas centroméricas (CENP), localizadas en la parte interna y externa del cinetocoro y que se unen al aparato mitótico durante la mitosis <sup>138</sup>. Se han descrito al menos 6, de los que el CENP-A y el CENP-B son los más frecuentes <sup>143</sup>.

Tradicionalmente el método de detección de los ACA era la IFI; pero posteriormente se han desarrollado otras técnicas como un sistema ELISA que usa el antígeno CENP-B, y que tiene una buena sensibilidad y especificidad.

Se ha observado que el título de ACA medidos por ELISA permanece estable en el tiempo en pacientes con ES y que no se asocia con la actividad de la enfermedad <sup>144</sup>.

Como se ha descrito previamente, las especificidades serológicas se asocian con factores genéticos y los ACA se relacionan con determinados antígenos HLA como son: DR1, DR4, DR8, DR11 y DQ7 (DQB1\*0301) <sup>145</sup>.

Los enfermos con ACA frecuentemente tienen el subtipo cutáneo limitado, afección vascular periférica y calcinosis <sup>146</sup>. Presentan un FR de larga evolución con desarrollo posterior de distintas afecciones orgánicas.

Son frecuentes las telangiectasias en cara, lengua y dedos tras años de enfermedad y pueden desarrollar calcinosis de predominio en antebrazos, pretibiales y dedos.

Aunque casi todos los pacientes ACA positivo presentan FR, el grado de isquemia depende de las etnias: así, mientras la frecuencia de “pitting” o úlceras vasculares oscila entre 42 y 61% en pacientes caucasianos y afroamericanos <sup>111</sup>, sólo un 11-17% de pacientes japoneses con ACA positiva las presentan <sup>147</sup>.

La presencia de ACAs es un factor predictor del desarrollo de HAP, que ocurre en hasta un 20%. Sin embargo es factor protector de EPI y de CRE <sup>125</sup>. En la mayoría de los casos hay afección gastrointestinal en forma de dismotilidad esofágica y, a largo plazo, pueden presentar complicaciones esofágicas más graves, afección del intestino delgado con malabsorción y pseudoobstrucción e incluso hipomotilidad grave del colon.

#### **1.2.6.2. Antitopoisomerasa I o Scl70 (ATA-I)**

Los ATA-I fueron descritos por primera vez en pacientes con ES en 1979 <sup>148</sup>. Tienen una prevalencia en la enfermedad que varía entre 9 y 39% <sup>142</sup>, pudiendo llegar hasta el 70% según la etnia <sup>111,149</sup>.

Es excepcional detectarlos en suero de pacientes sanos o con otras enfermedades del tejido conectivo diferentes a la ES, como ocurre con otros anticuerpos específicos de la ES.

Su presencia en suero, al igual que la de ACA o RNAP, constituye un ítem en los últimos criterios de clasificación de la enfermedad <sup>48</sup>.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos ATA-I se dirigen contra una proteína asociada a la cromatina de 70-100kDa<sup>148</sup> y hay varios test comerciales disponibles para su detección; los más usados utilizan el método ELISA y el inmunoblot con una alta especificidad y sensibilidad.

Se asocian con los antígenos HLA-DRB1, DQB1 y DPB1<sup>17,150</sup>. Entre ellos, DRB1\*11 se encuentra en todos los grupos étnicos, HLA-DRB1\*1101 en raza caucásica y afroamericanos, HLA-DRB1\*1104 en japoneses y HLA-DRB1\*1502 en caucásicos e hispánicos.

La mayor parte de pacientes ATA-I positivos presentan el subtipo cutáneo difuso<sup>46</sup>, con un endurecimiento cutáneo precoz en la enfermedad, si bien en algún caso puede ocurrir hasta 3-4 años después del debut de la misma.

Clínicamente el primer síntoma suele ser el FR y en la mayoría de casos se produce tumefacción de los dedos de la mano durante los siguientes 2 años<sup>46</sup>.

Presentan un riesgo elevado de desarrollar EPI (60-70%<sup>46,151,152</sup>), normalmente de forma precoz, que no siempre es grave. Por esto, en pacientes ATA-I positivos, se recomienda realizar PFR y TACAR al momento del diagnóstico y control cada 3-6 meses mediante PFR<sup>46</sup>, incluso sin existencia de síntomas respiratorios.

La progresión o empeoramiento de la EPI suele ser más rápido al principio de la enfermedad, atribuido a una mayor actividad en fases tempranas. Sin embargo, de forma tardía también se puede producir un empeoramiento más lentamente progresivo en contexto de persistencia de actividad de bajo grado, complicaciones infecciosas o secundarias al reflujo gastroesofágico<sup>46</sup>. No todos los pacientes presentan la misma evolución: mientras que en algunos enfermos la EPI puede ser moderada y permanecer estable, en otros (23%) hay un empeoramiento progresivo que puede conducir incluso a la muerte.

Los pacientes ATA-I positivo pueden presentar, además, CRE (10%), afección cardíaca (16%) y afección gastrointestinal grave (8%) <sup>46,151</sup>, que afectan más frecuentemente a los pacientes con una rápida progresión cutánea <sup>46</sup>.

También son comunes en estos enfermos la clínica tendinosa (20-50%) y articular (44-86%) que aparecen precozmente en el curso de la ES <sup>46,153</sup>.

En varios estudios recientes se ha descrito una relación entre los títulos de ATA-I determinados por ELISA y el curso y gravedad de la enfermedad. Títulos más elevados de ATA-I se pueden asociar con mayor agresividad y gravedad de la clínica incluyendo la extensión del endurecimiento cutáneo, y la negativización serológica puede resultar en la remisión de la enfermedad <sup>154,155</sup>.

### **1.2.6.3. Anti RNA polimerasa III (RNAP)**

El anticuerpo RNAP fue aislado en 1993 por primera vez, pero hasta que no se dispuso de los test de ELISA para su determinación no se pudieron realizar estudios para determinar su importancia en la ES <sup>156,157</sup>.

La prevalencia de RNAP en los pacientes con ES varía significativamente según las diferentes cohortes, oscilando entre el 23% en algún centro de EEUU (147), 12% en datos recogidos de series de Reino Unido <sup>156</sup> y 3.4% en Corea <sup>158</sup>. En un estudio de Meyer *et al* de una amplia cohorte francesa de pacientes con ES, se detectó RNAP en un 9.1% de pacientes <sup>159</sup>.

En los pacientes con ES y anticuerpos RNAP, con frecuencia coexisten anticuerpos contra uno o más subtipos de RNAP, especialmente RNAP I y III, altamente específicos de ES (98-100%) <sup>156,157</sup>.

Los anticuerpos RNAP II aislados son raros y no son específicos de ES, pudiéndose aislar en el Lupus eritematoso sistémico (LES) y en síndromes overlap.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Como ya se comentó previamente, la detección de RNAP, al igual que la de ACA y ATA-I se ha incluido como ítem en los últimos criterios de la ACR/EULAR de 2013 de clasificación de la enfermedad.

Respecto a técnicas de detección de RNAP, en los últimos años varios estudios han mostrado que la técnica ELISA se puede usar para identificarlos con muy alta sensibilidad (91-96%) y especificidad (99%) <sup>161</sup>. En la IFI tienen un patrón moteado asociado o no a un patrón nucleolar. Raramente el patrón es únicamente nuclear <sup>46</sup>.

Al contrario de lo que ocurre con los ACA, ATA-I y anti-Th/To donde sí hay asociaciones significativas con determinados HLA, la asociación de RNAP con HLA es controvertida <sup>162</sup>.

La presencia de los anticuerpos RNAP I y III, con o sin RNAP II, se asocia con el subtipo cutáneo difusa (67-93%) y un riesgo elevado de desarrollar CRE (28-43%) <sup>46,111,124,163,164</sup>. La afección pulmonar, sin embargo, es poco habitual en pacientes con este anticuerpo: menos del 10% de pacientes tienen una EPI grave (3%) o hipertensión pulmonar (6%) <sup>165</sup>. Frecuentemente tienen unas PFR completamente normales a pesar de la rapidez de la progresión de la afección cutánea.

Hay múltiples estudios que demuestran una asociación entre la presencia de anticuerpos RNAP y el desarrollo de CRE, si bien varía de forma llamativa la incidencia entre las diferentes series, posiblemente debido a diferencias étnicas, ambientales o incluso en la selección de pacientes <sup>82,160,166</sup>. Hamaguchi *et al* <sup>85</sup> observaron recientemente que la presencia de RNAP II en combinación con RNAP I/III es un factor predictivo de CRE y que la presencia de los tres anticuerpos se relacionaba con una incidencia llamativamente mayor de CRE que en el grupo que presentaba sólo RNAP I y RNAP III (40% frente a 14.3%), si bien no encontraron una diferencia significativa, posiblemente debido al pequeño número de pacientes en ambos grupos. Steen *et al* <sup>111</sup> constataron una prevalencia del 25% de CRE en pacientes con RNAP en contraste con un 12% en los pacientes con subtipo difusa que presentaban otros anticuerpos. Además en un estudio de un único centro con 95 pacientes con ES que desarrollaron CRE, el 59% eran RNAP positivos <sup>90</sup>.

La afección cutánea en los pacientes con RNAp se instaura de forma muy rápida al inicio de la enfermedad y en ocasiones puede regresar parcialmente con el tiempo <sup>111</sup>. En diferentes estudios se asocia el título de anticuerpos RNAp con el grado de extensión cutánea. Sin embargo, este título no parece predecir el desarrollo de complicaciones orgánicas <sup>167</sup>.

El FR en pacientes RNAp positivos no está presente en el momento del diagnóstico en el 15%. Desarrollan con frecuencia síntomas articulares, tumefacción de manos y pies o síndrome del túnel carpiano y presentan un alto riesgo de contracturas graves secundarias a la rapidez y a la extensión de la afección cutánea. Es raro encontrar en estos pacientes afección vascular periférica grave, pero sin embargo presentan úlceras en el dorso de los dedos de difícil manejo secundarias a la tirantez cutánea y traumatismos repetidos.

Aunque la presencia de enfermedad gastrointestinal grave es infrecuente, los anticuerpos RNAp sí se asocian a GAVE (ectasia vascular antral gástrica) <sup>168</sup>. Emilie *et al* analizaron los 17 pacientes de su cohorte de ES que presentaron positividad para RNAp, y de ellos, 3 desarrollaron GAVE <sup>169</sup>. Posteriormente, el grupo EUSTAR, en el estudio con la serie más larga de pacientes con ES y GAVE hasta el momento, concluyó que los anticuerpos RNAp se asociaban de forma independiente con la presencia de GAVE. Encontraron una prevalencia claramente mayor de RNAp en el grupo de pacientes con GAVE frente al grupo sin GAVE (48% vs 16%;  $p=0.01$ ) <sup>170</sup>.

Finalmente, en estudios recientes se ha demostrado que los pacientes con ES y RNAp tienen un riesgo mayor de desarrollar una neoplasia durante un corto periodo de tiempo desde el debut de la enfermedad que los pacientes sin este anticuerpo, considerándose incluso en algunos casos la ES como un síndrome paraneoplásico <sup>171</sup>. En una amplia cohorte con 2177 pacientes con ES, Moinzadeh *et al* encontraron una frecuencia de cáncer de 14.2% en pacientes con RNAp en comparación con el 6.3% en pacientes con ATA-I y 6.8% en pacientes ACA positivos. Además, de los pacientes diagnosticados de cáncer durante los 36 meses siguientes al diagnóstico de ES, 53% presentaban anticuerpos RNAp, 23.5% ACA y 13.6% ATA-I <sup>172</sup>.

### **1.2.6.4. Anti U3-RNP o fibrilarina**

Los anticuerpos anti U3-RNP o fibrilarina fueron descritos por primera vez en el suero de pacientes con ES en 1985 <sup>173</sup>. Se detectan en 4-10% de pacientes con ES.

Se consideran específicos de la enfermedad y tienen exclusividad mutua con ACA, ATA-I y RNAp. Sin embargo, también se han descrito en alguna ocasión en pacientes con LES <sup>173</sup>.

Es el anticuerpo más frecuente en pacientes afroamericanos <sup>174</sup> y la edad media de debut de la enfermedad es de 35 años, por lo que los pacientes con U3-RNP son los más jóvenes de las cohortes de enfermos con ES. También son más frecuentes en enfermos varones.

Su mayor autoantígeno es la fibrilarina que es una proteína de 34 kDa y un componente del complejo U3-Ribonucleoproteína nucleolar.

Tienen un patrón nucleolar en la IFI, al igual que los anticuerpos anti Th/To y Pm-Scl.

Se ha descrito en alguna ocasión que el anti-U3RNP está asociado con el HLA DQB1\*0604 <sup>174</sup>, aunque esta relación no se confirmó en otros estudios.

Clínicamente, los pacientes con U3-RNP presentan afección visceral muy grave, lo que les confiere el peor pronóstico respecto a otros pacientes con ES y otros autoanticuerpos. Presentan EPI grave similar a la de los pacientes con ATA-I y pueden desarrollar también HAP similar a la observada en los pacientes con antiTh/To con una prevalencia de 24-32% <sup>46</sup>. La HAP con frecuencia se presenta con un debut agudo y es claramente desproporcionada a la gravedad de la fibrosis, suponiendo la primera causa de muerte en estos pacientes. También presentan afección grave del intestino delgado (59%) con episodios de malabsorción y pseudoobstrucción, así como afección cardíaca grave(18%) y CRE (7%) <sup>46</sup>.

La mayor parte de pacientes presentan ES difusa con áreas de hipo o hiperpigmentación, si bien la afección cutánea es menos grave y extensa que en los pacientes con subtipo difusa con otros anticuerpos. Presentan frecuentemente afección muscular inflamatoria y fibrótica, pero sin embargo, los problemas articulares y tendinosos son raros. Algunos pacientes desarrollan polineuropatías periféricas sintomáticas que son excepcionales en pacientes con ES y otros anticuerpos

Algunas características clínicas están influenciadas por la etnia: EPI, HAP y CRE son más frecuentes en pacientes de raza caucásica y afroamericanos y, por ello, estos pacientes tienen un peor pronóstico.

#### **1.2.6.5. Anti Th/To**

El anti Th/To se describió en 1982-1983, pero no se han podido utilizar clínicamente hasta muchos años después por no disponer de los métodos inmunológicos necesarios para su detección <sup>175,176</sup>.

Estos anticuerpos están presentes en un subgrupo pequeño de pacientes con ES (2-5%). Al igual que los ACA, son más frecuentes en la raza caucásica y el número de varones es mayor que en el grupo de pacientes ACA positivos (19 vs 8%). Inicialmente se consideraban específicos de la ES, pero recientemente se han aislado en esclerodermia localizada o en el LES.

Reconocen un complejo de 6 proteínas asociadas a RNA 7-2 y 8-2, que han sido identificadas como 2 endonucleasas, los complejos de RNasa MRP humana y RNasa P.

En la IFI presentan un patrón nucleolar: es uno de los tres anticuerpos antinucleolares que se aíslan en la ES, junto con anti-U3RNP y anti-Pm/Scl.

Frecuentemente no pueden ser identificados por ELISA, e incluso pueden ser ANA negativos por este método. La mejor técnica para identificarlos es la inmunoprecipitación que es altamente compleja y difícilmente disponible en los diferentes laboratorios <sup>46</sup>.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista genético, se relacionan con el complejo HLA DRB1\*11 <sup>177</sup>.

Clínicamente se asocian con el subtipo cutáneo limitada con una duración del FR más corta hasta la aparición de otros síntomas y con más tumefacción de los dedos de la mano que los enfermos con ACA.

Aunque la gran proximidad temporal entre la tumefacción de manos y el FR sugiere ES difusa, es excepcional que los pacientes con Th/To alcancen afección cutánea por encima de codos y rodillas así como que desarrollen CRE <sup>46,176</sup>.

Tienen un riesgo muy elevado de desarrollar complicaciones orgánicas graves, lo que les confiere un peor pronóstico <sup>178</sup>. Así, es frecuente que presenten EPI que puede ser grave y suele ser precoz (hasta un 16% <sup>46</sup>), y posteriormente HAP. La prevalencia de HAP aislada es de hasta un 32% <sup>46</sup>.

Tienen menor afección esofágica, pero sin embargo presentan patología de intestino delgado de mayor gravedad.

La vasculopatía digital es menos frecuente, pero sí presentan telangiectasias y calcinosis que suelen aparecer muchos años después del debut de la enfermedad.

### **1.2.6.6. Anti U1-RNP**

Los anticuerpos anti U1-RNP presentan una prevalencia en la ES del 6% (rango de 2 a 14%) <sup>111</sup>. Se encuentra con frecuencia en pacientes con otras enfermedades autoinmunes, particularmente en la Enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC) donde su presencia es un criterio diagnóstico.

Su prevalencia es mayor en pacientes afroamericanos, en quienes es el anticuerpo más frecuente entre los que presentan el subtipo limitada.

El antígeno de los anticuerpos anti-U1RNP es una ribonucleasa involucrada en empalmar el RNA nuclear heterogéneo con el mRNA (RNP).

En estos enfermos se encuentran ANA a títulos elevados con un patrón moteado en la IFI.

Clínicamente predomina el subtipo limitada (sólo el 20% presenta el subtipo difusa) y desarrollan con una elevada frecuencia afección muscular (27%) y problemas articulares (94%). El FR y tumefacción de manos aparecen precozmente, pero más adelante desarrollan otras complicaciones severas de la ES. El debut de la ES en estos pacientes es a edad temprana.

Aunque pueden sufrir todas las manifestaciones orgánicas de la ES, las complicaciones más graves de la enfermedad aparecen con menor frecuencia. La más habitual es la HAP que es la principal causa de muerte en estos pacientes. La disfunción esofágica es también muy característica y en algún caso pueden desarrollar EPI. El riesgo de afección renal en forma de CRE es bajo.

#### **1.2.6.7. Anti Pm/Scl**

El anticuerpo antiPmScl fue descrito por primera vez por Wolfe *et al* en 1977 en pacientes con síndromes overlap Polimiositis/Esclerodermia (PM/ES), e inicialmente se propuso como marcador de polimiositis <sup>179,180</sup>.

La prevalencia en ES es de 2 -5%, y varía entre las diferentes etnias. En los afroamericanos, por ejemplo, es menos habitual <sup>181</sup>.

Se aíslan en pacientes con el síndrome de solapamiento escleromiositis, aunque también pueden estar presentes en polimiositis, dermatomiositis y otras conectivopatías, e incluso en pacientes con ES sin evidencia de afección muscular inflamatoria <sup>182</sup>.

Los pacientes Pm-Scl positivos presentan con elevada frecuencia otros anticuerpos específicos de la ES, especialmente ATA-I. En un estudio reciente realizado en Canadá con

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

763 pacientes, encontraron una prevalencia de PmScl del 7.2%, de los cuales, casi el 50% presentaba otro anticuerpo específico asociado (ACA, RNAP y ATA-I, en su mayoría) <sup>183</sup>.

El antígeno del Pm-Scl está formado por 11-16 polipéptidos de los cuales 2 proteínas de 75 y 100 kDa han sido identificadas como los mayores componentes antigénicos <sup>184</sup>.

El método de detección de los anticuerpos antiPm-Scl es el ELISA, bien usando el péptido PM-1 a o el antígeno humano recombinante PM/Scl-100 (EUROIMMUN) <sup>185</sup>. También se puede determinar por doble inmunodifusión <sup>186</sup>.

El patrón en la IFI es nucleolar predominantemente, aunque no siempre.

Se relacionan con el HLA DQA1\*0501 y HLA DRB1\*030 <sup>187</sup>.

Aunque es de los menos frecuentes dentro de los siete anticuerpos específicos de la ES, los pacientes que lo presentan son los más fácilmente reconocibles.

Es habitual que los pacientes Pm-Scl positivos tengan un debut de la enfermedad más precoz, siendo frecuente su presencia en las ES que debutan en la infancia. Su prevalencia disminuye progresivamente a medida que aumenta la edad del enfermo <sup>188</sup>.

La mayor parte de pacientes debutan clínicamente en forma de enfermedad muscular inflamatoria, en ocasiones acompañada de cambios cutáneos típicos de dermatomiositis.

También tienen FR y cambios cutáneos esclerodérmicos, y normalmente expresan el subtipo cutáneo limitada. Sólo un 20% de pacientes presenta ES difusa.

La afección orgánica es poco grave: no suelen presentar enfermedad gastrointestinal ni miocárdica significativa, pero igual que otras miopatías inflamatorias como el síndrome

antisintetasa, tienen una frecuencia aumentada de EPI (30-78%), si bien la gravedad de ésta es menor que la de pacientes con ES y otros anticuerpos <sup>182</sup>.

Un estudio reciente comparó las características de la EPI en pacientes con ES dependiendo de la positividad de los anticuerpos Pm-Scl o ATA-I, y se evidenció que el curso de la EPI en los primeros era más favorable. En los pacientes con Pm-Scl la CVF se mantenía estable durante el seguimiento, e incluso, en un tercio de ellos mejoraba más del 10% <sup>182</sup>.

Frecuentemente desarrollan úlceras en pulpejos de los dedos y es común tanto la calcinosis como la acroosteolisis.

#### **1.2.6.8. AntiKu**

El anticuerpo anti-Ku fue aislado por primera vez en 1994 en pacientes con síndrome de overlap PM/ES <sup>189</sup>.

La prevalencia de anti-Ku fue evaluada hace unos años en un estudio multicéntrico promovido por el grupo EUSTAR, donde se analizaron 625 pacientes con ES, de los cuales 14 fueron anti-Ku positivos (2.2%) <sup>112</sup>.

Aunque inicialmente los anticuerpos anti-Ku se describieron en pacientes con síndrome overlap ES/PM, se han encontrado en muchas otras patologías sistémicas, particularmente en pacientes con LES, ES y EMTC <sup>190</sup>. En un estudio de Franceschini *et al* con 14 pacientes anti-Ku positivos la mitad presentaban un síndrome overlap (PM/ES 5, LES/ES/PM 1 y LES/PM 1), y de éstos, 85% presentaban características de ES <sup>191</sup>.

El complejo Ku es un heterodímero constituido por las subunidades p70 y p80, que juegan un papel importante en la reparación del DNA, la regulación transcripcional y replicación, así como en el mantenimiento del telómero <sup>192</sup>.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Es un complejo antigénico ubicuo que se encuentra en el núcleo, aunque también se ha localizado en el citoplasma y en superficies celulares <sup>193,194</sup>.

La determinación serológica de los anti-Ku se puede realizar mediante inmunoblot, inmunoensayo en línea y contraelectroforesis <sup>192</sup>.

Rozman *et al* <sup>112</sup> asociaron estos anticuerpos clínicamente a sinovitis, contracturas articulares y miositis. Encontraron, sin embargo, que los enfermos con anticuerpos anti-Ku no desarrollaban la afección vascular típica de la ES.

En otra serie de Cavazzana *et al* <sup>190</sup>, la EPI, miositis, síntomas articulares, FR y síndrome seco fueron las principales características clínicas encontradas.

### **1.2.6.9. Otros (Anti Ro 52, Anti U11/U12 RNP, Anti Nor 90)**

En la ES se han descrito 2 tipos principales de anticuerpos **SSA/Ro**: uno directo contra una proteína de 60kDa conocida como SSA/Ro60, que es parte de un complejo multiproteína de una pequeña ribonucleoproteína citoplasmática (cRNP), y otro que coexiste frecuentemente con el antiSSa/Ro60, y que se dirige contra una proteína de 52kDa (Ro52), que también es normalmente parte del complejo cRNP y es miembro de una familia de proteínas conocida como TRIM21 <sup>195</sup>. Mientras que los Ro60 se asocian con enfermedades sistémicas determinadas, especialmente LES, Lupus cutáneo subagudo y Síndrome de Sjögren, los Ro52 se han descrito en una amplia variedad de enfermedades autoinmunes y asociados con otros autoanticuerpos.

Se conoce poco sobre sus asociaciones clínicas y es controvertido si hay una relación independiente con enfermedades sistémicas <sup>196</sup>. Se ha asociado con EPI en varias enfermedades autoinmunes, particularmente cuando coexiste con el anticuerpo antiJo1. En 2012, el grupo de investigación canadiense sobre ES (CSGR) con una base de 1200 pacientes con ES, encontró que el 20% de pacientes presentaban Ro52, siendo éste, por tanto, el segundo anticuerpo en

frecuencia en esta cohorte <sup>197</sup>. En este estudio se concluyó que existía una asociación entre los anticuerpos antiRo52/TRIM21 y la EPI en ES, con una probabilidad 1.5 veces mayor de desarrollarla si el anticuerpo estaba presente. Sin embargo, esta asociación puede ser influenciada por la presencia de otros autoanticuerpos específicos de la ES coexistentes, particularmente los ATA-I. Por este motivo, el mismo grupo realizó un nuevo estudio 3 años más tarde junto a un grupo americano y otro australiano con el fin de determinar las asociaciones clínicas del antiRo52 aislado, en ausencia de otros anticuerpos específicos de la ES <sup>195</sup>. En este estudio encontraron que el anticuerpo antiRo52/TRIM21 aislado sí se asociaba de forma independiente con EPI y con un aumento de mortalidad en ES. Sin embargo, aquellos pacientes en los que el Ro52 coexistía con otros anticuerpos específicos de la ES no desarrollaban EPI con más frecuencia.

En un estudio inglés con una larga cohorte de pacientes con ES el Ro52 se aislaba junto a todos los principales anticuerpos de la ES, ACA, ATA-I y RNAp, con frecuencias de 28, 19 y 25%, respectivamente <sup>198</sup>.

**Los anti U11/U12 RNP** reaccionan contra antígenos que se encuentran en las células eucarióticas en escasa cantidad y en componentes del espliceosoma <sup>131</sup>. Fertig *et al* estudiaron las características clínicas de 33 pacientes con este anticuerpo <sup>133</sup> y encontraron que todos ellos presentaban FR y el 82% afección gastrointestinal. Una gran mayoría (79%) desarrolló EPI.

**Los anticuerpos anti-Nor 90**, contra el antígeno Nor en el nucleolo, se describieron por primera vez en 1987 <sup>132</sup>. No es un anticuerpo específico de la ES ya que se puede encontrar en otras enfermedades sistémicas como el LES, la artritis reumatoide y Sd.Sjögren, e incluso en contexto de algunas neoplasias <sup>199,200</sup>. El anti Nor 90 se vincula al alelo HLA-DR1 <sup>201</sup>. Clínicamente se asocia con el subtipo cutáneo limitado y con afección orgánica leve, por lo que se le atribuye un buen pronóstico, si bien no hay estudios con un número elevado de pacientes que lo corroboren.

### **1.2.7. Implicación de los Anticuerpos en la supervivencia**

Respecto a la implicación del perfil serológico en el pronóstico de la enfermedad, se han identificado asociaciones entre los diferentes anticuerpos específicos y la mortalidad.

Dentro de los anticuerpos más frecuentes en la ES (ACA, ATA-I y RNAp), múltiples estudios han demostrado un peor pronóstico en pacientes ATA-I positivos <sup>66,152,202</sup>, por presentar un mayor riesgo de desarrollar enfermedad orgánica grave (sobre todo EPI) y rápidamente progresiva. Ferri *et al*, en un reciente estudio, encontraron una supervivencia a los 10 años del diagnóstico de la enfermedad del 75.6% en pacientes con ATA-I, frente al 82.5% de los pacientes que presentaban otro anticuerpo, siendo la diferencia estadísticamente significativa. En su estudio univariable la presencia de ATA-I se asoció con un aumento del 61% del riesgo de mortalidad <sup>114</sup>.

De hecho, entre los factores de riesgo de mortalidad más consistentes en la ES identificados en diferentes estudios observacionales, además de la afección cardiopulmonar, la renal y la extensión de la afección cutánea, se encuentra la presencia de ATA-I <sup>203</sup>.

El pronóstico de los pacientes con ES y RNAp, sin embargo, actualmente es mejor que el de los ATA-I positivos. Presentan una menor incidencia de EPI y la mortalidad por CRE ha disminuido francamente desde que se realiza un tratamiento más precoz con IECAs, traducándose en un aumento de la supervivencia en estos enfermos <sup>111,151</sup>.

Recientemente, Domsic *et al* estudiaron en una cohorte de pacientes de USA un modelo de predicción de la mortalidad a 5 años en los pacientes con ES difusa en fase precoz (< de 2 años transcurridos tras el primer síntoma de la enfermedad), que luego validaron en una cohorte británica. En ese modelo la presencia del anticuerpo RNAp era un factor protector, disminuyendo el riesgo de mortalidad durante esos 5 años <sup>204</sup>.

Los ACA confieren un mejor pronóstico que los otros anticuerpos específicos<sup>125,202</sup>. Estudios recientes han corroborado una mortalidad menor en pacientes ACA positivos que en aquellos que presentan ATA-I o ANu<sup>205</sup>.

Steen *et al* objetivaron una supervivencia a los 5 y a los 10 años de 85 y 75%, respectivamente, para ACA, frente a 78% y 65% para los ATA-I. Sin embargo, en su serie, los pacientes con RNAp presentaron una mayor supervivencia que los ACA positivos con porcentajes de 90 y 75%, a los 5 y 10 años, respectivamente<sup>46</sup>.

Según un estudio realizado por Steen y Medsger la mitad de las causas de muerte en pacientes ACA positivos son por HAP<sup>68</sup>.

Más recientemente, el Grupo español de estudio de ES (RESCLE) objetivó en su cohorte de 879 pacientes, que tanto la presencia de ATA-I como la ausencia de ACA se asociaban con un peor pronóstico en el análisis univariable del estudio de supervivencia. Sin embargo, no pudieron demostrar que se tratase de factores de riesgo independientes<sup>40</sup>. Las supervivencias encontradas en este estudio a los 10, 20 y 30 años desde el debut de la enfermedad, considerando al FR como primer síntoma de la enfermedad, fueron de 95%, 78% y 60%, respectivamente, para los pacientes con ATA-I y 98%, 92% y 85%, respectivamente, para los pacientes con ACA.

El grupo canadiense, por otro lado, sugirió que la supervivencia en la ES parecía estar asociada tanto con el tipo de anticuerpo como con el subtipo cutáneo. Así, valoró y comparó la supervivencia en función de las 2 clasificaciones, cutánea y serológica (ACA o ATA-I), con el siguiente resultado: Los pacientes con subtipo difusa y ATA-I positivos eran los que presentaban la peor supervivencia en comparación con subtipo limitada y ACA ( $p=0.0216$ ), subtipo difusa y ACA ( $p=0.0313$ ) y subtipo limitada y ATA-I ( $p=0.0115$ ). La supervivencia encontrada a los 10 años fue de 60%, 80%, 85% y casi el 100%, respectivamente<sup>206</sup>.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Respecto a los anticuerpos menos frecuentes:

- Los anticuerpo anti-U3RNP se asocian también a una elevada mortalidad debido a la frecuencia y gravedad de HAP <sup>207</sup>. Aggarwal *et al* compararon en su cohorte de enfermos con ES un grupo de pacientes que presentaban U3-RNP frente a un grupo U3-RNP negativo : encontraron que el grupo con U3-RNP presentaba un peor pronóstico, con una supervivencia acumulada a los 5 y a los 10 años desde el diagnóstico de la enfermedad de 75% y 56%, respectivamente, frente a porcentajes de 81% y 66%, respectivamente, en pacientes que no presentaban el anticuerpo ( $p=0.102$  a los 10 años). Después de realizar un ajuste por edad y sexo, en el grupo con U3-RNP el pronóstico era significativamente peor que en el grupo sin U3-RNP, con un HR de 1.38 (IC 95% 1.05-1.82 ( $p=0.019$ )) <sup>207</sup>.
- Los anti-Th/To tienen un riesgo muy elevado de desarrollar complicaciones orgánicas graves, por lo que los pacientes que los presentan tienen una menor supervivencia <sup>178</sup>. La supervivencia acumulada a los 5 y a los 10 años encontrada por Steen en pacientes con ES y anti-Th/To fue de 78% y 65%, respectivamente <sup>46</sup>.
- La presencia de anticuerpos U1RNP es predictora de una respuesta favorable a corticoides lo que le confiere un mejor pronóstico. En la cohorte de Steen *et al* <sup>111</sup> los pacientes con U1-RNP positivos tenían la mayor supervivencia, con un porcentaje de 95% a los 5 años y 88% a los 10 años.
- El anticuerpo anti Pm-Scl también se asocia con un buen pronóstico. En una cohorte de pacientes de Pittsburg aquellos que presentaban anti Pm-Scl eran los que mejor pronóstico tenían entre todos los subtipos serológicos de la ES. En este grupo se encontró una supervivencia a los 5 y a los 10 años en los enfermos Pm-Scl positivos de 83% y 72%, respectivamente <sup>186</sup>.

En la serie de Steen la supervivencia de los pacientes con anti Pm-Scl fue del 95% a los 5 años (igual que la de los enfermos U1-RNP positivos). A los 10 años disminuyó de forma importante hasta el 72% <sup>111</sup>.

Una menor edad en el momento del diagnóstico y la presencia de escasas complicaciones orgánicas, sobre todo de EPI, son indicadores de buena evolución en los enfermos que presentan este anticuerpo.

En el estudio más largo realizado hasta la fecha con 1432 pacientes <sup>111</sup> se objetivó que la supervivencia más baja a los 10 años en los pacientes con el subtipo limitada era la de los

enfermos con anticuerpos antiTh/To (65% frente al 88% y el 75% de U1-RNP y ACA, respectivamente). En el subtipo difusa, la mayor supervivencia a los 10 años fue encontrada en los pacientes con RNAp (75%) y la más baja en pacientes con U3-RNP (61%).

### **1.3. DETERMINACIÓN DEL PODER PRONÓSTICO DE LOS SUBTIPOS CUTÁNEOS VERSUS PERFIL INMUNOLÓGICO**

La ES se caracteriza por su gran heterogeneidad clínica. La consecución de criterios de clasificación homogéneos de la enfermedad no sólo tiene implicaciones teóricas, sino que también es útil para establecer diferentes subtipos pronósticos. La clasificación en subtipos cutáneos está limitada por la gran variabilidad de afecciones viscerales y de gravedad de las mismas que pueden presentar enfermos del mismo subgrupo. Algunos estudios clínicos sugerían que la clasificación por extensión cutánea no predecía adecuadamente el desarrollo de afecciones orgánicas ni el pronóstico de la enfermedad y, sin embargo, cuando los pacientes se clasificaban según su perfil inmunológico, diferían en frecuencia y gravedad de las afecciones viscerales. Además, en los estudios genéticos se han descrito más asociaciones de anticuerpos con determinados alelos del sistema de histocompatibilidad mayor (HLA) que con los subtipos cutáneos de la enfermedad. Por estos motivos algunos autores sugieren que los anticuerpos específicos son mejores indicadores del perfil clínico del paciente <sup>46</sup> y consideran que dentro de un mismo subtipo cutáneo puede haber diferentes grupos de enfermos con un determinado substrato genético e inmunológico que les confiere un patrón clínico y pronóstico determinado.

Así, Steen <sup>46</sup> propone una clasificación de la enfermedad en función de los 7 autoanticuerpos más específicos de la ES y considera que con el término de ES se engloban como mínimo 7 enfermedades diferentes agrupadas en 2 grandes subtipos cutáneos y definidas por la presencia de un autoanticuerpo u otro (*Tablas 10 y 11*). Considera que son los anticuerpos los que marcan el pronóstico de los pacientes basándose en el hecho de que diferentes afecciones viscerales tienen un comportamiento diferente según el anticuerpo que esté presente. Así, por ejemplo, los enfermos que presentan EPI asociada al anticuerpo Pm-Scl

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

tienen un pronóstico mucho más favorable que los enfermos con EPI asociada a ATA-I. Esta opinión ha sido ratificada más recientemente por Medsger<sup>47</sup> que también defiende el papel esencial de los autoanticuerpos en la ES y recomienda la utilización de éstos como método para subclasificar a los pacientes de los 2 grandes subtipos cutáneos en categorías (*Tabla 5*). A cada anticuerpo se le asocia una serie de manifestaciones clínicas que son particularmente frecuentes. Por ejemplo, el RNAP está asociado con ES difusa (90%) y con alto riesgo de CRE (25%). Por el contrario los anticuerpos ACA están asociados a ES limitada (95%) y a un mayor riesgo de desarrollar en épocas tardías HAP (10%). Los anticuerpos ATA-I se asocian a un mayor riesgo de EPI tanto en el grupo con ES Difusa como en el de ES limitada.

En los últimos años ha sido un motivo de debate el establecer qué tenía más peso como factor predictivo de la clínica del paciente: la extensión cutánea o el tipo de anticuerpo, y se han realizado estudios en los que se ha valorado por métodos multivariados el poder predictivo de los dos grandes subtipos frente a los anticuerpos asociados a ES más frecuentes y más ampliamente utilizados (ACA y ATA-I), observándose resultados similares. En el estudio realizado por el Grupo Español dentro de la cohorte del RESCLE<sup>43</sup> con 916 pacientes, encontraron que la clasificación en función de la presencia de anticuerpos ATA-I o ACA era casi tan eficiente como la categorización en subtipos cutáneos para evaluar la frecuencia de las manifestaciones clínicas y las características epidemiológicas. En su análisis multivariable el número de manifestaciones clínicas asociadas a subtipos cutáneos fue mayor que en las que participan los anticuerpos (16 versus 13). Sin embargo, algunos perfiles serológicos favorecían algunas alteraciones viscerales específicas e importantes. Así por ejemplo, los pacientes ACA negativos tenían más frecuentemente una CVF <70% del valor esperado y, con ello, un peor pronóstico. Por lo tanto, los pacientes con el subtipo cutáneo limitada que no presentaban ACA tenían más probabilidad de desarrollar EPI que los pacientes ACA positivos, concluyendo en esta cohorte que el anticuerpo ACA es un factor protector independiente para EPI. Además, en el análisis de los factores independientes predictores de las diferentes complicaciones de la ES encontraron también los siguientes resultados:

- El subtipo cutáneo difusa es el dato que predecía mejor el desarrollo de artritis, afección digestiva a todos los niveles, la afección renal y las úlceras digitales.
- Respecto a los anticuerpos, el ATA-I se asociaba de forma independiente al desarrollo de pericarditis y de EPI; si bien su peso como predictor independiente de EPI fue menor que el del subtipo cutáneo difusa. Sin embargo, el anticuerpo ACA, además de un factor protector independiente para la EPI, también lo era para la miositis, y era predictor de la aparición de síndrome seco <sup>43</sup>.

Por lo tanto, Simeón *et al*, del grupo RESCLE, concluyen que la clasificación de la ES en los subtipos cutáneos es la que mejor refleja la historia natural de la enfermedad y que los diferentes subgrupos presentan claras diferencias clínicas, pero que el perfil inmunológico ayuda a definir las alteraciones viscerales y ofrece importante poder predictivo en la EPI y su gravedad. Además encontraron grandes diferencias clínicas entre pacientes con el subtipo cutáneo limitada y el subtipo ES sine ES, que durante años se habían considerado similares <sup>38</sup>. Así, el grupo de pacientes con ES sine ES presentó mayor afección cardíaca que el grupo ES limitada, especialmente cardiopatía isquémica; la PAPs media también fue mayor en el grupo ES sine ES y, aunque la incidencia de EPI fue similar en ambos grupos, la CVF fue significativamente menor en el grupo ES sine ES que en el grupo ES limitada. Ante estos resultados concluyen que, para la valoración del perfil clínico de los pacientes, es necesario clasificar a los pacientes con ES en 3 subtipos cutáneos.

El grupo EUSTAR <sup>151</sup> en 2007, con una cohorte de 3656 pacientes con ES procedentes de diferentes centros, describe resultados similares al RESCLE. En su estudio multivariable el grupo encontró que los anticuerpos ACA y ATA-I tenían un poder predictivo en 15 de las manifestaciones clínicas estudiadas y los subtipos cutáneos en 11. Analizaron los factores independientes predictores de las diferentes complicaciones de la ES y encontraron los siguientes resultados:

- El principal factor predictor de la EPI y las úlceras digitales era el ATA-I y no el subtipo cutáneo difusa.
- Los ACA predecían el desarrollo de HAP.
- El subtipo cutáneo difusa predecía únicamente el desarrollo de la CRE y los roces tendinosos.

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

Por tanto, estos resultados evidencian que, para algunas manifestaciones de la enfermedad, la contribución del tipo de anticuerpo supera a la de la dicotomía clínica ES limitada y ES difusa, y que para muchas de ellas, el perfil inmunológico contribuye como una variable independiente. Así, este grupo concluye que los subtipos cutáneos se asocian con manifestaciones clínicas determinadas, pero que una clasificación basada en el tipo de anticuerpo parece que supera a la de los subtipos cutáneos en la predicción de las complicaciones de la ES <sup>151</sup>. Confirman, por tanto, la importancia de la subdivisión en subgrupos cutáneos limitada y difusa en la asociación con manifestaciones orgánicas determinadas, pero consideran que se deben combinar la extensión cutánea y los perfiles inmunológicos para predecir la clínica y el pronóstico de la enfermedad.

Tanto en el estudio realizado por el grupo EULAR como en el del grupo RESCLE, se analizan sólo las características clínicas de los pacientes con los anticuerpos más prevalentes, ATA-I y ACA, que son los que se detectan más fácilmente y de forma habitual en los diferentes laboratorios. De los anticuerpos RNAp, terceros en frecuencia y con una prevalencia considerable en pacientes con ES, todavía no hay estudios suficientes debido a la dificultad que existe para determinarlos.

Posteriormente, Nihtyanova *et al*, con una larga cohorte de enfermos con ES procedentes de un solo centro sugería que, si bien el perfil serológico puede ser útil para predecir determinadas afecciones orgánicas, los subtipos cutáneos eran mejores predictores de mortalidad <sup>208</sup>. En su estudio multivariable el anticuerpo ATA-I era el factor predictor de mayor peso para EPI, y el ACA el de mayor efecto protector para esta afección. También se confirmó la fuerte asociación entre RNAp y la CRE, así como el efecto protector del anticuerpo ACA sobre ella. Respecto a la mortalidad, el único anticuerpo que demostró una asociación significativa con la supervivencia fue el ACA; si bien en el análisis por subtipos cutáneos el resultado ya no fue significativo. Este resultado sugería que el mejor pronóstico de los pacientes con ACA era debido a una predominancia del subtipo cutáneo limitada y no al propio anticuerpo.

Más recientemente, sin embargo, el grupo canadiense de investigación en ES, que realizó un estudio en pacientes con positividad para ACA y ATA-I, afirmó que la valoración del pronóstico basándose únicamente en el perfil serológico o la extensión cutánea es subóptima y que debería utilizarse una asociación de marcadores inmunológicos y extensión cutánea para conseguir una mejor estimación de la mortalidad <sup>206</sup>. Respecto a las características demográficas y las afecciones orgánicas, este mismo grupo encontró en su estudio que éstas se relacionaban más con el perfil serológico que con el subtipo cutáneo. Así, la HAP fue más frecuente en pacientes con ACA y subtipo difusa o limitada (16.3% y 13.7%, respectivamente), que en pacientes con ATA-I y subtipo difusa o limitada (9.9% y 4.8%, respectivamente), y la prevalencia de EPI fue mayor en pacientes con ATA-I y subtipo difusa o limitada (56.4% y 49%) que en pacientes con ACA y subtipo difusa o limitada (22.1% y 13.35). La presencia de CRE también varió según el anticuerpo: la desarrollaron con mayor frecuencia los pacientes con ATA-I y subtipo difusa y limitada (2.7% y 3.8%), que los pacientes con ACA y subtipo difusa o limitada (0% y 0.7%). Por el contrario, otras manifestaciones como la calcinosis, manifestaciones vasculares periféricas o clínica articular presentaban una mayor asociación con la extensión cutánea.

Respecto a la supervivencia, el grupo RESCLE también estudió los factores independientes predictores de un mal pronóstico de la enfermedad, entre los cuales se encontraba el subtipo difusa. Sin embargo, mientras que la presencia de ATA-I y ausencia de ACA se asociaron con peor pronóstico en el análisis univariable, no se pudo demostrar que fuesen factores independientes del pronóstico en el estudio multivariable <sup>10</sup>. El metanálisis de Rubio-Rivas *et al*, tampoco evidencia que el perfil serológico esté dentro de los principales factores de riesgo relacionados con peor pronóstico, y, sin embargo, sí lo está el subtipo cutáneo difusa <sup>113</sup>. Por otro lado, mientras que datos de 1980 revelaban una gran diferencia de mortalidad entre los pacientes con el subtipo limitada y el subtipo difusa, un estudio reciente demostró una diferencia de mortalidad a los 10 años del 10%, una cifra mucho menos dramática.

Es interesante destacar que en el estudio del grupo canadiense antes citado <sup>206</sup>, donde evidenciaban una mayor relación del perfil inmunológico con las manifestaciones orgánicas

## 1 ■ ■ INTRODUCCIÓN

que el subtipo cutáneo, la supervivencia, sin embargo, parecía asociarse con ambas clasificaciones. Así, los pacientes con ATA-I y subtipo difusa tenían una peor supervivencia en comparación con los enfermos con ACA y subtipo limitada ( $p=0.0216$ ), ACA y subtipo difusa ( $p=0.0313$ ) y con ATA-I y subtipo limitada ( $p=0.0115$ ).

Anticuerpo	ATA-I	RNAp	U3 RNP
Nº pacientes	318	120	55
Hombres %*	27	<b>19</b>	29
Edad de inicio*	43	44	<b>35</b>
Difusa %*	71	<b>85</b>	64
Duración enfermedad	2.2	1.5	<b>2.9</b>
Afección articular %	86	88	89
Túnel carpiano %*	28	<b>43</b>	27
Roces tendinosos %	50	<b>61</b>	42
Úlceras digitales %*	<b>63</b>	42	58
Gangrena %*	<b>13</b>	3	9
Dedos en "salchicha" %	<b>28</b>	5	9
Osteolisis*	49/173	3/54	2/22
Calcinosis %*	17	14	<b>22</b>
Miositis %*	9	4	<b>18</b>
GI %	56	37	59
GI grave %*	8	5	<b>25</b>
Afección respiratoria %	73	49	67
Fibrosis pulmonar grave %*	<b>23</b>	7	<b>24</b>
CVF %* prevista	<b>67</b>	81	68
HAP aislada %	2	6	<b>24</b>
Afección cardíaca grave %*	16	7	<b>18</b>
Crisis renal %*	10	<b>28</b>	7
Supervivencia, % a los 5/10 años de diagnóstico	78/65	<b>90/75</b>	80/61

**Tabla 10:** Características de pacientes con anticuerpos más prevalentes en ES difusa

Tabla modificada de V. Steen<sup>46</sup>. Las diferencias más significativas están en negrita

**ACA:** Anticuerpos anticentrómero; **CVF:** Capacidad vital forzada ; **GI:** Afección gastrointestinal;

**HAP:** Hipertensión arterial pulmonar; \* P < 0.001 por análisis de variable

Anticuerpo	ACA	Th/To	Pm/Scl	U1-RNP
Nº pacientes	291	72	36	71
Hombres %*	<b>8</b>	19	19	21
Edad de inicio*	42	40	38	<b>33</b>
Difusa %*	5	7	22	20
Duración enfermedad	<b>8.7</b>	<b>7.9</b>	3.2	3.2
Afección articular %	60	60	75	<b>94</b>
Úlceras digitales %*	<b>61</b>	29	47	49
Gangrena %*	<b>18</b>	5	5	11
Dedos en “salchicha”	<b>27</b>	7	<b>32</b>	17
Osteolisis*	(41/151)	(2/28)	(7/22)	(5/29)
Calcinosis %*	<b>46</b>	22	<b>39</b>	14
Miositis %*	1	6	<b>58</b>	<b>27</b>
GI %	<b>57</b>	33	39	39
GI grave %*	8	13	0	<b>14</b>
Afección respiratoria %	45	62	58	53
Fibrosis pulmonar grave %*	6	16	<b>27</b>	22
CVF %* prevista	87	<b>70</b>	74	75
HAP aislada*	<b>19</b>	<b>32</b>	3	14
Afección cardíaca grave %*	4	7	6	11
Crisis renal %*	1	4	4	7
Supervivencia, % a los 5/10 años de diagnóstico	85/75	<b>78/65</b>	95/72	<b>78/65</b>

**Tabla 11:** Características de pacientes con anticuerpos más prevalentes en ES limitada

Tabla modificada de V. Steen<sup>46</sup>. Las diferencias más significativas están en negrita

*ACA*: Anticuerpos anticentrómero; *CVF*: Capacidad vital forzada; *GI*: Afección gastrointestinal;

*HAP*: Hipertensión arterial pulmonar; \* P < 0.001 por análisis de variable



# OBJETIVOS



## 2.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La ES es una enfermedad poco prevalente y con una expresividad clínica muy variable. Tiene un pronóstico que difiere enormemente dependiendo del subtipo clínico, que va desde una supervivencia prolongada a un curso rápidamente progresivo y fatal.

La mejoría de la supervivencia va ligada a un mejor control de las complicaciones de la enfermedad, como por ejemplo la utilización de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) en la crisis renal esclerodérmica (CRE); los inmunosupresores para la enfermedad pulmonar intersticial difusa (EPI) y la terapia vasodilatadora para control de la hipertensión arterial pulmonar (HAP).

Cuando se evalúa una enfermedad rara como la ES es importante conocer las tendencias en la presentación e historia natural de la enfermedad, identificar los factores predictores de complicaciones y los subgrupos de pacientes de alto riesgo. Estas herramientas ayudan al clínico a establecer un diagnóstico precoz de las complicaciones viscerales e iniciar un tratamiento dirigido lo antes posible con un mejor control y pronóstico de las mismas.

Varios estudios clínicos sugieren que la extensión cutánea no predice adecuadamente las complicaciones viscerales ni el pronóstico en muchos pacientes. Cuando los pacientes se clasifican en función del perfil serológico, los subgrupos difieren en frecuencia y gravedad de las afecciones orgánicas, lo que sugiere que los anticuerpos específicos pueden ser mejores predictores de la enfermedad que el subtipo cutáneo.

A la luz de lo expuesto, el objetivo global de la presente tesis doctoral es profundizar en el conocimiento de los perfiles clínicos de diferentes subgrupos de pacientes con ES clasificados en función del anticuerpo específico que presenten, prestando especial atención a las complicaciones orgánicas graves.

### 2.2. OBJETIVOS

1. Describir la prevalencia de las características clínicas y epidemiológicas de una larga cohorte de enfermos con ES controlada en el Hospital Vall d'Hebron y estudiar las manifestaciones asociadas a los diferentes subtipos cutáneos.
2. Describir las características clínico-epidemiológicas en función del perfil serológico.
3. Determinar si la clasificación en subtipos limitada y difusa es más adecuada para definir la enfermedad y sus manifestaciones orgánicas que la categorización en función de los anticuerpos ACA o ATA-I.
4. Estimar la frecuencia de presentación de anti-RNA polimerasa III en una serie amplia de pacientes con esclerosis sistémica en nuestro medio y establecer un perfil clínico de los pacientes con positividad para este anticuerpo.
5. Determinar la correlación entre los anticuerpos antiSSa/Ro52 y las características demográficas, clínicas y pronósticas determinadas en pacientes con ES.







# PACIENTES Y MÉTODOS



El cuerpo de la investigación de esta tesis doctoral está formado por tres estudios independientes, diseñados para dar respuesta a los objetivos planteados. Estos estudios son los siguientes:

- ◀ Patrón clínico en función del subtipo cutáneo y el perfil inmunológico ATA-I y ACA en esclerodermia. Análisis del poder predictivo de la categorización en subtipos cutáneos (Difusa y limitada) y en subtipos inmunológicos (ATA y ACA).
- ◀ Características clínicas de la esclerosis sistémica asociada a anticuerpos anti-RNA polimerasa III en la cohorte del hospital Vall d'Hebron.
- ◀ Anticuerpos antiSSa/Ro52 en esclerodermia. Resultados de un estudio observacional y transversal.

A continuación se ofrece una descripción detallada de cada uno de los estudios.

Se describen en primer lugar los pacientes y métodos que son comunes en los tres y, posteriormente, se exponen los resultados de forma secuencial para facilitar su lectura.

### 3.1. PACIENTES

Se realizó un estudio retrospectivo de una cohorte de pacientes diagnosticados de ES y visitados en la unidad de Enfermedades autoinmunes del Hospital Vall d'Hebron. Para evitar excluir a pacientes con un claro diagnóstico clínico de ES que no cumplían los criterios de clasificación de la ACR de 1980<sup>32</sup>, utilizamos la clasificación propuesta por LeRoy and Medsger<sup>42</sup>.

- ◀ En el **primer estudio** se incluyeron 319 pacientes con ES recogidos en una base de datos entre los años 1976 y 2009. Se analizaron datos epidemiológicos, clínicos y serológicos, y se compararon los datos de los grupos de pacientes con ACA y con ATA-I positivo, y de los grupos con ES cutánea difusa y ES cutánea limitada.
- ◀ Para el **segundo estudio** se seleccionaron de la cohorte 24 pacientes que presentaban anticuerpos RNAP positivos mediante la técnica de inmunoblot en papel o enzoinmunoensayo, y se compararon con 151 pacientes con negatividad para dichos anticuerpos. Se analizaron las diferentes variables epidemiológicas, clínicas, capilaroscópicas e inmunológicas.
- ◀ En el **tercer estudio** se incluyeron los 132 pacientes de la cohorte con determinación de los anticuerpos antiSSa/Ro52 y se analizaron y compararon los parámetros demográficos, clínicos y pronósticos dependiendo de la positividad de dicho anticuerpo.

### 3 ■ PACIENTES Y MÉTODOS

El inicio de la enfermedad se consideró la fecha de la aparición de la primera manifestación clínica relacionada con la ES, incluyendo el FR.

Se recogieron los siguientes datos clínicos y demográficos: sexo, edad del debut de la enfermedad (aparición de primera manifestación clínica, incluido FR), edad al diagnóstico, subtipo cutáneo de ES según la clasificación de LeRoy, afección vascular periférica, afección digestiva, cirrosis biliar primaria, EPI, HAP, afección cardíaca, CRE, patrón capilaroscópico, prevalencia de cáncer, muertes y causas de muerte.

#### 3.2. DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS

- ◀ *Afección cutánea*: Se consideraron cuatro subtipos cutáneos basándose en la extensión de la esclerosis cutánea según la clasificación de LeRoy modificada de 2001 <sup>42</sup>:
  1. ES cutánea difusa, que incluye a pacientes con esclerosis cutánea proximal a codos y rodillas;
  2. ES cutánea limitada, que incluye pacientes con esclerosis cutánea distal a codos y rodillas, incluyendo cara y cuello;
  3. ES *sine escleroderma*, definida por la presencia de FR o equivalentes, afección visceral característica de la ES y presencia de ANAs; y
  4. Preesclerodermia, definida por FR, anticuerpos específicos de la ES y/o alteraciones capilaroscópicas características de la enfermedad, pero sin esclerosis cutánea ni afección visceral característica.

Dado que el grupo preesclerodermia carece de afección visceral, los pacientes de este subgrupo no se incluyeron en el estudio de asociación con las diferentes afecciones.

- ◀ *Afección vascular periférica*: Definida como la presencia de FR con o sin úlceras digitales. Incluimos en este apartado las telangiectasias.
- ◀ *Afección digestiva*: Los siguientes diagnósticos se consideraron relacionados con la ES: patología esofágica que se definió como hipomotilidad de los dos tercios inferiores del esófago y/o disminución de la peristalsis confirmadas en las pruebas complementarias dirigidas como TEGD, manometría o estudio isotópico, con o sin síntomas; afección gástrica definida por la presencia de hipotonía gástrica detectada por estudio radiológico o isotópico y/o

ectasia vascular gástrica identificada mediante endoscopia; afección intestinal cuando se confirma una dismotilidad intestinal por manometría o estudio cine-radiográfico, malabsorción intestinal por sobrecrecimiento bacteriano mediante test del aliento de glucosa o pseudoobstrucción intestinal diagnosticada por radiografía o tomografía computerizada <sup>39,116</sup>.

- ◀ *Afección pulmonar:* La afección pulmonar se define por la presencia de enfermedad pulmonar intersticial (EPI) o hipertensión arterial pulmonar (HAP). El diagnóstico de EPI se estableció si se cumplía uno de los siguientes criterios: 1-patrón restrictivo pulmonar en las PFR con CVF <80% del valor esperado sin otra causa que la justifique, 2-patrón intersticial evidenciado por radiografía de tórax o TACAR, o 3-alveolitis confirmada por lavado broncoalveolar. Se consideró EPI grave si la CVF era <55% <sup>75</sup>.

El diagnóstico de HAP se realizó mediante cateterismo cardíaco derecho, definido como una PAPm  $\geq$ 25mmHg junto a una PCP <15mmHg y unas RVP > a 3 unidades Wood <sup>66</sup>. La HAP se consideró aislada cuando el paciente no presentaba EPI grave coexistente (CVF <60%).

- ◀ *Afección renal:* Para definir la Crisis renal esclerodérmica (CRE) se utilizaron los criterios de Traub <sup>79</sup>, que se basan en la presencia de hipertensión arterial grave de inicio brusco y/o insuficiencia renal oligoanúrica.
- ◀ *Afección cardíaca:* La afección cardíaca se define como pericarditis, cardiopatía isquémica de causa desconocida, defectos reversibles en la perfusión de Talio después de criostimulación, alteraciones en la Ecocardiografía-Doppler color, alteraciones electrocardiográficas sin causa aparente, función sistólica del ventrículo izquierdo menor del 50% o del ventrículo derecho menor de 40% por ecocardiograma o ventriculografía, todo ello no justificado por factores de riesgo cardiovascular.
- ◀ *Afección osteomuscular:* Incluye el diagnóstico de artralgias, artritis, roces tendinosos, miopatía inflamatoria o miopatía no inflamatoria, esta última definida como debilidad muscular unida a alteración de los enzimas musculares y un patrón miógeno en el EMG con o sin biopsia muscular.
- ◀ *Patrón capilaroscópico:* Se estudió mediante un estereomicroscopio electrónico Wild M3 con luz fría Intralux 5000 Volpi (Urdorf, Zurich, Switzerland). Se valoraron alteraciones cualitativas como el aumento del tamaño capilar (megacapilares, dilataciones), pérdida capilar, presencia de tortuosidades, ramificaciones y/o hemorragias.

### 3 ■ ■ PACIENTES Y MÉTODOS

Se definieron dos patrones capilaroscópicos según la división de Maricq *et al* <sup>209</sup>: *patrón activo*; con predominancia de pérdida capilar y un *patrón lento* con presencia, preferentemente, de dilataciones vasculares y megacapilares, sin pérdida capilar.

#### 3.3. ANÁLISIS INMUNOLÓGICOS

- ◀ **Inmunofluorescencia indirecta:** Se utilizó Inmunofluorescencia indirecta (IFI) de Nova Lite (IFA) ANA en riñón y estómago de ratón (Inova Diagnostics, San Diego CA, Inc) para la detección de anticuerpos IgG ANA, según instrucciones del fabricante. La dilución de cribado fue 1:40. Para analizar los títulos de ANA, las muestras positivas se testaron por IFI utilizando células HEp 2 (Inova Diagnostics, San Diego CA, Inc) y anti-IgG humana secundaria (H + L) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se analizaron diluciones de suero en dos veces (de 1/40 a 1/2560) en PBS. Brevemente, las láminas de sustrato ANA HEp-2 se incubaron con muestras de suero del paciente. Después de los apropiados lavados, se añadió un anticuerpo IgG anti-humano acoplado a FITC. Los resultados se visualizaron a través de microscopio fluorescente y se compararon con los controles negativos y positivos proporcionados por el test. Un técnico experto leyó los patrones de fluorescencia (homogéneo, moteado, centrómero, nucleolar y periférico). Cuando había dudas, el resultado se contrastó con un segundo técnico.
- ◀ **Inmunoblot en papel:** Se utilizó inmunoblot en papel para determinar la presencia de anticentrómero (ACA), anti PmScl y frente a antígenos extraíbles del núcleo (Ro, La, RNP, Sm y ATA-I).
- ◀ **Anticuerpos RNAP:** Para la detección de los anticuerpos RNAP se utilizaron 2 técnicas diferentes: en los primeros 63 sueros de pacientes con ES se determinaron los anticuerpos RNAP mediante **ELISA** que utiliza un péptido recombinante de RNA polimerasa III (Quanta LiteRNA Pol III ELISA, INOVA Diagnostics, San Diego, CA, USA), según las instrucciones del fabricante <sup>161</sup>, y en el resto de enfermos se utilizó **Inmunoensayo en línea** (Euroline Systemic Sclerosis profile, Euroimmun, Lübeck, Germany) que contiene anticuerpos contra RP11 (RNAP-III) y RP155 (RNAP-III).

#### 3.4. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

El análisis estadístico se realizó mediante SPSS 20.0.

Se calculó la media y la desviación estándar para las variables cuantitativas (edad, fecha del debut de la enfermedad y fecha del diagnóstico), y se calculó el porcentaje y las frecuencias para las variables cualitativas.

Para el análisis univariable se utilizaron los tests de Chi-cuadrado, el exacto de Fisher, las odds ratio y sus límites de confianza 95% para los análisis comparativos de los porcentajes, y se utilizó la prueba ANOVA (análisis de varianza) y el test de Kruskal-Wallis para las variables cuantitativas,

Los resultados se consideraron significativos cuando el valor de la  $p$  era  $<0.05$ .

En el primer estudio se realizó, además, un análisis del valor predictivo de los anticuerpos (ACA y ATA-I como variables dicotómicas) y el subtipo clínico (limitada y difusa) para las afecciones más prevalentes y/o con más importancia en el pronóstico: EPI, HAP, CRE y afección esofágica. Se utilizó un proceso de selección por pasos hacia atrás.

Se estimó un modelo de regresión de Cox para EPI, HAP y CRE. Dada la baja prevalencia observada de esta última patología, el elevado número de tiempos de supervivencia censurados conlleva a la aparición del fenómeno de separación. Se aplicó el método de ajuste propuesto por Firth adaptado a los modelos de supervivencia para mejorar la estimación de la razón de riesgos y de su intervalo de confianza <sup>210</sup>.

Se utilizó la medida  $V$  propuesta por Schemper y Henderson para los modelos de regresión de Cox <sup>211</sup> para valorar la variación explicada del modelo por cada una de las variables seleccionadas y la suma de cuadrados  $R^2$  ss propuesta por Mittlböck y Schemper para el modelo de regresión logística <sup>212</sup>. Ambas medidas se interpretan de forma análoga al coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de la regresión lineal.

Los cálculos se realizaron con el programa SAS 9.1.



# RESULTADOS



#### 4.1. PRIMER ESTUDIO

##### ***PATRÓN CLÍNICO EN FUNCIÓN DEL SUBTIPO CUTÁNEO Y EL PERFIL INMUNOLÓGICO ATA-I Y ACA EN ESCLERODERMIA. ANÁLISIS DEL PODER PREDICTIVO DE LA CATEGORIZACIÓN EN SUBTIPOS CUTÁNEOS (DIFUSA Y LIMITADA) Y EN SUBTIPOS INMUNOLÓGICOS (ATA y ACA)***

Entre 1976 y 2009, se reclutaron 319 pacientes con ES en una base de datos del Hospital Vall d'Hebron de Barcelona (288 [90,3%] mujeres con una ratio Mujer:hombre de 7:1) (*Tabla 13*). La edad media en el momento del diagnóstico fue  $51.5 \pm 15.1$  años, y la edad media del inicio de la enfermedad fue  $43 \pm 15.9$  años, con un tiempo de evolución en el momento del diagnóstico de  $8.5 \pm 10.1$  años. Doscientos-catorce pacientes (67%) cumplían los criterios de clasificación para ES de la ACR de 1980 <sup>32</sup>. Por subtipos cutáneos: Todos los pacientes con ES difusa frente al 77.4% de aquellos con ES limitada y 12.8% de los pacientes con ES sine ES cumplieron los criterios de la ACR de 1980.

Los pacientes con pre-ES no se consideraron para el estudio por no presentar manifestaciones orgánicas.

##### **Características demográficas, subtipos cutáneos y primera manifestación clínica en función del Anticuerpo**

ACA fue el anticuerpo más frecuente, presente en un 39.5% de pacientes de la cohorte, seguido por el ATA-I (16.5%) (*Tabla 12*). No hubo diferencias en la edad media de inicio de la enfermedad entre los grupos con ACA y ATA-I, aunque los pacientes con ATA-I eran más jóvenes en el momento del diagnóstico de la enfermedad que los ACA positivos ( $48 \pm 14.5$  vs  $54.3 \pm 12.5$  años, respectivamente;  $p < 0.05$ ). Respecto al sexo, no hubo diferencias en la ratio Mujer: Hombre entre ambos subgrupos. La mayor parte de pacientes con ACA (73%) tenían ES limitada, el 0.8% presentaban el subtipo difusa y el 17.5% el subtipo ES sine ES. De los pacientes con ATA-I el 59% presentaban ES difusa, el 30% el subtipo ES limitada y el 5.4% el subtipo ES sine ES. Se encontraron diferencias significativas entre los 2 grupos en el subtipo ES limitada ( $p=0.000$ ) y

## 4 ■ RESULTADOS

en ES difusa ( $p=0.000$ ), pero no en el subtipo ES sine ES. El FR fue el primer síntoma más común en ambos grupos, pero fue más frecuente como primera manifestación de la enfermedad en el grupo ACA positivo que en el grupo ATA-I positivo, con diferencias estadísticamente significativas (96.8% vs 88.9%, respectivamente;  $p < 0.01$ ).

### **Diferencias en las manifestaciones clínicas en función del Anticuerpo**

Las afecciones orgánicas en los subgrupos con ACA y ATA-I están recogidas en la *Tabla 12*.

En las siguientes manifestaciones se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los subtipos con ATA-I y ACA: la afección esofágica, presente en 70.4% de pacientes con ATA-I y en 48.4% de pacientes con ACA ( $p < 0.01$ ), la EPI (75.9 vs 39.7%, respectivamente;  $p = 0.0001$ ), la EPI grave (24.5 vs 5.6%, respectivamente;  $p < 0.001$ ), y la CRE que desarrolló el 7.4% de pacientes con ATA-I frente a ninguno de los ACA positivos ( $p < 0.01$ ).

No hubo diferencias en la incidencia de HAP en ambos grupos, tanto en HAP aislada como en la asociada a EPI. Tampoco se encontraron diferencias en la afección cardiaca entre los dos grupos de pacientes (*Tabla 12*).

Respecto a las manifestaciones no orgánicas, también se encontraron diferencias significativas entre los grupos de pacientes ACA y ATA-I positivos en: úlceras digitales (42% vs 59.3%, respectivamente;  $p = 0.034$ ), artritis (9.5% vs 22.2%, respectivamente;  $p = 0.022$ ) y roces tendinosos (0% vs 7.4%, respectivamente;  $p = 0.007$ ).

En resumen, la afección visceral más frecuente en pacientes ACA positivos fue la esofágica; aproximadamente un 35% de pacientes presentó EPI pero en sólo un 13.6% de éstos se consideró grave. La HAP aislada se objetivó únicamente en 5.6% de estos pacientes. Los pacientes ATA-I positivos presentaron prevalencias elevadas de afección esofágica (69.1%) y EPI (76.3%). Además, de los pacientes que desarrollaron EPI, en casi el 31% fue grave. Menos de un 10% presentaron CRE.

En el estudio también se han tenido en cuenta otros anticuerpos antinucleares específicos. Los anticuerpos U1RNP se aislaron en 5 (1.6%) de los 319 pacientes. Sesenta por ciento de ellos presentaron ES limitada y se observó una prevalencia relativamente alta de artritis (40%), telangiectasias (80%), cardiopatía isquémica (40%) y EPI (60%). Los anticuerpos anti Pm-Scl, característicos del Síndrome de superposición Escleromiositis también fueron positivos en 5 pacientes (1.6%) de la cohorte general. Como era esperado, su presencia se asoció con una alta incidencia de miositis (80%) y subtipo cutáneo limitada (60%). De forma llamativa, todos ellos desarrollaron EPI (100%), que fue grave en un solo paciente.

### **Causas de muerte según Anticuerpo**

En la cohorte total de 319 pacientes, fallecieron 73 (22.9%) durante el seguimiento. No hubo diferencias significativas entre los grupos de enfermos con ACA y ATA-I (19.8% y 25.9%, respectivamente).

En los pacientes ACA positivos, 9 de las 25 muertes fueron debidas a complicaciones directamente relacionadas con la ES. La causa más frecuente de muerte en este grupo fue la HAP que motivó casi el 30% de los fallecimientos. Sólo un paciente falleció a causa de EPI y ninguno por CRE.

En el grupo de pacientes con ATA-I la etiología de la muerte estaba directamente relacionada con la enfermedad en 10 de 14 pacientes. La causa más frecuente de muerte en este grupo fue la CRE (28.6%), seguida por HAP, EPI y HAP asociada a EPI, que motivaron 2 muertes (14.3%) cada una (*Tabla 14*).

### **Alteraciones capilaroscópicas según anticuerpo**

Se realizó estudio capilaroscópico en 115 (91.3%) pacientes ACA positivos y en 43 (79.6%) ATA-I positivos. El patrón lento se identificó con más frecuencia en el grupo de pacientes con ACA que en el grupo de pacientes con ATA-I (87 vs 62.85%, respectivamente;  $p < 0.001$ ). Contrariamente, el patrón activo fue más frecuente en el grupo ATA-I positivo que en el ACA positivo (27.9 vs 7.8%, respectivamente;  $p < 0.001$ ).

## 4 ■ RESULTADOS

Se realizó un subanálisis descriptivo del patrón capilaroscópico de los pacientes fallecidos en nuestra serie. De los pacientes que presentaban ATA-I y patrón activo en la capilaroscopia fallecieron 7, aproximadamente el 60%, mientras que de los que presentaban este anticuerpo y patrón lento lo hicieron un 26% (7 enfermos). Ningún paciente con capilaroscopia estrictamente normal falleció.

Sólo en 2 de los 7 pacientes fallecidos con ATA-I y patrón activo en la capilaroscopia, la causa estaba relacionada directamente con la ES (1 por CRE y otro por HAP). En el subgrupo con ATA-I y patrón lento, sin embargo, 4 de los 7 muertes fueron secundarias a complicaciones de la enfermedad (1 por CRE y 3 por EPI).

### **Características demográficas, inmunológicas y primera manifestación clínica en función del subtipo cutáneo**

La distribución por subtipos cutáneos fue la siguiente: 186 (58.3%) pacientes presentaban ES limitada, 64 (20%) ES difusa, 47 (14.7%) ES sine ES y 22 (6.9%) pre-ES (*Tabla 13*).

Los pacientes con ES difusa eran más jóvenes en el momento del diagnóstico de la enfermedad que los pacientes con ES limitada ( $43.9 \pm 15.3$  vs  $54 \pm 14.16$ , respectivamente;  $p=0.000$ ). No hubo diferencias, por el contrario, en la edad de debut de la enfermedad entre los 2 grupos, si bien el resultado se encontraba en el límite de la significación estadística ( $44 \pm 15.9$  para ES limitada vs  $39.7 \pm 14.6$  para ES difusa,  $p=0.05$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el ratio de hombres y mujeres entre ambos grupos.

El FR, como era esperable, fue el primer síntoma de la enfermedad en la mayor parte de pacientes, con una mayor prevalencia en el subtipo limitada respecto al subtipo difusa (94.6% vs 71.9%, respectivamente;  $p=0.001$ ).

En el perfil inmunológico, se observaron diferencias significativas entre los 2 subtipos tanto en el porcentaje de ACA positivos (49.5% en ES limitada vs 1.6% en ES difusa,  $p=0.000$ ), como en el de ATA-I (8.6% vs 50%, respectivamente;  $p=0.000$ ).

### **Diferencias en la presentación de la enfermedad en función de los diferentes subtipos cutáneos**

Respecto a las manifestaciones vasculares, el FR fue más frecuente en el grupo ES limitada que en el grupo ES difusa (96.2% vs 78.1%, respectivamente;  $p=0.000$ ) y, sin embargo, los pacientes con ES difusa desarrollaron úlceras digitales con mayor frecuencia que los del grupo ES limitada (81.3% vs 50.5%, respectivamente;  $p=0.000$ ).

Las manifestaciones orgánicas de los subtipos ES limitada, ES difusa y sine ES están recogidas en la *Tabla 13*.

Los pacientes con ES difusa presentaron la prevalencia más alta de EPI y afección renal en forma de CRE, así como de manifestaciones osteomusculares como artritis y roces tendinosos. La HAP aislada fue más frecuente en los pacientes con ES limitada.

No hubo diferencias entre los grupos ES limitada y difusa en las complicaciones gastrointestinales. La patología esofágica fue la manifestación gastrointestinal más frecuente en ambos grupos.

Respecto a la afección pulmonar, la frecuencia de EPI fue mayor en los pacientes con ES difusa que en los pacientes con ES limitada (73.4% vs 46.8%, respectivamente;  $p=0.000$ ). Además, para la EPI grave también se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos (36.6% en ES difusa vs 18.8% en ES limitada;  $p=0.045$ ).

La HAP aislada fue más prevalente en el grupo ES limitada (5.3% vs 0%, respectivamente;  $p=0.044$ ); sin embargo, no hubo diferencias entre ambos grupos en la HAP asociada a EPI y tampoco en la afección cardíaca.

La incidencia de CRE fue mayor en el subtipo ES difusa que en el ES limitada (15.6% vs 1.6%, respectivamente;  $p=0.000$ ).

## 4 ■ ■ RESULTADOS

A modo de resumen, la afección visceral más frecuente en la ES limitada fue la esofágica; la presencia de EPI fue del 46.8% en estos enfermos, si bien fue grave (CVF <55%) en sólo el 18%. La HAP aislada fue diagnosticada en menos del 10% de los pacientes con ES limitada (5.3%).

En el subtipo ES difusa la afección visceral más frecuente fue la EPI (73.4%), más de un tercio de las cuales fueron graves, seguida de la esofágica (64.1%). Ningún paciente de este grupo desarrolló HAP aislada y el porcentaje de CRE fue del 15%.

Además de los subtipos difusa y limitada, cuarenta y siete pacientes (14.7%) de la cohorte presentaban el subtipo cutáneo Es sine ES. La mayor parte (93%) eran mujeres y tanto la edad de inicio como la de diagnóstico de la enfermedad fue similar a la de los enfermos con el subtipo limitada, con una media de  $44.6 \pm 15.8$  años al debut de la enfermedad y de  $53.6 \pm 14$  años en el momento del diagnóstico. En todos los pacientes a excepción de uno la primera manifestación de la enfermedad fue el FR (97.9%). El anticuerpo más frecuentemente identificado fue el ACA (46.8%).

Respecto a las manifestaciones orgánicas de los enfermos con ES sine ES, sólo 22 pacientes (46.8%) presentaron afección esofágica, 40.4% desarrollaron EPI, de los cuales un tercio fue grave, 25.5% cardiopatía isquémica no relacionada con factores de riesgo cardiovascular, 4.3% HAP aislada y un solo paciente (2.1%) CRE. La mayor parte de pacientes (81.4%) tenían un patrón lento en la capilaroscopia.

De los 5 pacientes con ES sine ES fallecidos (10.6%), 2 lo hicieron por una causa atribuida a la propia enfermedad (uno por HAP aislada y otro por HAP+EPI).

### **Causas de muerte según subtipo cutáneo**

No hubo diferencias significativas en la incidencia de muertes entre los grupos ES limitada y difusa (24.2% y 35.9%, respectivamente).

Respecto a la etiología de la muerte, 9 de 45 pacientes (20%) con ES limitada y 16 de 23 pacientes (69%) con ES difusa fallecieron a causa de una complicación directamente relacionada con la ES.

En el grupo de pacientes con ES limitada la etiología más frecuente de la muerte por complicación orgánica esclerodérmica fue la HAP (26.7%), seguida por HAP asociada a EPI (6.6%), CRE (6.6%) y EPI (4.4%). En el grupo ES difusa, la más frecuente fue la CRE (34.8%), seguida de la EPI (17.4%), y posteriormente HAP y HAP asociada a EPI en 2 pacientes cada uno (8.7%).

Dentro del número total de muertes, la causa secundaria a CRE fue más frecuente en el subtipo ES difusa que en el subtipo ES limitada (34.8% vs 6.6%, respectivamente;  $p=0.001$ ). La muerte por EPI también fue más frecuente en ES difusa (17.4% vs 4.4%;  $p=0.039$ ).

### **Alteraciones capilaroscópicas en función del subtipo cutáneo**

Se realizó estudio capilaroscópico en 162 (87%) pacientes del subgrupo ES limitada y en 48 (75%) del subgrupo ES difusa (*Tabla 13*). El patrón lento se identificó con más frecuencia en el grupo ES limitada que en el de ES difusa (82.7% vs 18.6%, respectivamente;  $p=0.000$ ), y el patrón activo, por el contrario, fue más frecuente en el grupo ES difusa (11.1% vs 45.8%, respectivamente;  $p=0.000$ ).

Cabe destacar, que existe una correlación evidente entre las prevalencias de las manifestaciones clínicas según la presencia del subtipo cutáneo limitada o difusa, y dichas prevalencias según la presencia del anticuerpo ACA o ATA-I, respectivamente. Sin embargo, se han encontrado algunas diferencias en el estudio univariable entre ambas categorizaciones: el anticuerpo ATA-I presenta una mayor frecuencia de afección esofágica que el subtipo cutáneo difusa, y, por el contrario, de forma llamativa, los pacientes en el subtipo limitada es más frecuente la HAP que en los pacientes ACA positivos.

## 4 ■ RESULTADOS

Por otro lado, hay una mayor tendencia de EPI grave en pacientes con ATA-I que en pacientes con ES difusa, y de úlceras digitales en el subtipo ES difusa que en el ATA-I.

### **Análisis multivariantes de los factores independientes**

Los resultados obtenidos por el análisis univariable fueron confirmados por análisis multivariable para las complicaciones orgánicas de la enfermedad con más implicación en el pronóstico y más prevalentes: afección esofágica, EPI, HAP y CRE (*Tabla 15*). Este análisis muestra que para algunas de las principales manifestaciones orgánicas de la ES, como la CRE, pesa más el subtipo cutáneo que el tipo de anticuerpo (subtipo difusa, OR 5.06, IC 1.20-29.71,  $p=0.0267$ ). La afección esofágica, sin embargo, se relaciona con la ausencia de ACA (OR 1.96, IC 1.13-3.39,  $p=0.0170$ ).

Para el desarrollo de EPI se encontraron dos factores pronósticos independientes tanto la ausencia de ACA (OR 1.55, IC 1.03-2.33,  $p=0.0357$ ) como el subtipo cutáneo difusa (OR 2.16, IC 1.43-3.27,  $p=0.0003$ ).

El perfil inmunológico justifica, por tanto, 2 de las variables clínicas de mayor implicación pronóstica, y la categorización por subtipo cutáneo explica también el mismo número de estas variables.

	ACA (%)	ATA-I (%)	p(ACA vs ATA-I)
Pacientes	126 (39.5)	54 (16.9)	
<b>Subtipos de ES</b>			
Difusa	1 (0.8)	32 (59.3)	<b>0.000</b>
Limitada	92 (73.0)	16 (29.6)	<b>0.000</b>
Sine ES	22 (17.5)	3 (5.6)	0.057
Sexo (mujer)	118 (93.7)	49 (90.7)	0.535
Edad al debut de la enfermedad (años) med±SD (min-max)	44±14.8	41.5±14.5	0.291
Edad al diagnóstico (años) med±SD (min-max)	54.3±12.5	48±14.5	<b>0.04</b>
<b>Primera manifestación</b>			
Fenómeno de Raynaud	122 (96.8)	48 (88.9)	<b>0.009</b>
Tumefacción manos/artritis	1 (0.8)	2 (3.7)	
Esclerosis cutánea	0 (0)	1 (1.9)	
Artralgias	0 (0)	2 (3.7)	
Criterios ARA 1980	72 (57.1)	46 (85.2)	
<b>Otras manifestaciones clínicas</b>			
<i>Afección vascular periférica</i>			
Fenómeno de Raynaud	123 (97.6)	47 (87)	<b>0.009</b>
Úlceras digitales	53 (42.1)	32 (59.3)	<b>0.034</b>
Telangiectasias	89 (70.6)	37 (68.5)	0.777
<i>Musculoesqueléticas</i>			
Artritis	12 (9.5)	12 (22.2)	<b>0.022</b>
Calcinosis	28 (22.2)	8 (14.8)	0.255
Roces tendinosos	0 (0)	4 (7.4)	<b>0.007</b>
MNI	3 (2.4)	5 (9.3)	0.054
MI	0 (0)	1 (1.9)	0.306
<i>Afección digestiva</i>			
Esófago	61 (48.4)	38 (70.4)	<b>0.009</b>
Estómago	17 (13.5)	5 (9.3)	0.427
Malabsorción	4 (3.2)	1 (1.9)	1
<i>Afección pulmonar (EPI y/o HAP)</i>			
EPI	50 (39.7)	41 (75.9)	<b>0.0001</b>
EPI grave (CVF <55%)	7 (5.6%)	12 (24.5)	<b>0.000</b>
HAP	25 (19.8)	14 (25.9)	0.364
Con fibrosis	18 (14.3)	13 (24.1)	0.111
Sin fibrosis	7 (5.6)	1 (1.9)	0.439
<i>Afección renal</i>			
CRE	0 (0)	4 (7.4)	<b>0.007</b>
<i>Afección cardíaca</i>			
Pericarditis	4 (3.2)	2 (3.7)	1
C.Isquémica (NO FRCV)	28 (22.2)	8 (14.8)	0.255
<b>Capilaroscopia</b> (Porcentaje realizado sobre el total de capilaroscopias realizadas)			
	115	43	
Patrón lento	100 (87)	27 (62.8)	<b>0.001</b>
Patrón activo	9 (7.8)	12 (27.9)	<b>0.001</b>
Normal	6 (5.2)	4 (9.3)	0.348
No realizado	11	11	
Muertes	25 (19.8)	14 (25.9)	0.364
<b>Causas de muerte</b> (Porcentaje realizado sobre el total de muertes)			
CRE	0	4 (28.6)	<b>0.007</b>
EPI	1 (4.3)	2 (14.3)	0.43
HAP	7 (30.4)	2 (14.3)	0.291
EPI+HAP	1 (4)	2 (14.3)	
Cirrosis hepática	3 (12)	0	
Insuficiencia Cardíaca	6 (24)	0	
Neoplasias	2 (8.7)	2 (14.3)	

**Tabla 12:** Características clínicas de los pacientes con esclerodermia según anticuerpo. Comparación entre los pacientes ACA positivos y ATA-I positivos.

MI: Miopatía inflamatoria; MNI: Miopatía no inflamatoria; EPI: Enfermedad pulmonar intersticial difusa; CVF: Capacidad vital forzada; HAP: Hipertensión arterial pulmonar; CRE: Crisis renal esclerodérmica; C.Isquémica: Cardiopatía isquémica; FRCV: Factores de riesgo cardiovascular.

	ES Limitada n (%)	ES Difusa n(%)	ES sine ES n(%)	Pre-ES n(%)	Total (%)
Pacientes	186 (58.3)	64 (20)	47 (14.7)	22 (6.9)	319
<b>Anticuerpos</b>					
ACA	92 (49.5)	1 (1.6)	22 (46.8)	11 (50)	126 (39.5)
ATA-I	16 (8.6)	32 (50)	3 (6.4)	3 (13.6)	54 (16.9)
U1-RNP	3 (1.6)	1 (1.6)	1 (2.1)	1 (14.6)	5 (1.6)
Pm-Scl	3 (1.6)	1 (1.6)	1 (2.1)	0 (0)	5 (1.6)
Sexo (mujer)	167 (89.8)	57 (89)	44 (93.6)	20 (90.9)	288 (90.3)
Edad al debut de la enfermedad (años) <i>med±SD (min-max)</i>	44.6±16	40.2±14.7	44.6±15.8	33.9±16.2	43±15.9
Edad al diagnóstico (años) <i>med±SD (min-max)</i>	54.5	44.3±15.3	53.6±14	42.7±15.6	51.5±15.1
<b>Primera manifestación</b>					
Fenómeno de Raynaud	176 (94.6)	46 (71.9)	46 (97.9)	21 (95.5)	288 (90.6)
Tumefacción manos/artritis	2 (1.1)	5 (7.8)	0 (0)	0 (0)	7 (2.2)
Esclerosis cutánea	1 (0.54)	4 (6.3)	0 (0)	0 (0)	5 (1.6)
Artralgias	3 (1.6)	7 (10.9)	0 (0)	1 (4.5)	11 (3.4)
Criterios ARA 1980	144 (77.4)	64 (100)	6 (12.8)	0 (0)	214 (67.1)
<b>Otras manifestaciones clínicas</b>					
<i>Manifestaciones vasculares</i>					
Fenómeno de Raynaud	179 (96.2)	50 (78.1)	46 (97.9)	22 (100)	296 (92.8)
Úlceras digitales	94 (50.5)	52 (81.3)	8 (17)	4 (18.2)	158 (49.5)
Telangiectasias	141 (75.8)	48 (75)	30 (63.8)	6 (27.3)	225 (70.5)
<i>Musculoesqueléticas</i>					
Calcinosis	48 (25.8)	17 (26.6)	5 (10.6)	0 (0)	70 (21.9)
Artritis	25 (13.4)	19 (26.7)	5 (10.6)	0 (0)	49 (15.4)
Roces tendinosos	2 (1.1)	8 (12.5)	0 (0)	0 (0)	10 (3.1)
MNI	6 (3.2)	6 (9.4)	1 (2.1)	1 (4.6)	14 (4.4)
MI	6 (3.2)	3 (4.7)	1 (2.1)	0 (0)	11 (3.4)
<i>Afección digestiva</i>					
Esófago	113 (60.8)	41 (64)	22 (46.8)	0 (0)	177 (55.5)
Estómago	24 (12.9)	9 (14)	6 (12.8)	0 (0)	40 (12.5)
Malabsorción	6 (3.2)	6 (9.4)	1 (2.1)	0 (0)	13 (4.1)
<i>Afección pulmonar (EPI y/o HAP)</i>					
EPI	95 (51.1)	49 (76.6)	19 (40.4)	0 (0)	155 (48.6)
EPI grave (CVF <55%)	15 (8.4)	15 (25.4)	6 (12.8)	0 (0)	41 (12.9)
HAP	38 (20.4)	13 (20.3)	14 (29.8)	0 (0)	61 (19.1)
Con fibrosis	25 (13.4)	13 (20.3)	12 (25.5)		50 (15.7)
Sin fibrosis	10 (5.3)	0 (0)	2 (4.3)		11 (3.4)
<i>Afección renal</i>					
CRE	3 (1.6)	10 (15.6)	1 (2.1)	0 (0)	14 (4.1)
<i>Afección cardíaca</i>					
Pericarditis	5 (2.7)	1 (1.6)	0 (0)	0 (0)	6 (1.9)
C.Isquémica	43 (23.1)	11 (17.2)	12 (25.5)	0 (0)	67 (21)
<b>Capilaroscopia (Porcentajes realizado sobre el total de capilaroscopias realizadas)</b>					
Patrón lento	134 (82.7)	25 (18.6)	35 (81.4)	18 (85.7)	212 (77.3)
Patrón activo	18 (11.1)	22 (45.8)	1 (2.3)	0 (0)	41 (14.9)
Normal	10 (6.2)	1 (2)	7 (16.2)	3 (14.3)	21 (7.6)
No realizado	24	16	4	1	45
Muertes	45 (24.2)	23 (35.9)	5 (10.6)	0 (0)	73 (22.9)
<b>Causas de muerte (Porcentaje realizado sobre el total de muertes)</b>					
CRE	3 (6.6)	8 (34.8)	0 (0)		11 (15)
EPI	2 (4.4)	4 (17.4)	0 (0)		6 (8.4)
HAP	12 (26.7)	2 (8.7)	1 (20)		15 (20.5)
EPI+HAP	3 (6.6)	2 (8.7)	1 (20)		6 (8.4)

**Tabla 13:** Características clínicas e inmunológicas de los pacientes con esclerodermia según el subtipo cutáneo

**ACA:** Anticuerpos anticentrómero; **ATA-I:** Anticuerpos antitopoisomerasa; **MNI:** Miopatía no inflamatoria;

**MI:** Miopatía inflamatoria; **EPI:** Enfermedad pulmonar intersticial difusa; **CVF:** Capacidad vital forzada;

**HAP:** Hipertensión arterial pulmonar; **CRE:** Crisis renal esclerodérmica; **C.Isquémica:** Cardiopatía isquémica;

	ES limitada n (%)	ES Difusa n (%)	p (ES limitada vs difusa)
Número de pacientes	186 (58.3)	64 (20)	
<b>Anticuerpo</b>			
ATA-I	16 (8.6)	32 (50)	<b>0.000</b>
ACA	92 (49.5)	32 (50)	<b>0.000</b>
Sexo (mujer)	167 (89.8)	57 (89.1)	0.871
Edad al debut de la enfermedad (años) <i>med±SD (min-max)</i>	44±15.93	39.7±14.647	<b>0.050</b>
Edad al diagnóstico (años) <i>med±SD (min-max)</i>	54 ±14.16	43.9± 15.3	<b>0.000</b>
<b>Primera manifestación</b>			
Fenómeno de Raynaud	176 (94.6)	46 (71.9)	<b>0.001</b>
Artritis	2 (1.1)	5 (7.89)	
Esclerosis cutánea	1 (0.54)	4 (6.3)	
Criterios ARA 1980	144 (7.4)	64 (100)	
<b>Manifestaciones clínicas</b>			
<i>Manifestaciones vasculares</i>			
Fenómeno de Raynaud	179 (96.2)	50 (78.1)	<b>0.000</b>
Úlceras digitales	94 (50.5)	52 (81.3)	<b>0.000</b>
Telangiectasias	141 (75.8)	48 (75)	0.868
<i>Musculoesqueléticas</i>			
Artritis	25 (13.4)	19 (27.7)	<b>0.007</b>
Roces tendinosos	2 (1.1)	8 (12.5)	<b>0.000</b>
<i>Manifestaciones digestivas</i>			
Esófago	110 (59.1)	41 (64.1)	0.554
Estómago	24 (12.9)	8 (12.5)	1
Malabsorción	6 (3.2)	6 (9.4)	0.082
<i>Manifestaciones pulmonares</i>			
EPI	87 (46.8)	47 (73.4)	<b>0.000</b>
EPI Grave (CVF <55%)*	15 (18.8)	15 (36.6)	<b>0.045</b>
*Porcentaje calculado sobre el total de EPI			
HAP	35 (18.8)	13 (20.3)	0.854
HAP aislada	10 (5.3)	0 (0)	<b>0.044</b>
EPI+HAP	25 (13.4)	13 (20.3)	
<i>Afección renal</i>			
CRE	3 (1.6)	10 (15.6)	<b>0.000</b>
<i>Afección cardíaca</i>			
Pericarditis	5 (2.7)	1 (1.6)	1
Cardiopatía isquémica	43 (23.1)	11 (17.2)	0.467
<b>Capilaroscopia</b> (Porcentajes calculados sobre total de capilaroscopias realizadas)			
Realizadas	162	48	
Patrón lento	134 (82.7)	25 (18.6)	<b>0.000</b>
Patrón activo	18 (11.1)	22 (45.8)	<b>0.000</b>
Patrón normal	10 (6.2)	1 (2)	0.298
Muertes	45 (24.2)	23 (35.9)	0.069
<b>Causas de muerte</b> (Porcentaje calculado sobre número total de muertes)			
CRE	3 (6.6)	8 (34.8)	<b>0.001</b>
EPI	2 (4.4)	4 (17.4)	<b>0.039</b>
HAP	12 (26.7)	2 (8.7)	0.529
EPI+HAP	3 (6.6)	2 (8.7)	

**Tabla 14:** Comparación entre los pacientes con el subtipo cutáneo difusa y el subtipo cutáneo limitada

ACA: Anticuerpos anticentrómero; ATA-I: Anticuerpos antitopoisomerasa; EPI: Enfermedad pulmonar intersticial difusa; CVF: Capacidad vital forzada; HAP: Hipertensión arterial pulmonar; CRE: Crisis renal esclerodérmica;

Manifestación clínica	Variable predictora	OR (IC 95%)	p
EPI	<i>ES difusa</i>	2.16 (1.43-3.27)	0.0003
	<i>ACA negativo</i>	1.55 (1.03-2.33)	0.0357
CRE	<i>ES difusa</i>	5.06 (1.20-29.71)	0.0267
HAP	-		
Esófago	<i>ACA negativo</i>	1.96 (1.13-3.39)	0.0170

**Tabla 15:** Factores predictores independientes de manifestaciones orgánicas de la Esclerodermia

**EPI:** Enfermedad pulmonar intersticial; **ACA:** Anticuerpo anticentrómero; **CRE:** Crisis renal esclerodérmica;

**HAP:** Hipertensión arterial pulmonar; **Esófago.** Afección esofágica de la esclerodermia.

## 4.2. SEGUNDO ESTUDIO

### ***CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA ESCLEROSIS SISTÉMICA ASOCIADA A ANTICUERPOS ANTI-RNA POLIMERASA III EN LA COHORTE DE HOSPITAL VALL D'HEBRON***

Los resultados obtenidos se recogen en la *Tabla 16*.

De los 175 pacientes con el anticuerpo RNAp determinado, 24 (13.7%) mostraron reactividad anti-RNA polimerasa III. En toda la cohorte el sexo femenino (151, 86.3%) fue el más frecuente. La edad global al debut de la enfermedad fue de  $40.3 \pm 15.9$  años y la edad global al diagnóstico de  $46.6 \pm 15.7$  años. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con RNAp positivo y RNAp negativo en la edad al inicio ni en la edad al diagnóstico de la enfermedad, aunque sí se observó una tendencia a un menor retraso diagnóstico en los pacientes con RNAp ( $4.6 \pm 7.5$  vs  $6.5 \pm 9$  años,  $p=0.06$ ). En cuanto al subtipo cutáneo, el grupo ES Difusa fue significativamente más frecuente en el grupo RNAp positivo (70% vs 16.6%  $p < 0.001$ ). Los pacientes con RNAp cumplieron con mayor frecuencia los criterios diagnósticos ACR/EULAR 2013 (24, 100% vs 118, 78.1%  $p < 0.01$ ).

En cuanto a la primera manifestación de la enfermedad, el FR fue menos frecuente en el grupo RNAp positivo (13, 54.2% vs 121, 80.1%  $p < 0.01$ ). Se observó una tendencia mayor a la presencia de úlceras digitales en el grupo con RNAp (15, 62.5% vs 66, 43.7%,  $p=0.08$ ), sin embargo no hubo diferencias en la presencia de FR (24, 100% vs 145, 96.7%) ni de telangiectasias (18, 75% vs 102, 67.5%).

Respecto a las afecciones viscerales, no hubo diferencias respecto a la patología digestiva en global (21, 87.5 vs 124, 82.1%), ni por separado en la esofágica (19, 79.2% vs 116, 76.8%), gástrica (7, 29.2% vs. 24, 15.9%), la presencia de ectasias vasculares antrales (2, 8.3% vs 24, 5.9%), alteración intestinal (6, 25% vs 22, 14.6%), ni hepática (2, 8.3% vs 14, 9.3%). En cuanto a la afección pulmonar tanto en la EPI (13, 54% vs 57, 37.7%) como en la HAP (4, 16.7% vs 36, 23.8%) no se encontraron diferencias significativas. Tampoco se hallaron diferencias en la afección cardíaca en ambos grupos (9, 37.5% vs 51, 47%). La CRE fue significativamente más frecuente en los pacientes con RNAp (3, 12.5% vs 3, 1.9%  $p=0.03$ ).

La prevalencia de cáncer tendió a ser mayor en el grupo con RNAp (4, 16.7% vs 12, 7.9%  $p=0.24$ ) sin llegar a la significación estadística. Tampoco hubo diferencias en cuanto a la mortalidad (2, 8.3% vs 16, 10.6%) entre ambos grupos.

El patrón capilaroscópico tipo lento de Maricq fue el más frecuente, sin encontrar diferencias entre ambos grupos (20, 83.3% vs 132, 87.4%).

Teniendo en cuenta la expresión de otros autoanticuerpos, la positividad de anti-Ro52 fue menos frecuente en los pacientes con RNAp (2, 8.2% vs. 14, 9.3%  $p=0.03$ ).

## 4 ■ RESULTADOS

	Total	RNAp +	RNA p -	P
Pacientes, n (%)	175 (100)	24 (13.7)	151 (86.3)	
<b>Subtipos de Esclerodermia</b>				
Limitada, n (%)	94 (53.7)	6 (25)	88 (58.3)	<b>&lt;0.001</b>
Difusa, n (%)	42 (24)	17 (70)	25 (16.6)	
Sine ES, n (%)	28 (16)	1 (4.2)	27 (17.9)	
Sexo (mujer), n (%)	151 (86.3)	19 (79.2)	132 (87.4)	0.334
Edad al debut de la enfermedad (años) <i>med±SD(min-max)</i>	40.3a±(15.9)	38.7±(14.2)	40.5±(16.2)	0.636
Edad al diagnóstico (años) <i>med±SD(min-max)</i>	46.6a±(15.7)	43.4±(15.8)	47.1±(15.7)	0.291
Tiempo debut-diagnóstico (años) <i>med±SD(min-max)</i>	6.2m±(8.8)	4.6250±(7.5)	6.5±(9)	0.066
<b>Primera manifestación</b>				
Fenómeno de Raynaud Vs No Raynaud, n (%)	160 (91.4)	13 (54.2)	121 (80.1)	<b>0.005</b>
Dedos en salchicha, n (%)	1 (0.6)	1 (4.2)	5 (3.5)	
Artralgia/Artritis, n (%)	17 (10.2)	6 (25.2)	10 (7)	
Esclerosis cutánea, n (%)	6 (3.5)	2 (8.4)	4 (2.6)	
Otros, n (%)	11 (6.6)	2 (1.2)		
Criterios EULAR/ACR 2013, n (%)	142 (81.1)	24 (100)	118 (78.1)	
<b>Otras manifestaciones clínicas</b>				
<i>Afección vascular periférica</i>	<i>N (%)</i>	<i>N (%)</i>	<i>N (%)</i>	
Fenómeno de Raynaud, n (%)	170 (97.1)	24 (100)	145 (96.7)	1
Úlceras digitales, n (%)	81 (46.3)	15 (62.5)	66 (43.7)	0.08
Telangiectasias, n (%)	120 (68.6)	18 (75)	102 (67.5)	0.46
<i>Musculoesqueléticas</i>	<i>N (%)</i>	<i>N (%)</i>	<i>N (%)</i>	
Calcinosis, n (%)	39 (22.3)	6 (25)	33 (21.9)	
<i>Afección digestiva</i>	<b>145 (82.9)</b>	<b>21 (87.5)</b>	<b>124 (82.1)</b>	<b>0.77</b>
Esofágica, n (%)	135 (77.1)	19 (79.2)	116 (76.8)	0.799
Gástrica, n (%)	31 (17.7)	7 (29.2)	24 (15.9)	0.147
GAVE, n (%)		2 (8.3)	9 (5.9)	0.649
Intestinal, n (%)	28 (16)	6 (25)	22 (14.6)	0.229
Malabsorción, n (%)	9 (5.2)	2 (8.3)	7 (4.7)	
Hepática, n (%)	16 (9.1)	2 (8.3)	14 (9.3)	1
<i>Afección pulmonar (EPI y/o HAP), n (%)</i>	<b>89 (50.9)</b>	<b>14 (58.3)</b>	<b>75 (49.7)</b>	<b>0.430</b>
EPI, n (%)	70 (40)	13 (54)	57 (37.7)	0.127
HAP, n (%)	40 (22.9)	4 (16.7)	36 (23.8)	0.437
<i>Neoplasia, n (%)</i>	<b>16 (9.1)</b>	<b>4 (16.7)</b>	<b>12 (7.9)</b>	<b>0.24</b>
<i>Afección cardíaca, n (%)</i>	<b>56 (32%)</b>	<b>9 (37.5)</b>	<b>51 (47%)</b>	<b>0.534</b>
Pericárdica, n (%)	15 (8.6)	3 (12.5)	12 (7.9)	0.437
Isquémica macrovascular NO FRCV, n (%)	10 (5.7)	0(0)	3 (2)	
Isquémica microvascular NO FRCV, n (%)	15 (8.6)	3 (12.5)	12 (7.9)	
Alteración en la conducción, n (%)	31 (17.7)	5 (20.9)	31 (21.7)	
Disfunción diastólica NO FRCV, n (%)	74 (42.3)		62 (41.1)	
Fibrosis miocárdica, n (%)	3 (1.7)	1 (4.2)		

	Total	RNAp +	RNA p -	P
Miocardopatía esclerodérmica, n (%)	1 (0.6)		1 (0.7)	1
<i>Afección renal</i>	<i>N (%)</i>	<i>N (%)</i>	<i>N (%)</i>	
Crisis renal esclerodérmica, n (%)	6 (3.4)	3 (12.5)	3 (1.99)	<b>0.035</b>
<b>Capilaroscopia</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	
Patrón activo, n (%)	23 (13.1)	4 (16.6)	19 (12.8)	0.527
Lento, n (%)	152 (86.6)	20 (83.3)	132 (87.4)	
<b>Resultados inmunológicos</b> (Porcentajes calculados sobre total de pacientes realizados)				
ANAs, n (%)	171 (97.7)	24 (100)	147 (97.4)	1
Antitopoisomerasa I (Scl-70), n (%)	32 (18.3)	4 (16.7)	28 (18.5)	1
Anticentromero, n (%)	57 (32.6)	0 (0)	57 (37.7)	<b>0.00</b>
Anti-U3RNP, n (%)	4 (2.3)	0 (0)		
Anti-RNP, n (%)	5 (2.9)	0 (0)	5 (3.3)	
Anti-Ku, n (%)	2 (1.1)	0 (0)	2 (1.3)	1
Anti-Ro 52, n (%)	16 (9.1)	2 (8.3)	14 (9.3)	<b>0.03</b>
Anti-La, n (%)	2 (1.1)	0 (0)	2 (1.3)	
Anti-Sm, n (%)	1 (0.6)	0 (0)	1 (0.7)	1
Anticoagulante lúpico, n (%)	8 (4.6)	0 (0)	8 (5.3)	
Anti-tiroideos, n (%)	31 (17.7)	1 (4.2)	30 (19.9)	
AMA, n (%)	16 (9.1)	2 (8.3)	14 (9.3)	
ANCA, n (%)	6 (3.4)	0 (0)	6 (4)	
Jo-1, n (%)	1 (0.6)	0 (0)	1 (0.7)	
Factor reumatoide, n (%)	45 (25.7)	3 (12.5)	42 (27.8)	
Péptido citrulinado, n (%)	4 (2.3)	1 (4.2)	3 (2)	
<b>Muertes, n (%)</b>	<b>19 (10.9)</b>	<b>3 (12.5)</b>	<b>16 (10.6)</b>	<b>0.72</b>
<i>Relacionadas con la ES, n (%)</i>	<i>N (%)</i>	<i>N(%)</i>	<i>N (%)</i>	
EPI, n (%)	3 (1.7)	0 (0)	3 (2)	
HAP, n (%)	3 (1.7)	1 (4.2)	2 (1.3)	
HP+EPI, n (%)	4 (2.3)	1 (4.2)	3 (2)	
Otros, n (%)	9 (5.1)	1 (4.2)	8 (5.3)	

**Tabla 16:** Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con ES en función de la positividad para el anticuerpo anti-RNA polimerasa III

**GAVE:** Ectasias vasculares del antro gástrico; **EPI:** Enfermedad pulmonar intersticial;  
**HAP:** Hipertensión arterial pulmonar; **FEVI:** Fracción de eyección del ventrículo izquierdo;  
**FRCV:** factor de riesgo cardiovascular,

### 4.3. TERCER ESTUDIO

#### **ANTICUERPOS AntiSSa/Ro52 EN ESCLERODERMIA. RESULTADOS DE UN ESTUDIO OBSERVACIONAL Y TRANSVERSAL**

De una cohorte de 408 pacientes con ES, se seleccionaron un total de 132 pacientes a los que se les había determinado el anticuerpo antiSSa/Ro52. Ciento quince (87.1%) de estos pacientes eran mujeres y 17 (12.9%) hombres. Sesenta y ocho (51.5%) tenían el subtipo cutáneo ES limitada, 25 (18.9%) ES difusa, 9 (6.8%) pre-ES y 30 (22.7%) ES sine ES (*Tabla 17*). La prevalencia de pacientes con antiSSa/Ro52 fue 35.6%.

No se encontraron diferencias significativas entre pacientes con antiSSa/Ro52 positivo y antiSSa/Ro52 negativo ni en las características demográficas ni en las clínicas (*Tabla 17*). La mayoría de pacientes tenía un patrón capilaroscópico lento (63.6%), independientemente de la presencia/ausencia de anticuerpos antiSSa/Ro52 (OR 0.58, 95% CI 0.16–2.08,  $p=0.401$ ).

Se detectaron ANA en el 93.1% del total de pacientes analizados (*Tabla 18*). Los títulos más elevados de ANA encontrados fueron 1/2560 en el 3.6% de 84 pacientes antiSSa/Ro52 negativo, seguidos por un título de ANA 1/1280 (10.6% de 47 pacientes antiSSa/Ro52 positivo y 4.8% de 84 pacientes antiSSa/Ro52 negativo). Aproximadamente la mitad de pacientes analizados en cada grupo tenía títulos ANA 1/640 (53.2% de pacientes antiSSa/Ro52 positivo y 42.9% de pacientes antiSSa/Ro52 negativo). En total, los títulos de ANA no fueron diferentes estadísticamente entre ambos grupos ( $p=0.591$ ) (*Tabla 18*). El patrón de IFI en las células Hep2 se analizó en 118 del total de pacientes (*Tabla 18*). La mayoría de los pacientes presentaba un patrón centromérico (50% de 42 pacientes antiSSa/Ro52 positivo y 27.6% de 76 pacientes antiSSa/Ro52 negativo) y un patrón moteado (38.1% de pacientes antiSSa/Ro52 positivo y 50% de pacientes antiSSa/Ro52 negativo). No se encontraron diferencias significativas en el patrón moteado sobre las células Hep2 entre ambos grupos ( $p=0.149$ ).

La *Tabla 19* muestra el porcentaje de pacientes con anticuerpos específicos asociados con ES. Los anticuerpos ACA estaban presentes en el 44.8%, ATA-I en 19%, anti-RNP en 2.2%, anti-Ro60 en 10.5%, anti-La 1.2% y anti-PmScl en 3.4% de los pacientes. Según la presencia de antiSSa/Ro52, 61.9% de pacientes presentaban ACA y antiSSa/Ro52 simultáneamente, mientras que de los pacientes antiSSa/Ro52 negativos el porcentaje de ACA positivos era 35.1%, siendo la odds ratio tres veces mayor en el grupo de pacientes con antiSSa/Ro52 (OR 3.0, 95% IC 1.37-6.57,  $p=0.05$ ). Diez pacientes presentaban anticuerpos antiSSa/Ro52 en ausencia de ATA-I, ACA o RNP; este subgrupo de pacientes no tenía ninguna asociación estadística con ninguna manifestación clínica, aunque sí mostraban una tendencia elevada a presentar miopatía inflamatoria ( $p=0.056$ ). Adicionalmente, la OR de tener anticuerpos antiSSa/Ro60 fue 25.2 veces mayor en el grupo de pacientes con antiSSa/Ro52 positivo (OR 25.2, 95% CI 3.1– 203.7,  $p < 0.001$ ). Por otro lado, encontramos que la OR de tener anticuerpos ATA-I era mayor en el grupo de pacientes antiSSa/Ro52 negativo, aunque este resultado no alcanzó significado estadístico (OR 0.36, 95% CI 0.11–1.14,  $p=0.074$ ). El porcentaje de pacientes que presentaban anticuerpos anti-RNP, anti-La (SSB) o anti-PM-Scl era muy bajo en ambos grupos de pacientes (*Tabla 19*).

	Total	AntiSSA/Ro52 positivo	AntiSSA/Ro52 negativo	OR (95%IC)	p
Pacientes, n (%)	132	47 (35.6)	85 (64.4)		
Edad, media(años)±SD		59.63±15.41	56.15±14.37	0.99 (0.96-1.01)	0.197
Sexo (mujer), n (%)	115 (87.1)	42 (89.4)	73 (85.3)	0.72 (0.24-2.20)	0.568
<b>Subtipo cutáneo</b>					0.104
Limitada, n (%)	68 (51.5)	31 (66)	37 (43.5)		
Difusa, n (%)	25 (18.9)	6 (19)	19 (22.4)		
Pre-Esclerodermia, n (%)	9 (6.8)	2 (4.3)	7 (8.2)		
Sine Esclerodermia, n (%)	30 (22.7)	8 (17)	22 (25.9)		
Tiempo desde el debut de la ES <i>media (años) ±SD</i>		16.61±11.85	16.46±12.18	1.00 (0.97-1.03)	0.947
Tiempo desde el diagnóstico de la ES <i>media(años) ±SD</i>		9.3±6.78	8.76±7.35	1.00 (0.94-1.04)	0.685
<b>Manifestaciones clínicas</b>					
<i>Manifestaciones vasculares</i>					
Fenómeno de Raynaud, n (%)	124 (94)	43 (91.5)	81 (95.3)	1.88 (0.45-7.91)	0.380
Úlceras digitales, n (%)	55 (41.6)	18 (38.3)	37 (43.5)	1.24 (0.60-2.57)	0.559
<i>Musculoesqueléticas</i>					
Artralgia, n (%)	64 (48.5)	22 (46.8)	42 (49.4)	1.11 (0.54-2.27)	0.774
Artritis, n (%)	19 (14.4)	7 (14.9)	12 (14.1)	0.94 (0.34-2.57)	0.903
MNI, n (%)	9 (6.8)	4 (8.5)	5 (5.9)	0.67 (0.17-2.63)	0.566
MI, n (%)	8 (6.0)	2 (4.3)	6 (7.1)	1.71 (0.33-8.82)	0.518
<i>Digestivas</i>					
Esófago, n (%)	73 (55.3)	25 (53.2)	48 (56.5)	1.14 (0.56-2.34)	0.717
CBP, n (%)	3 (2.3)	2 (4.3)	1 (1.2)	0.27 (0.02-3.03)	0.256
<i>Cardiopulmonares</i>					
EPI, n (%)	44 (33.3)	15 (31.9)	29 (34.1)	1.1 (0.52-2.36)	0.797
HAP, n (%)	22 (16.6)	5 (10.6)	17 (20)	2.1 (0.72-6.12)	0.167
Disfunción cardíaca, n (%)	49 (37.1)	16 (34)	33 (38.8)	1.23 (0.58-2.59)	0.586
<i>Renales</i>					
Disfunción renal, n (%)	3 (2.3)	1 (2.1)	2 (2.4)	1.11 (0.1-12.56)	0.934
CRE, n (%)	2 (1.5)	1 (2.1)	1 (1.2)	0.54 (0.03-8.96)	0.668
Síndrome seco, n (%)	36 (27.3)	15 (31.9)	21 (24.7)	0.7 (0.3-1.54)	0.373
Patrón capilaroscópico lento, n (%)	84 (63.6)	30 (83.3)	43 (89.6)	0.58 (0.16-2.08)	0.401

**Tabla 17:** Características demográficas y clínicas. Comparación entre pacientes antiSSa/Ro52 positivos y antiSSa/Ro52 negativos

**MNI:** Miopatía no inflamatoria; **MI:** Miopatía inflamatoria; **CBP:** Cirrosis biliar primaria; **EPI:** Enfermedad pulmonar intersticial; **HAP:** Hipertensión arterial pulmonar; **CRE:** Crisis renal esclerodérmica.

	Total	AntiSSA/Ro52 positivos	AntiSSA/Ro52 negativos	p
<b>Títulos ANA (1/x), n(%)</b>	131	47	84	0.591
0		3 (6.4)	6 (7.1)	
40		1 (2.1)	4 (4.8)	
80		1 (2.1)	5 (6)	
120		0 (0)	1 (1.2)	
160		5 (10.3)	13 (15.5)	
320		7 (14.9)	12 (14.3)	
640		25 (53.2)	36 (42.9)	
1280		5 (10.6)	4 (4.8)	
2560		0 (0)	3 (3.6)	
<b>Inmunofluorescencia (IFI), n</b>	118	42	76	0.149
Centromérico, n (%)		21 (50)	21 (27.6)	
Homogéneo, n (%)		2 (4.8)	5 (6.6)	
Moteado, n (%)		16 (38.1)	38 (50)	
Nucleolar, n (%)		3 (7.1)	6 (7.9)	
Homogéneo y moteado, n (%)		0 (0)	5 (6.6)	
Nucleolar y moteado, n (%)		0 (0)	1 (1.3)	

**Tabla 18:** Títulos de ANA y patrón de inmunofluorescencia. Comparación entre pacientes anti-SSA/Ro52 positivos y pacientes anti-SSA/Ro52 negativos

	Total	Anti-SSA/Ro52 positivos n(%)	Anti-SSA/Ro52 negativos n (%)	OR (95%IC)	p
Pacientes, n	132	47	85		
ACA, n Positivo, n(%)	116 52 (44.8)	42 26 (61.9)	74 26 (35.1)	3.0 (1.37-6.57)	<b>0.05</b>
ATA-I Positivo, n(%)	116 22 (19)	40 4 (10)	76 18 (23.7)	0.36 (0.11-1.14)	0.074
U1-RNP, n Positivo, n(%)	104 2 (2.2)	40 2(5)	64 0 (0)	Fisher's exact test	0.146
Ro, n Positivo, n(%)	114 12 (10.5)	42 11 (26.2)	72 1 (1.4)	25.2 (3.1-203.7)	<b>&lt;0.001</b>
La, n Positivo, n(%)	114 2 (1.2)	42 1 (2.4)	72 1 (1.4)	1.7 (0.12-28.4)	0.697
PmScl, n Positivo, n(%)	58 2 (3.4)	17 1 (5.9)	41 1 (2.4)	2.5 (0.15-42.4)	0.513

**Tabla 19:** Porcentajes de pacientes con anticuerpos específicos asociados a esclerodermia. Comparación entre pacientes anti-SSA/Ro52 positivos y pacientes anti-SSA/Ro52 negativos





# DISCUSIÓN



El presente estudio pretende demostrar la importancia del perfil inmunológico de los pacientes con ES y su utilidad como herramienta predictora del curso de la enfermedad y de su pronóstico.

Se han definido las características clínicas y epidemiológicas para cada perfil serológico, estableciéndose una asociación entre los anticuerpos y determinadas complicaciones orgánicas.

Para el desarrollo de los objetivos del presente trabajo se han llevado a cabo 3 estudios diferentes en una serie histórica de pacientes con ES atendidos en el servicio de Medicina Interna del Hospital Vall d'Hebron de Barcelona. El trabajo se centra en los tres anticuerpos considerados más específicos de la enfermedad: ACA, ATA-I y RNAP, cuya detección en suero ha sido incluida como ítem en los últimos criterios de clasificación de la ES consensuados por el grupo EULAR y de la ACR en 2013 con un valor de 3 puntos. Además, se ha valorado el papel del anticuerpo anti-Ro52, presente en múltiples enfermedades autoinmunes y cuya influencia en la patología de la ES todavía es poco conocida.

En un primer estudio, tras realizar un estudio descriptivo de las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes divididos según el tipo de anticuerpo, por un lado y, según el subtipo cutáneo por otro, se ha utilizado un análisis multivariable para identificar cuál es el mejor predictor de la clínica y curso de la enfermedad: el perfil inmunológico o la extensión cutánea.

Los resultados obtenidos han confirmado en nuestra serie, de forma concordante con lo previamente reportado, que el perfil inmunológico del paciente con ES tiene gran valor para predecir el curso de la enfermedad así como el tipo y gravedad de la afección cutánea y orgánica, si bien el subtipo cutáneo ha de tenerse siempre en cuenta ya que es evidente su influencia en la clínica, evolución y pronóstico de los pacientes con ES.

En un segundo lugar, se ha evaluado el anticuerpo RNAP, cuya detección sólo se puede realizar en un número reducido de centros especializados, lo que limita significativamente

su estudio. Hasta hace poco tiempo, el único método para identificar los RNAp era mediante inmunoprecipitación, una técnica dificultosa para realizar de forma rutinaria. Recientemente se ha desarrollado un método ELISA para estos anticuerpos, con una alta sensibilidad y especificidad, que ha facilitado su detección y, con ello, la posibilidad de llevar a cabo estudios sobre la implicación en la clínica y pronóstico en los pacientes con ES que los presentan.

Los resultados de nuestro estudio son acordes a los observados previamente y confirman la asociación de los RNAp con el subtipo cutáneo difusa y con una mayor incidencia de CRE. En nuestra cohorte la prevalencia de los anticuerpos RNAp ha sido mayor en comparación a la observada en otros estudios con cohortes similares: raza predominantemente caucásica y área geográfica similar.

Finalmente, se ha valorado el papel del anticuerpo Ro52 en la ES, hasta ahora poco conocido, cuya presencia se solapa a la de otros autoanticuerpos en la mayor parte de ocasiones y del que hay controversia si presenta una asociación independiente con enfermedades autoinmunes. Se ha demostrado que los anticuerpos antiSSa/Ro52 se encuentran con frecuencia en pacientes diagnosticados de ES incluso en la ausencia de ACA o ATA-I, y no hemos encontrado en nuestra serie relación entre estos anticuerpos y manifestaciones clínicas determinadas.

Para discutir los principales resultados obtenidos en estos estudios se ha dividido la discusión en tres apartados para facilitar su lectura.

### **Patrón clínico en función del subtipo cutáneo y el perfil inmunológico ATA-I y ACA en Esclerodermia.**

En el primer estudio, se han analizado las características de los pacientes en función del subtipo cutáneo, según los subtipos definidos en la clasificación de LeRoy y Medsger modificada (ES difusa, ES limitada, ES sine ES), y en función del anticuerpo aislado, (ACA y ATA-I). Para identificar el mejor predictor del patrón clínico, se comparó en un análisis multivariable

el peso de la contribución del perfil serológico y de los principales subtipos cutáneos (ES limitada y difusa) en las afecciones orgánicas más importantes.

En nuestra serie de 319 pacientes sólo un 67.1% de pacientes cumplían los criterios de clasificación de la ACR 1980 <sup>32</sup>, como ya se ha objetivado en otros registros <sup>213,214</sup>, confirmando la falta de sensibilidad de estos criterios preliminares que excluyen con frecuencia pacientes con expresión precoz o leve de la enfermedad. Esta falta de sensibilidad de los criterios de la ACR 1980 es lo que motivó la definición de los nuevos criterios publicados en el 2013, posteriores a la realización de este estudio.

### **Patrón clínico en función del anticuerpo:**

La proporción de pacientes que presentaban cada anticuerpo ha sido de 39.5% para ACA y 16.9% para ATA-I, similar a otras publicadas en la literatura <sup>42,46,215</sup>. El anticuerpo más frecuente fue el ACA, hecho esperable dado el mayor predominio de ES limitada y la clara relación entre este anticuerpo y el subtipo cutáneo limitada. Menos de un 1% de pacientes con ACA presentó el subtipo difusa.

En el grupo ATA-I positivo, sin embargo, a pesar de una clara predominancia del subtipo cutáneo difusa, aproximadamente el 30% de pacientes tenía ES limitada, un porcentaje similar al observado en otras series <sup>46,153,154,213</sup>. Esto sugiere la existencia de otros factores aparte del tipo de anticuerpo que influyen en el grado de afección cutánea.

No se encontraron diferencias en la edad media al debut de la enfermedad entre los pacientes ACA y ATA-I positivos, sin embargo los pacientes del grupo ATA-I eran más jóvenes en el momento del diagnóstico que los pacientes con ACA. Por tanto, el intervalo de tiempo entre el debut de la enfermedad y el diagnóstico fue más corto para los pacientes que presentaban ATA-I que para los ACA positivos. Este hecho probablemente se relaciona con el mayor porcentaje de pacientes con subtipo cutáneo difusa en el grupo ATA-I positivo, que presentan un endurecimiento cutáneo más precoz, como ya se ha descrito en estudios previos <sup>43,46,153</sup>.

## 5 ■ DISCUSIÓN

El subgrupo ACA positivo presenta con más frecuencia FR, sin embargo la complicación en forma de úlceras vasculares fue menos prevalente en este grupo que en el ATA-I positivo, como ya se objetivó en series previas donde el anticuerpo ATA-I se asoció estrechamente con una afección vascular digital más grave <sup>42,46,151</sup>.

También la clínica osteomuscular, al igual que en cohortes previas <sup>46,151,213,216</sup>, fue claramente más frecuente en los pacientes con ATA-I, en quienes incluso puede ser la forma de debut de la enfermedad. El subgrupo de pacientes con ATA-I fue el único donde se encontraron pacientes con roces tendinosos, atribuidos característicamente al subtipo cutáneo difusa <sup>46,111,217</sup>.

Respecto a las afecciones orgánicas, la esofágica, predominantemente en forma de dismotilidad esofágica, se ha encontrado en el 48% de los pacientes ACA positivos. Este porcentaje es más bajo que el de otras cohortes publicadas donde oscila entre el 59 y el 70% <sup>46,151,216</sup> pero similar al de otras series <sup>43</sup>. En nuestra serie la afección esofágica fue claramente más frecuente en los pacientes con ATA-I que en pacientes con ACA (69.1% vs 48%,  $p=0.009$ ). También en el grupo RESCLE la prevalencia de patología esofágica fue más alta en el grupo de pacientes ATA-I positivos, pero sin alcanzar la significación estadística <sup>213</sup>. Este resultado, sin embargo, no se reproduce en otros estudios previos donde el porcentaje tiende a ser mayor en el grupo ACA positivo, si bien la diferencia tampoco llega en ninguno de ellos a la significación estadística <sup>43,46,151,216</sup>. Este hallazgo podría explicarse por el hecho de que en nuestro centro se solicita un estudio mediante manometría esofágica a la mayor parte de pacientes en el momento del diagnóstico, independientemente de que tengan o no síntomas, que podría diagnosticar alteraciones esofágicas incipientes.

No encontramos diferencias en la frecuencia de HAP aislada en el grupo con ACA positivo respecto al grupo con ATA-I, a pesar de que la presencia de ACA se considera un factor predictor del desarrollo de HAP <sup>151,218</sup>. Sin embargo, sí hubo una tendencia no significativa en la asociación entre ACA y HAP aislada, por un lado, y entre ATA-I y HAP asociada con fibrosis pulmonar, por otro. El grupo EUSTAR en su estudio de una larga cohorte multicéntrica con

3656 pacientes, sí encontró una clara prevalencia de HAP aislada en el grupo ACA positivo y de HAP+EPI en el grupo ATA-I positivo <sup>44</sup>. El grupo RESCLE, sin embargo, también evaluó la HAP aislada en ambos grupos, sin encontrar diferencias significativas <sup>43</sup>.

El rasgo distintivo de los pacientes ATA-I positivos es la EPI grave <sup>42,46</sup>. En consonancia con resultados de cohortes previas, en nuestra serie los pacientes con ATA-I presentaron con mayor frecuencia EPI (75.9%) y también fue claramente más prevalente la EPI grave en este subgrupo (24.5%).

Como dato a destacar, ninguno de los pacientes del grupo ACA positivo desarrollaron CRE. Merece la pena mencionar que en la mayor parte de enfermos de la serie que desarrollaron CRE no se aisló ningún anticuerpo específico de los cuatro que se podían determinar en ese momento en nuestro laboratorio (ACA, ATA-I, U1-RNP y Pm-Scl). De estos, la mayoría presentaban el subtipo cutáneo difuso y tenían un patrón en inmunofluorescencia moteado o nucleolar, por lo que sería lógico pensar que gran parte de ellos podrían presentar el anticuerpo RNAP, no determinado en nuestra serie, asociado clínicamente con afección cutánea muy extensa y mayor riesgo de crisis renal <sup>167</sup>.

En este estudio no se confirmó una mayor mortalidad en el subgrupo de pacientes con ATA-I respecto a los ACA positivos. Respecto a las causas de la muerte relacionadas directamente con la ES, sólo se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos en los fallecimientos por CRE, que fue la causa más frecuente de muerte en los pacientes con ATA-I.

Hamaguchi *et al* evaluaron las causas de muerte de una serie japonesa según el perfil inmunológico: 11 pacientes con ATA-I fallecieron, de los cuales en 6 la causa de la muerte fue secundaria a EPI y en 3 a CRE; y sólo 2 pacientes con ACA fallecieron, uno de ellos a consecuencia de HAP y el otro por causa desconocida <sup>219</sup>.

Un punto interesante a destacar es que de los pacientes con ATA-I a los que se les había realizado un estudio capilaroscópico, 63% tenían un patrón lento, con un patrón activo

únicamente en el 28%, cuando clásicamente este anticuerpo se asocia con pérdida capilar <sup>220,221</sup>. De los pacientes que presentaban ATA-I y patrón activo en la capilaroscopia fallecieron el 50%, mientras que de los que presentaban este anticuerpo y un patrón lento lo hicieron el 21.4%. Ningún paciente con capilaroscopia estrictamente normal falleció. No hay estudio estadístico de este subanálisis pero, a raíz de estos resultados, considero un punto interesante para próximas investigaciones determinar la posible relación entre el patrón capilaroscópico y el pronóstico y evolución de la ES en los diferentes subtipos inmunológicos.

Simeón *et al* ya habían demostrado un peor pronóstico en pacientes con patrón activo, con unas cifras de mortalidad del 48% en pacientes con este patrón frente al 9% en pacientes con patrón lento. En su estudio, sin embargo, no se pudo determinar que el patrón capilaroscópico fuese un factor pronóstico independiente de mortalidad <sup>116</sup>.

A modo de síntesis se resumen las asociaciones clínicas más relevantes de cada anticuerpo estudiado: en nuestra serie se ha encontrado una asociación del ACA con el subtipo limitado de la enfermedad, pero no con un riesgo aumentado de desarrollar alguna complicación orgánica específica; los anticuerpos ATA-I, por el contrario, se asocian claramente con EPI, mayor afección osteomuscular con presencia de roces tendinosos y riesgo aumentado de presentar úlceras vasculares.

### **Patrón clínico según subtipo cutáneo:**

La distribución de pacientes de la cohorte según subtipo cutáneo fue la siguiente: 58.3% tenían ES limitada, 20% ES difusa, 14.7% ES sine ES y 7% pre-ES. Estos resultados se corresponden con los obtenidos en otras series de la literatura <sup>5,43,151,222,223</sup>, en las que el subtipo ES limitada también era más prevalente que el subtipo ES difusa.

La categorización por subtipos cutáneos en nuestra cohorte demostró una similar eficacia que la categorización por anticuerpos para determinar las características epidemiológicas y la prevalencia de las manifestaciones orgánicas (*Tablas 12, 13 y 14*), si bien se han encontrado las siguientes diferencias:

- Hemos encontrado que la presencia de ATA-I, más que el subtipo ES difusa, se asocia con una mayor incidencia de afección esofágica; el subtipo ES limitada, y no el anticuerpo ACA, se asoció con una mayor prevalencia de HAP aislada, y el subtipo ES difusa presentó una mayor incidencia de muertes secundarias a EPI (*Tablas 12 y 14*).
- La edad media al debut de la enfermedad fue más elevada en el subtipo ES limitada que en ES difusa, en el límite de la significación estadística ( $p=0.05$ ). Sin embargo, entre los grupos ACA y ATA-I no hubo diferencias significativas.
- Además, aunque no se encontraron diferencias estadísticas, hubo una tendencia a presentar más EPI grave en el grupo ATA-I que en el grupo ES difusa. El grupo canadiense, en el estudio en el que comparaba los 4 subgrupos de pacientes en función del subtipo cutáneo (ES limitada o difusa) y del anticuerpo (ATA-I o ACA), encontró una menor CVF en los pacientes con ATA-I; observaron que la CVF <70% era más frecuente en los grupos ATA-I+ES difusa y ATA-I+ES limitada (27.5% y 11.1%, respectivamente), que en los grupos ACA+ES difusa y ACA +ES limitada (7.2% y 6.4%, respectivamente)<sup>206</sup>.

También el subtipo ES difusa presentó mayor tendencia a desarrollar úlceras digitales que el grupo ATA-I positivo (78.1% vs 59.3%). El grupo RESCLE, en su estudio de una cohorte de 1326 pacientes con ES, de los que 552 habían presentado úlceras digitales en algún momento de su enfermedad, encontró que el subtipo ES difusa era un factor independiente predictor del desarrollo de úlceras digitales<sup>224</sup>. En el estudio multivariable del grupo EUSTAR, sin embargo, el factor independiente de más peso predictor de úlceras digitales fue el anticuerpo ATA-I<sup>151</sup>.

Nuestro estudio ha podido demostrar, por tanto, que la categorización en función de la presencia de anticuerpos ATA-I o ACA fue casi tan eficiente como la categorización según el subtipo cutáneo ES difusa y ES limitada, para predecir la frecuencia de las manifestaciones clínicas de la ES y sus características epidemiológicas.

### **Análisis multivariable:**

En el análisis multivariable para las principales complicaciones orgánicas de la ES encontramos que el perfil serológico y el subtipo cutáneo predecían de forma independiente el desarrollo de 2 manifestaciones viscerales cada uno.

De nuestros resultados se obtiene que el subtipo difusa favorece importantes complicaciones orgánicas como la EPI y la CRE.

Estos hallazgos son muy similares a los obtenidos en los principales estudios previos: Tanto en el estudio realizado por el grupo EUSTAR como en el estudio del grupo RESCLE el subtipo cutáneo difusa también fue el principal factor independiente predictor de CRE <sup>43,151</sup>.

Por el contrario, a diferencia de nuestros resultados, en el estudio multivariable del EUSTAR, el primer factor predictor de la fibrosis pulmonar fue el anticuerpo ATA-I y no el subtipo difusa. Hay que recalcar que en su cohorte analizan de forma separada la fibrosis pulmonar y el trastorno respiratorio restrictivo. Este último podría ser un indicador indirecto de EPI y su principal factor predictor encontrado en el análisis sí fue el subtipo difusa <sup>153</sup>.

En los resultados del grupo RESCLE el factor independiente de mayor peso para la presencia de EPI fue el ser ACA negativo, seguido del subtipo difusa y, en tercer lugar, de la presencia de ATA-1.

El anticuerpo ACA también fue en nuestra cohorte un factor protector independiente del desarrollo de EPI, al igual que en los estudios de los grupos EUSTAR y RESCLE <sup>43,151</sup>.

Respecto a la afección esofágica sí que hay diferencias entre los resultados obtenidos en los 3 grupos: en nuestra serie el ser ACA negativo fue un factor predictor independiente para esta manifestación al igual que en el grupo RESCLE, si bien, para este grupo tuvo más peso el subtipo cutáneo ES difusa. En el grupo EUSTAR no encontraron ningún factor independiente asociado a la afección esofágica.

No encontramos ningún factor ni cutáneo ni inmunológico que prediga de forma independiente el desarrollo de HAP. Estos mismos resultados se observaron en el estudio del grupo RESCLE <sup>213</sup>. En el análisis del grupo EUSTAR, sin embargo, el ACA fue un factor predictor de HAP aislada y el ATA-I de HAP asociada a EPI(151).

Por tanto, tras el análisis multivariable se llega a la conclusión que los anticuerpos reflejan la historia natural y las afecciones orgánicas principales de la ES de una forma similar al subtipo cutáneo, coincidiendo con los resultados obtenidos en estudios de grupos previos <sup>151,213</sup>.

Parece, sin embargo, que algunos patrones serológicos favorecen determinadas e importantes afecciones viscerales. Así, según los resultados encontrados, los pacientes con el subtipo limitada que no presentan ACA podrían tener una mayor posibilidad de desarrollar EPI o afección esofágica que los pacientes con subtipo limitada y ACA positivos.

De esta manera se sugiere que probablemente los anticuerpos puedan ayudar a predecir el pronóstico de los diferentes enfermos dentro de los subgrupos cutáneos. Bajo esta premisa, Steen ya propuso hace unos años en un trascendental artículo que la ES se debería considerar como 7 enfermedades diferentes según el anticuerpo presentado, basándose en las diferentes características de los enfermos dentro de los grupos ES limitada y difusa en función del perfil serológico.

A modo de sumario, nuestro análisis demuestra que el perfil inmunológico del paciente con ES tiene gran valor para predecir el curso de la enfermedad pero lo hace de forma similar al subtipo cutáneo.

Se confirma la importancia de clasificar a los pacientes según el subtipo cutáneo debido a su asociación con afecciones viscerales determinadas. Los anticuerpos pueden definir, dentro de cada subtipo, características epidemiológicas y clínicas determinadas, prediciendo el tipo y gravedad de la afección cutánea y orgánica, como ya describió Steen en 2007 <sup>46</sup>.

Por tanto, concluimos que el subtipo cutáneo y el perfil serológico se deben usar de forma combinada para la evaluación del paciente.

### **Características clínicas de la ES asociada a anticuerpos anti-RNA polimerasa III en la cohorte del Hospital Vall d'Hebron.**

El presente estudio tiene como finalidad establecer la prevalencia del anticuerpo RNAP en una larga cohorte de pacientes con ES, y describir las características clínicas y demográficas de los enfermos con positividad para este anticuerpo.

Se ha encontrado una elevada prevalencia del anticuerpo RNAP en la cohorte de pacientes estudiada, muy probablemente debido a que inicialmente se acotaba la determinación de éste a aquellos pacientes con ES que eran ACA y ATA-I negativos. Hemos confirmado la asociación del RNAP con el subtipo cutáneo difusa y el desarrollo de CRE, en consonancia con los resultados de otras series previamente publicados <sup>46,111,124,163,164</sup>.

El anticuerpo RNAP, a pesar de ser el tercero en frecuencia en los pacientes con ES, no se puede determinar de forma habitual en los laboratorios, por lo que su estudio está limitado a centros especializados que disponen de los test diagnósticos específicos. Por este motivo, su perfil clínico y epidemiológico no está ampliamente estudiado. Sí existe un consenso global en la asociación de los RNAP con el subtipo cutáneo difuso y la CRE, pero hay discrepancias sobre su prevalencia y otras asociaciones clínicas.

La prevalencia de RNAP en la literatura es muy variable y oscila entre 0 y 41% <sup>225</sup>. Las hipótesis para explicar esta heterogeneidad apuntan al origen geográfico, el tipo de test diagnóstico utilizado y las características basales de la ES.

En un metanálisis realizado recientemente por un grupo francés, se describió una prevalencia global de RNAP del 11% y, por origen geográfico, mientras que en los grupos de Estados Unidos se encontró el anticuerpo en un 14% de los pacientes, en los grupos europeos este porcentaje fue del 9% <sup>225</sup>. En nuestra cohorte la prevalencia fue de 13.7%, más elevada, por tanto, que la encontrada en otros grupos europeos. Como ya se ha comentado previamente, probablemente este resultado tiene el sesgo de que las determinaciones de

RNAP, inicialmente, sólo se realizaron en aquellos pacientes que eran negativos para ACA y ATA-I, basándonos en la premisa de que los anticuerpos en la ES son excluyentes entre sí.

Todos estos datos evidencian una alta prevalencia de RNAP en los pacientes con ES, apoyando el beneficio de incluir de forma sistemática un test de detección del anticuerpo para aquellos enfermos que presenten negatividad para ACA y ATA-I.

En nuestra cohorte, como en todas las previas, hubo un claro predominio del sexo femenino en los pacientes RNAP positivos (79.2%). Aunque este porcentaje fue menor que en los pacientes RNAP negativos, no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos. Tampoco hubo diferencias en la edad al inicio de la enfermedad ni en la edad al diagnóstico respecto al grupo de RNAP negativos (*Tabla 16*).

Emilie *y cols*, sin embargo, sí encontraron en su serie que los pacientes RNAP positivos eran mayores que los enfermos que presentaban otros anticuerpos <sup>169</sup>.

Como era esperable, todos los pacientes con RNAP cumplieron los criterios de la ACR/EULAR de 2013, con una diferencia significativa respecto al grupo de enfermos RNAP negativos (100% vs 78%, respectivamente;  $p=0.005$ ). Esto se podría explicar porque el subtipo cutáneo difusa fue significativamente más frecuente en el grupo RNAP positivo (70% vs 16.6%,  $p < 0.001$ ), como ya se viene observando en series previas <sup>76,111,128,169</sup>. En un estudio multivariable realizado hace unos años por un grupo francés se encontró que los RNAP eran un factor pronóstico independiente para desarrollar una afección cutánea difusa <sup>169</sup>. Se considera que los pacientes con este anticuerpo son los que desarrollan una afección cutánea más grave <sup>46</sup>. Así, Patterson *et al* en un reciente estudio de una cohorte australiana encontraron que los pacientes con RNAP eran los que presentaban un mRSS más elevado <sup>216</sup>.

El FR fue menos frecuente como primer síntoma de la enfermedad en el grupo RNAP positivo que en el RNAP negativo con una significación estadística (54.2 vs 80.1%, respectivamente,

$p < 0.001$ ). Por el contrario, en los pacientes del grupo con RNAP el debut de la enfermedad en forma de síntomas articulares y esclerosis cutánea fue más habitual. Steen también hace referencia a una elevada frecuencia en los enfermos con ES y RNAP de artritis, túnel carpiano o edema de manos y pies, que aparecen a menudo en ausencia de FR <sup>111</sup>.

Se observó una mayor tendencia a presentar úlceras digitales en el grupo con RNAP, sin llegar a una diferenciación estadística (15, 62.5% vs. 66, 43.7%,  $p=0.08$ ). Patterson *et al* también encontraron una frecuencia elevada de úlceras digitales en los pacientes RNAP positivos, similar a la que presentaban los pacientes con ATA-I de su cohorte <sup>216</sup>. En la serie de Steen <sup>46</sup>, sin embargo, los pacientes con RNAP eran, después de los Th/To positivos, los que presentaron menor incidencia de úlceras digitales.

Hay múltiples estudios que demuestran una asociación entre los anticuerpos RNAP y el desarrollo de CRE <sup>82,111,160,166,226</sup>. También en nuestra serie el compromiso renal en forma de CRE fue significativamente más frecuente en los pacientes con RNAP (3, 12.5% vs 3, 1.9%;  $p=0.03$ ). Se observó, además, que de los 6 pacientes de la cohorte completa que desarrollaron CRE, la mitad presentaban RNAP. Estos resultados son similares a los descritos en algunas series previas como la Japonesa, en la que la frecuencia de CRE en pacientes con RNAP positivo era de 24% frente a un 1% en los pacientes RNAP negativos <sup>85</sup>, o la sueca, en la que se encontró que 7 de los 16 pacientes que habían presentado CRE eran RNAP positivos <sup>226</sup>. En otras series, sin embargo, el porcentaje de CRE en los pacientes con positividad para RNAP fue más elevado, como en USA (28%) <sup>111</sup>, Francia (38% y 31%(160;169)) y UK (29.4%) <sup>164</sup>.

Nuestro estudio confirma, por tanto, que la presencia de RNAP es altamente predictiva del desarrollo de CRE.

La CRE es una de las complicaciones más graves de la ES y ocurre frecuentemente en los primeros años de desarrollo de la enfermedad. A pesar de que no hay posibilidad de

prevenirla, es fundamental seleccionar a aquellos pacientes con mayor riesgo de desarrollarla para monitorizar de forma más estricta su función renal y tensión arterial. El diagnóstico y tratamiento precoz con IECAs en pacientes con CRE es vital, ya que la medicación es más efectiva cuanto más pronto es administrada, y siempre antes de que el paciente desarrolle un deterioro grave de la función renal <sup>226</sup>.

Hay que recalcar que, desafortunadamente, a pesar del tratamiento con IECAs, de la diálisis, el trasplante renal y de evolucionados y modernos cuidados de soporte en unidades de cuidados intensivos, la CRE continua siendo una complicación grave de la ES, tanto a corto como a largo plazo.

A los pacientes con ES que presentan RNAp positivos, por tanto, se les debería transmitir la importancia de monitorización en domicilio de la tensión arterial al menos semanalmente durante los 3 primeros años desde el debut de la enfermedad y se les debería realizar una analítica para valorar la función renal cada 3 meses.

Respecto a la afección cardiopulmonar, tampoco encontramos diferencias entre ambos grupos. En otras series, sin embargo, la EPI es menos prevalente en los pacientes con RNAp <sup>111</sup>, e incluso en el estudio de una serie francesa de 195 pacientes, Emilie *y cols* encontraron en el análisis multivariable que los anticuerpos RNAp eran un factor protector independiente para EPI <sup>169</sup>.

No hubo diferencias significativas en la afección digestiva entre los dos grupos, tanto global como analizada por manifestaciones. A destacar que tampoco hubo significación estadística en la presencia de GAVE que fue de un 8.3% en el grupo con RNAp frente a un 5.9% en el grupo RNAp negativo. Está descrito un mayor riesgo de presentar GAVE en los enfermos con RNAp, si bien es una complicación poco frecuente de la enfermedad y hay pocos datos en la literatura médica.

Así, el grupo EUSTAR realizó hace unos años un estudio con 49 pacientes con ES y GAVE, donde uno de los principales resultados encontrados fue una prevalencia claramente mayor de RNAp en estos pacientes (48% vs 16%;  $p=0.01$ ). En el estudio multivariable, de hecho, la presencia de RNAp fue uno de los factores independientes asociados a GAVE <sup>170</sup>. Más recientemente, en la serie australiana, Patterson *et al* también evidenciaron una consistente asociación entre el anticuerpo RNAp y la presencia de GAVE (41% de 39 pacientes con RNAp fuertemente positivo presentaron GAVE y 12% de los 25 pacientes con RNAp débilmente positivo), y tanto la CRE como el GAVE se encontraron con más frecuencia en fases precoces de la enfermedad <sup>216</sup>.

El SCOT Trial, a diferencia de los grupos previos, que estudió 103 pacientes con ES de los cuales 23 presentaban GAVE, no encontró asociación entre esta afección y el anticuerpo RNAp <sup>227</sup>.

Si analizamos el patrón capilaroscópico, el patrón lento de Maricq fue el más frecuente, sin encontrar diferencias entre ambos grupos (20, 83.3% vs 132, 87.4%). Este resultado llama la atención, teniendo en cuenta la alta prevalencia del subtipo cutáneo difusa entre los pacientes con RNAp y la relación entre este subtipo cutáneo y el patrón capilaroscópico activo o tardío de Cutolo descrito en series previas <sup>43,228</sup>.

La asociación temporal entre la presentación de neoplasias y el debut de la ES sugiere que en algunos casos la ES representa un síndrome paraneoplásico en el que el sistema inmune está respondiendo al cáncer.

Según los resultados de diferentes estudios realizados en distintas poblaciones: europea, australiana, japonesa y americana, los pacientes con ES y RNAp desarrollan tumores malignos más frecuentemente que los pacientes con ATA-I o ACA <sup>172,229-231</sup>. Saigusa *et al* analizaron la relación de los anticuerpos específicos de la enfermedad (ACA, ATA-I y RNAp) con tumores malignos. Encontraron que, en aproximadamente un 50% de pacientes con RNAp y cáncer, éste aparece de forma sincrónica a la ES (desde los 6 meses antes hasta los 12 meses después del debut de la

enfermedad). La frecuencia de neoplasias diagnosticadas de forma sincrónica a la enfermedad fue significativamente mayor en los pacientes con RNAp que en los pacientes con ACA y ATA-I (13.6%, vs 0.7%,  $p < 0.01$  y 0%,  $p < 0.01$ , respectivamente); Sin embargo, en la incidencia de neoplasias aparecidas antes de los 6 meses previos al debut de la enfermedad o después del año posterior, no hubo diferencias significativas entre los 3 grupos <sup>229</sup>.

En un reciente estudio realizado por Moinzadeh *y cols*, con una cohorte de 2177 pacientes con ES, encontraron que los enfermos con cáncer en comparación con los enfermos sin cáncer, presentaban con más frecuencia positividad para RNAp que para ACA o ATA-I <sup>172</sup>. Confirmaron que la presencia de RNAp se asocia con un riesgo de al menos 2 HR mayor de desarrollar cáncer antes o después del debut de la enfermedad que la presencia de otros anticuerpos. Este riesgo aumentaba a 6 HR si la neoplasia debutaba entre los 36 meses antes y después del inicio de la enfermedad en pacientes con RNAp positivo.

Hay que destacar que en este estudio se consideró como primer síntoma de la enfermedad la esclerosis cutánea o una afección orgánica y no el FR, por lo que el intervalo entre la aparición de FR y el primer síntoma no-FR de la enfermedad, que en pacientes con RNAp es el más corto, no influyó en el resultado.

En nuestra cohorte de pacientes, a pesar de que la prevalencia de cáncer tendió a ser mayor en el grupo con RNAp (4, 16.7% vs. 12, 7.9%  $p=0.24$ ), no se alcanzó una significación estadística, posiblemente por el escaso número de pacientes en el grupo RNAp positivo. El grupo australiano tampoco encontró asociación entre RNAp y malignidad <sup>216</sup>.

La presencia del anticuerpo RNAp podría iniciar una respuesta autoinmune antitumoral que reaccionaría de forma cruzada contra tejidos específicos resultando en un daño en un tejido diana. Shah *et al* evidenciaron que las células tumorales de los pacientes con ES y RNAp expresaban niveles altos de la proteína RNApIII mientras que esta expresión era indetectable en células tumorales de pacientes con ES y otros autoanticuerpos <sup>212</sup>.

Todos estos datos sugieren que los pacientes con una ES de debut y positividad para RNAp se podrían beneficiar de un cribado de neoplasia en el momento del diagnóstico. Shah *et al* han propuesto recientemente un algoritmo de cribado de cáncer para los pacientes con ES en el que recomiendan: una anamnesis y exploración física completa a todos los pacientes, junto con exploraciones adecuadas a la edad y al sexo del enfermo; exploraciones complementarias dirigidas en aquellos pacientes con factores de riesgo específicos y, además, para aquellos enfermos que presentan un mayor riesgo de cáncer o tienen una “bandera roja” (RNAp positivos, >65 años al debut de la ES, enfermedad atípica o que no responda al tratamiento, que presenten síndrome constitucional, síntomas sugestivos o historia familiar de cáncer), un cribado agresivo de neoplasia mediante: tomografía de tórax, abdomen y pelvis o PET-TAC, inmunofijación en sangre, citometría de flujo de sangre periférica y marcadores tumorales <sup>232</sup>.

Por tanto, según esta recomendación, se debería hacer a los pacientes con RNAp, por ser pacientes de mayor riesgo de neoplasia demostrado, un cribado activo de malignidad en el momento del diagnóstico de la ES. Los propios autores afirman, sin embargo, que se necesitan más estudios para establecer un algoritmo definitivo de cribado de cáncer en pacientes con ES de debut.

En nuestro estudio, no hubo diferencias significativas en cuanto a la mortalidad en ambos grupos (2, 8.3% vs. 16, 10.6%), al igual que en otras series <sup>111,169</sup>.

Finalmente, teniendo en cuenta la expresión de otros autoanticuerpos, la positividad de anti-Ro52 fue menos frecuente en los pacientes con RNAp (2, 8.2% vs. 14, 9.3%;  $p=0.03$ ).

A modo de sumario, los resultados de nuestro estudio confirman que los anticuerpos RNAp se asocian con el subtipo cutáneo difusa y con una mayor incidencia de CRE.

### **Anticuerpos antiSSa/Ro52 en ES. Resultados de un estudio observacional y transversal.**

En las últimas décadas se ha dado a conocer la presencia de los anticuerpos anti Ro/SSA en diferentes enfermedades autoinmunes, y, cada vez más, se les atribuye un papel importante en la clínica. Sin embargo, su papel patológico todavía es poco conocido<sup>233</sup>.

En este contexto, evaluamos la asociación entre los anticuerpos antiRo/SSA con las características clínicas y el perfil inmunológico de nuestra cohorte de pacientes con ES.

Los resultados evidencian que los anticuerpos antiRo/SSA se detectan con frecuencia en pacientes con ES. En nuestra serie no se relacionaron con ninguna manifestación clínica determinada, incluida la miopatía inflamatoria.

Un número elevado de pacientes presentaban anticuerpos ACA de forma concomitante con los anticuerpos antiRo/SSA.

A destacar que encontramos una prevalencia global de antiRo/SSA de 35.6%, similar a la encontrada en paciente con miositis (35.4%)<sup>234</sup>, pero menor que la encontrada en pacientes con LES-LECS (Lupus eritematoso sistémico-Lupus eritematoso cutáneo subagudo) (53%)<sup>235,236</sup>, Síndrome de Sjögren (63.2%) o pacientes con LES<sup>236,236,237</sup>

En un estudio que utilizó un consenso de 3 métodos de detección independientes (ELISA, inmunoblot, ALBIA), la frecuencia de los anticuerpos antiRo52 fue del 19% en una cohorte de 100 pacientes con ES<sup>237</sup>, en la línea con estudios previos<sup>198,238</sup>. La frecuencia de anticuerpos antiRo52 aislados fue mayor que la frecuencia de antiRo 60<sup>237,238</sup>, como ya describimos en nuestro estudio utilizando sólo uno de los 3 métodos (inmunoblot). El uso de solamente un método para determinar los anticuerpos antiRo52 podría explicar el rango más alto de positividad en nuestra serie.

## 5 ■ DISCUSIÓN

De forma similar, la prevalencia de la reactividad para antiSSa/Ro52 fue también significativamente más alta que la reactividad para antiRo60 en pacientes con miopatías inflamatorias idiopáticas, cirrosis biliar primaria, crioglobulinemia mixta esencial y síndrome de Sjögren primario <sup>239</sup>.

Algunos estudios recientes han evidenciado que los anticuerpos antiSSa/Ro52, en ausencia de los anticuerpos antiSSa/Ro60, son el marcador inmunológico más común en pacientes con miopatías inflamatorias idiopáticas y enfermedades pulmonares intersticiales <sup>197,239,239,240</sup>.

No encontramos diferencias entre ambos grupos en frecuencia de ATA-I, SSB/La y PmScl. El anticuerpo U1RNP fue positivo sólo en 2 pacientes, ambos del grupo de antiSSa/Ro52 positivo, aunque esto no fue estadísticamente significativo.

Los anticuerpos ACA se asocian clásicamente con la forma limitada de la enfermedad (60-82%) <sup>234</sup>. En un reciente estudio con suero de 863 pacientes con ES los anticuerpos ACA estaban presentes en un 35.9% de pacientes, y también se describió la presencia concomitante de ACA con los anticuerpos antiSSa/Ro52 (en 92 pacientes) y antiSSa/Ro60 (en 11 pacientes) <sup>238</sup>. Como sugirieron los autores de este estudio, aunque las razones de esta frecuente coexistencia son desconocidas, es probable que los mecanismos etiopatogénicos determinados por estos anticuerpos tengan componentes comunes, incluyendo predisposiciones genéticas comunes <sup>238</sup>.

Basándonos en estos datos, creemos que la asociación descrita entre los anticuerpos ACA y antiSSa/Ro52 requeriría de estudios adicionales, ya que podría predecir asociaciones específicas con manifestaciones clínicas determinadas, similares a las asociaciones observadas en otros autoanticuerpos <sup>43</sup>.

De igual forma, sólo hemos detectado anticuerpos antiU1RNP en pacientes del grupo con positividad para antiSSa/Ro52 (n=2), aunque la relevancia de este hallazgo todavía está por

determinar. Los anticuerpos antifibrilarina (antiU3RNP) se detectan más frecuentemente en pacientes jóvenes, de sexo masculino y de raza blanca<sup>241</sup>, mientras que la detección de antiU1RNP se asocia sobre todo con LES y EMTC, y es menos frecuente en pacientes con ES<sup>242</sup>.

También evaluamos la posible relación entre las manifestaciones clínicas y epidemiológicas y la detección de anticuerpos antiSSa/Ro52, sin encontrar ninguna diferencia significativa entre los pacientes con positividad y con negatividad para el anticuerpo. En estudios anteriores, se describió una asociación significativa entre la reactividad aislada para antiSSa/Ro52 y algunos signos clínicos como miositis y EPI<sup>236,240</sup>, sin embargo no ha sido demostrado completamente en pacientes con ES<sup>198</sup>.

En línea con nuestros resultados, en un estudio previo con 1010 pacientes con ES tampoco se encontró evidencia de que los anticuerpos antiSSa/Ro52 pudieran detectarse con mayor frecuencia en pacientes con ES que desarrollan miositis. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que el anticuerpo antiSSa/Ro52 es un marcador serológico que tiene un escaso vínculo con la miopatía inflamatoria u otras manifestaciones clínicas en la ES<sup>198</sup>. Si bien hay que destacar que, aunque los resultados no fueron significativos, los pacientes con positividad exclusiva para antiSSa/Ro52 sí mostraron una tendencia a presentar más miopatía inflamatoria.

Por otro lado, un estudio reciente con una cohorte muy amplia de pacientes con ES<sup>195</sup> sí encontró que la presencia del anticuerpo antiSSa/Ro52 aislado se asociaba de forma independiente con el desarrollo de EPI y con un aumento de mortalidad, si bien esta asociación no estaba presente en los pacientes en los que el antiSSa/Ro52 coexistía con otros anticuerpos específicos de la enfermedad.

Con todos estos datos, no podemos demostrar una clara correlación entre los anticuerpos antiSSa/Ro52 y la presencia de ciertas manifestaciones clínicas, particularmente EPI o miopatías. Pero consideramos que se requerirían estudios observacionales de mayor tamaño usando un mismo método validado y estándar.

## 5 ■ DISCUSIÓN

Nuestro estudio presenta las limitaciones inherentes a un diseño retrospectivo. Aunque nuestra cohorte de pacientes con ES es amplia, la detección de antiSSa/Ro52 sólo se pudo realizar en los pacientes reclutados más tarde de marzo de 2008, por lo que la muestra para el estudio fue más limitada. Por otro lado, todos los pacientes son evaluados por los mismos médicos expertos en la enfermedad y la recogida de datos es de buena calidad y fiable.

A modo de sumario, los resultados de nuestro estudio muestran que los anticuerpos antiSSa/Ro52 se encuentran con frecuencia en pacientes diagnosticados de ES incluso en la ausencia de ACA o ATA-I. No se encontró en nuestro trabajo relación entre los anticuerpos antiSSa/Ro52 y manifestaciones clínicas determinadas.





# CONCLUSIONES



1. El perfil inmunológico tiene un poder predictivo similar al subtipo cutáneo para predecir el curso de la enfermedad en pacientes con Esclerosis sistémica.
2. Se ha demostrado la asociación del subtipo cutáneo difusa con importantes complicaciones viscerales como la Enfermedad pulmonar intersticial y la Crisis renal esclerodérmica.
3. Los pacientes con el subtipo cutáneo limitada presentan con mayor frecuencia fenómeno de Raynaud, un patrón lento en el estudio capilaroscópico y tienen un mayor riesgo de presentar hipertensión arterial pulmonar aislada.
4. Los anticuerpos Antitopoisomerasa-I se asocian con enfermedad pulmonar intersticial (frecuentemente grave), mayor afección esofágica y osteomuscular, y riesgo aumentado de presentar úlceras vasculares.
5. Los anticuerpos anticentrómero protegen frente al desarrollo de Enfermedad pulmonar intersticial y de la afección esofágica, y se asocian con el subtipo cutáneo limitada, el fenómeno de Raynaud y un patrón lento en la capilaroscopia.
6. Se ha demostrado la asociación de los anticuerpos anti-RNA polimerasa III con el subtipo cutáneo difusa, el desarrollo de crisis renal esclerodérmica y con formas de inicio de la enfermedad diferentes al fenómeno de Raynaud.
7. Los anticuerpos antiSSa/Ro52 se encuentran con frecuencia en pacientes diagnosticados de Esclerodermia incluso en la ausencia de Anticentrómero a antitopoisomerasa I.
8. No se ha demostrado relación entre los anticuerpos antiSSa/Ro52 y manifestaciones clínicas determinadas, incluyendo la miopatía inflamatoria, en los pacientes con Esclerodermia del Hospital Vall d'Hebron.





# BIBLIOGRAFÍA



1. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, Jr., et al. Scleroderma (systemic sclerosis): J Rheumatol 1988 Feb;15(2):202-5.
2. Chiffot H, Fautrel B, Sordet C, Chatelus E, Sibilia J. Incidence and prevalence of systemic sclerosis: Semin Arthritis Rheum 2008 Feb;37(4):223-35.
3. Silman A, Jannini S, Symmons D, Bacon P. An epidemiological study of scleroderma in the West Midlands. Br J Rheumatol 1988 Aug;27(4):286-90.
4. Roberts-Thomson PJ, Jones M, Hakendorf P, Kencana Dharmapatni AA, Walker JG, Macfarlane JG, et al. Scleroderma in South Australia: Intern Med J 2001 May;31(4):220-9.
5. Mayes MD. Scleroderma epidemiology. Rheum Dis Clin North Am 2003 May;29(2):239-54.
6. Assassi S, Arnett FC, Reveille JD, Gourh P, Mayes MD. Clinical, immunologic, and genetic features of familial systemic sclerosis. Arthritis Rheum 2007 Jun;56(6):2031-7.
7. Agarwal SK, Tan FK, Arnett FC. Genetics and genomic studies in scleroderma (systemic sclerosis). Rheum Dis Clin North Am 2008 Feb;34(1):17-40.
8. Reveille JD. Ethnicity and race and systemic sclerosis: Curr Rheumatol Rep 2003 Apr;5(2):160-7.
9. Fonollosa Pla V. EGG. Avances en esclerosis sistémica (esclerodermia). Marge Médica Books. 2009.
10. Martin JE, Bossini-Castillo L, Martin J. Unraveling the genetic component of systemic sclerosis. Hum Genet 2012 Jul;131(7):1023-37.
11. Radstake TR, Gorlova O, Rueda B, Martin JE, Alizadeh BZ, Palomino-Morales R, et al. Genome-wide association study of systemic sclerosis identifies CD247 as a new susceptibility locus. Nat Genet 2010 May;42(5):426-9.
12. Allanore Y, Saad M, Dieude P, Avouac J, Distler JH, Amouyel P, et al. Genome-wide scan identifies TNIP1, PSORS1C1, and RHOB as novel risk loci for systemic sclerosis. PLoS Genet 2011 Jul;7(7):e1002091.
13. Lopez-Isac E, Bossini-Castillo L, Simeon CP, Egurbide MV, Alegre-Sancho JJ, Callejas JL, et al. A genome-wide association study follow-up suggests a possible role for PPARG in systemic sclerosis susceptibility. Arthritis Res Ther 2014;16(1): R6.
14. Loubiere LS, Lambert NC, Madeleine MM, Porter AJ, Mullarkey ME, Pang JM, et al. HLA allelic variants encoding DR11 in diffuse and limited systemic sclerosis in Caucasian women. Rheumatology (Oxford) 2005 Mar;44(3):318-22.
15. Gladman DD, Kung TN, Siannis F, Pellett F, Farewell VT, Lee P. HLA markers for susceptibility and expression in scleroderma. J Rheumatol 2005 Aug;32(8):1481-7.
16. Reveille JD, Fischbach M, McNearney T, Friedman AW, Aguilar MB, Lisse J, et al. Systemic sclerosis in 3 US ethnic groups: Semin Arthritis Rheum 2001 Apr;30(5):332-46.
17. Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, Inoko H, Tsuji K. The HLA-DR and DQ genes control the autoimmune response to DNA topoisomerase I in systemic sclerosis (scleroderma). J Clin Invest 1993 Sep;92(3):1296-301.
18. Humbert M, Morrell NW, Archer SL, Stenmark KR, MacLean MR, Lang IM, et al. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. J Am Coll Cardiol 2004 Jun 16;43(12 Suppl S): S-245.
19. Abraham DJ, Krieg T, Distler J, Distler O. Overview of pathogenesis of systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford) 2009 Jun;48 Suppl 3:iii3-iii7.

20. Abraham DJ, Vancheeswaran R, Dashwood MR, Rajkumar VS, Pantelides P, Xu SW, et al. Increased levels of endothelin-1 and differential endothelin type A and B receptor expression in scleroderma-associated fibrotic lung disease. *Am J Pathol* 1997 Sep;151(3):831-41.
21. Shetty SS, Okada T, Webb RL, DelGrande D, Lappe RW. Functionally distinct endothelin B receptors in vascular endothelium and smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1993 Mar 15;191(2):459-64.
22. Iglarz M, Clozel M. Mechanisms of ET-1-induced endothelial dysfunction. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007 Dec;50(6):621-8.
23. Sgonc R, Gruschwitz MS, Dietrich H, Recheis H, Gershwin ME, Wick G. Endothelial cell apoptosis is a primary pathogenetic event underlying skin lesions in avian and human scleroderma. *J Clin Invest* 1996 Aug 1;98(3):785-92.
24. Distler O, Del RA, Giacomelli R, Cipriani P, Conforti ML, Guiducci S, et al. Angiogenic and angiostatic factors in systemic sclerosis: *Arthritis Res* 2002;4(6): R11.
25. de WP, Leoni P, Abraham D. Connective tissue growth factor: *Growth Factors* 2008 Apr;26(2):80-91.
26. Shi-Wen X, Leask A, Abraham D. Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN2 in tissue repair, scarring and fibrosis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008 Apr;19(2):133-44.
27. Seibold JR, Giorno RC, Claman HN. Dermal mast cell degranulation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1990 Nov;33(11):1702-9.
28. Horikawa M, Hasegawa M, Komura K, Hayakawa I, Yanaba K, Matsushita T, et al. Abnormal natural killer cell function in systemic sclerosis: *J Invest Dermatol* 2005 Oct;125(4):731-7.
29. Duan H, Fleming J, Pritchard DK, Amon LM, Xue J, Arnett HA, et al. Combined analysis of monocyte and lymphocyte messenger RNA expression with serum protein profiles in patients with scleroderma. *Arthritis Rheum* 2008 May;58(5):1465-74.
30. Domagala-Kulawik J, Hoser G, Doboszynska A, Kawiak J, Droszcz W. Interstitial lung disease in systemic sclerosis: BALF lymphocyte phenotype and DLCO impairment. *Respir Med* 1998 Nov;92(11):1295-301.
31. Stummvoll GH, Aringer M, Smolen JS, Koller M, Kiener HP, Steiner CW, et al. Derangement of apoptosis-related lymphocyte homeostasis in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2000 Dec;39(12):1341-50.
32. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1980 May;23(5):581-90.
33. Balada E, Simeon-Aznar CP, Ordi-Ros J, Rosa-Leyva M, Selva-O'Callaghan A, Pardos-Gea J, et al. Anti-PDGFR-alpha antibodies measured by non-bioactivity assays are not specific for systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2008 Jul;67(7):1027-9.
34. Hachulla E, Launay D. Diagnosis and classification of systemic sclerosis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2011 Apr;40(2):78-83.
35. Johnson SR, Feldman BM, Hawker GA. Classification criteria for systemic sclerosis subsets. *J Rheumatol* 2007 Sep;34(9):1855-63.
36. Reveille JD, Solomon DH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum* 2003 Jun 15;49(3):399-412.

37. Winterbauer RH. MULTIPLE TELANGIECTASIA, RAYNAUD'S PHENOMENON, SCLERODACTYLY, AND SUBCUTANEOUS CALCINOSIS: A SYNDROME MIMICKING HEREDITARY HEMORRHAGIC TELANGIECTASIA. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1964 Jun;114:361-83.
38. Poormoghim H, Lucas M, Fertig N, Medsger TA, Jr. Systemic sclerosis sine scleroderma: *Arthritis Rheum* 2000 Feb;43(2):444-51.
39. Simeon CP, Armadans L, Fonollosa V, Vilardell M, Candell J, Tolosa C, et al. Survival prognostic factors and markers of morbidity in Spanish patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 1997 Dec;56(12):723-8.
40. Simeon-Aznar CP, Fonollosa-Pla V, Tolosa-Vilella C, Espinosa-Garriga G, Campillo-Grau M, Ramos-Casals M, et al. Registry of the Spanish Network for Systemic Sclerosis: Survival, Prognostic Factors, and Causes of Death. *Medicine (Baltimore)* 2015 Oct;94(43):e1728.
41. Simeon-Aznar CP, Tolosa-Vilella C, Gabarro-Julia L, Campillo-Grau M, Guillen Del CA, Fonollosa-Pla V, et al. Systemic sclerosis sine scleroderma and limited cutaneous systemic sclerosis: *Clin Exp Rheumatol* 2014 Nov;32(6 Suppl 86): S-40.
42. LeRoy EC, Medsger TA, Jr. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001 Jul;28(7):1573-6.
43. Simeon-Aznar CP, Fonollosa-Pla V, Tolosa-Vilella C, Espinosa-Garriga G, Ramos-Casals M, Campillo-Grau M, et al. Registry of the Spanish network for systemic sclerosis: *Semin Arthritis Rheum* 2012 Jun;41(6):789-800.
44. Avouac J, Fransen J, Walker UA, Riccieri V, Smith V, Muller C, et al. Preliminary criteria for the very early diagnosis of systemic sclerosis: Delphi Consensus Study from EULAR Scleroderma Trials and Research Group. *Ann Rheum Dis* 2011 Mar;70(3):476-81.
45. Valentini G, Cuomo G, Abignano G, Petrillo A, Vettori S, Capasso A, et al. Early systemic sclerosis: *Rheumatology (Oxford)* 2011 Feb;50(2):317-23.
46. Steen VD. The many faces of scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 2008 Feb;34(1):1-15.
47. Domsic RT. Disease Subsets in Clinical Practice. In *Scleroderma. From Pathogenesis to Comprehensive Treatment*. Ed.: Varga J, Denton C and Wigley F. 1st Edition (2012). Ed: Springer. New York. Pags.: Medsger TA, editor. 2016.
48. VAN DEN Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2013 Nov;65(11):2737-47.
49. Clements PJ, Hurwitz EL, Wong WK, Seibold JR, Mayes M, White B, et al. Skin thickness score as a predictor and correlate of outcome in systemic sclerosis: *Arthritis Rheum* 2000 Nov;43(11):2445-54.
50. Klein-Weigel P, Opitz C, Riemekasten G. Systemic sclerosis - a systematic overview: *Vasa* 2011 Jan;40(1):6-19.
51. Steen VD, Medsger TA, Jr. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum* 2000 Nov;43(11):2437-44.
52. Shand L, Lunt M, Nihtyanova S, Hoseini M, Silman A, Black CM, et al. Relationship between change in skin score and disease outcome in diffuse cutaneous systemic sclerosis: *Arthritis Rheum* 2007 Jul;56(7):2422-31.
53. Braverman IM, Ken-Yen A. Ultrastructure and three-dimensional reconstruction of several macular and papular telangiectases. *J Invest Dermatol* 1983 Dec;81(6):489-97.

54. Hirschl M, Hirschl K, Lenz M, Katzenschlager R, Hutter HP, Kundi M. Transition from primary Raynaud's phenomenon to secondary Raynaud's phenomenon identified by diagnosis of an associated disease: *Arthritis Rheum* 2006 Jun;54(6):1974-81.
55. Wigley FM. Clinical practice. Raynaud's Phenomenon. *N Engl J Med* 2002 Sep 26;347(13):1001-8.
56. Hummers LK, Wigley FM. Management of Raynaud's phenomenon and digital ischemic lesions in scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 2003 May;29(2):293-313.
57. Poirier TJ, Rankin GB. Gastrointestinal manifestations of progressive systemic scleroderma based on a review of 364 cases. *Am J Gastroenterol* 1972 Jul;58(1):30-44.
58. Turner R, Lipshutz W, Miller W, Rittenberg G, Schumacher HR, Cohen S. Esophageal dysfunction in collagen disease. *Am J Med Sci* 1973 Mar;265(3):191-9.
59. Wipff J, Allanore Y, Soussi F, Terris B, Abitbol V, Raymond J, et al. Prevalence of Barrett's esophagus in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2005 Sep;52(9):2882-8.
60. Shibukawa G, Irisawa A, Sakamoto N, Takagi T, Wakatsuki T, Imamura H, et al. Gastric antral vascular ectasia (GAVE) associated with systemic sclerosis: *Intern Med* 2007;46(6):279-83.
61. Sallam H, McNearney TA, Chen JD. Systematic review: Aliment Pharmacol Ther 2006 Mar 15;23(6):691-712.
62. Trezza M, Krogh K, Egekvist H, Bjerring P, Laurberg S. Bowel problems in patients with systemic sclerosis. *Scand J Gastroenterol* 1999 Apr;34(4):409-13.
63. Wells AU, Behr J, Silver R. Outcome measures in the lung. *Rheumatology (Oxford)* 2008 Oct;47 Suppl 5:v48-v50.
64. Steen VD, Medsger TA. Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972-2002. *Ann Rheum Dis* 2007 Jul;66(7):940-4.
65. Avouac J, Airo P, Meune C, Beretta L, Dieude P, Caramaschi P, et al. Prevalence of pulmonary hypertension in systemic sclerosis in European Caucasians and metaanalysis of 5 studies. *J Rheumatol* 2010 Nov;37(11):2290-8.
66. Galie N, Hoeper MM, Humbert M, Torbicki A, Vachiery JL, Barbera JA, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J* 2009 Oct;30(20):2493-537.
67. Shah AA, Wigley FM, Hummers LK. Telangiectases in scleroderma: *J Rheumatol* 2010 Jan;37(1):98-104.
68. Steen V, Medsger TA, Jr. Predictors of isolated pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and limited cutaneous involvement. *Arthritis Rheum* 2003 Feb;48(2):516-22.
69. Steen V. Advancements in diagnosis of pulmonary arterial hypertension in scleroderma. *Arthritis Rheum* 2005 Dec;52(12):3698-700.
70. Bull TM. Screening and therapy of pulmonary hypertension in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 2007 Nov;19(6):598-603.
71. Williams MH, Handler CE, Akram R, Smith CJ, Das C, Smee J, et al. Role of N-terminal brain natriuretic peptide (N-TproBNP) in scleroderma-associated pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J* 2006 Jun;27(12):1485-94.

72. Hofstee HM, Vonk NA, Voskuyl AE, Dijkmans BA, Postmus PE, Smulders YM, et al. Nailfold capillary density is associated with the presence and severity of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2009 Feb;68(2):191-5.
73. Humbert M, Yaici A, De GP, Montani D, Sitbon O, Launay D, et al. Screening for pulmonary arterial hypertension in patients with systemic sclerosis: *Arthritis Rheum* 2011 Nov;63(11):3522-30.
74. Antoniou KM, Wells AU. Scleroderma lung disease: *Curr Opin Rheumatol* 2008 Nov;20(6):686-91.
75. Goh NS, Desai SR, Veeraraghavan S, Hansell DM, Copley SJ, Maher TM, et al. Interstitial lung disease in systemic sclerosis: *Am J Respir Crit Care Med* 2008 Jun 1;177(11):1248-54.
76. Koenig M, Dieude M, Senecal JL. Predictive value of antinuclear autoantibodies: *Autoimmun Rev* 2008 Sep;7(8):588-93.
77. Launay D, Remy-Jardin M, Michon-Pasturel U, Mastora I, Hachulla E, Lambert M, et al. High resolution computed tomography in fibrosing alveolitis associated with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2006 Sep;33(9):1789-801.
78. Bouros D, Wells AU, Nicholson AG, Colby TV, Polychronopoulos V, Pantelidis P, et al. Histopathologic subsets of fibrosing alveolitis in patients with systemic sclerosis and their relationship to outcome. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 Jun 15;165(12):1581-6.
79. Traub Y, Boner G. [Sclerodermal renal crisis]. *Harefuah* 1985 May 15;108(10):491-3.
80. Steen V. Scleroderma renal crisis. *Indian J Med Sci* 2007 Feb;61(2):71-2.
81. Shanmugam VK, Steen VD. Renal disease in scleroderma: *Curr Opin Rheumatol* 2012 Nov;24(6):669-76.
82. Penn H, Howie AJ, Kingdon EJ, Bunn CC, Stratton RJ, Black CM, et al. Scleroderma renal crisis: *QJM* 2007 Aug;100(8):485-94.
83. Tyndall AJ, Bannert B, Vonk M, Airo P, Cozzi F, Carreira PE, et al. Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database. *Ann Rheum Dis* 2010 Oct;69(10):1809-15.
84. Guillevin L, Berezne A, Seror R, Teixeira L, Pourrat J, Mahr A, et al. Scleroderma renal crisis: *Rheumatology (Oxford)* 2012 Mar;51(3):460-7.
85. Hamaguchi Y, Koderia M, Matsushita T, Hasegawa M, Inaba Y, Usuda T, et al. Clinical and immunologic predictors of scleroderma renal crisis in Japanese systemic sclerosis patients with anti-RNA polymerase III autoantibodies. *Arthritis Rheumatol* 2015 Apr;67(4):1045-52.
86. Nguyen B, Mayes MD, Arnett FC, del JD, Reveille JD, Gonzalez EB, et al. HLA-DRB1\*0407 and \*1304 are risk factors for scleroderma renal crisis. *Arthritis Rheum* 2011 Feb;63(2):530-4.
87. Denton CP, Black CM. Scleroderma--clinical and pathological advances. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004 Jun;18(3):271-90.
88. Hudson M. Scleroderma renal crisis. *Curr Opin Rheumatol* 2015 Nov;27(6):549-54.
89. Steen VD, Medsger TA, Jr., Osial TA, Jr., Ziegler GL, Shapiro AP, Rodnan GP. Factors predicting development of renal involvement in progressive systemic sclerosis. *Am J Med* 1984 May;76(5):779-86.
90. Penn H, Howie AJ, Kingdon EJ, Bunn CC, Stratton RJ, Black CM, et al. Scleroderma renal crisis: *QJM* 2007 Aug;100(8):485-94.

91. Penn H, Denton CP. Diagnosis, management and prevention of scleroderma renal disease. *Curr Opin Rheumatol* 2008 Nov;20(6):692-6.
92. Teixeira L, Mouthon L, Mahr A, Berezne A, Agard C, Mehrenberger M, et al. Mortality and risk factors of scleroderma renal crisis: French retrospective study of 50 patients. *Ann Rheum Dis* 2008 Jan;67(1):110-6.
93. Hudson M, Baron M, Tatibouet S, Furst DE, Khanna D. Exposure to ACE inhibitors prior to the onset of scleroderma renal crisis—results from the International Scleroderma Renal Crisis Survey. *Semin Arthritis Rheum* 2014 Apr;43(5):666-72.
94. Trostle DC, Bedetti CD, Steen VD, al-Sabbagh MR, Zee B, Medsger TA, Jr. Renal vascular histology and morphometry in systemic sclerosis. A case-control autopsy study. *Arthritis Rheum* 1988 Mar;31(3):393-400.
95. Campo A, Mathai SC, Le PJ, Zaiman AL, Hummers LK, Boyce D, et al. Hemodynamic predictors of survival in scleroderma-related pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2010 Jul 15;182(2):252-60.
96. Lambova S. Cardiac manifestations in systemic sclerosis. *World J Cardiol* 2014 Sep 26;6(9):993-1005.
97. Allanore Y, Meune C. Primary myocardial involvement in systemic sclerosis: *Clin Exp Rheumatol* 2010 Sep;28(5 Suppl 62): S48-S53.
98. Soriano A, Afeltra A, Shoenfeld Y. Is atherosclerosis accelerated in systemic sclerosis? Novel insights. *Curr Opin Rheumatol* 2014 Nov;26(6):653-7.
99. Man A, Zhu Y, Zhang Y, Dubreuil M, Rho YH, Peloquin C, et al. The risk of cardiovascular disease in systemic sclerosis: *Ann Rheum Dis* 2013 Jul;72(7):1188-93.
100. Ngian GS, Sahhar J, Proudman SM, Stevens W, Wicks IP, Van DS. Prevalence of coronary heart disease and cardiovascular risk factors in a national cross-sectional cohort study of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2012 Dec;71(12):1980-3.
101. Varga J, Denton CP, Wigley FM. *Scleroderma*. New York: Springer, 2012: 361-371; 373-395.2016.
102. Allanore Y, Meune C. Primary myocardial involvement in systemic sclerosis: *Clin Exp Rheumatol* 2010 Sep;28(5 Suppl 62): S48-S53.
103. James TN. De subitaneis mortibus. VIII. Coronary arteries and conduction system in scleroderma heart disease. *Circulation* 1974 Oct;50(4):844-56.
104. Kahan A, Allanore Y. Primary myocardial involvement in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2006 Oct;45 Suppl 4:iv14-iv17.
105. Perera A, Fertig N, Lucas M, Rodriguez-Reyna TS, Hu P, Steen VD, et al. Clinical subsets, skin thickness progression rate, and serum antibody levels in systemic sclerosis patients with anti-topoisomerase I antibody. *Arthritis Rheum* 2007 Aug;56(8):2740-6.
106. Follansbee WP, Zerbe TR, Medsger TA, Jr. Cardiac and skeletal muscle disease in systemic sclerosis (scleroderma): *Am Heart J* 1993 Jan;125(1):194-203.
107. Avouac J, Walker U, Tyndall A, Kahan A, Matucci-Cerinic M, Allanore Y, et al. Characteristics of joint involvement and relationships with systemic inflammation in systemic sclerosis: EULAR Scleroderma Trial and Research Group (EUSTAR) database. *J Rheumatol* 2010 Jul;37(7):1488-501.
108. Avouac J, Airo P, Dieude P, Caramaschi P, Tiev K, Diot E, et al. Associated autoimmune diseases in systemic sclerosis define a subset of patients with milder disease: European Caucasian patients. *J Rheumatol* 2010 Mar;37(3):608-14.

109. Avouac J, Guerini H, Wipff J, Assous N, Chevrot A, Kahan A, et al. Radiological hand involvement in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2006 Aug;65(8):1088-92.
110. Medsger TA, Jr., Rodnan GP, Moosy J, Vester JW. Skeletal muscle involvement in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1968 Aug;11(4):554-68.
111. Steen VD. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005 Aug;35(1):35-42.
112. Rozman B, Cucnik S, Sodin-Semrl S, Czirjak L, Varju C, Distler O, et al. Prevalence and clinical associations of anti-Ku antibodies in patients with systemic sclerosis: European EUSTAR-initiated multi-centre case-control study. *Ann Rheum Dis* 2008 Sep;67(9):1282-6.
113. Rubio-Rivas M, Royo C, Simeon CP, Corbella X, Fonollosa V. Mortality and survival in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2014 Oct;44(2):208-19.
114. Ferri C, Sebastiani M, Lo MA, Iudici M, Giuggioli D, Furini F, et al. Systemic sclerosis evolution of disease pathomorphosis and survival. Our experience on Italian patients' population and review of the literature. *Autoimmun Rev* 2014 Oct;13(10):1026-34.
115. Nihtyanova SI, Schreiber BE, Ong VH, Rosenberg D, Moinzadeh P, Coghlan JG, et al. Prediction of pulmonary complications and long-term survival in systemic sclerosis. *Arthritis Rheumatol* 2014 Jun;66(6):1625-35.
116. Simeon CP, Armadans L, Fonollosa V, Solans R, Selva A, Villar M, et al. Mortality and prognostic factors in Spanish patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2003 Jan;42(1):71-5.
117. Kowal-Bielecka O, Landewe R, Avouac J, Chwiesko S, Miniati I, Czirjak L, et al. EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: EULAR Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR). *Ann Rheum Dis* 2009 May;68(5):620-8.
118. Hamaguchi Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis. *J Dermatol* 2010 Jan;37(1):42-53.
119. Dick T, Mierau R, Bartz-Bazzanella P, Alavi M, Stoyanova-Scholz M, Kindler J, et al. Coexistence of anti-topoisomerase I and anticentromere antibodies in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2002 Feb;61(2):121-7.
120. Rothfield NF, Rodnan GP. Serum antinuclear antibodies in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1968 Oct;11(5):607-17.
121. Oddis CV, Okano Y, Rudert WA, Trucco M, Duquesnoy RJ, Medsger TA, Jr. Serum autoantibody to the nucleolar antigen PM-Scl. Clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum* 1992 Oct;35(10):1211-7.
122. Okano Y, Steen VD, Medsger TA, Jr. Autoantibody to U3 nucleolar ribonucleoprotein (fibrillarin) in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1992 Jan;35(1):95-100.
123. Chizzolini C, Raschi E, Rezzonico R, Testoni C, Mallone R, Gabrielli A, et al. Autoantibodies to fibroblasts induce a proadhesive and proinflammatory fibroblast phenotype in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2002 Jun;46(6):1602-13.
124. Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, Tojo T, Homma M. Clinical and prognostic associations based on serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1994 Jan;37(1):75-83.
125. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2003 Apr;42(4):534-40.

126. Meyer OC, Fertig N, Lucas M, Somogyi N, Medsger TA, Jr. Disease subsets, antinuclear antibody profile, and clinical features in 127 French and 247 US adult patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2007 Jan;34(1):104-9.
127. Ferri C, Valentini G, Cozzi F, Sebastiani M, Michelassi C, La MG, et al. Systemic sclerosis: Italian patients. *Medicine (Baltimore)* 2002 Mar;81(2):139-53.
128. Nihtyanova SI, Denton CP. Autoantibodies as predictive tools in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol* 2010 Feb;6(2):112-6.
129. Wallis DD, Tan FK, Kielty CM, Kimball MD, Arnett FC, Milewicz DM. Abnormalities in fibrillin 1-containing microfibrils in dermal fibroblast cultures from patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 2001 Aug;44(8):1855-64.
130. Howard OM, Dong HF, Yang D, Raben N, Nagaraju K, Rosen A, et al. Histidyl-tRNA synthetase and asparaginyl-tRNA synthetase, autoantigens in myositis, activate chemokine receptors on T lymphocytes and immature dendritic cells. *J Exp Med* 2002 Sep 16;196(6):781-91.
131. Wassarman KM, Steitz JA. The low-abundance U11 and U12 small nuclear ribonucleoproteins (snRNPs) interact to form a two-snRNP complex. *Mol Cell Biol* 1992 Mar;12(3):1276-85.
132. Rodriguez-Sanchez JL, Gelpi C, Juarez C, Hardin JA. Anti-NOR 90. A new autoantibody in scleroderma that recognizes a 90-kDa component of the nucleolus-organizing region of chromatin. *J Immunol* 1987 Oct 15;139(8):2579-84.
133. Fertig N, Domsic RT, Rodriguez-Reyna T, Kuwana M, Lucas M, Medsger TA, Jr., et al. Anti-U11/U12 RNP antibodies in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2009 Jul 15;61(7):958-65.
134. Gabrielli A, Avvedimento EV, Krieg T. Scleroderma. *N Engl J Med* 2009 May 7;360(19):1989-2003.
135. Loizos N, Lariccia L, Weiner J, Griffith H, Boin F, Hummers L, et al. Lack of detection of agonist activity by antibodies to platelet-derived growth factor receptor alpha in a subset of normal and systemic sclerosis patient sera. *Arthritis Rheum* 2009 Apr;60(4):1145-51.
136. Classen JF, Henrohn D, Rorsman F, Lennartsson J, Lauwerys BR, Wikstrom G, et al. Lack of evidence of stimulatory autoantibodies to platelet-derived growth factor receptor in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2009 Apr;60(4):1137-44.
137. Boin F, Franchini S, Colantuoni E, Rosen A, Wigley FM, Casciola-Rosen L. Independent association of anti-beta(2)-glycoprotein I antibodies with macrovascular disease and mortality in scleroderma patients. *Arthritis Rheum* 2009 Aug;60(8):2480-9.
138. Juárez-Dobjanschi C. F-PCM-SAG-PBV. Utilidad de los anticuerpos en el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes sistémicas con afectación cutánea. Anticuerpos antinucleares y antígenos extraíbles del núcleo. *Piel (Barc.)* 30(3), 169-180. 2016.
139. Pauling JD MN. Scleroderma. 209-225. 2012.
140. Villalta D, Morozzi G, Tampoia M, Alpini C, Brusca I, Salgarolo V, et al. Antibodies to fibrillar, PM-Scl and RNA polymerase III detected by ELISA assays in patients with systemic sclerosis. *Clin Chim Acta* 2010 May 2;411(9-10):710-3.
141. Moroi Y, Peebles C, Fritzler MJ, Steigerwald J, Tan EM. Autoantibody to centromere (kinetochore) in scleroderma sera. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980 Mar;77(3):1627-31.

- 142.** Domsic RT. Scleroderma: *Curr Opin Rheumatol* 2014 Nov;26(6):646-52.
- 143.** Earnshaw WC, Machlin PS, Bordwell BJ, Rothfield NF, Cleveland DW. Analysis of anticentromere autoantibodies using cloned autoantigen CENP-B. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987 Jul;84(14):4979-83.
- 144.** Tramposch HD, Smith CD, Senecal JL, Rothfield N. A long-term longitudinal study of anticentromere antibodies. *Arthritis Rheum* 1984 Feb;27(2):121-4.
- 145.** McHugh NJ, Whyte J, Artlett C, Briggs DC, Stephens CO, Olsen NJ, et al. Anti-centromere antibodies (ACA) in systemic sclerosis patients and their relatives: HLA study. *Clin Exp Immunol* 1994 May;96(2):267-74.
- 146.** Tan EM, Rodnan GP, Garcia I, Moroi Y, Fritzler MJ, Peebles C. Diversity of antinuclear antibodies in progressive systemic sclerosis. Anti-centromere antibody and its relationship to CREST syndrome. *Arthritis Rheum* 1980 Jun;23(6):617-25.
- 147.** Hamaguchi Y, Hasegawa M, Fujimoto M, Matsushita T, Komura K, Kaji K, et al. The clinical relevance of serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Br J Dermatol* 2008 Mar;158(3):487-95.
- 148.** Douvas AS, Achten M, Tan EM. Identification of a nuclear protein (Scl-70) as a unique target of human antinuclear antibodies in scleroderma. *J Biol Chem* 1979 Oct 25;254(20):10514-22.
- 149.** Reveille JD, Solomon DH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum* 2003 Jun 15;49(3):399-412.
- 150.** Reveille JD, Durban E, MacLeod-St Clair MJ, Goldstein R, Moreda R, Altman RD, et al. Association of amino acid sequences in the HLA-DQB1 first domain with antitopoisomerase I autoantibody response in scleroderma (progressive systemic sclerosis). *J Clin Invest* 1992 Sep;90(3):973-80.
- 151.** Walker UA, Tyndall A, Czirjak L, Denton C, Farge-Bancel D, Kowal-Bielecka O, et al. Clinical risk assessment of organ manifestations in systemic sclerosis: EULAR Scleroderma Trials And Research group database. *Ann Rheum Dis* 2007 Jun;66(6):754-63.
- 152.** Hanke K, Dahnrich C, Bruckner CS, Huscher D, Becker M, Jansen A, et al. Diagnostic value of anti-topoisomerase I antibodies in a large monocentric cohort. *Arthritis Res Ther* 2009;11(1): R28.
- 153.** Walker UA, Tyndall A, Czirjak L, Denton C, Farge-Bancel D, Kowal-Bielecka O, et al. Clinical risk assessment of organ manifestations in systemic sclerosis: EULAR Scleroderma Trials And Research group database. *Ann Rheum Dis* 2007 Jun;66(6):754-63.
- 154.** Sato S, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Takehara K. Clinical significance of anti-topoisomerase I antibody levels determined by ELISA in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2001 Oct;40(10):1135-40.
- 155.** Hamaguchi Y, Fujimoto M, Hasegawa M, Matsushita T, Takehara K. Re-emergence of anti-topoisomerase I antibody with exacerbated development of skin sclerosis in a patient with systemic sclerosis. *J Am Acad Dermatol* 2010 Jan;62(1):142-4.
- 156.** Okano Y, Steen VD, Medsger TA, Jr. Autoantibody reactive with RNA polymerase III in systemic sclerosis. *Ann Intern Med* 1993 Nov 15;119(10):1005-13.
- 157.** Kuwana M, Kaburaki J, Mimori T, Tojo T, Homma M. Autoantibody reactive with three classes of RNA polymerases in sera from patients with systemic sclerosis. *J Clin Invest* 1993 Apr;91(4):1399-404.
- 158.** Harvey GR, Butts S, Rands AL, Patel Y, McHugh NJ. Clinical and serological associations with anti-RNA polymerase antibodies in systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 1999 Aug;117(2):395-402.

159. Kang EH, Lee EB, Kim DJ, Im CH, Lee HJ, Song YW. Anti-RNA polymerase antibodies in Korean patients with systemic sclerosis and their association with clinical features. *Clin Exp Rheumatol* 2005 Sep;23(5):731-2.
160. Meyer O, de CL, Nicaise-Roland P, Cabane J, Tubach F, Dieude P, et al. Anti-RNA polymerase III antibody prevalence and associated clinical manifestations in a large series of French patients with systemic sclerosis: *J Rheumatol* 2010 Jan;37(1):125-30.
161. Kuwana M, Okano Y, Pandey JP, Silver RM, Fertig N, Medsger TA, Jr. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of anti-RNA polymerase III antibody: *Arthritis Rheum* 2005 Aug;52(8):2425-32.
162. Falkner D, Wilson J, Fertig N, Clawson K, Medsger TA, Jr., Morel PA. Studies of HLA-DR and DQ alleles in systemic sclerosis patients with autoantibodies to RNA polymerases and U3-RNP (fibrillarin). *J Rheumatol* 2000 May;27(5):1196-202.
163. Bardoni A, Rossi P, Salvini R, Bobbio-Pallavicini F, Caporali R, Montecucco C. Autoantibodies to RNA-polymerases in Italian patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2003 May;21(3):301-6.
164. Bunn CC, Denton CP, Shi-Wen X, Knight C, Black CM. Anti-RNA polymerases and other autoantibody specificities in systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1998 Jan;37(1):15-20.
165. Steen VD, Lucas M, Fertig N, Medsger TA, Jr. Pulmonary arterial hypertension and severe pulmonary fibrosis in systemic sclerosis patients with a nucleolar antibody. *J Rheumatol* 2007 Nov;34(11):2230-5.
166. Satoh T, Ishikawa O, Ihn H, Endo H, Kawaguchi Y, Sasaki T, et al. Clinical usefulness of anti-RNA polymerase III antibody measurement by enzyme-linked immunosorbent assay. *Rheumatology (Oxford)* 2009 Dec;48(12):1570-4.
167. Nihtyanova SI, Parker JC, Black CM, Bunn CC, Denton CP. A longitudinal study of anti-RNA polymerase III antibody levels in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2009 Oct;48(10):1218-21.
168. Ingraham KM, O'Brien MS, Shenin M, Derk CT, Steen VD. Gastric antral vascular ectasia in systemic sclerosis: *J Rheumatol* 2010 Mar;37(3):603-7.
169. Emilie S, Goulvestre C, Berezne A, Pagnoux C, Guillevin L, Mouthon L. Anti-RNA polymerase III antibodies are associated with scleroderma renal crisis in a French cohort. *Scand J Rheumatol* 2011;40(5):404-6.
170. Ghrenassia E, Avouac J, Khanna D, Derk CT, Distler O, Suliman YA, et al. Prevalence, correlates and outcomes of gastric antral vascular ectasia in systemic sclerosis: EUSTAR case-control study. *J Rheumatol* 2014 Jan;41(1):99-105.
171. Airo' P, Ceribelli A, Cavazzana I, Taraborelli M, Zingarelli S, Franceschini F. Malignancies in Italian patients with systemic sclerosis positive for anti-RNA polymerase III antibodies. *J Rheumatol* 2011 Jul;38(7):1329-34.
172. Moinzadeh P, Fonseca C, Hellmich M, Shah AA, Chighizola C, Denton CP, et al. Association of anti-RNA polymerase III autoantibodies and cancer in scleroderma. *Arthritis Res Ther* 2014;16(1): R53.
173. Lischwe MA, Ochs RL, Reddy R, Cook RG, Yeoman LC, Tan EM, et al. Purification and partial characterization of a nucleolar scleroderma antigen (Mr = 34,000; pI, 8.5) rich in NG,NG-dimethylarginine. *J Biol Chem* 1985 Nov 15;260(26):14304-10.
174. Arnett FC, Reveille JD, Goldstein R, Pollard KM, Leaird K, Smith EA, et al. Autoantibodies to fibrillarin in systemic sclerosis (scleroderma). An immunogenetic, serologic, and clinical analysis. *Arthritis Rheum* 1996 Jul;39(7):1151-60.
175. Reddy R, Tan EM, Henning D, Nohga K, Busch H. Detection of a nucleolar 7-2 ribonucleoprotein and a cytoplasmic 8-2 ribonucleoprotein with autoantibodies from patients with scleroderma. *J Biol Chem* 1983 Feb 10;258(3):1383-6.

- 176.** Okano Y, Medsger TA, Jr. Autoantibody to Th ribonucleoprotein (nucleolar 7-2 RNA protein particle) in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1990 Dec;33(12):1822-8.
- 177.** Falkner D, Wilson J, Medsger TA, Jr., Morel PA. HLA and clinical associations in systemic sclerosis patients with anti-Th/To antibodies. *Arthritis Rheum* 1998 Jan;41(1):74-80.
- 178.** Van EH, Vogelzangs JH, Bisschops L, Te Boome LC, Seelig HP, Renz M, et al. Autoantibodies against small nucleolar ribonucleoprotein complexes and their clinical associations. *Clin Exp Immunol* 2002 Dec;130(3):532-40.
- 179.** Ricken D. [Progressive scleroderma and dermatomyositis]. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 1977 Apr 17;83:751-6.
- 180.** Wolfe JF, Adelstein E, Sharp GC. Antinuclear antibody with distinct specificity for polymyositis. *J Clin Invest* 1977 Jan;59(1):176-8.
- 181.** Gaudin C, Fortenfant F, Adoue D, Beyne-Rauzy O. [Anti PM-Scl antibodies. Study of prevalence and of meaning]. *Rev Med Interne* 2006 Sep;27(9):665-70.
- 182.** Guillen-Del CA, Pilar Simeon-Aznar C, Fonollosa-Pla V, Alonso-Vila S, Reverte-Vinaixa MM, Munoz X, et al. Good outcome of interstitial lung disease in patients with scleroderma associated to anti-PM/Scl antibody. *Semin Arthritis Rheum* 2014 Dec;44(3):331-7.
- 183.** D'Aoust J, Hudson M, Tatibouet S, Wick J, Mahler M, Baron M, et al. Clinical and serologic correlates of anti-PM/Scl antibodies in systemic sclerosis: *Arthritis Rheumatol* 2014 Jun;66(6):1608-15.
- 184.** Brouwer R, Vree Egberts WT, Hengstman GJ, Raijmakers R, van Engelen BG, Seelig HP, et al. Autoantibodies directed to novel components of the PM/Scl complex, the human exosome. *Arthritis Res* 2002;4(2):134-8.
- 185.** Lega JC, Cottin V, Fabien N, Thivolet-Bejui F, Cordier JF. Interstitial lung disease associated with anti-PM/Scl or anti-aminoacyl-tRNA synthetase autoantibodies: *J Rheumatol* 2010 May;37(5):1000-9.
- 186.** Koschik RW, Fertig N, Lucas MR, Domsic RT, Medsger TA, Jr. Anti-PM-Scl antibody in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2012 Mar;30(2 Suppl 71): S12-S16.
- 187.** Genth E, Mierau R, Genetzky P, Von Muhlen CA, Kaufmann S, von WH, et al. Immunogenetic associations of scleroderma-related antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum* 1990 May;33(5):657-65.
- 188.** Scalapino K, Arkachaisri T, Lucas M, Fertig N, Helfrich DJ, Londino AV, Jr., et al. Childhood onset systemic sclerosis: *J Rheumatol* 2006 May;33(5):1004-13.
- 189.** Mimori T, Akizuki M, Yamagata H, Inada S, Yoshida S, Homma M. Characterization of a high molecular weight acidic nuclear protein recognized by autoantibodies in sera from patients with polymyositis-scleroderma overlap. *J Clin Invest* 1981 Sep;68(3):611-20.
- 190.** Cavazzana I, Ceribelli A, Quinzanini M, Scarsi M, Airo P, Cattaneo R, et al. Prevalence and clinical associations of anti-Ku antibodies in systemic autoimmune diseases. *Lupus* 2008 Aug;17(8):727-32.
- 191.** Franceschini F, Cavazzana I, Generali D, Quinzanini M, Viardi L, Ghirardello A, et al. Anti-Ku antibodies in connective tissue diseases: *J Rheumatol* 2002 Jul;29(7):1393-7.
- 192.** Lakota K, Thallinger GG, Sodin-Semrl S, Rozman B, Ambrozic A, Tomsic M, et al. International cohort study of 73 anti-Ku-positive patients: Ku antibodies with joint/bone features and differentiation of disease populations by using principal-components analysis. *Arthritis Res Ther* 2012;14(1): R2.
- 193.** Featherstone C, Jackson SP. Ku, a DNA repair protein with multiple cellular functions? *Mutat Res* 1999 May 14;434(1):3-15.

194. Fisher TS, Zakian VA. Ku: DNA Repair (Amst) 2005 Nov 21;4(11):1215-26.
195. Wodkowski M, Hudson M, Proudman S, Walker J, Stevens W, Nikpour M, et al. Monospecific anti-Ro52/TRIM21 antibodies in a tri-nation cohort of 1574 systemic sclerosis subjects: Clin Exp Rheumatol 2015 Jul;33(4 Suppl 91): S131-S135.
196. Hervier B, Rimbart M, Colonna F, Hamidou MA, Audrain M. Clinical significance of anti-Ro/SSA-52 kDa antibodies: Rheumatology (Oxford) 2009 Aug;48(8):964-7.
197. Hudson M, Pope J, Mahler M, Tatibouet S, Steele R, Baron M, et al. Clinical significance of antibodies to Ro52/TRIM21 in systemic sclerosis. Arthritis Res Ther 2012;14(2): R50.
198. Parker JC, Burlingame RW, Bunn CC. Prevalence of antibodies to Ro-52 in a serologically defined population of patients with systemic sclerosis. J Autoimmune Dis 2009;6:2.
199. Fujii T, Mimori T, Akizuki M. Detection of autoantibodies to nucleolar transcription factor NOR 90/hUBF in sera of patients with rheumatic diseases, by recombinant autoantigen-based assays. Arthritis Rheum 1996 Aug;39(8):1313-8.
200. Imai H, Ochs RL, Kiyosawa K, Furuta S, Nakamura RM, Tan EM. Nucleolar antigens and autoantibodies in hepatocellular carcinoma and other malignancies. Am J Pathol 1992 Apr;140(4):859-70.
201. Dick T, Mierau R, Sternfeld R, Weiner EM, Genth E. Clinical relevance and HLA association of autoantibodies against the nucleolus organizer region (NOR-90). J Rheumatol 1995 Jan;22(1):67-72.
202. Jacobsen S, Ullman S, Shen GQ, Wiik A, Halberg P. Influence of clinical features, serum antinuclear antibodies, and lung function on survival of patients with systemic sclerosis. J Rheumatol 2001 Nov;28(11):2454-9.
203. Nikpour M, Baron M. Mortality in systemic sclerosis: Curr Opin Rheumatol 2014 Mar;26(2):131-7.
204. Domsic RT, Nihtyanova SI, Wisniewski SR, Fine MJ, Lucas M, Kwok CK, et al. Derivation and External Validation of a Prediction Rule for Five-Year Mortality in Patients With Early Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis. Arthritis Rheumatol 2016 Apr;68(4):993-1003.
205. Scussel-Lonzetti L, Joyal F, Raynauld JP, Roussin A, Rich E, Goulet JR, et al. Predicting mortality in systemic sclerosis: French Canadian patients with emphasis on features at diagnosis as predictive factors for survival. Medicine (Baltimore) 2002 Mar;81(2):154-67.
206. Srivastava N, Hudson M, Tatibouet S, Wang M, Baron M, Fritzler MJ. Thinking outside the box--The associations with cutaneous involvement and autoantibody status in systemic sclerosis are not always what we expect. Semin Arthritis Rheum 2015 Oct;45(2):184-9.
207. Aggarwal R, Lucas M, Fertig N, Oddis CV, Medsger TA, Jr. Anti-U3 RNP autoantibodies in systemic sclerosis. Arthritis Rheum 2009 Apr;60(4):1112-8.
208. Nihtyanova S. C. Systemic sclerosis disease subset is a better predictor of long term outcome than autoantibody profile. Arthritis Rheum 2013; 65: S288 (abstract 674). OVD, editor. 2016.
209. Maricq HR. Capillary abnormalities, Raynaud's phenomenon, and systemic sclerosis in patients with localized scleroderma. Arch Dermatol 1992 May;128(5):630-2.
210. Heinze G, Schemper M. A solution to the problem of monotone likelihood in Cox regression. Biometrics 2001 Mar;57(1):114-9.
211. Schemper M, Henderson R. Predictive accuracy and explained variation in Cox regression. Biometrics 2000 Mar;56(1):249-55.

- 212.** Mittlbock M, Schemper M. Computing measures of explained variation for logistic regression models. *Comput Methods Programs Biomed* 1999 Jan;58(1):17-24.
- 213.** Simeon-Aznar CP, Fonollosa-Pla V, Tolosa-Vilella C, Espinosa-Garriga G, Ramos-Casals M, Campillo-Grau M, et al. Registry of the Spanish network for systemic sclerosis: *Semin Arthritis Rheum* 2012 Jun;41(6):789-800.
- 214.** Walker JG, Pope J, Baron M, Leclercq S, Hudson M, Taillefer S, et al. The development of systemic sclerosis classification criteria. *Clin Rheumatol* 2007 Sep;26(9):1401-9.
- 215.** Hamaguchi Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: *J Dermatol* 2010 Jan;37(1):42-53.
- 216.** Patterson KA, Roberts-Thomson PJ, Lester S, Tan JA, Hakendorf P, Rischmueller M, et al. Interpretation of an Extended Autoantibody Profile in a Well-Characterized Australian Systemic Sclerosis (Scleroderma) Cohort Using Principal Components Analysis. *Arthritis Rheumatol* 2015 Dec;67(12):3234-44.
- 217.** Kayser C, Fritzler MJ. Autoantibodies in systemic sclerosis: *Front Immunol* 2015;6:167.
- 218.** Steen V, Medsger TA, Jr. Predictors of isolated pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and limited cutaneous involvement. *Arthritis Rheum* 2003 Feb;48(2):516-22.
- 219.** Hamaguchi Y, Hasegawa M, Fujimoto M, Matsushita T, Komura K, Kaji K, et al. The clinical relevance of serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Br J Dermatol* 2008 Mar;158(3):487-95.
- 220.** Bredemeier M. MRGKRVGPRL Eeal. Nailfold capillary microscopy can suggest pulmonary disease activity in systemic sclerosis. *Journal of Rheumatol* 2004 31, 286-294. 2016.
- 221.** Sato LT, Kayser C, Andrade LE. Nailfold capillaroscopy abnormalities correlate with cutaneous and visceral involvement in systemic sclerosis patients. *Acta Reumatol Port* 2009 Apr;34(2A):219-27.
- 222.** Hunzelmann N, Genth E, Krieg T, Lehmacher W, Melchers I, Meurer M, et al. The registry of the German Network for Systemic Scleroderma: *Rheumatology (Oxford)* 2008 Aug;47(8):1185-92.
- 223.** Arias-Nunez MC, Llorca J, Vazquez-Rodriguez TR, Gomez-Acebo I, Miranda-Filloj JA, Martin J, et al. Systemic sclerosis in northwestern Spain: *Medicine (Baltimore)* 2008 Sep;87(5):272-80.
- 224.** Carles TV, Maria Lluisa MM, Carmen Pilar SA, Begona MA, Dolores CA, Jose Luis CR, et al. Digital ulcers and cutaneous subsets of systemic sclerosis: Clinical, immunological, nailfold capillaroscopy, and survival differences in the Spanish RESCLE Registry. *Semin Arthritis Rheum* 2016 May 18.
- 225.** Sobanski V, Dauchet L, Lefevre G, Lambert M, Morell-Dubois S, Sy T, et al. Prevalence of anti-RNA polymerase III antibodies in systemic sclerosis: New data from a French cohort and a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheumatol* 2014 Feb;66(2):407-17.
- 226.** Hesselstrand R, Scheja A, Wuttge DM. Scleroderma renal crisis in a Swedish systemic sclerosis cohort: RNA polymerase III antibodies as a risk factor. *Scand J Rheumatol* 2012 Feb;41(1):39-43.
- 227.** Hung EW, Mayes MD, Sharif R, Assassi S, Machicao VI, Hosing C, et al. Gastric antral vascular ectasia and its clinical correlates in patients with early diffuse systemic sclerosis in the SCOT trial. *J Rheumatol* 2013 Apr;40(4):455-60.
- 228.** Cutolo M, Pizzorni C, Tuccio M, Burroni A, Craviotto C, Basso M, et al. Nailfold videocapillaroscopic patterns and serum autoantibodies in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2004 Jun;43(6):719-26.
- 229.** Saigusa R, Asano Y, Nakamura K, Miura S, Ichimura Y, Takahashi T, et al. Association of anti-RNA polymerase III antibody and malignancy in Japanese patients with systemic sclerosis. *J Dermatol* 2015 May;42(5):524-7.

- 230.** Shah AA, Hummers LK, Casciola-Rosen L, Visvanathan K, Rosen A, Wigley FM. Examination of autoantibody status and clinical features associated with cancer risk and cancer-associated scleroderma. *Arthritis Rheumatol* 2015 Apr;67(4):1053-61.
- 231.** Nikpour M, Hissaria P, Byron J, Sahhar J, Micallef M, Paspaliaris W, et al. Prevalence, correlates and clinical usefulness of antibodies to RNA polymerase III in systemic sclerosis: Australian cohort. *Arthritis Res Ther* 2011;13(6): R211.
- 232.** Shah AA, Casciola-Rosen L. Cancer and scleroderma: *Curr Opin Rheumatol* 2015 Nov;27(6):563-70.
- 233.** Yoshimi R, Ueda A, Ozato K, Ishigatsubo Y. Clinical and pathological roles of Ro/SSA autoantibody system. *Clin Dev Immunol* 2012;2012:606195.
- 234.** Steen V, Domsic RT, Lucas M, Fertig N, Medsger TA, Jr. A clinical and serologic comparison of African American and Caucasian patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2012 Sep;64(9):2986-94.
- 235.** Peene I, Meheus L, Veys EM, de KF. Diagnostic associations in a large and consecutively identified population positive for anti-SSA and/or anti-SSB: *Ann Rheum Dis* 2002 Dec;61(12):1090-4.
- 236.** Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G, et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. *Autoimmun Rev* 2011 Jan;10(3):150-4.
- 237.** Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M. Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. *Autoimmun Rev* 2009 Jun;8(7):632-7.
- 238.** Mierau R, Moinzadeh P, Riemekasten G, Melchers I, Meurer M, Reichenberger F, et al. Frequency of disease-associated and other nuclear autoantibodies in patients of the German Network for Systemic Scleroderma: *Arthritis Res Ther* 2011;13(5): R172.
- 239.** Dugar M, Cox S, Limaye V, Gordon TP, Roberts-Thomson PJ. Diagnostic utility of anti-Ro52 detection in systemic autoimmunity. *Postgrad Med J* 2010 Feb;86(1012):79-82.
- 240.** Ghillani P, Andre C, Toly C, Rouquette AM, Bengoufa D, Nicaise P, et al. Clinical significance of anti-Ro52 (TRIM21) antibodies non-associated with anti-SSA 60kDa antibodies: *Autoimmun Rev* 2011 Jul;10(9):509-13.
- 241.** Sampaio-Barros PD, Zimmermann AF, Muller CS, Borges CT, Freire EA, Marette GB, et al. Recommendations for the management and treatment of systemic sclerosis. *Rev Bras Reumatol* 2013 May;53(3):258-75.
- 242.** Yamamoto AM, Amoura Z, Johannet C, Jeronimo AL, Campos H, Koutouzov S, et al. Quantitative radioligand assays using de novo-synthesized recombinant autoantigens in connective tissue diseases: RNP antibodies in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 2000 Mar;43(3):689-98.