

Borja del Carmelo Gracia Tello

# Estudio de marcadores inflamatorios asociados a esclerodermia

Departamento  
Medicina, Psiquiatría y Dermatología

Director/es  
Rubio Aranda, Encarnación  
Whyte Orozco, Jaime

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Reconocimiento – NoComercial – SinObraDerivada (by-nc-nd): No se permite un uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas.

© Universidad de Zaragoza  
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



**Universidad**  
Zaragoza

Tesis Doctoral

**ESTUDIO DE MARCADORES INFLAMATORIOS  
ASOCIADOS A ESCLERODERMIA**

Autor

**Borja del Carmelo Gracia Tello**

Director/es

Rubio Aranda, Encarnación  
Whyte Orozco, Jaime

**UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA**

Medicina, Psiquiatría y Dermatología

2019



TESIS DOCTORAL

---

**ESTUDIO DE MARCADORES INFLAMATORIOS  
ASOCIADOS A ESCLERODERMIA**

---

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

**Doctorando:**

Borja del Carmelo Gracia Tello

**Directores:**

Dra. Encarnación Rubio Aranda

Dr. Jaime Whyte Orozco



UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Programa de Doctorado en Medicina, Departamento de Medicina

Zaragoza, 2019



+SAYA



## **AGRADECIMIENTOS**

Antes de iniciar mi tesis doctoral, me gustaría agradecer el verdadero significado de realizar este proyecto. Por encima de un trabajo de largas mañanas, tardes y noches de recogida y análisis de datos hay un propósito superior, que es el intentar mejorar algo la vida de nuestros pacientes. Esta tesis resume un trabajo inmenso en equipo, en el que he podido, a lo largo de las diferentes etapas conocer muchísimo más a mis acompañantes de camino, directores y compañeros de Unidad, pasando de ser meramente un proyecto interminable a muchísimos buenos momentos que, por mucho, han compensado a aquellos malos donde las cosas no parecen salir como uno quiere.

Me gustaría en primer lugar agradecer de todo corazón al apoyo de mi familia, mis padres Florencio y Carmen y mis hermanos, también Florencio y Carmen, pilares de mi vida y ayuda inestimable en todos los momentos. Gracias por vuestra forma de ser y de educar y, por vuestro eterno apoyo en TODO.

Gracias a mis directores de tesis, ya más que directores, amigos que me han sabido aguantar y perdonar, corrección tras corrección, este largo camino recorrido juntos. Gracias Jaime, más que amigo, familia, por esas largas tardes en tu casa leyendo y corrigiendo cada coma y a esas sabias preguntas que hacía cuestionarnos hasta lo más profundo el trabajo realizado. Gracias Encarna también por tu eterna paciencia, tu disposición absoluta y a esas largas tardes de estadística y cálculo calculadora en mano.

Como no mencionar a mis maestros y profesores, que me han ayudado a ser lo que soy y, también, enamorarme de lo que hago. Gracias a mis compañeros de Unidad, Begoña y Adela, y vuestra absoluta disposición y ayuda, primero como adjuntas y ahora como amigas. Gracias Adela por esas tardes de café y charlas sobre medicina y, muchas veces, sobre otras muchas cosas igual o más importantes. Me gustaría también mencionar a mis compañeros de Servicio y a aquellos con los que he tenido el placer de compartir, en muchas ocasiones no sólo trabajo si no una gran amistad. Muy especialmente me gustaría mencionar a Isabel, por su comprensión y apoyo desinteresado sin necesidad de un porqué. Gracias.

Por supuesto quiero agradecer esta tesis doctoral a mis amigos. Muchas gracias Violeta por enseñarme tu optimismo ilimitado y tus fuerzas inagotables. Siempre he pensado y seguiré pensando que a tu lado cualquier persona se vuelve mejor. Como no mencionar también a Joao y nuestros pequeños pasos juntos así como tu fuerza inquebrantable y tu continua demostración de que, aunque la vida te distancie, un amigo siempre está ahí. Gracias a todas aquellas personas como Laurapi, Aibar, Fer, Santi, Alvaro, Nerea, Maria Pilar... y muchísimos mas, con los que he tenido al suerte de compartir partes de mi vida y grandes momentos juntos.

Como olvidarme de los pacientes, principal motivo y motor de todo este trabajo y a su disposición absoluta para todo. Siempre pensando en la mejoría, con esta eterna frase de que intentemos mejorar no sólo a ellas si no a las próximas generaciones. Me gustaría mencionar especialmente a Rafaela y Teresa, ejemplo de lucha poniendo siempre la mejor de las caras a la enfermedad.

Me gustaría finalizar también agradeciendo, por supuesto, a todas aquellas personas que a lo largo de mi vida y, más especialmente, estos últimos años, han intentado hacerme la vida más difícil, Gracias a ellos he podido aprender de cada error y valorar cada caída, para levantarme renovado en fuerzas y con más ganas.

## ABREVIATURAS

ACR: American College of Rheumatology

ACA: anticuerpos anti-centrómero

AE: aire exhalado

AMA: anticuerpos antimitocondriales

ANA: anticuerpos anti-nucleares

Ang-2: angiopoyetina-2

Anti-ER $\alpha$ : anticuerpos antiestrógenos

Anti-Scl-70: anticuerpos anti-topoisomerasa I

ARAMIS: American Rheumatism Association Medical Information System

AREs: antagonistas del receptor de endotelina

ASE: sociedad Americana de ecocardiografía

AT1R: anticuerpos contra el receptor tipo 1 de angiotensina

ATA: anticuerpos antitopoisomerasa I

ATS: Sociedad Torácica Americana

ASIG: Australian Scleroderma Interest Group

AZA: azatioprina

BNP: péptido natriurético atrial

CCD: cateterismo cardíaco derecho

CEICA: Comité Ético de investigación clínica de Aragón

CENP: proteínas centroméricas

CMD: conjunto mínimo de datos

COMP: proteína de la matriz oligomérica del cartílago

CPK: creatina fosfoquinasa sérica

CRE: crisis renal esclerodérmica

CSRG: grupo canadiense de esclerodermia

CTGF: factor de crecimiento de tejido conectivo

CVF: capacidad vital forzada

DETECT: detection of PAH in SSC

DLCO: capacidad de difusión de monóxido de carbono

ECG: electrocardiograma

ELF: prueba de fibrosis hepática

ELISA: ensayo inmunoenzimático específico

EPI: enfermedad pulmonar intersticial

ERS: Sociedad Europea de Respiratorio

ES: esclerodermia o esclerosis sistémica

ESC: Sociedad Europea de Cardiología

ESd: esclerodermia difusa

ESI: esclerodermia limitada

ETAR: receptor tipo A de endotelina

EULAR: European League Against Rheumatism

EUSTAR: EULAR Scleroderma Trials and Research

FeNO: fracción exhalada de óxido nítrico

FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo

FEV1: fracción espirada en el primer segundo

FR: fenómeno de Raynaud

FVC: capacidad vital forzada

GI: gastrointestinal

GREC: grupo de trabajo para el estudio de la capilaroscopia

HAP: hipertensión arterial pulmonar

HP: hipertensión pulmonar

IBP: inhibidor de la bomba de protones

IC: intervalo de confianza

ICAM: moléculas de adhesión intercelular

IECAs: inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina

IFI: inmunofluorescencia indirecta

IFP: articulaciones interfalángicas proximales

IFN: interferon

IL: interleuquina

IMC: índice de masa corporal

IMMS: índice del estado músculo-esquelético

IT: Velocidad máxima de regurgitación válvula tricuspídea

KCO: cociente de la DLCO entre el volumen alveolar

MCF: articulaciones metacarpofalángicas

NINE: neumopatía intersticial no específica

mRSS: escala modificada de Rodnan

NO: óxido nítrico

OMS: Organización Mundial de la Salud

OR: odds ratio

PAPm: presión arterial pulmonar media

PAPs: presión arterial pulmonar sistólica

PCP: presión capilar pulmonar

PCR: proteína C reactiva

PDE-5: fosfodiesterasa 5

PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas

PDGFR: receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas

PFR: pruebas de función respiratoria

RESCLE: registro español de esclerodermia

RM: resonancia magnética

RNP: anticuerpos antiRNP polimerasa

SEIC: Sociedad Española de imagen cardíaca

SEPAR: Sociedad española de Neumología y Cirugía Torácica

SN: sistema nervioso

SPSS: statistical package for the social sciences

TACAR: tomografía computerizada de alta resolución

TAPSE: desplazamiento del anillo tricuspídeo

TC: tomografía computarizada

TGF- $\alpha$ : factor de crecimiento transformante-alfa

TGF- $\beta$ : factor de crecimiento transformante-beta

Th2: linfocitos T helper 2

TIMP-1: inhibidor 1 de la metalopeptidasa

TLC: capacidad pulmonar total

TLR: receptores toll-like

UD: úlceras digitales

VD-AD: gradiente ventrículo derecho-aurícula derecha

VSG: velocidad de sedimentación globular

VCAM1: moléculas de adhesión vascular 1

VRT: velocidad de regurgitación tricuspídea



Agradecimientos.....	5
Abreviaturas.....	7
Índice.....	13
Resumen.....	17
<b>1. Introducción.....</b>	<b>21</b>
Definición.....	21
Historia.....	21
Epidemiología y susceptibilidad genética.....	22
Etiopatogenia.....	23
Proceso inflamatorio autoinmune	
Disfunción microvascular	
Fibrosis tisular	
Histopatología.....	25
Tipos celulares	
Mediadores solubles	
Clasificación de la esclerodermia.....	31
Manifestaciones clínicas.....	34
Manifestaciones generales	
Manifestaciones cutáneas	
Afectación gastrointestinal	
Afectación pulmonar	
Afectación cardíaca	
Afectación músculo-esquelética	
Afectación renal	
Afectación del sistema nervioso	
Tratamiento.....	39
Evolución y mortalidad.....	42
Morbilidad cardio-pulmonar.....	45
Instrumentos para medir la actividad de la Esclerodermia.....	47
Escala clínica	

<b>2. Justificación del estudio y objetivos</b> .....	73
<b>3. Material y métodos</b> .....	77
Diseño del estudio.....	77
Definición de las variables.....	78
Manifestaciones clínicas.....	79
Pruebas complementarias.....	80
Análisis estadístico.....	88
Confidencialidad y anonimato.....	89
<b>4. Resultados</b> .....	93
Antecedentes del estudio.....	94
Datos sociodemográficos y antecedentes médicos.....	94
Clasificación de pacientes.....	96
Manifestaciones clínicas previas al estudio.....	97
Desarrollo del estudio: resultados del seguimiento.....	98
Manifestaciones clínicas durante el seguimiento.....	99
Pruebas complementarias realizadas durante el seguimiento.....	102
Capilaroscopia.....	102
Manometría esofágica.....	104
Ecocardiografía transtorácica.....	106
Radiografía de tórax.....	109
Tomografía axial computerizada de alta resolución.....	111
Prueba de función respiratoria.....	112
Parámetros analíticos.....	114
Tratamiento.....	115
Evaluación de los marcadores inflamatorios.....	117
Validez interna y externa de los marcadores inflamatorios.....	120
Estudio evolutivo.....	142
<b>5. Discusión</b> .....	171
<b>6. Conclusiones</b> .....	201
<b>7. Bibliografía</b> .....	205
<b>8. Anexos</b> .....	249

## *RESUMEN*



La Esclerodermia es una enfermedad autoinmune rara, poco prevalente, con gran impacto en la calidad de vida y en la supervivencia de los pacientes, debido a la gravedad de algunas de sus manifestaciones clínicas y su mal pronóstico. Existen múltiples factores serológicos, analíticos y escalas, pero hasta la actualidad ninguno de ellos es suficiente para la detección precoz de las principales manifestaciones de la enfermedad y su consecuencia es el retardo en el inicio terapéutico.

El propósito de este estudio es analizar diferentes marcadores inflamatorios (interleuquina-6, velocidad de sedimentación globular y proteína C reactiva) de forma individual y en combinación como potenciales biomarcadores de actividad de Esclerodermia y definir un valor para cada uno de los marcadores estudiados que permita la detección de la actividad clínica medida mediante diferentes pruebas complementarias (prueba de función respiratoria, ecocardiografía y escala de actividad clínica EUSTAR).

Para ello se diseñó un estudio observacional longitudinal prospectivo de 56 pacientes mayores de 18 años diagnosticados de esclerodermia del Servicio de Medicina Interna del Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa" de Zaragoza, en el período comprendido entre enero de 2015 y junio de 2017. Fueron criterios de exclusión, padecer preesclerodemia, neoplasia activa y/ infección crónica activa y tener dependencia física o mental que impidiese el seguimiento ambulatorio.

En cada consulta se valoró la clínica así como los parámetros de ecocardiograma, función respiratoria y analítica obtenidos con un plazo máximo de un mes de diferencia. Tras el análisis descriptivo y bivalente de las variables analizadas, los valores de los marcadores analizados (IL-6, VSG y PCR) se dicotomizaron para distintos puntos de corte y se calcularon las OR y sus IC95% entre estas nuevas variables y las variables de mayor relevancia clínica así como su validez interna y externa mediante el análisis de sensibilidad, especificidad y razón de verosimilitud positiva y negativa. Finalmente, se realizó un estudio de supervivencia mediante curvas de Kaplan-Meier y el test de log Rank, una vez comprobado que se cumplían la condición de riesgos proporcionales.

No se han detectado diferencias entre los niveles de marcadores inflamatorios a lo largo del tiempo, lo que nos hace pensar que el nivel de los mismos depende de la actividad de la enfermedad y no de su tiempo de evolución.

Se ha observado una asociación significativa entre las principales manifestaciones clínicas y analíticas de la esclerodermia y el aumento de los marcadores inflamatorios analizados. De esta forma, la interleuquina-6 presenta niveles elevados de sensibilidad, siendo valores por encima de 2 pg/ml útiles para detectar afectación cardio-pulmonar y/o actividad clínica. Complementariamente, la velocidad de sedimentación globular y la proteína C reactiva presentan altos niveles de especificidad, lo que permite ayudar a descartar la presencia de afectación sistémica.

Es de destacar que el análisis de supervivencia muestra que los pacientes con valores de interleuquina-6 por encima de 2 pg/ml y proteína C reactiva mayor a 1 mg/dl presentarán manifestaciones clínicas en un tiempo medio inferior a un año. Si a esta combinación le añadimos valores de VSG mayores a 40 mm/h, el tiempo medio en presentar afectación cardio-pulmonar es inferior a 9 meses.

De nuestros datos podríamos concluir que el uso combinado de estos biomarcadores en la práctica clínica justificaría modificar los plazos establecidos en la realización de las diferentes pruebas complementarias con la finalidad de establecer un diagnóstico precoz e iniciar un tratamiento temprano.

De esta forma, valores de interleuquina-6 por encima de 2 pg/ml presentaron alta sensibilidad, siendo útiles para detectar afectación cardio-pulmonar y/o actividad clínica. Complementariamente, la velocidad de sedimentación globular y la proteína C reactiva presentaron alta especificidad, lo que pueden ayudar a descartar la presencia de afectación sistémica.

# *INTRODUCCIÓN*



La esclerosis sistémica o esclerodermia (ES) es una enfermedad sistémica que se caracteriza por alteraciones vasculares, inmunológicas y una acumulación excesiva de los componentes del tejido conectivo que provocan engrosamiento cutáneo y la fibrosis de diferentes órganos como los pulmones, el corazón y el tubo digestivo (1). En su etiología participan numerosos factores entre los que destacan por su relevancia, los autoanticuerpos contra varios antígenos celulares, las alteraciones vasculares y la fibrosis. (2)

La ES presenta una expresividad clínica muy variable. Su pronóstico difiere enormemente dependiendo del subtipo clínico por lo que, aunque la mayoría de los enfermos tienen una supervivencia prolongada, otros experimentan un curso progresivo. Por este motivo, Johnson et al (3) y Varga et al (4) abogaron por unos criterios de clasificación útiles no sólo para diagnosticar a los enfermos sino también para establecer los diferentes subtipos pronósticos.

A pesar de la clasificación en subtipos, es evidente que las manifestaciones clínicas se superponen entre ellos y que otros condicionantes como el perfil de autoanticuerpos y nuevos biomarcadores, se relacionan con la aparición de determinadas manifestaciones clínicas.

### HISTORIA

El término esclerodermia, proviene del griego “sklerós” y “dérma”, que significa piel endurecida. Las primeras descripciones, aunque vagas y muy poco detalladas, son de pacientes que aparecen en los aforismos de Hipócrates (460-370 a.C) (5), y en sus «Traité épidémies», donde se menciona el caso de un ateniense cuya piel se encontraba tan indurada que no podía ser pinzada; por su parte, Galeno (131-201 d.C) (6), en su «Traité de therapeutique» mencionó una enfermedad la cual denominó «stegnose», descrita como un tipo de obstrucción de los poros de la piel con engrosamiento, manchas blancas, pigmentación y ausencia de glándulas sudoríparas. Sin embargo, estas descripciones fueron simples y vagas, lo que hace muy difícil confirmar que estos pacientes tuvieron esclerodermia. Se considera que Carlo Curzio que, en 1753 (7), el primero en describir un caso sugestivo de la enfermedad, sobre una paciente de 17 años con endurecimiento de la piel, especialmente del cuerpo y la cara. No fue hasta mitades del siglo XIX cuando el término esclerodermia se estableció como una entidad clínica y se comenzó a nombrarla así tras una descripción de 4 casos realizada por Gintrac en 1847 (8).

## EPIDEMIOLOGÍA Y SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA

Los resultados de los estudios de prevalencia e incidencia en ES son contradictorios debido a la gran variabilidad metodológica en la verificación de la información, así como de las diferentes herramientas geográficas de medición. Los datos disponibles indican una prevalencia comprendida entre los 50 y los 300 casos por millón de personas y la incidencia se encuentra comprendida entre 2,3 y 22,8 casos por millón de personas/año (9). Las mujeres presentan un riesgo mucho más elevado que los hombres, con un ratio comprendido entre 3:1 y 14:1 y se ha descrito una susceptibilidad ligeramente aumentada entre la población negra (10,11). Ya en 1999, Englert et al (12) describieron como la agrupación familiar de la enfermedad, la alta frecuencia de otras enfermedades autoinmunes en pacientes con Esclerodermia y las diferencias en la incidencia y prevalencia entre diferentes razas y grupos étnicos sugieren que factores genéticos contribuyen en la Esclerodermia. Más recientemente, Agarwal et al (13) en 2008 sugirieron la asociación de determinados polimorfismos relacionados con la codificación de citoquinas, receptores de citoquinas, quimiocinas y proteínas extracelulares en relación con la patogenia de la enfermedad. Muchas de esas variantes han sido unidas a cohortes de pacientes, aunque pocas han sido confirmadas de forma independiente. Loubière et al (14) evidenciaron la implicación de ciertas moléculas del HLA clase II con determinados fenotipos y autoanticuerpos de ES. De forma conjunta, estas referencias apoyan la teoría de que la Esclerodermia no es una enfermedad definida sino más bien un síndrome que puede abarcar diferentes fenotipos.

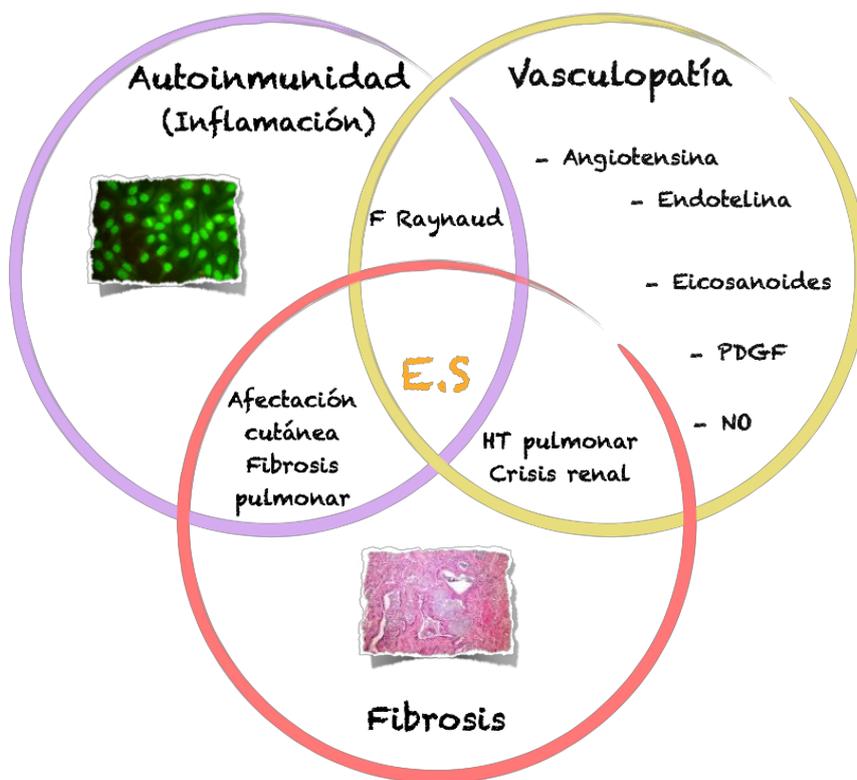
Se ha demostrado como determinados factores ambientales (virus, drogas, sílice y cloruro de vinilo) pueden inducir clínicamente fenotipos similares a los encontrados en Esclerodermia (15).

Los estudios de Nelson et al (16) y Artlett et al (17) apuntan hacia la teoría de que, durante el embarazo, linfocitos fetales y/o maternos pueden cruzar la barrera placentaria e iniciar un proceso que culmina con la aparición de Esclerodermia. Estos autores se basan en la existencia de datos clínicos, serológicos e histopatológicos similares entre la Esclerodermia y la enfermedad crónica de injerto contra huésped y la presencia de células alogénicas tanto en sangre periférica como en biopsia de piel de pacientes con Esclerodermia.

## ETIOPATOGENIA:

Clásicamente se ha definido la enfermedad como la afectación de diferentes vías: autoinmunidad, vasculopatía y, por último, fibrosis (Figura 1.1).

Figura 1.1 Etiopatogenia de Esclerodermia.



Editado de presentación Dr Espinosa (2012) y editado de Zimmermann et al (18).

### 1. Proceso inflamatorio autoinmune

La esclerodermia está asociada con varios autoanticuerpos, algunos de los cuales son marcadores diagnósticos importantes. Sin embargo, a pesar de que está ampliamente demostrado que los autoanticuerpos se correlacionan con la gravedad de la enfermedad y el riesgo de complicaciones específicas de órganos, su relevancia patogenética no está clara (Tabla 1.1)

Tabla 1.1. Anticuerpos y principales hallazgos clínicos.

<i>Anticuerpo</i>	<i>Hallazgos clínicos</i>
<i>Anti-topoisomerasa I</i>	Esclerodermia difusa
<i>Anticentrómero</i>	Esclerodermia limitada
	Hipertensión Pulmonar
<i>Anti-RNA polimerasa I/II</i>	Esclerodermia difusa

<i>Antipolmiositis</i>	Afectación renal
	Polimiositis
	Calcinosis
<i>Antifibrilarina (U3RNP)</i>	Esclerodermia difusa
	Afectación visceral
<i>Anti-Th/To</i>	Esclerodermia limitada
	Fibrosis pulmonar

Editado de Gabrielli et al (2).

Sin embargo, han sido descritos nuevos autoanticuerpos con diferentes roles en la patogenicidad de la enfermedad (2,19,20).

Tabla 1.2 Anticuerpos y papel patogénico.

<i>Anticuerpo</i>	<i>Papel patogénico</i>
<i>Células anti-endotelina</i>	Induce apoptosis de células endoteliales
<i>Anti-FBN 1</i>	Activa fibroblastos
<i>Anti-MMP 1 y 3</i>	Previene la degradación de proteínas de la matriz extracelular
<i>Anti-PDGFR</i>	Estimula la formación de fibroblastos
<i>Anti-Nag-2</i>	Induce la apoptosis de las células endoteliales

Editado de Gabrielli et al (2) y Baroni et al (19).

## 2. Disfunción microvascular

El daño vascular es un evento precoz en los pacientes con Esclerodermia. Este precede a la fibrosis y afecta fundamentalmente a los pequeños vasos, fundamentalmente las arteriolas (21,22) El daño vascular ocurre prácticamente en la totalidad de los órganos (23,24) y consiste fundamentalmente en grandes rupturas entre las células endoteliales, la pérdida de integridad del revestimiento endotelial y la vacuolización del citoplasma en las células endoteliales. Además, hay infiltrados perivascuales de células mononucleares, con linfocitos anómalos, en las paredes de los vasos así como lesiones oclusivas vasculares y rarefacción de los capilares (21,22,25,26). La desaparición con escasez de la microvasculatura es un hallazgo característico en etapas tardías de la enfermedad.

A pesar de la pérdida progresiva de vasos sanguíneos y los elevados niveles en plasma de factores de crecimiento endotelial (27,28) causados por la respuesta adaptativa a la hipoxia, hay un déficit marcado de la vasculogénesis (29–31). El

mecanismo molecular de este proceso es desconocido aunque diversos factores angiogénicos (27,28) y angiostáticos (31–33) detectado en las fases iniciales de la Esclerodermia podrían jugar un papel importante en el proceso. Por ejemplo, citoquinas proinflamatorias como el Factor Necrótico Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) podría estimular o inhibir la angiogénesis dependiendo de la duración del estímulo (34).

### 3. Fibrosis tisular

La fibrosis reemplaza gradualmente a la inflamación vascular y finalmente interrumpe la arquitectura del tejido afectado. Es la causa de los principales síntomas de la enfermedad. La fibrosis en la piel comienza en la capa reticular o profunda y la capa areolar (más externa de la piel) y ocurre junto con pérdida de microvasculatura, reducción de anejos de la piel, y la pérdida de la estructura reticular.

La composición de la matriz acumulada varía con la etapa de la enfermedad. Una mezcla de diferentes tipos de colágeno, proteoglicanos, y fibras elásticas incluyendo fibrilina es típico de las primeras etapas, mientras que el colágeno tipo I se acumula en etapas posteriores (35,36).

## HISTOPATOLOGÍA

La Esclerodermia es una enfermedad compleja en la que intervienen distintos tipos celulares y a su vez, producen moléculas solubles que participan en las diferentes etapas de la enfermedad.

### 1. Tipos celulares

#### 1. Células endoteliales.

Las células endoteliales se afectan de forma precoz en la Esclerodermia (37). En biopsias de estadíos iniciales es posible ya visualizar apoptosis de células endoteliales o cambios en el fenotipo del endotelio en ausencia de proliferación celular o diferenciación (31,38,39). La movilización de células precursoras desde la médula ósea está relacionada con la severidad de la enfermedad, aunque el reclutamiento de estas células en sangre periférica no ha demostrado asociación con la esclerodermia (40). La interacción de las formas precursoras de células

endoteliales con plaquetas y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) es esencial para la maduración y el reclutamiento de precursores endoteliales (41).

Las células endoteliales son las únicas células de tipo mesenquimal que sufren apoptosis en fases iniciales de la Esclerodermia (42).

## 2. Pericitos y células de la musculatura lisa.

La capa subendotelial o espacio perivascular es un área predilecta para la presencia de lesiones en la Esclerodermia lo que conlleva el engrosamiento progresivo de la pared y la infiltración perivascular lo que pone de manifiesto la intervención de las células de la musculatura lisa y los pericitos.

Los pericitos tienen el potencial para diferenciarse en células vasculares de músculo liso, fibroblastos y miofibroblastos (células contráctiles especializadas que expresan  $\alpha$ -actina de músculo liso y una variante de fibronectina) (43,44) e influir en la proliferación de las células endoteliales (45). Un aumento del grosor de la pared vascular causado por la proliferación de células de músculo liso indica que estas células están respondiendo a una lesión inducida por Esclerodermia.

En las lesiones en fases iniciales y en pacientes con fenómeno de Raynaud y anticuerpos antinucleares los pericitos sobreexpresan varios receptores de citoquinas, incluido el receptor de PDGF (PDGFR) (46) produciendo una proliferación celular que contribuye a aumentar el grosor de la pared (47).

## 3. Fibroblastos

Los fibroblastos parecen dirigir la producción, depósito y la remodelación de colágeno y otros componentes de la matriz extracelular. Los fibroblastos en la esclerodermia pueden convertirse a miofibroblastos (48) y sobreexpresar múltiples citoquinas, como el factor de crecimiento transplacentario- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), proteínas quimioestimuladoras de monocitos, y receptores de TGF- $\beta$  (49). Además, los fibroblastos de los pacientes con Esclerodermia contienen un exceso de radicales libres de oxígeno que perpetúan el daño celular.

El origen de la activación de los fibroblastos tanto en la piel como en los órganos internos todavía no está aclarado. Las principales teorías que se debaten son la propia activación local o su creación de *novo* a partir de pericitos, células madre mesenquimales o células progenitoras (por ejemplo fibrocitos) reclutadas de la circulación (50).

#### 4. Células mononucleares

El infiltrado celular en los estadios iniciales de la Esclerodermia consiste principalmente en linfocitos B y T, macrófagos, y mastocitos. Los principales linfocitos T involucrados en las lesiones de piel son CD4+ (51), predominantemente tipo 2 (Th2) (52). Estas características son paralelas al aumento de los niveles séricos de citoquinas derivadas de células Th2 (53,54). Los linfocitos B CD20 también forman parte de la patogenia en la Esclerodermia (55) ya que pueden contribuir a la fibrosis mediante la secreción de Interleuquina-6 (IL-6) y TGF- $\beta$  (56,57) así como también la producción de autoanticuerpos.

#### 5. Componentes de la matriz extracelular y sus receptores

El hallazgo distintivo de la esclerodermia es la deposición excesiva de componentes de matriz extracelular, causada por sobreproducción de colágeno y otras glicoproteínas como por ejemplo la fibronectina y la fibrilina (58,59).

Las moléculas de matriz extracelular modulan la respuesta mediante la regulación de la actividad de las citoquinas y diferentes factores de crecimiento. Por ejemplo, la interacción de TGF- $\beta$  y fibrilina es necesaria para la activación de los fibroblastos en esclerodermia. La matriz extracelular también proporciona puntos de adhesión, que son unidos por integrinas y receptores transmembrana conectando el entorno de la matriz extracelular al citoesqueleto, mediando de ese modo en el exterior. Así, por ejemplo, la Integrina  $\alpha 1\beta 1$  provoca señales para regular negativamente la síntesis de colágeno por fibroblastos; sin embargo, los pacientes con Esclerodermia presentan en la superficie niveles disminuidos de integrina  $\alpha 1\beta 1$ , lo que conlleva finalmente un aumento de la síntesis de colágeno (60).

De forma complementaria, Asano et al (61) y Mimura et al (62) observaron que la disregulación entre diferentes integrinas y las moléculas de matriz extracelular determinaban la actividad de múltiples citoquinas y factores de crecimiento proporcionando un entorno que amplificaba la activación celular y, por lo tanto, la posterior fibrosis.

## 2. Mediadores solubles

### 1. Citoquinas y factores de crecimiento

Análisis genómicos de biopsias de piel de muestras obtenidas en pacientes con Esclerodermia han proporcionado evidencia directa de la participación de citoquinas en la activación de fibroblastos. A pesar de las limitaciones por la heterogeneidad de estos estudios, los datos parecen indicar cambios sistémicos en la transcripción génica en células endoteliales, fibroblastos, linfocitos B y T en pacientes con Esclerodermia tanto si hay afectación cutánea como si no (55). Entre los principales factores involucrados destacan:

- TGF- $\beta$ : Es una potente citoquina profibrótica (63). Whitfield et al (55) mostraron que un grupo de genes dependientes para TGF- $\beta$  estaban sobreexpresados en pacientes con lesiones cutáneas. Es también un inductor potente de miofibroblastos y modula la expresión de varios receptores de citoquinas, incluyendo los receptores para TGF- $\beta$  y PDGF (49,64).
- PDGF: Está relacionado con la cicatrización y la fibrosis. Anticuerpos contra PDGFR se encuentran en el suero de pacientes con esclerodermia. Existe una fuerte influencia del PDGF en la transición de pericitos a fibroblastos (48). De igual manera, se han encontrado niveles elevados de PDGF y de su receptor beta en lesiones cutáneas de pacientes con esclerodermia (65,66). De forma adicional, diversos estudios sugieren que inhibidores de PDGF pueden tener beneficio terapéutico en el desarrollo de fibrosis (67,68).
- Otras citoquinas y sustancias: Muchas citoquinas han sido implicadas en la angiogénesis, angiostasis, fibrosis e inflamación localizada en la esclerodermia (69–71). Sin embargo, hasta la fecha, no hay ninguna evidencia que permita conectar los niveles y la actividad de estas

citoquinas a una o más características clínicas o hallazgos patológicos en pacientes con Esclerodermia (Tabla 1.3).

Tabla 1.3. Citoquinas, Factores de crecimiento y otras sustancias involucradas en la patogénesis de la Esclerodermia.

	Origen	Relevancia patogénica	Expresión en Esclerodermia
<i>Interleuquina-1</i>	Macrófagos, monocitos	Induce producción de IL-6 y PDGF- $\alpha$ por los fibroblastos	Expresado en fibroblastos de la piel.
<i>Interleuquina-4</i>	Linfocitos Th2	Estimula la proliferación de fibroblastos, quimiotaxis y la síntesis de colágeno. Estimula además la producción de TGF- $\beta$ , CTGG y TIMP-1 así como regula la expresión de moléculas de adhesión por las células endoteliales.	Niveles aumentados en suero.
<i>Interleuquina-6</i>	Fibroblastos, macrófagos, células endoteliales, Células B, Células T	Estimula la formación de colágeno y la síntesis de TIMP-1. Promueve una respuesta inmune anómala de las células Th2	Niveles incrementados en suero y en tejidos.
<i>Interleuquina-8</i>	Macrófagos alveolares, Fibroblastos en pulmón y piel	Actúa como un potente activador de neutrófilos. Promueve la formación de fibroblastos.	Elevado en suero, piel y fluidos de lavado broncoalveolar.
<i>Interleuquina-10</i>	Células B activadas, monocitos	Promueve una respuesta inmune Th2 que induce la síntesis de colágeno	Elevado en suero.
<i>Interleuquina-13</i>	Linfocitos Th2	Induce fibrosis mediante mecanismos tanto dependientes como independientes de TGF- $\beta$	Elevado en suero
<i>Interleuquina-17</i>	Linfocitos Th1 y Th2	Induce la proliferación de fibroblastos, la producción de colágeno, IL-6, PDGF por aumento de la producción de TNF- $\alpha$ por los macrófagos y la IL-1 Incrementa la expresión de IL-6	Elevado en suero. Sobreexpresado en piel.
<i>TGF-<math>\beta</math></i>	Macrófagos, Fibroblastos, Células T y células B, plaquetas y células endoteliales	Induce la proliferación de fibroblastos y la producción de endotelina-1 Estimula la síntesis de colágeno, fibronectina, proteoglicanos. Estimula la expresión de receptores TGF- $\beta$ y PDGF	Elevado en la piel en algunos estudios
<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	Macrófagos, Células T y B, Células endoteliales, fibroblastos, Células músculo liso de endotelio vascular	Estimula respuesta profibrótica y antifibrótica, dependiente de las condiciones experimentales	Estudios contradictorios.

Editado de Takehara 2003 (72)

La endotelina-1 actúa junto con TGF- $\beta$  para convertir fibroblastos en miofibroblastos. Se ha demostrado un efecto beneficioso con el uso de inhibidores de los receptores de endotelina-1 en pacientes afectados de Esclerodermia con Hipertensión Pulmonar al bloquear la sobreestimulación de TGF- $\beta$  (72,73).

## 2. Estrés oxidativo

Los niveles elevados de sustancias secundarias al estrés oxidativo han sido directa o indirectamente implicados en la esclerodermia (74–76) Además, parece ser específico ya que en casi todas las enfermedades inflamatorias, el aumento en los niveles de sustancias secundarias al estrés oxidativo es una consecuencia directa de la activación de células mononucleares de la sangre (77). Sin embargo, en la esclerodermia los altos niveles de estrés oxidativo en las células mesenquimales, parecen ser relativamente independientes del estado inflamatorio, persistiendo *in vitro* en ausencia de factores de crecimiento y citoquinas, lo que conlleva un daño celular e induce daño al material genético (78).

Además, los radicales libres tienen efectos profibrogénicos en los fibroblastos (74–81), y contribuyen a la liberación de los mediadores implicados en la formación de fibrosis (82,83).

Con los antecedentes vistos, la enfermedad se iniciaría con la lesión microvascular, caracterizada por el daño de las células endoteliales, la proliferación de las capas de la lámina basal y la activación de células mononucleares. Así pues, al inicio, las células endoteliales presentan un aumento de apoptosis secundarios al estrés oxidativo generado tanto dentro de la luz vascular (75,84) como dentro de la propia célula, a través de la activación de macrófagos, fibroblastos, células de la musculatura lisa... en respuesta a uno o más agentes nocivos. Aunque bajos niveles de estrés oxidativo son incluso necesarios para el correcto funcionamiento celular, en esta etapa la producción es excesiva, lo que finalmente conlleva un daño tanto funcional como estructural al activar las células mesenquimales locales que inducen quimiotaxis, proliferación celular y la liberación de múltiples citoquinas que amplifican el foco

inflamatorio (85). En este estadio, los niveles de estrés oxidativo se mantienen elevados por diferentes circuitos autocrinos, perpetuando el daño celular y finalmente, vascular, iniciándose la clínica. Si este daño se mantiene, se inicia la etapa de fibrosis en la que se produce alteración de la arquitectura visceral secundaria, rarefacción de los vasos sanguíneos y, secundariamente, hipoxia tisular (86) que contribuye al mantenimiento de la fibrosis.

### CLASIFICACIÓN DE LA ESCLERODERMIA

La clasificación de ES es motivo constante de revisión y de investigación clínica (4,87). El American College of Rheumatology desarrolló en 1980 los criterios preliminares para la clasificación de la ES que durante años se han utilizado para diagnosticar la enfermedad.

El objetivo de esta clasificación fue establecer unos criterios homogéneos para poder clasificar en los diferentes centros, enfermos con unas mismas características que inequívocamente estuviesen afectados de ES. Los criterios preliminares fueron establecidos en base a un estudio multicéntrico prospectivo en los que se incluían sólo enfermos adultos diagnosticados de ES como máximo 2 años antes del inicio del estudio. Los pacientes se subdividían en 3 categorías: definida, probable o temprana y solapamiento (88). Se consiguió una sensibilidad del 97% y especificidad del 98%, si se cumplía el criterio mayor (esclerosis cutánea proximal a metacarpofalángicas) o dos de los criterios menores seleccionados (esclerodactilia, cicatrices puntiformes en pulpejos, fibrosis pulmonar bilateral) (88). Posteriormente, estos criterios propuestos fueron externamente validados estudiando 1.330 controles y comparándolos con 3.656 pacientes registrados en ARAMIS (American Rheumatism Association Medical Information System) (89).

Sin embargo, esta clasificación presentaba limitaciones significativas como la exclusión de un número no desdeñable de enfermos con ES limitada, su sensibilidad diagnóstica disminuía notablemente en el diagnóstico precoz, no servía para establecer diferentes grupos clínicos y pronósticos y, finalmente, otras enfermedades con afectación cutánea similar (fascitis eosinofílica, morfea localizada...) podían cumplir criterios de ES establecida.

Dadas las limitaciones de los criterios de clasificación propuestos en 1980, durante los siguientes años se desarrollaron nuevos criterios de clasificación hasta que, en el año 1988, tras un extenso debate se aceptó la Clasificación de Leroy (1) en la que los enfermos se dividían fundamentalmente en 2 tipos: Esclerodermia limitada (ESI) y Esclerodermia difusa (ESd). Estos subtipos se etiquetaban dependiendo de la extensión de la esclerosis cutánea (Tabla 1.4).

Tabla 1.4. Clasificación Leroy 1988 (1).

Características	Esclerodermia limitada	Esclerodermia difusa
<b>F. Raynaud</b>	Años	< 1 año
<b>Esclerodermia</b>	Distal a codos y rodillas Ausente	Distal y proximal* codos y rodillas
<b>Manifestaciones clínicas</b>	HAP Telangiectasias Calcinosis	Afec visceral temprana EPI, CRE, GI, Cardíaca Roces tendinosos
<b>Pérfil inmunológico</b>	70-80% Anticentrómero (ACA)	30% Antitopoisomerasa I (ATA) Ausencia de ACA
<b>Capilaroscopia</b>	Dilataciones capilares	Pérdida capilar
<b>Pronóstico</b>	Favorable	Desfavorable

Editado de Presentación clínica Congreso Medicina Interna 2014. Dra Simeón-Aznar.

Las principales limitaciones de esta escala fueron: la ausencia de un método semicuantitativo de valoración de la esclerosis cutánea (90) y la exclusión de una serie de características clínicas, capilaroscópicas e inmunológicas que podrían describir mejor los diferentes subtipos.

Por tanto, en el año 2001 se revisó esta escala por los mismos autores realizando una modificación (91) en la que incluían otros nuevos tipos de ES: La esclerodermia en fases precoces o preesclerodermia y la Esclerodermia “sin esclerodermia” (tabla 1.5)

Tabla 1.5. Clasificación de la esclerodermia según los criterios de Leroy/Medsger 2001 (91).

Esclerodermia	Cutánea limitada	Cutánea Difusa	Sin esclerodermia	Pre esclerodermia
<b>Fenómeno de Raynaud</b>	Años	< 1 año	+/-	+
<b>Afectación cutánea</b>	Distal a codos y rodillas	Proximal a codos y rodillas. Roces tendinosos.	Sin esclerosis cutánea	
<b>Afectación visceral</b>	HTP tardía, calcinosis, GI 70-80%	Renal, GI difusa, EPID, miocárdica precoz	EPID, GI, renal	
<b>Anticentrómero</b>	+ 70-80%	-	+	+
<b>Antitopoisomerasa I</b>	-	+ 30%	+	+
<b>Capilaroscopia</b>	Dilatación con escasa pérdida capilar.	Pérdida de capilares	+/-	Dilatación y escasa pérdida capilar

En el año 2012 se presentó en el congreso anual del American College of Rheumatology (ACR) una propuesta en la que los grupos European League Against Rheumatism (EULAR) y ACR, de forma conjunta, seleccionaron unos nuevos criterios de clasificación de ES con el objetivo de poder identificar al máximo número de pacientes y reconocerlos de forma precoz. Fue publicada en 2013 (87,92,93). En esta escala, utilizando métodos de consenso, se definieron 13 ítems o subítems ponderados con diferentes puntuaciones (tabla 1.6).

Tabla 1.6. Criterios de clasificación de la Esclerosis Sistémica 2013 ACR/EULAR (93).

Ítem	Sub-ítem (s)	Puntos
Esclerosis cutánea de los dedos de ambas manos que se extiende sobrepasando las articulaciones metacarpofalángicas (MCF) (criterio suficiente)	-	9
Esclerosis de dedos (sólo se cuenta la puntuación más alta)	“Puffy fingers” “en salchicha” Esclerodactilia (distal MCF y proximal IFP)	2 4
Lesiones en las puntas de los dedos (sólo se cuenta la puntuación más alta)	Úlceras digitales (distal a IFP) “pitting” “mordedura de rata”	2 3
Telangiectasias (máculas redondas, no arañas vasculares)	-	2
Alteraciones capilaroscópicas (Dilatación y/o pérdida capilar)	-	2
Hipertensión Arterial Pulmonar y/o Enfermedad Pulmonar Intersticial (máxima puntuación 2)	Hipertensión Arterial Pulmonar (CCD) Enfermedad Pulmonar Intersticial (Tc, Rx o crepitantes en “velcro”)	2 2
Fenómeno de Raynaud	-	3
Autoanticuerpos relacionados con SSc (anticentrómero, anti-topoisomerasa I (anti-Scl-70), anti-RNA polimerasa III) (máxima puntuación 3)	Anticentrómero Anti-topoisomerasa I Anti-RNA polimerasa III	3
La puntuación total se determina sumando las puntuaciones máximas de cada categoría Pacientes con puntuación ≥ 9 son clasificados de SSc definida		
Criterios de exclusión: 1) Esclerodermia sin esclerodactilia 2) Síndromes esclerodermiformes		

Los criterios han sido validados en diferentes cohortes de enfermos afectados de ES y de otras conectivopatías, evidenciándose una sensibilidad y una

especificidad del 91% y 92% respectivamente (94,95) lo que representa una mejoría muy ostensible en relación a los criterios de clasificación del 1980 donde la sensibilidad era del 75% y la especificidad del 72% en la práctica real (96). Con los nuevos criterios, los enfermos que sumen un total de 9 puntos ya pueden ser clasificados de ES.

De forma global, podríamos decir que los criterios de clasificación de ACR/EULAR 2013 aumentan la capacidad de clasificar más enfermos con ESd y ESl e incluyen un mayor número de enfermos en fases iniciales de la ES. Es una escala sencilla de aplicar en la práctica clínica, y en la actualidad, son los criterios de inclusión validados en los estudios y más utilizados en la práctica habitual.

## MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La ES, aunque recibe su nombre de la afectación cutánea, tan frecuente en los pacientes que la padecen, es una enfermedad sistémica que puede afectar a prácticamente todos los órganos. De hecho, la afectación esofágica es la afectación visceral más frecuente y la afectación pulmonar la principal causa de muerte en la actualidad (97).

La prevalencia de las diferentes manifestaciones clínicas está descrita en cada una de las principales cohortes, en la tabla 1.7, tomada de la revisión realizada por Armando Gabrielli, en 2009.

Tabla 1.7. Principales manifestaciones clínicas en pacientes con Esclerodermia.

<b>Síntoma /signo</b>	<b>Afectación Difusa Esclerodermia</b>				<b>Afectación Limitada Esclerodermia</b>			
	Meyer et al. 2007. (N=119)	Meyer et al. 2007. (N=30)	Hunzelmann et al. 2008. (N=484)	Ferri et al. 2002. (N=177)	Meyer et al. 2007. (N=128)	Meyer et al. 2007. (N=97)	Hunzelmann et al. 2008. (N=674)	Ferri et al. 2002 (N=565)
	Porcentaje de pacientes				Porcentaje de pacientes			
<i>Calcinosis</i>	23	16	NR	20	42	36	NR	22
<i>Fenómeno Raynaud</i>	97	100	94,2	94	99	99	96,3	96
<i>Afectación articular</i>	98	70	56,6	22	78	65	44,9	16

## Estudio de marcadores inflamatorios asociados a Esclerodermia

<i>Afectación esofágica</i>	67	79	69,3	69	67	63	59,2	55
<i>Fibrosis pulmonar</i>	30	57	56,1	71	37	30	20,8	53
<i>Hipertensión Pulmonar</i>	2	12	27,7	NR	31	9	60	NR
<i>Afectación cardíaca *</i>	11	10	23	32	19	14	12	23
<i>FEVI deprimida</i>	20	15	NR	NR	6	12	NR	NR
<i>Crisis renal</i>	17	7	15,9	12	2	0	9,1	6

\*Descrito como arritmia, palpitaciones, afectación conducción, disfunción diastólica, fallo cardíaco y/o pericarditis.

Editado de Meyer et al (98), Hunzelmann et al (99) y Ferri et al (100).

De forma más específica, las manifestaciones clínicas pueden agruparse en los siguientes apartados:

### - Manifestaciones generales:

Son manifestaciones de escasa gravedad, aunque afectan notablemente a la calidad de vida de los pacientes. Fundamentalmente encontramos:

- Astenia: llega a aparecer en hasta 9 de cada 10 pacientes (101,102).
- Insomnio: presente en hasta 3 de cada 4 pacientes. Llega a interferir en la actividad cotidiana en hasta el 60% (101).
- Mialgias y artralgias: presentes en más del 50% de los casos (97).

### - Manifestaciones cutáneas:

En la mayoría de los pacientes se produce un engrosamiento cutáneo que suele ser bilateral y simétrico y afecta inicialmente a los dedos, las manos y la cara. Su extensión es centrípeta, de forma que posteriormente avanza hacia los antebrazos, cuello, pies y piernas llegando a brazos, muslos, parte anterior del tórax y abdomen en la forma difusa. Inicialmente hay una fase edematosa, con o sin fóvea, que puede dar paso a una fase de engrosamiento y endurecimiento de la piel al cabo de semanas o meses, en la que la piel se muestra brillante, tensa y adherida a planos más

profundos, dificultando los movimientos. En esta fase, la dermis está muy engrosada pero la epidermis está muy adelgazada, dando lugar a la característica pérdida de arrugas.

Otras manifestaciones cutáneas asociadas muy frecuentes son el prurito, la hiperpigmentación, las telangiectasias, la calcinosis, las úlceras digitales y, de forma casi omnipresente, el fenómeno de Raynaud que llega a afectar a más del 90% de los pacientes con ES (103).

- Afectación gastrointestinal

Hay evidencia de afectación gastrointestinal hasta en un 90% de los pacientes con ES, tanto en la forma difusa como en la forma limitada (104). Hasta en el 10% de los casos se instaura antes que el fenómeno de Raynaud (105).

La incidencia de la afectación esofágica es muy variable. Posiblemente, este hecho se deba a la sensibilidad del método utilizado, ya que, en un porcentaje significativo, esta afectación es asintomática (97,106,107). Desde un punto de vista clínico, las manifestaciones se deben a la alteración de la motilidad y la aparición de reflujo, secundaria a la disminución o ausencia de peristalsis, a la reducción de la presión del esfínter esofágico inferior, a la habitual asociación con hernia de hiato por acortamiento del esófago y a la frecuente asociación con síndrome seco (105). La consecuencia es fundamentalmente la aparición de pirosis, disfagia y regurgitación.

También se afectan el tracto anorrectal (50-70%), el estómago (10-80%), el intestino delgado (15-40%) y el colon (10-50%) (105). La afectación del estómago se produce por enlentecimiento del vaciado, presente en un 10-75% de los enfermos (108) provocando síntomas como distensión abdominal, náuseas o plenitud postprandial. La presencia de hemorragia digestiva es frecuente, apareciendo hasta en el 15% de los pacientes, consecuencia de la presencia de telangiectasias. Otra afectación usual es la del intestino delgado (17-57%), la malabsorción y diarrea por

alteraciones en la motilidad que conllevan el sobrecrecimiento bacteriano (33-40%) y la insuficiencia pancreática (33-61%) (109,110).

- Afectación pulmonar

La afectación pulmonar en la ES es frecuente y producida por dos causas:

- Por acción directa de la enfermedad: engloba la enfermedad pulmonar intersticial (EPI) y la hipertensión arterial pulmonar (HAP) que en conjunto suponen un 60% de la mortalidad (111). En este subgrupo también podemos encontrar la afectación de las vías aéreas y la afectación pleural.
- Por acción indirecta: como consecuencia de complicaciones como aspiración, infecciones, toxicidad por fármacos, afectación de la musculatura respiratoria o de la posible rigidez de la pared torácica y secundariamente a la afectación miocárdica.

- Afectación cardíaca

Las principales manifestaciones son muy diversas con una prevalencia muy variable en función de la metodología utilizada para su definición, pudiendo llegar hasta casi el 100% (112). Es una importante causa de mortalidad, con casi el 25% de la totalidad de los casos (113). Fundamentalmente encontramos la fibrosis miocárdica, disfunción sistólica y diastólica (si afecta al ventrículo derecho se correlaciona tanto con HAP como con disfunción del ventrículo izquierdo), la alteración de la microvasculatura coronaria, la enfermedad pericárdica y las alteraciones en la conducción (incluyendo bradi y taquiarritmias) (114,115).

Aunque Ferri et al (100) defendieron una mayor prevalencia en la ESd, en estudios posteriores estos mismos autores (116) tienden a equiparar su prevalencia, aunque manteniendo una mayor afectación clínica en el subgrupo de ESd.

- Afectación músculo esquelética
  - Afectación articular: debida a la pérdida de elasticidad de la piel y los tejidos vecinos y la aparición de contracturas. Las artralgias son frecuentes aunque el porcentaje de afectación compatible con artritis es significativamente menor, fundamentalmente con afectación de pequeñas articulaciones (117) y predominio poliarticular (61%) (118). Es igual de prevalente en la ESI y en la ESd y su curso es intermitente y a veces crónico recurrente.
  - Afectación tendinosa: el hallazgo más clásico son los roces tendinosos debidos al engrosamiento por fibrosis de las vainas de los tendones afectos (119) y aparece sobre todo en la ESd, siendo un factor de mal pronóstico (120).
  - Afectación muscular: muy frecuente, aunque suele pasar desapercibida. Se describe hasta en el 90% de los pacientes, aunque sólo un 20% refieren síntomas de forma explícita (121). Suele ser más prevalente en ESd (20-51%) que en limitada (0-12%) y se relaciona con afectación miocárdica y fibrosis pulmonar (122).
  
- Afectación renal: La afectación renal es común en pacientes con esclerodermia, siendo su manifestación más grave la crisis renal de esclerodermia (CRE), que ocurre en una minoría de pacientes. Aunque algunos estudios de autopsia revelan evidencia histológica de compromiso renal en hasta un 60-80 por ciento de los pacientes con ES (123), muchos de estos hallazgos pueden atribuirse a otras causas. Además, generalmente no son progresivos. La CRE se produce en un 5 a 20 por ciento de los pacientes con ES difusa, de forma más frecuente en los primeros 48 meses desde el diagnóstico. (124). Se caracteriza por un inicio súbito de hipertensión moderada a severa, aunque hasta un 10% puede ser normotensiva, que generalmente se asocia con un aumento en la actividad de la renina plasmática, lesión renal aguda con insuficiencia renal, análisis de orina normal o con proteinuria leve y pocas células o cilindros y /o signos de anemia

hemolítica microangiopática. Se han descrito como factores de riesgo para su desarrollo la enfermedad en etapa temprana con compromiso difuso, la presencia de afectación tendinosa, el uso de corticoides, la presencia de anticuerpos RNP y el uso de ciclosporina (125–134).

- Afectación del Sistema Nervioso (SN)

La afectación del SN presenta una prevalencia variable que oscila entre el 1% y el 40% (135–137). Básicamente se han descrito dos tipos de afectación:

- Afectación del Sistema Nervioso Central: las manifestaciones más usuales son la cefalea (24%), convulsiones (14%) y deterioro cognitivo (8%). También son frecuentes la depresión (73%) y la ansiedad (24%) (135,137).
- Afectación del Sistema Nervioso Periférico: La polineuropatía sensitivo-motora (14%), la afectación del túnel del carpo (7%) y la miopatía (58%) fueron las más observadas (137,138). Independientemente, se recomienda descartar en todos los pacientes que la neuropatía no tenga otras causas que la produzcan (139).

## TRATAMIENTO

El tratamiento de los pacientes con ES es particularmente difícil debido a que es una enfermedad con manifestaciones clínicas heterogéneas, con una base patogénica y evolución muy variable de unos pacientes a otros y las opciones terapéuticas distan mucho de ser curativas.

En 2017 se publicó la actualización de las recomendaciones de EULAR de 2009 (140). Los resultados se describen mediante 16 recomendaciones dirigidas al tratamiento de las principales manifestaciones clínicas como el fenómeno de Raynaud, las úlceras digitales, HTAP, afectación cutánea, EPI, crisis renal esclerodérmica y afectación gastrointestinal.

Para el fenómeno de Raynaud recomienda con un mayor grado de evidencia el uso de antagonistas del calcio y, en primer lugar, nifedipino. También el uso de

IPD5 y prostanoides tienen un papel importante en la reducción de la frecuencia y la gravedad. En las úlceras digitales se mantiene como pilar de tratamiento el uso de prostanoides endovenosos, así como los inhibidores de la fosfodiesterasa-5 (IPD5) y el bosentan, que reducen la aparición de nuevas úlceras. En referencia a la HTAP, basado en estudios randomizados y controlados, se recomienda el uso de inhibidores de receptores de endotelina (AREs) como el ambrisentan, bosentan y macitentan, así como los IPD5 como el sildenafil y tadalafil y análogos de las prostaciclina. En referencia a la afectación pulmonar y cutánea, recomiendan el uso de metotrexate y ciclofosfamida. Para la crisis renal esclerodérmica, el uso de IECAS y evitar la utilización de glucocorticoides. Finalmente, respecto a la afectación gastrointestinal se recomienda el uso de inhibidores de la bomba de protones, procinéticos y antibioterapia periódica en los casos con sobrecrecimiento bacteriano.

Además de estas recomendaciones, tres ensayos clínicos aleatorizados con ciclofosfamida evidenciaron su capacidad para estabilizar los parámetros de función respiratoria. El scleroderma lung study (141,142) es el estudio con mayor número de pacientes y evidenció que la capacidad vital forzada (CVF) disminuía un 1% a lo largo del seguimiento mientras que en el grupo placebo se deterioraba un 2,6%. Los pacientes con mayor grado de afectación eran los más beneficiados. De forma secundaria, también se observó una mejoría de las escalas de disnea, calidad de vida y esclerosis cutánea de Rodnan.

Aunque el perfil de toxicidad de la ciclofosfamida se considera tolerable, otros fármacos con menores efectos secundarios como el micofenolato de mofetilo, y su molécula activa, el ácido micofenólico, se han utilizado como alternativas eficaces y seguras para tratar a los pacientes con EPI (143,144). En este sentido, Tashkin et al (145) publicaron un estudio controlado, randomizado y doble ciego en el que se comparó la eficacia del micofenolato de mofetilo y la ciclofosfamida para el tratamiento de la afectación pulmonar intersticial con buenos resultados para ambos, concluyendo la utilización de MMF como primera línea de tratamiento.

El uso de azatioprina es una alternativa terapéutica en pacientes que, por algún motivo, no sean candidatos a ciclofosfamida y micofenolato de mofetilo (146). Sin embargo, es un fármaco menos eficaz que la ciclofosfamida (147), por lo que probablemente su lugar se encuentre en la fase de mantenimiento.

De igual forma, otras publicaciones apoyan el uso de rituximab en el tratamiento de la afectación intersticial pulmonar en los pacientes con esclerodermia (148–150). Los resultados apoyan esta alternativa como fármaco eficaz al ser capaz de estabilizar los parámetros de funcionalismo pulmonar o incluso mejorarlos significativamente en algunos casos.

En la actualidad, otras modalidades de tratamiento inmunodepresor y antifibrótico se han utilizado en pacientes con EPI, como el trasplante de células madre hematopoyéticas e imatinib. Algunos estudios recientes muestran que el trasplante de células madre hematopoyéticas puede ser una opción prometedora en aquellos pacientes con diagnóstico reciente de ES y afección orgánica, especialmente EPI, refractaria al tratamiento estándar (151). Aunque se ha objetivado que imatinib vía oral también es capaz de estabilizar los parámetros de función pulmonar en pacientes con EPI, la alta tasa de intolerancia y efectos secundarios limita su uso (152,153).

A pesar de las nuevas alternativas y los nuevos tratamientos cada vez más efectivos, todos los estudios coinciden que la detección precoz y, por lo tanto, el inicio de tratamiento en etapas iniciales de la afectación donde la inflamación activa prevalece sobre la fibrosis, se asocia a una mejor respuesta farmacológica.

En lo relativo a la Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP) Se ha constatado que aquellos pacientes con PAPS discretamente elevadas en el momento del diagnóstico tienen una mayor supervivencia que los que tienen una PAPS más elevada, indicando la necesidad de un diagnóstico y tratamiento temprano (154). En este sentido, se ha señalado que el diagnóstico precoz de la HAP mediante un programa de detección sistemática es capaz de identificar a pacientes en una clase funcional menor e instaurar tratamiento de forma precoz con una supervivencia mayor (155).

A pesar de los progresos en el tratamiento de la HAP, el declive funcional progresivo y la baja supervivencia asociada a esta situación clínica dista de ser satisfactoria. Los fármacos vasodilatadores comentados y recomendados actúan sobre 3 vías patogénicas diferenciadas y, por lo tanto, tenemos la posibilidad de conseguir sinergismo con la combinación de dos o más fármacos. Actualmente, se recomienda la prescripción de una terapia combinada de fármacos de estos 3 grupos farmacológicos a los pacientes que se diagnostican en clase funcional avanzada o en los que están en clase funcional II y se objetiva un empeoramiento progresivo de la misma a pesar de la monoterapia. Sin embargo, cada vez más estudios apoyan el uso de terapias combinadas en estadios más precoces (156–158).

### EVOLUCIÓN Y MORTALIDAD

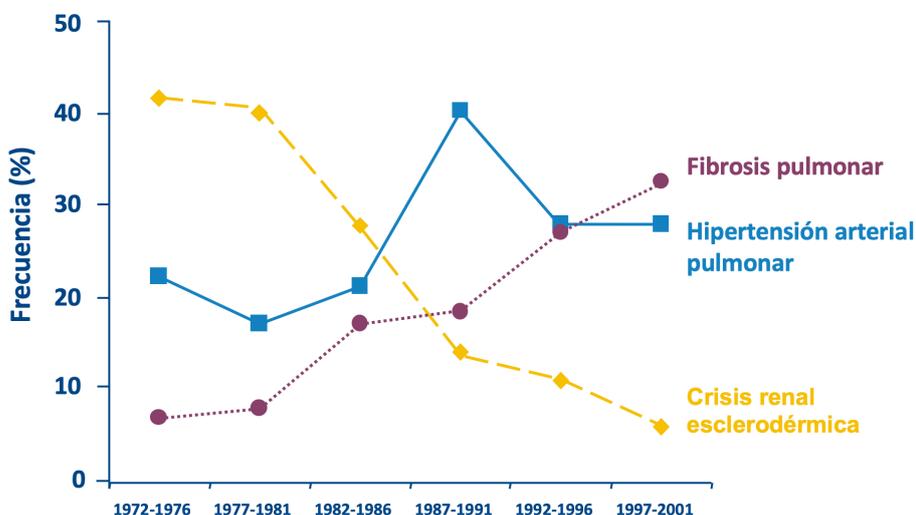
La ES es una enfermedad muy heterogénea con un pronóstico muy variable. Presenta una elevada mortalidad debida a las propias complicaciones orgánicas específicas. En el siglo XX la crisis renal esclerodérmica era la primera causa de muerte (159). En la actualidad, su incidencia se sitúa en el 6% de los pacientes, principalmente asociado al subtipo difuso (12% de pacientes) más que al limitado (2% de los pacientes). Tras la introducción de los inhibidores del enzima conversor de angiotensina (IECAs) se observó una mejora sobresaliente de la supervivencia, pasando de ser de 18% al año de seguimiento a un 76% al año y 60% a los 5 años (160).

En el año 2010 el grupo de la Liga Europea contra las Enfermedades Reumáticas (EULAR) publicó las causas de muerte de una cohorte de afectados de ES que incluía 5.860 pacientes (161). Del total de pacientes analizados, un 55% de las muertes registradas estuvieron directamente relacionadas con la ES y el 54,6% de los pacientes fallecidos pertenecieron al subtipo con ES difusa. Las principales causas de muerte fueron la enfermedad pulmonar intersticial (19%) y la hipertensión arterial pulmonar (14%). Un 14% de las muertes se atribuyeron a afección cardíaca (la mayoría por arritmias) y un 4% fueron secundarias a crisis renal esclerodérmica. Las principales causas de muerte no relacionadas con la ES fueron infecciones (13%), neoplasias (13%), y causas cardiovasculares (12%).

El Registro Español de Pacientes con Esclerodermia (RESCLE) en el año 2015 obtuvo resultados similares (162). De la cohorte analizada, un 55% de las muertes se debió 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 (12,3%). La crisis renal, igual que en la cohorte del grupo EULAR, fue una causa menos frecuente de muerte (8,7%). Finalmente, de las causas no relacionadas con la ES el cáncer supuso un 11,6%, seguido de la insuficiencia cardíaca en el 8,7%.

Igualmente, el grupo de Simeón-Aznar et al (163) publicaron en 2014 un metaanálisis que incluyó los datos de 17 estudios, estimando que un 47,6% de muertes fueron debidas a complicaciones directas de la ES y, de ellas, un 73% eran por causa cardiopulmonar. Por otro lado, este estudio objetivó que la afección gastrointestinal (7,6%) y renal grave (12,3%) se habían reducido en las últimas 2 décadas considerablemente, representando actualmente menos del 20% de las muertes.

Figura 1.2 Principales causas de mortalidad a lo largo del tiempo.



Editado de Steen VD and Medsger TA. *Ann Rheum Dis* 2007; 66:940-4.

En lo referente al pronóstico y la supervivencia Ferri et al (164) publicaron en 2014 una revisión en la que encontraron que había un incremento considerable en la supervivencia de los enfermos con ES 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. Estos autores, en su cohorte de pacientes reclutados entre el 1999 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 (163) que resultó del 93%.

Apoyando lo anterior, el trabajo de Steen et al (111) analizó las causas de muerte de forma global obteniendo como conclusión una mejoría del pronóstico en los últimos años, que relacionan a la detección precoz de algunas complicaciones orgánicas, con un mejor manejo y tratamiento de las mismas, especialmente de la crisis renal esclerodérmica, tan prevalente en el siglo XX. Entre las causas de muerte asociadas a la ES, el cáncer es una de las principales, conllevando una reducción de la supervivencia estimada entre un 5 y un 30% (107,163). De forma predominante, las neoplasias más frecuentes son el cáncer de pulmón y el cáncer de mama (165).

Los factores pronósticos de mortalidad de la ES han sido estudiados por Simeón-Aznar et al (166) identificando los siguientes:

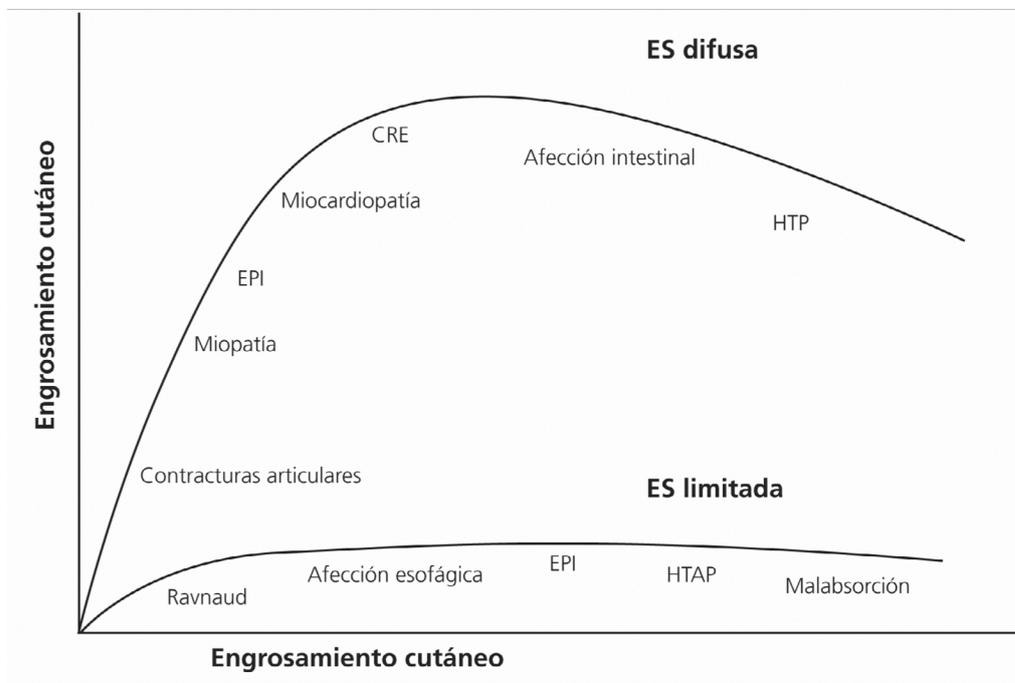
- Extensión cutánea: el subtipo cutáneo difuso, sobre todo con rápida progresión cutánea.
- Afección orgánica: CVF <70%, HAP, CRE, derrame pleural, arritmia clínicamente significativa en ECG.
- Autoinmunidad: presencia de ATA-I y ausencia de ACA.
- Epidemiológicos: edad al diagnóstico  $\geq 60$  años,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

Otros factores más específicos del pronóstico de la enfermedad pueden ser los asociados a la presencia de anticuerpos anti topoisomerasa I, o anti-Scl70, que suelen debutar con una instauración explosiva de las manifestaciones clínicas

(167). Además, en este subtipo de pacientes es más frecuente la crisis renal esclerodérmica (168). En presencia de anticuerpos anticentrómero, la progresión suele ser más leve. El fenómeno de Raynaud puede preceder al resto de las manifestaciones clínicas en varios años. La afectación digestiva, sobre todo esofágica, es muy frecuente y la hipertensión arterial pulmonar se observa en el 10-15% de los pacientes (169).

De forma esquemática se muestra en la figura 1.2 la evolución de los principales tipos de ES.

Figura 1.3. Representación esquemática de la evolución de la ES y de las afecciones orgánicas en la ES difusa y la ES limitada.



Editado de presentación clínica Dr Gerard Espinosa 2012 (cortesía V. Fonollosa).

## MORBILIDAD CARDIO-PULMONAR

La esclerodermia es una enfermedad sin cura. La única posibilidad de mejorar la supervivencia es el tratamiento precoz de las complicaciones que, como ya hemos visto, son las cardio-pulmonares en primer lugar. El esfuerzo va dirigido a la detección precoz de la hipertensión pulmonar y fibrosis pulmonar.

Hipertensión pulmonar: El alto riesgo de HAP en la ES y el mayor efecto que ésta tiene sobre la supervivencia y la calidad de vida justifica la detección precoz de los pacientes (170). Los autoanticuerpos, especialmente el anticuerpo anti-U3 RNP, el anticuerpo anticentrómero, anti-RNA polimerasa III y anti-Th/To RNP, son útiles para la estratificación del riesgo (171,172).

La enfermedad pulmonar intersticial (EPI) es uno de los principales tipos de afectación pulmonar en la esclerosis sistémica. La EPI asociada a la esclerodermia consiste en varios subtipos histopatológicos, con mayor frecuencia neumonitis intersticial inespecífica y neumonitis intersticial habitual. Los pacientes afectados tienen un peor pronóstico que los pacientes con ES que están libres de afectación pulmonar tal y como se mencionó previamente. La prevalencia de la afectación pulmonar en los pacientes con esclerodermia varía según la población estudiada y la definición elegida. Van Bon et al (173), en un estudio de 779 pacientes con ES, encontraron afectación radiológica compatible con EPI en el 48% de los que tenían ES difusa y el 26% de los que tenían ES limitada. De igual manera, Mc Nearney et al (174) realizaron un estudio de cohorte multiétnico en que asociaron el desarrollo de EPI con la etnia afroamericana, mayor afectación de piel y niveles aumentados de creatina fosfocinasa sérica (CPK), hipotiroidismo y compromiso cardíaco. Los pacientes con fibrosis extensa presentan una supervivencia a los 9 años del 30%, respecto a un 72% en aquellos sin afectación extensa (168). La fibrosis pulmonar está asociada con diferentes patrones de ANA, en particular los anticuerpos anti-topoisomerasa 1. Aproximadamente dos tercios de los pacientes que son positivos para este anticuerpo finalmente desarrollan EPI moderada o grave. Otros ANA menos comunes, como los anticuerpos anti-U11 / U12 RNP o los anticuerpos anti-Th / To RNP también están asociados con la fibrosis pulmonar (175). Curiosamente, la presencia de anticuerpos anticentrómeros o anticuerpos anti-ARN polimerasa III parece estar asociada negativamente con la fibrosis pulmonar grave (175–177), por lo que la presencia de estos anticuerpos se puede utilizar para identificar pacientes con menor riesgo en la práctica clínica.

## INSTRUMENTOS PARA MEDIR LA ACTIVIDAD DE LA ESCLERODERMIA

### Escalas clínicas

Los pacientes deben someterse a un screening para la detección de hipertensión pulmonar, al menos una vez al año, ya que el diagnóstico temprano puede permitir un tratamiento precoz que podría mejorar el resultado a largo plazo. En el quinto congreso mundial de hipertensión pulmonar en 2015, la Sociedad Europea de Cardiología (ESC) y de Respiratorio (ERS) publicaron las guías para el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión pulmonar recomendando el screening anual en los pacientes con esclerodermia (178–180) y realizar el algoritmo DETECT (*DETECT*ion of PAH in SSC) a aquellos pacientes con una DLCO < 60% y una duración de la enfermedad de más de 3 años (181). Este mismo grupo de trabajo, más adelante, llevó a cabo una revisión sistemática acerca de las herramientas diagnósticas existentes para la detección de HAP en las enfermedades del tejido conectivo y yendo un paso más allá, aconsejó además de realizar la escala DETECT en aquellos pacientes con DLCO < 80%, el ecocardiograma, el cociente CVF/DLCO y determinación de valores de proBNP para su screening (182). A pesar de la baja prevalencia de hipertensión pulmonar en los pacientes con DLCO ≥ 80%, algunos autores como Young sugieren que también está presente en este grupo (182). En conclusión, a los pacientes con esclerodermia y DLCO < 80% se debería realizar un screening anual que incluya, el algoritmo DETECT o un cociente CVF/DLCO, la ecocardiografía y valores de péptido natriurético atrial. Para los pacientes con DLCO ≥ 80%, las principales herramientas para evaluar el riesgo de HAP son la ecocardiografía, las pruebas de función respiratoria y las mediciones de proBNP, junto con la evaluación clínica.

Aunque, a diferencia de la HAP no existen escalas de riesgo predictoras, la mayoría de guías recomiendan la realización periódica de pruebas de la función pulmonar para su diagnóstico así como pruebas de imagen (tomografía axial computerizada de alta resolución) para su confirmación (183).

Varios estudios de cohortes de pacientes con ES han proporcionado información adicional sobre el momento y la frecuencia del desarrollo de fibrosis pulmonar. Nithyanova et al y Denton et al (167,176) describen como hasta la mitad de los pacientes con ESd pueden desarrollar fibrosis pulmonar grave y que esta es frecuente en los tres primeros años tras el diagnóstico y hasta puede ser la manifestación inicial. Este hallazgo tiene implicaciones importantes para las estrategias de tratamiento destinadas a prevenir o atenuar el empeoramiento de la enfermedad.

Todos los pacientes con ES deben ser estudiados para detectar la presencia de fibrosis pulmonar en la presentación inicial y durante el seguimiento. El seguimiento clínico regular, aumenta la posibilidad de detectar la fibrosis pulmonar precozmente, lo que permite un tratamiento temprano. La TACAR es la mejor herramienta para detectar la fibrosis pulmonar y permite determinar el patrón y la extensión de la enfermedad (184). Sin embargo, las pruebas de la función respiratorias son la piedra angular del seguimiento longitudinal (167).

Se dispone de otros métodos para evaluar a los pacientes con ES, como la radiografía de tórax, el test de la marcha y diferentes escalas de disnea, pero estos métodos son limitados para detectar la fibrosis pulmonar temprana.

La radiografía de tórax tiene muy baja sensibilidad para detectar la fibrosis pulmonar en primeros estadíos. El test de la marcha también presenta una sensibilidad baja, probablemente por su alteración en manifestaciones extratorácicas de la ES (185), aunque puede ser muy útil para el seguimiento. Del mismo modo, las puntuaciones de disnea tienen un uso limitado en el diagnóstico de la fibrosis pulmonar, pero son valiosas para los ensayos o el seguimiento longitudinal de los pacientes (180).

En la práctica clínica, el aspecto más importante para el tratamiento de la fibrosis pulmonar en pacientes con ES es identificar a los pacientes con enfermedad grave o con riesgo de progresión de la enfermedad. Los factores que se han asociado con un mayor riesgo son presentar la forma difusa, duración menor a 3 años, reflujo gastroesofágico grave, anticuerpo anti-topoisomerasa 1, anticuerpo anti-RNP o anticuerpo anti-U11/U12 RNP, puntuación alta en la

escala UK-RSA (criterios de la asociación británica de Raynaud y esclerodermia) y empeoramiento de la función pulmonar.

La importancia de determinar la gravedad de la fibrosis pulmonar ha llevado al desarrollo de un sistema de estadificación simple que incorpora la evaluación por la TACAR y la CVF. Con este sistema, los pacientes primero se estratifican en grupos en función de si tienen fibrosis leve o extensa medido como afectación  $<20\%$  o  $\geq 20\%$ , respectivamente. En los pacientes en los que la extensión de la fibrosis es indeterminable por imágenes de TACAR, se estratifican en función de la CVF en dos grupos,  $\geq 70\%$  para fibrosis leve y  $<70\%$  para fibrosis extensa (186).

Moore et al (187) describieron que un descenso  $\geq 20\%$  en las pruebas de función respiratoria se asociaba con un mayor riesgo de deterioro y una menor supervivencia.

Goh et al (188) sugieren que las pruebas de función respiratoria pueden usarse para monitorizar la progresión de la enfermedad y predecir la mortalidad; por ejemplo, una caída en la CVF  $\geq$  al 10% a los 12 meses, es un factor predictor independiente de mortalidad. De forma complementaria, una disminución de 5 a 9% en la CVF asociada a una caída del 15% en la DLCO a los 12 meses también es predictiva de la mortalidad asociada a la enfermedad. Estos umbrales pueden ser útiles como signos de alarma en la afectación pulmonar (189).

A través de datos clínicos y serológicos se han diseñado diferentes escalas que buscan medir el grado de actividad de la enfermedad. La escala de gravedad de la enfermedad de Medsger también se ha utilizado como una medida de la actividad (190). Sin embargo, esta escala parece reflejar más el daño o la gravedad que la actividad en curso, al puntuar de 0 a 4 puntos, la afectación general medida mediante la pérdida de peso y la hemoglobina, la afectación vascular medida mediante el fenómeno de Raynaud, la afectación gastrointestinal, la afectación pulmonar a través de la DLCO, la afectación cardíaca a través del electrocardiografía y la insuficiencia cardíaca y la afectación renal a través de la medición de los niveles de creatinina.

En la actualidad, la escala EUSTAR (191), editada por Valentini et al (192) recoge diferentes parámetros clínicos y serológicos, siendo la escala más utilizada como marcador de actividad clínica tanto en la práctica habitual como en investigación, dada su alta sensibilidad, su aplicabilidad y su facilidad de uso. Esta escala valora 10 aspectos de la enfermedad y se debe obtener una puntuación mayor a 3 para considerarse que la enfermedad está activa.

Tabla 1.8. Escala actividad EUSTAR.

SSmR > 14	1	Puntuación 0 a 51. 0: normal; 1: piel infiltrada pero pellizcable; 2: piel no pellizcable; 3: piel adherida a planos profundos
Escleroedema	0,5	
Piel	2	Empeoramiento referido por el paciente durante el último mes a la pregunta ¿ha empeorado su piel?
Necrosis	0,5	Úlceras activas incluyendo desde pequeñas necrosis hasta la gangrena digital
Vascular	0,5	Empeoramiento referido por el paciente durante el último mes
Artritis	0,5	Afección simétrica
Disminución DLCO	0,5	DLCO < 80%
Corazón-pulmón	2	Empeoramiento referido por el paciente durante el último mes a la pregunta ¿ha empeorado su situación cardiopulmonar?
VSG > 30	1,5	Por el método de Wertergreen
Hipocomplementemia	0,5	Disminución de C3 y C4 por nefelometría o doble inmunodifusión radial

Editado de Valentini et al (192).

A pesar de todos estos conocimientos, se precisa del desarrollo de nuevas escalas que incorporen datos clínicos y nuevos biomarcadores que permitan predecir y diagnosticar de forma precoz la actividad de la enfermedad en pacientes con esclerodermia.

### Biomarcadores

El grupo de trabajo del Instituto Nacional de Salud para el estudio de los biomarcadores define el concepto de un biomarcador como *"un marcador característico que se mide objetivamente y se evalúa como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica"*. Dado que hasta ahora la clínica, progreso de la enfermedad, respuesta terapéutica y pronóstico son heterogéneos entre los distintos pacientes con ES, sólo unos pocos biomarcadores han sido completamente validados y aceptados (193–199).

Torres y Pérez (200) definen como un biomarcador ideal aquel que proporciona información diagnóstica, pronóstica y terapéutica adicional a la que se obtiene a partir de los datos clínicos del paciente, y además debe poseer al menos, las siguientes características químico-analíticas:

- Alta especificidad: la medida de ese biomarcador debe ser específica a una enfermedad.
- Facilidad de muestreo: se debe evitar, en lo posible, la recogida de muestras invasivas.
- Representatividad: los niveles del biomarcador en la muestra recogida deben ser niveles representativos en el organismo.
- Se debe conocer la cinética de formación y su estabilidad.

### Tipos de biomarcadores en Esclerodermia:

Uno de los principales desafíos en la ES es desarrollar una herramienta útil para la medición global de la actividad de la enfermedad que sea capaz de definir la actividad y/o respuesta al tratamiento. A diferencia de otras enfermedades autoinmunes (Lupus Eritematoso Sistémico o la Artritis Reumatoide), en la ES la inflamación en curso es difícil de evaluar y la fibrosis vascular y tisular no son fáciles de cuantificar, especialmente en la etapa temprana de la enfermedad. Además, hay una escasez de biomarcadores validados de la actividad de la ES (201).

En la actualidad, los autoanticuerpos específicos de ES son los biomarcadores más útiles para el diagnóstico y la predicción de características clínicas, aunque otros tipos de biomarcadores están teniendo cada vez una mayor relevancia como veremos más adelante. Hoy día, existe una marcada falta de biomarcadores validados para predecir el desarrollo de manifestaciones de la enfermedad o posibles respuestas terapéuticas (201).

## Autoanticuerpos específicos de ES como marcadores predictivos

Los autoanticuerpos se observan al diagnóstico en más del 95% de los pacientes con ES y se han asociado con distintos subtipos de enfermedad y con diferencias en la gravedad y el pronóstico de la enfermedad (202). Característicamente se presentan antes del inicio de los síntomas de la ES y no cambian durante el curso de la enfermedad y casi siempre son excluyentes (203). El antitopoisomerasa I (ATA) y los anticuerpos anticentrómeros (ACA) son los biomarcadores diagnósticos más utilizados para la ES (204–206). Los anticuerpos ACA, anti-Scl-70 y anti-RNA polimerasa III son completamente específicos de la ES y suficientemente frecuentes, lo que ha permitido que se hayan incorporado en los nuevos criterios clasificatorios del ACR/EULAR de 2013 (93).

El anticuerpo anticentrómero (ACA) reconoce varias proteínas centroméricas (CENP), siendo el subgrupo B el autoantígeno principal que reacciona con prácticamente todos los sueros de pacientes con ES (207,208). El ACA, de forma general, se encuentra entre el 16 y el 39% de los pacientes con ES, y en los pacientes con la forma limitada llega hasta el 90% (1,205). Es el único anticuerpo que presenta un patrón de IFI específico, el centromérico. Este autoanticuerpo está muy relacionado con la HAP asociada a Fibrosis Pulmonar, que afecta aproximadamente al 20% de los pacientes con ACA positivo (203,209,210), sin embargo, se ve muy raramente en pacientes con fibrosis intersticial y crisis renal. Además, la positividad de ACA se correlaciona con un pronóstico más favorable y una menor mortalidad (100). La presencia de ACA se suele asociar con otros autoanticuerpos, como el antígeno A relacionado con el síndrome de Sjögren (anti-Ro) (211) o el anticuerpo antimitocondrial (212), lo que conlleva que este subgrupo se asocie con una mayor prevalencia de solapamiento (213).

El anticuerpo anti-Scl-70, también llamado antitopoisomerasa I (ATA) originalmente identificado por Douvas et al. (214) se dirige contra el ADN topoisomerasa I (215). Es el segundo anticuerpo en frecuencia y aparece entre el 9-39% de los pacientes. Aunque este autoanticuerpo se encuentra predominantemente en enfermos con ES difusa, su presencia no está restringida a este subconjunto clínico (209,216). Se ha asociado con un peor pronóstico, mayor mortalidad, fibrosis pulmonar y afectación cardíaca (203,209,217,218).

Denton et al, en 2012, (202) mostraron que los pacientes con ATA positivos y úlceras digitales iniciaron un fenómeno de Raynaud más temprano y tuvieron una probabilidad de aproximadamente el doble de desarrollar fibrosis pulmonar respecto a los pacientes con otros autoanticuerpos positivos (ACA). Hanke et al (219) publicaron un estudio en el que relacionaron los cambios en los títulos de ATA a lo largo del tiempo con la actividad y la progresión de la enfermedad, concluyendo que dichos anticuerpos podrían ser útiles con fines pronósticos.

Otros autoanticuerpos relacionados, dada su alta especificidad (98-100%) validados como muy buenos biomarcadores diagnósticos, son los anticuerpos contra la ARN polimerasa I y III (anti-RNP I y III) (220,221). Para algunos autores (166,222) su prevalencia varía entre el 10 y el 25% sin embargo, otros (223) encuentran que la prevalencia depende de la zona geográfica estudiada con valores que oscilan desde el 7% en Asia, 9% en Europa y 14% en América del Norte, 15% en Oceanía, hasta el 41% en Sudamérica. Se asocian con la ES difusa y crisis renal y se vinculan con una progresión rápida de la enfermedad y un engrosamiento de la piel (224,225). Sin embargo, los autoanticuerpos contra RNP II, son poco comunes y no son específicos de la ES, ya que también se pueden encontrar en sueros de enfermos de lupus eritematoso sistémico y síndrome de overlap (226).

Como autoanticuerpos específicos de ES de gran utilidad diagnóstica y pronóstica, aunque no utilizados en el seguimiento habitual, dado que necesitan técnicas avanzadas no disponibles en la práctica clínica, se engloban los anticuerpos anti-Th/To y anti-U3 RNP (antifibrillarina).

Los anticuerpos anti-Th/To se detectan entre el 2 y el 5% de los pacientes con ES, afectando al 8,4% de los pacientes con ES limitada, y sólo al 0,6% de los enfermos con ES difusa (203,227). En los pacientes con ES limitada, los anti-Th/A son un marcador de peor tasa de supervivencia relacionada con la HAP secundaria a la embolia pulmonar (EP) grave y la crisis renal (210). Además, la presencia de anti-Th/To puede ayudar a identificar al subconjunto de pacientes con fibrosis pulmonar (228).

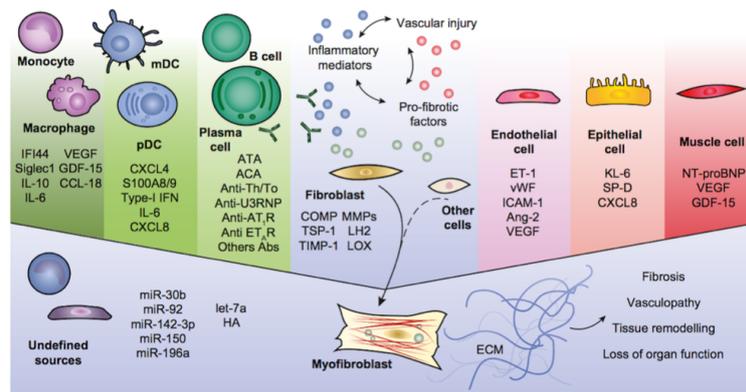
Los anticuerpos anti-U3 RNP se dirigen contra la fibrillarina, una pequeña proteína del complejo de ribonucleoproteína nuclear pequeña (RNP) U3. Aunque se consideran marcadores específicos de la ES, se encuentran en menos del 7% de los sueros de pacientes (229). Son más frecuentes en varones y en afroamericanos con ES y se asocia frecuentemente al subtipo de esclerodermia difusa, enfermedad más grave, afectación digestiva y muscular importante. Ésta se da hasta en el 25-33% de estos pacientes, con presencia de debilidad muscular y uno de los tres aspectos siguientes: elevación de enzimas musculares, cambios miopáticos en el electromiograma o evidencia de miositis en la biopsia muscular (204,230). Además, comporta un mayor riesgo de HAP. En los pacientes afectados de raza negra, se asocia con un peor pronóstico, con una menor edad de inicio, mayor frecuencia de úlceras digitales, pericarditis, afectación digestiva y con menor compromiso pulmonar (231).

Otros autoanticuerpos, son los anticuerpos contra el receptor tipo 1 de angiotensina II (AT1R) y el receptor tipo A de endotelina (ETAR), a los que se les atribuye una frecuencia del 5-35% y han sido asociados al desarrollo de HAP (232,233); los anticuerpos antiestrógenos (anti-Era) (234) asociados a la actividad clínica de la ES en su forma difusa, y los anticuerpos anti RNP U11/U12 asociados a la fibrosis pulmonar severa (hasta en un 79%) y la miositis (235). Finalmente, los anticuerpos anti-PM/ScL están presentes hasta en un 6% de casos de ES. No son anticuerpos específicos ya que también se encuentran en pacientes con polimiositis o dermatomiositis aislada, e incluso en pacientes con ES sin afectación muscular (204,236,237). En la ES se han asociado con el subtipo ES limitada y con un riesgo aumentado de presentar EPI en aproximadamente 30-70% de los pacientes (204,237–239), aunque no se ha estudiado el curso evolutivo y pronóstico de estos pacientes de forma específica. Igualmente, parecen relacionarse a una mayor prevalencia de úlceras digitales con menor afectación digestiva y menor HAP (237). Recientemente, se han asociado con un riesgo de 3,9 veces mayor de presentar neoplasia (165).

### Otros biomarcadores de actividad de Esclerodermia

Hasta la fecha, han sido evaluadas multitud de moléculas como se muestra en la Figura 1.4, con resultados muy dispares.

Figura 1.4. Marcadores de actividad en Esclerodermia. Editado de Affandi et al (198).



Entre las diferentes moléculas utilizadas como biomarcadores, la prueba mejorada de fibrosis hepática (ELF), que incluye la medición de procolágeno-III amino-terminal-propéptido (PIIINP), inhibidor tisular de la metaloproteinasa-1 de la matriz (TIMP-1) y ácido hialurónico (HA) demostró su aumento de forma significativa e independiente en pacientes con ES en comparación con controles sanos y se asoció con complicaciones más graves y el aumento de la mortalidad (240–242). El aumento de estas moléculas también se correlacionó con la induración cutánea, con el índice de discapacidad HAQ-DI, e inversamente, con la capacidad de difusión de monóxido de carbono (DLCO), aunque no con HAP (242).

Como biomarcadores asociados a la afectación específica en un órgano en ES se encuentran los marcadores de afectación pulmonar vWF y KL6. Éstos se han asociado con la gravedad y la actividad de la enfermedad respectivamente (243,244), con los niveles en suero de la proteína de la matriz oligomérica del cartílago (COMP) correlacionados con la fibrosis de la piel y el pulmón y gravedad de la enfermedad (245) así como con los niveles séricos de angiopoyetina-2 (Ang-2) (246,247).

### Citoquinas

Las citoquinas inflamatorias también se han mostrado como biomarcadores útiles en la actividad de la ES. Las citoquinas son pequeñas proteínas no estructurales que actúan como comunicadores entre las células inmunes y las no inmunes, regulando una amplia gama de procesos inflamatorios y no inflamatorios. A menudo, su desregulación conlleva la aparición de diferentes

enfermedades. Varios estudios han enfatizado en la importancia de múltiples citoquinas en la patogénesis de enfermedades autoinmunes e inflamatorias y, como tales, constituyen objetivos terapéuticos válidos (248–252).

Diferentes artículos han intentado demostrar alteraciones en los niveles de citoquinas que pudiesen explicar las alteraciones de los subconjuntos de leucocitos efectores en los tejidos afectados (253,254). Entre las diversas citoquinas, la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1 / CCL2) parece desempeñar un papel crítico en la fibrosis tisular en los pacientes con ES (253,255,256).

Whitfield et al (55), mediante Microarray, revelaron que los genes no se expresan diferencialmente en fibroblastos de pacientes con ES y fibroblastos normales. Duque y Descoteaux (257) sugirieron la activación exógena de fibroblastos por las células inmunocompetentes entre las que jugaban un papel fundamental los macrófagos a través de la producción de diversas citoquinas, que incluyen IL-1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, TGF- $\beta$  y PDGF, y que regulan la inflamación y la fibrosis tisular.

La citoquina que ahora se llama IL-6, originalmente se llamó factor de diferenciación de células B, al identificarse en los sobrenadantes de las células mononucleares periféricas estimuladas y en los linfocitos B productores de inmunoglobulinas (258,259). En 1986 se clonó el ADNc de la interleuquina (260) y se objetivó, que la secuencia era idéntica a una proteína de 26 kDa inducida por IL-1 que se informó de forma independiente por otro grupo (261). Posteriormente, su nombre fue modificado a IL-6 demostrándose que tenía efectos sobre una amplia variedad de tipos de células, además de los linfocitos B. La IL-6 es una citoquina pleiotrópica que puede ser sintetizada por una amplia variedad de células y la señalización aberrante de IL-6, la cual ha sido implicada en numerosas enfermedades (248).

La IL-6 tiene una masa molecular entre 21 y 28 kDa, dependiendo de la glicosilación. Está compuesta por cuatro hélices principales dispuestas en una topología ascendente-descendente. IL-6R (CD126) es un receptor de IL-6 que contiene el sitio de unión del ligando. Aunque el IL-6R es suficiente para la unión

de baja afinidad, la transducción de señal requiere la presencia de la molécula de señalización gp130 (262,263).

El sistema gp130 es un conjunto de moléculas ligandos y receptores que provocan una respuesta mediante su interacción. Todos ellos tienen en común contener al menos una copia de la proteína transmembrana gp130 formando un compuesto hexamérico (263). Gp130 se expresa virtualmente en todas las células, incluyendo hígado, pulmón, placenta, bazo, riñón y corazón (264). La subunidad de señalización de gp130 es una subunidad común para las citoquinas IL-6, IL-11, oncostatina M, factor inhibidor de la leucemia, factor neurotrófico ciliar, cardiotrofina-1, y la neuropoyetina (265).

Aunque varias citoquinas comparten la subunidad gp130 común para señalizar y, aunque muchas de las citocinas tienen funciones poco importantes, también tienen funciones muy relevantes. Esto queda de manifiesto en modelos animales mediante la observación de que los ratones que carecen de componentes individuales de la vía de señalización, pero no la delección de gp130, exhiben solo fenotipos leves de afectación (266,267). Sin embargo, el efecto de la delección completa de gp130 no fue más grave (268), lo que indica que IL-6 es el miembro principal de la familia de citoquinas con respecto a la función inmune.

La señalización de IL-6 es compleja. Inicialmente, se une a una parte no señalizadora de IL-6R (CD126) que se dimeriza con gp130. Esta dimerización conduce a la activación de quinasas asociadas al receptor (JAK1 y JAK2), la posterior fosforilación y activación de transductores de señal de activación y transducción 1 y 3 (STATs1/3) y a la expresión de genes diana STAT (269).

Un componente importante de la señalización de IL-6 es que sólo determinadas células en las que se incluyen los hepatocitos y determinados subconjuntos de linfocitos expresan en la membrana IL-6R, por lo que pueden responder a la señalización "clásica". Sin embargo, todas las células que expresan la subunidad de señalización gp130 pueden responder a IL-6 a través de IL-6R soluble (sIL-6R) liberado por escisión proteolítica de IL-6R unida a membrana (270) o por traducción de un ARNm empalmado alternativamente. Esto se denomina 'trans-señalización' (252). Dicha señalización "trans" potencia drásticamente el

espectro de células que pueden responder a IL-6 y a la transducción de señal inicial aumentando su respuesta inmunológica (271).

La interleuquina-6 (IL-6) es una citoquina proinflamatoria que desempeña un papel relevante en la defensa del huésped (272,273). Está implicada en muchas enfermedades, incluidas la artritis reumatoide (248,274), la enfermedad de Castleman (249), la osteoporosis (248), la artritis inducida por colágeno tipo II (275) y la encefalomiелitis (276), hecho que indica su importancia en condiciones inflamatorias autoinmunes.

Los niveles de IL-6 están elevados en los pacientes con ES (277) y también la producción espontánea de IL-6 e IL-6R por los leucocitos de sangre periférica en comparación con controles sanos (278). Los niveles de IL-6 se correlacionan muy bien con la afectación cutánea medida a través de la escala de Rodnan (279). Esto también se ha demostrado en modelos animales de ES donde además de a la piel, también se ha asociado a la fibrosis pulmonar de forma dependiente a los niveles de IL-6 (280). Este hecho es significativo, ya que sólo un subconjunto de leucocitos expresa el receptor de membrana IL-6R que además, está espontáneamente elevado en el sobrenadante de cultivos in vitro de células mononucleares de sangre periférica de pacientes con ES (278), lo que indica que la fuente del receptor es probablemente una célula T o un macrófago.

Se ha demostrado que la IL-6, a diferencia de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , aumenta la producción de TIMP-1 por las células sinoviales, condrocitos y células endoteliales. Estudios in vitro en los que se cultivaron condrocitos humanos estimulados con IL-6 sugieren que ésta protege la membrana sinovial y el cartílago de la degradación mediada por MMP inducida por IL-1 $\beta$  o TNF- $\alpha$  (281). La producción de TIMP-1 por fibroblastos sinoviales humanos fue 3 veces mayor en la combinación de IL-6 con sIL-6R, en comparación con IL-6 o estimulación TGF- $\beta$  sola (282). La preincubación de fibroblastos sinoviales con anticuerpo neutralizante anti-sIL-6R eliminó por completo la producción de TIMP-1, confirmando el efecto sinérgico de IL-6 y sIL-6R (282).

Los modelos animales también respaldan el papel de la IL-6 en el inicio y la progresión de la HAP (283,284). La sobreexpresión transgénica de IL-6 conduce

a hipertensión pulmonar severa en ratones (285), y los ratones deficientes en IL-6, presentan en menor porcentaje el desarrollo de HAP (286).

La IL-6 se ha asociado con afectación orgánica múltiple, incluida la de la piel (279), la fibrosis pulmonar (287), la disminución de la capacidad vital forzada (CVF) y el aumento de la mortalidad en pacientes con ES (288). El nivel plasmático de IL-6 resultó ser más alto en pacientes positivos a ATA y anti-RNAP III, pero no en pacientes con positividad para ACA (289). Jurisic et al (290), asociaron los niveles de IL-6 sérica con la actividad de la enfermedad, aunque esto es todavía controvertido encontrando estudios contradictorios (291). En un estudio de asociación genética, se demostró que el polimorfismo de IL-6 en pacientes con ES se asociaba con la actividad de la enfermedad y el HAQ-DI, aunque desafortunadamente la IL-6 sérica no se midió (292).

Históricamente, los trabajos sobre IL-6 en pacientes con ES comenzaron en 1992, con el estudio de White-Needleman et al (277), que objetivaron mayor presencia de IL-6 en pacientes con ES respecto a controles sanos. Para ello compararon los niveles de IL-6 de muestras de 78 pacientes con ES con 73 controles sanos, utilizando la técnica ELISA, y emparejados por sexo, etnia y edad. Inicialmente el estudio valoró únicamente la detectabilidad/no detectabilidad de IL-6 en las diferentes muestras, objetivando un aumento de positividad para IL-6 en los sueros de pacientes diagnosticados de ES. Sin embargo, la comparación de medias en los distintos grupos, no encontró diferencias significativas (La media en ambos grupos fue de 34 pg/ml). Los propios investigadores justificaron estos hallazgos por la corta vida media de esta citoquina así como con la posibilidad de una alta presencia de dicha citoquina a nivel local con un gran consumo en sangre periférica que explicaría el descenso de niveles. Posteriormente, seleccionaron 9 pacientes de ES realizando un seguimiento, mediante diferentes intervalos de tiempo, hasta los 2 años tras el primer análisis, en el que objetivaron una variabilidad en los niveles de IL-6 en los distintos controles sin presentar un patrón determinado. Por otro lado, Matsushita et al (293), en 2006, encontraron un aumento entre 9-12 veces mayor de media en los pacientes con ES que en una población control apareada por edad y sexo.

Selimovic et al (294) en 2009, compararon los niveles de IL-6 en 44 pacientes con HAP, 13 de ellos con ES, con 20 pacientes control, sin objetivar diferencias respecto a la edad o el sexo, lo cual justificaron dado el bajo número de pacientes incluidos y la heterogeneidad de los mismos.

En 2016, el grupo de Abdel-Magied et al (295), comparó los valores de IL-6 en 20 pacientes diagnosticados con ES frente a 10 controles sanos. Los niveles medios de IL-6 fueron significativamente mayores en el grupo de pacientes, con una media de  $6,3 \pm 1,4$  pg/ml respecto al grupo control de  $3,2 \pm 0,4$  pg/ml.

Recientemente, Wahlu et al (296) han ido un paso más allá no sólo relacionando un aumento de niveles de IL-6 en los pacientes con ES, si no también relacionando un aumento mayor en aquellos que presentaban la forma difusa de la enfermedad.

En un estudio publicado en 2006, Matsushita et al (293) realizó un seguimiento de un total de 26 pacientes afectados de ES durante 6 años detectando un descenso significativo de sus niveles a los 6 años de seguimiento. Sin embargo, únicamente 12 pacientes completaron el seguimiento y el reclutamiento inicial fue muy heterogéneo con una media de duración de la enfermedad previa al reclutamiento de 2,1 años.

En referencia a las características sociodemográficas, ya en 1992, White Needleman et al (277) no objetivaron diferencias significativas que pudieran asociar el aumento de los niveles de IL-6 con el sexo, edad, etnia, o incluso la presencia de diferentes autoanticuerpos (ANAs, anti-SCL70, anticentrómero) y el tratamiento utilizado (20% AINEs, 14% penicilamina y 25% prednisona).

Analizando los valores de IL-6 respecto a la afectación orgánica, el grupo de Jurisic et al (290) realizaron un estudio prospectivo en el que compararon 31 pacientes de ES y 32 voluntarios sanos. Encontraron diferencias significativas entre el grado de actividad (medido mediante el EUSTAR score) y la disfunción ventricular izquierda y los niveles de IL-6. Los niveles de IL-6 en enfermos se encontraron significativamente más elevados que en los controles, mostrando además, una fuerte correlación con la duración de la enfermedad. Así mismo, en este estudio, también se encontraron varios parámetros ecocardiográficos de

disfunción miocárdica que se correlacionaron con niveles de IL-6, lo cual apoya la hipótesis del potencial papel de la IL-6 en el desarrollo de lesiones miocárdicas en pacientes con ES. Abdel-Magied et al (295) apoyaron dicha teoría al asociar los niveles de IL-6 con la alteración de las cavidades derechas medidas mediante ecocardiografía.

En el estudio de Selimovic et al (294), se compararon 44 pacientes con HAP, diagnosticados mediante cateterismo derecho, 13 de ellos con ES y 20 controles sanos, observando un incremento significativo de los niveles de IL-6 (3,98 vs 0,7 pg/ml) (Mediana 4,19 vs 0,7 pg/ml). Sin embargo, los niveles de IL-6 no se correlacionaron de forma significativa con los datos hemodinámicos y clínicos que reflejaban la severidad de la HAP. En el estudio multivariante los niveles de IL-6 elevados se asociaron como un factor de riesgo independiente de mortalidad lo que sugiere que IL-6 puede ser un marcador pronóstico en los pacientes con HAP. De forma complementaria, hubo concentraciones significativamente mayores de IL-6 en el suero de pacientes con HAP en comparación con los controles.

Soon et al (297) analizaron en suero los niveles de IL-6 de 60 pacientes con HAP y de 20 voluntarios sanos obteniendo un aumento significativo en el subgrupo con HAP con unas medias de  $5,7 \pm 0,4$  pg/ml y  $19,87 \pm 7,45$  pg/ml en el subgrupo afectado. Además, tras un seguimiento clínico de 5 años, aunque sin nuevos controles analíticos, los pacientes con niveles de IL-6 < 9 pg/ml tuvieron una ratio de supervivencia acumulada al año y a los 5 años de 93,9% y de 62,8% respectivamente mientras que los pacientes con niveles  $\geq 9$  pg/ml presentaron ratios de 75% y 29,6% ( $p=0,008$ ). Un resultado muy interesante de este trabajo es que el uso de prostanoides no modificó los niveles de IL-6.

Recientemente, Kylhammar et al (199), publicaron una serie de 20 pacientes con HAP confirmada mediante cateterismo derecho, de los que 11 asociaban ES, seguidos durante una mediana de 4 meses de forma prospectiva y 2 años de forma retrospectiva, comparados con una cohorte de pacientes diagnosticados de ES sin HAP. Este estudio concluyó que los valores medios de IL-6 en el subgrupo de pacientes con HAP y ES fueron significativamente superiores a los de los pacientes sin dicha afectación (0,83 Rango 0,6 – 1,7 y 2 Rango 1 – 2,8

pg/ml, respectivamente). Sin embargo, no relacionaban ni describían la presencia de otra clínica asociada que pudiese interactuar con esta elevación. Aunque el estudio no lo analiza ni interpreta, lo interesante de este estudio es la comparación de los niveles de IL-6 en los pacientes con ES 10 años antes del estudio y en el momento del diagnóstico de HAP. Pudieron ver que, en los pacientes con ES que no desarrollaron HAP estos niveles apenas variaron (0,74 vs 0,83). Sin embargo, en los pacientes que desarrollaron HAP, la media de los niveles previos fueron casi la mitad a la del momento del diagnóstico (1,1 vs 2 pg/ml), lo que llevó a pensar en una relación de la IL-6 con la actividad de la enfermedad.

En referencia a la afectación pulmonar, ya en 2003, Baraldi et al (298) correlacionaron numerosas citoquinas, entre ellas la IL-6, con la capacidad pulmonar total y la DLCO, pero sin diferenciar entre pacientes con o sin fibrosis pulmonar. En la misma dirección, De Lauretis et al. (288), mediante el estudio de dos cohortes, una de ellas con 74 pacientes con ES a los cuales se realizó PFR, y otra cohorte retrospectiva de 212 pacientes con ES recogidos a lo largo de 22 años y seguidos mediante realización periódica de PFR analizaron la variabilidad de diversas citoquinas, como la IL-6, en la afectación respiratoria medida mediante la variación en la difusión de monóxido de carbono (DLCO) y la capacidad vital forzada (CVF). Este estudio encontró que la IL-6 es un predictor independiente del descenso de DLCO. Se buscó el nivel de umbral con mayor potencia predictiva encontrándose como punto de corte la cifra de 7,67 pg/ml para la disminución de DLCO y CVF en el primer año, y como el valor predictivo de muerte en los 30 primeros meses de forma significativa para ambos grupos. También relacionaron los niveles elevados de IL-6 en el suero de pacientes con Enfermedad Pulmonar Intersticial, con una peor supervivencia, específicamente en aquellos con una afección leve-moderada en el TACAR.

En otro sentido, se confirmó el aumento de IL-6 en el condensado de aire exhalado (CAE) de pacientes con ES frente a controles sanos, lo que apoyó que la medición de biomarcadores en las vías respiratorias puede ser de utilidad tanto para estudiar el proceso patogénico que ocurre en el tejido pulmonar como para determinar su posible valor pronóstico (299). De igual manera, De Santis et al (300), en 2005 asociaron los niveles séricos elevados de IL-6 con la presencia

de alveolitis, apoyando los resultados obtenidos previamente por Crestani y Aubier (301).

Finalmente, Wakhlu et al (296) han publicado un estudio recientemente en el que recogen 93 pacientes con ES y comparan diferentes citoquinas con diferentes manifestaciones clínicas. Entre las conclusiones destacan que los niveles altos de IL-6 estuvieron asociados con fibrosis pulmonar medida mediante TACAR y radiografía simple.

Respecto a la afectación cutánea y muscular, los estudios de Sato et al (279) y Scala et al (287) correlacionaron los niveles de varias citoquinas y factores de crecimiento con la escala modificada de Rodnan en pacientes con ES. El estudio realizado por Sato et al (279) fue prospectivo y contó con 32 pacientes afectados de ES que se compararon con 20 voluntarios sanos. A pesar de comparar numerosas citoquinas y factores de crecimiento sólo los niveles de IL-6, IL-10 y CTGF (Factor crecimiento tejido conectivo) estuvieron incrementados en los enfermos respecto de los sanos. El análisis de regresión múltiple mostró que la escala modificada de Rodnan estaba significativamente correlacionada de forma positiva con niveles de IL-6 en suero ( $p < 0,05$ ). También se encontró que los niveles de IL-6 tendían a ser más altos en pacientes con fibrosis pulmonar aunque sin diferencias significativas ( $p = 0,055$ ). Por último, los niveles de IL-6 fueron significativamente más altos en pacientes con afectación muscular que aquellos sin afectación ( $p < 0,05$ ) Estos datos son similares a los obtenidos por el grupo egipcio de Abbel-Magied (295) donde se asociaron los niveles de IL-6 con la escala EUSTAR, así como con la afectación musculo-esquelética medida a través del índice del estado musculo-esqueléticos (IMSS). El grupo de Wakhlu (296) obtuvieron resultados similares al relacionar la afectación cutánea con niveles elevados de IL-6, aunque sin obtener diferencias significativas con la presencia de úlceras digitales, lo cual, atribuyeron al alto porcentaje de pacientes en tratamiento del estudio.

Aunque hay numerosos estudios que a lo largo de los años han intentado asociar diversas citoquinas con las alteraciones capilaroscópicas, únicamente los trabajos de Alivernini et al (302) en 2009 y Yalçinkaya et al (303) en 2016, utilizaron la IL-6 como posible biomarcador en la detección de las alteraciones

capilaroscópicas, con resultados diversos. Alivernini et al encontraron asociación de niveles elevados de IL-6 con la presencia de áreas avasculares, sin embargo, Yalçinkaya et al (303), no demostraron asociación con los diferentes patrones capilaroscópicos (temprano, tardío y activo, siguiendo la clasificación de Cutolo et al (304)) en función de los niveles de IL-6, con una media superior en el patrón temprano ( $\bar{x} = 1,9 \pm 5,7$  pg/ml). Los autores eximen como una de sus principales limitaciones la presencia de únicamente 4 pacientes con niveles elevados de IL-6, lo que posiblemente, pueda repercutir en los resultados obtenidos.

En referencia a la afectación esofágica, un único estudio hasta hoy, el realizado por McNearney et al (305) objetivó que la disminución de los niveles plasmáticos de IL-6 se asoció inversamente al aumento de las frecuencias de las ondas gástricas lentas y al acoplamiento de la onda gástrica.

En lo referente al tratamiento, Della Bella et al (306) mediante un estudio prospectivo, randomizado con seguimiento de dos grupos compararon las variaciones del suero de IL-6 con el uso de iloprost endovenoso a ritmo de 2 ng/kg por minuto durante 5 días y posteriormente tratamiento de continuación de un día cada 6 semanas y el uso de nifedipino 20 mg dos veces al día. Para ello, compararon los 19 pacientes tratados con iloprost con 12 pacientes tratados con nifedipino (grupo control) durante un periodo de 12 meses. No se encontraron cambios significativos en los niveles de IL-6 aunque hubo cierta tendencia a niveles menores de IL-6 en el subgrupo tratado con iloprost ( $7,253 \pm 1,502$  vs  $8,286 \pm 1,472$  en el grupo control) y niveles más elevados en el subgrupo en tratamiento con nifedipino ( $9,444 \pm 1,765$  vs  $5,454 \pm 1,313$  pg/ml). En el estudio de Selimovic et al (294) los pacientes con tratamiento activo (tratamiento específico HAP: Bosentan, sildefanilo, epoprostenol y combinaciones) mostraron niveles menores de IL-6. Sin embargo, Soon et al (297) concluyeron que el uso de prostanoides no modificó los niveles de IL-6, sin presentar diferencias respecto al grupo sin tratamiento.

### Otros marcadores inflamatorios

La actividad de la enfermedad, como en muchas otras enfermedades autoinmunes, se refleja en una respuesta inflamatoria sistémica, cuantificada por

marcadores inflamatorios entre los que se encuentra la Velocidad de Sedimentación globular (VSG) y proteína C reactiva (PCR). La relación entre la VSG y la PCR y la actividad de la enfermedad en la ES sigue siendo controvertida y su papel, si lo hay en la medición de la actividad de la enfermedad, está todavía mal definido (307). Sin embargo, hay múltiples estudios que orientan a pensar que estos marcadores inflamatorios aumentados en la enfermedad temprana son un factor de mal pronóstico que se relacionan con el aumento de la mortalidad y la actividad de la enfermedad clasificada por el médico (308–313).

- **Velocidad de Sedimentación Globular (VSG)**

La tasa de sedimentación eritrocítica, también conocida como Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) es un reactante de fase aguda utilizado en la práctica habitual como marcador de infección e inflamación (313). Consiste en medir la velocidad con la que sedimentan los glóbulos rojos de la sangre, provenientes de una muestra de plasma sanguíneo tratado con solución de citrato, en un periodo determinado de tiempo, habitualmente una hora.

Un estudio de 529 pacientes italianos en el que se evaluaron los factores de riesgo de mortalidad en ES demostró que una VSG  $\geq 25$  mm/h en el momento del diagnóstico de ES, se asoció con un índice de riesgo de 1,93 para la muerte (100). Esta asociación con la mortalidad y la actividad de la enfermedad ha significado que los marcadores inflamatorios elevados se hayan incluido en el índice de actividad del Grupo Europeo de Ensayos e Investigación de Esclerodermia (EUSTAR) (308,314,315).

Respecto a la Esclerodermia, la VSG es un biomarcador que se ha relacionado con un aumento de la morbilidad y la mortalidad (309,310,316–319) en diferentes subtipos de pacientes. También, Altman et al (320) han apoyado que el aumento de la VSG se vislumbra como un indicador desfavorable del resultado de la enfermedad defendiendo que los pacientes con una duración más prolongada de la enfermedad y un aumento persistente de la VSG pueden tener un peor pronóstico, aunque con las limitaciones del estudio, no se pueden excluir otras teorías que incluyan diferencias geográficas/ambientales o de otra índole.

Se ha demostrado que los pacientes con una VSG elevada tienen un mayor riesgo de presentar úlceras digitales (319) lo que ha conllevado que este marcador haya sido incluido por Manfredi (321) en un modelo de pronóstico de úlceras digitales asociadas a ES.

De hecho, Bryan et al (310) realizaron un seguimiento de 280 pacientes diagnosticados de ES durante 5 años objetivando una asociación entre los niveles elevados de VSG ( $\geq 25$  mm/h) y la mortalidad. En el modelo de regresión logística, la VSG se mantuvo como predictor de mortalidad junto con la proteinuria y DLCO disminuida ( $< 70\%$ ) con una precisión mayor al 80%.

Recientemente, el equipo australiano dirigido por Ross, ha realizado un estudio de seguimiento de 1.545 pacientes enrolados en la cohorte australiana de ES con un seguimiento medio de 3,4 años. Encontraron asociación entre los niveles de VSG mayores a 20 mm/h con la CVF  $< 80\%$ , la DLCO  $< 80\%$ , la presencia de HAP, la anemia y la hipocomplementemia (307).

De forma complementaria, Yamane et al (317) asociaron el aumento de VSG, únicamente como variable dicotómica, con la presencia de HAP, medida a través de ecocardiografía y considerando el punto de corte de la presión sistólica pulmonar  $\geq 40$  mmHg. En este estudio también se encontró asociación con la presencia de úlceras digitales.

- **Proteína C reactiva (PCR)**

La PCR es producida por los hepatocitos tras la estimulación por la IL-6 (322). La distribución de los niveles de PCR en los pacientes con ES se ha mostrado similar a la de la población general (323–325) aunque de forma sesgada hacia valores más bajos dada su tendencia a la estabilidad en el tiempo con respecto a la media (326,327). Una de las principales teorías apunta a que la PCR, podría estar elevada tempranamente por la liberación de otras citoquinas con un descenso progresivo con la sustitución de dicha inflamación por fibrosis (308). Ohtsuka et al (328,329) realizaron dos estudios en los que objetivaron unos niveles de PCR elevados entre el 35 y el 54% de sus pacientes con ES, aunque el tamaño de la muestra fue únicamente de 40 pacientes en cada uno de ellos y presentaban una evolución muy corta de la enfermedad con una media de 4,4

años. Otro estudio británico, dirigido por Tennent (330), relacionó el aumento de PCR, principalmente en el subtipo de ES difusa. Finalmente, Nagy et al (331) consideraron la presencia de niveles de PCR mayores a 20 mg/L (2 mg/dl) como signo de peor pronóstico.

En unos de los estudios realizados por Ohtsuka et al (328) relacionaron además, la PCR de alta sensibilidad con la presencia de anticuerpos antimitocondriales (AMA). Este hallazgo es explicado en el contexto de que alguna anomalía todavía no conocida de las citoquinas, en las que intervendría la IL-6, pueda contribuir al aumento significativo de la PCR de alta sensibilidad y la aparición de AMA.

El grupo canadiense de Esclerodermia (CSRG) publicó en 2012 un estudio (308) de una cohorte de 1.043 pacientes, encontrando una PCR elevada ( $PCR \geq 8$  mg/L) en el 25,7% de los pacientes, siendo más elevada en el grupo con ES de menos de 3 años de evolución ( $2,89 \pm 28,13$  mg/L vs  $8,60 \pm 17,06$  mg/L;  $p=0,041$ ). De igual modo, la media de PCR fue mayor en el subgrupo con ES difusa ( $11,98 \pm 25,41$  mg/L vs  $8,15 \pm 16,09$  mg/L). Es interesante destacar que la PCR estuvo significativamente correlacionada con la VSG en todos los subconjuntos independientemente del tratamiento con prednisona. Además, la PCR se correlacionó con la puntuación de la piel medida a través de la escala de Rodnan (MRSS) y en la ES difusa, pero las correlaciones fueron muy bajas ( $r=0,2-0,3$ ). De la misma manera, presentó una muy débil correlación positiva ( $r < 0,2$ ) con la PAPS y una correlación negativa con la TLC ( $r=-0,25$ ), la CVF ( $r=-0,22$ ) y la DLCO ( $r=-0,16$ ), aunque sin diferencias estadísticas significativas. La correlación de la PCR frente al método de diagnóstico de la EPI mediante una radiografía de tórax o una TC de alta resolución del tórax fue muy baja ( $r \leq 0,2$ ) y no se observó una correlación con la afectación articular. También encontraron una asociación significativa entre los niveles de PCR y la actividad medida mediante diferentes escalas (score de severidad de la Esclerodermia y score de actividad de la Esclerodermia). Por último, el inicio de tratamiento con prednisona obtuvo un descenso medio de PCR de  $5,5 \pm 28,85$  mg entre la primera y segunda visita, sin especificarse el tiempo transcurrido en el estudio.

La comparación entre los pacientes con niveles elevados de PCR y aquellos con niveles normales (PCR<8 mg/L) mostró que los pacientes con niveles elevados tenían un índice de masa corporal (IMC) significativamente más alto; eran más propensos a padecer ES difusa, mayor afectación cutánea medida mediante MRSS y actividad y severidad de la enfermedad, PAPS, prevalencia de fibrosis pulmonar, peor función pulmonar (medidas a través de la TLC, CVF y DLCO%), hemoglobina más baja, creatinina más alta, VSG más alta y mayor prevalencia de proteinuria; y como consecuencia de una mayor actividad de la enfermedad, eran más propensos a usar esteroides o inmunomoduladores como tratamiento.

Quarck R. et al (332) demostraron correlación entre los valores de PCR y la clase funcional según la Asociación Cardíaca de Nueva York, la presión auricular derecha medida mediante cateterización cardíaca derecha y la distancia de marcha medida por el test de la marcha de 6 minutos en pacientes con Hipertensión pulmonar idiopática.

En los pacientes con ES, la PCR a niveles mayores de 20 mg/L se asoció con una peor supervivencia (331). Además, la elevación del nivel de PCR también se asoció con la resistencia vascular renal detectada por ecografía Doppler (333) y artritis inflamatoria, esta última en pacientes con Artritis Reumatoide concomitantemente (334). El análisis de la cohorte EUSTAR mostró que la presencia de sinovitis se asociaba fuertemente con la PCR elevada, lo que llevó a Avouac et al (335) a sugerir que la artritis inflamatoria puede explicar la respuesta inflamatoria sistémica en la ES.

### **Interacciones entre marcadores inflamatorios**

Algunos investigadores han analizado de forma conjunta la interacción entre estos marcadores inflamatorios.

Así se han descrito niveles más altos de IL-6 y PCR en pacientes con ES de reciente diagnóstico (<3 años desde el inicio de la clínica) (54,279,293,329,336). Parece ser que hay una relación entre el uso de glucocorticoides sistémicos y la disminución en sangre de la concentración de PCR y de IL-6, aunque estos estudios presentan el sesgo de la indicación de dicho tratamiento en únicamente pacientes con inflamación activa significativa (308,337). Ohtsuka et al (329)

demonstraron una correlación directa significativa entre los niveles de IL-6 y PCR, que explicaron como un aumento de PCR a nivel hepático como consecuencia de la elevación sistémica de IL-6.

Ross (307) en su estudio de la cohorte australiana con más de 1.500 pacientes, realizó un seguimiento en el tiempo objetivando que un aumento de dos veces los valores de la VSG y la PCR entre las visitas (n=172) se asociaba significativamente con una disminución del 10% en la CVF (OR=1,60, p=0,032), siendo más significativo en el subgrupo de pacientes que presentaban fibrosis pulmonar en el TACAR (OR=2,31, p=0,012). Sin embargo, el subanálisis de los pacientes con enfermedad limitada no mostró una relación significativa entre el cambio en los marcadores inflamatorios y la prueba de función respiratoria. Tampoco encontraron relación entre el aumento de marcadores inflamatorios y el cambio en la induración cutánea medida mediante escala de Rodnan en ninguno de los grupos de pacientes.



*JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO*

*OBJETIVOS*



## JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La esclerodermia es una enfermedad rara, poco prevalente, con gran impacto en la calidad de vida y en la supervivencia de los pacientes, debido a la gravedad de algunas de sus manifestaciones clínicas y al mal pronóstico relacionado. Afecta principalmente al sexo femenino y la edad de aparición más frecuente es la cuarta década de la vida, presentando una mortalidad muy superior respecto a la población sana de su misma edad.

Las causas de mortalidad de la esclerodermia en la actualidad son debidas al desarrollo de hipertensión arterial pulmonar y enfermedad intersticial pulmonar, una o ambas concomitantemente. El seguimiento clínico de estos pacientes debe ir dirigido al diagnóstico temprano de estas complicaciones dado que hoy contamos con herramientas terapéuticas que permiten mejorar la calidad de vida y el pronóstico.

Existen múltiples algoritmos consensuados y ninguno de ellos suficiente, por lo que el problema no está resuelto, y su consecuencia es el retraso en el inicio terapéutico. De esto se desprende que necesitamos nuevas herramientas, que unidas a las ya utilizadas, permitan una intervención más precoz.

Así, la utilización de los ya clásicos biomarcadores junto a otros más novedosos, nos pueden ayudar en el camino hacia el diagnóstico más precoz de las complicaciones a través de su estrecha monitorización. Necesitamos que sean poco invasivos, accesibles a los centros especializados en el seguimiento de estos enfermos, reproducibles, no excesivamente costosos y con una más que aceptable correlación clínica.

En esta búsqueda se han descrito numerosos posibles biomarcadores de la enfermedad, muchos de ellos relacionados únicamente mediante estudios transversales heterogéneos, que no analizan conjuntamente las manifestaciones clínicas ni tampoco su evolución en el tiempo.

A la luz de lo expuesto, planteamos el estudio de la interleuquina-6 como biomarcador y su combinación con otros ya clásicos, buscando la monitorización

de la actividad clínica, con el fin último de tratar con más antelación las complicaciones y, en consecuencia, mejorar la supervivencia.

### **3. Objetivos**

#### **1. Objetivo principal**

Analizar diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) de forma individual y en combinación como potenciales biomarcadores de actividad de Esclerodermia.

#### **2. Objetivos específicos**

1. Valorar si los niveles de los marcadores inflamatorios se modifican a lo largo del tiempo o únicamente en relación con la actividad de la esclerodermia.
2. Estudiar la asociación de los marcadores inflamatorios con las principales manifestaciones de la enfermedad.
3. Definir un valor para cada uno de los marcadores inflamatorios estudiados que permita la detección de la actividad clínica medida mediante diferentes pruebas complementarias.
4. Evaluar si la combinación de los diferentes marcadores inflamatorios mejoran su potencial diagnóstico.
5. Conocer a partir de que valores de cada uno de los marcadores inflamatorios y sus combinaciones nos permiten determinar el tiempo medio en que se pueden iniciar las principales manifestaciones clínicas.

## *MATERIAL Y MÉTODOS*



### ***Diseño del estudio***

Estudio observacional longitudinal prospectivo de una cohorte de pacientes diagnosticados de esclerodermia, controlados en la Unidad de Enfermedades Autoinmunes del Servicio de Medicina Interna del Hospital Clínico Universitario “Lozano Blesa” de Zaragoza. El período analizado fue el comprendido entre junio de 2015 y junio de 2017. Para evitar excluir a pacientes con un claro diagnóstico clínico de ES que no cumplieran los criterios de clasificación de la ACR de 1980 (88), utilizamos la clasificación propuesta por la ACR/EULAR 2013 (93). Se incluyeron también los pacientes de nuevo diagnóstico comprendidos en este período de tiempo.

Criterios de inclusión:

- Edad mayor de 18 años
- Firma del consentimiento informado

Criterios de exclusión:

- Preesclerodermia: dado que este grupo de pacientes no presenta afección visceral, por definición.
- Tener dependencia física o mental que impidiese el seguimiento ambulatorio.
- Padecer neoplasia activa.
- Padecer infección crónica activa.
- No aceptación de participación en el estudio.

Si la inclusión era factible, se informaba al paciente de forma verbal y mediante un documento escrito del objetivo del estudio (anexo I) y se le ofrecía la posibilidad de participación. En caso de aceptar, se cumplimentaba un documento específico de consentimiento informado (anexo II) y se procedía a la recogida del conjunto mínimo de datos (CMD).

Se realizó un seguimiento en la Consulta de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas de forma semestral hasta cumplir el tiempo de estudio programado. En caso de necesidad por motivos clínicos, el paciente podía ser valorado entre dichas consultas. Se consideró concluido el estudio al alcanzar la fecha propuesta de finalización del mismo, fijada en junio de 2017.

En cada consulta se valoraron los parámetros de ecocardiograma, función respiratoria y analítica (VSG, PCR e IL-6) obtenidos, con un plazo máximo de un mes de diferencia. En aquellos pacientes que no contaban con manometría esofágica y capilaroscopia previa, se realizaron en una única ocasión durante el período del estudio haciéndolos coincidir con alguna de las visitas de seguimiento.

Se excluyeron del estudio aquellas pruebas complementarias realizadas en un tiempo mayor a  $\pm 1,5$  meses respecto a la determinación de los biomarcadores analizados.

Es remarcable que el corte inicial de cada paciente se hizo corresponder con el momento de la cita que el paciente tenía prevista previamente a proponerle su participación en el estudio.

### ***Definición de las variables***

Las tres variables principales estudiadas por nosotros son:

- IL-6: analizada de forma cuantitativa y dicotomizada para diferentes puntos de corte. Se utilizaron kits de ensayo inmunoenzimático específico (ELISA) para medir los niveles séricos de IL-6 según el protocolo del fabricante. La sensibilidad mínima detectable según el protocolo diaclone IL-6HS Elisa Kit fue de 0,81 pg/ml. No se encontró reactividad cruzada con el resto de citoquinas.
- VSG: analizada de forma cuantitativa y dicotomizada en los puntos de corte 20 y 40 mm/h
- PCR: analizadas de forma cuantitativa y dicotomizada para los puntos de corte de 1 y 1,5 mg/dl.

Se recogieron datos demográficos y comorbilidades de la esfera de afecciones autoinmunes: sexo, edad, síndrome de Sjögren y órgano-específicas.

Se recogieron las siguientes variables clínicas:

**1. Manifestaciones clínicas:**

- Años de evolución de la ES: cuantificados como años desde el inicio del fenómeno de Raynaud (FR). Se valoró de dos formas distintas, como variable numérica y recodificado en 4 categorías por el valor de los cuartiles (Q1:3 años, Q2:11 años, Q3: 20 años).
  
- Afectación cutánea: se consideraron tres subtipos cutáneos basándose en la extensión de la esclerosis cutánea según la clasificación de Leroy (1,91).
  - o ES cutánea difusa, que incluye pacientes con esclerosis cutánea proximal a codos y rodillas.
  - o ES cutánea limitada, que incluye pacientes con esclerosis cutánea distal a codos y rodillas incluyendo cara y cuello.
  - o ES *sine escleroderma*, definida por la presencia de FR, afección visceral características de la ES y presencia de ANAs.
  
- Fenómeno de Raynaud: consistente en el desarrollo secuencial de palidez, cianosis y rubor, normalmente bien delimitado y circunscrito a los dedos de manos y pies, y en algunas personas también puede afectar a las orejas, labios y nariz, desencadenado por la exposición al frío.
  
- Úlceras digitales: considerada como una pérdida de la dermis igual o mayor a 2mm en localización palmar de los pulpejos de los dedos y de etiología isquémica.
  
- Otras manifestaciones cutáneas: eritema cutáneo, dedos hinchados, esclerodactilia, cicatrices pulpejos, telangiectasias y calcinosis.
  
- Disnea: Escala de American Heart Association (WHO).
  - o Grado 1: a grandes esfuerzos.

- Grado 2: a moderados esfuerzos.
- Grado 3: a pequeños esfuerzos.
- Grado 4: en reposo.

-Afección pulmonar:

- Enfermedad pulmonar intersticial difusa (EPI): el diagnóstico de EPI se estableció si se cumplía uno de los siguientes criterios: 1. Patrón restrictivo pulmonar en la PFR con CVF<80% del valor esperado sin otra causa que la justifique, 2. Patrón intersticial evidenciado por radiografía de tórax o TACAR.
- Manifestaciones clínicas: tos y crepitantes.

- Hipertensión arterial pulmonar (HAP): el diagnóstico de HAP se realizó mediante cateterismo cardíaco derecho, definido como una PAPm  $\geq 25$  mmHg junto a una PCR  $< 15$  mmHg y unas resistencias vasculares pulmonares  $\geq 3$  unidades de Wood. La HAP se consideró aislada cuando el paciente no presentaba EPI grave coexistente, CVF  $\geq 60\%$  (338).

- Manifestaciones digestivas: se valoró la presencia de disfagia, más de 2 episodios de diarrea al mes (malabsorción) y pirosis.

- Afección renal: para definir la crisis renal esclerodérmica se utilizaron los criterios de Traub (339), que se basan en la presencia de hipertensión arterial grave de inicio brusco y/o insuficiencia renal oligoanúrica.

## **2.Pruebas complementarias:**

- Parámetros analíticos: Las técnicas utilizadas fueron:

- **Inmunología**: se llevó a cabo en los Laboratorios de los Servicios de Inmunología y Bioquímica perteneciente al Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa ISO9000.
  - ANAs: se utilizó el sistema de inmunofluorescencia indirecta de Nova Lite (IFA) ANA de riñón y estómago de ratón (Inova Diagnostics, San Diego CA, Inc) para la

detección de anticuerpos IgG ANA. Se valoraron las diluciones de 1/160 a 1/1280.

- Anticuerpo anticentrómero (ACA), anti Scl y frente a antígenos extraíbles del núcleo (Ro, La, RNP, Sm y ATA-I): se utilizó la técnica de inmunoblot.

- **Hemograma:** se llevó a cabo en los Laboratorios del Servicio de Hematología perteneciente al Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa ISO9000. Se valoró el hemograma (hemoglobina, hematocrito, leucocitos y plaquetas).

- **Bioquímica:** Realizada en el laboratorio del servicio de Bioquímica perteneciente al Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa ISO9000. Los valores analizados fueron:

- Creatinina: medida en mg/dl.
- Filtrado glomerular calculado: mediante la fórmula CKD-EPI medido en ml/min/1.73m<sup>2</sup>.
- Microalbuminuria.
- NT-proBNP: medido mediante inmunoanálisis por quimioluminiscencia con el analizador Modular Analytics E601 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania) Los resultados se dicotomizaron en cifras mayores y menores a 300.
- Cistatina C: medido mediante ensayo N látex, con el sistema BN II (Dade Behring GmbH, Marburg, Alemania), técnica nefelométrica por inmunoensayo potenciado con látex. Se consideró como valor de referencia los 0,99 mg/dl.

- Capilaroscopia: Para la realización de la capilaroscopia se utilizó un capilaroscopio clínico clásico (esteromicroscopio) con capacidad para ofrecer aumentos de entre 20 y 200. Se siguieron las recomendaciones del manual de capilaroscopia periungueal editado por J.R Calabuig Alborch (340) y los criterios estandarizados de la Sociedad de

Capilaroscopia del Grupo de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas (GREC) de la Sociedad Española de Medicina Interna (304,341). Se valoraron alteraciones cualitativas como megacapilares, dilataciones, pérdida capilar, presencia de tortuosidades, ramificaciones y hemorragias. Se clasificaron mediante los patrones capilaroscópicos de Maricq et al (342) en patrón activo, con predominio de pérdida capilar y un patrón lento con presencia, preferentemente, de dilataciones vascular y megacapilares, sin pérdida capilar. También fueron utilizados los patrones de Cutolo et al (343) clasificados en patrón temprano, con presencia de dilataciones/megacapilares y algunas microhemorragias; en patrón activo, con predominio de megacapilares y microhemorragias; y en patrón tardío con intensa pérdida capilar.

- Manometría esofágica: la manometría esofágica fue realizada por el Servicio de Digestivo usando un ensamblaje de HRM en estado sólido con 36 sensores sólidos espaciados a intervalos de 1 cm (Sierra Scientific Instruments Inc., Los Ángeles, California, EE.UU). Cada sensor es circunferencialmente sensible, con una precisión de 1 mm Hg, capaz de registrar cambios de presión transitoria superiores a 6.000 mmHg/s, y regulados a presión atmosférica. Los estudios se realizaron con el paciente en posición supina lateral izquierda y en ayunas. El instrumental se pasó por vía nasal y se colocó para registrar desde la hipofaringe hasta el estómago. El catéter se fijó en su lugar con una cinta adhesiva en la nariz. El examen manométrico incluyó un período de 30 segundos para evaluar la presión del esfínter basal y diez tragos de agua de 5 ml. Los datos se analizaron utilizando el software de análisis Mano View™ (Sierra Scientific Instruments, Inc.). La aperistalsis esofágica se definió como la ausencia de ondas esofágicas en los dos tercios distales del esófago y la peristalsis hipotensora como 30% o más de dos ondas esofágicas distales con un defecto de 3 cm en el contorno isobárico de 30 mm Hg. Se midió la presión del esfínter esofágico superior, la presión de reposo del esfínter esofágico inferior y la presión residual (nadir 3-s eSleeve) en todos los pacientes. La onda contráctil del cuerpo esofágico

se midió a través de su amplitud, duración y velocidad. Los valores obtenidos constituyeron las siguientes variables a estudio:

- Alteración esfínter esofágico superior.
- Alteración esfínter esofágico inferior.
- Hipomotilidad: leve, moderada y severa.
- Presión mínima esfínter esofágico inferior: normal de 4,8 a 32 mmHg, patológica <4,8 mmHg.
- Presión media esfínter esofágico inferior: normal de 13 a 43 mmHg, patológica <13 mmHg.
- Presión media basal esfínter esofágico inferior: normal <15 mmHg, patológica  $\geq 15$  mmHg.
- Presión residual media esfínter esofágico superior: normal <15 mmHg, patológica  $\geq 15$  mmHg.
- Tiempo de relajación de Nadir esfínter esofágico superior: normal de 74 a 365 ms, patológica <74 ms.
- Tiempo de relación esfínter esofágico superior: normal de 480-1020 ms, patológica  $\geq 1020$  ms.
- Motilidad esofágica: cuantificada mediante:
  - Amplitud de onda: normal de 43 a 152 mmHg, patológica <43 mmHg.
  - Duración media de onda: normal de 2,7 a 5,4 segundos, patológica  $\geq 5,4$  segundos.
  - Velocidad de onda: normal de 2,8 a 6,3 cm/s, patológica <2,8 cm/s.
  - Amplitud de onda 7.0: normal de 37 a 166 mmHg, patológica <37 mmHg.
  - Amplitud de onda 3.0: normal de 41 a 168 mmHg, patológica <41 mmHg.

- Ecocardiografía transtorácica: Los exámenes ecocardiográficos fueron realizados por un mismo grupo de cardiólogos expertos en la realización de dicha prueba complementaria pertenecientes al Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza, utilizando un sistema de ultrasonido (Xario Ultrasound prime, Toshiba) equipado con un transductor de 2 MHz. La ecocardiografía

convencional se realizó según la técnica recomendada por la Sociedad Americana de Ecocardiografía (ASE) (344–346). Respecto a los valores normales de ecocardiografía en el modo Doppler se siguieron los mismos criterios validados por la SEIC (347).

Las velocidades de llenado ventricular y auricular se definieron según los mismos criterios establecidos por la Sociedad de imagen cardíaca considerando como niveles para la Onda E 0,96 (0,44 – 1,10) m/seg en el flujo mitral y 0,64 (0,42 – 0,86) m/seg en el flujo tricuspídeo, Onda A 0,56 (0,28 – 0,6) m/seg en el flujo mitral y 0,33 (0,19 – 0,47) m/seg en el flujo tricuspídeo y unos cocientes E/A de 1,62 (1,31 – 1,93) y 1,52 (1,25 – 1,79) respectivamente.

Finalmente se consideró la disfunción ventricular derecha mediante la medición del desplazamiento del anillo tricuspídeo (TAPSE), la presión arterial pulmonar (PAPS), la velocidad máxima de regurgitación válvula tricúspide o insuficiencia tricuspídea (IT) y el gradiente ventrículo derecho-aurícula derecha (VD-AD).

Las variables derivadas de esta prueba complementaria fueron:

- La FEVI fue estimada por el método de Simpson. Los límites normales de la función sistólica se establecieron entre 26 y 47% para la fracción de acortamiento y la fracción de eyección entre 50 y 70%, utilizando como valores de referencia los de la Sociedad Española de Imagen Cardíaca (SEIC) (348). Se consideró patológica una FEVI < 50%. Se definieron como valores normales modo M los parámetros reflejados según los criterios estandarizados de la clínica Mayo (349). De igual modo, respecto a la función sistólica del ventrículo izquierdo en el modo M se consideró una Fracción de acortamiento entre el 28-41% y una fracción de eyección entre 50-70% (350).

- TAPSE: la TAPSE se realizó mediante la obtención de un plano de cuatro cámaras, con el modo M a través del anillo tricúspide, lo que permite medir su excursión sistólica. Se categorizó en normal con valores iguales o superiores a 18 mm y patológico los valores menores a 18 mmHg.

- PAPS: se calculó aplicando la fórmula modificada de Bernoulli ( $PAPs = 4 \times \text{Velocidad máxima}^2 + \text{Presión aurícula derecha}$ ) para estimar la presión sistólica pulmonar. Se categorizó en normal hasta valores por debajo de 40 mmHg y patológico por encima de 40 mmHg. También se analizó de forma numérica mediante cortes de 5 en 5 mmHg.
- IT: la velocidad máxima de regurgitación válvula tricúspide o insuficiencia tricuspídea (IT) se consideró patológica en valores por encima de 3 m/s y normal en valores  $<3\text{m/s}$ . Se analizó posteriormente mediante la subdivisión en grupos de 0,5 m/s.
- Gradiente VD-AD: Se consideró patológico por encima de 30 mmHg y normal por debajo de 30 mmHg. También se analizó mediante la subdivisión en grupos de 10 en 10 mmHg.
- Tiempo de aceleración de la arteria pulmonar: normal  $<100\text{ m/s}$ . Patológico  $\geq 100\text{ m/s}$ .
- Derrame pericárdico: valorado mediante el plano subcostal.
- Disfunción diastólica: se definió y clasificó de acuerdo con las recomendaciones de ASE.
- Insuficiencia mitral.
- Dilatación de cavidades derechas: respecto a las cavidades derechas se consideró normal un Ventrículo derecho (eje paraesternal largo modo-M, en espiración y decúbito lateral izquierdo ligero) menor a 20 mm y unos espesores parietales de VD entre 5-8 mm.
- Radiografía de tórax (Rx) y Tomografía Axial computerizada de alta resolución (TACAR): las radiografías de tórax fueron realizadas en posición de bipedestación, con rayo postero-anterior.

Las variables analizadas fueron:

- Engrosamiento hiliar.
- Aumento del diámetro de arterias pulmonares.
- Cardiomegalia.
- Oligohemia.

- Bronquiectasias
- Patrón en panal
- Patrón “reticular”
- Patrón vidrio esmerilado

La tomografía axial computerizada de alta resolución (TACAR) fue realizada mediante la utilización de un sistema Philips Healthcare que permitió la obtención de imágenes de alta resolución en los cortes basales. La TACAR fue realizada con cortes de 1.0 mm de espesor y a intervalos de 10 mm a lo largo de todo el tórax. Todas las imágenes fueron obtenidas en posición decúbito-supino iniciando la prueba al final de una inspiración.

Las variables obtenidas de esta prueba fueron:

- Signos de fibrosis pulmonar.
- Signos indirectos de Hipertensión Pulmonar: mediante la dilatación de arterias pulmonares centrales o dilatación de cavidades derechas.
- Prueba de función respiratoria (PFR): las pruebas de función respiratorias fueron realizadas por un mismo grupo de neumólogos expertos del laboratorio de función pulmonar hospitalario del Servicio de Neumología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza.

Previa a la realización de la prueba se incluyeron los datos demográficos y datos generales (edad, sexo, peso y estatura) con los que se obtuvieron los valores de referencia según la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) (351). A todos los pacientes se realizó de forma secuencial una espirometría y posteriormente el cálculo de la DLCO a través de un test de difusión. A través del primer procedimiento, se obtuvieron los valores de la capacidad vital forzada (CVF), fracción espirada en el primer segundo (FEV1) y el volumen residual. La capacidad pulmonar total se calculó mediante la suma de la capacidad vital y el volumen residual de la espirometría.

Para la realización de la espirometría se utilizó un espirómetro de flujo, correctamente calibrado, dirigido por personal sanitario experto en su uso. Para

dar por válida la prueba se exigieron un mínimo de tres maniobras aceptables y las tres gráficas de volumen-tiempo y flujo-volumen.

En todos las pruebas incluidas en el estudio se aseguró que las curvas obtenidas fueran compatibles con una buena realización, es decir, un inicio súbito con descenso gradual hasta la línea de base, la duración de la espiración forzada tenía que ser al menos de 6 segundos alcanzando una meseta (variaciones de < 25 mL en el volumen espirado) al menos de un segundo y sin artefactos y, adicionalmente, se requirió que la diferencia entre los valores de las dos mayores CVF y entre los dos valores mayores de FEV1 no resultase mayor a 150 mL o a 100 mL cuando la CVF era menor de 1 L (352).

Por otro lado, para llevar a cabo la prueba de DLCO se utilizó una mezcla especial de gases (monóxido de carbono al 0,03%, helio al 8%, oxígeno al 21% y nitrógeno). Adicionalmente se utilizó un sistema de función pulmonar con bolsa para la toma de aire inicial (gas control), bolsa de recogida del volumen alveolar, espirómetro y analizador de infrarrojos de CO.

Se permitió un máximo de cuatro maniobras con un tiempo mínimo entre cada una de ellas de 4 minutos y, para considerar la prueba repetible, fue necesario que las mediciones de DLCO no difiriesen en más de tres unidades. Los resultados de DLCO obtenidos se ajustaron por la altitud del lugar en el que se realizó la prueba, en la ciudad de Zaragoza la corrección se aplicó para 208 m sobre el nivel del mar, así como a la concentración de hemoglobina obtenido mediante analítica previa siguiendo las indicaciones de la SEPAR (351).

Con los valores obtenidos se calculó también la DLCO corregida (ajustada según volumen alveolar) así como también los cocientes FVC/DLCO, considerado como punto de corte el 1,6, y el TCL/DLCO, en el que se consideró el punto de corte en 1,4 (353,354).

Las variables obtenidas de esta prueba fueron:

- FEV1: normal ( $\geq 70\%$ ) y patológica ( $< 70\%$ )
- CVF: dicotomizada en los puntos de corte de normal ( $\geq 80\%$ ) y patológica ( $< 80\%$ ) y valores superiores o inferiores al 70%, por ser este el punto a

partir del cual se recomienda iniciar tratamiento. Posteriormente, se categorizó según criterios de SEPAR en normal por encima del 80%, leve entre 65-80%, moderado entre 50 y 64%, grave entre 35-49% y muy grave por debajo del 35%.

- DLCO: dicotomizada en 3 puntos de corte diferentes; normal ( $\geq 80\%$ ) y patológica ( $< 80\%$ ), y también con los puntos de corte del 60 y 70%. Además, se categorizó siguiendo los criterios de la SEPAR en normal por encima del 80%, leve entre 60-80%, moderado entre 35 y 59% y grave las cifras menores a 35%.
- TLC: dicotomizada en normal ( $\geq 80\%$ ) y patológica ( $< 80\%$ ). Se categorizó según criterios de SEPAR en normal  $\geq 80\%$ , leve-moderado 50-70% y grave  $< 50\%$ .
- Cociente FVC/DLCO: dicotomizado en  $< 1,6$  y  $\geq 1,6$  (353).
- Cociente TLC/DLCO: dicotomizado en  $< 1,4$  y  $\geq 1,4$ .
- DLCO/VA: clasificada en  $\geq 80\%$  y  $< 80\%$ .
- Tratamiento: Se analizaron los siguientes tratamientos: inhibidor de bomba de protones, inhibidor de enzima convertidora de angiotensina, antagonista del calcio, corticoides, metotrexato, micofenolato de mofetilo o sódico, azatioprina, ciclofosfamida, inhibidores de la fosfodiesterasa 5 (sildenafil, tadalafilo), antagonista del receptor de la endotelina (bosentan y ambrisentan), prostaciclina, ácido acetil salicílico y rituximab.

### **Análisis estadístico**

En primer lugar, se realizó un estudio descriptivo de todas y cada una de las variables que forman parte del estudio, mediante la media y desviación estándar en el caso de las variables cuantitativas que siguieran distribución normal, y mediana y rango intercuartílico si no seguían distribuciones normales, y con frecuencias absolutas y porcentajes si las variables eran cualitativas.

En segundo lugar, se realizó un análisis bivalente entre cada una de las tres variables principales del estudio (IL-6, VSG y PCR) y el resto de las variables. Para este análisis se utilizó el estadístico Chi-Cuadrado de Pearson, si las

variables independientes eran cualitativas, analizando los residuales de Haberman para determinar entre qué categorías de las variables existía asociación (355). Para las variables cuantitativas, se utilizaron los estadístico t-Student y ANOVA si las distribuciones eran normales o, U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis si no seguían distribuciones normales. La normalidad de las variables cuantitativas continuas se evaluó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov o Shapiro-Wilk en función del número items analizado.

En tercer lugar, los valores de la IL-6 se dicotomizaron, para distintos puntos de corte (1,5 pg/ml; 2 pg/ml; 2,5 pg/ml; 3 pg/ml; 5 pg/ml, 7,5 pg/ml, etc) y se calcularon las OR y sus IC95% entre estas nuevas variables y las variables de mayor relevancia clínica por su gravedad, como son la IT, la HAP, la DLCO, la CVF y la actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR.

Este mismo análisis se realizó con la variable VSG, dicotomizada para los dos puntos de corte de 20 mm y 40 mm y con la variable PCR dicotomizada para los dos puntos de corte de 1 mg/dl y 1,5 mg/dl.

Para conocer la validez interna y externa para los distintos puntos de corte en que las OR del punto anterior resultaban significativas se calcularon la sensibilidad, especificidad, razón de verosimilitud positiva y razón de verosimilitud negativa, esta última según Delgado-Rodríguez y col (356).

De forma secuencial y con el objetivo de conocer si existían diferencias estadísticamente significativas en la ocurrencia de eventos graves a lo largo del seguimiento del estudio entre los pacientes que tenían valores de los indicadores inflamatorios inferiores o superiores a los puntos de corte, se realizaron dos técnicas; la gráfica mediante las curvas de Kaplan-Meier y la analítica mediante el test de log Rank, una vez comprobado que se cumplían la condición de riesgos proporcionales.

El nivel de significación se fijó en  $p < 0,05$  y los programas estadísticos empleados fueron Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 22.0 con licencia de la Universidad de Zaragoza y el análisis epidemiológico de datos de la Xunta de Galicia (EPIDAT) 3.0 (357).

### ***Confidencialidad y anonimato***

El estudio siguió las directrices fundamentales de la Declaración Internacional de Helsinki y previo a su implantación fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA), con el número de Acta 22/2016. Todos los pacientes y familiares fueron informados de las características y objetivos (ANEXO 1 y 2). Previo a su inclusión, firmaron los documentos de consentimiento informado.

Se establecieron las condiciones necesarias para garantizar el cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, siguiendo las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y de la Ley de Cohesión y Calidad del Sistema Nacional de Salud (SNS). De esta manera se garantizó la más absoluta anonimidad de los pacientes, así como también que los datos no fueran utilizados para otro fin que no fuera el de cumplir los objetivos descritos anteriormente. De igual manera, el proyecto se diseñó siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica.

Durante todo el estudio, tanto en la base de datos empleada para su registro y posterior análisis, no se incluyeron datos que permitieran la identificación personal del paciente, manteniendo exclusivamente el número de historia clínica como dato que, en caso necesario, permitiese una nueva revisión de la historia.

## *RESULTADOS*



Durante el periodo comprendido entre junio de 2015 y junio de 2017 se reclutaron un total de 56 pacientes. Cuatro pacientes fueron diagnóstico “de novo” durante el período de inclusión y se produjeron 3 fallecimientos (2 de ellos completaron 2 cortes de seguimiento y el tercero hasta 3). Dos pacientes no completaron el seguimiento, en un caso por negativa a continuar los controles médicos y en otro caso por retorno a país de origen. Ambos únicamente completaron el primer corte. En 3 pacientes, el seguimiento fue inconstante por dificultades intrínsecas para la realización de las diversas pruebas complementarias.

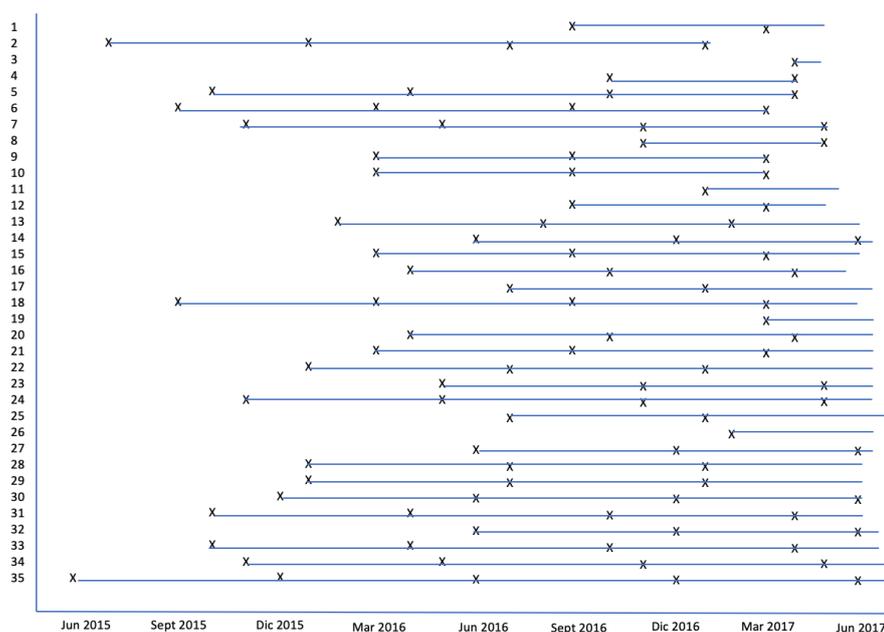
Aunque completaron sus seguimientos pertinentes, se despreciaron las pruebas complementarias realizadas en un tiempo mayor a 1,5 meses de la determinación de los biomarcadores objeto del estudio, por lo que en cada uno de los cortes no se dispuso de todos los datos de las variables esperadas de ecocardiografía y de prueba de función respiratoria:

- Se recogieron los parámetros de 47 ecocardiografías en el momento inicial del estudio, 35 a los 6 meses, 31 en el seguimiento a los 12 meses, 23 a los 18 meses y 16 en el corte de 24 meses.
- Se recogieron los parámetros de pruebas de función respiratoria de 49 pacientes en el momento inicial, 28 a los 6 meses, 30 en el corte de 12 meses, 21 a los 18 meses y 17 en el corte de 24 meses.

Así, 17 pacientes completaron el estudio con los 5 cortes propuestos en su diseño (24 meses), 28 pacientes cumplieron 4 cortes de seguimiento (18 meses), 39 cumplieron un seguimiento de 3 cortes de seguimiento (12 meses), 38 pacientes fueron seguidos durante 6 meses y, finalmente, 56 fueron incluidos en el momento basal.

Los detalles de la inclusión y seguimiento en el tiempo se recogen en la Figura 4.1.

Figura 4.1. Momento de inclusión de los pacientes durante el estudio.



En eje de abscisas se visualiza el tiempo de seguimiento del estudio. En eje de ordenadas se muestra cada uno de los pacientes incluido (excluyendo aquellos que completaron seguimiento o fallecieron durante el estudio) y su seguimiento.

## Antecedentes

### Datos sociodemográficos y antecedentes médicos

La población estudiada se compuso de 56 pacientes, 45 mujeres (80,4%) y 11 hombres (19,6%). La media de edad al inicio de la clínica fue de  $44,4 \pm 17,1$  años y en el momento de reclutamiento al estudio de 59,5 años con un rango de edad comprendido entre los 22 y los 82 años. El tiempo medio de evolución de la enfermedad medido en años, desde el inicio del fenómeno de Raynaud (FR) fue de  $13,7 \pm 12,9$  años (Mediana = 11; RI 17).

Entre los antecedentes personales de la población estudiada la comorbilidad más frecuente fue la hipertensión arterial, con una afectación de 19 pacientes (33%), seguida de la dislipemia en 12 pacientes (21,4%). Tres pacientes (5,4%) habían presentado neoplasia en los años previos que, en el momento del estudio, estaban sin actividad y 1 paciente (1,8%) padecía cardiopatía isquémica.

Al inicio del estudio 29 pacientes (51,8%) presentaban concomitantemente alguna otra enfermedad autoinmune, ya fuera sistémica como Síndrome de Sjögren, diagnosticado en 11 pacientes (19,6%), u órgano-específica, tales como tiroiditis autoinmune en 9 pacientes (16,1%), cirrosis biliar primaria en 5 (8,9%) y celiaquía en 4 pacientes (7,1%).

Una vez descritos los datos sociodemográficos y antecedentes, se realizó la comparación con los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) utilizando para dicha comparación, las medias de los marcadores durante el seguimiento. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de los marcadores inflamatorios analizados y el sexo. La IL-6 presentó una media de  $5,8 \pm 4,5$  pg/ml en hombres y de  $6,2 \pm 7,1$  pg/ml en el grupo de mujeres, la VSG fue similar en ambos sexos con medias de  $22 \pm 23$  mm en hombres y de  $27 \pm 24$  mm en mujeres y, los valores de la PCR para hombres y mujeres fueron de  $0,8 \pm 0,9$  mg/dl y  $0,5 \pm 0,7$  mg/dl respectivamente.

En la tabla 4.1 se compararon los niveles de los marcadores inflamatorios en función del tiempo de fenómeno de Raynaud previo al seguimiento. Se realizaron 3 comparaciones dicotomizando la variable tiempo por el valor de los percentiles 25 (3 años), 50 (11 años) y 75% (20 años).

Tabla 4.1. Comparación de los diferentes marcadores inflamatorios en función de los años de Fenómeno de Raynaud.

Fenómeno de Raynaud	IL-6 media (pg/ml)			VSG media (mm)			PCR media (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<3 años (n=12)	4,1 (2,9)	3,8 (4)	0,717**	25 (26)	12 (19)	0,596*	0,5 (0,7)	0,2 (0,4)	0,847*
≥3 años (n=38)	4,4 (5,5)	3,1 (2,9)		27 (26)	18 (27)		0,5 (0,9)	0,2 (0,5)	
<11 años (n=26)	4 (2,4)	3,9 (3,6)	0,606**	22 (21)	14 (19)	0,249*	0,4 (0,5)	0,2 (0,5)	0,719*
≥11 años (n=24)	4,7 (6,8)	2,9 (2,6)		31 (30)	20 (39)		0,6 (1,1)	0,2 (0,4)	
<20 años (n=38)	3,8 (2,3)	3,8 (3,2)	0,230**	26 (27)	14 (20)	0,52**	0,4 (0,5)	0,2 (0,4)	0,928*
≥20 años (n=13)	6,0 (9,4)	2,4 (2,7)		27 (23)	23 (39)		0,9 (1,5)	0,2 (1,2)	

\*U-Mann Whitney \*\*T Student

No se encontraron diferencias significativas entre los valores de IL6, VSG y PCR en función de los años de FR en ninguno de los cortes analizados

### Clasificación de pacientes

La puntuación media en el momento de inclusión del estudio según los criterios clasificatorios ACR–EULAR de Esclerosis Sistémica fue de  $12,5 \pm 4,0$  puntos. Utilizando la clasificación de Leroy/Medsger 2001, el grupo mayoritario fue el de ESI con afectación de 43 pacientes (76,8%), seguido del grupo con ESd con 8 pacientes (14,3%) y, por último, de Esclerodermia sin ES con 5 pacientes (8,9%) (Tabla 4.2).

De todos nuestros pacientes, la totalidad habían presentado anticuerpos antinucleares (ANAs) positivos, y 46 (82,1%), anticuerpos específicos relacionados con la ES. El anticuerpo más prevalente fue el Ac anticentrómero, (ACAs) en 33 pacientes (62,3%) seguido del Ac antiSCL en 6 pacientes (11,3%), y del antiRNA polimerasa (antiRNP) en 4 pacientes (7,5%). El anticuerpo anti-Ro fue positivo en 16 pacientes (30,2%). Diez pacientes presentaron únicamente ANAs positivos.

En la tabla 4.2 se compararon los niveles medios de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) con la puntuación obtenida en la escala clasificatoria ACR/EULAR, los grupos de ES y los diferentes autoanticuerpos. Para el punto de corte de la escala clasificatoria ACR/EULAR se utilizó el valor mediano (11 puntos), mientras que para los autoanticuerpos se usó el nivel de positividad.

Tabla 4.2 Comparación de la puntuación en la escala clasificatoria ACR/EULAR, el tipo de esclerodermia y la presencia de autoanticuerpos con los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR).

	IL-6 media (pg/ml)			VSG media (mm)			PCR media (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>ACR/EULAR</b>									
≤11 (n=28)	5,0 (6,8)	2,9 (3,7)	0,571*	25 (22)	14 (20)	0,590*	0,7 (1,1)	0,2 (0,8)	0,263*
≥11 (n=28)	6,3 (9,7)	4,0 (3,8)		29 (29)	22 (32)		0,4 (0,4)	0,3 (0,4)	
<b>Tipo de ES</b>									
ESd (n=8)	12,4 (14,3)	7,4 (25,4)		23 (29)	9 (44)		1,1 (1,2)	0,9 (2,2)	
ESI (n=43)	5,2 (7,6)	3,7 (3,1)	0,410*	28 (26)	21 (27)	0,598*	0,5 (0,8)	0,2 (0,4)	0,369*
ESSinES (n=5)	4,9 (6,5)	1,7 (7)	0,405*	26 (19)	21 (21)	0,667*	0,8 (0,8)	0,6 (1,6)	0,634*
<b>ANAs (n=48) #</b>									
1/160 (n=5)	14,5 (20,1)	5,0 (2,7)		38 (39)	11 (70)		1,3 (2,1)	0,3 (2,7)	
1/320 (n=5)	2,9 (1,1)	3,0 (1,7)	0,300*	35 (30)	19 (54)	1,000*	0,2 (0,5)	0,2 (0,1)	0,186*
1/640 (n=13)	4,5 (5,3)	2,2 (4,8)	0,240*	18 (14)	14 (17)	0,090*	0,5 (0,7)	0,2 (1)	0,461*
1/1280 (n=25)	6,5 (9,9)	3,7 (3,5)	0,350*	29 (27)	24 (27)	0,300*	0,5 (0,6)	0,2 (0,5)	0,228*
<b>Tipos de AAC</b>									
<b>ACAs</b>									

## Estudio de marcadores inflamatorios asociados a Esclerodermia

No (n=20)	6,4 (5,7)	5,4 (4,4)	0,180**	25 (24)	15 (25)	0,520**	0,6 (0,8)	0,2 (0,6)	0,550**
Si (n=33)	6,1 (7,4)	3,5 (7,3)		25 (22)	17 (29)		0,5 (0,6)	0,3 (0,4)	
<b>AntiSCL</b>									
No (n=47)	6 (6,9)	3,7 (4,8)	0,970*	24 (22)	17 (22)	0,883**	0,5 (0,5)	0,3 (0,5)	0,400*
Si (n=6)	6,1 (5,2)	4,8 (6,9)		27 (29)	15 (39)		1,0 (1,2)	0,4 (2)	
<b>AntiRNP</b>									
No (n=49)	5,7 (6,3)	3,8 (4,6)	0,200*	23 (21)	16 (20)	0,135*	0,5 (0,7)	0,3 (0,5)	0,412*
Si (n=4)	10,2 (10,9)	7 (19,8)		42 (31)	33 (54)		0,3 (0,2)	0,2 (0,4)	
<b>AntiRO</b>									
No (n=37)	3,1 (1,2)	3,7	0,710**	11 (6)	12	0,118**	0,3 (0,1)	0,2	0,416**
Si (n=16)	5,7 (4,9)	4,4 (5,4)		29 (26)	21 (26)		0,6 (0,7)	0,3 (0,4)	

ANAs: anticuerpos antinucleares AAC: Autoanticuerpos ACAs: anticuerpos anticentrómero AntiSCL: anticuerpos AntiSCL

AntiRNP: anticuerpos anti RNA polimerasa. \*T de Student \*\* U-Mann Whitney # a 8 pacientes no se les determinó ANAs en el momento de inclusión al estudio.

Al relacionarse los tres marcadores estudiados con la puntuación obtenida por los pacientes en la Escala Clasificatoria ACR/EULAR al diagnóstico, no se obtuvieron diferencias significativas para ninguno de ellos. Destaca que la IL-6 y la VSG presentaron niveles ligeramente superiores en los pacientes con puntuación más alta pero en ninguno de los casos significativos, y la PCR, de forma paradójica, presentó una media inferior en dicho subgrupo.

Cuando analizamos la distribución de los marcadores inflamatorios en los diferentes tipos de ES, tanto la IL-6 como la PCR presentaron niveles mayores en el subgrupo ESd y la VSG en el subgrupo de ESI, no encontrando diferencias significativas entre los subgrupos.

Al comparar los diferentes niveles de ANAs, tomando como referencia el nivel 1/160, con los de IL6, VSG y PCR no se encontraron diferencias significativas. De forma general, se observó un discreto aumento no significativo en los niveles de los marcadores inflamatorios entre los pacientes con algún autoanticuerpo específico (AAC) de ES. Los pacientes con anticuerpos antiRo presentaron niveles de los tres marcadores inflamatorios mayores y los pacientes con antiRNP positivo presentaron niveles de IL-6 y VSG más elevados, aunque estas diferencias no fueron significativas ( $p > 0,05$ ).

### Manifestaciones clínicas en el periodo previo al estudio

El motivo de consulta inicial más frecuente fue la aparición de fenómeno de Raynaud, presente en 45 pacientes (80,4%) seguido de la afectación de piel (úlceras digitales fundamentalmente) en 5 pacientes (8,9%) y disnea en 4

pacientes (7,1%) xeroftomía en 1 paciente (1,8%) y las artralgias en 1 paciente (1,8%).

Durante la evolución de la enfermedad y previo al inicio del estudio 52 pacientes (92,8%) presentaron FR, 33 (58,9%) esclerodactilia, 23 (41,1%) telangiectasias, 17 (30,4%) úlceras digitales, 15 (26,8%) dedos hinchados, 9 (16,1%) engrosamiento de piel, 5 (8,9%) cicatrices en el pulpejo, 2 pacientes (3,6%) Hipertensión Arterial Pulmonar y 7 (12,6%) Enfermedad Pulmonar Intersticial.

Como se muestra en la Tabla 4.3, al relacionar la media de los diferentes marcadores inflamatorios con el motivo de consulta inicial, los valores más elevados se obtuvieron en presencia de úlceras digitales seguida de disnea y FR.

Tabla 4.3. Valores de marcadores inflamatorios medios (IL-6, VSG, PCR) en función de los motivos de consulta más frecuentes.

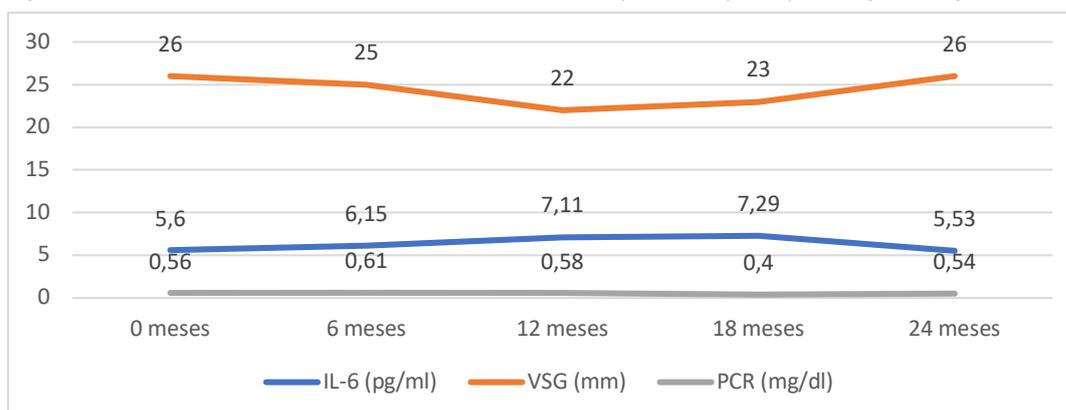
	IL-6 (pg/ml)		VSG (mm)		PCR (mg/dl)	
	$\bar{x}$ (SD)	Med (RI)	$\bar{x}$ (SD)	Med (RI)	$\bar{x}$ (SD)	Med (RI)
<b>UD</b> (n=5)	17,9 (17,6)	10,4	45 (17)	53	1,3 (1,0)	1,3
<b>Disnea</b> (n=4)	10,9 (7,0)	13,4 (12,2)	40 (31)	34 (56)	1,1 (0,9)	1,2 (1,6)
<b>FR</b> (n=45)	5,1 (4,8)	3,7 (3,9)	22 (22)	15 (19)	0,4 (0,5)	0,2 (0,3)

UD: úlceras digitales FR: Fenómeno de Raynaud.

### Desarrollo del estudio.

Inicialmente, se analizó la distribución de los diferentes marcadores inflamatorios a lo largo del seguimiento sin encontrarse diferencias significativas. Los resultados pueden observarse en la figura 4.2.

Figura 4.2 Evolución de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) a lo largo del seguimiento.



No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de los marcadores inflamatorios a lo largo del tiempo. Por ello, para el análisis bivalente se analizaron de forma transversal las diferentes manifestaciones clínicas y los parámetros de las pruebas complementarias como datos independientes, sin tener en cuenta el momento de su realización.

**Manifestaciones clínicas durante el seguimiento.**

Para la interpretación de los datos se subdividieron las manifestaciones clínicas en dos apartados, analizándose por separado las de tipo cutáneo y del resto.

Posteriormente, se analizó la actividad clínica durante el seguimiento mediante la escala de actividad EUSTAR.

Como se puede observar en la tabla 4.4, se compararon las diferentes manifestaciones clínicas cutáneas durante el seguimiento, con los niveles de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG, PCR).

Tabla 4.4. Valores de marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) en función de manifestaciones cutáneas durante el seguimiento.

	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med(RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med (RI)	p
<b>E. cutáneo</b>									
No (n=92)	5,3 (7,4)	2,9 (3,7)	0,001*	25 (27)	15 (24)	0,096*	0,4 (0,9)	0,2 (0,6)	0,151*
Si (n=43)	8,0 (8,6)	4,8 (7,4)		24 (19)	17 (17)		0,4 (0,6)	0,2 (0,4)	
<b>Dedos hinchados</b>									
No (n=87)	6,8 (9,3)	3,5 (6,1)	0,634*	28 (27)	18 (25)	0,045*	0,6 (0,8)	0,2 (0,7)	0,066*
Si (n=83)	5,0 (4,2)	3,7 (4,4)		18 (16)	12 (19)		0,4 (0,8)	0,2 (0,4)	
<b>Esclerodactilia</b>									
No (n=53)	5,6 (7,9)	3,5 (6,1)	0,017*	25 (22)	16 (24)	0,527*	0,7 (1,1)	0,2 (0,6)	0,276*
Si (n=82)	6,5 (7,8)	3,9 (5,7)		24 (26)	14 (21)		0,4 (0,6)	0,2 (0,4)	
<b>Úlceras digitales</b>									
No (n=91)	4,5 (4,1)	3 (4,4)	0,001*	20 (20)	13 (21)	0,014*	0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	0,690*
Si (n=44)	9,6 (11,8)	4,5 (8)		33 (30)	24 (39)		0,6 (0,8)	0,2 (0,9)	
<b>Cicatrices pulpejos</b>									
No (n=115)	5,7 (6,9)	3,6 (5,5)	0,510*	25 (25)	16 (21)	0,436*	0,6 (0,8)	0,2 (0,6)	0,016*
Si (n=20)	8,9 (12)	3,8 (9,2)		22 (22)	13 (25)		0,4 (0,8)	0,1 (0,1)	
<b>Telangiectasias</b>									
No (n=74)	4,9 (6,7)	3,3 (3,7)	0,073*	19 (18)	14 (19)	0,068*	0,6 (0,9)	0,2 (0,6)	0,913*
Si (n=61)	7,6 (8,9)	4,2 (8,7)		30 (30)	22 (33)		0,5 (0,6)	0,2 (0,5)	
<b>Calcinosis</b>									
No (n=114)	6,4 (8,3)	3,6 (5,8)	0,808*	25 (26)	15 (26)	0,175**	0,5 (0,8)	0,2 (0,6)	0,366*
Si (n=21)	5 (4,9)	3,6 (4,9)		18 (9)	18 (13)		0,4(0,6)	0,2 (0,4)	

E. cutáneo: engrosamiento cutáneo. \*U Mann Whitney \*\* T de Student

La IL-6 presentó un aumento estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) en aquellos pacientes con engrosamiento cutáneo, esclerodactilia y úlceras digitales. La presencia de telangiectasias se relacionó con un aumento de los niveles de IL-6, con tendencia a la significación estadística ( $p = 0,073$ ). La VSG se encontró elevada de forma significativa ( $p < 0,05$ ) en presencia de dedos hinchados y úlceras digitales. La presencia de telangiectasias y engrosamiento cutáneo se asoció con un aumento de la VSG casi significativo. En los niveles de PCR se vio un descenso significativo ( $p = 0,016$ ) en aquellos pacientes con cicatrices en los pulpejos y tendencia a la significación en pacientes con dedos hinchados ( $p = 0,066$ ).

El resto de manifestaciones clínicas durante el seguimiento se compararon igualmente con los marcadores inflamatorios, como se observa en la tabla 4.5.

Tabla 4.5 Valores de marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) en función de otras manifestaciones clínicas durante el seguimiento.

	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>HAP</b>									
No (n=48)	5,4 (5,1)	3,7 (4,7)	0,009*	22,1 (21)	15 (19)	0,008**	0,4 (0,5)	0,3 (0,3)	0,005*
Si (n=7)	11,3 (12,6)	5,5 (12,8)		43 (24)	40 (38)		1,3 (1,1)	0,7 (2)	
<b>EPI</b>									
No (n=45)	5,9 (6,9)	3,7 (4,1)	0,475**	23 (21)	16 (18)	0,274**	0,4 (0,5)	0,3 (0,3)	0,043**
Si (n=10)	7,3 (5,6)	6,4 (9,8)		34 (26)	33 (46)		1 (1)	0,7 (1,7)	
<b>Tos</b>									
No (n=127)	6,1 (8,1)	3,6 (5,5)	0,563**	24 (24)	14 (22)	0,953*	0,5 (0,6)	0,4 (0,5)	0,410*
Si (n=8)	6,4 (5)	5,3 (9,8)		30 (27)	18 (53)		1,5 (2,1)	0,5 (3,6)	
<b>Crepitantes</b>									
No (n=118)	5,6 (7,8)	3,3 (4)	0,004*	21 (21)	13 (19)	0,001**	0,5 (0,7)	0,2 (0,4)	0,009*
Si (n=17)	9,9 (7,5)	9,7 (11,2)		47 (34)	32 (41)		0,9 (1,3)	0,5 (0,7)	
<b>Disfagia</b>									
No (n=20)	6,2 (8,3)	3,6 (5,5)	0,871*	24 (25)	14 (22)	0,017*	0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	0,522*
Si (n=115)	5,7 (5,1)	4,3 (7,7)		28 (20)	23 (20)		0,6 (0,8)	0,1 (1)	
<b>Pirosis</b>									
No (n=18)	6,3 (8,2)	3,6 (5,8)	0,195*	25 (25)	25 (21)	0,237*	0,6 (0,8)	0,2 (0,6)	0,105*
Si (n=117)	4,7 (5,2)	2,4 (5,7)		18 (14)	16 (29)		0,3 (0,3)	0,2 (0,4)	
<b>Malabsorción</b>									
No (n=29)	5,5 (8)	3,2 (3,4)	0,008*	22 (23)	14 (20)	0,175*	0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	0,532*
Si (n=106)	8,5 (7,1)	8,5 (8,6)		32 (28)	26 (34)		0,6 (0,7)	0,3 (0,7)	

HAP: Hipertensión arterial pulmonar. EPI: Enfermedad pulmonar intersticial difusa. \*U Mann Whitney \*\* T de Student

Nótese como los pacientes que desarrollaron HAP y crepitantes presentaron niveles significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) en los 3 marcadores inflamatorios.

El subgrupo de pacientes que desarrolló Enfermedad Pulmonar Intersticial (EPI) presentó valores de IL-6 y VSG más elevados, aunque sin diferencias

estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ). Únicamente la PCR presentó un aumento estadísticamente significativo en el subgrupo de pacientes con esta enfermedad ( $p = 0,043$ ). En relación a las manifestaciones clínicas compatibles con afectación pulmonar (tos y crepitantes), solo se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) de los 3 marcadores inflamatorios en la presencia de crepitantes.

En las manifestaciones digestivas (disfagia, pirosis y malabsorción) se observó un aumento significativo de los niveles de IL-6, en aquellos pacientes con malabsorción ( $p = 0,008$ ), y de los niveles de VSG en los pacientes con disfagia ( $p = 0,017$ ). La PCR no presentó diferencias significativas en relación con dichas manifestaciones.

Al comparar los diferentes grados de disnea según la Escala NYHA con los marcadores inflamatorios, se obtuvieron los resultados expuestos en la tabla 4.6.

Tabla 4.6. Comparación de los diferentes marcadores inflamatorios respecto al grado de disnea medida mediante la escala NYHA.

	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Mediana (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Mediana (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Mediana (RI)	p
<b>NYHA I</b> (n=70)	3,6 (3,25)	2,4 (2,7)	0,001	20 (21)	14 (18)	0,133	0,5 (0,7)	0,2 (0,4)	0,357
<b>NYHA II</b> (n=11)	2,8 (1,9)	2,9 (3,8)		24 (33)	13 (19)		0,5 (0,6)	0,3 (0,8)	
<b>NYHA III</b> (n=34)	8,8 (10,1)	4,7 (7,4)		31 (28)	20 (39)		0,7 (1,1)	0,2 (0,6)	
<b>NYHA IV</b> (n=12)	14,4 (13,5)	14,4 (10,8)		31 (27)	26 (41)		0,6 (0,5)	0,6 (0,7)	

\*Test de Kruskal-Wallis.

Destaca el aumento progresivo de IL-6 relacionado con el empeoramiento clínico medido por esta escala; así, los pacientes sin disnea (NYHA I) y con disnea de mínimos esfuerzos (NYHA II) presentaron niveles estadísticamente inferiores que el subgrupo con disnea grado II y III ( $p < 0,05$ ). Los valores de VSG y PCR también aumentaron con el grado de disnea, pero sin alcanzar la significación estadística ( $p > 0,05$ ).

Se compararon los resultados obtenidos entre los marcadores inflamatorios y la escala de actividad EUSTAR, contando en total con 131 escalas, de las cuales

57 (43,5%) fueron compatibles con actividad, y 74 (56,5%) compatibles con enfermedad quiescente o mantenida. Al analizar el empeoramiento clínico medido mediante un aumento en la puntuación de la escala EUSTAR, se obtuvieron los resultados reflejados en la tabla 4.7 en el que se objetivó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de todos los marcadores inflamatorios en el subgrupo con actividad clínica.

Tabla 4.7. Comparación de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) respecto al aumento de actividad medido mediante la escala EUSTAR.

ACTIVIDAD EUSTAR	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
No (n=74)	3,3 (3,2)	2,3 (2,4)	0,001*	18 (19)	13 (19)	0,002*	0,3 (0,4)	0,2 (0,4)	0,001*
Si (n=57)	10,7 (11,6)	6,3 (9,5)		34 (28)	28 (42)		0,8 (1,1)	0,3 (0,7)	

\* U Mann Whitney

### Pruebas complementarias realizadas durante el seguimiento

#### Capilaroscopia

La capilaroscopia fue realizada a 54 pacientes. El tiempo medio desde el inicio del fenómeno de Raynaud hasta la realización de la capilaroscopia fue de  $12,5 \pm 13$  años con un rango comprendido entre los 2 meses y los 59 años (Mediana=9; RI=18 años).

En las capilaroscopias realizadas, se observaron hallazgos compatibles con enfermedad autoinmune subyacente en 52 pruebas (96,3%) y sólo en 2 (3,7%) no se encontraron hallazgos relevantes compatibles con ES. Posteriormente, se compararon las capilaroscopias patológicas con los niveles medios de los diferentes marcadores inflamatorios, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre los niveles medios de IL-6 ( $3,1 \pm 2,2$  pg/ml vs  $6,5 \pm 7$  pg/ml), VSG ( $19 \pm 12$  mm vs  $26 \pm 25$  mm) y PCR ( $0,3 \pm 0,3$  mg/dl vs  $0,6 \pm 0,8$  mg/dl) en los pacientes con alteraciones patológicas y sin ellas.

De las capilaroscopias, se seleccionaron aquellas realizadas concomitantemente con analíticas próximas en el tiempo, quedando finalmente

28 pruebas con una diferencia media entre las pruebas de  $1\pm 1,2$  meses. Al comparar los niveles de los marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) en función de los diferentes hallazgos capilaroscópicos, se obtuvieron los resultados expuestos en la tabla 4.8.

Tabla 4.8. Comparación de los niveles de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, PCR y VSG) y los hallazgos capilaroscópicos descritos.

	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>Patrón Cutolo</b>									
Temprano (n=10)	1,0 (0,9)		0,007*	18 (14)		0,406**	0,1 (0,6)		0,219*
Activo (n=12)	3,5 (5,2)	1,7 (2,3)		19 (19)	11 (22)		0,5 (0,6)	0,2 (0,4)	
Tardío (n=5)	12,2 (16)	6,2 (11,9)		36 (20)	28 (36)		0,8 (1,3)	0,5 (1,2)	
<b>Patrón Mariq</b>									
Activo (n=14)	10,1 (13,9)	4,3 (12,9)	0,097**	28 (21)	26 (39)	0,769**	0,9 (1,2)	0,5 (1,2)	0,095*
Lento (n=11)	2,1 (1,5)	1,9 (1,9)		21 (19)	14 (21)		0,2 (0,1)	0,2 (0,2)	
<b>Pérdida capilar</b>									
No (n=11)	5,6 (7,8)	3,2 (10,6)	0,654*	23 (11)	26 (21)	0,475**	0,4 (0,4)	0,2 (1,4)	0,820*
Si (n=17)	7,0 (12,2)	2,3 (5,8)		26 (23)	20,5 (41)		0,7 (1,0)	0,2 (1,1)	
<b>Dilatación capilar</b>									
No (n=11)	18,4 (19,2)	16,2 (31,5)	0,007**	41 (21)	36 (40)	0,196**	0,7 (1,1)	1,3 (3,0)	0,040**
Si (n=17)	3,0 (2,8)	1,9 (3,3)		20 (18)	14 (21)		0,4 (0,6)	0,2 (0,2)	
<b>Flujo lento</b>									
No (n=9)	11,1 (18,4)	2,5 (18,6)	0,438*	26 (20)	28 (53)	0,468**	0,9 (1,4)	0,2 (1,8)	0,495*
Si (n=19)	4,4 (4,3)	2,6 (4,3)		24 (25)	19 (21)		0,4 (0,5)	0,2 (0,6)	
<b>Halo capilar</b>									
No (n=16)	8,2 (13,0)	2,1 (9,2)	0,299**	29 (28)	25 (47)	0,315**	0,6 (1)	0,2 (1,2)	0,078**
Si (n=12)	3,0 (1,4)	3,4 (2,6)		18 (13)	21 (16)		0,4 (0,4)	0,2 (0,1)	
<b>Microhemorragias</b>									
No (n=8)	18,6 (27,2)	4,7 (1)	0,062**	32 (25)	28	0,445**	0,4 (0,4)	0,2	0,820**
Si (n=15)	4,7 (5,4)	2,3 (4,4)		23 (23)	16 (23)		0,6 (0,9)	0,2 (1,0)	

\*U Mann Whitney \*\* T Student

Como se observa la IL-6 presentó un aumento estadísticamente significativo en el grupo de pacientes que cumplían criterios del patrón tardío de Cutolo y disminución en los que presentaron dilatación capilar ( $p=0,007$ ). Los pacientes con patrón activo de Mariq y microhemorragias visibles presentaron niveles de IL-6 menores, aunque sin alcanzar significación estadística ( $p=0,097$  y  $p=0,062$  respectivamente).

La VSG no presentó diferencias significativas en ninguno de los hallazgos capilaroscópicos estudiados y la PCR presentó niveles significativamente menores en los pacientes con dilatación capilar ( $p=0,04$ ) y cierta tendencia, aunque no significativa, a presentar niveles aumentados en los pacientes con Patrón activo de Mariq ( $p=0,095$ ) y descendidos en los pacientes con halo capilar presente ( $p=0,078$ ).

### Manometría esofágica

Se realizó manometría esofágica a 38 pacientes. El tiempo medio medido en años, desde el inicio de los síntomas hasta la realización de esta prueba fue de  $12\pm 2$  años con un rango entre los 2 meses y 49 años.

En el total de manometrías esofágicas realizadas, se encontraron hallazgos compatibles con afectación del esfínter esofágico superior en 3 pacientes (7,9%), del esfínter esofágico inferior en 26 pacientes (68,4%) y ondas compatibles con hipomotilidad en 25 pacientes (65,8%).

Al comparar la alteración del EES, EEI y la motilidad referida en el informe de cada una de las pruebas con la elevación de los niveles medios de los marcadores inflamatorios se obtuvieron los resultados reflejados en la tabla 4.9.

Tabla 4.9. Comparación de los niveles medios de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y los principales hallazgos manométricos.

	IL-6 media (pg/ml)			VSG media (mm)			PCR media (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>Alteración EES</b>									
No (n=35)	5,5 (5,6)	3,5 (4,7)	1,000**	25 (25)	15 (20)	0,823**	0,3 (0,4)	0,2 (0,3)	0,595*
Si (n=3)	3,8 (1,5)	3,8		23 (25)	17		0,8 (1,0)	0,2	
<b>Alteración EEI</b>									
No (n=12)	8,7 (7,8)	5,7 (12,4)	0,007*	34 (35)	15 (59)	0,425**	0,3 (0,5)	0,1 (0,2)	0,126**
Si (n=26)	3,9 (2,8)	2,9 (2,6)		20 (16)	16 (16)		0,4 (0,4)	0,3 (0,3)	
<b>Hipomotilidad</b>									
No (n=13)	6,4 (7,3)	3,5 (4,7)	0,927**	26 (32)	12 (22)	0,368**	0,2 (0,2)	0,2 (9,3)	0,201*
Si (n=25)	4,9 (4,1)	3,8 (4,2)		24 (20)	17 (18)		0,4 (0,5)	0,2 (0,4)	

EES: Esfínter esofágico superior. EEI: Esfínter esofágico inferior. \*U Mann Whitney \*\* T de Student

Como se puede ver en la tabla 4.9, los niveles de IL-6 presentaron cifras disminuidas en los pacientes con alteraciones del EEI ( $p=0,007$ ). En cambio, no se encontraron diferencias entre los niveles de IL-6 y la afectación del EES y la hipomotilidad. Ni la VSG ni la PCR presentaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los subgrupos analizados ( $p>0,05$ ).

Los 22 pacientes que tenían analítica (IL-6, VSG y PCR) concomitantemente a la realización de la manometría se compararon los hallazgos manométricos de forma individualizada, obteniendo los resultados que se aprecian en la tabla 4.9. El tiempo medio entre la analítica y la manometría esofágica fue de  $1,3\pm 1,5$  meses.

## Estudio de marcadores inflamatorios asociados a Esclerodermia

Tabla 4.10. Comparación de los niveles de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y los diferentes hallazgos manométricos.

	IL-6 (pg/ml)		VSG (mm)		PCR (mg/dl)	
	$\bar{x}$ (SD)	p	$\bar{x}$ (SD)	p	$\bar{x}$ (SD)	p
<b>Esfínter Esofágico Inferior (EEI)</b>						
<b>Presión mínima del EEI</b>						
Normal (n=8)	3,5 (1,3)	0,645*	27 (27)	0,617*	0,4 (0,7)	0,626*
Patológico (n=14)	4,4 (4,6)		22 (32)		0,3 (0,2)	
<b>Presión media del EEI</b>						
Normal (n=10)	4,9 (4,3)	0,152*	26 (24)	0,649*	0,3 (0,6)	0,887*
Patológico (n=12)	3,4 (3,1)		22 (24)		0,4 (0,3)	
<b>Presión media basal EEI</b>						
Normal (n=10)	4,1 (3,9)	0,533*	35 (32)	0,062*	0,4 (0,7)	0,887*
Patológico (n=12)	3,7 (0,2)		18 (18)		0,5 (0,5)	
<b>Esfínter Esofágico Superior (EES)</b>						
<b>Presión residual media</b>						
Normal (n=19)	4,5 (4,0)	0,445*	24 (23)	0,256*	0,4 (0,5)	0,963*
Patológico (n=3)	2,7 (1,8)		21 (25)		0,3 (0,3)	
<b>Tiempo relajación Nadir</b>						
Normal (n=20)	3,7 (3,5)	0,354*	19 (17)	0,038*	0,2 (0,2)	0,021*
Patológico (n=2)	8,0 (4,0)		67 (32)		1,4 (1,0)	
<b>Tiempo relajación EES</b>						
Normal (n=18)	4,5 (3,9)	0,172*	26 (245)	0,362*	0,4 (0,5)	0,385*
Patológico (n=4)	2,2 (1,3)		13 (8)		0,2 (0,2)	
<b>Motilidad esofágica</b>						
<b>Amplitud de onda</b>						
Normal (n=4)	3,2 (2,4)	1*	9 (12)	0,007*	0,1 (0,1)	0,179*
Patológico (n=18)	4,2 (3,9)		26 (24)		0,4 (0,5)	
<b>Duración media de onda</b>						
Normal (n=14)	3,5 (2,5)	0,482*	17 (12)	0,210*	0,2 (0,2)	0,202*
Patológico (n=8)	5,0 (5,2)		35 (32)		0,6 (0,7)	
<b>Velocidad de onda</b>						
Normal (n=12)	3,5 (2,7)	0,516*	20 (17)	0,474*	0,3 (0,2)	0,400*
Patológico (n=10)	4,7 (4,6)		27 (28)		0,4 (0,6)	
<b>Amplitud de onda 7.0</b>						
Normal (n=5)	2,9 (2,1)	0,635*	12 (7)	0,050*	0,1 (0,1)	0,064*
Patológico (n=17)	4,4 (4,0)		26 (25)		0,4 (0,5)	
<b>Amplitud de onda 3.0</b>						
Normal (n=6)	3,3 (1,8)	0,968*	9 (13)	0,050*	0,1 (0,1)	0,039*
Patológico (n=16)	4,3 (4,1)		28 (25)		0,4 (0,5)	
<b>Hipomotilidad</b>						
Leve (n=8)	4,1 (3,3)	0,860*	16 (15)	0,791*	0,3 (0,2)	0,136*
Moderada (n=6)	2,9 (0,8)		17 (8)		0,2 (0,2)	
Severa (n=8)	5,0 (5,2)		35 (32)		0,6 (0,7)	

EES: Esfínter esofágico superior. EEI: Esfínter esofágico inferior. \* U-Mann Whitney.

Nótese como los niveles de IL-6 no presentaron diferencias significativas con ninguna de las manifestaciones exploradas. La VSG presentó niveles significativamente aumentados ( $p=0,038$ ) en el tiempo de relajación de Nadir del EES y en la amplitud de onda en la motilidad esofágica ( $p=0,007$ ) y cuasi significativas en la amplitud de onda 7.0 y onda 3.0 ( $p=0,05$ ). La PCR también presentó niveles elevados en el tiempo de relajación de Nadir del EES ( $p=0,021$ )

y en la amplitud de onda 3.0 ( $p=0,039$ ) y casi significativo en la amplitud de onda 7.0 ( $p=0,064$ ).

### Ecocardiografía transtorácica (ETT)

Durante los 24 meses de seguimiento se realizaron 152 ETT siguiendo el protocolo del estudio analizando los resultados de forma conjunta. El tiempo máximo entre la prueba complementaria y la extracción fue de 31 días.

La fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) estuvo por encima del 50% en 151 (99,3%) de las pruebas realizadas con una media de  $63,6 \pm 5,9\%$ , encontrándose disminuida en 1 sólo caso (FEVI 38%). Se midió también el diámetro sistólico y diastólico del ventrículo izquierdo, objetivándose una media de  $27,5 \pm 5,5$  mm y  $46,2 \pm 6,7$  mm respectivamente. Se analizó la función de la válvula mitral mediante la medición de la onda A y el cociente E/A, obteniéndose una media de  $0,8 \pm 0,6$  y  $1,0 \pm 0,4$  respectivamente. Respecto a las cavidades derechas, el desplazamiento del anillo tricuspídeo (TAPSE) presentó una media de  $25,0 \pm 18,2$  mm, la velocidad máxima de regurgitación de la válvula tricúspide (IT) de  $2,2 \pm 0,8$  m/s, el gradiente ventrículo derecho-aurícula derecha (Gradiente VD-AD) de  $24,3 \pm 11,5$  mmHg y la presión arterial pulmonar sistólica (PAPS) calculada de  $32,1 \pm 13,3$  mmHg.

Los hallazgos observados con disfunción de cavidades derechas (TAPSE, PAPS, IT, Gradiente VD-AD y el Tiempo de aceleración pulmonar) fueron comparados con los niveles de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR), viéndose los siguientes resultados (Tabla 4.11).

Tabla 4.11. Comparación de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) con los principales parámetros ecocardiográficos de disfunción de cavidades derechas.

	IL-6 (pg/ml) $\bar{x}$ (SD)	P	VSG (mm) $\bar{x}$ (SD)	P	PCR (mg/dl) $\bar{x}$ (SD)	P
<b>TAPSE</b>						
≥18 (n=120)	6,0 (8,5)	0,462*	25 (27)	0,538*	0,6 (0,8)	0,454*
<18 (n=3)	11,1 (9,8)		38 (31)		0,3 (0,3)	
<b>PAPS</b>						
<40 (n=53)	5,0 (5,3)	0,002*	23 (24)	0,004*	0,4 (0,3)	0,001*
≥40 (n=12)	15,8 (14,4)		54 (33)		1,4 (1,0)	
<b>IT</b>						
<3 (n=91)	4,8 (4,9)	0,001*	22 (22)	0,002*	0,4 (0,6)	0,001*
≥3 (n=14)	14,8 (13,7)		53 (31)		1,6 (1,4)	
<b>VD-AD</b>						

## Estudio de marcadores inflamatorios asociados a Esclerodermia

<30 (n=80)	5,1 (5,2)	0,001*	23 (22)	0,019*	0,4 (0,6)	0,001*
≥30 (n=16)	13,3 (13,4)		48 (32)		1,5 (1,4)	
<b>Tiempo de aceleración pulmonar</b>						
<100 m/s (n=14)	10,6 (13,4)	0,065**	39 (30)	0,029**	0,9 (1,1)	0,264**
≥100 m/s (n=64)	4,6 (5,2)		24 (27)		0,5 (0,9)	

TAPSE: Desplazamiento del anillo tricuspídeo PAPS: Presión arterial pulmonar IT: velocidad máxima de regurgitación válvula tricúspide VD-AD: Gradiente ventrículo derecho-aurícula derecha. \*U Mann Whitney \*\* T de Student

Se objetivaron niveles de IL-6 y VSG elevados y de PCR disminuidos en el subgrupo con TAPSE<18 mm, aunque sin diferencias significativas. La PAPS por encima de 40 mmHg se asoció con un aumento estadísticamente significativo de los 3 marcadores inflamatorios (p<0,05). El subgrupo de pacientes con valores de IT ≥3 m/s y el gradiente VD-AD ≥ 30 mmHg presentó valores significativamente mayores tanto de IL-6 como de VSG y PCR (p<0,05). También se observó un aumento estadísticamente significativo de VSG (p=0,029), casi significativo de IL-6 (p=0,065) en el subgrupo de pacientes con tiempo de aceleración pulmonar <100 m/s. No se observaron diferencias significativas en los valores de PCR.

Al subdividir cada uno de los parámetros de disfunción de cavidades derechas (PAPS, IT, VD-AD) por grado de afectación y compararlos con los diferentes marcadores inflamatorios, se obtuvieron los resultados reflejados en la tabla 4.12.

Tabla 4.12. Comparación de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) en relación con los diferentes valores de los parámetros compatibles con disfunción de las cavidades derechas.

PAPS (mmHg)	IL-6 pg/ml			VSG mm			PCR mg/dl		
	$\bar{x}$ (SD)	Med (RI)	p	$\bar{x}$ (SD)	Med (RI)	p	$\bar{x}$ (SD)	Med (RI)	p
<40 (n=53)	5,0 (5,3)	3,1 (5,8)	0,016***	23 (24)	14 (25)	0,105***	0,4 (0,3)	0,3 (0,5)	0,008***
41-45 (n=4)	5,0 (2,7)	9,0 (7,3)		50 (42)	14 (57)		0,6 (0,7)	0,4 (1,1)	
51-55 (n=2)	10,7 (6,4)	10,7 (-)		64 (64)	64 (-)		1,7 (1,3)	1,7 (-)	
61-65 (n=3)	17,7 (14,3)	15,1 (-)		56 (10)	57 (-)		1,5 (1,1)	1,7 (-)	
≥66 (n=2)	38,1 (16,9)	38,1 (-)		56 (39)	56 (-)		2,3 (1,5)	2,3 (-)	
<b>IT (m/s)</b>									
<2 (n=33)	4,0 (3,0)	3,6 (3,2)	0,012***	27 (30)	14 (26)	0,020***	0,4 (0,8)	0,2 (0,4)	<0,001***
2,1- 2,5 (n=46)	5,1 (6,1)	2,8 (3,8)		22 (23)	14 (23)		0,4 (0,4)	0,2 (0,5)	
2,6-3 (n=11)	6,7 (4,0)	5,7 (9,1)		25 (19)	19 (31)		0,7 (0,5)	0,5 (0,5)	
3,1-3,5 (n=6)	6,2 (4,5)	4,4 (4,7)		51 (43)	33 (86)		0,9 (1,0)	0,6 (1,6)	
≥3,5 (n=6)	21,3 (16,0)	17,3 (21)		50 (23)	47 (45)		2,4 (1,6)	1,8 (2,6)	
<b>Grad VD-AD (mmHg)</b>									
<30 (n=80)	5,1 (5,2)	3,1 (5,1)	0,001***	23 (23)	16 (25)	0,001***	0,4 (0,6)	0,2 (0,5)	<0,001***
30-40 (n=5)	4,5 (2,9)	3,6 (8,1)		25 (25)	14 (13)		0,4 (0,2)	0,4 (0,8)	
≥40 (n=11)	17,4 (14,5)	14,8 (19,3)		58 (30)	57 (55)		2 (1,4)	1,6 (1,7)	

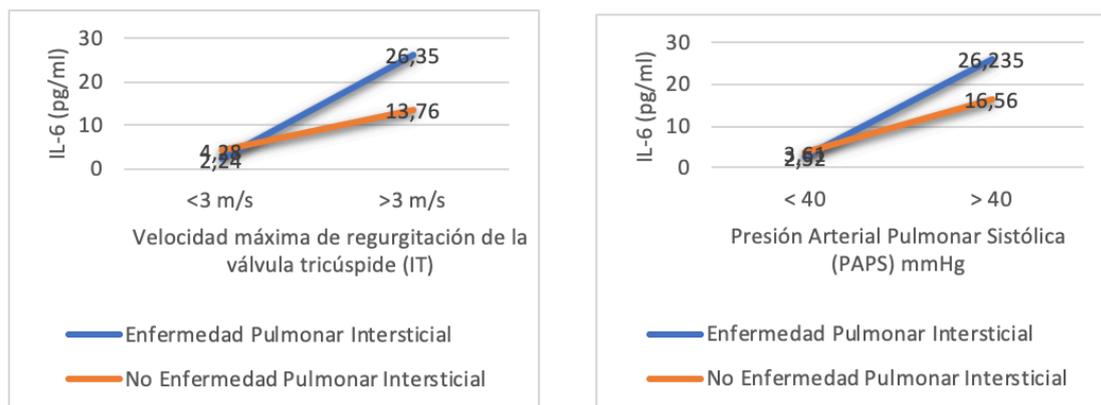
TAPSE: Desplazamiento del anillo tricuspídeo PAPS: Presión arterial pulmonar IT: velocidad máxima de regurgitación válvula tricúspide VD-AD: Gradiente ventrículo derecho-aurícula derecha.

NOTA: No se muestran los valores comprendidos de PAPS entre 46 y 50 y 56 y 60 dada la ausencia de pacientes en estos subgrupos. \*\*\*Kruskal-Wallis.

Destaca que, a medida que aumentaron los niveles de PAPS, IT y gradiente VD-AD los valores de los tres marcadores inflamatorios analizados fueron más elevados. Se encontraron diferencias significativas en el análisis conjunto para cada parámetro estudiado en los tres marcadores inflamatorios excepto entre la VSG y el aumento de PAPS. No se realizaron las comparaciones entre subgrupos dado el bajo número de pacientes en la mayoría de ellos.

Por su interés clínico se dividió la población analizada en dos grupos en función de la presencia o no de enfermedad pulmonar intersticial difusa con la finalidad de analizar la elevación de los marcadores inflamatorios y la afectación cardíaca, excluyendo la afectación pulmonar. Se obtuvieron los siguientes resultados mostrados en la Figura 4.3.

Figura 4.3. Comparación entre niveles de IL-6 y velocidad máxima de regurgitación de la válvula tricúspide y de presión arterial pulmonar sistólica en dependencia de la existencia o no de afectación pulmonar.



Se vio que los pacientes con IT<3 m/s y PAPS<40 mmHg (no signos de afectación cardíaca) presentaron niveles similares de IL-6, independientemente de si presentaron o no afectación pulmonar intersticial. Sin embargo, los pacientes con afectación cardíaca (IT≥3 m/s o PAPS≥40 mmHg) presentaron diferencias relevantes en la elevación de la IL-6, con niveles mayores en el subgrupo con afectación pulmonar intersticial.

Otros parámetros que se observaron al realizar las ETT fueron la presencia de derrame pericárdico, disfunción diastólica del ventrículo izquierdo, insuficiencia mitral y presencia de dilatación de las cavidades derechas. Al comparar estos

hallazgos con los diferentes marcadores inflamatorios se obtuvieron los resultados descritos en la tabla 4.13.

Tabla 4.13. Comparación de los niveles de marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y otros parámetros ecocardiográficos.

	IL-6 (pg/ml) x̄ (SD)	p	VSG (mm) x̄ (SD)	p	PCR (mg/dl) x̄ (SD)	p
<b>Derrame pericárdico</b>						
No (n=103)	4,6 (4,3)	0,001**	20 (19)	0,001**	0,5 (0,7)	0,013**
Si (n=11)	17,9 (15)		64 (32)		1,4 (1,1)	
<b>Disfunción diastólica VI</b>						
No (n=106)	6,1 (7,5)	0,514**	25 (25)	0,435**	0,6 (0,8)	0,543**
Si (n=8)	3,1 (1,7)		23 (22)		0,2 (0,1)	
<b>Insuf. mitral</b>						
No (n=99)	5,8 (7,7)	0,188**	24 (25)	0,059**	0,5 (0,8)	0,744**
Si (n=15)	6,5 (4,3)		30 (22)		0,7 (1,1)	
<b>Dilatación cavidades dchas</b>						
No (n=111)	5,3 (5,7)	0,001**	24 (24)	0,429**	0,5 (0,8)	0,024**
Si (n=3)	26,2 (23,8)		39 (40)		1,7 (1,4)	

\*U Mann Whitney\*\* T Student

La presencia de derrame pericárdico se asoció de forma significativa ( $p < 0,05$ ) con el aumento de todos los marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR). La IL-6 se asoció también de forma significativa con la dilatación de cavidades derechas ( $p = 0,001$ ). La VSG aumentó casi significativamente en los pacientes con signos compatibles con insuficiencia mitral ( $p = 0,059$ ) Por otro lado, la PCR aumentó de forma significativa en la dilatación de cavidades derechas ( $p = 0,024$ ).

### Radiografía de tórax

Se analizaron un total de 58 radiografías de tórax realizadas durante los dos años de seguimiento. Como datos más trascendentes se observó engrosamiento hilar en 8 (13,8%) radiografías, un aumento del diámetro de las arterias pulmonares en 5 (8,6%), cardiomegalia en 8 (13,8%), hallazgos compatibles con oligohemia en lóbulos superiores en 3 (5,1%), y bronquiectasias en 7 radiografías (12,1%).

Referente a los diferentes patrones perceptibles, el más observado fue el patrón reticular en 15 radiografías (25,9%), seguido del patrón en vidrio esmerilado en 7 (12,1%), y por último el patrón en panal en 5 (8,6%),

Al confrontar la presencia de estos hallazgos con los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) se obtuvieron los resultados descritos en la tabla 4.14.

Tabla 4.14. Comparación de niveles de marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y hallazgos radiográficos.

Rx tórax	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>Engr hiliar</b>									
No (n=50)	6,1 (8,4)	3,7 (5,8)		28 (28)	20 (26)		0,4 (0,5)	0,2 (0,5)	
Si (n=8)	14,5 (17,5)	6,9 (24,4)	0,186*	34 (24)	23 (48)	0,930**	1,3 (1,8)	0,5 (2,2)	0,006**
<b>Aumento diámetro arterias pulmonares</b>									
Normal (n=53)	6,0 (8,1)	3,7 (5,6)		27 (27)	17 (25)		0,4 (0,5)	0,2 (0,5)	
Aumentado (n=5)	20,5 (20,3)	10,3 (37,1)	0,005**	45 (24)	50 (47)	0,152**	2,0 (2,0)	1,3 (3,4)	0,001**
<b>Cardiomegalia</b>									
No (n=50)	6,1 (8,3)	3,7 (5,7)		27 (28)	15 (24)		0,4 (0,5)	0,2 (0,4)	
Si (n=8)	14,7 (17,5)	7,5 (24,4)	0,132*	40 (22)	39 (44)	0,448**	1,4 (1,7)	1,0 (2,2)	0,334**
<b>Oligohemia</b>									
No (n=55)	7,3 (10,6)	3,9 (5,8)		29 (28)	17 (27)		0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	
Si (n=3)	5,6 (4,4)	4,7	0,450**	34 (14)	29	0,519**	1,0 (0,9)	0,7	0,516**
<b>Bronquiectasias</b>									
No (n=51)	6,7 (10,3)	3,6 (5,7)		27 (25)	17 (26)		0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	
Si (n=7)	10,9 (10,1)	8,5 (5,4)	0,01*	43 (40)	32 (55)	0,231**	0,7 (0,9)	0,5 (0,8)	0,431**
<b>Patrón “en panal”</b>									
No (n=53)	6,5 (10)	3,6 (5,6)		29 (28)	19 (31)		0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	
Si (n=5)	15,7 (11,3)	14,3 (20,4)	0,001**	29 (24)	25 (43)	0,922**	1,2 (1)	0,7 (1,9)	0,061**
<b>Patrón “reticular”</b>									
No (n=43)	6,97 (10,9)	3,7 (5,6)		27 (25)	17 (23)		0,4 (0,5)	0,2 (0,5)	
Si (n=15)	8,01 (8,7)	5 (7,8)	0,048*	36 (33)	24 (55)	0,641*	0,9 (1,4)	0,2 (0,5)	0,080*
<b>Patrón “vidrio esmerilado”</b>									
No (n=51)	7,21 (10,63)	3,8 (6,1)		30 (28)	20 (35)		0,6 (0,9)	0,2 (0,6)	
Si (n=7)	7,62 (4,71)	6,6 (8,4)	0,084**	12 (10)	10 (19)	0,156**	0,3 (0,3)	0,2 (0,4)	0,520**

\*U Mann Whitney \*\* T Student. Engr hiliar: engrosamiento hiliar

La IL-6 presentó un aumento estadísticamente significativo en los pacientes con signos compatibles con el aumento de diámetro de las arterias pulmonares, bronquiectasias, y los patrones en “panal” y “reticular” ( $p < 0,05$ ), y casi significativo en el subgrupo de pacientes con patrón en “vidrio esmerilado” ( $p = 0,084$ ). El aumento de la VSG no se asoció significativamente con la presencia de ninguno de los hallazgos, y la PCR se asoció significativamente con el engrosamiento hiliar y el aumento del diámetro de las arterias pulmonares ( $p < 0,05$ ), y de forma casi significativa con los patrones reticular ( $p = 0,08$ ) y “en panal” ( $p = 0,061$ ).

### Tomografía Axial Computerizada de Alta Resolución (TACAR)

Durante el seguimiento del estudio se realizaron 30 TACAR con sospecha de fibrosis pulmonar y/o signos indirectos de Hipertensión Arterial Pulmonar. De las TACAR realizadas 12 (40,0%) mostraron hallazgos compatibles con fibrosis pulmonar y 4 (13,3%) signos indirectos de Hipertensión Arterial Pulmonar.

Al comparar los niveles medios de los diferentes marcadores inflamatorios con la aparición de dichos hallazgos, se encontraron los resultados detallados en la tabla 4.15.

Tabla 4.15. Comparación entre niveles medios de marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y signos radiológicos compatibles con fibrosis pulmonar e Hipertensión arterial pulmonar.

Signos Radiológicos	IL-6 media (pg/ml)			VSG media (mm)			PCR media (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>Fibrosis Pulmonar</b>									
No (n=18)	7,9 (10,3)	7,3 (10)	0,639**	25 (14)	10 (52)	0,265**	0,6 (0,7)	0,3 (1,3)	0,698*
Si (n=12)	8,5 (6)	7,8 (5,3)		30 (37)	23 (21)		0,8 (0,1)	0,4 (0,5)	
<b>Hipertensión Pulmonar</b>									
No (n=26)	7,0 (5,5)	5,4 (7,7)	0,191**	26 (28)	15 (25)	0,553**	0,5 (0,6)	0,3 (0,5)	0,698*
Si (n=4)	13,2 (16,6)	5,6 (26,6)		33 (17)	29 (32)		1,4 (1,5)	1,2 (2,7)	

\*U Mann Whitney \*\* T Student

Repárese que los pacientes con signos radiográficos de fibrosis pulmonar y con HAP presentaron niveles de IL-6, VSG y PCR discretamente más elevados que los pacientes sin estos hallazgos, sin alcanzar en ningún caso la significación estadística ( $p > 0,05$ ).

Complementariamente, se analizaron 23 TACAR concomitantemente a una extracción analítica con un tiempo máximo de 1 mes de diferencia, con la finalidad de relacionar los marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y la presencia radiográfica de FP e HAP (Tabla 4.16).

Tabla 4.16. Comparación entre niveles de marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y signos radiológicos compatibles con fibrosis pulmonar e Hipertensión arterial pulmonar.

TACAR	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>Fibrosis pulmonar</b>									
No (n=14)	8,1 (13)	3,9 (4,5)	0,900*	23 (13)	25 (26)	0,120**	0,5 (0,6)	0,3 (0,7)	0,170*
Si (n=9)	9,1 (10,7)	3,2 (13,9)		39 (40)	14 (59)		1,3 (1,7)	0,7 (1,9)	
<b>Hipertensión Pulmonar</b>									
No (n=19)	7,1 (8,4)	3,7 (6,4)	0,450*	28 (29)	14 (28)	0,390**	0,6 (0,7)	0,3 (0,7)	0,100**
Si (n=4)	15,1 (23,3)	3,9 (35,6)		38 (22)	32 (41)		1,7 (2,4)	0,7 (4,1)	

\*U Mann Whitney \*\* T Student

Se observó como los niveles de los 3 marcadores inflamatorios estaban discretamente elevados sin alcanzar diferencias significativas ( $p > 0,05$ ).

### Prueba Función Respiratoria (PFR)

Durante el seguimiento de los pacientes, se realizaron PFR cada 6 meses llevando a cabo un total de 145 pruebas. Todas ellas se realizaron de forma concomitante con alguna de las extracciones analíticas, con una demora media de 23 días, obteniendo los siguientes resultados al comparar con los marcadores inflamatorios (Tabla 4.17).

Tabla 4.17. Comparación entre niveles de marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y parámetros objetivados en prueba de función respiratoria.

	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>FEV1</b>									
≥70% (n=99)	4,7 (4,8)	3,1 (3,8)	0,001*	22 (23)	13 (21)	0,007*	0,4 (0,6)	0,2 (0,4)	0,002*
<70% (n=40)	9,5 (11,8)	4,5 (9,3)		31 (26)	23 (37)		0,8 (1,0)	0,4 (1,0)	
<b>CVF</b>									
≥80% (n=89)	4,6 (4,9)	2,9 (3,8)	0,001*	21 (22)	13 (20)	0,010*	0,4 (0,6)	0,2 (0,4)	0,046*
<80% (n=50)	8,7 (10,8)	4,4 (7,6)		31 (27)	23 (37)		0,3 (1,0)	0,3 (0,9)	
<b>CVF</b>									
≥70% (n=125)	5 (7,3)	3 (3,1)	0,002	21 (21)	13 (21)	0,003	0,4 (0,6)	0,2 (0,4)	0,001
<70% (n=17)	11,3 (12,7)	6,1 (11,8)		50 (33)	54 (46)		1,3 (1,7)	0,8 (1,7)	
<b>DLCO</b>									
≥80% (n=48)	3,6 (3,3)	2,4 (3,3)	0,010	18 (18)	14 (16)	0,111	0,4 (0,8)	0,2 (0,3)	0,034
<80% (n=60)	6,1 (6,7)	3,7 (5,7)		28 (29)	16 (27)		0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	
<b>DLCO</b>									
≥70% (n=66)	4,3 (5)	2,6 (3,3)	0,023	21 (20)	14 (18)	0,392	0,4 (0,7)	0,2 (0,4)	0,079
<70% (n=42)	6,2 (6,2)	3,8 (6,5)		29 (31)	14 (39)		0,6 (0,9)	0,2 (0,5)	
<b>DLCO</b>									
≥60% (n=87)	4,2 (5,5)	2,8 (2,8)	0,001*	21 (22)	13 (20)	0,010*	0,4 (0,6)	0,2 (0,4)	0,001*
<60% (n=21)	9,4 (10,9)	5 (10,4)		36 (33)	19 (53)		0,9 (1,2)	0,5 (1,0)	
<b>TLC</b>									
≥80% (n=66)	4,1 (4,9)	2,8 (3)	0,023**	21 (23)	13 (20)	0,390**	0,4 (0,7)	0,2 (0,3)	0,081**
<80% (n=20)	6,7 (5,6)	4,4 (10,3)		31 (32)	14 (40)		0,8 (1,2)	0,2 (0,8)	
<b>FVC/DLCO</b>									
<1,6 (n=88)	4,4 (4,8)	2,9 (3,7)	0,015*	20 (20)	13 (20)	0,011*	0,4 (0,6)	0,2 (0,4)	0,014*
≥1,6 (n=19)	7,8 (8)	3,9 (9,9)		32 (37)	32 (55)		1,0 (1,3)	0,5 (1,4)	
<b>TLC/DLCO</b>									
<1,4 (n=20)	4,6 (5,1)	2,8 (3,75)	0,190*	22 (23)	14 (20)	0,677*	0,4 (0,7)	0,2 (0,3)	0,090*
≥1,4 (n=66)	5,4 (5,1)	3,7 (3,5)		28 (35)	12 (43)		0,9 (1,3)	0,4 (1,3)	
<b>DLCO/VA</b>									
≥80 (n= 76)	3,6 (3,3)	2,4 (3,3)	0,010*	18 (18)	14 (16)	0,100*	0,4 (0,8)	0,2 (0,3)	0,034*
<80 (n= 55)	6,1 (6,7)	3,7 (5,7)		28 (29)	16 (27)		0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	

\*U Mann Whitney \*\* T Student

Los pacientes que presentaron valores de FEV1<70%, CVF<80%, CVF<70%, DLCO<60%, y FVC/DLCO≥1,6 tuvieron niveles significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) para los 3 marcadores inflamatorios estudiados. Mientras que los que mostraban DLCO<80% se asociaron con niveles significativamente superiores de IL-6 y PCR ( $p < 0,05$ ). La DLCO<70% y TLC<80% únicamente se asociaron a

niveles mayores de IL-6 ( $p < 0,05$ ) y casi significativos de PCR. El cociente TLC/DLCO no mostró significación en ningún marcador inflamatorio, aunque la PCR alcanzó niveles cuasi significativos ( $p = 0,090$ ). La DLCO corregida por volumen alveolar  $< 80\%$  mostró niveles más elevados de IL-6 y PCR de forma significativa ( $p < 0,05$ ), signo intrínseco de afectación pulmonar.

Se dividieron los valores de CVF, DLCO, CVF/DLCO y DLCO/VA en relación al grado de afectación y se compararon con los niveles de los marcadores inflamatorios (IL-6, PCR, VSG) (Tabla 4.18).

Tabla 4.18. Comparación entre niveles de marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y los diferentes niveles de los parámetros objetivados en prueba de función respiratoria.

	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>CVF (%)</b>									
$\geq 80$ (n=89)	4,5 (4,9)	2,9 (3,8)	0,004***	21 (22)	13 (20)	0,029***	0,4 (0,6)	0,2 (0,4)	0,001***
65-80 (n=12)	4,1 (2)	3,7 (2,2)	0,520*	24 (20)	21 (24)	0,900*	0,3 (0,3)	0,2 (0,4)	0,410*
50-64 (n=9)	10,7 (10,2)	5,0 (12,1)	0,024*	56 (37)	66 (67)	0,029*	1,6 (1,6)	1,6 (2,4)	0,001*
$< 49$ (n=3)	22,2 (24,2)	10,3 (-)	0,014*	32 (16)	28 (-)	0,122*	0,9 (0,3)	0,8 (-)	0,016*
<b>DLCO (%)</b>									
$\geq 80$ (n=48)	3,6 (3,3)	2,4 (3,3)	0,004***	18 (18)	14 (16)	0,024***	0,4 (0,8)	0,16 (0,3)	0,001***
60-80 (n=39)	4,9 (5,9)	3,2 (3,6)	0,060*	24 (26)	13 (21)	0,050*	0,3 (0,3)	0,2 (0,4)	0,003*
35-60 (n=13)	7 (5,2)	4,4 (9)	0,001*	21 (21)	13 (32)	0,038*	0,3 (0,3)	0,2 (0,5)	0,001*
$< 35$ (n=8)	10,5 (10,5)	5,5 (12)	0,001*	60 (34)	52 (65)	0,001*	1,9 (1,6)	1,6 (1,9)	0,001*
<b>CVF/DLCO</b>									
$< 1$ (n=19)	3,8 (2,7)	2,9 (3,6)	0,001***	17 (14)	13 (20)	0,009***	0,3 (0,3)	0,1 (0,4)	0,001***
1-1,2 (n=30)	4,5 (6)	2,8 (3,8)	0,660*	23 (24)	15 (20)	0,380*	0,3 (0,5)	0,2 (0,3)	0,877*
1,2-1,4 (n=27)	5,6 (5,1)	3,6 (6,7)	0,249*	22 (19)	19 (20)	0,267*	0,4 (0,9)	0,2 (0,3)	0,443*
<b>TLC (%)</b>									
$\geq 80$ (n=86)	4,1 (4,9)	2,8 (3,0)	0,018***	21 (23)	13 (20)	0,123***	0,4 (0,7)	0,2 (0,3)	0,010***
70-80 (n=11)	4,7 (5,7)	2,3 (8,9)	0,088*	15 (13)	13 (20)	0,990*	0,2 (0,3)	0,2 (0,1)	0,543*
50-70 (n=8)	7,3 (5,4)	6,4 (10,4)	0,183*	28 (25)	14 (48)	0,590*	1,0 (1,9)	0,2 (0,8)	0,086*
$< 50$ (n=7)	9,1 (5,6)	6,1 (10,7)	0,080*	59 (45)	57 (90)	0,001*	1,5 (0,8)	1,6 (1,4)	0,001*

Se realizó inicialmente un test de \*\*\*Kruskal-Wallis, para determinar diferencias significativas globales y, posteriormente, un análisis 2 a 2 mediante \*U-Mann Whitney, tomando como valor de referencia los valores normales.

NOTA: Para la elaboración de la tabla se realizó una comparación de cada uno de los puntos de corte iniciales (subgrupo compatible con la normalidad) con el resto de subgrupos posteriores. Por tanto, se realizaron 3 contrastes para cada uno de los parámetros analizados. Es por esto que se realizó la corrección de Bonferroni al nivel de significación, resultado significativo los valores inferiores a **0,017**.

Se encontraron diferencias significativas entre los 3 marcadores inflamatorios al comparar los niveles normales de CVF ( $\geq 80\%$ ) con el descenso por debajo del 65%. Observamos que a medida que disminuyen los niveles de DLCO aumentaron los marcadores inflamatorios de forma significativa ( $p < 0,05$ ). Al disminuir los valores de TLC aumentaron los niveles de los 3 marcadores inflamatorios alcanzando tanto la VSG como la PCR significación estadística sólo para los valores más extremos ( $< 50\%$ ;  $p < 0,017$ ). Se comparó el cociente

FCV/DLCO<1 con el resto de subcategorías sin encontrarse diferencias significativas.

### Parámetros analíticos

Durante el seguimiento a los pacientes con ES se les realizó una analítica de control semestral, y como hemos comentado anteriormente concomitantes con las pruebas complementarias ETT y PFR. El tiempo medio entre la analítica y la ETT fue de 31 días y, en el caso de la PFR 23 días.

Los valores medios de las pruebas analíticas realizadas durante el seguimiento se pueden observar en la tabla 4.19.

Tabla 4.19. Valores medios y cuartílicos de las determinaciones analíticas realizadas a los pacientes durante el seguimiento.

	$\bar{x}$ (SD)	Percentil 25	Mediana (RI)	Percentil 75
IL-6 (pg/ml)	5,8 (8,0)	1,9	3,4 (5,0)	7,4
Velocidad de Sedimentación Glomerular (mm)	22 (22)	8	15 (21)	32
PCR (mg/dl)	0,5 (0,9)	0,1	0,2 (0,3)	0,7
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,2)	0,7	0,8 (0,3)	1,0
Filtrado glomerular calculado (ml/min/1,72m)	81 (15)	69,6	96 (16)	90
Microalbuminuria (mg/dl)	15,3 (52,4)	1,2	2,1 (3,1)	5,1
Cociente microalbuminuria/creatinina	19,8 (98,4)	1,7	2,6 (2,7)	5,3
Hemoglobina (mg/dl)	13,9 (1,5)	12,8	14 (2,4)	14,8
Hematocrito (%)	41,2 (4,5)	38,8	42,4 (6,7)	45
Amplitud Distribución Eritrocitaria (ADE)	16,6 (12,8)	13,5	14 (1,4)	15,1
Leucocitos (1000/mm <sup>3</sup> )	7,3 (6,4)	5,2	6,1 (3,5)	7,5
Plaquetas (1000/mm <sup>3</sup> )	200 (489)	180	201 (53)	245
Volumen plaquetario medio	9,54 (1,0)	8,6	9,5 (1,2)	10
NT proBNP (pg/ml)	191,2 (329,7)	56,6	106 (131)	214,7
Cistatina (mg/L)	0,9 (0,3)	0,7	0,8 (0,4)	1,06

Los resultados al comparar estos valores dicotomizados con los marcadores inflamatorios se observan en la tabla 4.20.

Tabla 4.20. Comparación entre niveles de marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y los diferentes valores analíticos.

	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>Hemoglobina</b>									
<10 (n=3)	24,9 (23,3)	20,7	0,001**	51 (42)	28	0,037*	1,0 (0,8)	1,3	0,318**
≥10 (n=136)	5,6 (6,8)	3,5 (5,4)		24 (24)	15 (23)		0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	
<12 (n=22)	12,7 (12,5)	8,8 (12,7)	0,001*	60 (27)	62 (39)	0,001**	1,3 (1,5)	0,5 (2)	0,001*
≥12 (n=117)	4,8 (5,8)	3,1 (3,7)		18 (17)	13 (19)		0,4 (0,4)	0,2 (0,4)	
<b>Plaquetas</b>									
<150.000 (n=13)	6,3 (4,7)	4,3 (7,8)	0,205*	19 (22)	12 (23)	0,504*	0,8 (1,2)	0,3 (0,6)	0,103*
≥150000 (n=126)	6,0 (8,1)	3,5 (5,3)		25 (24)	18 (24)		0,5 (0,7)	0,2 (0,5)	
<b>NT-ProBNP</b>									
<300 (n=99)	5,2 (6,7)	3,1 (3,8)	0,001*	22 (23)	15 (21)	0,040*	0,4 (0,6)	0,2 (0,5)	0,006*

## Estudio de marcadores inflamatorios asociados a Esclerodermia

≥300 (n=18)	11,9 (12,8)	6,9 (11,5)		40 (33)	27 (54)		1,2 (1,4)	0,6 (1,7)	
<b>Cistatina</b>									
<0,99 (n=81)	4,5 (6,3)	3,0 (3)	0,001*	18 (19)	12 (20)	0,001*	0,4 (0,6)	0,2 (0,4)	0,001*
≥1 (n=33)	9,2 (9,9)	6,4 (7,8)		35 (27)	26 (31)		9,8 (1)	0,5 (0,7)	
<b>Creatinina</b>									
<0,99 (n=109)	5,4 (6,9)	3,6 (4)	0,081*	25 (26)	15 (25)	0,805*	0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	0,628*
≥1 (n=30)	8,3 (10,1)	4,5 (9)		22 (19)	17 (20)		0,5 (0,7)	0,2 (0,6)	
<b>Filtrado glomerular calculado</b>									
≥60 (n=116)	5,5 (7)	3,48 (4,5)	0,039*	25 (25)	16 (25)	0,172*	0,5 (0,8)	0,3 (0,6)	0,352*
<60 (n=21)	8,9 (11,4)	4,27 (8)		24 (20)	19 (23)		0,6 (0,8)	0,2 (0,5)	
<b>Microalbuminuria</b>									
<30 (n=85)	5,8 (7,3)	3,6 (5)	0,505*	24 (24)	17 (22)	0,303*	0,6 (0,9)	0,2 (0,5)	0,236**
≥30 (n=6)	11,1 (19,2)	3,0 (16)		29 (31)	18 (30)		0,2 (0,8)	0,1 (0,2)	

\*U Mann Whitney \*\* T Student

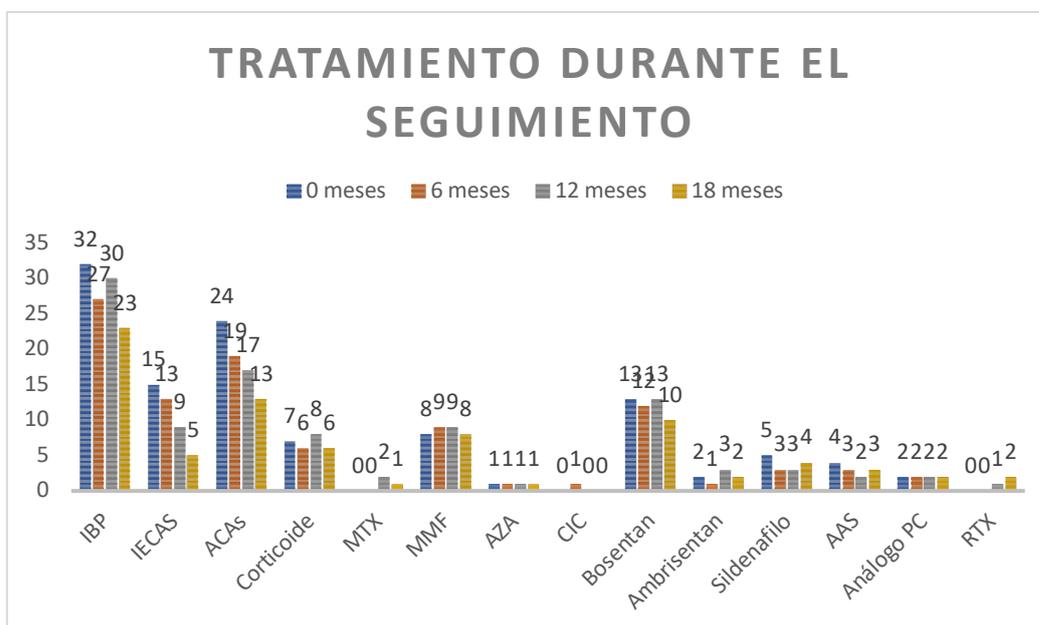
Se observó un aumento estadísticamente significativo de IL-6, VSG y PCR en los pacientes con niveles menores de Hb <12 g/dl ( $p < 0,05$ ). Cuando el punto de corte de la Hb se estableció en 10 g/dl, la PCR perdió la significación estadística ( $p = 0,318$ ). En los pacientes con niveles  $\geq 300$  pg/ml de NT-ProBNP y niveles de cistatina mayores a 1 también se vio un aumento significativo en los 3 marcadores inflamatorios ( $p < 0,05$ ). Solamente la IL-6 presentó niveles estadísticamente significativos en relación con el filtrado glomerular calculado  $< 60$  ml/min/1,73m<sup>2</sup> ( $p = 0,039$ ) En los pacientes con niveles de creatinina más elevados el aumento de IL-6 fue cuasi significativo ( $p = 0,081$ ).

### Tratamiento

Al inicio del estudio 32 pacientes (57,1%) se encontraban recibiendo inhibidores de la bomba de protones (IBP), 15 (26,8%) inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAS) y 24 (42,9%) antagonistas del calcio (ACAS). En referencia al tratamiento específico de la ES, 5 pacientes (8,9%) se encontraban en tratamiento activo con sildenafil, 15 (26,8%) con antagonistas duales del receptor de la endotelina y 2 pacientes (3,6%) con análogos de las prostaglandinas. Finalmente, 8 pacientes (14,3%) recibían tratamiento con Micofenolato de mofetilo por fibrosis pulmonar activa.

En la Figura 4.4 se observa desglosado el tratamiento en cada uno de los cortes, durante la evolución de la enfermedad.

Figura 4.4. Tratamiento durante el seguimiento del estudio.



IECAS: inhibidores enzima convertidora de angiotensina ACAs: Antagonistas del calcio AAS: Ácido acetil salicílico

A los 12 meses del estudio, un paciente inició tratamiento con Rituximab dada la refractariedad de este paciente, precisando su continuación durante el resto de seguimiento con mejoría clínica. Un segundo paciente, dada la extensa afectación pulmonar, fue tratado con Rituximab desde el inicio (tercer corte realizado).

Siguiendo el mismo protocolo que hemos realizado hasta el momento, se analizó la variación en los niveles de los diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) de acuerdo al tratamiento (Tabla 4.21).

Tabla 4.21. Comparación entre niveles de marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) y los diferentes tratamientos durante el seguimiento.

	IL-6 (pg/ml)			VSG (mm)			PCR (mg/dl)		
	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	P	$\bar{x}$ (SD)	Med. (RI)	p
<b>Omeprazol</b>									
No (n=42)	8,0 (9,8)	4,8 (7,2)	0,049*	30 (28)	19 (28)	0,240*	0,7 (0,9)	0,2 (0,8)	0,146*
Si (n=92)	5,1 (6,6)	3,0 (3,4)		22 (22)	14 (22)		0,5 (0,7)	0,2 (0,4)	
<b>IECAS</b>									
No (n=97)	5,3 (6,9)	3,0 (4,8)	0,018*	21 (22)	13 (19)	0,002*	0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	0,079*
Si (n=36)	8,1 (9,9)	3,9 (7,1)		34 (28)	28 (34)		0,6 (0,7)	0,4 (0,6)	
<b>ACAS</b>									
No (n=68)	6,4 (8,2)	3,6 (6,7)	0,414*	21 (24)	11 (23)	0,001*	0,6 (0,9)	0,2 (0,6)	0,720*
Si (n=66)	5,8 (7,5)	3,6 (5,4)		28 (25)	19 (23)		0,5 (0,7)	0,2 (0,4)	
<b>Corticoide</b>									

## Estudio de marcadores inflamatorios asociados a Esclerodermia

No (n=109)	5,4 (7,8)	3,2 (3,8)	0,013*	23 (23)	14 (21)	0,007*	0,4 (0,7)	0,2 (0,5)	0,030*
Si (N=24)	9,0 (7,7)	5,3 (11,7)		32 (30)	26 (45)		0,9 (1,2)	0,5 (1,3)	
<b>Micofenolato de mofetilo</b>									
No (n=103)	5,7 (8)	3,5 (5,2)	0,107*	25 (25)	17 (20)	0,492*	0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	0,294*
Si (n=29)	7,5 (7,1)	3,8 (9,6)		23 (26)	11 (39)		0,6 (0,7)	0,2 (0,6)	
<b>Azatioprina</b>									
No (n=132)	6 (7,9)	3,6 (5,5)	0,235*	24 (25)	15 (22)	0,132*	0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	0,359*
Si (n=20)	7,5 (4,6)	7,5 (4)		37 (11)	37 (-)		0,6 (0,2)	0,6 (-)	
<b>Bosentan</b>									
No (n=96)	5,9 (6,3)	4,0 (5,9)	0,002*	26 (22)	20 (22)	0,001*	0,6 (0,8)	0,3 (0,6)	0,002*
Si (n=39)	3,3 (10,7)	2,1 (2,5)		21 (29)	7 (13)		0,4 (0,7)	0,1 (0,2)	
<b>Ambrisentan</b>									
No (n=126)	6,0 (7,9)	3,6 (5,5)	0,260*	23 (24)	14 (22)	0,045**	0,5 (0,7)	0,2 (0,5)	0,001**
Si (n=7)	8,0 (6,6)	4,6 (12,9)		49 (32)	32 (43)		1,6 (1,8)	0,9 (2,3)	
<b>Sildenafil</b>									
No (n=119)	5,7 (7,5)	3,6 (5,5)	0,301*	22 (22)	14 (20)	0,005**	0,5 (0,7)	0,2 (0,4)	0,297*
Si (n=15)	8,3 (10)	3,6 (13,6)		43 (35)	32 (59)		1,1 (1,2)	0,2 (2)	
<b>AAS</b>									
No (n=122)	6,0 (8,1)	3,5 (5,2)	0,938**	25 (25)	14 (24)	0,256**	0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	0,104*
Si (n=11)	6,9 (4,5)	5,3 (8,7)		19 (12)	19 (21)		0,7 (0,7)	0,3 (0,3)	
<b>Rituximab</b>									
No (n=137)	5,9 (7,8)	3,6 (5,3)	0,509*	24 (24)	16 (21)	0,666*	0,5 (0,8)	0,2 (0,5)	0,259*
Si (n=2)	12,3 (0,9)	12,3 (-)		36 (5)	36 (-)		0,7 (0,2)	0,7 (-)	

IECAS: inhibidores enzima convertidora de angiotensina ACAs: Antagonistas del calcio AAS: Ácido acetil salicílico \*U

Mann Whitney \*\* T Student

Los pacientes en tratamiento activo con corticoides presentaron niveles más elevados de los 3 marcadores inflamatorios. El tratamiento con IECAS se asoció con un aumento significativo de IL-6 y VSG y casi significativo de PCR. Los ACAS y el uso de sildenafil se asociaron únicamente a un aumento de la VSG. El uso de Bosentan se asoció con un descenso significativo de los 3 marcadores a diferencia del ambrisentan, que se asoció con un aumento significativo de VSG y PCR. El uso de omeprazol se asoció con niveles significativamente menores de IL-6. Finalmente, el uso de MMF, azatioprina y AAS no mostraron diferencias significativas para ninguno de los marcadores analizados.

## Análisis de marcadores inflamatorios como indicadores de la actividad de la Esclerodermia.

### Evaluación de riesgo de actividad de ES para distintos puntos de corte de los marcadores inflamatorios.

Dado el desconocimiento del valor, a partir del cual los marcadores inflamatorios analizados (IL-6, VSG y PCR) pueden servir como marcadores de actividad de la ES, se calcularon las Odds Ratio y su IC 95% para distintos puntos de corte de los estos marcadores, y los diferentes síntomas/signos y hallazgos de las pruebas complementarias, que habían mostrado relación estadísticamente

significativa en el estudio bivalente así como aquellos que, por su relevancia clínica, se consideró imprescindible su análisis.

Los valores obtenidos de las diferentes Odds ratio para diversos puntos de corte de IL-6, son mostrados en la tabla 4.22.

Tabla 4.22. Odds Ratio de las diferentes manifestaciones clínicas o parámetros más relevantes de las diversas pruebas complementarias para distintos puntos de corte de IL-6.

	Punto de corte IL-6 (pg/ml)					
	1,5 OR (IC 95%)	2 OR (IC 95%)	2,5 OR (IC 95%)	3 OR (IC 95%)	5 OR (IC 95%)	7,5 OR (IC 95%)
Úlceras cutáneas		2,3 (1,1-5)	3 (1,4-6,2)	1 (0,3-3,3)	2,3 (1,2-4,4)	2,9 (1,4-5,9)
Telangiectasias						2,7 (1,3-5,6)
Estertores			3,3 (1,2-9,2)	2,5 (1,1-5,6)	3,9 (1,7-9,1)	3,6 (1,5-8,5)
Malabsorción					3 (1,4-6,3)	4,2 (2-9,2)
Actividad clínica EUSTAR	5,8 (1,9-17,7)	6,1 (2,6-14,1)	7,1 (3,3-15,3)	6,7 (3,3-13,7)	8,0 (3,8-16,8)	8,9 (3,8-21)
D. pericárdico			9,9 (1,3-78)	11,9 (1,5-93,4)	6,8 (2-23)	7,1 (2,2-23)
IT $\geq$ 3 m/s			11,5 (1,5-89)	6,1 (1,3-28)	3,6 (1,3-10,3)	4,3 (1,5-12,2)
PAPS $\geq$ 40 mmHg			8,7 (1,1-70)	10,3 (1,2-83,4)	4,5 (1,3-15,1)	4,2 (1,3-13,7)
DLCO<80%		2,2 (1,1-4,6)	2,3 (1,1-4,5)	2,7 (1,3-5,4)	2,2 (1-4,8)	2,7 (1,1-7)
DLCO<70%		2,2 (1,1-4,6)	2,3 (1,1-4,5)	2,7 (1,4-5,4)	2,2 (1-4,8)	2,7 (1,1-7)
DLCO<60%		4,4 (1,2-15,5)	5,4 (1,7-16,4)	5 (1,7-14,3)	3,8 (1,5-9,3)	3,1 (1,2-8,2)
Descenso DLCO $\geq$ 10%	3,4 (1,1-11,1)	4,3 (1,5-12,7)	3,6 (1,4-9,2)	3,3 (1,3-7,9)	3,1 (1,2-7,8)	2,7 (1-7,4)
CVF<80%	3,5 (1,3-9,6)	3,2 (1,5-6,8)	3,3 (1,7-6,7)	7,9 (4,2-14,7)	2,7 (1,4-5,1)	2,6 (1,3-5,3)
CVF<70%			6,3 (1,4-28,7)	3,1 (0,8-9,9)	4,5 (1,6-12,9)	4,4 (1,5-12,7)
Descenso CVF $\geq$ 10%			2,8 (1-7,9)		3,6 (1,4-9,4)	2,6 (1-7)
BNP $\geq$ 300		3,6 (1,0-12,8)	5,4 (1,5-18,9)	4,6 (1,5-14,3)	4,1 (1,6-10,2)	3,2 (1,2 – 8,1)

Cuando el punto de corte de la IL-6 se estableció en 1,5 pg/ml, la odds de presentar actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR fue 5,8 veces mayor en los pacientes que presentaron niveles de IL-6 superiores a dicho punto de corte. De igual forma, la odds de presentar una CVF<80% fue de 3,5 veces superior y la odds de presentar un descenso mayor al 10% en la DLCO fue 3,4 veces mayor.

Cuando el punto de corte de la IL-6 se establece en 2 pg/ml, la odds de presentar actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR fue 6,1, CVF<80% de 3,2

y un descenso mayor al 10% de la DLCO fue 4,3 veces mayor. Además, la odds de presentar úlceras cutáneas, DLCO<80, 70 y 60% y BNP≥300 mg/dl, fue 2,3; 2,2; 2,2; 4,4 y 3,6 veces mayor, respectivamente, en los pacientes que presentaron niveles de IL-6 superiores a dicho punto de corte.

Cuando el punto de corte de la IL-6 se establece en 2,5 pg/ml, la odds de presentar actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR fue de 7,1, CVF<80% de 3,3, CVF<70% de 6,3, descenso mayor al 10% en la CVF fue de 2,8, úlceras cutáneas de 3,0, DLCO<80% de 2,3, DLCO<70% de 2,3 y DLCO<60% de 5,4, descenso de la DLCO≥10% de 3,6, BNP≥300 de 5,4, estertores de 3,3, derrame pericárdico de 9,9, IT≥3 m/s de 11,5, y PAPS≥40 mmHg de 8,7 veces mayor, en los pacientes que presentaron niveles de IL-6 superiores a dicho punto de corte.

A partir del punto de corte de 3 pg/ml de IL-6 las odds de presentar cualquiera de los hallazgos fue significativamente mayor entre los pacientes que superaron dicho punto de corte excepto el riesgo de aparición de malabsorción y telangiectasias, que se asoció a niveles de IL-6 superiores a 5 pg/ml y 7,5 pg/ml respectivamente.

Al realizar este mismo análisis con los otros dos marcadores inflamatorios se obtuvieron los resultados que aparecen en la tabla 4.23.

Tabla 4.23. Odds Ratio de las diferentes manifestaciones clínicas o parámetros más relevantes de las diversas pruebas complementarias para distintos puntos de corte de VSG y PCR.

Punto de corte	VSG (mm)		PCR (mg/dl)	
	20 OR (IC 95%)	40 OR (IC 95%)	1 OR (IC 95%)	1,5 OR (IC 95%)
Disfagia	2,3 (1 – 5)			
Actividad clínica EUSTAR	3,1 (1,6-5,9)	3,8 (1,6-9)		
D. pericárdico	20,3 (2,6-159,4)	10,8 (3,3-33,7)		
Insuficiencia mitral	2,8 (1,1-7)			
IT≥3 m/s	3,8 (1,2 – 12,4)	6,4 (2,1 – 19,3)	12,3 (3,5 – 42,7)	15,6 (4 – 60,5)
PAPS≥40 mmHg		4,4 (1,3 – 14,7)	23,8 (4,6 – 122,1)	26 (4,3 – 158,8)
Gradiente VD-AD			12,5 (3,6-43,4)	20,8 (4,7-91,5)
DLCO<80%				
DLCO<70%		3,4 (1,3-8,6)		
DLCO<60%		4,5 (1,6-12,4)	4 (1,1 – 14,7)	4,9 (1,3 – 18,7)

Descenso DLCO $\geq 10\%$		3,4 (1,1-10,5)	1,8 (0,4-7,5)	2,5 (0,6-11,4)
CVF < 80%	2,1 (1,1-3,9)	2,4 (1,1-5,3)	4,2 (1,6-11,1)	3,2 (1,1-9,3)
CVF < 70%	4,8 (1,5-16)	7,9 (2,5-24,8)	8,9 (2,4-32,1)	7,8 (2-30,3)
Descenso CVF $\geq 10\%$	3,2 (1,2-8,3)	5,5 (1,8-16,6)	10,5 (2-55,8)	6,7 (1,2-37,5)
Patrón "panal"				8,33 (1,4-50,1)
Cistatina $\geq 1$	6,1 (2,7-13,8)	4,6 (1,8-12,1)		

La odds de presentar disfagia, actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR, la presencia de derrame pericárdico, insuficiencia mitral,  $IT \geq 3$  m/s,  $CVF < 80\%$ ,  $CVF < 70\%$ , el descenso de la CVF mayor al 10% y niveles de cistatina  $\geq 1$  fueron significativamente mayores en los pacientes con  $VSG \geq 20$  mm (tabla 4.23). Los niveles de  $VSG \geq 40$  mm se asociaron también con una mayor odds de presentar  $PAPS \geq 40$  mmHg,  $DLCO < 70\%$ ,  $DLCO < 60\%$  y con el descenso mayor al 10% tanto de la CVF como de la DLCO.

La odds de presentar  $IT \geq 3$  m/s,  $PAPS \geq 40$  mmHg, gradiente VD-AD  $\geq 30$ ,  $DLCO < 60\%$  y  $CVF < 80$  y  $70\%$  y el descenso mayor al 10% tanto de la DLCO como de la CVF fueron significativamente mayores en los pacientes con  $PCR \geq 1$ . Los niveles de  $PCR \geq 1,5$  se asociaron también con una mayor odds de presentar Patrón "en panal". Destacamos como dato relevante que la actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR, no mostró un aumento significativo en ninguno de los niveles analizados.

### Validez interna y externa de los marcadores inflamatorios para los distintos puntos de corte

Tras valorar los diversos puntos de corte para los diferentes marcadores inflamatorios a partir de los cuales el riesgo de presentar actividad de la enfermedad fue significativo, se valoró su validez interna y externa, como prueba diagnóstica, para aquellos parámetros que pueden tener una mayor relevancia clínica: los ecocardiográficos (IT y PAPS), los obtenidos en la PFR (DLCO y CVF) y los relacionados con la actividad clínica (EUSTAR).

Los valores obtenidos tanto de la validez interna como de la externa para la asociación de los diferentes niveles de IL-6 y la IT se muestran en la tabla 4.24.

## Estudio de marcadores inflamatorios asociados a Esclerodermia

Tabla 4.24 Validez interna y externa para diversos puntos de corte de IL-6 en la detección de IT $\geq$ 3 m/s.

	Punto de corte IL-6 con IT $\geq$ 3				
	1,5	2	2,5	3	5
Sensibilidad	100 (97,1-100)	94,1 (80-100)	94,1 (80-100)	88,2 (69,9-100)	58,8 (32,5-85,2)
Especificidad	19,2 (11,7-26,6)	30,8 (22,2-39,5)	41,7 (32,4-50,9)	43,6 (34,4-52,7)	71,7 (63,2-80,2)
Í. validez	29,2 (21,2-37,2)	38,7 (30,2-47,2)	48,2 (39,4-56,9)	48,9 (40,33-57,54)	70,1 (62-78,1)
VPP	14,9 (7,9-21,9)	16,2 (8,4-23,9)	18,6 (9,8-27,4)	17,7 (8,95-26,34)	22,7 (9,2-36,3)
VPN	100 (97,8-100)	97,4 (91-100)	98 (93,3-100)	96,4 (90,7-100)	92,5 (86,6-98,4)
L+	1,24 (1,1-1,4)	1,36 (1,3-1,4)	1,61 (1,56-1,67)	1,56 (1,49-1,64)	2,08 (1,71-2,52)
L-	0	5,24 (0,65-41,9)	7,08 (1,06-53,13)	3,7 (1,33-10,33)	1,74 (1,3-2,31)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

La IL-6 presentó altos valores de sensibilidad y bajos de especificidad para los primeros puntos de corte en la detección de IT $\geq$ 3 m/s. Así, la probabilidad de tener una IL-6 mayor de 1,5 pg/ml cuando la IT era mayor de 3 m/s fue prácticamente del 100% y, en el caso de mayor a 2 pg/ml, del 94,1%. Sin embargo, la probabilidad de tener una IL-6<1,5 pg/ml cuando el paciente presentó una IT<3 m/s fue del 19,2%, y para una IL-6<2 pg/ml del 30,8%.

Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se observó que cuando la IL-6 fue mayor a 2 pg/ml la probabilidad de obtener una IT $\geq$ 3 m/s fue 1,36 veces superior que cuando la IL-6 era menor. Por lo tanto, el riesgo de tener una IT $\geq$ 3 m/s fue un 36% superior en los pacientes que presentaron un valor de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml.

Si el punto de corte de IL-6 analizado era de 2,5 pg/ml, se obtuvo el mismo nivel de sensibilidad (94,1%) y, mayor especificidad, aunque siguió siendo baja (41,7%). Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se observó que cuando la IL-6 era superior a 2,5 pg/ml la probabilidad de obtener una IT $\geq$ 3 m/s fue 1,61 veces superior que cuando la IL-6 era inferior a este valor. Por consiguiente, el riesgo de tener una IT $\geq$ 3 m/s fue un 61% mayor en los pacientes que presentaron un valor de IL-6 superior a 2,5 pg/ml.

Al valorar las razones de verosimilitud negativas (L-) obtenidos según Delgado-Rodríguez y col (356), se observó que si la IL-6 era menor a 2 pg/ml la probabilidad de tener una IT menor de 3 m/s fue 5,24 veces mayor que cuando

la IL-6 era mayor de 2 pg/ml, lo que significa que la probabilidad de presentar una IT menor de 3m/s fue un 84% superior en los pacientes que presentaron una IL-6 por debajo de 2 pg/ml. Cuando el punto de corte se estableció en 2,5 pg/ml, este porcentaje fue del 87,6%

Al valorar los diversos puntos de corte de IL-6 para PAPS $\geq$ 40 mmHg se obtuvieron los hallazgos mostrados en la tabla 4.25.

Tabla 4.25. Validez interna y externa para diversos puntos de corte de IL-6 en la detección de Presión Arterial Pulmonar Sistólica  $\geq$ 40 mmHg.

	Punto de corte IL-6 con PAPS $\geq$ 40 mmHg				
	1,5	2	2,5	3	5
Sensibilidad	92,9 (75,8-100)	92,9 (75,8-100)	92,9 (75,8-100)	92,9 (75,8-100)	64,3 (35,6-93)
Especificidad	17,1 (7,6-26,7)	31,4 (19,8-43)	40 (27,8-52,2)	43,7 (31,4-55,9)	71,4 (60,1-82,7)
Í. Validez	29,8 (19,4-40,1)	41,7 (30,5-52,8)	48,8 (37,5-60,1)		70,2 (60-80,6)
VPP	18,3 (8,6-28)	21,3 (10,2-32,4)	23,6 (11,5-35,8)	24,5 (12-37,1)	31 (12,5-49,6)
VPN	92,3 (74-100)	95,65 (85,1-100)	96,6 (88,2-100)	96,9 (89,3-100)	90,9 (82,4-99,4)
L+	1,12 (1,1-1,17)	1,35 (1,29-1,43)	1,55 (1,46-1,64)	1,65 (1,55-1,75)	2,25 (1,81-2,8)
L-	2,4 (0,15-37,52)	4,4 (0,005-37,94)	5,6 (0,71-44,15)	6,11 (0,79-47,08)	2 (1,33-3,01)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

De forma similar a la IT, los primeros puntos de corte de la IL-6 presentaron altos valores de sensibilidad y bajos de especificidad en la detección de PAPS $>$ 40 mmHg. Así, cuando la PAPS fue mayor de 40 mmHg la probabilidad de presentar niveles de IL-6 mayores a 2 pg/ml resultó de un 92,9%. Sin embargo, la probabilidad de tener una PAPS  $<$ 40 mmHg cuando la IL-6 presentaba valores inferiores a 2 pg/ml fue únicamente del 31,4%.

Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se observó que cuando la IL-6 fue superior a 2 pg/ml la probabilidad de obtener un valor de PAPS mayor a 40 mmHg fue 1,35 veces superior que cuando la IL-6 era inferior a 2 pg/ml. Este hecho sugiere que el riesgo de tener una PAPS $\geq$ 40 mmHg es un 35% superior en los pacientes que presentan un valor de IL-6 superior a 2 pg/ml.

Al seleccionar 2,5 pg/ml como punto de corte analizado de IL-6, se obtuvo un nivel similar de sensibilidad (92,9%) con un ligero aumento de la especificidad

(40,0%). Según la razón de verosimilitud positiva (L+) cuando la IL-6 era mayor a 2,5 pg/ml, la probabilidad de presentar una PAPS mayor a 40 mmHg fue 1,55 veces superior que cuando la IL-6 era menor, por lo que el riesgo de tener una PAPS $\geq$ 40 mmHg fue un 55% superior en los pacientes que presentaron un valor de IL-6 superior a 2,5 pg/ml.

De la misma forma, se valoraron las razones de verosimilitud negativas (L-), observando que cuando la IL-6 era menor de 2 pg/ml, la probabilidad de encontrar una PAPS menor de 40mmHg fue 4,4 veces mayor que cuando la IL-6 era mayor. Por consiguiente, el riesgo de tener una PAPS menor a 40 mmHg fue un 81,5% superior en los pacientes que presentan una IL-6 menor de 2 pg/ml. Cuando el punto de corte se estableció en 2,5 pg/ml, este porcentaje aumentó al 84,8%.

Al estudiar la disminución de la difusión de monóxido de carbono con diversos puntos de corte de IL-6 se obtuvieron los resultados expuestos en la Tabla 4.26.

Tabla 4.26. Validez interna y externa para diversos puntos de corte de IL-6 en la detección DLCO<60%.

	Punto de corte IL-6 con DLCO<60%				
	1,5	2	2,5	3	5
Sensibilidad	88,5 (74,3-100)	88,5 (74,3-100)	84,6 (68,8-100)	80,8 (63,7-97,8)	50 (28,9-71,1)
Especificidad	22,7 (14,4-31)	36,4 (26,9-45,8)	49,1 (39,4-59)	53,6 (43,9-63,3)	79,1 (71-87,1)
Í. Validez	35,3 (26,9-43,7)	46,3 (37,6-55,1)	55,9 (47,2-64,6)	58,7 (50,1-67,3)	73,5 (66-81,3)
VPP	21,3 (13,1-29,5)	24,7 (15,4-3)	28,2 (17,6-38,8)	28,8 (17,1-39,8)	36,1 (19-53,2)
VPN	89,3 (76-100)	93 (84,3-100)	93,1 (85,7-100)	92,31 (85,1-99,5)	87 (79,9-94,1)
L+	1,15 (1,11-1,119)	1,39 (1,34-1,45)	1,66 (1,58-1,75)	1,74 (1,64-1,85)	2,39 (1,89-3,02)
L-	1,97 (0,78-4,94)	3,15 (1,51-6,6)	3,19 (1,88-5,41)	2,78 (1,83-4,24)	1,58 (1,53-1,85)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

Se observaron altos valores de sensibilidad y bajos de especificidad para los primeros puntos de corte de la IL-6 en relación a la difusión libre de monóxido de carbono. Vimos que cuando la DLCO fue menor a 60% la probabilidad de presentar una IL-6 mayor de 2 pg/ml resultó de 88,5%. Sin embargo, cuando la DLCO fue mayor a 60%, la probabilidad de tener una IL-6 inferior a 2 pg/ml, fue únicamente de un 36,4%.

Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se objetivó que cuando la IL-6 era superior a 2 pg/ml, la probabilidad de que la DLCO fuese menor al 60% fue 1,39 veces superior que cuando la IL-6 se encontraba por debajo de dicho nivel. En consecuencia, el riesgo de tener una DLCO<60% resultó ser un 39% superior en los pacientes que presentaban un valor de IL-6 superior a 2 pg/ml.

Si el punto de corte de IL-6 analizado era de 2,5 pg/ml, se obtuvo un nivel de sensibilidad algo inferior (84,6%) y aunque mejoró el nivel de especificidad, este se mantuvo bajo (49,1%). Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se observó que cuando la IL-6 era mayor a 2,5 pg/ml la probabilidad de obtener una DLCO por debajo del 60% fue 1,66 veces superior que cuando la IL-6 era menor. El riesgo de tener una DLCO<60% fue un 66% mayor en los pacientes que presentaban un valor de IL-6 superior a 2,5 pg/ml.

Respecto a la razón de verosimilitud negativa (L-) se vio que cuando la IL-6 fue menor de 2 pg/ml la probabilidad de encontrar DLCO mayor al 60% fue 3,15 veces mayor que cuando la IL-6 se encontraba por encima de este nivel. Por consiguiente, el riesgo de tener una DLCO mayor al 60% fue un 75,9% superior en los pacientes que presentaron una IL-6 menor de 2 pg/ml. Cuando el punto de corte se estableció en 2,5 pg/ml, este porcentaje se mantuvo en el 76,1%.

Al estudiar el descenso mayor al 10% de la DLCO con diversos puntos de corte de IL-6 se obtuvieron los resultados expuestos en la tabla 4.27.

Tabla 4.27. Validez interna y externa para diversos puntos de corte de IL-6 en el descenso mayor al 10% de DLCO.

	Punto de corte IL-6 con descenso $\geq$ 10% DLCO				
	1,5	2	2,5	3	5
Sensibilidad	88,5 (76,6-100)	85,7 (72,7-98,7)	77,1 (61,8-92,4)	72,2 (56,2-88,2)	42,9 (25-60,7)
Especificidad	30,6 (18,3-42,9)	41,9 (28,8-55)	51,6 (38,3-64,8)	55,5 (42,5-68,6)	80,6 (70-91,3)
Í. Validez	51,5 (41-62)	57,7 (47,3-68)	60,8 (50,6-71)	61,6 (51,5-71,7)	67 (57,1-76,9)
VPP	41,9 (30-53,8)	45,4 (32,6-58,2)	47,3 (33,5-61,2)	48,1 (33,9-62,4)	55,5 (35-76,1)
VPN	82,6 (64,9-100)	83,8 (69,3-98,4)	80 (66,3-93,6)	77,7 (64,5-91)	71,4 (60,1-82,7)
L+	1,28 (1,04-1,57)	1,48 (1,15-1,9)	1,59 (1,16-2,18)	1,63 (1,15-2,29)	2,21 (1,17-4,18)
L-	2,08 (0,77- -)	2,94 (1,06-43,6)	2,58 (1,00-8,63)	2 (0,97-5,84)	1,41 (0,94-2,32)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

Se observaron altos valores de sensibilidad y bajos de especificidad para los primeros puntos de corte de la IL-6 en relación al descenso mayor al 10% de DLCO. Se ha visto que cuando existía un descenso  $\geq 10\%$  de DLCO la probabilidad de presentar una IL-6 mayor de 2 pg/ml fue de 85,7%. Sin embargo, cuando este descenso no se presentaba, la probabilidad de tener valores de IL-6 inferiores a 2 pg/ml fue del 41,9%.

Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se vio que cuando la IL-6 era superior a 2 pg/ml la probabilidad de presentar un descenso mayor al 10% de la DLCO fue 1,48 veces superior que cuando la IL-6 estaba por debajo de este nivel. En consecuencia, el riesgo de tener un descenso de  $\geq 10\%$  de DLCO resultó ser un 48% superior en los pacientes que presentaban un valor de IL-6 superior a 2 pg/ml.

Si el punto de corte de IL-6 analizado era de 2,5 pg/ml, se obtuvo un nivel de sensibilidad algo inferior (77,1%) y aunque mejoró el nivel de especificidad, este se mantuvo bajo (51,6%). Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se observó que cuando los niveles de IL-6 estaban por encima de 2,5 pg/ml, la probabilidad de obtener un descenso  $\geq 10\%$  de la DLCO fue 1,59 veces superior. El riesgo de tener un descenso  $\geq 10\%$  de DLCO fue un 59% mayor en los pacientes que presentaban un valor de IL-6 superior a 2,5 pg/ml.

Respecto a la razón de verosimilitud negativa (L-), cuando la IL-6 se encontraba por debajo de 2 pg/ml la probabilidad de no presentar un descenso de la DLCO fue 2,94 veces mayor. Por consiguiente, el riesgo de no presentar descenso superior al 10% de la DLCO fue un 74,6% superior en los pacientes que presentaron una IL-6 menor de 2. Cuando el punto de corte se estableció en 2,5, este porcentaje se mantuvo en el 72,1%.

La CVF por debajo del 70% fue analizada para diversos puntos de corte de IL-6 obteniendo los resultados expuestos en la Tabla 4.28.

Tabla 4.28. Validez interna y externa para diversos puntos de corte de IL-6 en la detección de capacidad vital forzada (CVF) menor al 70%.

	Punto de corte IL-6 con CVF<70%				
	1,5	2	2,5	3	5
Sensibilidad	88,2 (70-100)	88,2 (69,9-100)	88,2 (69,9-100)	76,4 (53,3-99,5)	58,8 (32,4-85,1)
Especificidad	20,8 (13,3-28,3)	33,6 (24,9-42,2)	45,6 (36,4-54,7)	48,4 (39,3-57,4)	76 (68,1-83,9)
Í. Validez	28,8 (21-26,6)	40,1 (31,7-48,5)	50,7 (42,1-59,2)	51,7 (43,2-60,2)	73,9 (66,3-81,5)
VPP	13,1 (6,5-19,8)	15,3 (7,6-22,9)	18 (9,1-26,9)	16,4 (7,6-25,2)	25 (10,3-39,6)
VPN	92,8 (81,5-100)	95,4 (88,1-100)	96,6 (91,1-100)	93,9 (87,4-100)	93,1 (87,7-98,5)
L+	1,11 (0,92-1,35)	1,33 (1,07-1,65)	1,62 (1,28-2,05)	1,48 (1,08-2,03)	2,45 (1,48-4,06)
L-	0,96 (0,44- -)	1,55 (0,83- -)	2,10 (1,12- -)	2,06 (0,84-136)	1,85 (1,01-5,65)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

Se observaron altos valores de sensibilidad y bajos de especificidad para los primeros puntos de corte de la IL-6 en relación a la CVF. Hemos visto que cuando la CVF fue menor al 70% la probabilidad de tener una IL-6 mayor de 2 pg/ml resultó de 88,2%. Sin embargo, cuando la CVF fue superior al 70%, la probabilidad de presentar una IL-6 con valores inferiores a 2 pg/ml fue únicamente de un 33,6%.

Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se vio que cuando la IL-6 era mayor de 2 pg/ml la probabilidad de presentar una CVF menor al 70% fue 1,33 veces superior que cuando la IL-6 se encontraba en valores inferiores. En consecuencia, el riesgo de tener una CVF<70% resultó ser un 33% superior en los pacientes que presentaban un valor de IL-6 superior a 2 pg/ml.

Si el punto de corte de IL-6 analizado era de 2,5 pg/ml, se obtuvo un nivel de sensibilidad similar (88,2%) y aunque mejoró el nivel de especificidad, se mantuvo bajo (45,6%). Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se observó que cuando la IL-6 era superior a 2,5 pg/ml, la probabilidad de encontrar una CVF por debajo del 70 fue 1,62 veces superior que cuando la IL-6 estaba por debajo de este nivel. El riesgo de tener una CVF<70% fue un 62% mayor en los pacientes que presentaban un valor de IL-6 superior a 2,5 pg/ml. Al analizar la razón de verosimilitud negativa (L-), el riesgo de tener una CVF mayor al 70% fue un 55% superior en los pacientes que presentaron una IL-6 menor de 2 pg/ml.

Cuando el punto de corte se estableció en 2,5 pg/ml, este porcentaje aumentó al 67,7%.

Los resultados obtenidos para el descenso superior al 10% de la CVF se muestran en la tabla 4.29.

Tabla 4.29. Validez interna y externa para puntos de corte de IL-6 en la detección de un descenso  $\geq 10\%$  de la CVF.

	Punto de corte IL-6 con descenso $\geq 10\%$ CVF				
	1,5	2	2,5	3	5
Sensibilidad	88 (73,2-100)	84 (67,6-100)	76 (57,2-94,7)	68 (47,7-88,3)	52 (30,4-73,6)
Especificidad	27 (16,2-37,8)	36,5 (24,8-48,1)	47,3 (35,2-59,3)	49,3 (37,5-61,1)	77,0 (66,8-87,3)
Í. Validez	42,4 (32,1-52,6)	48,5 (38,1-58,8)	54,5 (44,2-64,9)	53,9 (43,7-64,1)	70,7 (61,2-80,2)
VPP	28,9 (18,1-39,8)	30,9 (19,1-42,6)	32,7 (19,8-45,7)	30,3 (17,4-43,2)	43,3 (23,9-62,7)
VPN	87 (71-100)	87,1 (73,7-100)	85,4 (73,3-97,4)	82,6 (70,6-94,6)	82,6 (72,9-92,3)
L+	1,21 (0,99-1,47)	1,32 (1,04-1,69)	1,44 (1,06-1,96)	1,34 (0,95-1,9)	2,26 (1,29-3,97)
L-	2,25 (0,61- -)	2,28 (0,77- -)	1,97 (0,82-11,28)	1,64 (0,72-5,22)	1,6 (0,96-3,30)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

Se observaron altos valores de sensibilidad y bajos de especificidad para los primeros puntos de corte de la IL-6 en relación al descenso mayor al 10% de CVF. Se vio que cuando se presentó un descenso  $\geq 10\%$  de CVF la probabilidad de tener niveles de IL-6 mayores de 2 pg/ml fue de 84%. Sin embargo, cuando el descenso no era superior al 10%, la probabilidad de presentar una IL-6 inferior a 2 pg/ml fue del 36,5%.

Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se vio que cuando la IL-6 era mayor a 2 pg/ml, la probabilidad de presentar un descenso de la CVF superior al 10% fue 1,32 veces superior que cuando los niveles de IL-6 eran inferiores. En consecuencia, el riesgo de tener un descenso mayor al 10% de CVF resultó ser un 32% superior en los pacientes que presentaban un valor de IL-6 superior a 2 pg/ml.

Si el punto de corte de IL-6 analizado era de 2,5 pg/ml, se obtuvo un nivel de sensibilidad algo inferior (76,0%) y aunque mejoró el nivel de especificidad, este se mantuvo bajo (47,3%). Al valorar la razón de verosimilitud positiva (L+) se observó que cuando la IL-6 se encontraba por encima de 2,5 pg/ml, la probabilidad de presentar un descenso  $\geq 10\%$  de la CVF fue 1,44 veces superior.

El riesgo de tener un descenso  $\geq 10\%$  de CVF fue un 44% mayor en los pacientes que presentaban un valor de IL-6 superior a 2,5 pg/ml.

Al analizar la razón de verosimilitud negativa, cuando la IL-6 se encontró por debajo de 2 pg/ml, la probabilidad de no presentar un descenso significativo ( $\geq 10\%$ ) de la CVF fue 2,28 veces mayor. Por consiguiente, el riesgo de no tener un descenso de CVF fue un 69,5% superior en los pacientes que presentaron una IL-6 menor de 2. Cuando el punto de corte se estableció en 2,5, este porcentaje aumentó al 97%.

En la tabla 4.30 se puede observar la relación entre los diferentes puntos de IL-6 con la escala de actividad EUSTAR.

Tabla 4.30. Validez interna y externa para diversos puntos de corte de IL-6 en la detección de síntomas clínicos según la clasificación de EUSTAR.

	Punto de corte IL-6 con EUSTAR				
	1,5	2	2,5	3	5
Sensibilidad	94,6 (88,8-100)	89,2 (81,4-96,9)	85,1 (76,4-93,9)	81,3 (71,9-90,8)	56,8 (44,8-68,7)
Especificidad	25 (15,6-34,4)	42,4 (31,8-53)	55,4 (44,7-66,1)	58,3 (48,0-68,7)	85,9 (78,2-93,5)
I. Validez	56 (48,2-63,9)	63,3 (55,6-70,9)	68,7 (61,3-76)	68,4 (61,2-75,9)	72,9 (65,8-80)
VPP	50,4 (41,7-59)	55,5 (41,1-64,8)	60,6 (50,7-70,5)	60,4 (50,4-70,4)	76,4 (64,2-88,5)
VPN	85,2 (69,9-100)	83 (71,2-94,8)	60,6 (50,7-70,5)	80 (69,9-90,1)	71,2 (62,3-80)
L+	1,26 (1,22-1,3)	1,55 (1,49-1,61)	1,91 (1,81-2,02)	1,95 (1,85-2,07)	4,02 (3,33-4,84)
L-	4,63 (2,19-9,75)	3,92 (2,87-5,36)	3,81 (3,03-4,60)	3,13 (2,65-3,69)	1,99 (1,86-2,12)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

La IL-6 presentó altos valores de sensibilidad y bajos de especificidad para los primeros puntos de corte. Así, cuando existe actividad clínica según la escala EUSTAR la probabilidad de encontrar una IL-6 mayor de 1,5 pg/ml fue de 94,6%. Estos valores fueron del 89,2% y del 85,1% para los puntos de corte de IL-6 de 2 pg/ml y 2,5 pg/ml respectivamente. Sin embargo, cuando la escala no detectó actividad clínica la probabilidad de encontrar una IL-6 inferior a 1,5 pg/ml fue únicamente del 25%. Este valor aumentó al 42,4% para el punto de corte 2 pg/ml y al 55,4% para el punto de corte de 2,5 pg/ml.

La razón de verosimilitud positiva (L+) orientó a que cuando la IL-6 se encontró por encima de 1,5 pg/ml la probabilidad de presentar actividad clínica según esta

escala fue 1,26 veces superior que cuando la IL-6 era inferior, por lo que el riesgo de tener actividad clínica según EUSTAR, fue un 26% superior en los pacientes que presentaron un valor de IL-6 mayor a 1,5 pg/ml. Este porcentaje aumentó al 55% para valores de IL-6 mayores de 2 pg/ml y al 91% para valores mayores a 2,5 pg/ml.

Según las razones de verosimilitud negativas (L-), cuando la IL-6 fue inferior a 1,5 pg/ml la probabilidad de no detectar actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR fue 4,63 veces mayor que la IL-6 era mayor a 1,5 pg/ml. Esto implica que el riesgo de tener actividad clínica según la escala EUSTAR fue un 82,2% inferior en los pacientes que presentaron una IL-6 menor a 1,5 pg/ml. Cuando el punto de corte se estableció en 2 pg/ml, este porcentaje disminuyó al 79,7% y cuando el nivel de IL-6 se estableció en 2,5 pg/ml este porcentaje fue del 79,2%.

De igual manera, al analizar los diferentes parámetros relacionados con la VSG se obtuvieron los siguientes resultados de validez interna y externa para diversos puntos de corte (Tabla 4.31 I y II).

Tabla 4.31 (I). Validez interna y externa para diversos puntos de corte de VSG en la detección de los principales parámetros relevantes.

	Punto de corte VSG							
	IT≥3m/s		PAPS≥40		DLCO<60%		Descenso 10% DLCO	
	20	40	20	40	20	40	20	40
Sensibilidad	75 (50,7-99,3)	56,3 (28,8-83,7)	64,3 (35,6-93)	50 (20,2-79,8)	45,8 (23,8-67,9)	37,5 (16,1-59)	41,2 (23,1-59,2)	26,5 (10,2-42,8)
Especificidad	55,8 (46,5-65,1)	83,3 (76,3-90,4)	55,7 (43,4-68,1)	81,4 (71,6-91,3)	64 (54,6-73,4)	88,3 (81,9-94,7)	67,7 (55,3-80,2)	90,3 (82,1-98,5)
Índice validez	58,1 (49,4-66,8)	80,2 (73,1-87,2)	57,1 (46-68,3)	76,2 (66,5-85,9)	60,7 (52,1-69,4)	79,3 (72,1-86,5)	58,3 (48-68,7)	67,7 (57,8-77,6)
VPP	18,5 (8,3-28,7)	31 (12,5-49,6)	22,3 (8,3-36,7)	35 (11,6-58,4)	21,6 (9,3-33,8)	50,9 (18,1-63,7)	41,2 (23,1-59,2)	60 (31,9-88,1)
VPN	94,4 (88,3-100)	93,5 (88,3-98,6)	88,6 (78,1-99,2)	80,1 (80,6-97,5)	84,5 (76,2-92,9)	86,7 (80-93,4)	67,7 (55,3-80,2)	69,1 (58,5-79,8)
L+	1,70 (1,2-2,4)	3,38 (1,9-6,1)	1,45 (0,9-2,3)	2,69 (1,3-5,5)	1,27 (0,8-2,1)	3,2 (1,6-6,6)	1,28 (0,74-2,19)	2,74 (1,06-7,03)
L-	2,22 (0,91-5,0)	2,0 (1,11-3,33)	1,56 (0,77-3,33)	1,64 (1-2,5)	1,18 (0,77-1,67)	1,43 (1,0-2,0)	1,15 (0,72-1,97)	1,23 (0,91-1,72)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

Tabla 4.31 (II). Validez interna y externa para diversos puntos de corte de VSG en la detección de los principales parámetros relevantes.

	Punto de corte VSG					
	CVF<70%		Descenso 10% CVF		EUSTAR	
	20	40	20	40	20	40
Sensibilidad	73,3 (47,6-99)	53,3 (24,7-81,9)	60,9 (38,7-83)	39,1 (17-61,2)	58,3 (46,3-70,4)	29,2 (18-40,4)
Especificidad	63,8 (55-72,5)	87,4 (81,2-93,5)	67,1 (55,9-78,3)	89,4 (81,9-97)	68,8 (58,9-78,8)	90,3 (83,8-96,9)
Índice validez	64,8 (56,5-73)	83,8 (77,3-90,2)	65,6 (55,8-75,5)	77,8 (69,1-86,5)	64,2 (56,6-71,9)	63,6 (56-71,3)
VPP	19,3 (8,1-30,4)	33,3 (12,4-54,2)	35,9 (19,5-52,2)	52,9 (26,2-79,6)	59,2 (47-71,3)	70 (51,9-88,1)
VPN	95,2 (90,2-100)	94,0 (89,3-98,7)	85 (75,1-94,9)	82,9 (74,2-91,7)	68,1 (58,1-78)	62,2 (53,7-70,8)
L+	2,02(1,4-3,0)	4,23 (2,19-8,18)	1,85 (1,17-2,93)	3,72 (1,62-8,53)	1,87 (1,3-2,7)	3,01 (1,5-6,2)
L-	2,39 (1,05-72,50)	1,87 (1,08-5,17)	1,72 (0,91-4,61)	1,47 (0,99-2,50)	1,59 (0,5-4,0)	1,28 (1,11-1,43)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

Los valores de sensibilidad y especificidad no alcanzaron puntos mayores al 75% para niveles de VSG mayores de 20 mm/h. Cuando el punto de corte de VSG se estableció en 40 mm, los valores de sensibilidad fueron menores que para el punto de corte anterior, sin embargo, los de especificidad aumentaron, de manera que cuando la IT fue inferior a 3 m/s, la PAPS menor a 40 mmHg, la DLCO estuvo por encima del 60% y no se encontró descenso superior al 10% de la DLCO, la CVF estuvo por encima del 70%, no hubo un descenso mayor al 10% de la CVF, y no se encontró actividad clínica según la escala EUSTAR, la probabilidad de tener una VSG menor a 40 mm/h fue del 83,3% 81,4%, 88,3%, 90,3%, 87,4%, 89,4% y 90,3% respectivamente, como puede verse en la Tabla 4.31 I y II.

La interpretación de la razón de verosimilitud positiva (L+) mostró los siguientes resultados. Cuando la VSG fue menor a 20 mm/h la probabilidad de encontrar una IT por encima de 3 m/s fue 1,70 veces superior que cuando la VSG estuvo por debajo de 20 mm/h. Es decir, el riesgo de tener una  $IT \geq 3$  m/s era un 70% superior en los pacientes que presentan un valor de VSG por encima 20 mm/h. En el caso de una VSG  $\geq 40$  mm/h, este porcentaje aumentó al 77,2%.

Si la VSG era mayor a 20 mm/h, la probabilidad de presentar una PAPS por encima de 40 mmHg fue 1,45 veces superior que cuando la VSG era menor. O sea, el riesgo de tener una  $PAPS \geq 40$  mmHg fue un 45% superior en los pacientes que presentaron un valor de  $VSG \geq 20$  mm/h. En el caso de una  $VSG \geq 40$  mm/h, este porcentaje aumentó hasta el 72,9%.

Cuando la VSG fue mayor a 20 mm/h, la probabilidad de presentar una  $DLCO < 60\%$  fue 1,27 veces superior que cuando la VSG era inferior. Por lo tanto, el riesgo de tener una  $DLCO < 60\%$  fue un 27% superior en los pacientes que presentaron un valor de  $VSG \geq 20$  mm/h. En el caso de una  $VSG \geq 40$  mm/h, este porcentaje fue del 76,2%.

Cuando la VSG fue mayor a 20 mm/h, la probabilidad de presentar un descenso mayor al 10% de la DLCO fue 1,28 veces superior cuando el valor de VSG era menor a 20 mm/h. O sea, el riesgo de tener un descenso  $\geq 10\%$  en la DLCO fue un 28% superior en los pacientes que presentaron  $VSG \geq 20$  mm/h. En el caso de una  $VSG \geq 40$  mm/h, este porcentaje fue del 73,3%.

Cuando la VSG fue mayor a 20 mm/h, la probabilidad de presentar una CVF menor del 70% fue 2,02 veces superior que cuando la VSG se encontró por debajo de 20 mm/h. El riesgo de tener una  $CVF < 70\%$  fue un 66,9% superior en los pacientes que presentaron VSG mayor a 20 mm/h. En el caso de una VSG mayor a 40 mm/h, este porcentaje fue de un 80,9%.

Cuando la VSG fue mayor a 20 mm/h, la probabilidad de presentar un descenso mayor al 10% de la CVF fue 1,85 veces superior que cuando el valor de VSG era inferior. Es decir, el riesgo de tener un descenso  $\geq 10\%$  en la CVF fue un 85,0% superior en los pacientes que presentaron VSG mayor a 20 mm/h. En el caso de una VSG mayor a 40 mm/h, este porcentaje fue del 78,8%.

En último lugar, cuando la VSG fue superior a 20 mm/h la probabilidad de presentar actividad clínica medida mediante EUSTAR fue 1,87 veces superior que en los pacientes con VSG inferior. Esto significa que el riesgo de tener sintomatología clínica según la escala EUSTAR fue un 87,1% superior en los pacientes que presentaron un valor de  $VSG \geq 20$  mm/h. En el caso de una  $VSG \geq 40$  mm/h, este porcentaje fue del 75,1%.

Al analizar las razones de verosimilitud negativas (L-), se observó que cuando la VSG fue menor a 20 mm/h, la probabilidad de presentar una IT menor de 3 m/s fue 2,22 veces mayor que cuando la VSG era mayor a 20 mm/h. El riesgo de tener una  $IT < 3 \text{ m/s}$  fue un 68,9% superior en los pacientes que presentaron VSG  $< 20 \text{ mm/h}$ . En el caso de VGS  $< 40 \text{ mm/h}$  este valor fue de 66,9%.

Cuando la VSG fue menor a 20 mm/h, la probabilidad de presentar una PAPS menor de 40 mmHg fue 1,56 veces mayor que cuando la VSG fue mayor. Es decir, el riesgo de tener una  $PAPS < 40 \text{ mmHg}$  fue un 56% superior en los pacientes que presentaron un VSG  $< 20 \text{ mm/h}$ . En el caso de VGS  $< 40 \text{ mm/h}$  este valor fue de 64%.

Cuando la VSG fue menor a 20 mm/h, la probabilidad de encontrar una DLCO por encima del 60% fue 1,18 veces mayor que cuando la VSG era mayor. Es decir, el riesgo de tener una  $DLCO \geq 60\%$  fue un 18% superior en los pacientes que presentaron una VSG  $< 20 \text{ mm/h}$ . En el caso de VGS  $< 40 \text{ mm/h}$  este valor fue del 43%.

Cuando la VSG fue menor a 20 mm/h, la probabilidad de no presentar un descenso mayor al 10% de la DLCO fue 1,15 veces mayor que cuando la VSG era mayor. Es decir, el riesgo de no presentar un  $\text{descenso} \geq 10\%$  de DLCO fue un 15% superior en los pacientes con VSG  $< 20 \text{ mm/h}$ . Cuando el punto de corte se estableció en 40 mm/h, este porcentaje fue del 23%.

Cuando la VSG fue menor a 20 mm/h la probabilidad de presentar una CVF mayor del 70% resultó 2,39 veces mayor que cuando la VSG era mayor. Es decir, el riesgo de tener una  $CVF \geq 70\%$  fue un 70,5% superior en los pacientes con VSG  $< 20 \text{ mm/h}$ . Cuando el punto de corte se estableció en 40 mm/h, este porcentaje fue del 87%

Cuando la VSG fue inferior a 20 mm/h, la probabilidad de presentar un descenso menor al 10% de la CVF fue 1,72 veces mayor que cuando la VSG estaba por encima de 20 mm/h. Es decir, el riesgo de no presentar un  $\text{descenso} \geq 10\%$  de CVF fue un 72% superior en los pacientes con VSG  $< 20 \text{ mm/h}$ . Cuando el punto de corte se estableció en 40 mm/h, este porcentaje fue del 47%.

Cuando la VSG fue menor a 20 mm/h, la probabilidad de no presentar actividad clínica mediante EUSTAR fue 1,59 veces mayor que cuando la VSG estaba por encima de 20 mm/h. Es decir, el riesgo de no tener actividad clínica según la escala EUSTAR fue un 59% superior en los pacientes que presentaron una VSG<20 mm/h. En el caso de VGS<40 mm/h este valor fue de 28%.

Se analizaron los diferentes parámetros relevantes con la PCR calculándose la validez interna y externa para los puntos de corte de 1 y 1,5 mg/dl (Tabla 4.32 I y II).

Tabla 4.32 (I). Validez interna y externa para diversos puntos de corte de PCR en la detección de los principales parámetros relevantes.

	Punto de corte PCR							
	IT≥3m/s		PAPS≥40		DLCO<60%		Descenso 10% DLCO	
	≥1	≥1,5	≥1	≥1,5	≥1	≥1,5	≥1	≥1,5
Sensibilidad	53,3 (24,8-81,9)	46,7 (18,1-75,3)	58,3 (26,3-90,4)	50 (17,5-82,5)	22,7 (2,9-42,5)	22,7 (2,9-42,5)	16,1 (1,6-30,7)	16,1 (1,6-30,7)
Especificidad	91,5 (85,4-97,7)	94,7 (89,6-99,8)	94,4 (87,4-100)	96,3 (90,3-100)	93,2 (87,4-99)	94,3 (99,8-99,7)	90,5 (80,4-100)	92,8 (83,9-100)
Í. validez	86,2 (79,3-93,2)	88,1 (81,5-94,6)	87,9 (79,3-96,5)	87,9 (79,3-96,5)	79,1 (71-87,1)	80 (72,1-87,9)	58,9 (46,9-70,9)	60,2 (48,3-72,1)
VPP	50 (22,3-77,6)	58,3 (26,3-90,4)	70 (36,6-100)	75 (38,7-100)	45,5 (11,5-79,4)	50 (14-86)	55,5 (17,5-93,5)	62,5 (22,7-100)
VPN	92,5 (86,6-98,4)	91,8 (85,8-97,7)	91,1 (82,7-99,4)	89,7 (81-98,4)	82,8 (74,9-90,8)	83 (75,1-90,9)	59,3 (46,5-72,2)	60 (47,3-72,7)
L+	6,27 (2,8-14,2)	8,77 (3,2-24,1)	10,5 (3,2-34,8)	13,5 (3,1-58,9)	3,33 (1,1-9,9)	4 (1,3-12,6)	1,69 (0,49-5,79)	2,26 (0,58-8,75)
L-	1,96 (1,11-3,33)	1,79 (1,11-2,5)	2,27 (1,11-5,0)	1,92 (1,11-3,33)	1,21 (0,91-1,43)	1,22 (1-1,43)	1,08 (0,82-1,44)	1,11 (0,85-1,44)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

Tabla 4.32 (II). Validez interna y externa para diversos puntos de corte de PCR en la detección de los principales parámetros relevantes.

	Punto de corte PCR					
	CVF<70%		Descenso 10% CVF		EUSTAR	
	≥1	≥1,5	≥1	≥1,5	≥1	≥1,5
Sensibilidad	40 (11,8-68,1)	33,3 (6,1-60,5)	30,4 (9,4-51,4)	21,7 (2,7-40,7)	20,3 (9,2-31,5)	15,3 (5,2-25,3)
Especificidad	93 (87,5-98,5)	94 (88,8-99,1)	96 (89,6-100)	96 (89,6-100)	89,5 (81,9-97)	92,1 (85,4-98,8)
Índice validez	86 (79,3-92,8)	86,1 (79,3-92,8)	75,3 (64,8-85,9)	72,6 (61,7-83,2)	59,3 (50,6-67,9)	58,5 (49,8-67,2)
VPP	46,1 (15,2-77,1)	45,4 (11,4-79,4)	77,8 (45-100)	71,4 (30,8-100)	60 (36-84)	60 (31,9-88,1)
VPN	91,1 (85,1-97,1)	90,3 (84,2-96,5)	75 (63,1-86,4)	72,7 (61,2-84,2)	59,1 (49,7-68,6)	58,3 (49,1-67,6)
L+	5,71 (2,22-14,71)	5,56 (1,93-15,96)	7,61 (1,71-33,82)	5,43 (1,14-25,96)	1,93 (0,8-4,4)	1,93 (0,7-5,1)
L-	1,55 (0,99-3,09)	1,41 (0,94-2,51)	1,38 (0,99-2,06)	1,23 (0,92-1,69)	1,12 (1- 1,25)	1,09 (1-,25)

VPP Valor predictivo positivo VPN valor predictivo negativo L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

Como puede apreciarse en la tabla 4.32 I y II, los valores de sensibilidad están por debajo del 75% tanto cuando el punto de corte para PCR se establece en 1 mg/dl como en 1,5 mg/dl. Sin embargo, los valores de especificidad se encuentran en cifras por encima del 85% en todos ellos. Analizando los valores de especificidad, para el punto de corte 1 mg/dl se observó que cuando la insuficiencia tricupídea fue menor a 3 m/s, la PAPS menor a 40 mmHg, la DLCO mayor a 60%, la disminución de DLCO inferior al 10%, la CVF mayor a 70%, el descenso de CVF menor al 10% y no había actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR la probabilidad de encontrar una PCR menor a 1 mg/dl fue del 91,5%, 94,4%, 93,2%, 90,5%, 93%, 96%, 89,5% respectivamente; valores muy similares aunque algo superiores a los expuestos se obtuvieron para el punto de corte 1,5 mg/dl.

Al analizar la razón de verosimilitud positiva, cuando la PCR fue mayor a 1 mg/dl la probabilidad de obtener una  $IT \geq 3$  m/s fue 6,27 veces superior que cuando la PCR era menor. El riesgo de tener una  $IT \geq 3$  m/s fue un 86,2% superior en los pacientes que presentaron un valor de PCR  $\geq 1$  mg/dl. En el caso de una PCR  $\geq 1,5$  mg/dl, este porcentaje aumentaba al 89,8%.

Cuando la PCR fue mayor a 1 mg/dl la probabilidad de obtener una PAPS $\geq$ 40 mmHg fue 10,5 veces superior que cuando PCR era inferior. El riesgo de tener una PAPS $\geq$ 40 mmHg fue un 91,3% superior en los pacientes que presentaron un valor de PCR  $\geq$ 1 mg/dl. En el caso de una PCR  $\geq$ 1,5 mg/dl, este porcentaje aumentó al 93,1%.

Cuando la PCR fue mayor a 1 mg/dl la probabilidad de obtener DLCO menor al 60% fue 3,33 veces superior que cuando la PCR era menor. El riesgo de tener una DLCO $<$ 60% fue un 76,9% superior en los pacientes que presentaron PCR  $\geq$ 1 mg/dl. En el caso de una PCR  $\geq$ 1,5 mg/dl, este porcentaje aumentó al 80,0%.

Cuando la PCR fue mayor a 1 mg/dl la probabilidad de obtener un descenso mayor al 10% de la DLCO fue 1,69 veces superior que cuando la PCR era menor a 1 mg/dl. Es decir, el riesgo de tener un descenso  $\geq$ 10% en la DLCO fue un 69% superior en los pacientes que presentaron PCR  $\geq$ 1 mg/dl. En el caso de una PCR  $\geq$ 1,5 mg/dl, este porcentaje fue del 69,3%.

Cuando la PCR fue mayor a 1 mg/dl la probabilidad de obtener CVF menor del 70% fue 5,71 veces superior que cuando la PCR era inferior. El riesgo de tener una CVF $<$ 70% fue un 85,1% superior en los pacientes que presentaron PCR  $\geq$ 1 mg/dl. En el caso de una PCR  $\geq$ 1,5 mg/dl, este porcentaje fue de un 84,8%.

Cuando la PCR fue mayor a 1 mg/dl la probabilidad de obtener un descenso mayor al 10% de la CVF fue 7,61 veces superior que cuando el valor de PCR fue menor a 1 mg/dl. Es decir, el riesgo de tener un descenso  $\geq$ 10% en la CVF fue un 88,4% superior en los pacientes que presentaron PCR  $\geq$ 1 mg/dl. En el caso de una PCR  $\geq$ 1,5 mg/dl, este porcentaje fue del 84,4%.

Cuando la PCR fue mayor a 1 mg/dl la probabilidad de presentar actividad clínica según la escala EUSTAR fue 1,93 veces superior que cuando la PCR era menor a 1 mg/dl. El riesgo de tener actividad según la escala EUSTAR fue un 93,0% superior en los pacientes que presentaron un valor de PCR  $\geq$ 1 mg/dl. En el caso de una PCR  $\geq$ 1,5 mg/dl, este porcentaje se mantuvo similar 93,0%.

Respecto a las razones de verosimilitud negativas (L-) cuando la PCR era menor a 1 mg/dl, la probabilidad de presentar una IT menor a 3 m/s fue 1,96 veces

mayor que cuando la PCR era mayor a 1 mg/dl. Por ello, el riesgo de tener una IT <3m/s fue un 96% superior en los pacientes que presentaron una PCR por debajo de 1 mg/dl. Cuando el punto de corte se estableció en 1,5, este porcentaje fue del 79%.

Cuando la PCR era menor a 1 mg/dl, la probabilidad de presentar una PAPS menor a 40 mmHg fue 2,27 veces mayor que cuando la PCR era mayor. El riesgo de tener una PAPS<40 mmHg fue un 69,4% superior en los pacientes que presentaron una PCR inferior a 1 mg/dl. Cuando el punto de corte se estableció en 1,5 mg/dl, este porcentaje aumentó al 92%

Cuando la PCR era menor a 1 mg/dl, la probabilidad de presentar una DLCO fue mayor del 60% resultó 1,21 veces mayor que cuando la PCR era mayor. El riesgo de tener una DLCO<60% de un 21,0% superior en los pacientes con PCR superior a 1 mg/dl. Cuando el punto de corte se estableció en 1,5, este porcentaje fue del 22,0%.

Cuando la PCR era menor a 1 mg/dl, la probabilidad de no presentar un descenso significativo de la DLCO, resultó 1,08 veces mayor que cuando la PCR era mayor. Es decir, el riesgo de no presentar un descenso de DLCO fue un 8% superior en los pacientes con PCR menor a 1 mg/dl. Cuando el punto de corte se estableció en 1,5 mg/dl, este porcentaje fue del 11%.

Cuando la PCR era menor a 1 mg/dl, la probabilidad de presentar una CVF mayor del 70% resultó 1,55 veces mayor que cuando la PCR era menor. Por tanto, el riesgo de tener una CVF por encima del 70% fue un 55,0% superior en los pacientes con PCR menor a 1 mg/dl. Cuando el punto de corte se estableció en 1,5 mg/dl, este porcentaje fue del 41%.

Cuando la PCR era menor a 1 mg/dl, la probabilidad de no presentar un descenso significativo de la CVF resultó 1,38 veces mayor que cuando la PCR era mayor. Así el riesgo de no presentar un descenso  $\geq 10\%$  de CVF fue un 38% superior en los pacientes con PCR menor a 1 mg/dl. Cuando el punto de corte se estableció en 1,5 mg/dl, este porcentaje disminuyó al 23%.

Cuando la PCR era menor a 1 mg/dl, la probabilidad de no encontrar actividad clínica fue 1,12 veces mayor que cuando la PCR era mayor. El riesgo de tener actividad según la escala EUSTAR fue un 12% superior en los pacientes que presentaron una PCR superior a 1 mg/dl. Cuando el punto de corte se estableció en 1,5 mg/dl, este porcentaje bajó al 9%.

Una vez obtenidos los diferentes niveles de sensibilidad y especificidad, así como las razones de verosimilitud de cada uno de los marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR) para diversos puntos de corte, se combinaron los niveles de IL-6 y PCR con la finalidad de definir qué combinación de valores mejoran los resultados obtenidos de forma individual.

Dado que los cambios más importantes en las razones de verosimilitud para los distintos parámetros analizados se produjeron para diferentes niveles de PCR, se estudió la combinación de IL-6 y PCR, a diferentes niveles, con las principales manifestaciones (IT $\geq$ 3 m/s, PAPS $\geq$ 40 mmHg, DLCO $<$ 60%, disminución DLCO $>$ 10%, CVF $<$ 70%, disminución CVF $>$ 10% y actividad clínica medida mediante EUSTAR) se muestran en la tabla 4.33.

Tabla 4.33. Combinación de IL-6 (pg/ml) y PCR (mg/dl) con las principales manifestaciones.

	IT $\geq$ 3 m/s	PAPS $\geq$ 40 mmHg	DLCO $<$ 60%	Disminución DLCO 10%	CVF $<$ 70%	Disminución CVF 10%	EUSTAR
<b>IL-6<math>\geq</math>2 y PCR<math>\geq</math>1</b>							
S	47,1 (20,4-73,7)	50 (20,2-79,8)	19,2 (2,2-36,3)	13,9 (1,2-26,6)	35,3 (9,6-61)	24 (5,3-42,7)	16 (7-25)
E	96 (92,1-99,8)	98,6 (95,2-100)	97,3 (93,9-100)	96,8 (91,7-100)	97,7 (94,6-100)	98,7 (95,5-100)	94,8 (89,8-99,8)
L+	11,76 (4,31-31,59)	35,5 (4,73-266)	7,18 (1,83-28,15)	4,38 (0,89-21,41)	15,06 (4,14-54,72)	18,48 (2,34-146)	8,43 (1,15-62,0)
L-	1,81 (0,94-3,8)	1,97 (1,19-4,94)	0,98 (0,96-1,57)	1,12 (0,93-1,36)	1,51 (1,05-2,56)	1,30 (1,02-1,75)	-----
<b>IL-6<math>\geq</math>2 y PCR<math>\geq</math>1,5</b>							
S	41,2 (14,8-67,5)	42,9 (13,4-72,4)	19,2 (2,2-36,3)	13,9 (1,2-26,6)	29,4 (4,8-54)	20 (2,3-37,7)	10,7 (4,5-16,9)
E	97,6 (94,5-100)	98,6 (95,2-100)	97,3 (93,9-100)	96,8 (91,7-100)	97,7 (94,6-100)	98,7 (95,5-100)	98,3 (94,2-100)
L+	17,02 (4,86-59,64)	30,43 (3,96-233)	7,18 (1,83-28,15)	4,38 (0,89-21,41)	12,55 (3,29-47,88)	15,40 (1,89-125)	6,32 (0,84-47,44)
L-	1,66 (1,11-3,08)	1,57 (1,1-3,62)	1,2 (0,96-1,57)	1,12 (0,93-1,36)	3,19 (0,99-2,17)	1,23 (0,98-1,60)	1,1 (0,99-1,20)
<b>IL-6<math>\geq</math>2,5 y PCR<math>\geq</math>1</b>							
S	47,1 (20,4-73,7)	50 (20,2-79,8)	19,2 (2,2-36,3)	13,9 (1,2-26,6)	35,3 (9,6-61)	24 (5,3-42,7)	16 (7-25)
E	96 (92,1-99,8)	98,6 (95,2-100)	97,3 (93,9-100)	96,8 (91,7-100)	97,7 (94,6-100)	98,7 (95,5-100)	94,8 (89,8-99,8)
L+	11,76 (4,31-31,59)	35,5 (4,73-266)	7,18 (1,83-28,15)	4,38 (0,89-21,41)	15,06 (4,14-54,72)	18,48 (2,34-146)	8,43 (1,15-62,0)
L-	1,81 (0,94-3,8)	1,97 (1,19-4,94)	0,98 (0,96-1,57)	1,12 (0,93-1,36)	1,51 (1,05-2,56)	1,30 (1,02-1,75)	-----
<b>IL-6<math>\geq</math>2,5 y PCR<math>\geq</math>1,5</b>							
S	41,2 (14,8-67,5)	42,9 (13,4-72,4)	19,2 (2,2-36,3)	13,9 (1,2-26,6)	29,4 (4,8-54)	20 (2,3-37,7)	10,7 (4,5-16,9)
E	97,6 (94,5-100)	98,6 (95,2-100)	97,3 (93,9-100)	96,8 (91,7-100)	97,7 (94,6-100)	98,7 (95,5-100)	98,3 (94,2-100)
L+	17,02 (4,86-59,64)	30,43 (3,96-233)	7,18 (1,83-28,15)	4,38 (0,89-21,41)	12,55 (3,29-47,88)	15,40 (1,89-125)	6,32 (0,84-47,44)
L-	1,66 (1,11-3,08)	1,57 (1,1-3,62)	1,2 (0,96-1,57)	1,12 (0,93-1,36)	3,19 (0,99-2,17)	1,23 (0,98-1,60)	1,1 (0,99-1,20)

S sensibilidad E especificidad L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

Las combinaciones de  $IL-6 \geq 2$  pg/ml junto a  $PCR \geq 1$  mg/dl y de  $IL-6 \geq 2,5$  pg/ml y  $PCR \geq 1$  mg/dl aportaron para los parámetros estudiados valores de sensibilidad muy bajos, entre el 13,9 y el 50% y de especificidad por encima del 95% (tabla 4.33).

Al combinar estos valores de IL-6 y PCR (tabla 4.33) observamos un descenso notable de los valores de sensibilidad comparado con los valores de la IL-6 por separado. De hecho, tomando como ejemplo la IT, de los 17 pacientes afectados, 7 (41,2%) tuvieron los marcadores inflamatorios elevados frente a 10 (58,8%) en los que, al menos uno de los dos marcadores, estuvo por debajo de los valores señalados. Este hecho sucedió de la misma forma para el resto de parámetros analizados hasta valores mínimos de diagnóstico del 13,9% para el descenso mayor del 10% de la DLCO y del 16% para la actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR. El valor más alto de sensibilidad se obtuvo para la PAPS mayor de 40 mmHg que alcanzó el 50%.

Al analizar la especificidad para la combinación de IL-6 y PCR, obtuvimos valores en todo momento por encima del 95%. De hecho, si tomamos como ejemplo la IT, de los 124 pacientes con niveles por debajo de los 3m/s, 119 (95%) presentaron valores por debajo del punto de corte en ambos marcadores inflamatorios y, únicamente 5 (4%) tuvieron valores superiores en alguno de ellos. Este hecho ha sucedido de la misma forma para el resto de parámetros analizados.

Al valorar la razón de verosimilitud positiva, se observó una probabilidad 11,76 veces mayor de presentar  $IT \geq 3$  m/s, 35,5 veces de asociar  $PAPS \geq 40$  mmHg, 7,18 veces mayor de tener  $DLCO < 60\%$ , 4,38 veces la probabilidad de presentar una disminución mayor al 10% de la DLCO, 15,06 veces mayor de presentar  $CVF < 70\%$ , 18,48 veces de presentar una disminución mayor al 10% de la CVF y 8,43 de presentar actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR. Esto se puede traducir en un riesgo de 92,2% de presentar  $IT \geq 3$  m/s, 97,3% de presentar  $PAPS \geq 40$  mmHg, 87,8% de presentar  $DLCO < 60\%$ , 81,4% de presentar una disminución de  $DLCO \geq 10\%$ , 93,8% de presentar una  $CVF < 70\%$ , 94,9% de presentar una disminución de  $CVF \geq 10\%$  y un 89,4% de presentar actividad clínica mediante la escala EUSTAR.

Respecto a la L-, estos puntos de corte conllevaron una probabilidad 1,81 veces mayor de presentar una  $IT < 3 \text{ m/s}$ , 1,97 veces de tener una  $PAPS < 40 \text{ mmHg}$ , 0,98 veces de tener  $DLCO \geq 60\%$ , 1,12 veces de presentar una disminución de  $DLCO < 10\%$ , 1,51 veces de presentar una  $CVF \geq 70\%$  y 1,30 veces de presentar una disminución de  $CVF < 10\%$ . Por tanto, el riesgo de no tener alteradas estas pruebas fue del 81%, 97%, 49,5%, 12%, 51% y 30%, respectivamente.

Por otro lado, las combinaciones de  $IL-6 \geq 2 \text{ pg/ml}$  y  $PCR \geq 1,5 \text{ mg/dl}$  y la combinación de  $IL-6 \geq 2,5 \text{ pg/ml}$  y  $PCR \geq 1,5 \text{ mg/dl}$  aportaron para los parámetros estudiados valores de sensibilidad muy bajos, entre el 10,7 y el 42,9% y de especificidad por encima del 95%.

Al analizar la razón de verosimilitud positiva se observó una probabilidad 17,02 veces mayor de asociar  $IT \geq 3 \text{ m/s}$ , 30,43 veces mayor de tener  $PAPS \geq 40 \text{ mmHg}$ , 7,18 veces mayor de presentar  $DLCO < 60\%$ , 4,38 veces la probabilidad de presentar una disminución mayor al 10% de la DLCO, 12,55 veces mayor de presentar  $CVF < 70\%$ , 15,40 veces de presentar una disminución mayor al 10% de la CVF y, por último, 6,32 veces mayor de tener actividad clínica (EUSTAR). En conclusión, la probabilidad resultó de un 94,5% para  $IT \geq 3 \text{ m/s}$ , 96,8% para  $PAPS \geq 40 \text{ mmHg}$ , 87,8% para  $DLCO < 60\%$ , 81,4% de presentar una disminución  $\geq 10\%$  de la DLCO, 92,6% de presentar  $CVF < 70\%$ , 93,9% de presentar una disminución de la  $CVF \geq 10\%$  y de 86,3% para actividad clínica mediante la escala EUSTAR.

Respecto a la L-, estos puntos de corte conllevaron una probabilidad 1,66 veces mayor de presentar una  $IT < 3 \text{ m/s}$ , 1,57 veces de tener una  $PAPS < 40 \text{ mmHg}$ , 1,2 veces de tener  $DLCO \geq 60\%$ , 1,12 veces de no presentar una disminución de DLCO, 3,19 veces de presentar una  $CVF \geq 70\%$ , 1,23 veces de presentar una disminución de  $CVF < 10\%$  y 1,1 veces de mostrar actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR. Por tanto, el riesgo de no tener alteradas estas pruebas fue del 66%, 57%, 20%, 12%, 76,1%, 23% y 10% respectivamente, como puede observarse en la tabla 4.33.

Por último, a estas combinaciones se añadió la VSG en niveles superiores a 40 mm/h con la IL-6 de 2 pg/ml y los dos valores de PCR (1 y 1,5 mg/dl) obteniendo los resultados de la tabla 4.34.

Tabla 4.34. Combinación de IL-6 (pg/ml), PCR (mg/dl) y VSG (mm/h) con las principales manifestaciones.

	IT ≥ 3 m/s	PAPS ≥ 40 mmHg	DLCO < 60%	Disminución DLCO 10%	CVF < 70%	Disminución CVF 10%	EUSTAR
<b>IL-6 ≥ 2, PCR ≥ 1, VSG ≥ 40</b>							
S	35,3 (9,6-61)	35,7 (7-64,4)	19,2 (2,2-36,3)	13,9 (1,2-26,6)	29,4 (4,8-54)	20 (2,3-37,7)	8 (2,6-13,5)
E	98,4 (95,8-100)	100 (99,3-100)	98,2 (95,3-100)	98,4 (94,5-100)	98,4 (95,9-100)	100 (99,4-100)	100 (99,2-100)
L+	21,88 (4,8-99,84)	-----	10,77 (2,21-52,46)	8,75 (1,06-72)	18,82 (3,96-89,56)	-----	10,24 (1,31-80,09)
L-	1,38 (1,06- -)	1,56 (1,07-2,81)	1,22 (0,97-1,57)	1,14 (0,95- -)	1,39 (1,01-2,17)	1,25 (1,02-1,60)	1,11 (0,99-1,22)
<b>IL-6 ≥ 2, PCR ≥ 1,5 VSG ≥ 40</b>							
S	35,3 (9,6-61)	35,7 (7-64,4)	19,2 (2,2-36,3)	13,9 (1,2-26,6)	29,4 (4,8-54)	20 (2,3-37,7)	7,1 (1,9-12,4)
E	99,2 (97,2-100)	100 (99,3-100)	98,2 (95,3-100)	98,4 (94,5-100)	98,4 (95,9-100)	100 (99,4-100)	100 (99,2-100)
L+	43,76 (5,6-341,81)	-----	10,77 (2,21-52,46)	8,75 (1,06-72)	18,82 (3,96-89,56)	-----	8,96 (1,13-71,25)
L-	1,53 (1,08-2,56)	1,56 (1,07-2,81)	1,22 (0,97-1,57)	1,14 (0,95- -)	1,39 (1,01-2,17)	1,25 (1,02-1,60)	1,09 (0,98-1,2)

S sensibilidad E especificidad L+ razón de verosimilitud positiva L- razón de verosimilitud negativa.

Las combinaciones de IL-6 ≥ 2 pg/ml junto a PCR ≥ 1 mg/dl y VSG ≥ 40 mm/h aportaron para los parámetros estudiados valores de sensibilidad muy bajos, entre el 8,0 y el 35,7% y de especificidad prácticamente del 100%. Siguiendo con el mismo ejemplo anterior, de los 17 pacientes con IT por encima de 3 m/s, 6 (35,3%) alcanzaron cifras elevadas en los 3 marcadores inflamatorios. Por lo tanto, 11 pacientes (64,7%) tuvieron al menos uno de los marcadores inflamatorios por debajo de las cifras de referencia.

Al analizar la razón de verosimilitud positiva, se observó una probabilidad 21,88 veces mayor de presentar IT ≥ 3 m/s, 10,77 veces mayor de tener DLCO < 60%, 8,75 veces la probabilidad de presentar una disminución mayor al 10% de la DLCO, 18,82 veces mayor de presentar CVF < 70% y 10,24 veces de presentar actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR. Esto se puede traducir en un riesgo de 95,6% de presentar IT ≥ 3 m/s, 91,5% de presentar DLCO < 60%, 89,7% de presentar una disminución de DLCO ≥ 10%, 94,9% de presentar una CVF < 70% y un 91,1% de presentar actividad clínica mediante la escala EUSTAR.

Todos los pacientes que presentaron valores superiores en los marcadores inflamatorios a las cifras expuestas tuvieron una PAPS $\geq$ 40 mmHg y disminución de la CVF mayor al 10%.

Respecto a la L-, estos puntos de corte conllevaron una probabilidad 1,38 veces mayor de presentar una IT $<$ 3m/s, 1,56 veces de presentar PAPS menor a 40 mmHg, 1,22 de tener DLCO $\geq$ 60%, 1,14 veces de presentar una disminución de DLCO $<$ 10%, 1,39 veces de presentar una CVF $\geq$ 70%, 1,25 veces de no presentar una disminución de la CVF $\geq$ 10% y 1,11 veces de no presentar actividad mediante EUSTAR. Por tanto, el riesgo de no tener alteradas estas pruebas fue del 38%, 56%, 22%, 14%, 39%, 25% y 11%, respectivamente.

Las combinaciones de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml junto a PCR $\geq$ 1,5 mg/dl y VSG $\geq$ 40 mm/h aportaron para los parámetros estudiados valores de sensibilidad muy bajos, entre el 7,1 y el 35,7% y de especificidad por encima del 98%.

Al analizar la razón de verosimilitud positiva se observó una probabilidad 43,76 veces mayor de presentar IT $\geq$ 3 m/s, 10,77 veces mayor de tener DLCO $<$ 60%, 8,75 veces la probabilidad de presentar una disminución mayor al 10% de la DLCO, 18,82 veces mayor de presentar CVF $<$ 70%, y 8,96 veces de presentar actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR. Esto se puede traducir en un riesgo de 97,8% de presentar IT $\geq$ 3m/s, 91,5% de presentar DLCO $<$ 60%, 89,7% de presentar una disminución de DLCO $\geq$ 10%, 95% de presentar una CVF $<$ 70% y un 90,2% de presentar actividad clínica mediante la escala EUSTAR.

Todos los pacientes que presentaron valores superiores en los marcadores inflamatorios a las cifras expuestas tuvieron una PAPS $\geq$ 40 mmHg y una disminución de la CVF mayor al 10%.

Respecto a la L-, estos puntos de corte conllevaron una probabilidad 1,53 veces mayor de presentar una IT $<$ 3m/s, 1,56 veces de presentar PAPS menor a 40 mmHg, 1,22 de tener DLCO $\geq$ 60%, 1,14 veces de no presentar una disminución de DLCO $<$ 10%, 1,39 veces de no presentar una CVF $\geq$ 70%, 1,25 veces de no presentar una disminución de la CVF $\geq$ 10% y 1,09 veces de no mostrar actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR. Por tanto, el riesgo de no tener

alteradas estas pruebas fue del 53%, 56%, 22%, 14%, 39%, 25% y 9%, respectivamente.

### Estudio de seguimiento durante 24 meses

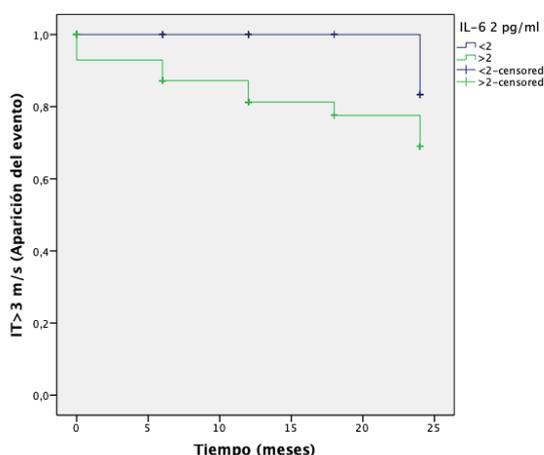
Dados los resultados obtenidos en el apartado de validez de los marcadores inflamatorios, para el estudio longitudinal se valoraron los niveles de IL-6 mayores a 2 pg/ml así como las combinaciones de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml y PCR $\geq$ 1 mg/dl y de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml asociada a PCR $\geq$ 1,5 mg/dl y IL-6 de 2 pg/ml, VSG 40 mm/h y PCR 1 mg/dl y de IL-6 de 2 pg/ml, VSG 40 mm/h y PCR 1,5 mg/dl. Se desestimó el uso de otras combinaciones, dado que no presentaban diferencias relevantes con las seleccionadas.

Para todos los grupos mencionados se analizaron los valores representativos ecocardiográficos (IT y PAPS), los obtenidos en la PFR (DLCO y CVF) y los relacionados con la actividad clínica (EUSTAR).

### Punto de corte de IL-6 de 2 pg/ml

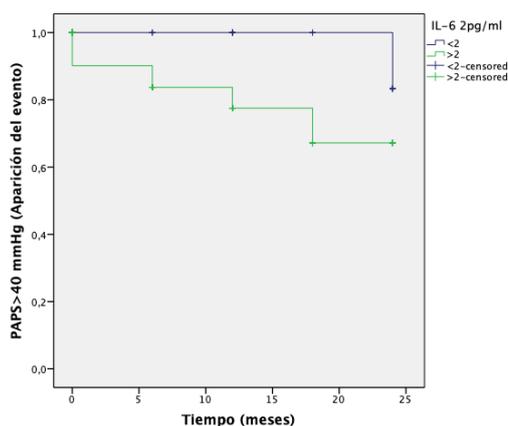
De las 38 pruebas asociadas a niveles de IL-6 menores a 2 pg/ml, 1 (2,6%) se asoció durante el seguimiento IT $\geq$ 3 m/s en un tiempo medio de 24 meses. Sin embargo, de las 99 ecocardiografías asociadas a niveles aumentados (IL-6 $\geq$ 2pg/ml) se relacionaron con una IT $\geq$ 3 m/s 16 (16,2%) en un tiempo medio de 20,4 meses (IC95%:18,6-22,1 meses), siendo la diferencia entre ambos grupos estadísticamente significativa ( $p=0,024$ ) (Figura 4.5).

Figura 4.5. Evolución del evento IT $\geq$ 3 m/s para un punto de corte de IL-6 2 pg/ml.



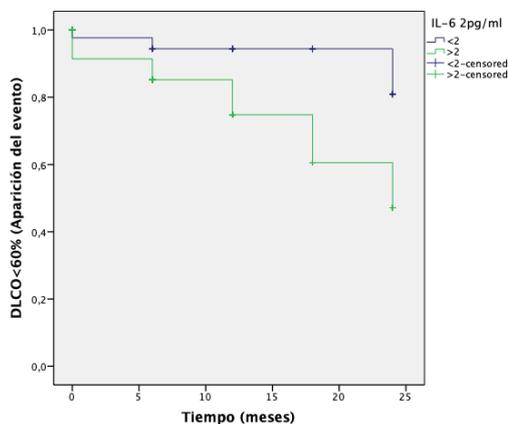
Al analizar la PAPS (Figura 4.6), se objetivó que, de las 23 pruebas con niveles de IL-6 < 2 pg/ml, 1 (4,3%) se asoció con una PAPS ≥ 40 mmHg en un tiempo medio de 24 meses. Por otro lado, de las 61 pruebas en las que los niveles de IL-6 ≥ 2 pg/ml, 13 (21,3%) mostraron PAPS ≥ 40 mmHg con un tiempo medio de 19,1 meses (IC95%: 16,8-21,4 meses), resultando la diferencia en el tiempo de aparición estadísticamente significativa (p=0,049).

Figura 4.6 Evolución de PAPS ≥ 40 mmHG en la combinación de IL-6 ≥ 2 pg/ml.



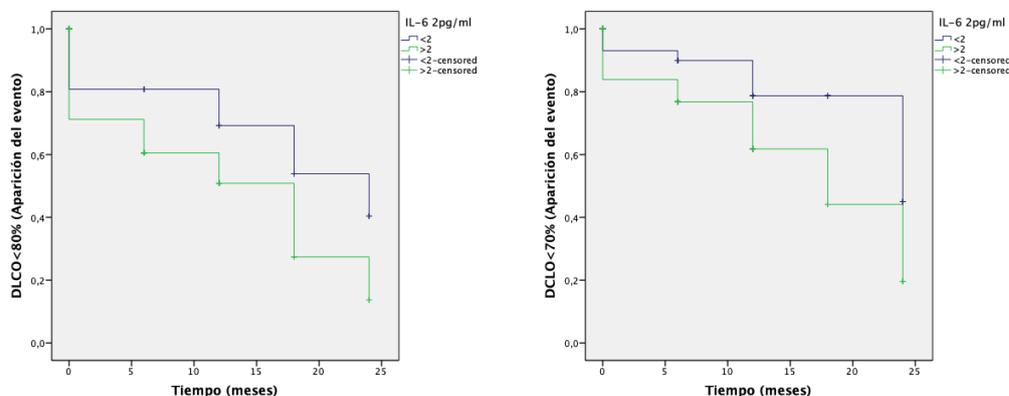
En referencia a la afectación de la PFR (Figura 4.7) medida mediante la variación de la DLCO, se objetivó que, de las 43 pruebas asociadas a niveles de IL-6 < 2 pg/ml, en 3 (7%) se objetivaron niveles menores de 60% en un tiempo medio de 22,9 meses (IC95%: 21-24,7). De las 93 pruebas funcionales asociadas a niveles de IL-6 ≥ 2 pg/ml, 23 (24,7%) se asociaron con niveles de DLCO < 60% en un tiempo medio de 18,7 meses (IC95%: 16,8-20,7 meses), y un tiempo mediano de 24 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa (p < 0,006).

Figura 4.7. Evolución de DLCO < 60% en la combinación de IL-6 ≥ 2 pg/ml.



Dado que los niveles de DLCO < 60% se pueden traducir en la práctica clínica en una afectación severa, se decidió subdividir la muestra para valores de DLCO < 80% y DLCO < 70% obteniendo los siguientes resultados.

Figuras 4.8. Evolución de DLCO < 80% (izquierda) y DLCO < 70% (derecha) en la combinación de IL-6  $\geq 2$  pg/ml.



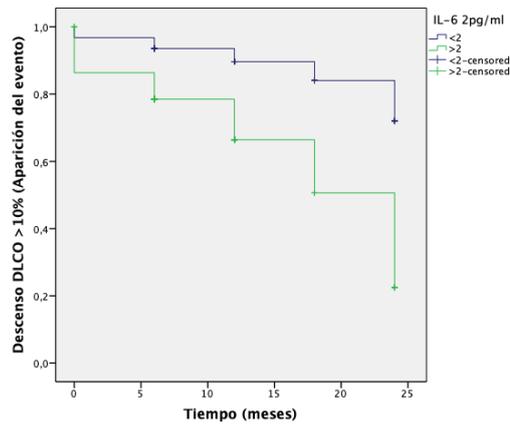
Al comparar la DLCO en el nivel de 80% (Figura 4.8. izquierda) se obtuvo que, de las 26 pruebas complementarias con niveles de IL-6 inferior al establecido, 10 (38,5%) se asociaron con niveles de DLCO < 80% en un tiempo medio de 17,1 meses (IC95%: 13,1-21,0 meses). De las 66 pruebas asociadas a marcadores inflamatorios por encima del umbral establecido, 37 (56,1%) se asociaron con DLCO disminuida en un tiempo medio de 12,6 meses (IC95%: 10,1-15,1 meses) con diferencias significativas entre los grupos ( $p=0,049$ ).

De igual manera, al seleccionar el nivel de DLCO del 70% (Figura 4.8. derecha), se vio que de las 43 pruebas asociadas a niveles de IL-6 por debajo de 2 pg/ml, 10 (23,3%) se asociaron a un descenso de la DLCO en un tiempo medio de 20,4 meses (IC95%: 17,9-23 meses). Entre las 93 pruebas funcionales respiratorias con IL-6 por encima del corte establecido, 39 (41,9%) se asociaron con un descenso de DLCO por debajo del 70% en un plazo medio de 16 meses (IC95%: 13,9-18,1 meses) objetivando diferencias significativas entre ambos grupos ( $p=0,009$ ).

Al analizar el descenso de más del 10% de la DLCO durante el seguimiento (figura 4.9), los resultados mostraron que, de las 31 pruebas asociadas a niveles de marcadores inflamatorios inferiores a los establecido, en 5 (16,1%) se observó un descenso de DLCO mayor al 10% en un tiempo medio de 21,8 meses

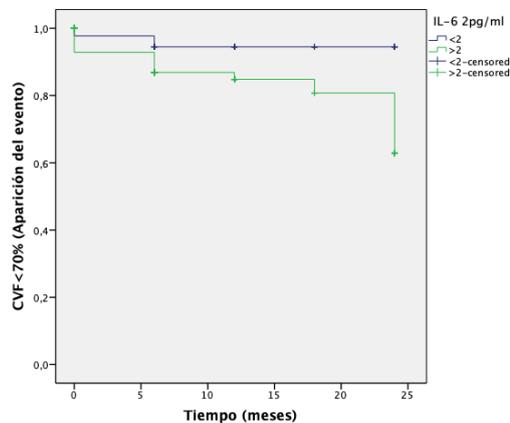
(IC95%:19,5-24,2 meses). Y de las 66 con marcadores inflamatorios por encima del umbral establecido, 30 (45,5%) se asociaron a DLCO disminuida en un tiempo medio de 16,9 meses (IC95%: 14,6-19,2 meses), con diferencias significativas entre los grupos ( $p=0,002$ ).

Figura 4.9. Evolución en el descenso de DLCO mayor al 10% en la IL-6 con punto de corte de 2 pg/ml.



Se analizó la capacidad vital forzada (Figura 4.10) donde se objetivó que, de las 44 PFR que no se asociaban a niveles aumentados de IL-6, en 2 (4,5%) se observaron niveles menores de 70% en un tiempo medio de 22,9 meses (IC95%: 21,3-24,4 meses). De las 98 pruebas con niveles aumentados de IL-6, 15 (15,3%) se asociaron con un descenso de la CVF < 70% en un tiempo medio de 20,7 meses (IC95%: 19,0-22,4 meses), siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p<0,047$ ).

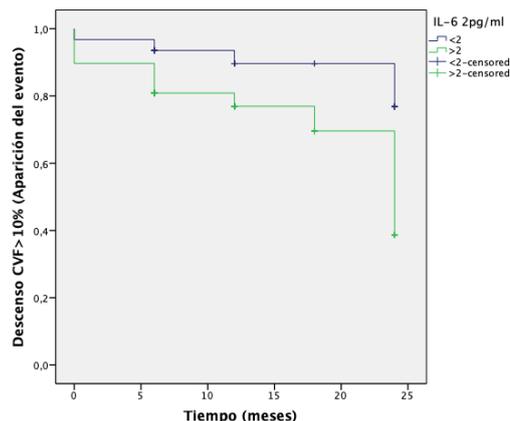
Figura 4.10. Evolución acumulada respecto a la presencia de CVF < 70% en niveles de IL-6 de 2 pg/ml.



Al analizar el descenso mayor al 10% de la CVF (figura 4.11), de las 31 pruebas en las que se detectó niveles de IL-6 < 2 pg/ml, 4 (12,9%) se asociaron a un

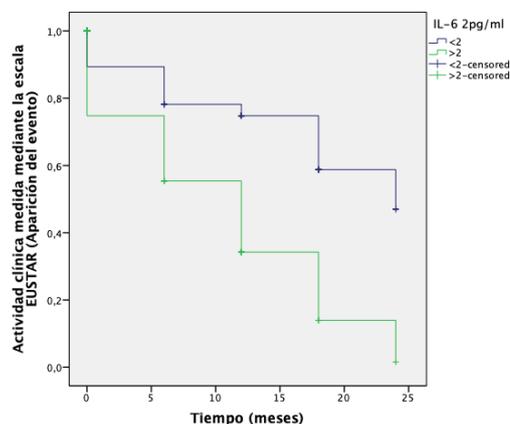
descenso  $\geq 10\%$  en un tiempo medio de 22,2 meses (IC95%: 19,9-24,5 meses). De las 68 con niveles de IL-6 por encima de 2 pg/ml, 21 (30,9%) se asociaron con un descenso de la CVF mayor al 10% en un tiempo medio de 19,0 meses (IC95%:16,9-21,2 meses), siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,028$ ).

Figura 4.11. Evolución respecto a la disminución mayor al 10% de la CVF en el punto de corte de IL-6 de 2pg/ml.



Al analizar la aparición de actividad clínica, medida mediante la escala de actividad de la EUSTAR (Figura 4.12), se obtuvo que, de las 47 escalas que se asociaban a niveles aumentados de IL-6, 14 (29,8%) desarrollaron actividad clínica en un tiempo medio de 18,1 meses (IC05%: 15,3-20,9 meses) y un tiempo mediano de 24 meses. De las 119 escalas con niveles aumentados, 96 (80,7%) se relacionaron con actividad clínica en un tiempo medio de 10,7 meses (IC95%: 9,1-12,3) y un tiempo mediano de 12 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ).

Figura 4.12. Evolución respecto a la actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR para niveles de IL-6 de 2 pg/ml.



El conjunto de los resultados obtenidos se puede visualizar de forma global en la tabla 4.35.

Tabla 4.35. Porcentaje de pacientes afectados de cada una de las variables en función de los niveles de IL-6 durante el seguimiento y tiempo medio hasta el evento.

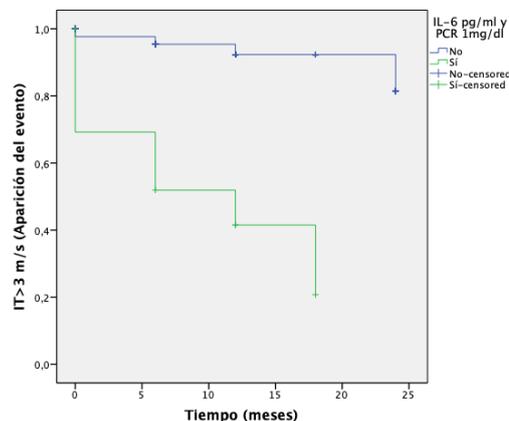
IL-6 (PG/ML)	<2 pg/ml	Tiempo medio	>2 pg/ml	Tiempo medio
IT ≥ 3 m/s	2,6%	24 meses	16,2%	20,4 meses
PAPS ≥ 40 mmHg	4,3%	24 meses	21,3%	19,1 meses
DLCO<80%	38,5%	17,1 meses	56,1%	12,6 meses
DLCO<70%	23,3%	20,4 meses	41,9%	16 meses
DLCO< 60%	7%	22,9 meses	24,7%	18,7 meses
Disminución DLCO 10%	16,1%	21,8 meses	45,5%	16,9 meses
CVF<70%	4,5%	22,9 meses	15,3%	20,7 meses
Disminución CVF 10%	12,9%	22,2 meses	30,9%	19 meses
EUSTAR	29,8%	18,1 meses	80,7%	10,7 meses

IT: velocidad máxima de regurgitación de la válvula tricúspide. PAPS: Presión arterial pulmonar sistólica. DLCO: difusión monóxido de carbono. CVF: Capacidad vital forzada. EUSTAR: Escala de actividad EUSTAR

### Punto de corte IL-6 de 2 pg/ml y PCR 1 mg/dl.

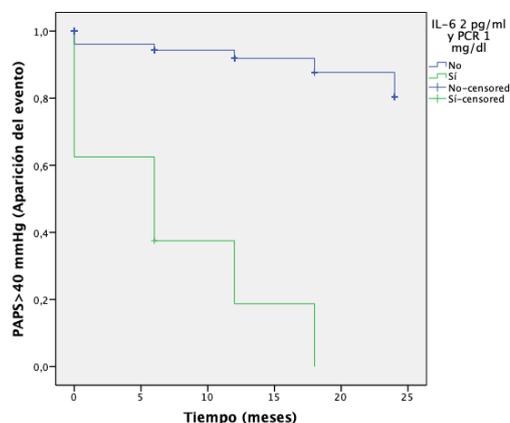
De las 128 ecocardiografías asociadas a niveles de IL-6 menores a 2 pg/ml y PCR inferior a 1 mg/dl, en 9 (7%) se visualizó durante el seguimiento IT≥3 m/s en un tiempo medio de 23 meses (IC95%: 21,6-23,7 meses). Sin embargo, de las 13 con niveles aumentados (IL-6≥2pg/ml y PCR≥1 mg/dl), 8 (61,5%) se asociaron con una IT≥3 m/s en un tiempo medio de aparición de 9,8 meses (IC95%: 5,1-14,4 meses) y un tiempo mediano de 12 meses, siendo la diferencia entre ambos grupos estadísticamente significativa (p<0,001) (Figura 4.13).

Figura 4.13. Evolución del evento IT≥3 m/s para un punto de corte de IL-6 2 pg/ml y PCR 1 mg/dl.



Al analizar la PAPS (Figura 4.14), se objetivó que, de las 77 pruebas con niveles de IL-6 < 2 pg/ml y PCR < 1 mg/dl, 7 (9,1%) se asociaron a una PAPS  $\geq$  40 mmHg en un tiempo medio de 22,2 meses (IC95%: 20,7-23,7 meses). Por otro lado, de las 8 ecocardiografías con niveles de IL-6  $\geq$  2 pg/ml y PCR  $\geq$  1 mg/dl se visualizó una PAPS elevada en 7 (87,5%) en un tiempo medio de 7,1 meses (IC95%: 2,6-12,3 meses), y un tiempo mediano de 6 meses, resultando una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ).

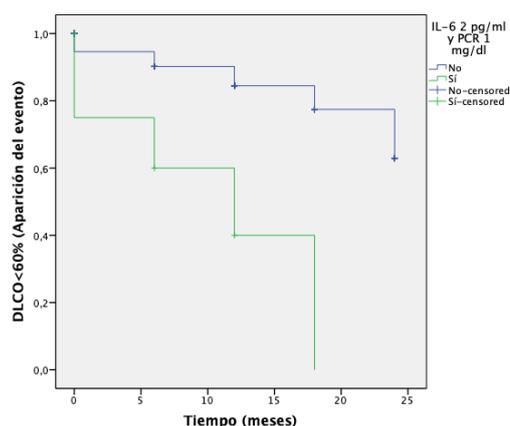
Figura 4.14 Evolución de PAPS  $\geq$  40 mmHg en la combinación de IL-6  $\geq$  2 pg/ml y PCR  $\geq$  1 mg/dl.



En referencia a la afectación de la PFR (Figura 4.15) medida mediante la variación de la DLCO, se objetivó que, de las 130 pruebas con niveles de IL-6 < 2 pg/ml y PCR < 1 mg/dl, 21 (16,2%) se asociaron durante el seguimiento niveles menores de 60% en un tiempo medio de 21 meses (IC95%: 19,4-22,2 meses). De las 8 pruebas asociadas a niveles de IL-6  $\geq$  2 pg/ml y PCR  $\geq$  1 mg/dl, 5 (62,5%) se objetivó una DLCO < 60% en un tiempo medio de 10,5 meses (IC95%: 4,6-16,4 meses), y un tiempo mediano de 12 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ).

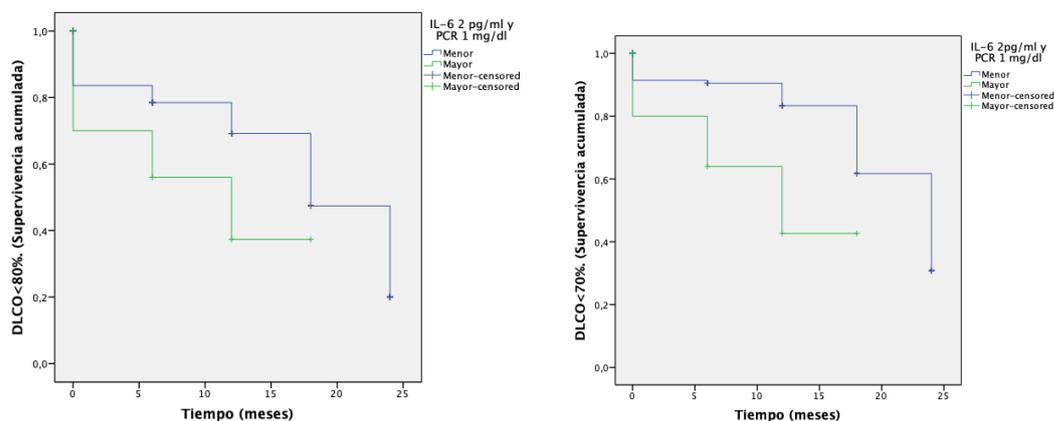
## Estudio de marcadores inflamatorios asociados a Esclerodermia

Figura 4.15. Evolución de DLCO<60% en la combinación de IL-6≥2pg/ml y PCR≥1 mg/dl.



Dado que los niveles de DLCO<60% se pueden traducir en la práctica clínica en una afectación severa, se decidió subdividir la muestra para valores de DLCO<80% y DLCO<70% obteniendo los siguientes resultados.

Figuras 4.16. Evolución de DLCO<80% (izquierda) y DLCO<70% (derecha) en la combinación de IL-6≥2 pg/ml y PCR≥1 mg/dl.



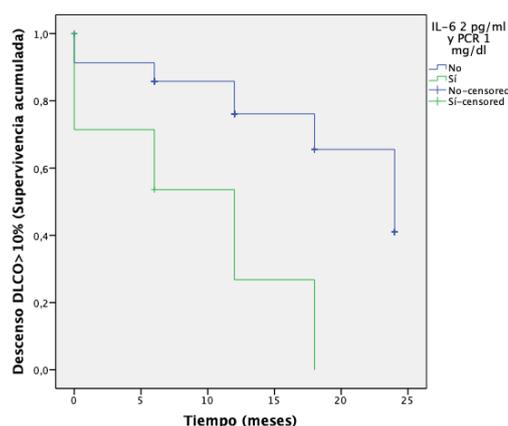
Al comparar la DLCO en el nivel de 80% (Figura 4.16. izquierda) se obtuvo que, de las 128 pruebas asociadas a niveles de marcadores inflamatorios inferiores a los establecidos, 68 (53,1%) se asociaron con DLCO<80% en un tiempo medio de 16,7 meses (IC95%: 15,1-18,3 meses). De las 10 asociadas a marcadores inflamatorios por encima del umbral establecido, en 5 (50%) se visualizó una DLCO disminuida en un tiempo medio de 9,8 meses (IC95%: 4,8-14,8 meses) sin presentar diferencias significativas entre los grupos ( $p=0,131$ ).

De igual manera, al seleccionar el nivel de DLCO del 70% (Figura 4.16. derecha), se vio que de las 128 pruebas asociadas a niveles de IL-6 y PCR inferiores a los establecidos, 45 (35,2%) se asociaron a un descenso de la DLCO en un tiempo

medio de 19,6 meses (IC95%:18,2-21 meses). Entre las 10 pruebas funcionales con IL-6 y PCR por encima del corte, 4 (40%) se asociaron con descenso de DLCO por debajo del 70% en un plazo medio de 11,2 meses (IC95%: 6,3-16,1 meses) objetivando diferencias significativas entre ambos grupos ( $p= 0,033$ ).

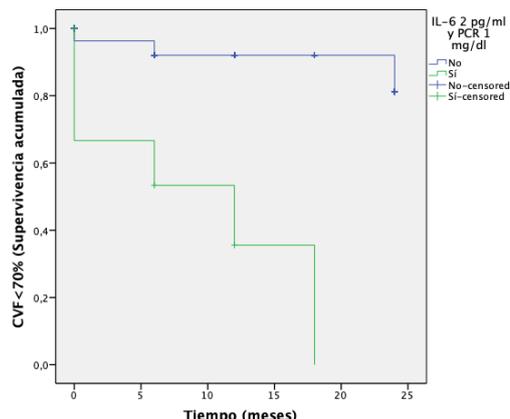
Al evaluar el descenso de más del 10% de la DLCO (figura 4.17) durante el seguimiento, los resultados mostraron que, de las 92 pruebas en las que se observaron niveles de marcadores inflamatorios inferiores a los establecidos, 31 (33,7%) se asociaron con un descenso de DLCO mayor al 10% en un tiempo medio de 19,1 meses (IC95%: 17,4-20,8 meses). De las 7 pruebas asociadas con marcadores inflamatorios por encima del umbral establecido, en 5 (71,4%) se observó una DLCO disminuida en un tiempo medio de 9,1 meses (IC95%: 2,9-15,3 meses), con diferencias significativas entre los grupos ( $p=0,001$ ).

Figura 4.17. Evolución en el descenso de DLCO mayor al 10% en la combinación de IL-6 $\geq$ 2,5pg/ml y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.



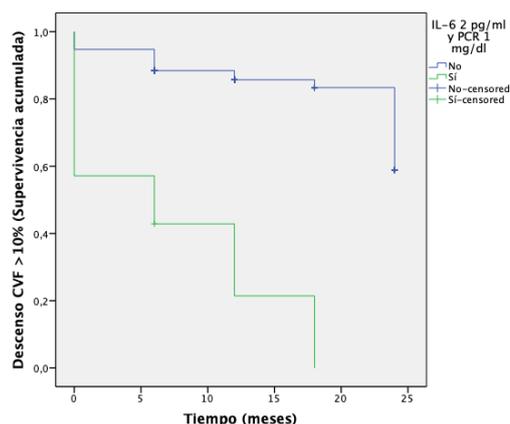
Se analizó la capacidad vital forzada (Figura 4.18) donde se objetivó que, de las 136 pruebas complementarias que no presentaban niveles aumentados de IL-6 y PCR, 11 (8,1%) se asociaron durante el seguimiento con niveles menores de 70% en un tiempo medio de 22,4 meses (IC95%: 21,3-23,4 meses). De las 9 con niveles aumentados (IL-6 $\geq$ 2pg/ml y PCR $\geq$ 1 mg/dl), en 6 (66,7%) se objetivó una CVF<70% en un tiempo medio de 9,3 meses (IC95%: 3,6-15 meses) y un tiempo mediano de 12 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ).

Figura 4.18. Evolución acumulada respecto a la presencia de CVF<70% en la combinación de IL-6≥2pg/ml y PCR≥1 mg/dl.



Al analizar el descenso de más de un 10% de la CVF durante el seguimiento (Figura 4.19), de las 95 pruebas relacionadas con niveles de IL-6<2 pg/ml y PCR<1mg/dl, 19 (20%) se asociaron a un descenso ≥10% en un tiempo medio de 21,1 meses (IC95%: 19,7-22,6 meses). De las 7 relacionadas con IL-6 por encima de 2 pg/ml y PCR mayor a 1 mg/dl, 6 de ellas (85,7%) se asociaron con un descenso de la CVF mayor al 10% en un tiempo medio de 7,3 meses (IC95%:1,3-13,3 meses) y un tiempo mediano de 6 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa (p<0,001).

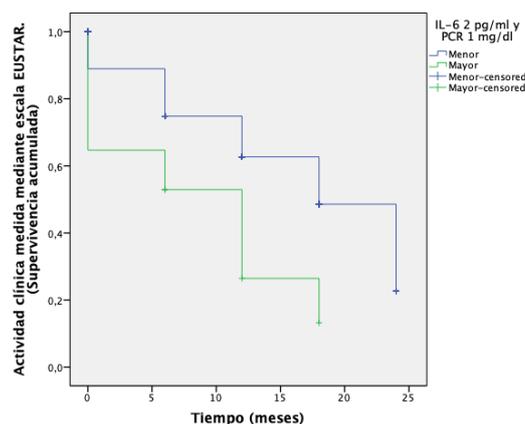
Figura 4.19. Evolución respecto a la disminución mayor al 10% de la CVF en la combinación de IL-6≥2pg/ml y PCR≥1 mg/dl.



Al analizar la aparición de actividad clínica, medida mediante la escala de actividad de la EUSTAR (Figura 4.20), se obtuvo que, de las 154 escalas asociadas a niveles aumentados de IL-6 y PCR, en 63 (40,9%) se detectó actividad clínica en un tiempo medio de 16,5 meses (15-18,1 meses) y un tiempo mediano de 18 meses. De las 17 escalas relacionadas con niveles aumentados

(IL-6 $\geq$ 2pg/ml y PCR $\geq$ 1 mg/dl), en 12 (70,6%) se objetivó actividad clínica en un tiempo medio de 8,6 meses (4,9-12,4 meses) y un tiempo mediano de 12 meses, siendo las diferencias estadísticamente significativas (p=0,002).

Figura 4.20. Evolución respecto a la actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR en la combinación de IL-6 $\geq$ 2pg/ml y PCR $\geq$ 1 mg/dl.



El conjunto de los resultados obtenidos para niveles de IL-6 de 2 pg/ml asociados a PCR de 1 mg/dl se puede visualizar de forma global en la tabla 4.36.

Tabla 4.36. Porcentaje de pacientes afectados de cada una de las variables en función de los niveles de IL-6 de 2 pg/ml y PCR de 1 mg/dl durante el seguimiento y tiempo medio hasta el evento.

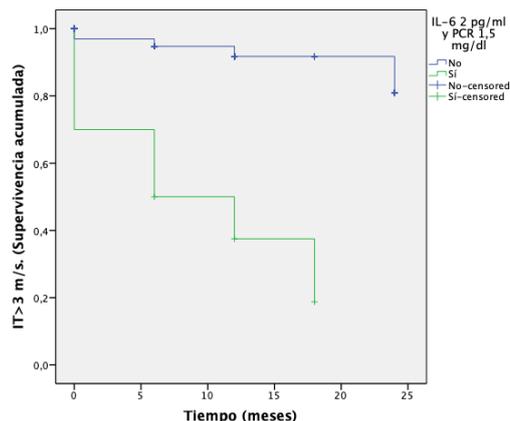
IL-6 (PG/ML)	<2	Tiempo medio	>2	Tiempo medio
PCR (MG/DL)	<1		>1	
IT $\geq$ 3 m/s	7%	23 meses	61,5%	9,8 meses
PAPS $\geq$ 40 mmHg	9,1%	22,2 meses	87,5%	7,1 meses
DLCO<80%	53,1%	16,7 meses	50%	9,8 meses
DLCO<70%	35,2%	19,6 meses	40%	11,2 meses
DLCO< 60%	16,2%	21 meses	62,5%	10,5 meses
Disminución DLCO 10%	33,7%	19,1 meses	71,4%	9,1 meses
CVF<70%	8,1%	22,4 meses	66,7%	9,3 meses
Disminución CVF 10%	20%	21,1 meses	85,7%	7,3 meses
EUSTAR	40,9%	16,5 meses	70,6%	8,6 meses

IT: velocidad máxima de regurgitación de la válvula tricuspídea. PAPS: Presión arterial pulmonar sistólica. DLCO: difusión monóxido de carbono. CVF: Capacidad vital forzada. EUSTAR: Escala de actividad EUSTAR.

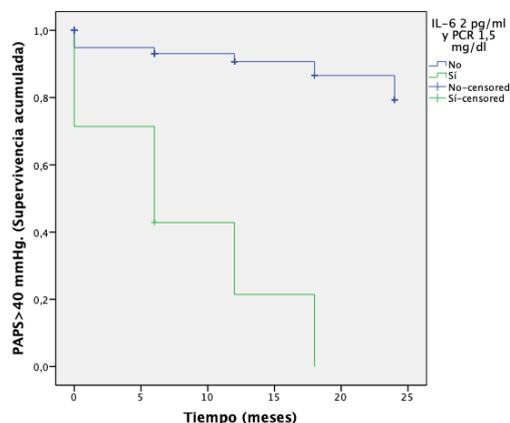
### Punto de corte IL-6 de 2 pg/ml y PCR 1,5 mg/dl.

De los 131 ecocardiogramas asociados a niveles de IL-6 < 2 pg/ml y PCR < 1,5 mg/dl, 10 (7,6%) se asociaron durante el seguimiento con IT ≥ 3 m/s en un tiempo medio de 22,5 meses (IC95%: 21,5-23,6 meses). Sin embargo, de las 10 pruebas relacionadas con niveles de IL-6 ≥ 2 pg/ml y PCR ≥ 1,5 mg/dl se visualizó IT ≥ 3 m/s en 7 (70%) en un tiempo medio de 9,5 meses (IC95%: 4,3-14,6 meses) y un tiempo mediano de 6 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa (p < 0,001) (Figura 4.21).

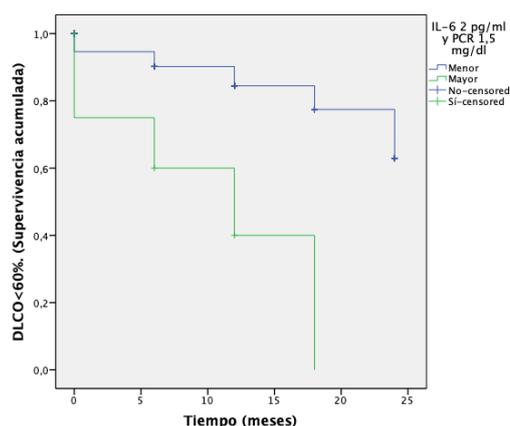
Figura 4.21. Evolución respecto a la IT ≥ 3 m/s en la combinación de IL-6 ≥ 2 pg/ml y PCR ≥ 1,5 mg/dl.



Respecto al parámetro ecocardiográfico PAPS (Figura 4.22) de las 78 pruebas asociadas a niveles de IL-6 < 2 pg/ml y PCR < 1,5 mg/dl, en 8 (10,3%) se visualizaron durante el seguimiento niveles mayores a 40 mmHg en un tiempo medio de 22 meses (IC 95%: 20,3-23,5 meses). Se encontraron 7 pruebas con niveles de IL-6 ≥ 2 pg/ml y PCR ≥ 1,5 mg/dl, de las que 6 (85,7%) se relacionaron con niveles de PAPS ≥ 40 mmHg en un tiempo medio de 8,1 meses (IC 95%: 2,6-13,7 meses) y un tiempo mediano de 6 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa (p < 0,001).

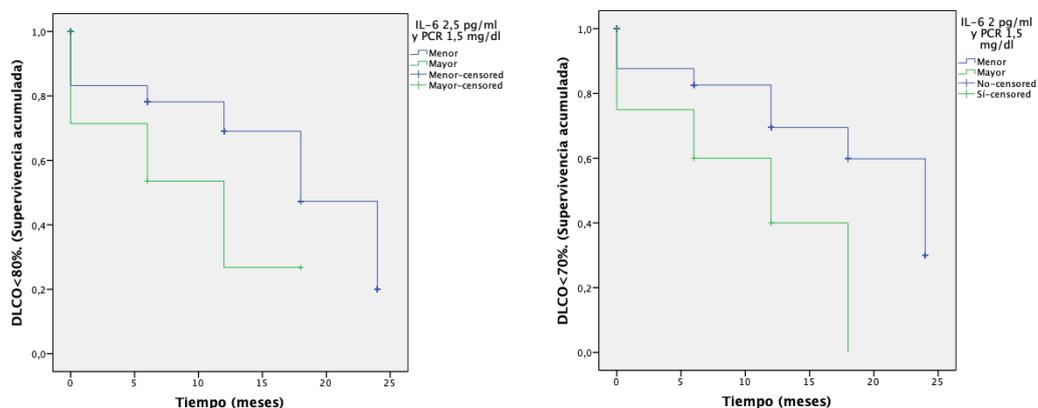
Figura 4.22. Evolución respecto a la PAPS en la combinación de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.

En referencia a la afectación de la DLCO, se objetivó que, de las 130 pruebas funcionales relacionadas con niveles de IL-6 $<$ 2 pg/ml y PCR $<$ 1,5 mg/dl, 21 (16,2%) se asociaron durante el seguimiento con niveles menores de 60% de la DLCO en un tiempo medio de 21 meses (IC95%: 19,4-22,2 meses). De las 8 pruebas relacionadas con niveles por encima del punto de corte, 5 (62,5%) se asociaron con niveles de DLCO $<$ 60% en un tiempo medio de 10,5 meses (IC95%: 4,6-16,4 meses) y un tiempo mediano de 12 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ).

Figura 4.23. Evolución respecto a la DLCO $<$ 60% en la combinación de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.

De igual manera que lo realizado para otros puntos de corte analizados de la IL-6 y la PCR se decidió analizar la muestra para valores de DLCO $<$ 80% y DLCO $<$ 70% (Figura 4.24) obteniendo los siguientes resultados.

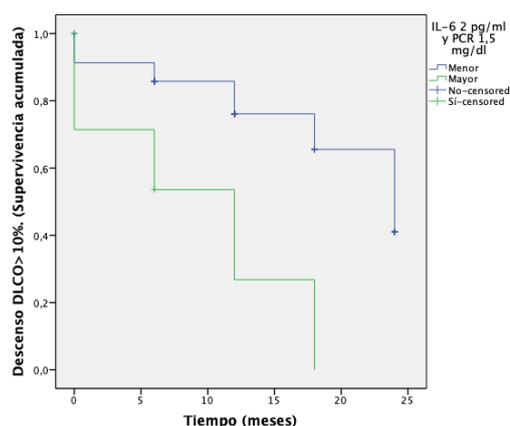
Figura 4.24. Evolución respecto a la DLCO $\geq$ 80% (izquierda) y DLCO<70% (derecha) con la combinación de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.



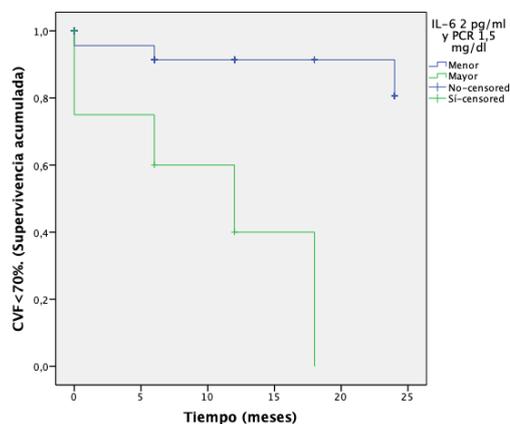
Al comparar la DLCO en el nivel de 80% se obtuvo que, de las 131 pruebas relacionadas con niveles de marcadores inflamatorios inferiores a los establecidos, 69 (52,7%) se asociaron con DLCO<80% en un tiempo medio de 16,7 meses (IC 95%: 15-18,3 meses). De las 7 relacionadas con marcadores inflamatorios por encima del umbral establecido, 4 (57,1%) se asociaron a DLCO disminuida en un tiempo medio de 9,1 meses (IC 95%: 3,6-14,6 meses), sin presentar diferencias significativas entre los grupos ( $p= 0,128$ ).

De igual manera, al seleccionar el nivel de DLCO del 70%, se vio que de las 131 pruebas funcionales analizadas relacionadas con niveles de IL-6 y PCR por debajo de lo establecido, en 45 (34,4%) se objetivó un descenso de la DLCO en un tiempo medio de 19,7 meses (IC95%:18,3-21 meses). Entre las 7 pruebas asociadas a IL-6 y PCR por encima del corte establecido, 4 (57,1%) se relacionaron descenso de DLCO por debajo del 70% en un plazo medio de 9,1 meses (IC95%: 3,6-14,6 meses), objetivándose diferencias significativas entre ambos grupos ( $p= 0,005$ ).

Al analizar el descenso de más del 10% de la DLCO durante el seguimiento, los resultados mostraron que, de las 92 exploraciones con niveles de marcadores inflamatorios inferiores a los establecidos, 31 (33,7%) presentaron un descenso de DLCO mayor al 10% en un tiempo medio de 19,1 meses (IC95%: 17,4-20,8 meses). De las 7 exploraciones asociadas a marcadores inflamatorios por encima del umbral establecido, 5 (71,4%) presentaron DLCO disminuida en un tiempo medio de 9,1 meses (IC95%: 2,9-15,3 meses), con diferencias significativas entre los grupos ( $p=0,001$ ).

Figura 4.25. Evolución en el descenso de DLCO mayor al 10% en la combinación de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.

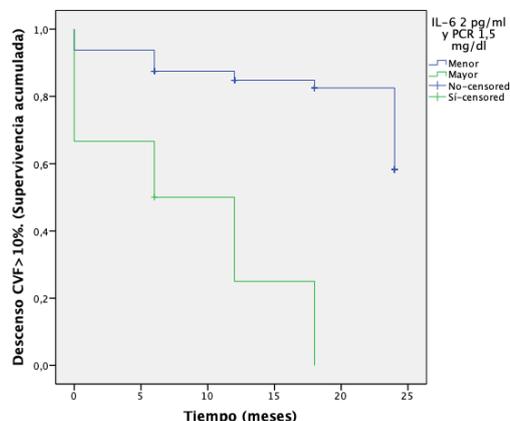
Se analizó la CVF (Figura 4.26) donde se objetivó que de las 137 exploraciones que no se asociaron a niveles aumentados de IL-6 y PCR, en 12 (8,8%) a lo largo del seguimiento su CVF descendió a menos del 70% en un tiempo medio de 22,2 meses (IC95%: 21,1-23,3 meses). Las 8 exploraciones con niveles aumentados (IL-6 $\geq$ 2pg/ml y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl) presentaron CVF<70% en 5 de ellas (62,5%) con un tiempo medio de 10,5 meses (IC95%: 4,6-16,4 meses) y un tiempo mediano de 12 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ).

Figura 4.26. Evolución respecto a la presencia de CVF<70% en la combinación de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.

Al analizar el descenso de más de un 10% de la CVF durante el seguimiento (Figura 4.27) se observó que de las 96 exploraciones, 20 (20,8%) se asociaron a un descenso  $\geq$ 10% de la CVF en un tiempo medio de 20,9 meses (IC 95%: 19,4-22,4 meses). De las 6 pruebas asociadas a niveles de IL-6 por encima de 2 pg/ml y PCR mayor a 1,5 mg/dl, en 5 (83,3%) se visualizó un descenso de la CVF mayor al 10% en un tiempo medio de 8,5 meses (IC 95%: 2-15 meses) y

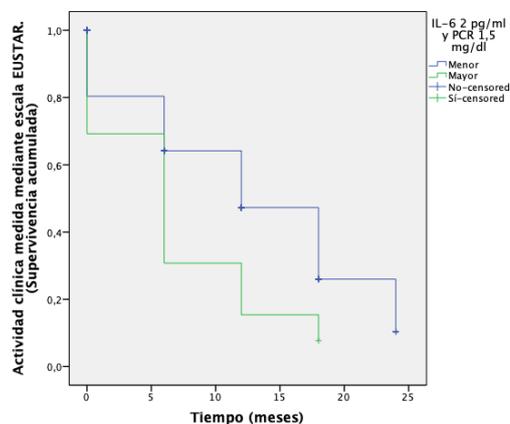
un tiempo mediano de 6 meses, siendo la diferencia en el tiempo de aparición estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ).

Figura 4.27. Evolución respecto al descenso mayor a un 10% en la combinación de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.



Por último, se analizó la aparición de actividad clínica, medida mediante la escala de actividad de la EUSTAR (Figura 4.28), mostrando que, de las 158 escalas que no se asociaron a niveles aumentados de IL-6 y PCR, en 66 (41,2%) se detectó durante el seguimiento actividad clínica en un tiempo medio de 16,3 meses (IC 95%: 14,7-17,8 meses) y un tiempo mediano de 12 meses. De las 13 relacionadas con niveles aumentados (IL-6 $\geq$ 2 pg/ml y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl), se detectó actividad clínica en 9 (69,2%) en un tiempo medio de 9 meses (IC 95%: 4,8-13,2 meses) y un tiempo mediano de 18 meses, siendo la diferencia en el tiempo de aparición estadísticamente significativa ( $p = 0,014$ ).

Figura 4.28. Evolución respecto a la actividad clínica medida mediante escala EUSTAR en la combinación de IL-6 $\geq$ 2 pg/ml y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.



El conjunto de los resultados obtenidos para niveles de IL-6 de 2 pg/ml asociados a PCR de 1,5 mg/dl se puede visualizar de forma global en la tabla 4.37.

Tabla 4.37. Porcentaje de pacientes afectados de cada una de las variables en función de los niveles de IL-6 de 2 pg/ml y PCR de 1,5 mg/dl durante el seguimiento y tiempo medio hasta el evento.

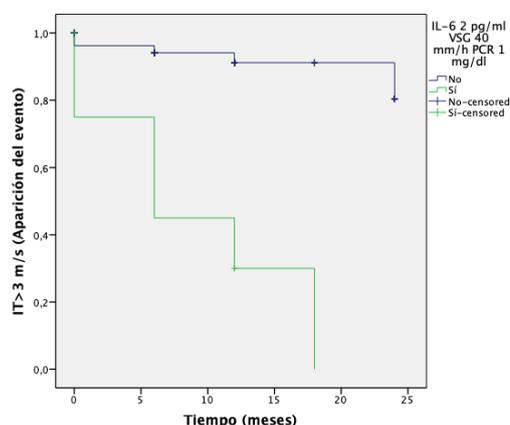
IL-6 (PG/ML)	<2	Tiempo medio	>2	Tiempo medio
PCR (MG/DL)	<1,5		>1,5	
IT $\geq$ 3 m/s	7,6%	22,5 meses	70%	9,5 meses
PAPS $\geq$ 40 mmHg	10,3%	22 meses	85,7%	8,1 meses
DLCO<80%	52,7%	16,7 meses	57,1%	9,1 meses
DLCO<70%	34,4%	19,7 meses	57,1%	9,1 meses
DLCO< 60%	16,2%	21 meses	62,5%	10,5 meses
Disminución DLCO 10%	33,7%	19,1 meses	71,4%	9,1 meses
CVF<70%	8,8%	22,2 meses	62,5%	10,5 meses
Disminución CVF 10%	20,8%	20,9 meses	83,3%	8,5 meses
EUSTAR	41,2%	16,3 meses	69,2%	9 meses

IT: velocidad máxima de regurgitación de la válvula tricúspidea. PAPS: Presión arterial pulmonar sistólica. DLCO: difusión monóxido de carbono. CVF: Capacidad vital forzada. EUSTAR: Escala de actividad EUSTAR

### Punto de corte IL-6 de 2 pg/ml, VSG 40 mm/h y PCR 1 mg/dl.

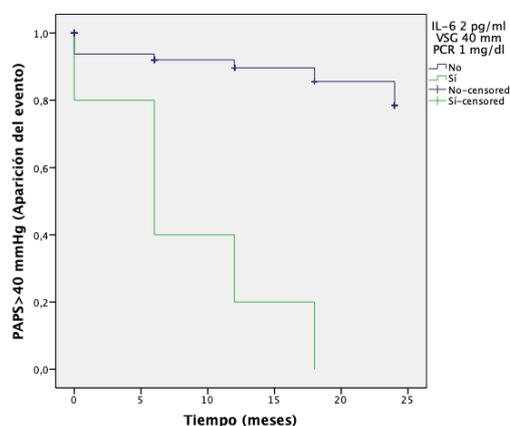
De los 133 ecocardiogramas asociados a niveles de IL-6 menores a 2 pg/ml, VSG<40 mm/h y PCR inferior a 1 mg/dl, en 11 (8,3%) se detectó durante el seguimiento IT $\geq$ 3 m/s en un tiempo medio de 22,4 meses (IC95%: 21,3-23,4 meses). Sin embargo, de las 8 pruebas en las que se encontraron niveles aumentados, 6 (75,0%) se asociaron a una IT $\geq$ 3 m/s en un tiempo medio de aparición de 9 meses (IC95%: 3,5-14,5 meses) y un tiempo mediano de 6 meses (IC95%: 0-13 meses), siendo la diferencia entre ambos grupos estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ) (Figura 4.29).

Figura 4.29. Evolución del evento IT $\geq$ 3 m/s para un punto de corte de IL-6 2 pg/ml, PCR 1 mg/dl y VSG $\geq$ 40 mm/h



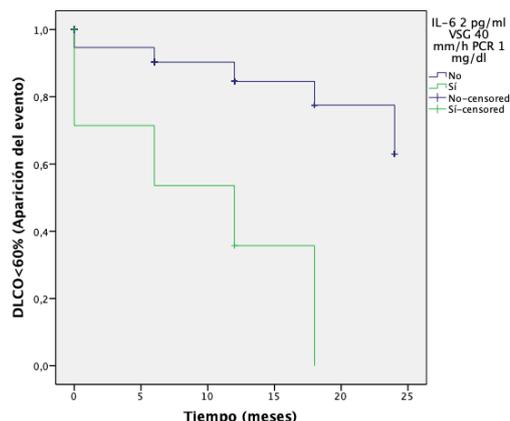
Al analizar la PAPS (Figura 4.30), se objetivó que, de las 80 ecocardiografías asociadas a niveles de IL-6<2 pg/ml, VSG<40 mm y PCR<1 mg/dl, 9 (11,2%) se relacionaron con una PAPS≥40 mmHg en un tiempo medio de 21,7 meses (IC95%: 20,0-23,3 meses). Por otro lado, en las 5 pruebas asociadas a niveles superiores de estos marcadores la PAPS fue mayor de 40 mmHg en un tiempo medio de 8,4 meses (IC95%: 2,4-14,4 meses), y un tiempo mediano de 6 meses (IC95%:0-12,4 meses), resultando una diferencia estadísticamente significativa (p<0,001).

Figura 4.30. Evolución de PAPS≥40 mmHG en la combinación de IL-6≥2pg/ml, VSG≥40 mm/h y PCR≥1 mg/dl.



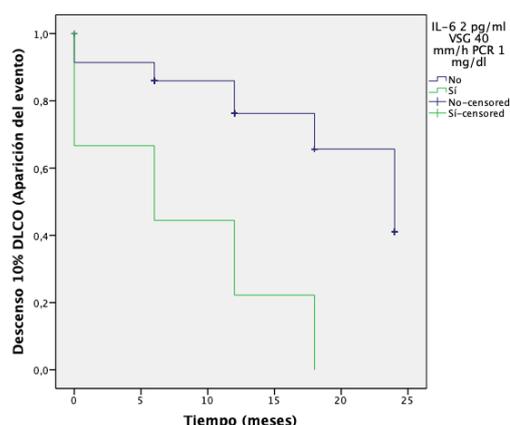
En referencia a la afectación de la PFR (Figura 4.31) medida mediante la variación de la DLCO, se objetivó que, de las 131 pruebas funcionales asociadas a niveles de IL-6<2 pg/ml, VSG<40 mm/h y PCR<1 mg/dl, en 21 (16,0%) se detectaron niveles de DLCO disminuidos por debajo del 60% en un tiempo medio de 21 meses (IC95%: 19,4-22,2 meses). De las 7 exploraciones con niveles aumentados, 5 (71,4%) se asociaron con disminución de DLCO<60% en un tiempo medio de 9,6 meses (IC95%: 3,3-16,0 meses), y un tiempo mediano de 12 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa (p<0,001). Se analizaron estos niveles de marcadores inflamatorios con valores de DLCO por debajo del 80% y del 70% sin encontrarse diferencias significativas.

Figura 4.31. Evolución de DLCO&lt;60% en la combinación de IL-6≥2pg/ml, VSG≥40 mm/h y PCR≥1,5 mg/dl.



Al analizar el descenso de más del 10% de la DLCO durante el seguimiento, los resultados mostraron que, de las 93 exploraciones funcionales asociadas con niveles de marcadores inflamatorios inferiores a los establecidos, 31 (33,3%) se relacionaron con un descenso de DLCO mayor al 10% en un tiempo medio de 19,2 meses (IC95%: 17,5-20,9 meses). De las 6 pruebas relacionadas con marcadores inflamatorios por encima del umbral establecido, 5 (83,3%) se asociaron con un descenso de la DLCO en un tiempo medio de 8 meses (IC95%: 1,5-14,5 meses), y mediano de 6 meses (IC95%: 0-17,8 meses), con diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0,001$ ).

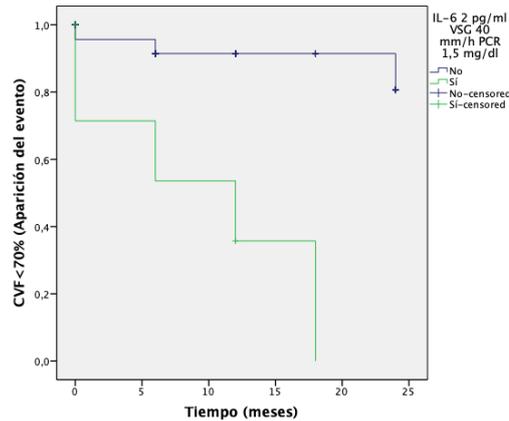
Figura 4.32. Evolución en el descenso de DLCO mayor al 10% en la combinación de IL-6≥2pg/ml, VSG≥40 mm y PCR≥1 mg/dl.



Se analizó la capacidad vital forzada (Figura 4.33) donde se objetivó que, de las 138 exploraciones que no presentaron niveles aumentados de IL-6<2 pg/ml, VSG<40 mm/h y PCR<1 mg/dl, 12 (8,7%) se asociaron durante el seguimiento con CVF descendida por debajo del 70% en un tiempo medio de 22,2 meses

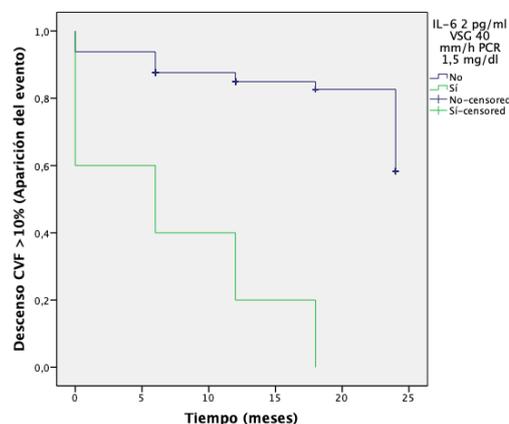
(IC95%: 21,1-23,3 meses). En las 7 pruebas con niveles aumentados de IL-6, VSG y PCR, en 5 (71,4%) la CVF fue menor al 70% en un tiempo medio de 9,6 meses (IC95%: 3,3-16 meses) y un tiempo mediano de 12 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ).

Figura 4.33. Evolución acumulada respecto a la presencia de CVF < 70% en la combinación de IL-6 ≥ 2 pg/ml, VSG ≥ 40 mm/h y PCR ≥ 1 mg/dl.



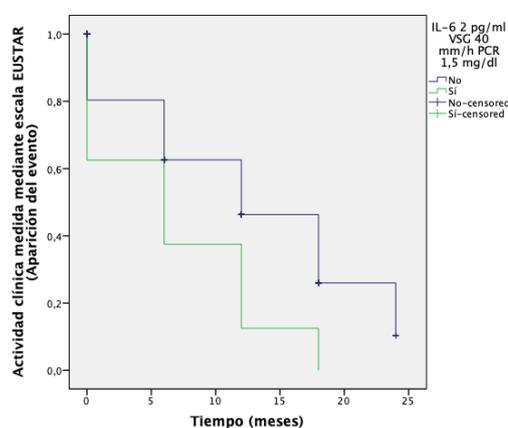
Al analizar de forma adicional el descenso de más de un 10% de la CVF (Figura 3.33), de las 97 pruebas funcionales relacionadas con niveles de IL-6 < 2 pg/ml, VSG < 40 mm/h y PCR < 1 mg/dl, 20 (20,6%) se asociaron a un descenso ≥ 10% en un tiempo medio de 20,9 meses (IC95%: 19,5-22,4 meses). De las 5 pruebas que tuvieron IL-6 por encima de 2 pg/ml, VSG ≥ 40 mm/h y PCR mayor a 1,5 mg/dl, en todas se asoció un descenso de la CVF mayor al 10% en un tiempo medio de 7,2 meses (IC95%: 0,3-14,1 meses) y mediano de 6 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ).

Figura 4.34. Evolución respecto a la disminución mayor al 10% de la CVF en la combinación de IL-6 ≥ 2 pg/ml, VSG ≥ 40 mm/h y PCR ≥ 1,5 mg/dl.



Al analizar la aparición de actividad clínica, medida mediante la escala de actividad de la EUSTAR (Figura 4.35), se obtuvo que, de las 162 escalas que no se relacionaron con niveles aumentados de IL-6, VSG y PCR, 103 (63,6%) se asociaron durante el seguimiento con actividad clínica en un tiempo medio de 13 meses (IC 95%: 11,5-14,5 meses) y un tiempo mediano de 12 meses. Las 9 pruebas asociadas a niveles de marcadores inflamatorios aumentados presentaron actividad clínica en un tiempo medio de 6 meses (IC 95%: 1,6-10,3 meses) y mediano de 6 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,007$ ).

Figura 4.35. Evolución respecto a la actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR en la combinación de IL-6 $\geq$ 2pg/ml, VSG $\geq$ 40 mm/h y PCR $\geq$ 1 mg/dl.



El conjunto de los resultados obtenidos para niveles de IL-6 de 2 pg/ml asociados a PCR de 1 mg/dl se puede visualizar de forma global en la tabla 4.38.

Tabla 4.38. Porcentaje de pacientes afectados de cada una de las variables en función de los niveles de IL-6 de 2 pg/ml, VSG 40 mm/h y PCR de 1 mg/dl durante el seguimiento y tiempo medio hasta el evento.

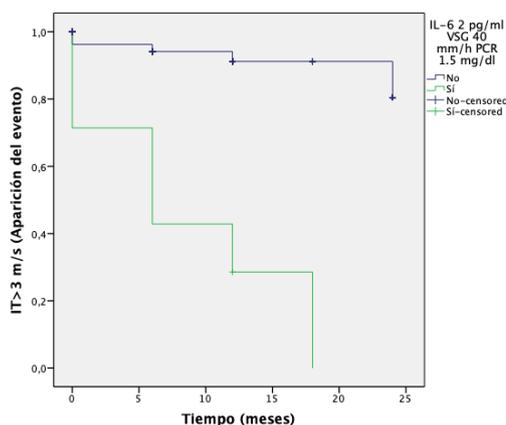
IL-6 (PG/ML)	<2	Tiempo medio	>2	Tiempo medio
PCR (MG/DL)	<1		>1	
VSG (MM/H)	<40		>40	
IT $\geq$ 3 m/s	8,3%	22,4 meses	75%	9 meses
PAPS $\geq$ 40 mmHg	11,2%	21,7 meses	100%	8,4 meses
DLCO < 60%	16%	21 meses	71,4%	9,6 meses
Disminución DLCO 10%	33,3%	19,2 meses	83,3%	8 meses
CVF < 70%	8,7%	22,2 meses	71,4%	9,6 meses
Disminución CVF 10%	10,6%	20,9 meses	100%	7,2 meses
EUSTAR	63,6%	13 meses	100%	6 meses

IT: velocidad máxima de regurgitación de la válvula tricuspídea. PAPS: Presión arterial pulmonar sistólica. DLCO: difusión monóxido de carbono. CVF: Capacidad vital forzada. EUSTAR: Escala de actividad EUSTAR

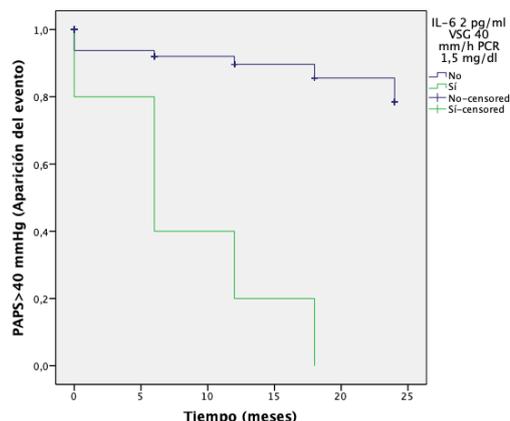
**Punto de corte IL-6 de 2 pg/ml, VSG 40 mm/h y PCR 1,5 mg/dl.**

De los 134 ecocardiogramas asociadas a niveles de IL-6 menores a 2 pg/ml, VSG<40 mm/h y PCR inferior a 1,5 mg/dl, 11 (8,2%) se relacionaron durante el seguimiento con IT $\geq$ 3 m/s en un tiempo medio de 22,4 meses (IC95%: 21,3-23,4 meses). Sin embargo, de las 7 pruebas relacionadas con niveles aumentados de estos marcadores, en 6 (85,7%) se asociaron con una IT $\geq$ 3 m/s en un tiempo medio de 8,6 meses (IC95%: 2,8-14,3 meses) y un tiempo mediano de 6 meses, siendo la diferencia entre ambos grupos estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ) (Figura 4.36).

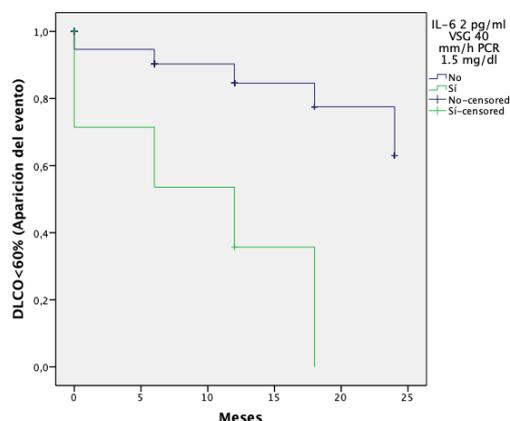
Figura 4.36. Evolución del evento IT $\geq$ 3 m/s para un punto de corte de IL-6 2 pg/ml, VSG 40 mm y PCR 1,5 mg/dl.



Al analizar la PAPS (Figura 4.37), se objetivó que, de las 80 ecocardiografías que asociaban niveles de IL-6<2 pg/ml, VSG<40 mm y PCR<1,5 mg/dl, 9 (11,2%) se relacionaron durante el seguimiento con una PAPS $\geq$ 40 mmHg en un tiempo medio de 21,7 meses (IC95%: 20,0-23,3 meses). Por otro lado, las 5 pruebas asociadas a niveles mayores presentaron PAPS elevada en un tiempo medio hasta su desarrollo de 8,4 meses (IC95%: 2,4-14,4 meses), y un tiempo mediano de 6 meses, resultando una diferencia en el tiempo de aparición estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ).

Figura 4.37 Evolución de PAPS $\geq$ 40 mmHG en la combinación de IL-6 $\geq$ 2pg/ml, VSG $\geq$ 40 mm/h y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.

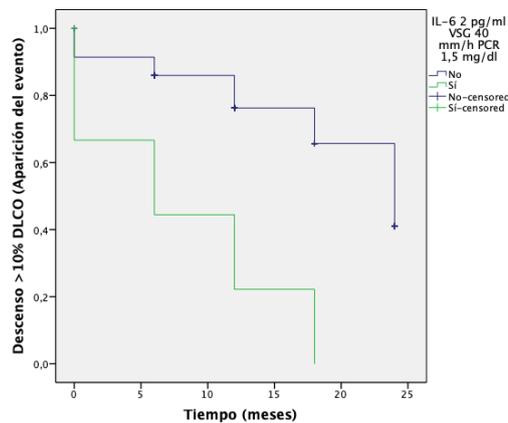
En referencia a la afectación de la PFR (Figura 4.38) medida mediante la variación de la DLCO, se objetivó que, de las 131 exploraciones con niveles de IL-6 $<$ 2 pg/ml, VSG $<$ 40 mm/h y PCR $<$ 1,5 mg/dl, 21 (16,0%) se asociaron durante el seguimiento con niveles menores del 60% en un tiempo medio de 21 meses (IC95%: 19,4-22,2 meses). De las 7 exploraciones asociadas a niveles aumentados, 5 (71,4%) se relacionaron con DLCO $<$ 60% en un tiempo medio de 9,6 meses (IC95%: 3,3-16,0 meses), y un tiempo mediano de 12 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ). Se analizaron estos niveles de marcadores inflamatorios con valores de DLCO por debajo del 80% y del 70% sin encontrarse diferencias significativas.

Figura 4.38. Evolución de DLCO $<$ 60% en la combinación de IL-6 $\geq$ 2pg/ml, VSG $\geq$ 40 mm/h y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.

Se analizó el descenso de más del 10% de la DLCO durante el seguimiento mostrando que, de las 93 exploraciones funcionales asociadas a niveles de marcadores inflamatorios inferiores a los establecidos, 31 (33,3%) presentaron

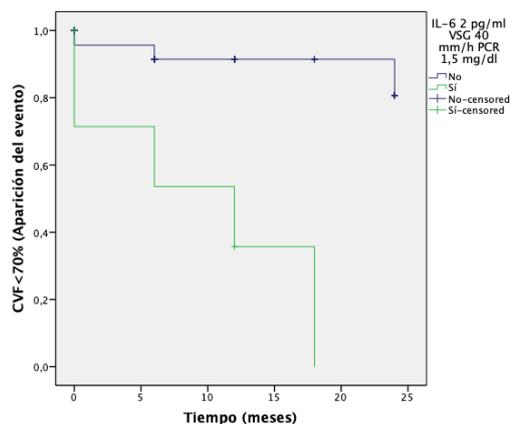
un descenso de DLCO mayor al 10% en un tiempo medio de 19,2 meses (IC95%: 17,5-20,9 meses). De las 7 pruebas con marcadores inflamatorios por encima del umbral establecido, 6 (83,3%) se asociaron con DLCO disminuida en un tiempo medio de 8 meses (IC95%: 1,5-14,5 meses), y mediano de 6 meses, observando diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0,001$ ).

Figura 4.39. Evolución en el descenso de DLCO mayor al 10% en la combinación de IL-6 $\geq$ 2pg/ml, VSG $\geq$ 40 mm y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.



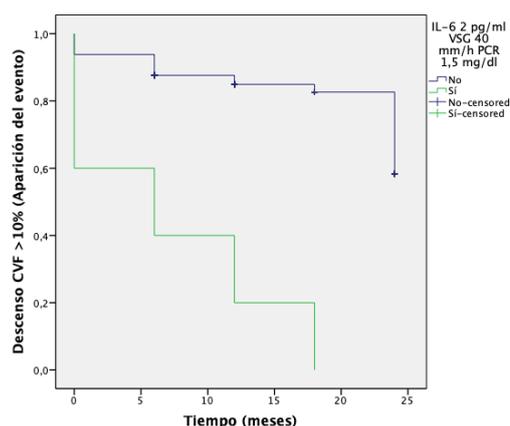
Se analizó la capacidad vital forzada (Figura 4.40) donde se objetivó que, de las 138 pruebas funcionales que no presentaron niveles aumentados de IL-6 y PCR, 12 (8,7%) se relacionaron durante el seguimiento con niveles menores de 70% en un tiempo medio de 22,2 meses (IC95%: 21,1-23,3 meses). De las 7 exploraciones asociadas a niveles aumentados, se relacionaron 5 (71,4%) con un descenso de la CVF en un tiempo medio de 9,6 meses (IC95%: 3,3-16 meses) y un tiempo mediano de 12 meses, siendo la diferencia en el tiempo de aparición estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ).

Figura 4.40. Evolución acumulada respecto a la presencia de CVF<70% en la combinación de IL-6 $\geq$ 2pg/ml, VSG $\geq$ 40 mm/h y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.



Se analizó de forma adicional el descenso de más de un 10% de la CVF durante el seguimiento (Figura 4.41). De las 97 exploraciones que asociaban niveles de IL-6<2 pg/ml, VSG<40 mm/h y PCR<1,5 mg/dl, 20 (20,6%) se relacionaron con un descenso  $\geq$ 10% en un tiempo medio de 20,9 meses (IC95%: 19,5-22,4 meses). Las 5 pruebas con niveles de marcadores inflamatorios elevados presentaron un descenso de la CVF mayor al 10% en un tiempo medio de 7,2 meses (IC95%:0,3-14,1 meses) y un tiempo mediano de 6 meses, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ).

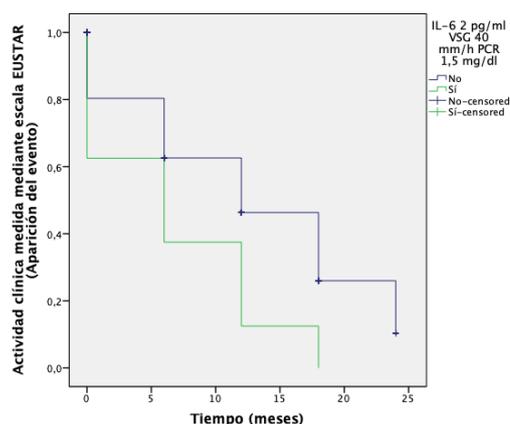
Figura 4.41. Evolución respecto a la disminución mayor al 10% de la CVF en la combinación de IL-6 $\geq$ 2pg/ml, VSG $\geq$ 40 mm/h y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.



Al analizar la aparición de actividad clínica, medida mediante la escala de actividad de la EUSTAR (Figura 4.42), se obtuvo que, de las 163 escalas que no presentaron niveles aumentados de IL-6, VSG y PCR, 104 (63,8%) se relacionaron durante el seguimiento con actividad clínica en un tiempo medio de 12,9 meses (IC 95%: 11,5-14,4 meses) y un tiempo mediano de 18 meses. Las

8 pruebas asociadas a niveles aumentados (IL-6 $\geq$ 2pg/ml, VSG $\geq$ 40 mm/h y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl) presentaron actividad clínica en un tiempo medio de 6,8 meses (IC 95%: 2,1-11,4 meses) y mediano de 6 meses, siendo la diferencia en el tiempo de aparición estadísticamente significativa (p=0,021).

Figura 4.42. Evolución respecto a la actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR en la combinación de IL-6 $\geq$ 2pg/ml, VSG $\geq$ 40 mm/h y PCR $\geq$ 1,5 mg/dl.



El conjunto de los resultados obtenidos para niveles de IL-6 de 2 pg/ml, VSG 40 mm/h y PCR de 1,5 mg/dl se puede visualizar de forma global en la tabla 4.39.

Tabla 4.39. Porcentaje de pacientes afectados de cada una de las variables en función de los niveles de IL-6 de 2 pg/ml, VSG 40 mm/h y PCR de 1,5 mg/dl durante el seguimiento y tiempo medio hasta el evento.

IL-6 (PG/ML)	<2	Tiempo medio	>2	Tiempo medio
PCR (MG/DL)	<1,5		>1,5	
VSG (MM/H)	<40		>40	
<b>IT <math>\geq</math> 3 m/s</b>	8,2%	22,4 meses	85,7%	8,6 meses
<b>PAPS <math>\geq</math> 40 mmHg</b>	11,2%	21,7 meses	100%	8,4 meses
<b>DLCO &lt; 60%</b>	16%	21 meses	71,4%	9,6 meses
<b>Disminución DLCO 10%</b>	33,3%	19,2 meses	83,3%	8 meses
<b>CVF &lt; 70%</b>	8,7%	22,2 meses	71,4%	9,6 meses
<b>Disminución CVF 10%</b>	20,6%	20,9 meses	100%	7,2 meses
<b>EUSTAR</b>	63,8%	12,9 meses	100%	6,8 meses

IT: velocidad máxima de regurgitación de la válvula tricuspídea. PAPS: Presión arterial pulmonar sistólica. DLCO: difusión monóxido de carbono. CVF: Capacidad vital forzada. EUSTAR: Escala de actividad EUSTAR



## *DISCUSIÓN*



### Antecedentes estudio

Se han analizado las características de la población estudiada con esclerodermia, sin encontrar diferencias en cuanto a la edad en el momento del diagnóstico y el sexo, al compararlas con las cohortes más importantes en España, el Registro Español de Esclerodermia (RESCLE) (358) y en Europa (EUSTAR) (359). El 80,9% de los pacientes en nuestro estudio fueron mujeres, cifra ligeramente inferior al 89% descrito en RESCLE y al 86,1% descrito en EUSTAR.

La edad media de nuestros pacientes al diagnóstico fue de  $44,4 \pm 17,1$  años, similar a la de la cohorte española (45 años) y ligeramente superior a la cohorte EUSTAR (42,2 años).

Al estudiar las diferentes comorbilidades encontradas en nuestra serie, se ha observado que el 33% presentaron hipertensión arterial y el 21,4% dislipemia, porcentajes similares a los descrito por Amoda et al (107) y Ahmed-Bouali et al (360). Según nuestros resultados, el 8,9% presentaron cirrosis biliar primaria, parecido al 7,5% descrito por Marí-Alfonso et al (361), y dentro del rango más amplio, entre el 1,7-12%, publicado por otras cohortes internacionales (362–365). En nuestro estudio, la tiroiditis autoinmune se asoció a un 16,1% de los pacientes, siendo este dato menor a lo referido por Posselt et al (366) que alcanzó el 20,6%. Finalmente, el síndrome seco se encontró en un 19,6% de nuestros pacientes, cifra notablemente inferior al 68% publicado por Avouac et al (367) aunque ligeramente superior al 12% descrito por Alarcón-Segovia et al (368).

Con el fin de poder conocer si había diferencias de los diferentes marcadores inflamatorios en función del sexo, que pudiesen modificar el estudio, realizamos una comparación entre los niveles medios de los marcadores inflamatorios estudiados (IL-6, VSG y PCR) y el sexo, sin encontrar diferencias significativas. Datos similares a los referidos por otros autores (277,293,294) y que nos permiten corroborar el papel homogéneo que parecen tener estos marcadores inflamatorios en la enfermedad, independientemente del sexo.

Para demostrar si el tiempo de la enfermedad influía en los niveles de los diferentes marcadores inflamatorios, comparamos sus valores medios durante el seguimiento en función del tiempo de evolución de la ES, cuantificado en años desde el inicio del fenómeno de Raynaud. En nuestro estudio no hemos encontrado diferencias significativas presentando unas cifras con valores medianos de IL-6 entorno a los 3 pg/ml, de VSG de aproximadamente 20 mm/h y, finalmente, la PCR con valores medianos de 0,2 mg/dl. Resultados similares a los obtenidos por White-Needleman et al (277) que defienden que estos marcadores se asocian únicamente con la actividad de la enfermedad, sin variar por otros factores a lo largo del tiempo.

Sin embargo, Gourh et al (289), argumentan que en los pacientes con ES se produce una elevación progresiva de la IL-6 en función del tiempo, aunque únicamente describen el dato sin poder precisar si esta afectación es intrínseca a la enfermedad, al daño acumulado o a la actividad. De forma contraria, Matsushita et al (293), describen un descenso progresivo de los niveles de IL-6, aunque en su estudio únicamente 12 pacientes lo completaron y el reclutamiento inicial fue muy heterogéneo.

En referencia a la PCR, la mayoría de los estudios publicados defienden, como nosotros, que la media es similar a lo largo del tiempo (323–325), sin embargo, Muangchan et al (308), sugieren que la PCR podría estar elevada de forma temprana en relación a la liberación de otras citoquinas con un descenso progresivo a lo largo del tiempo por la sustitución paulatina de dicha inflamación por fibrosis.

Pensamos que estos marcadores inflamatorios se elevan con la actividad de la enfermedad, aunque hemos encontrado un nivel ligeramente aumentado respecto a las cifras consideradas como valores de referencia en la mayor parte de las mediciones, lo que apoyaría la hipótesis cada vez más extendida de que los pacientes con ES pudieran tener de forma crónica y persistente cifras más elevadas de estos marcadores (290,293–295,320,329,369) aumentando estos valores en los momentos de actividad.

Analizamos la media de cada uno de los marcadores inflamatorios en los diferentes cortes del estudio, con la intención de conocer la presencia de cambios dependientes del tiempo. Pudimos ver una cierta tendencia de aumento progresivo de la IL-6, que no se mantuvo en el último corte y que no presentó en ninguno de los casos diferencias significativas. De forma complementaria, ni la VSG ni la PCR presentaron variaciones significativas con el paso del tiempo. Estos resultados, apoyan la teoría de que, en los pacientes con esclerodermia, la IL-6 se eleva a lo largo del tiempo, descrito por Gourth et al (289). Sin embargo, sería en momentos de actividad clínica cuando estos niveles aumentarían a cifras notablemente más elevadas (288,298). Otros estudios publicados en la literatura, observan datos diferentes. Así Needleman et al (277) defienden que la IL-6 se mantiene estable a lo largo del tiempo y, Matsushita et al (293) incluso encontraron un descenso en relación a los años de evolución.

En la bibliografía, la distribución del nivel de PCR en los pacientes con ES se ha mostrado similar a la de la población general (323–325), como también sucede con la VSG, dada su tendencia a la estabilidad en el tiempo (326,327). Una de las principales teorías apunta a que la PCR podría estar elevada de forma temprana en relación a la liberación de otras citoquinas, con un descenso progresivo y la sustitución paulatina de dicha inflamación por fibrosis (308). Estos hallazgos irían acordes con lo encontrado en nuestro estudio, donde los valores analizados de forma conjunta en cada uno de los cortes, no difirieron a lo largo del tiempo, y únicamente se encontraron elevados en aquellos pacientes con actividad de la enfermedad.

Al estudiar la esclerodermia en función del subtipo, observamos un predominio de esclerodermia limitada (76,8%), seguido del subtipo esclerodermia difusa (14,3%) y, finalmente, el subtipo sin esclerodermia (8,3%). Esta distribución es ligeramente diferente a la descrita en la cohorte RESCLE (358) cuyos porcentajes son del 60,5% en la forma limitada, del 25,2% en la difusa y 8,3% en el subtipo sin esclerodermia.

El análisis de los diferentes subtipos de ES con los niveles de IL-6 y PCR, arrojó valores más elevados en el subtipo de esclerodermia difusa, de forma concordante con la mayoría de los estudios (296,308,330). Curiosamente, al

comparar los subtipos con los niveles de VSG, ésta presentó valores disminuidos en el subgrupo de ES difusa con unos valores mayores en el subtipo de esclerodermia limitada, aunque sin diferencias significativas. Estos resultados difieren a los referidos por la cohorte EUSTAR (359) donde, aunque de forma discreta, la VSG se encuentra ligeramente aumentada en el subgrupo de pacientes con la forma difusa.

Se relacionaron los autoanticuerpos con los diferentes marcadores inflamatorios, sin observar un aumento significativo en la presencia de ANAs de forma global, ni en los diferentes niveles de positividad de forma similar a lo descrito por White-Needleman et al (277).

Al relacionar los autoanticuerpos específicos de la ES con los diferentes marcadores inflamatorios estudiados se observó un ligero aumento, aunque no significativo, en los pacientes con algún anticuerpo positivo. Sin embargo, al analizar estos autoanticuerpos de forma individual, los 3 marcadores inflamatorios se encontraron ligeramente elevados sin alcanzar la diferencia significativa en presencia de antiRNP y antiSCL. Estos resultados son similares a lo descrito por Gourh et al (289), que relacionaron los niveles de IL-6 con la presencia de antiRNP. Cabe señalar que ni en nuestro estudio ni en la bibliografía consultada se encontró asociación entre los niveles de los marcadores inflamatorios y la presencia de ACAs.

Este hecho posiblemente se puede explicar ya que los enfermos con autoanticuerpos antiRNP se asocian muy comúnmente con el subtipo de esclerodermia difusa que, como ya hemos descrito previamente, se relaciona con un nivel más elevado de los marcadores inflamatorios (223). En referencia a la PCR, únicamente el estudio dirigido por Ohtsuka et al (328) asocia la PCR de alta sensibilidad con la presencia de anticuerpos antimitocondriales (AMA), no comparados en nuestro estudio, al no ser anticuerpos específicos de ES.

### **Manifestaciones clínicas durante el seguimiento**

Aunque existen estudios que asocian tanto a la IL-6 como a la VSG y la PCR con un peor pronóstico y un factor de riesgo para mortalidad (199,294,297,309,331), estas publicaciones no han analizado los hallazgos

clínicos por separado, centrándose únicamente en el peor pronóstico como un elemento de forma conjunta.

Encontramos una asociación entre niveles más elevados de IL-6 y la aparición de engrosamiento cutáneo, esclerodactilia y aparición de úlceras digitales. Las úlceras digitales presentaron una media de IL-6 de 9,6 pg/ml. Estos resultados son comparables a los publicados por Alivernini et al (302), que encontraron una media comprendida entre 7,2 y 7,6 pg/ml en los pacientes con úlceras digitales y Scala et al (287) que describen una media de 10,9 pg/ml en pacientes con úlceras digitales en el subtipo de ESI. Ambos autores concluyen igualmente, que la IL-6 se encuentra elevada en presencia de úlceras digitales.

Las úlceras digitales también se asocian a la presencia de niveles aumentados de VSG, hallazgo descrito en la literatura (317,319). Incluso este aumento de los valores de VSG ha sido utilizado por Manfredi et al (321) para la creación de un modelo pronóstico de úlceras digitales asociadas a la ES.

En nuestro trabajo, hemos observado como la VSG tiene una relación inversa con la inflamación digital, siendo claramente superior en los pacientes sin inflamación. Este hecho es llamativo ya que, fisiopatológicamente, la manifestación clínica de los “dedos en salchicha” o dedos hinchados se relaciona con la fase edematosa, donde predomina la inflamación sobre la fibrosis lo cual resulta paradójico, y respaldaría la hipótesis de que esta manifestación se deba, en mayor medida, a un proceso inflamatorio localizado más que a una respuesta sistémica de la enfermedad, hecho que justificaría la no elevación de los marcadores inflamatorios en la clínica referida. Esta inflamación localizada ha sido demostrada a través de biopsias cutáneas por Bosello et al (370).

En nuestro estudio no se ha demostrado que el aumento de los valores de PCR se asociase a la aparición de las manifestaciones cutáneas estudiadas, de forma concordante al estudio realizado por el grupo canadiense de Esclerodermia (CSRG) (308) y por Ross et al (307). Sin embargo, según nuestros datos, en los pacientes que presentaron cicatrices en los pulpejos durante el seguimiento, la PCR disminuyó de forma evidente, hallazgo justificable dado que esta

manifestación se encuentra englobada dentro de la fase fibrótica, y, por lo tanto, no predomina la actividad inflamatoria.

En el análisis de las manifestaciones clínicas de HAP y de EPI, destacó la asociación de los 3 marcadores inflamatorios en la presencia de HAP, analizada de forma global y sin tener en cuenta el grado de afectación o severidad de la misma, hallazgos similares a los descritos en la bibliografía (199,289,294,297,307,317).

En cuanto a la enfermedad pulmonar intersticial difusa (EPI), en nuestro trabajo su presencia se asoció con un aumento de los niveles de los 3 marcadores inflamatorios, aunque sólo alcanzó la significación estadística para la PCR. También se observó un aumento en los valores de los 3 marcadores inflamatorios en presencia de crepitantes a la auscultación, lo que, ante la ausencia de signos de infección activa, definido como uno de los criterios de inclusión para cada uno de los cortes, permiten apoyar la relación de los diversos marcadores con el desarrollo clínico de fibrosis.

Al comparar los diferentes grados de disnea según la escala NYHA con los marcadores inflamatorios, se objetivó un aumento progresivo en la IL-6 a medida que empeoraba la clase funcional. Este hallazgo, pensamos que apoya la teoría de que los niveles más elevados de los marcadores inflamatorios se asocian con un mayor grado de afectación clínica.

Cuando estudiamos las manifestaciones clínicas digestivas, solamente encontramos asociación de la VSG con la presencia de disfagia secundaria a afectación del esófago y la IL-6 que se asoció con la malabsorción, hallazgo que explicamos, al igual que Linsalata et al (371), por el papel que la IL-6 parece desempeñar como marcador de actividad en las alteraciones de la permeabilidad del tubo digestivo. De hecho, la regulación normal de la inflamación intestinal en el microentorno del tracto gastrointestinal incluye la producción de IL-6 (372). Por ejemplo, la terapia anti-IL6 (tocilizumab) aunque ha demostrado reducir la acumulación sistémica y articular de IL-6 y tener efectos antiangiogénicos (251), tiene un riesgo aumentado de producir perforación intestinal y diverticulitis (373).

Finalmente, se comparó la actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR, encontrándose, tal y como apoya la bibliografía (290,295,308), un aumento estadísticamente significativo en todos los marcadores inflamatorios, en aquellos pacientes con valores compatibles con actividad.

### Pruebas complementarias realizadas durante el seguimiento

#### Capilaroscopia

La principal revisión sistemática sobre marcadores inflamatorios y hallazgos capilaroscópicos fue realizada por Chora et al (374), que a pesar de revisar más de 45 manuscritos y analizar casi 50 marcadores inflamatorios no incluyendo los 3 que hemos estudiado en este trabajo.

En nuestro estudio, no se encontraron diferencias entre los niveles medios de los marcadores inflamatorios analizados (IL-6, VSG y PCR) entre los grupos de pacientes con o sin capilaroscopia patológica, hecho que apoya la hipótesis de que los marcadores únicamente se elevan en el momento de actividad.

Al analizar las capilaroscopias realizadas concomitantemente con los marcadores inflamatorios, observamos que el patrón tardío de Cutolo se asociaba con niveles más elevados de los 3 marcadores, aunque únicamente, en el caso de la IL-6 resultó significativo. Esto difiere de los hallazgos encontrados por el grupo de Yalçinkaya et al (303), que no encontraron diferencias significativas en los niveles de IL-6 en ninguno de los grupos analizados (temprano, activo y tardío), lo cual justificaron por el bajo número de pacientes (n=4) incluidos con IL-6 elevada. Además, como limitación del estudio referido describieron la falta de más información de estos pacientes, mostrándose únicamente los valores medios de cada uno de los subgrupos en una tabla. Estos resultados difieren enormemente de los obtenidos en nuestra cohorte, donde el subgrupo con niveles más elevados fue el correspondiente al patrón tardío de Cutolo, aumentado hasta en 12 veces por encima de los valores de este autor.

Este aumento de IL-6 en el patrón tardío de Cutolo se acompañó de diferencias significativas en los niveles de IL-6 en dos hallazgos, la pérdida capilar y la dilatación capilar.

En la pérdida capilar, además de la IL-6 se encontraron niveles aumentados de VSG y PCR. Sin embargo, en la dilatación capilar, los niveles de IL-6 y PCR presentaron valores significativamente menores. Pensamos, al igual que Ribatti et al (375) y Manetti et al (376), que estos hallazgos son debidos al corto período de la respuesta angiogénica, en el que destaca un aumento muy significativo de las moléculas proangiogénicas, entre las que encontramos la PCR e IL-6, fundamentalmente a nivel local, rápidamente desplazado por un aumento de los factores angiostáticos, que conlleva un descenso en la densidad capilar y extensas áreas avasculares. Esta misma hipótesis, es defendida por Alivernini et al (302), en cuyo estudio se encontró relación estadística entre la presencia de niveles de IL-6 superiores a 2 pg/ml y la presencia de áreas avasculares y, en consecuencia, de menor densidad capilar.

De igual manera, hemos visto aumentados los 3 marcadores inflamatorios en los pacientes con patrón activo según la clasificación de Mariq, presentando tendencia a la significación en el caso de la IL-6 y la PCR. Dado que en el patrón activo de Mariq hay un predominio de la pérdida capilar, el aumento encontrando en los marcadores inflamatorios posiblemente se deba a la presencia de áreas avasculares, tal y como describieron Alivernini et al (302).

Los niveles de IL-6 descendidos en los pacientes con presencia de microhemorragias, irían a favor de la liberación de factores angiogénicos únicamente a nivel local en esta fase de la enfermedad, de forma similar a lo visualizado en la dilatación capilar.

### Manometría esofágica

En nuestro estudio, de forma inicial, se compararon los valores medios de los diferentes marcadores inflamatorios con la presencia de afectación de los diferentes esfínteres esofágicos y la motilidad. Curiosamente, aunque la PCR y la VSG no presentaron diferencias significativas, la IL-6 presentó valores más elevados en los pacientes sin afectación tanto de los esfínteres como de la

motilidad, siendo estas diferencias significativas en la afectación del esfínter esofágico inferior, hecho que apoyaría la hipótesis de que la IL-6 puede jugar un papel importante en la protección del tracto gastro-intestinal ya que, los pacientes con niveles de IL-6 bajos se asociaron con afectación y daño.

No hemos encontrado en la bibliografía estudios específicos que tengan como objetivo relacionar la manometría con los niveles de diferentes marcadores inflamatorios en pacientes con ES. Sin embargo, sí hemos encontrados algunos estudios que relacionan el papel de la IL-6 con la reparación del tracto gastro-intestinal, aunque sin ser específicos de la afectación esofágica.

Kuhn et al (377) relacionaron la IL-6 con la reparación de lesiones intestinales. Este estudio, llevado a cabo en modelos animales de lesiones intestinales, demostró que la expresión de IL-6 es inducida por los linfocitos intraepiteliales poco después de la lesión, y que es imprescindible para la proliferación celular y la reparación epitelial. En este mismo estudio, realizaron una inhibición in vitro de IL-6, que dio como resultado una proliferación epitelial disminuida y una cicatrización alterada. Además, un estudio piloto que recogía pacientes con enfermedad de Crohn activa en tratamiento con un anticuerpo monoclonal humanizado contra IL-6R, asoció una mejoría en actividad de la enfermedad aunque no en los hallazgos histológicos y endoscópicos, sugiriendo que el bloqueo de IL-6 podría ser beneficioso en reducir los síntomas sistémicos, pero no el daño intestinal que podría depender de la presencia de IL-6 (378).

Esta teoría viene apoyada por los estudios de Frech et al (379) y Gout et al (373) que afirman que los tratamientos específicos para bloquear la IL-6 (Tocilizumab) determinan un aumento de la incidencia de complicaciones a nivel gastro-intestinal, con respecto a otros pacientes en tratamiento con placebo.

Aunque no se puede demostrar, desde el punto de vista teórico, podríamos extrapolar estos trabajos con los resultados obtenidos en nuestro estudio que demuestran que los pacientes con menores niveles de IL-6 presentan una mayor afectación del esfínter esofágico inferior.

En nuestro estudio, al analizar la afectación de cada uno de los parámetros medidos en los esfínteres y la motilidad, observamos un aumento de los niveles

de VSG y PCR en los pacientes con disminución de la amplitud de onda, en sus diversas mediciones (3.0 y 7.0). Esto podría englobarse dentro de la patogenia de la afectación esofágica ya que, los principales mecanismos involucrados son inicialmente la hipoxia y la isquemia secundaria al daño vascular (380), que condiciona la liberación de marcadores inflamatorios. Posiblemente sea en esta fase, donde encontramos los niveles elevados de VSG y PCR y, como consecuencia de esta inflamación, la atrofia de la musculatura lisa que se expresa como una debilidad progresiva de la contracción.

### Ecocardiografía transtorácica

En nuestra muestra no se encontraron diferencias ni en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, que sólo estuvo afectada en un paciente, ni tampoco en el diámetro sistólico y diastólico del ventrículo izquierdo o las mediciones realizadas sobre la válvula mitral, que presentaron todas ellas unas medias similares a las descritas en la población general, ajustadas por sexo y edad según los parámetros establecidos por la Sociedad Española de Cardiología (348).

Al valorar los parámetros de disfunción de cavidades derechas, objetivamos valores significativamente más elevados de los 3 marcadores inflamatorios en los pacientes con PAPS mayor a 40 mmHg, IT mayor a 3 m/s y gradiente VD-AD $\geq$ 30 mmHg. Estos hallazgos son concordantes con la literatura, donde la mayoría de los estudios apoyan la asociación entre la elevación de IL-6, VSG y PCR con la presencia de disfunción derecha e incluso HAP, tanto en pacientes con esclerodermia, como en pacientes con Hipertensión arterial pulmonar idiopática (199,290,295,297,307,308,317,332). Esta relación, se encuadraría dentro del propio mecanismo biopatológico de la HAP, donde está reconocido que numerosos factores proinflamatorios, entre los que se encuentran la IL-6, VSG y la PCR, juegan un rol importante en la vasoconstricción, la proliferación celular y la trombosis vascular (381), hecho que justificaría nuestros resultados.

De igual manera, se observó un aumento de IL-6 y VSG en los pacientes con signos de disfunción sistólica del ventrículo derecho, medida a través de la TAPSE, aunque sin poderse demostrar diferencias significativas posiblemente

por el bajo número de pacientes con TAPSE inferior a 18 mm. De forma complementaria, el tiempo de aceleración pulmonar, que se ha considerado como un método válido y reproducible para la estimación y sospecha de HTAP, fue significativamente menor en los pacientes con niveles aumentados de IL-6 y VSG, lo que apoyaría la relación de estos marcadores con la etiopatogenia de la HAP y con la afectación cardíaca.

Todos estos parámetros (PAPS, IT y gradiente VD-AD) presentaron niveles progresivamente mayores de marcadores inflamatorios en relación al grado de severidad de la afectación. Estos resultados apoyarían nuestra hipótesis de que los marcadores inflamatorios no únicamente sirven para conocer la presencia de HAP, si no que podrían servir como biomarcadores de actividad en función de sus niveles, de forma similar a, por ejemplo, el proBNP, polipéptido que ha demostrado su eficacia en el seguimiento y pronóstico de pacientes con HAP (382).

Numerosos estudios, de forma independiente, han relacionado la IL-6 tanto con la afectación pulmonar como con la afectación cardíaca, medidas a través de diversas técnicas complementarias (287,289,296,298,383). Sin embargo, en 2009, Selimovic et al (294), en un estudio en el que incluyeron 44 pacientes con ES a los que se realizó cateterismo derecho, encontraron que no hubo aumento de la IL-6, medido mediante diferentes extracciones a diferentes niveles del cateterismo, en los grupos del estudio, lo que les sugirió que los niveles sistémicos de IL-6 no estaban determinados únicamente por la afectación pulmonar o cardíaca apuntando también, a una más que probable interrelación entre ellos. Es por ello, que nosotros decidimos analizar los niveles de IL-6 en la afectación cardíaca, medida a través de PAPS y de IT, estratificando los pacientes en función de la presencia o no de EPI, con el fin de detectar si existía interacción entre ambas afecciones. De forma similar a lo obtenido por Selimovic (294), pudimos ver que la asociación de las dos patologías se relacionaba con niveles mucho más elevados de IL-6 que los medidos cuando únicamente los pacientes presentaban afectación cardíaca. De forma complementaria cuando la IT era menor a 3 m/s y la PAPS menor de 40 mmHg los niveles diferían muy poco independientemente de la presencia de EPI, lo que podría llevarnos a pensar que la afectación cardíaca conlleva un ascenso significativo del nivel de

los marcadores inflamatorios, secundario probablemente a una mayor presencia de inflamación comparado con la EPI, donde la fibrosis juega un papel fundamental, y posiblemente predominen otros marcadores profibróticos.

En la comparación con otros hallazgos de la ecocardiografía, observamos una relación significativa de los 3 marcadores inflamatorios con la presencia de derrame pericárdico y también, la IL-6 y la PCR, se asociaron con la dilatación de cavidades derechas que, según Mukerjee et al (384) son signos establecidos de peor pronóstico de la enfermedad. Estos datos, similares a los publicados por Abdiel-Magied et al (295), apoyarían la hipótesis de que la presencia de niveles elevados de IL-6, PCR, y en menor medida VSG, serían una expresión de la actividad de la afectación cardíaca y, por lo tanto, marcadores del pronóstico (199,294,297,309,331).

#### Pruebas radiológicas

La radiografía de tórax y la TACAR no son consideradas pruebas complementarias reconocidas en el seguimiento rutinario de pacientes con ES (385), por lo que únicamente se recogieron aquellas realizadas durante los 24 meses por criterios del médico especialista.

Como se puede ver en los resultados obtenidos, la presencia de engrosamiento hilar y el aumento del diámetro de las arterias pulmonares se asoció a niveles elevados de IL-6 y PCR, probablemente debido al proceso inflamatorio secundario a la afectación cardíaca y/o pulmonar, ya descrito previamente.

En las radiografías realizadas, la presencia de patrón en panal y reticular se asoció a niveles elevados tanto de IL-6 como de PCR, lo que apoyaría su papel en la fase inflamatoria de esta afectación, aunque estos marcadores perdieron su significación estadística en la detección de EPI mediante TACAR. Estos resultados, están de acuerdo en parte con los obtenidos por el grupo canadiense de Esclerodermia (CSRG), (308) que en 2012, publicaron un trabajo en el que demostraban una correlación muy baja ( $r < 0,2$ ) entre la PCR y la EPI medida por pruebas radiológicas.

Recientemente este mismo grupo ha publicado que en presencia de fibrosis pulmonar diagnosticada mediante TACAR asociado a una disminución de la CVF, los niveles de VSG y PCR se duplican, con una odds ratio de 2,31 (307). Estos hallazgos, junto con los resultados obtenidos en nuestro estudio, apoyarían la hipótesis de que los marcadores inflamatorios se relacionan escasamente con los hallazgos mostrados en el TACAR, y muy posiblemente, sea precisa una combinación de otros parámetros ecocardiográficos y espirométricos, que permitan aumentar su valor como biomarcadores tal y como realizó el grupo canadiense.

Es remarcable las diferencias encontradas entre los niveles de los marcadores inflamatorios y los hallazgos de la radiografía simple y la TACAR. Posiblemente pueda deberse a que la detección de hallazgos compatibles con fibrosis en la radiografía se hacen objetivables en fases avanzadas y/o extensas por lo que es presumible una mayor expresión de los marcadores inflamatorios.

### Prueba de función respiratoria

En nuestra muestra, la IL-6 presentó niveles superiores en los pacientes con CVF y DLCO disminuidas, así como con FEV1 por debajo del 70% y TLC disminuida. Cuando estudiamos la DLCO ajustada por volumen alveolar, esta significación se mantuvo, con niveles superiores en el subgrupo con un cociente por debajo del 80%. Estos resultados son similares a lo publicado por Baraldi et al (298), que encontraron niveles de IL-6 elevados en pacientes con TLC y DLCO disminuidas. En la misma dirección, De Lauretis et al (288), mediante el estudio de dos cohortes, una con 74 pacientes y otra de seguimiento en la que se reclutaron 212 pacientes con ES, observaron un aumento de IL-6 en relación al descenso de la difusión de monóxido de carbono (DLCO) y la capacidad vital forzada (CVF). En el estudio inicial con la cohorte de 74 pacientes afectados de ES, definieron el punto de corte de 7,67 pg/ml como el umbral más predictivo del descenso de DLCO, estimando una sensibilidad del 53%, especificidad del 71% y un área bajo la curva de 0,6. Estos datos son similares a los obtenidos en nuestra cohorte, donde la media de los niveles de IL-6 en pacientes con disminución de la CVF se sitúa en los 8,7 pg/ml y en los 6,1 pg/ml en aquellos pacientes con afectación de la DLCO.

Más recientemente, Guillén et al (386) en el año 2016, a través del estudio de una cohorte de pacientes del registro español, describieron una tendencia en la asociación de niveles basales elevados de IL-6 en el aire espirado con los valores más bajos de DLCO, lo que iría a favor, de que la IL-6 no juega un papel únicamente a nivel sistémico, si no también a nivel local de la enfermedad. Se hace notar que los niveles de IL-6 en aire espirado son notablemente inferiores a los objetivados en nuestro estudio en el suero.

La VSG y PCR se encontraron aumentadas en los pacientes con niveles inferiores de FEV1, CVF y DLCO, de forma similar a lo defendido por otros autores (307,308), lo que apoyaría que la IL-6, la VSG y la PCR son biomarcadores de actividad en la afectación pulmonar.

En la distribución por grados de severidad de la afectación pulmonar medida a través de la CVF y la DLCO, estas diferencias se mantuvieron en los 3 marcadores inflamatorios con niveles progresivamente en aumento para la CVF por debajo del 65%, y para la DLCO por debajo del 80%. Esto confirma que los niveles más aumentados de los marcadores inflamatorios se relacionan con una mayor afectación pulmonar.

Se consideró el cociente CVF/DLCO, estableciendo como punto de corte  $\geq 1,6$  igual que se ha utilizado en otros estudios (387,388) que defienden que dicho valor es un excelente predictor de desarrollo de HAP. Según nuestros resultados hubo un aumento significativo de los 3 marcadores inflamatorios, con medias de IL-6 de 7,8 pg/ml, VSG 32 mm/h y una PCR media de 1 mg/dl en los pacientes con un cociente FVC/DLCO  $\geq 1,6$ , datos que confirman el hecho de que los marcadores inflamatorios se elevan en mayor medida en presencia de HAP.

### Parámetros analíticos

En nuestro trabajo, de forma similar a los resultados obtenidos por Ross et al (307), tanto la VSG, la PCR y, de forma adicional la IL-6, se encontraron elevados en aquellos pacientes con niveles de hemoglobina menores de 12 g/dl. Este resultado en el descenso de hemoglobina podría explicarse mediante dos mecanismos no excluyentes. Por un lado, la propia anemia conlleva un estado de inflamación crónica, que podría aumentar los niveles de los diferentes

marcadores inflamatorios (389). Por otro lado, y de forma exclusiva en los pacientes con ES, es bien conocida la afectación renal, siendo hasta hace unas décadas la primera causa de muerte (163). Esta afectación renal, controlada con el tratamiento actualmente disponible, puede conllevar una elevación persistente de la inflamación que produzca anemia de forma secundaria (390). En relación con esta hipótesis podemos ver que en nuestro estudio encontramos una asociación significativa entre niveles aumentados de IL-6 y la creatinina y, de forma complementaria, en los pacientes con un filtrado glomerular descendido, lo cual significa que el empeoramiento en la función renal, podría jugar un papel importante en la presencia de anemia.

El proBNP y la cistatina, establecidos como biomarcadores de fallo cardíaco y secundariamente relacionados con la HAP, se asociaron en nuestro estudio con un ascenso en los 3 marcadores inflamatorios analizados. No hemos encontrado otros manuscritos que relacionen los niveles de proBNP con la IL-6 en pacientes con ES, así nuestros resultados sugieren de forma consistente la asociación entre la elevación de los niveles de proBNP y la elevación de los niveles de IL-6. Todo lo anteriormente expuesto, apoya la hipótesis ya previamente establecida de que, la IL-6, VSG y PCR podrían jugar un papel relevante en el diagnóstico y seguimiento de la HAP, tal y como describen algunos manuscritos ya mencionados (297,307,317). Así, Soon et al (297) describieron como los pacientes con HAP idiopática o hereditaria con niveles de IL-6 mayores a 9 pg/ml, presentaron una supervivencia del 30% en 5 años a diferencia del 63% en los pacientes con niveles inferiores a 9 pg/ml. Yamane et al (317) asocian la HAP de pacientes con ES con niveles elevados de VSG, aunque sin precisar los niveles de ambos grupos. Finalmente, Ross et al (307), en el estudio de la cohorte australiana de 1.545 pacientes, asocian niveles por encima del valor normal de VSG y PCR con el desarrollo de HAP. Estos resultados son similares a lo obtenido en este trabajo.

### Tratamiento

En nuestro estudio, durante el seguimiento, 24 pacientes se encontraron en tratamiento corticoideo activo en el momento de la determinación de los marcadores inflamatorios, presentando niveles significativamente elevados de

los 3 marcadores. Estos resultados no coinciden con lo publicado por Dantas et al (70), que en un estudio en el que incluyeron 15 pacientes con ES, no encontraron diferencias entre los niveles de IL-6 de los pacientes con o sin tratamiento corticoideo. De forma contraria, Liu et al (337) y Muangchan et al (308) relacionaron el uso de glucocorticoides sistémicos con la disminución en sangre de IL-6 y PCR. Estos resultados, diferentes a los obtenidos por nosotros, muy posiblemente sean debidos a que, como consecuencia de una mayor actividad de la enfermedad, se precisó un incremento de dosis o la adición de corticoides para el control clínico.

Al comparar el uso de antagonistas del calcio en nuestros pacientes se observó un importante descenso, aunque no significativo, tanto de IL-6 como de PCR, lo que podría apoyar la hipótesis de que este fármaco, como consecuencia de la vasodilatación periférica, pudiese producir un efecto beneficioso en la reducción de la actividad inflamatoria. Estos datos son diferentes a lo publicado por Della Bella et al (306) que, en un estudio prospectivo y randomizado, compararon las variaciones séricas de IL-6 en 19 pacientes tratados con iloprost y 12 con nifedipino, encontrando que en el grupo tratado con iloprost los niveles de IL-6 disminuyeron más que en el grupo tratado con nifedipino, aunque las diferencias no fueron significativas.

En nuestro estudio hemos observado que los pacientes en tratamiento con omeprazol presentaron niveles significativamente disminuidos de IL-6, sin presentar diferencias en el resto de marcadores inflamatorios analizados. Estos resultados apoyarían al estudio publicado por Elthahir y Nazmy (391), en el que parece que la utilización de esomeprazol, un derivado muy similar al omeprazol, podría conllevar una disminución de la IL-6, además de una mejoría del daño a nivel hepático, mejorando su regeneración, la corrección de los principales trastornos histopatológicos inducidos por CCl<sub>4</sub> y, de forma significativa, una disminución en la fibrosis. Consideramos que este hallazgo es muy importante, ya que podría extrapolarse que el uso de omeprazol se podría asociar con una disminución de los niveles de IL-6, una menor inflamación e incluso, en línea a lo observado en el trabajo de Elthahir y Nazmy, una mejoría de la fibrosis.

En nuestra cohorte, los pacientes en tratamiento con bosentan presentaron niveles descendidos de los 3 marcadores inflamatorios. No pasó lo mismo con el ambrisentán, lo que podría explicar que el cambio fue generado por fallo primario o efectos adversos que, posiblemente, conllevaron unos marcadores inflamatorios persistentemente elevados pese al tratamiento. Resultados similares fueron obtenidos por Selimovic et al (294), en cuyo trabajo los pacientes con tratamiento específico de HAP, entre los que se incluyó bosentan, sildefanilo, epoprostenol y sus combinaciones, mostraron niveles menores de IL-6. Sin embargo, Soon et al (297) expresaron que el uso de prostanoides no parecía tener relación con los niveles de IL-6. En relación con el sildenafil, se encontraron niveles elevados de los 3 marcadores inflamatorios, con diferencias estadísticamente significativas para la VSG. Este hecho es discordante con lo referido con la literatura, que apoya la teoría de que la utilización de PDE4 podría actuar disminuyendo la infiltración de leucocitos y la diferenciación de macrófagos M2 (392).

El uso de ácido acetil salicílico en nuestros pacientes no se ha relacionado con una variación significativa en los marcadores inflamatorios analizados, sin embargo, otros autores (393,394) han demostrado que la terapia con agentes antiagregantes tienen un efecto antiinflamatorio a nivel sistémico.

De forma general, los niveles de los diferentes marcadores inflamatorios en función del tratamiento es un tema controvertido y escasamente estudiado por varias razones. En primer lugar, por la dificultad para reclutar un número de pacientes importante con cada uno de los tratamientos utilizados en la actualidad; pero además, con el reciente uso de tratamientos cuyas dianas son el bloqueo de determinadas citoquinas, como puede ser la IL-6, se ha abierto un nuevo debate dados los diferentes resultados aportados en distintos trabajos. Así, en el estudio realizado por Chen et al (395) se defiende una escasa relación entre los niveles séricos de los marcadores inflamatorios y la actividad de la enfermedad, alegando que los niveles altos de IL-6 pueden reducir falsamente los niveles medidos del receptor de IL-6 en suero (sIL-6R), y los niveles altos de sIL-6R pueden disminuir los niveles de IL-6. Otros estudios realizados en pacientes afectos de distintas enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide y enfermedad de Castleman), orientan a que el aumento de IL-6 sérica durante el

uso de este tratamiento, refleja fielmente la producción endógena real y, por lo tanto, la verdadera actividad de la enfermedad (396).

#### Evaluación de riesgo de actividad de esclerodermia para distintos puntos de corte de los marcadores inflamatorios

Una vez demostrada la relación entre los diferentes hallazgos clínicos, radiológicos y de actividad clínica con los valores obtenidos de los diferentes marcadores inflamatorios, se calcularon las odds ratio de aquellos parámetros que habían mostrado diferencias significativas entre los grupos, utilizando diversos valores de cada uno de los marcadores con el fin de conocer a partir de que valor los marcadores nos permitirían discriminar aquellos pacientes con riesgo de presentar las principales manifestaciones de la enfermedad. Este valor es algo controvertido en la literatura ya que, tanto los medios utilizados para la medición, como las unidades, han sido muy heterogéneas, lo que ha hecho imposible definir, y mucho menos validar, un punto de corte consensuado para cada uno de los marcadores.

En nuestro estudio, realizamos un sondeo inicial y en referencia a la IL-6, se inició en 0,5 pg/ml con cortes cada 0,5 pg/ml hasta alcanzar los 7,5 pg/ml. El punto más bajo de IL-6 en el que se objetivó un aumento de riesgo de alguno de los hallazgos clínicos analizados fue 1,5 pg/ml, encontrándose un riesgo elevado de presentar actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR, de tener una CVF<80% y de presentar un descenso $\geq$ 10% de la DLCO. Cuando este nivel se aumentó a 2 pg/ml, estas manifestaciones permanecieron significativas y, además, aparecieron otras como las úlceras digitales, la DLCO por debajo de la normalidad, y proBNP elevado. Cuando se analizó la IL-6 para un punto de corte de 2,5 pg/ml se observó un aumento de riesgo en la práctica totalidad de manifestaciones analizadas, excepto la malabsorción y las telangiectasias que aparecieron en niveles superiores a 5 pg/ml.

Estos resultados coinciden con el trabajo realizado por Alivernini et al (302), en cuanto al aumento de riesgo de padecer úlceras digitales cuando los niveles de IL-6 fueron mayores de 2 pg/ml. No hemos encontrado ningún otro manuscrito que relacione hallazgos patológicos de actividad de la enfermedad para otros

puntos de corte. Es por ello, que nuestros hallazgos son especialmente relevantes, ya que nos permiten aproximarnos a un valor que pueda resultar útil en la práctica diaria del médico especialista. Dados los resultados obtenidos, pensamos que niveles de IL-6 por encima de 2 ó 2,5 pg/ml se asocian con un riesgo significativo de tener manifestaciones clínicas graves.

De igual forma, se seleccionó el valor de VSG  $\geq 20$  mm/h (valor de referencia de nuestro laboratorio). También se estudió el punto de corte de 40 mm/h siguiendo los valores utilizados por Czirják et al (309).

Al utilizar como punto de corte 20 mm/h, tanto las manifestaciones clínicas, la afectación ecocardiográfica (derrame pericárdico, insuficiencia mitral e  $IT \geq 3$  m/s), el descenso de la CVF (por debajo de 80% y el descenso mayor al 10%) y valores de cistatina aumentados se asociaron con un aumento del riesgo. En los niveles mayores a 40 mm, además se encontró un riesgo aumentado de presentar una PAPS  $\geq 40$  mmHg y de presentar una DLCO disminuida (tanto para niveles menores de 70% y 60% como el descenso mayor del 10%).

Estos valores son notablemente superiores a los publicados en el estudio de Ross et al (307) en su estudio de la cohorte australiana, donde los niveles de VSG  $\geq 20$  mm/h presentaron un riesgo 1,6 veces mayor de afectación de la CVF y la DLCO frente al 2,1 y 4,5 obtenidos por nosotros. De igual modo, el derrame pericárdico se asoció en nuestra población con un riesgo mucho mayor de hasta 20 veces frente al 1,21 publicado por este autor.

A diferencia de otros autores como Sunderkötter et al (319), que utilizando el registro alemán de pacientes con ES relacionaron niveles de VSG mayores a 30 mm/h como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de úlceras digitales, en nuestro estudio no hemos encontrado este aumento de riesgo con la VSG.

Para la PCR se realizó un estudio inicial con valores entre los 0,5 y los 2 mg/dl, cifras utilizadas por otros autores (54,307,336,397), seleccionando para nuestro estudio los valores de 1 mg/dl y 1,5 mg/dl como puntos de corte más representativos dado el escaso número de pacientes con cifras por debajo de 0,5 y por encima de 2 mg/dl. Tanto el punto de corte de 1 mg/dl como de 1,5

mg/dl, se asociaron con un aumento significativo del riesgo de presentar afectación cardíaca (medida a través de la IT, PAPS y el gradiente VD-AD), así como pulmonar (DLCO<60% y CVF). Sin embargo, la actividad clínica agrupada y medida mediante la escala EUSTAR no se asoció con estos puntos de corte. Resultados similares a los obtenidos por Ross et al (307) y Muangchan et al (308), que con niveles de corte de 0,5 mg/dl y 0,8 mg/dl respectivamente, concluyeron que existía un riesgo aumentado de presentar los principales hallazgos encontrados en la prueba de función respiratoria. Sin embargo, estos mismos autores también encontraron, a diferencia de nuestros resultados, que existía mayor riesgo en las principales manifestaciones clínicas.

Con la finalidad de validar estos puntos de corte de los marcadores inflamatorios para la presencia de afectación cardíaca (IT $\geq$ 3m/s, PAPS $\geq$ 40 mmHg), pulmonar (DLCO, CVF) y actividad clínica (medida mediante la escala EUSTAR), calculamos la validez interna, medida a través de la sensibilidad y especificidad, y la validez externa, medida a través de las razones de verosimilitud, tanto positiva como negativa. No se utilizaron los valores predictivos positivo y negativo, dada la alta influencia que tiene sobre ellos la prevalencia. Los puntos de corte no se seleccionaron únicamente en función del valor numérico, si no que se primó la búsqueda del valor que reflejase el inicio del aumento del riesgo de presentar estas manifestaciones, ya que, aunque uno de los objetivos es la detección de la enfermedad a través de estos marcadores, es fundamental que el momento de la detección sea lo más precoz posible.

Observamos que la IL-6 presentó niveles de sensibilidad en todos los puntos de corte estudiados a excepción de 5 pg/ml por encima del 75%, en la detección de IT $\geq$ 3m/s, PAPS<40mmHg, DLCO<60%, CVF<70% y actividad clínica medida mediante EUSTAR. Sin embargo, los valores de especificidad estuvieron por debajo del 75% en todos los casos. Por lo tanto, este marcador podría ser útil para la detección de pacientes con afectación de alguno de estos parámetros, aunque no tan eficaz, para el reconocimiento de los pacientes sin afectación.

Aunque las razones de verosimilitud positivas para todas las manifestaciones analizadas fueron malas según la clasificación de Silva et al (398), observamos que aumenta el valor de la IL-6 el riesgo de padecer cualquiera de las

manifestaciones analizadas se incrementa. De hecho, el riesgo de presentar cualquiera de los hallazgos analizados cuando el punto de corte de IL-6 fue de 2 pg/ml era superior a un tercio, con una ganancia respecto al punto de corte 1,5 pg/ml que osciló entre el 11% para el descenso mayor al 10% de la CVF y el 23,4% en presencia de PAPS $\geq$ 40 mmHg. De igual forma, al analizar el punto de corte 2,5 pg/ml, se encontró un riesgo de presentar cualquiera de los hallazgos analizados superior al 50% en todos los casos, con una ganancia respecto al punto de 2 pg/ml, que osciló entre el 11% para la disminución del 10% de DLCO y el 29% para la presencia de CVF<70%.

Dados estos resultados, en nuestra opinión una aplicación clínica sería seleccionar el punto de corte de 2 pg/ml que, como se ha visto previamente, el riesgo de tener las diferentes manifestaciones analizadas se encuentra en todos los casos en valores superiores al 33%. Aunque el punto de corte de 2,5 pg/ml presentó unos valores más elevados, la elección de este valor implicaría la posible detección tardía de dichas manifestaciones y, por lo tanto, podría retrasar su diagnóstico.

Los niveles de VSG por encima de 20 mm/h presentaron valores tanto de sensibilidad como de especificidad por debajo del 75% en todos los parámetros estudiados, por lo que consideramos que este punto de corte no cumple los niveles mínimos de validez interna. Por ello, aunque hayamos realizado el mismo estudio que para el resto de los marcadores, no hemos considerado oportuno discutir su validez externa.

A diferencia de los valores obtenidos en el punto de corte de 20 mm/h, los valores de VSG mayores a 40 mm/h, aunque con baja sensibilidad, presentaron una especificidad por encima del 80% en todos los parámetros analizados. Estos valores nos permiten orientar a que la VSG puede ser utilizada como un buen marcador, para discriminar aquellos pacientes sin afectación tanto ecocardiográfica, pulmonar, y/o actividad clínica. Las razones de verosimilitud positivas oscilaron entre 2,69 en la presencia de PAPS $\geq$ 40 mmHg y 4,23 en la presencia de una IT $\geq$ 3m/s, lo que significa que en caso de presentar una VSG $\geq$ 40 mm/h, el riesgo de tener estas afecciones oscila entre el 72,9% para la presencia de PAPS $\geq$ 40 mmHg y el 80,9% para una IT $\geq$ 3m/s. Las razones de

verosimilitud negativas, que nos permitirían detectar a los pacientes no afectados, oscilaron entre el 22% para no presentar un descenso mayor al 10% de la DLCO y 66,7% para presentar una  $IT < 3$  m/s.

Analizamos los puntos de corte de 1 y 1,5 mg/dl para la PCR obteniendo para ambos cortes unos niveles de especificidad por encima del 90% en todos los parámetros. En contraposición, al igual que lo que habíamos obtenido al analizar la VSG, los niveles de sensibilidad fueron muy pobres. Dada su alta especificidad, podemos pensar que este marcador se comporta de forma similar a la VSG, por lo que nos deberían servir para descartar aquellos pacientes no afectados. Ampliamos el estudio, al igual que habíamos hecho con el resto de marcadores, analizando la probabilidad post-test mediante las razones de verosimilitud. Las razones de verosimilitud positivas para los valores ecocardiográficos en ambos puntos de cortes fueron buenos (superiores a 5) según Silva et al (398), llegando a ser excelentes para la  $PAPS \geq 40$  mmHg ( $L+ \geq 10$  para ambos puntos de corte). Así, en caso de presentar una  $PCR \geq 1$  mg/dl, el riesgo de asociar una  $PAPS \geq 40$  mmHg fue del 91,3% y en caso de  $PCR \geq 1,5$  mg/dl este riesgo aumentó hasta el 93,1%. Sin embargo, disminuyeron para la DLCO y la escala EUSTAR. Las razones de verosimilitud negativas, que nos permitirían detectar a los pacientes no afectados, oscilaron entre 8% de no presentar un descenso mayor al 10% de la DLCO y el 69,4% de presentar una  $PAPS < 40$  mmHg en valores de PCR menores a 1 mg/dl.

Es llamativo que, tanto para la VSG como para la PCR, las razones de verosimilitud negativas fueron bajas a pesar de su alta especificidad. En el caso de la PCR, pensamos que estos resultados podrían ser debido a que el punto de corte debería estar por debajo del analizado, tal y como sugieren otros autores como Ross et al (307) y Muangchan et al (308). Para el caso de la VSG, su conocida inespecificidad podría justificar estos hallazgos.

De todos los datos expuestos previamente, podríamos extraer que tanto la VSG con niveles superiores a 40 mm como la PCR son marcadores que podrían ayudarnos en la práctica clínica, al descartar aquellos pacientes sin actividad. Por otro lado, los niveles de IL-6, aunque escasamente útiles en la discriminación de pacientes sin manifestaciones clínicas, juegan un papel importante, dada su

alta sensibilidad, en la detección de los pacientes con alguna de las manifestaciones medidas, lo que pone de manifiesto su utilidad como biomarcador.

Para aumentar la validez externa obtenida en el análisis individual de los marcadores inflamatorios, se analizaron las diferentes combinaciones, y se evaluó nuevamente tanto la validez interna a través de sensibilidad y especificidad, como externa mediante las razones de verosimilitud. El objetivo de estas combinaciones fue, por un lado, aumentar la validez externa obtenida en el análisis individual, y por otro demostrar la complementariedad de la IL-6 con la PCR y la VSG.

Sin embargo, los resultados obtenidos en las diferentes combinaciones con la IL-6 presentaron en común un descenso muy importante de la sensibilidad, lo cual implicaría una disminución en la capacidad de detectar a los pacientes afectados, aun a costa de un aumento muy significativo de la especificidad. La combinación de estos marcadores en los puntos de corte seleccionados, aunque no sería útil para la detección de pacientes con afectación de los diferentes parámetros estudiados, ya que un número muy alto de ellos ya tienen las manifestaciones en el momento que presentan valores elevados de estos marcadores, sí que permitiría descartar la afectación orgánica en aquellos pacientes con niveles inferiores de todos los marcadores.

De igual manera, la combinación de los marcadores inflamatorios sería altamente relevante en aquellos pacientes sin afectación de los parámetros medidos y con niveles elevados, donde, en función de los niveles y la combinación de marcadores inflamatorios, podríamos predecir el tiempo medio hasta su aparición, pudiendo solicitar las pruebas complementarias confirmatorias de forma precoz e iniciar un tratamiento.

Por ello, una vez obtenida la combinación de marcadores inflamatorios, realizamos un análisis longitudinal en cada una de ellas, con la finalidad de conocer la capacidad de predicción de nuestros biomarcadores tanto de forma individual como combinada.

Como ya se ha mostrado previamente, la detección de valores de IL-6 mayores a 2 pg/ml se relacionó con aproximadamente un 33% de probabilidad de presentar algún tipo de actividad medida mediante los parámetros analizados. En aquellos pacientes con niveles por encima de este punto de corte y sin actividad, el porcentaje con  $IT \geq 3$  m/s aumentó en un 13,6% y el desarrollo de  $PAPS \geq 40$  mmHg en un 17% con un tiempo medio de 20 meses hasta su inicio. De forma práctica, podríamos considerar que los niveles de IL-6 por encima de 2 pg/ml, deberían alertarnos de una probabilidad aumentada de desarrollar afectación cardíaca, aunque, dado el tiempo medio hasta su desarrollo, en todos los casos por encima de los 12 meses, los controles ecocardiográficos podrían seguir realizándose de forma anual según las recomendaciones vigentes en las principales guías clínicas.

Si la IL-6 mayor a 2 pg/ml se asociaba con PCR por encima de 1 mg/dl, estos porcentajes aumentaron de forma muy relevante llegando hasta alcanzar el 61,5% de desarrollar  $IT \geq 3$  m/s y un 87,5% de  $PAPS \geq 40$  mmHg con un tiempo medio hasta su aparición de 9,8 y 7,1 meses respectivamente. Estos hallazgos podrían ser de gran importancia en la práctica clínica, ya que conllevarían que, la presencia de IL-6 por encima de 2 pg/ml y PCR mayor de 1 mg/dl, sin actividad ecocardiográfica en el momento de su detección, sería un signo de alarma que precisaría una nueva revisión con una nueva ecocardiografía en un plazo inferior a los 9 meses, con el fin de detectar de forma precoz el inicio de la afectación cardíaca.

La adición de niveles de VSG mayores a 40 mm/h a esta combinación, el porcentaje de pacientes que desarrollaron una  $IT \geq 3$  m/s fue del 75% y todos ellos alcanzaron niveles de  $PAPS \geq 40$  mmHg en un plazo inferior a los 9 meses lo que apoyaría la necesidad de una nueva revisión con la realización de una ecocardiografía en un plazo inferior. Al elevar el punto de corte de PCR por encima de 1,5 mg/dl aumentó este porcentaje y el tiempo se acortó a los 8,4 meses.

Respecto a la afectación pulmonar, los niveles de IL-6 por encima de 2 pg/ml y sin afectación, el porcentaje de pacientes que presentaron una  $CVF < 70\%$  fue 15,3% y del 45,5% de disminución de la DLCO mayor al 10% con unos tiempos

medios por encima de los 12 meses en ambos casos, por lo que, desde el punto de vista práctico, únicamente nos serviría como señal de alarma.

Sin embargo, en la adición de niveles de PCR por encima de 1 mg/dl en aquellos pacientes con PFR sin alteraciones, se vio que más del 60% de los casos presentaron algún tipo de afectación pulmonar en un tiempo medio comprendido entre los 7,3 y los 10,5 meses. Estos datos son importantes desde el punto de vista clínico, ya que podríamos extrapolar que, la detección de niveles de IL-6 por encima de 2 pg/ml asociados a PCR por encima de 1 mg/dl sin alteraciones en la PFR conllevaría un riesgo mayor al 60% de presentar alteraciones en alguno de los parámetros en menos de 10 meses, lo que obligaría a adelantar la revisión y la realización de nuevas pruebas de función respiratoria.

De igual manera, la adición de niveles de VSG mayores a 40 mm/h a la combinación anteriormente expuesta incrementó estos valores de forma relevante, llegando hasta el 100% en la disminución mayor al 10% de la CVF, con un tiempo de 7,2 meses. Es llamativo comentar que el aumentar los niveles de PCR de 1 a 1,5 mg/dl, no mejoró los valores de detección ni acortó los tiempos.

El 80,7% de los pacientes con niveles de IL-6 superiores a 2 pg/ml presentaron actividad clínica medida mediante la escala EUSTAR en un tiempo medio de 10,7 meses. Curiosamente, al añadir la PCR en niveles superiores a 1 mg/dl, este porcentaje descendió hasta el 70,6% aunque acortándose el tiempo medio hasta los 8,6 meses. Estos resultados podrían orientarnos a pensar en un seguimiento más estrecho en aquellos pacientes con dichos niveles, dada la alta probabilidad de presentar actividad clínica en un plazo inferior a un año.

Al combinar estos marcadores con niveles de VSG por encima de 40 mm/h, el porcentaje aumentó hasta el 100% en un plazo medio de 6 meses, lo que podría traducirse en la práctica clínica en la necesidad de una monitorización estrecha de estos pacientes, dada la alta probabilidad de presentar actividad clínica en un plazo muy corto.

Por lo que acabamos de exponer, pensamos que los marcadores inflamatorios analizados, así como los diversos puntos de corte estudiados, podrían ser una

buena herramienta en la práctica clínica como señal de alarma que nos permita una vigilancia más estrecha de determinados pacientes y un diagnóstico precoz con la finalidad de instaurar un tratamiento temprano. Además, las diferencias de los tiempos vistos en los distintos cortes, nos orientan a pensar que, en el caso de tener niveles de IL-6 y PCR por encima de 2 pg/ml y 1 mg/dl respectivamente, sin afectación ya establecida, deberíamos adelantar las pruebas complementarias cardíacas y respiratorias con el fin de poder diagnosticar antes la afectación. De igual manera, la adición de niveles elevados de VSG por encima de 40 mm/h, debería servirnos como signo de alarma adicional fundamentalmente para la afectación cardíaca (PAPS) y el descenso mayor del 10% de la CVF, donde el porcentaje de afectados llegó al 100%.

Entre las limitaciones de este trabajo podríamos destacar el bajo número de pacientes reclutado para que las pruebas estadísticas tengan la potencia y precisión deseadas, y que además nos permita estratificar la población a estudio. Los puntos de corte establecidos para la PCR y VSG en combinación con la IL-6 precisarían un mayor ajuste dada la importante pérdida de sensibilidad. Por último, los pacientes seleccionados han sido todos los vistos en la consulta sin tener en cuenta el tiempo de inicio de la enfermedad u otras variables que pudieran influir en la actividad de la enfermedad.

Entre las fortalezas del estudio, destacamos que es el primero en analizar de forma conjunta las principales manifestaciones clínicas y hallazgos en determinadas pruebas complementarias para diferentes marcadores inflamatorios (IL-6, VSG y PCR), ya sea de forma individual o en combinación, en pacientes con esclerodermia, buscando un valor que nos permita la detección precoz de la actividad.

Otro punto fuerte del estudio ha sido la realización de un estudio longitudinal con el objetivo de conocer el tiempo medio en el que los pacientes pueden presentar actividad para niveles concretos de IL-6 de forma individual o en combinación con el resto de marcadores analizados.

Como continuación a este trabajo, proponemos realizar estudios multicéntricos con un mayor número de pacientes que permita aumentar la potencia y poder

definir con mayor precisión nuevos puntos de corte en combinación de la IL-6 con la VSG y PCR que nos permitiesen la detección precoz de un mayor número de pacientes con actividad y, además, poder estratificarlos en función de características relevantes de la enfermedad para valorar si los niveles de los diferentes marcadores inflamatorios son similares en todos ellos.

Aunque según nuestros resultados, los valores de los diferentes marcadores inflamatorios estudiados no se alteran en los 24 meses de seguimiento, se deberían realizar estudios específicos prospectivos incluyendo pacientes al diagnóstico que permitiesen homogeneizar la población seleccionada.



## *CONCLUSIONES*



- 1- La no existencia de diferencias significativas entre los niveles de marcadores inflamatorios a lo largo del tiempo, nos hace pensar que el nivel de los mismos depende de la actividad de la enfermedad y no de su tiempo de evolución.
- 2- Existe asociación significativa entre las principales manifestaciones clínicas y analíticas de la esclerodermia y el aumento de los marcadores inflamatorios analizado excepto para las úlceras digitales activas y la afectación esofágica.
- 3- Dada su alta sensibilidad, niveles de IL-6 por encima de 2 pg/ml son útiles para detectar afectación cardio-pulmonar y/o actividad clínica. Sin embargo, a pesar de su alta especificidad, niveles de velocidad de sedimentación globular menores a 40 mm/h y de proteína C reactiva por debajo de 1 mg/dl no han dado buenos resultados para descartar actividad.
- 4- Las combinaciones de la IL-6 para valores de 2 pg/ml con VSG mayor a 40 mm/h y/o PCR mayor a 1 mg/dl se asocian con un mayor número de pacientes que ya padecen actividad clínica, hecho que indica que esta combinación de valores no es útil para la detección precoz de actividad.
- 5- Los pacientes con valores de interleuquina-6 por encima de 2 pg/ml y proteína C reactiva mayor a 1 mg/dl presentarán manifestaciones clínicas en un tiempo medio inferior a un año. Si a esta combinación le añadimos valores de VSG mayores a 40 mm/h, el tiempo medio en presentar afectación cardio-pulmonar es inferior a 9 meses. Este resultado permite modificar los plazos establecidos en la realización de las diferentes pruebas complementarias con la finalidad de establecer un diagnóstico precoz.



## *BIBLIOGRAFÍA*



1. Carwile LeRoy E, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, et al. Scleroderma (systemic sclerosis): Classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol.* 1988;15(2):202–5.
2. Gabrielli A, Avvedimento E V, Krieg T. Scleroderma. *N Engl J Med.* 2009;360(19):1989–2003.
3. Johnson SR, Feldman BM, Hawker GA. Classification criteria for systemic sclerosis subsets. *J Rheumatol.* 2007;34(9):1855–63.
4. Varga J, Denton CP, Wigley FM. Scleroderma: From pathogenesis to comprehensive management. *Scleroderma: From Pathogenesis to Comprehensive Management.* 2012.
5. RODNAN GP, BENEDEK TG. An historical account of the study of progressive systemic sclerosis (diffuse scleroderma). *Ann Intern Med.* 1962;
6. Romero Huesca A, Ramírez Bollas J, López Schietekat R, Cuevas Velasco G, Francisco De la Orta Rementería J, Fernando Trejo Guzmán L, et al. Galeno de Pérgamo: Pionero en la historia de la ciencia que introduce los fundamentos científicos de la medicina. *An médicos.* 2011;
7. C. Curzio. Discussioni Anatomico-Pratiche di un raro e stravagante morbo cutaneo in una giovane Donna felicemente curato in questo grande Ospedale degli Incurabili. Napoli: Giovanni di Simone. 1753;
8. Thirial H. De scléreme des adultes. Identité de cettomaladie et de celle que M. Forget, de Strasbourg, vient de présenter comme nouvelle sous le nom de chorionitis. –Discussion sur la nature de cette affection singulière. *Union Méd.* 1847;1(422):430.
9. Chiffrot H, Fautrel B, Sordet C, Chatelus E, Sibilia J. Incidence and prevalence of systemic sclerosis: a systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum.* 2008;37(4):223–35.
10. Mayes MD, Lacey Jr. J V, Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B, Laing TJ, et al. Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum.* 2003;48(8):2246–55.
11. Reveille JD. Ethnicity and race and systemic sclerosis: how it affects

- susceptibility, severity, antibody genetics, and clinical manifestations. *Curr Rheumatol Rep.* 2003;5(2):160–7.
12. Englert H, Small-McMahon J, Chambers P, O'Connor H, Davis K, Manolios N, et al. Familial risk estimation in systemic sclerosis. *Aust N Z J Med.* 1999;29(1):36–41.
  13. Agarwal SK, Tan FK, Arnett FC. Genetics and Genomic Studies in Scleroderma (Systemic Sclerosis). *Rheum Dis Clin North Am.* 2008;34(1):17–40.
  14. Loubière 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.* 2005;44(3):318–22.
  15. Nietert PJ, Silver RM. Systemic sclerosis: environmental and occupational risk factors. *Curr Opin Rheumatol.* 2000;12(6):520–6.
  16. Nelson JL, Furst DE, Maloney S, Gooley T, Evans PC, Smith A, et al. Microchimerism and HLA-compatible relationships of pregnancy in scleroderma. *Lancet (London, England).* 1998;351(9102):559–62.
  17. Artlett CM, Smith JB, Jimenez SA. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis. *N Engl J Med.* 1998;338(17):1186–91.
  18. Zimmermann AF, Pizzichini MMM. Update on the etiopathogenesis of systemic sclerosis. *Rev Bras Reumatol (English Ed.)* 2013;
  19. Svegliati Baroni S, Santillo M, Bevilacqua F, Luchetti M, Spadoni T, Mancini M, et al. Stimulatory Autoantibodies to the PDGF Receptor in Systemic Sclerosis. *N Engl J Med.* 2006;354(25):2667–76.
  20. Magro L, Catteau B, Coiteux V, Bruno B, Jouet JP, Yakoub-Agha I. Efficacy of imatinib mesylate in the treatment of refractory sclerodermatous chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant.* 2008;42(11):757–60.
  21. Prescott RJ, Freemont AJ, Jones CJP, Hoyland J, Fielding P. Sequential dermal microvascular and perivascular changes in the development of scleroderma. *J Pathol.* 1992;166(3):255–63.
  22. Fleischmajer R, Perlish JS. Capillary alterations in scleroderma. *J Am Acad*

- Dermatol. 1980;2(2):161–70.
23. Harrison N, Myers A, Corrin B, G S, Dewar A, Black C, et al. Structural features of interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Am Rev Respir Dis.* 1991;144(3 Pt 1):706–13.
  24. Hoskins LC, Norris HT, Gottlieb LS, Zamcheck N. Functional and morphologic alterations of the gastrointestinal tract in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Am J Med.* 1962;33:459–70.
  25. Fleischmajer R, Perlish JS, West WP. Ultrastructure of Cutaneous Cellular Infiltrates in Scleroderma. *Arch Dermatol.* 1977;113(12):1661–6.
  26. Fleming JN, Nash RA, McLeod DO, Florentino DF, Shulman HM, Connolly MK, et al. Capillary regeneration in scleroderma: Stem cell therapy reverses phenotype? *PLoS One.* 2008;3(1):1452.
  27. Distler O, Distler JHW, Scheid A, Acker T, Hirth A, Rethage J, et al. Uncontrolled expression of vascular endothelial growth factor and its receptors leads to insufficient skin angiogenesis in patients with systemic sclerosis. *Circ Res.* 2004;95(1):109–16.
  28. Davies CA, Jeziorska M, Freemont AJ, Herrick AL. The differential expression of VEGF, VEGFR-2, and GLUT-1 proteins in disease subtypes of systemic sclerosis. *Hum Pathol.* 2006;37(2):190–7.
  29. Kuwana M, Okazaki Y, Yasuoka H, Kawakami Y, Ikeda Y. Defective vasculogenesis in systemic sclerosis. *Lancet.* 2004;364(9434):603–10.
  30. Cipriani P, Guiducci S, Miniati I, Cinelli M, Urbani S, Marrelli A, et al. Impairment of endothelial cell differentiation from bone marrow-derived mesenchymal stem cells: new insight into the pathogenesis of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2007;56(6):1994–2004.
  31. Fleming JN, Nash RA, McLeod DO, Florentino DF, Shulman HM, Connolly MK, et al. Capillary regeneration in scleroderma: Stem cell therapy reverses phenotype? *PLoS One.* 2008;3(1):e1452.
  32. Scheja A, Wildt M, Wollheim FA, Åkesson A, Saxne T. Circulating collagen metabolites in systemic sclerosis. Differences between limited and diffuse form

- and relationship with pulmonary involvement. *Rheumatology*. 2000;39(10):1110–3.
33. Hebbar M, Peyrat JP, Hornez L, Hatron PY, Hachulla E, Devulder B. Increased concentrations of the circulating angiogenesis inhibitor endostatin in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2000;43(4):889–93.
  34. Sainson RCA, Johnston DA, Chu HC, Holderfield MT, Nakatsu MN, Crampton SP, et al. TNF primes endothelial cells for angiogenic sprouting by inducing a tip cell phenotype. *Blood*. 2008;111(10):4997–5007.
  35. Perlish JS, Lemlich G, Fleischmajer R. Identification of collagen fibrils in scleroderma skin. *J Invest Dermatol*. 1988;90(1):48–54.
  36. Fleischmajer R, Jacobs L, Schwartz E, Sakai LY. Extracellular microfibrils are increased in localized and systemic scleroderma skin. *Lab Invest*. 1991;64(6):791–8.
  37. Kahaleh B. Vascular disease in scleroderma: mechanisms of vascular injury. *Rheum Dis Clin North Am*. 2008;34(1):57–71.
  38. 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;98(3):785–92.
  39. Allanore Y, Batteux F, Avouac J, Assous N, Weill B, Kahan A. Levels of circulating endothelial progenitor cells in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2007;25(1):60–6.
  40. Avouac J, Juin F, Wipff J, Couraud PO, Chiocchia G, Kahan A, et al. Circulating endothelial progenitor cells in systemic sclerosis: association with disease severity. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(10):1455–60.
  41. Stellos K, Langer H, Daub K, Schoenberger T, Gauss A, Geisler T, et al. Platelet-derived stromal cell-derived factor-1 regulates adhesion and promotes differentiation of human CD34+ cells to endothelial progenitor cells. *Circulation*. 2008;117(2):206–15.
  42. Thuan DTB, Zayed H, Eid AH, Abou-Saleh H, Nasrallah GK, Mangoni AA, et al. A Potential Link Between Oxidative Stress and Endothelial-to-Mesenchymal

- Transition in Systemic Sclerosis. *Front Immunol* [Internet]. 2018;9(September):1–14. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.01985/full>
43. Sundberg C, Ivarsson M, Gerdin B, Rubin K. Pericytes as collagen-producing cells in excessive dermal scarring. *Lab Invest*. 1996;74(2):452–66.
  44. Rajkumar VS, Howell K, Csiszar K, Denton CP, Black CM, Abraham DJ. Shared expression of phenotypic markers in systemic sclerosis indicates a convergence of pericytes and fibroblasts to a myofibroblast lineage in fibrosis. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(5):R1113-23.
  45. Orledge A, D'Amore PA. Inhibition of capillary endothelial cell growth by pericytes and smooth muscle cells. *J Cell Biol*. 1987;105(3):1455–62.
  46. Rajkumar VS, Sundberg C, Abraham DJ, Rubin K, Black CM. Activation of microvascular pericytes in autoimmune Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 1999;42(5):930–41.
  47. Helmbold P, Fiedler E, Fischer M, Marsch WC. Hyperplasia of dermal microvascular pericytes in scleroderma. *J Cutan Pathol*. 2004;31(6):431–40.
  48. Rajkumar VS, Howell K, Csiszar K, Denton CP, Black CM, Abraham DJ. Shared expression of phenotypic markers in systemic sclerosis indicates a convergence of pericytes and fibroblasts to a myofibroblast lineage in fibrosis. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(5):1113–23.
  49. Kawakami T, Ihn H, Xu W, Smith E, LeRoy C, Trojanowska M. Increased expression of TGF- $\beta$  receptors by scleroderma fibroblasts: Evidence for contribution of autocrine TGF- $\beta$  signaling to scleroderma phenotype. *J Invest Dermatol*. 1998;110(1):47–51.
  50. Bellini A, Mattoli S. The role of the fibrocyte, a bone marrow-derived mesenchymal progenitor, in reactive and reparative fibroses. *Lab Investig*. 2007;87(9):858–70.
  51. Roumm AD, Whiteside TL, Medsger Jr. TA, Rodnan GP. Lymphocytes in the skin of patients with progressive systemic sclerosis. Quantification, subtyping, and clinical correlations. *Arthritis Rheum*. 1984;27(6):645–53.

52. Mavalia C, Scaletti C, Romagnani P, Carossino AM, Pignone A, Emmi L, et al. Type 2 helper T-cell predominance and high CD30 expression in systemic sclerosis. *Am J Pathol.* 1997;151(6):1751–8.
53. Hasegawa M, Fujimoto M, Kikuchi K, Takehara K. Elevated serum levels of interleukin 4 (IL-4), IL-10, and IL-13 in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 1997;24(2):328–32.
54. Hasegawa M, Sato S, Fujimoto M, Ihn H, Kikuchi K, Takehara K. Serum levels of interleukin 6 (IL-6), oncostatin M, soluble IL-6 receptor, and soluble gp130 in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 1998;25(2):308–13.
55. Whitfield ML, Finlay DR, Murray JI, Troyanskaya OG, Chi J-T, Pergamenschikov A, et al. Systemic and cell type-specific gene expression patterns in scleroderma skin. *Proc Natl Acad Sci.* 2003;100(21):12319–24.
56. Duncan MR, Berman B. Stimulation of collagen and glycosaminoglycan production in cultured human adult dermal fibroblasts by recombinant human interleukin 6. *J Invest Dermatol.* 1991;97(4):686–92.
57. Snapper CM, Waegell W, Beernink H, Dasch JR. Transforming growth factor-beta 1 is required for secretion of IgG of all subclasses by LPS-activated murine B cells in vitro. *J Immunol.* 1993;151(9):4625–36.
58. Nguyen X-X, Muhammad L, Nietert PJ, Feghali-Bostwick C. IGFBP-5 Promotes Fibrosis via Increasing Its Own Expression and That of Other Pro-fibrotic Mediators. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2018;9(October):1–11. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2018.00601/full>
59. Peltzer J, Aletti M, Frescaline N, Busson E, Lataillade J-J, Martinaud C. Mesenchymal Stromal Cells Based Therapy in Systemic Sclerosis: Rational and Challenges. *Front Immunol* [Internet]. 2018;9(September):1–15. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.02013/full>
60. Ivarsson M, McWhirter A, Black CM, Rubin K. Impaired regulation of collagen Pro- $\alpha$ 1(I) mRNA and change in pattern of collagen-binding integrins on scleroderma fibroblasts. *J Invest Dermatol.* 1993;101(2):216–21.
61. Asano Y, Ihn H, Yamane K, Jinnin M, Mimura Y, Tamaki K. Increased Expression of Integrin  $\alpha$ 3 Contributes to the Establishment of Autocrine TGF-

- Signaling in Scleroderma Fibroblasts. *J Immunol.* 2005;175(11):7708–18.
62. Mimura Y, Ihn H, Jinnin M, Asano Y, Yamane K, Tamaki K. Constitutive thrombospondin-1 overexpression contributes to autocrine transforming growth factor- $\beta$  signaling in cultured scleroderma fibroblasts. *Am J Pathol.* 2005;166(5):1451–63.
63. Leask A, Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB J.* 2004;53(2):74–7.
64. Yamakage A, Kikuchi K, Smith EA, LeRoy EC, Trojanowska M. Selective upregulation of platelet-derived growth factor alpha receptors by transforming growth factor beta in scleroderma fibroblasts. *J Exp Med.* 1992;175(5):1227–34.
65. Gay S, Jones RE, Huang G qiang, Gay RE. Immunohistologic demonstration of platelet-derived growth factor (PDGF) and sis-oncogene expression in scleroderma. *J Invest Dermatol.* 1989;92(2):301–3.
66. Klareskog L, Gustafsson R, Scheynius A, Hällgren R. Increased expression of platelet-derived growth factor type B receptors in the skin of patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1990;33(10):1534–41.
67. Makino K, Makino T, Stawski L, Mantero JC, Lafyatis R, Simms R, et al. Blockade of PDGF Receptors by Crenolanib Has Therapeutic Effect in Patient Fibroblasts and in Preclinical Models of Systemic Sclerosis. *J Invest Dermatol.* 2017;137(8):1671–81.
68. Akhmetshina A, Dees C, Pileckyte M, Maurer B, Axmann R, Jungel A, et al. Dual inhibition of c-abl and PDGF receptor signaling by dasatinib and nilotinib for the treatment of dermal fibrosis. *FASEB J.* 2008;22(7):2214–22.
69. Artlett CM. The IL-1 family of cytokines. Do they have a role in scleroderma fibrosis? *Immunol Lett.* 2018;195:30–7.
70. Dantas AT, de Almeida AR, Sampaio MCPD, Cordeiro MF, da Rocha LF, de Oliveira PSS, et al. Corticosteroid inhibits chemokines production in systemic sclerosis patients. *Steroids.* 2017;127:24–30.
71. Bălănescu P, Lădaru A, Bălănescu E, Nicolau A, Băicuș C, Dan GA. IL-17, IL-6 and IFN- $\gamma$  in systemic sclerosis patients. *Rom J Intern Med* [Internet].

- 2015;53(1):1–6. Available from:  
<https://www.degruyter.com/view/j/rjim.2015.53.issue-1/rjim-2015-0006/rjim-2015-0006.xml>
72. Takehara K. Hypothesis: Pathogenesis of systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2003;30(4):755–9.
  73. Shi-wen X, Kennedy L, Renzoni EA, Bou-Gharios G, Du Bois RM, Black CM, et al. Endothelin is a downstream mediator of profibrotic responses to transforming growth factor  $\beta$  in human lung fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2007;56(12):4189–94.
  74. Sambo P, Baroni SS, Luchetti M, Paroncini P, Dusi S, Orlandini G, et al. Oxidative stress in scleroderma: Maintenance of scleroderma fibroblast phenotype by the constitutive up-regulation of reactive oxygen species generation through the NADPH oxidase complex pathway. *Arthritis Rheum.* 2001;44(11):2653–64.
  75. Sambo P, Jannino L, Candela M, Salvi A, Donini M, Dusi S, et al. Monocytes of patients with systemic sclerosis (scleroderma) spontaneously release in vitro increased amounts of superoxide anion. *J Invest Dermatol.* 1999;112(1):78–84.
  76. Servettaz A, Guilpain P, Goulvestre C, Chéreau C, Hercend C, Nicco C, et al. Radical oxygen species production induced by advanced oxidation protein products predicts clinical evolution and response to treatment in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(9):1202–9.
  77. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008;454(7203):436–44.
  78. Svegliati S, Canello R, Sambo P, Luchetti M, Paroncini P, Orlandini G, et al. Platelet-derived growth factor and reactive oxygen species (ROS) regulate Ras protein levels in primary human fibroblasts via ERK1/2: Amplification of ROS and Ras in systemic sclerosis fibroblasts. *J Biol Chem.* 2005;280(43):36474–82.
  79. Lassègue B, Sorescu D, Szöcs K, Yin QQ, Akers M, Zhang Y, et al. Novel gp91phoxhomologues in vascular smooth muscle cells: Nox1 mediates angiotensin II-induced superoxide formation and redox-sensitive signaling pathways. *Circ Res.* 2001;88(9):888–94.

80. Sturrock A, Cahill B, Norman K, Huecksteadt TP, Hill K, Sanders K, et al. Transforming growth factor-beta1 induces Nox4 NAD(P)H oxidase and reactive oxygen species-dependent proliferation in human pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006;290(4):L661–73.
81. Murrell G a, Francis MJ, Bromley L. Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. *Biochem J*. 1990;265(3):659–65.
82. Bellocq A, Azoulay E, Marullo S, Flahault A, Fouqueray B, Philippe C, et al. Reactive oxygen and nitrogen intermediates increase transforming growth factor-beta1 release from human epithelial alveolar cells through two different mechanisms. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1999;21(1):128–36.
83. Barcellos-Hoff MH, Dix T a. Redox-mediated activation of latent transforming growth factor-beta 1. *Mol Endocrinol Balt Md*. 1996;10(9):1077–83.
84. Maul GG, Jimenez SA. Mononuclear cellular infiltrates in clinically involved skin from patients with systemic sclerosis of recent onset predominantly consist of monocytes/macrophages. *Pathobiology*. 1995;63(1):48–56.
85. Varga JA, Trojanowska M. Fibrosis in Systemic Sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2008;34(1):115–43.
86. Silverstein JL, Steen VD, Medsger TAJ, Falanga V. Cutaneous hypoxia in patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Arch Dermatol*. 1988;124(9):1379–82.
87. Johnson SR, Fransen J, Khanna D, Baron M, Van Den Hoogen F, Medsger TA, et al. Validation of potential classification criteria for systemic sclerosis. *Arthritis Care Res*. 2012;64(3):358–67.
88. Masi A. 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;23(5):581–90.
89. Walker JG, Pope J, Baron M, LeClercq S, Hudson M, Taillefer S, et al. The development of systemic sclerosis classification criteria. *Clin Rheumatol*. 2007;26(9):1401–9.

90. Clements P, Lachenbruch P, Siebold J, White B, Weiner S, Martin R, et al. Inter and intraobserver variability of total skin thickness score (Modified Rodnan TSS) in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 1995;22(7):1281–5.
91. LeRoy EC, Medsger J. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2001;28(7):1573–6.
92. Fransen J, Johnson SR, Van Den Hoogen F, Baron M, Allanore Y, Carreira PE, et al. Items for developing revised classification criteria in systemic sclerosis: Results of a consensus exercise. *Arthritis Care Res.* 2012;64(3):351–7.
93. Van Den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An american college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2737–47.
94. Park JS, Park MC, Song JJ, Park YB, Lee SK, Lee SW. Application of the 2013 ACR/EULAR classification criteria for systemic sclerosis to patients with Raynaud’s phenomenon. *Arthritis Res Ther.* 2015;22(17):177.
95. Melchor S, Joven BE, Andreu JL, Loza E, Garcia de Yebenes MJ, Carmona L, et al. Validation of the 2013 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for systemic sclerosis in patients from a capillaroscopy clinic. *Semin Arthritis Rheum.* 2016;46(3):350–5.
96. Alhajeri H, Hudson M, Fritzler M, Pope J, Tatibouet S, Markland J, et al. 2013 american college of rheumatology/european league against rheumatism classification criteria for systemic sclerosis outperform the 1980 criteria: Data from the canadian scleroderma research group. *Arthritis Care Res.* 2015;67(4):528–7.
97. Rubio-Rivas M, Corbella X, Pestaña-Fernández M, Tolosa-Vilella C, Castillo AG del, Colunga-Argüelles D, et al. Correction to: First clinical symptom as a prognostic factor in systemic sclerosis: results of a retrospective nationwide cohort study. *Clin Rheumatol.* 2018;37(4):999–1009.
98. Meyer OC, Fertig N, Lucas M, Somogyi N, Medsger TA. Disease subsets, antinuclear antibody profile, and clinical features in 127 French and 247 US adult patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2007;34(1):104–9.

99. Hunzelmann N, Genth E, Krieg T, Lehmacher W, Melchers I, Meurer M, et al. The registry of the German Network for Systemic Scleroderma: frequency of disease subsets and patterns of organ involvement. *Rheumatol Oxford Engl*. 2008;47(8):1185–92.
100. Ferri C, Valentini G, Cozzi F, Sebastiani M, Michelassi C, La Montagna G, et al. Systemic sclerosis: Demographic, clinical, and serologic features and survival in 1,012 Italian patients. *Medicine (Baltimore)*. 2002;81(2):139–53.
101. Bassel M, Hudson M, Taillefer SS, Schieir O, Baron M, Thombs BD. Frequency and impact of symptoms experienced by patients with systemic sclerosis: results from a Canadian National Survey. *Rheumatology*. 2011;50(4):762–7.
102. Sandusky SB, McGuire L, Smith MT, Wigley FM, Haythornthwaite JA. Fatigue: An overlooked determinant of physical function in scleroderma. *Rheumatology*. 2009;48(2):165–9.
103. Graña D, Vargas A, Berez A, Goñi M, Danza A. Esclerosis sistémica: forma de presentación y manejo terapéutico. Experiencia de un grupo de trabajo en Enfermedades Autoinmunes Sistémicas. *Rev Urug Med Interna*. 2018;
104. Åkesson A, Wollheim FA. Organ manifestations in 100 patients with progressive systemic sclerosis: A comparison between the crest syndrome and diffuse scleroderma. *Rheumatology*. 1989;28(4):281–6.
105. Ebert EC. Esophageal disease in scleroderma. *J Clin Gastroenterol*. 2006;40(9):769–75.
106. Ntoumazios SK, Voulgari P V., Potsis K, Koutis E, Tsifetaki N, Assimakopoulos DA. Esophageal Involvement in Scleroderma: Gastroesophageal Reflux, the Common Problem. *Semin Arthritis Rheum*. 2006;36(3):173–81.
107. Amoda O, Ravat V, Datta S, Saroha B, Patel RS, RS P. Trends in Demographics, Hospitalization Outcomes, Comorbidities, and Mortality Risk among Systemic Sclerosis Patients. *Cureus [Internet]*. 2018;10(5):e2628. Available from: [http://europepmc.org/search?query=\(DOI:10.7759/cureus.2628\)%0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6044481/](http://europepmc.org/search?query=(DOI:10.7759/cureus.2628)%0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6044481/)
108. Ebert EC. Gastric and enteric involvement in progressive systemic sclerosis. *J*

- Clin Gastroenterol. 2008;42(1):5–12.
109. Shreiner AB, Khanna D. Gastrointestinal Involvement in Systemic Sclerosis. In: Handbook of Systemic Autoimmune Diseases. 2017.
  110. Kumar S, Singh J, Rattan S, DiMarino AJ, Cohen S, Jimenez SA. Review article: pathogenesis and clinical manifestations of gastrointestinal involvement in systemic sclerosis. Aliment Pharmacol Ther. 2017;45(7):883–98.
  111. Steen VD, Medsger TA. Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972-2002. Ann Rheum Dis. 2007;66(7):940–4.
  112. Allanore Y, Meune C, Kahan A. Outcome measures for heart involvement in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2008;47:51–3.
  113. Wig S, Wilkinson J, Moore T, Manning J, Chevance A, Vail A, et al. Cardiovascular disease in systemic sclerosis. Arthritis Care Res. 2014;
  114. Gaffney FA, Anderson RJ, Nixon J V., Blomqvist CG, Moore WE. Cardiovascular function in patients with progressive systemic sclerosis (scleroderma). Clin Cardiol. 1982;5(11):569–76.
  115. Badui E, Robles E, Hernandez C, Garcia Rubi D, Mintz G. [Cardiovascular manifestations in progressive systemic sclerosis]. Arch Inst Cardiol Mex. 1985;55(3):263–8.
  116. Ferri C, Giuggioli D, Sebastiani M, Colaci M, Emdin M. Heart involvement and systemic sclerosis. Lupus. 2005;14(9):702–7.
  117. Ostojić P, Damjanov N. Different clinical features in patients with limited and diffuse cutaneous systemic sclerosis. Clin Rheumatol. 2006;25(4):453–7.
  118. Baron M, Lee P, Keystone EC. The articular manifestations of progressive systemic sclerosis (scleroderma). Ann Rheum Dis. 1982;41(2):147–52.
  119. Steen VD, Medsger TA. The palpable tendon friction rub: An important physical examination finding in patients with systemic sclerosis. Arthritis Rheum. 1997;40(6):1146–51.
  120. Akesson A, Fiori G, Krieg T, Van Den Hoogen FHJ, Seibold JR. Assessment of skin, joint, tendon and muscle involvement. Clin Exp Rheumatol. 2003;21(3

Suppl 29):S5-8.

121. Medsger TA, Rodnan GP, Moossy J, Vester JW. Skeletal muscle involvement in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis & Rheum.* 1968;11(4):554–68.
122. Ranque B, Authier FJ, Berezne A, Guillevin L, Mouthon L. Systemic sclerosis-associated myopathy. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1108:268–82.
123. Traub YM, Shapiro AP, Rodnan GP, Medsger TA, McDonald RH, Steen VD, et al. Hypertension and renal failure (scleroderma renal crisis) in progressive systemic sclerosis: Review of a 25-year experience with 68 cases. *Med (United States).* 1983;62:335.
124. Steen VD, Syzd A, Johnson JP, Greenberg A, Medsger TA. Kidney disease other than renal crisis in patients with diffuse scleroderma. *J Rheumatol.* 2005;32:649.
125. Steen VD, Medsger TA, Osial TA, Ziegler GL, Shapiro AP, Rodnan GP. Factors predicting development of renal involvement in progressive systemic sclerosis. *Am J Med.* 1984;76:779.
126. O'Callaghan CA. Renal manifestations of systemic autoimmune disease: Diagnosis and therapy. *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology.* 2004. p. 411.
127. Penn H, Howie AJ, Kingdon EJ, Bunn CC, Stratton RJ, Black CM, et al. Scleroderma renal crisis: Patient characteristics and long-term outcomes. *QJM.* 2007. p. 100:485.
128. Teixeira L, Mouthon L, Mahr A, Berezné A, Agard C, Mehrenberger M, et al. Mortality and risk factors of scleroderma renal crisis: A French retrospective study of 50 patients. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:110.
129. Guillevin L, Bérezné A, Seror R, Teixeira L, Pourrat J, Mahr A, et al. Scleroderma renal crisis: A retrospective multicentre study on 91 patients and 427 controls. *Rheumatology.* 2012;51:460.
130. Helfrich DJ, Banner B, Steen VD, Medsger TA. Normotensive renal failure in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1989;32:1128.

131. DeMarco PJ, Weisman MH, Seibold JR, Furst DE, Wong WK, Hurwitz EL, et al. Predictors and outcomes of scleroderma renal crisis: The High-Dose Versus Low-Dose D-Penicillamine in early diffuse systemic sclerosis trial. *Arthritis Rheum.* 2002;46:2983.
132. Steen VD, Medsger TA. Case-control study of corticosteroids and other drugs that either precipitate or protect from the development of scleroderma renal crisis. *Arthritis Rheum.* 1998;41:1613.
133. Gordon SM, Stitt RS, Nee R, Bailey WT, Little DJ, Knight KR, et al. Risk Factors for Future Scleroderma Renal Crisis at Systemic Sclerosis Diagnosis. *J Rheumatol.* 2018;46:85.
134. Nguyen B, Assassi S, Arnett FC, Mayes MD. Association of RNA polymerase III antibodies with scleroderma renal crisis. *Journal of Rheumatology.* 2010. p. 37:1068.
135. Launay D, Baubet T, Cottencin O, Berezne A, Zephir H, Morell-Dubois S, et al. [Neuropsychiatric manifestations in systemic sclerosis]. *Press Med.* 2010;39(5):539–47.
136. Campello Morer I, Velilla Marco J, Hortells Aznar JL, Almárcegui Lafita C, Barrena Caballo R, Oliveros Juste A. [Neurological involvement in systemic sclerosis]. *Rev Clin Esp.* 2003;203(8):373–7.
137. Amaral TN, Peres FA, Lapa AT, Marques-Neto JF, Appenzeller S. Neurologic involvement in scleroderma: A systematic review. *Semin Arthritis Rheum.* 2013;43(3):335–47.
138. Sousa-Neves J, Cerqueira M, Santos-Faria D, Afonso C, Teixeira F. Neuropathic pain in Systemic Sclerosis patients: A cross-sectional study. *Reumatol Clin.* 2018;31:[Epub ahead of print].
139. Paik JJ, Mammen AL, Wigley FM, Shah AA, Hummers LK, Polydefkis M. Symptomatic and Electrodiagnostic Features of Peripheral Neuropathy in Scleroderma. *Arthritis Care Res.* 2016;68(8):1150–7.
140. Kowal-Bielecka O, Fransen J, Avouac J, Becker M, Kulak A, Allanore Y, et al. Update of EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(8):1327–39.

141. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Goldin J, Roth MD, Furst DE, et al. Cyclophosphamide versus Placebo in Scleroderma Lung Disease. *N Engl J Med*. 2006;354(325):2655–66.
142. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Roth MD, Furst DE, Silver RM, et al. Effects of 1-year treatment with cyclophosphamide on outcomes at 2 years in scleroderma lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176(10):1026–34.
143. Simeón-Aznar CP, Fonollosa-Plá V, Tolosa-Vilella C, Selva-O’Callaghan A, Solans-Laqué R, Vilardell-Tarrés M. Effect of mycophenolate sodium in scleroderma-related interstitial lung disease. *Clin Rheumatol*. 2011;30:1393–8.
144. Tzouvelekis A, Galanopoulos N, Bouros E, Kolios G, Zacharis G, Ntoliou P, et al. Effect and safety of mycophenolate mofetil or sodium in systemic sclerosis-associated interstitial lung disease: A meta-analysis. *Pulm Med*. 2012;2012:143637.
145. Tashkin DP, Roth MD, Clements PJ, Furst DE, Khanna D, Kleeerup EC, et al. Mycophenolate mofetil versus oral cyclophosphamide in scleroderma-related interstitial lung disease (SLS II): a randomised controlled, double-blind, parallel group trial. *Lancet Respir Med*. 2016;4(9):708–19.
146. Dheda K, Laloo UG, Cassim B, Mody GM. Experience with azathioprine in systemic sclerosis associated with interstitial lung disease. *Clin Rheumatol*. 2004;23:306.
147. Nadashkevich O, Davis P, Fritzler M, Kovalenko W. A randomized unblinded trial of cyclophosphamide versus azathioprine in the treatment of systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*. 2006;25:205–12.
148. Daoussis D, Melissaropoulos K, Sakellaropoulos G, Antonopoulos I, Markatseli TE, Simopoulou T, et al. A multicenter, open-label, comparative study of B-cell depletion therapy with Rituximab for systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Semin Arthritis Rheum*. 2017;46(5):625–31.
149. Keir GJ, Maher TM, Hansell DM, Denton CP, Ong VH, Singh S, et al. Severe interstitial lung disease in connective tissue disease: Rituximab as rescue therapy. *Eur Respir J*. 2012;40(3):641–8.
150. Saunders P, Tshipouri V, Keir GJ, Ashby D, Flather MD, Parfrey H, et al.

- Rituximab versus cyclophosphamide for the treatment of connective tissue disease-associated interstitial lung disease (RECITAL): Study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. 2017;18(1):275.
151. van Laar JM, Naraghi K, Tyndall A. Haematopoietic stem cell transplantation for poor-prognosis systemic sclerosis. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2015;54:2126–33.
  152. Khanna D, Saggar R, Mayes MD, Abtin F, Clements PJ, Maranian P, et al. A one-year, phase I/IIa, open-label pilot trial of imatinib mesylate in the treatment of systemic sclerosis-associated active interstitial lung disease. *Arthritis Rheum*. 2011;63:2540–6.
  153. Fraticelli P, Gabrielli B, Pomponio G, Valentini G, Bosello S, Riboldi P, et al. Low-dose oral imatinib in the treatment of systemic sclerosis interstitial lung disease unresponsive to cyclophosphamide: A phase II pilot study. *Arthritis Res Ther*. 2014;16:R144.
  154. Mukerjee D, St George D, Coleiro B, Knight C, Denton CP, Davar J, et al. Prevalence and outcome in systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension: Application of a registry approach. *Ann Rheum Dis*. 2003;62:1088–93.
  155. Humbert M, Yaici A, De Groote P, Montani D, Sitbon O, Launay D, et al. Screening for pulmonary arterial hypertension in patients with systemic sclerosis: Clinical characteristics at diagnosis and long-term survival. *Arthritis Rheum*. 2011;63:3522–30.
  156. Avdeev SN, TsarEva NA GI. Combination therapy is a new standard for treatment of pulmonary arterial hypertension. *Tek Arkh*. 2018;90(3):72–80.
  157. Burks M, Stickel S, Galiè N. Pulmonary Arterial Hypertension: Combination Therapy in Practice. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2018;18(4):259–257.
  158. Lajoie AC, Bonnet S, Provencher S. Combination therapy in pulmonary arterial hypertension: Recent accomplishments and future challenges. *Pulm Circ*. 2017;7(2):312–25.
  159. Rodnan GP ., Medsger T A Jr. BR. Progressive systemic sclerosis-CREST syndrome: observations on natural history and late complications in 90 patients.

- Arthritis Rheum. 1975;18:43.
160. Hudson M, Baron M, Tatibouet S, Furst DE, Khanna D, Hummers L, et al. Exposure to ACE inhibitors prior to the onset of scleroderma renal crisis-results from the international scleroderma renal crisis survey. *Semin Arthritis Rheum.* 2014;
  161. Tyndall AJ, Bannert B, Vonk M, Airò P, Cozzi F, Carreira PE, et al. Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: A study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(10):1809–15.
  162. Simeón-Aznar CP, Fonollosa-Plá 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. *Med (United States).* 2015;94(43):1728.
  163. Rubio-Rivas M, Royo C, Simeón CP, Corbella X, Fonollosa V. Mortality and survival in systemic sclerosis: Systematic review and meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum.* 2015;44(2):208–19.
  164. Ferri C, Sebastiani M, Lo Monaco A, 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;13(10):1026–34.
  165. Bernal-Bello D, de Tena JG, Guillén-del Castillo A, Selva-O'Callaghan A, Callejas-Moraga EL, Marín-Sánchez AM, et al. Novel risk factors related to cancer in scleroderma. *Autoimmunity Reviews.* 2017. p. 461–8.
  166. 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.* 2003;42(1):71–5.
  167. 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;66(6):1625–35.
  168. Steen VD, Medsger TA. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum.* 2000;43(11):2437–44.

169. Ho KT, Reveille JD. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. *Arthritis Res Ther.* 2003;5(2):80–93.
170. Morrisroe K, Stevens W, Huq M, Prior D, Sahhar J, Ngian GS, et al. Survival and quality of life in incident systemic sclerosis-related pulmonary arterial hypertension. *Arthritis Res Ther.* 2017;19:122.
171. Steen, V. D., Lucas, M., Fertig, N. & Medsger TAJ. Pulmonary arterial hypertension and severe pulmonary fibrosis in systemic sclerosis patients with a nucleolar antibody. *J Rheumatol.* 2007;34:2230–5.
172. Hinchcliff M, Khanna S, Hsu VM, Lee J, Almagor O, Chang RW, et al. Survival in systemic sclerosis-pulmonary arterial hypertension by serum autoantibody status in the Pulmonary Hypertension Assessment and Recognition of Outcomes in Scleroderma (PHAROS) Registry. *Semin Arthritis Rheum.* 2015;45:309–14.
173. van Bon L, Affandi AJ, Broen J, Christmann RB, Marijnissen RJ, Stawski L, et al. Proteome-wide Analysis and CXCL4 as a Biomarker in Systemic Sclerosis. *N Engl J Med.* 2014;370:433.
174. McNearney TA, Reveille JD, Fischbach M, Friedman AW, Lisse JR, Goel N, et al. Pulmonary involvement in systemic sclerosis: Associations with genetic, serologic, sociodemographic, and behavioral factors. *Arthritis Care Res.* 2007;57:318.
175. 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;48:1218–21.
176. Nihtyanova SI, Denton CP. Scleroderma lung involvement, autoantibodies, and outcome prediction: The confounding effect of time. *J Rheumatol.* 2017;44:404–6.
177. Kane GC, Varga J, Conant EF, Spirn PW, Jimenez S, Fish JE. Lung involvement in systemic sclerosis (scleroderma): Relation to classification based on extent of skin involvement or autoantibody status. *Respir Med.* 1996;90:223.
178. Nazzareno Galiè, Marc Humbert, Jean-Luc Vachery, Simon Gibbs, Irene Lang, Adam Torbicki, Gérald Simonneau, Andrew Peacock, Anton Vonk Noordegraaf,

- Maurice Beghetti, Ardeschir Ghofrani, Miguel Angel Gomez Sanchez, Georg Hansmann, Walter Klepetko, Patrizio MH. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur Heart J*. 2015;
179. Hoeper MM, Bogaard HJ, Condliffe R, Frantz R, Khanna D, Kurzyna M, et al. Definitions and diagnosis of pulmonary hypertension. In: *Journal of the American College of Cardiology*. 2013.
180. Khanna D, Gladue H, Channick R, Chung L, Distler O, Furst DE, et al. Recommendations for screening and detection of connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension. *Arthritis Rheum*. 2013;65:3194–201.
181. Coghlan JG, Denton CP, Grünig E, Bonderman D, Distler O, Khanna D, et al. Evidence-based detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: The DETECT study. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(7):1340–9.
182. Young A, Nagaraja V, Basilious M et al. Update of screening and diagnosis modalities for connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension. *Semin Arthritis Rheum*. 2018;in press.
183. Das A, Kumar A, Arrossi AV, Ghosh S, Highland KB. Scleroderma-related interstitial lung disease: principles of management. *Expert Rev Respir Med [Internet]*. 2019;Epub ahead of print.
184. Desai SR, Srihari Veeraraghavan F, David Hansell MM, Ageliki Nikolakopolou F, L Goh NS, Nicholson AG, et al. CT Features of Lung Disease in Patients with Systemic Sclerosis: Comparison with Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Nonspecific Interstitial Pneumonia. *Radiology*. 2004;232:560–7.
185. Buch MH, Denton CP, Furst DE, Guillevin L, Rubin LJ, Wells AU, et al. Submaximal exercise testing in the assessment of interstitial lung disease secondary to systemic sclerosis: Reproducibility and correlations of the 6-min walk test. *Ann Rheum Dis*. 2007;66:169–73.
186. Goh NSL, Desai SR, Veeraraghavan S, Hansell DM, Copley SJ, Maher TM, et al. Interstitial lung disease in systemic sclerosis: A simple staging system. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177:1248–54.
187. Moore OA, Goh N, Corte T, Rouse H, Hennessy O, Thakkar V, et al. Extent of disease on high-resolution computed tomography lung is a predictor of decline

- and mortality in systemic sclerosis-related interstitial lung disease. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2013;52:155–60.
188. Goh NS, Hoyles RK, Denton CP, Hansell DM, Renzoni EA, Maher TM, et al. Short-Term Pulmonary Function Trends Are Predictive of Mortality in Interstitial Lung Disease Associated With Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheumatol*. 2017;69:1670–8.
189. Khanna D, Nagaraja V, Tseng C hong, Abtin F, Suh R, Kim G, et al. Predictors of lung function decline in scleroderma-related interstitial lung disease based on high-resolution computed tomography: Implications for cohort enrichment in systemic sclerosis-associated interstitial lung disease trials. *Arthritis Res Ther*. 2015;17:372.
190. Harel D, Hudson M, Iliescu A, Baron M. Summed and Weighted Summary Scores for the Medsger Disease Severity Scale Compared with the Physician ' s Global Assessment of Disease Severity in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol*. 2016;43(8):1510–8.
191. Kowal-Bielecka O, Landewé R, Avouac J, Chwiesko S, Miniati I, Czirjak L, et al. EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: A report from the EULAR Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR). *Ann Rheum Dis*. 2009;68(5):620–8.
192. Valentini G, Iudici M, Walker UA, Jaeger VK, Baron M, Carreira P, et al. The European Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR) task force for the development of revised activity criteria for systemic sclerosis: Derivation and validation of a preliminarily revised EUSTAR activity index. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(1):270–6.
193. Hasegawa M. Biomarkers in systemic sclerosis: Their potential to predict clinical courses. *J Dermatol*. 2016;43(1):29–38.
194. Chung L, Fairchild RM, Furst DE, Li S, Alkassab F, Bolster MB, et al. Utility of B-type natriuretic peptides in the assessment of patients with systemic sclerosis-associated pulmonary hypertension in the PHAROS registry. *Clin Exp Rheumatol*. 2017;35 Suppl 1(4):106–13.

195. Allanore Y, Komocsi A, Vettori S, Hachulla E, Hunzelmann N, Distler J, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide is a strong predictor of mortality in systemic sclerosis. *Int J Cardiol.* 2016;223:385–9.
196. Allanore Y, Meune C. N-terminal pro brain natriuretic peptide: The new cornerstone of cardiovascular assessment in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2009;27(3 Suppl 54):59–63.
197. Ligon C, Hummers LK. Biomarkers in Scleroderma: Progressing from Association to Clinical Utility. *Curr Rheumatol Rep.* 2016;18(3):17.
198. Affandi AJ, Radstake TRDJ, Marut W. Update on biomarkers in systemic sclerosis: tools for diagnosis and treatment. *Semin Immunopathol.* 2015;37(5):475–87.
199. Kylhammar D, Hesselstrand R, Nielsen S, Scheele C, Rådegran G. Angiogenic and inflammatory biomarkers for screening and follow-up in patients with pulmonary arterial hypertension. *Scand J Rheumatol [Internet].* 2018;47(4):319–24. Available from: <https://doi.org/10.1080/03009742.2017.1378714>
200. Torres Courchoud I, Calvo JIP, Ignacio J, Calvo P. Biomarcadores y práctica clínica. Biomarkers and clinical practice. *An Sist Sanit Navar.* 2016;39(1):5–8.
201. Barsotti S, Bruni C, Orlandi M, Della Rossa A, Marasco E, Codullo V, et al. One year in review 2017: Systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2017;35 Suppl 1(4):3–20.
202. Denton CP, Krieg T, Guillevin L, Schwierin B, Rosenberg D, Silkey M, et al. Demographic, clinical and antibody characteristics of patients with digital ulcers in systemic sclerosis: Data from the DUO Registry. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(5):718–21.
203. Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH, The American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum.* 2002;47(4):434–44.
204. Steen VD, Reveille JD, Solomon DH, Okano Y, Steen VD, Medsger TA, et al. Autoantibodies in Systemic Sclerosis. *Semin Arthritis Rheum.* 2005;35(1):35–42.

205. Walker JG, Fritzler MJ. Update on autoantibodies in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2007;19(6):580–91.
206. Graf SW, Hakendorf P, Lester S, Patterson K, Walker JG, Smith MD, et al. South Australian Scleroderma Register: Autoantibodies as predictive biomarkers of phenotype and outcome. *Int J Rheum Dis*. 2012;15(1):102–9.
207. Earnshaw W, Bordwell B, Marino C, Rothfield N. Three human chromosomal autoantigens are recognized by sera from patients with anti-centromere antibodies. *J Clin Invest*. 1986;77(2):426–30.
208. Rothfield N, Whitaker D, Bordwell B, Weiner E, Senecal J ???L, Earnshaw W. Detection of anticentromere antibodies using cloned autoantigen CENP-B. *Arthritis Rheum*. 1987;84(14):4979–83.
209. Walker UA, Tyndall A, Czirják L, Denton C, Farge-Bancel D, Kowal-Bielecka O, et al. Clinical risk assessment of organ manifestations in systemic sclerosis: A report from the EULAR Scleroderma Trials and Research group database. *Ann Rheum Dis*. 2007;66(6):754–63.
210. Mitri GM, Lucas M, Fertig N, Steen VD, Medsger TA. A comparison between anti-TH/To- and anticentromere antibody-positive systemic sclerosis patients with limited cutaneous involvement. *Arthritis Rheum*. 2003;48(1):203–9.
211. Miyawaki S, Asanuma H, Nishiyama S, Yoshinaga Y. Clinical and serological heterogeneity in patients with anticentromere antibodies. *J Rheumatol*. 2005;32(8):1488–94.
212. AKIYAMA Y, TANAKA M, TAKEISHI M, ADACHI D, MIMORI A, SUZUKI T. Clinical, Serological and Genetic Study in Patients with CREST Syndrome. *Intern Med*. 2000;39(6):451–6.
213. Pakozdi A, Nihtyanova S, Moinzadeh P, Ong VH, Black CM, Denton CP. Clinical and serological hallmarks of systemic sclerosis overlap syndromes. *J Rheumatol*. 2011;38(11):2406–9.
214. 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;254(20):10514–22.

215. Shero JH, Bordwell B, Rothfield NF, Earnshaw WC. High titers of autoantibodies to topoisomerase I (Scl-70) in sera from scleroderma patients. *Science* (80- ). 1986;231(4739):737–40.
216. Basu D, Reveille JD. Anti-scl-70. *Autoimmunity*. 2005;38(1):65–72.
217. Steen VD, Powell DL, Medsger TA. Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 1988;31(2):196–203.
218. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Åkesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2003;42(4):534–40.
219. Hanke K, Dähnrich C, Brückner 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.
220. Chang M, Wang RJ, Yangco DT, Sharp GC, Komatireddy GR, Hoffman RW. Analysis of autoantibodies against RNA polymerases using immunoaffinity-purified RNA polymerase I, II, and III antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Immunol Immunopathol*. 1998;89(1):71–8.
221. Kuwana M, Okano Y, Pandey JP, Silver RM, Fertig N, Medsger TA. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of anti-RNA polymerase III antibody: Analytical accuracy and clinical associations in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2005;52(8):2425–32.
222. Skare TL, Fonseca AE, Luciano AC, Azevedo PM. Autoantibodies in scleroderma and their association with the clinical profile of the disease. A study of 66 patients from southern Brazil. *An Bras Dermatol*. 2012;86(6):1075–81.
223. Sobanski V, Dauchet L, Lefèvre 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;66(2):407–17.
224. 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;91(4):1399–404.

225. Cavazzana I, Angela C, Paolo A, Stefania Z, Angela T, Franco F. Anti-RNA polymerase III antibodies: A marker of systemic sclerosis with rapid onset and skin thickening progression. *Autoimmun Rev.* 2009;8(7):580–4.
226. Satoh M, Ajmani AK, Ogasawara T, Langdon JJ, Hidakata M, Wang J, et al. Autoantibodies to RNA polymerase II are common in systemic lupus erythematosus and overlap syndrome: Specific recognition of the phosphorylated (IIO) form by a subset of human sera. *J Clin Invest.* 1994;94(5):1981–9.
227. Okano Y, Medsger TA. Autoantibody to the ribonucleoprotein (nucleolar 7–2 mRNP protein particle) in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1990;33(12):1822–8.
228. Fischer A, Pfalzgraf FJ, Feghali-Bostwick C a, Wright TM, Curran-Everett D, West SG, et al. Anti-th/to-positivity in a cohort of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *J Rheumatol.* 2006;33(8):1600–5.
229. Kipnis RJ, Craft J, Hardin JA. The analysis of antinuclear and antinucleolar autoantibodies of scleroderma by radioimmunoprecipitation assays. *Arthritis Rheum.* 1990;33(9):1431–7.
230. Tormey VJ, Bunn CC, Denton CP, Black CM. Anti-fibrillarin antibodies in systemic sclerosis. *Rheumatology.* 2001;40(10):1157–62.
231. Aggarwal R, Lucas M, Fertig N, Oddis C V., Medsger TA. Anti-U3 RNP autoantibodies in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2009;60(4):1112–8.
232. Becker MO, Kill A, Kutsche M, Guenther J, Rose A, Tabeling C, et al. Vascular receptor autoantibodies in pulmonary arterial hypertension associated with systemic sclerosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;190(7):808–17.
233. Riemekasten G, Philippe A, Näther M, Slowinski T, Müller DN, Heidecke H, et al. Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(3):530–6.
234. Giovannetti A, Maselli A, Colasanti T, Rosato E, Salsano F, Pisarri S, et al. Autoantibodies to Estrogen Receptor  $\alpha$  in Systemic Sclerosis (SSc) as Pathogenetic Determinants and Markers of Progression. *PLoS One.* 2013;8(9):e74332.

235. Fertig N, Domsic RT, Rodriguez-Reyna T, Kuwana M, Lucas M, Medsger TA, et al. Anti-U11/U12 RNP antibodies in systemic sclerosis: A new serologic marker associated with pulmonary fibrosis. *Arthritis Care Res.* 2009;61(7):958–65.
236. Reichlin M, Maddison PJ, Targoff I, Bunch T, Arnett F, Sharp G, et al. Antibodies to a nuclear/nucleolar antigen in patients with polymyositis overlap syndromes. *J Clin Immunol.* 1984;4(1):40–4.
237. Koschik RW, Fertig N, Lucas MR, Domsic RT, Medsger TA. Anti-PM-scl antibody in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30(2 Suppl 71):S12-6.
238. Genth E, Mierau R, Genetzky P, Von Mühlen CA, Kaufmann S, Wilmowsky H Von, et al. Immunogenetic associations of scleroderma-related antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum.* 1990;33(5):657–65.
239. Oddis C V., Okano Y, Rudert WA, Trucco M, Duquesnoy RJ, Medsger TA. Serum autoantibody to the nucleolar antigen PM-Scl. Clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum.* 1992;35(10):1211–7.
240. Young-Min S a, Beeton C, Laughton R, Plumpton T, Bartram S, Murphy G, et al. Serum TIMP-1, TIMP-2, and MMP-1 in patients with systemic sclerosis, primary Raynaud's phenomenon, and in normal controls. *Ann Rheum Dis.* 2001;60(9):846–51.
241. Scheja A, Åkesson A, Hørslev-Petersen K. Serum levels of aminoterminal type III procollagen peptide and hyaluronan predict mortality in systemic sclerosis. *Scand J Rheumatol.* 1992;21(1):5–9.
242. Abignano G, Cuomo G, Buch MH, Rosenberg WM, Valentini G, Emery P, et al. The enhanced liver fibrosis test: A clinical grade, validated serum test, biomarker of overall fibrosis in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(2):420–7.
243. Barnes T, Gliddon A, Doré CJ, Maddison P, Moots RJ. Baseline vWF factor predicts the development of elevated pulmonary artery pressure in systemic sclerosis. *Rheumatol (United Kingdom).* 2012;51(9):1606–9.
244. Maeda M, Ichiki Y, Aoyama Y, Kitajima Y. Surfactant protein D (SP-D) and systemic scleroderma (SSc). *J Dermatol.* 2001;28(9):467–74.

245. Gheita TA, Hussein H. Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) in systemic sclerosis (SSc): Role in disease severity and subclinical rheumatoid arthritis overlap. *Jt Bone Spine*. 2012;79(1):51–6.
246. Michalska-Jakubus M, Kowal-Bielecka O, Chodorowska G, Bielecki M, Krasowska D. Angiopoietins-1 and -2 are differentially expressed in the sera of patients with systemic sclerosis: High angiopoietin-2 levels are associated with greater severity and higher activity of the disease. *Rheumatology*. 2011;50(4):746–55.
247. Dunne J V., Keen KJ, Van Eeden SF. Circulating angiopoietin and Tie-2 levels in systemic sclerosis. *Rheumatol Int*. 2013;33(2):475–84.
248. Ishihara K, Hirano T. IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13(4–5):357–68.
249. Nishimoto N, Sasai M, Shima Y, Nakagawa M, Matsumoto T, Shirai T, et al. Improvement in Castleman's disease by humanized anti-interleukin-6 receptor antibody therapy. *Blood*. 2000;95(1):56–61.
250. Curtis JR, Perez-Gutthann S, Suissa S, Napalkov P, Singh N, Thompson L, et al. Tocilizumab in rheumatoid arthritis: A case study of safety evaluations of a large postmarketing data set from multiple data sources. *Semin Arthritis Rheum*. 2015;44(4):381–8.
251. Rossi JF, Lu ZY, Jourdan M, Klein B. Interleukin-6 as a therapeutic target. *Clin Cancer Res*. 2015;21(6):1248–57.
252. Jones SA, Scheller J, Rose-John S. Therapeutic strategies for the clinical blockade of IL-6/gp130 signaling. *J Clin Invest*. 2011;121(9):3375–83.
253. Hasegawa M, Sato S. The roles of chemokines in leukocyte recruitment and fibrosis in systemic sclerosis. *Front Biosci*. 2008;13:3637–47.
254. Atamas SP, White B. The role of chemokines in the pathogenesis of scleroderma. *Curr Opin Rheumatol*. 2003;15(6):772–7.
255. Yamamoto T. Pathogenic role of CCL2/MCP-1 in scleroderma. *Front Biosci*. 2008;1(13):2686–95.

256. Distler JHW, Akhmetshina A, Schett G, Distler O. Monocyte chemoattractant proteins in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48(2):98–103.
257. Duque GA, Descoteaux A. Macrophage cytokines: Involvement in immunity and infectious diseases. *Front Immunol*. 2014;7(5):491.
258. Muraguchi A, Kishimoto T, Miki Y, Kuritani T, Kaieda T, Yoshizaki K, et al. T cell-replacing factor (TRF)-induced IgG secretion in a human B blastoid cell line and demonstration of acceptors for TRF. *J Immunol*. 1981;127(2):412–6.
259. Teranishi T, Hirano T, Arima N, Onoue K. Human helper T cell factor(s) (ThF). II. Induction of IgG production in B lymphoblastoid cell lines and identification of T cell-replacing factor- (TRF) like factor(s). *J Immunol*. 1982;128(4):1903–8.
260. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. 1986;324(6092):73–6.
261. HAEGEMAN G, CONTENT J, VOLCKAERT G, DERYNCK R, TAVERNIER J, FIERS W. Structural analysis of the sequence coding for an inducible 26-kDa protein in human fibroblasts. *Eur J Biochem*. 1986;159(3):625–32.
262. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*. 2011;1813(5):878–88.
263. Taga T, Kishimoto T. Gp 130 AND THE INTERLEUKIN-6 FAMILY OF CYTOKINES. *Annu Rev Immunol*. 1997;15:797–819.
264. Saito M, Yoshida K, Hibi M, Taga T, Kishimoto T. Molecular cloning of a murine IL-6 receptor-associated signal transducer, gp130, and its regulated expression in vivo. *J Immunol*. 1992;148(12):4066–71.
265. Derouet D, Rousseau F, Alfonsi F, Froger J, Hermann J, Barbier F, et al. Neuropeptin, a new IL-6-related cytokine signaling through the ciliary neurotrophic factor receptor. *Proc Natl Acad Sci*. 2004;101(14):4827–32.
266. Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T, et al. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice.

- Nature. 1994;368(6469):339–42.
267. Masu Y, Wolf E, Holtmann B, Sendtner M, Brem G, Thoenen H. Disruption of the CNTF gene results in motor neuron degeneration. *Nature*. 1993;365(6441):27–32.
268. Betz UAK, Bloch W, van den Broek M, Yoshida K, Taga T, Kishimoto T, et al. Postnatally Induced Inactivation of gp130 in Mice Results in Neurological, Cardiac, Hematopoietic, Immunological, Hepatic, and Pulmonary Defects. *J Exp Med*. 1998;188(10):1955–65.
269. Stahl N, Boulton TG, Farruggella T, Ip NY, Davis S, Witthuhn BA, et al. Association and activation of Jak-Tyk kinases by CNTF-LIF-OSM-IL-6  $\beta$  receptor components. *Science* (80- ). 1994;263(5143):92–5.
270. Matthews V, Schuster B, Schütze S, Bussmeyer I, Ludwig A, Hundhausen C, et al. Cellular cholesterol depletion triggers shedding of the human interleukin-6 receptor by ADAM10 and ADAM17 (TACE). *J Biol Chem*. 2003;278(40):388829–39.
271. Jones GW, McLoughlin RM, Hammond VJ, Parker CR, Williams JD, Malhotra R, et al. Loss of CD4 + T Cell IL-6R Expression during Inflammation Underlines a Role for IL-6 Trans Signaling in the Local Maintenance of Th17 Cells. *J Immunol*. 2010;184(4):2130–9.
272. Rose-John S. Il-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: Importance for the proinflammatory activities of IL-6. *Int J Biol Sci*. 2012;8(9):1237–47.
273. Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, Suzuki M, Shiina M. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin Sci*. 2012;122(4):143–59.
274. Hirano T, Matsuda T, Turner M, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, et al. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol*. 1988;18(11):1797–801.
275. Alonzi T, Fattori E, Lazzaro D, Costa P, Probert L, Kollias G, et al. Interleukin 6 is required for the development of collagen-induced arthritis. *J Exp Med*. 1998;187(4):461–8.

276. Samoilova EB, Horton JL, Hilliard B, Liu TS, Chen Y. IL-6-deficient mice are resistant to experimental autoimmune encephalomyelitis: roles of IL-6 in the activation and differentiation of autoreactive T cells. *J Immunol.* 1998;161(12):6480–6.
277. Needleman BW, Wigley FM, Stair RW. Interleukin-1, Interleukin-2, Interleukin-4, Interleukin-6, Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ , and Interferon- $\gamma$  Levels in Sera from Patients With Scleroderma. *Arthritis Rheum.* 1992;35(1):67–72.
278. Hasegawa M, Sato S, Ihn H, Takehara K. Enhanced production of interleukin-6 (IL-6), oncostatin M and soluble IL-6 receptor by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford).* 1999;38(7):612–7.
279. Sato S, Hasegawa M, Takehara K. Serum levels of interleukin-6 and interleukin-10 correlate with total skin thickness score in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol Sci.* 2001;27(2):140–6.
280. Yoshizaki A, Yanaba K, Ogawa A, Asano Y, Kadono T, Sato S. Immunization with DNA topoisomerase I and Freund's complete adjuvant induces skin and lung fibrosis and autoimmunity via interleukin-6 signaling. *Arthritis Rheum.* 2011;63(11):3575–85.
281. Shingu M, Nagai Y, Isayama T, Naono T, Nobunaga M. The effects of cytokines on metalloproteinase inhibitors (TIMP) and collagenase production by human chondrocytes and TIMP production by synovial cells and endothelial cells. *Clin Exp Immunol.* 1993;94(1):145–9.
282. Silacci P, Dayer JM, Desgeorges A, Peter R, Manueddu C, Guernet PA. Interleukin (IL)-6 and its soluble receptor induce TIMP-1 expression in synoviocytes and chondrocytes, and block IL-1-induced collagenolytic activity. *J Biol Chem.* 1998;273(22):13625–9.
283. Bhargava A, Kumar A, Yuan N, Gewitz MH, Mathew R. Monocrotaline induces interleukin-6 mRNA expression in rat lungs. *Heart Dis.* 1999;1(3):126–32.
284. Miyata M, Sakuma F, Yoshimura A, Ishikawa H, Nishimaki T, Kasukawa R. Pulmonary hypertension in rats. 2. Role of interleukin-6. *IntArchAllergy Immunol.* 1995;108(3):287–91.

285. Steiner MK, Syrkina OL, Kolliputi N, Mark EJ, Hales CA, Waxman AB. Interleukin-6 overexpression induces pulmonary hypertension. *Circ Res*. 2009;104(2):236–44.
286. Savale L, Tu L, Rideau D, Izziki M, Maitre B, Adnot S, et al. Impact of interleukin-6 on hypoxia-induced pulmonary hypertension and lung inflammation in mice. *Respir Res*. 2009;27(10):6.
287. Scala E, Pallotta S, Frezzolini A, Abeni D, Barbieri C, Sampogna F, et al. Cytokine and chemokine levels in systemic sclerosis: Relationship with cutaneous and internal organ involvement. *Clin Exp Immunol*. 2004;138(3):540–6.
288. De Lauretis A, Sestini P, Pantelidis P, Hoyles R, Hansell DM, Goh NSL, et al. Serum interleukin 6 is predictive of early functional decline and mortality in interstitial lung disease associated with systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2013;40(4):435–46.
289. Gourh P, Arnett FC, Assassi S, Tan FK, Huang M, Diekman L, et al. Plasma cytokine profiles in systemic sclerosis: Associations with autoantibody subsets and clinical manifestations. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(4):R147.
290. Jurisic Z, Martinovic-Kaliterna D, Marasovic-Krstulovic D, Perkovic D, Tandara L, Salamunic I, et al. Relationship between interleukin-6 and cardiac involvement in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2013;52(7):1298–302.
291. Codullo V, Baldwin HM, Singh MD, Fraser AR, Wilson C, Gilmour A, et al. An investigation of the inflammatory cytokine and chemokine network in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(6):1115–21.
292. Sfrent-Cornateanu R, Mihai C, Balan S, Ionescu R, Moldoveanu E. The IL-6 promoter polymorphism is associated with disease activity and disability in systemic sclerosis. *J Cell Mol Med*. 2006;10(4):955–9.
293. Matsushita T, Hasegawa M, Hamaguchi Y, Takehara K, Sato S. Longitudinal analysis of serum cytokine concentrations in systemic sclerosis: Association of interleukin 12 elevation with spontaneous regression of skin sclerosis. *J Rheumatol*. 2006;33(2):275–84.

294. Selimovic N, Bergh CH, Andersson B, Sakiniene E, Carlsten H, Rundqvist B. Growth factors and interleukin-6 across the lung circulation in pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. 2009;34(3):662–8.
295. Abdel-Magied RA, Kamel SR, Said AF, Ali HM, Gawad EAA, Moussa MM. Serum interleukin-6 in systemic sclerosis and its correlation with disease parameters and cardiopulmonary involvement. *Sarcoidosis Vasc Diffus Lung Dis*. 2016;33(4):321–30.
296. Wakhlu A, Sahoo RR, Parida JR, Rai MK, Misra DP, Agrawal V, et al. Serum Interleukin-6, Interleukin-17A, and Transforming Growth Factor Beta Are Raised in Systemic Sclerosis with Interstitial Lung Disease. *Indian J Rheumatol* [Internet]. 2018;13(2):107–12. Available from: <http://www.indianjrheumatol.com/article.asp?issn=0973-3698;year=2017;volume=12;issue=2;spage=86;epage=93;aulast=Kalim>
297. Soon E, Holmes AM, Treacy CM, Doughty NJ, Southgate L, MacHado RD, et al. Elevated levels of inflammatory cytokines predict survival in idiopathic and familial pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2010;122(9):920–7.
298. Baraldi E, Carraro S, Alinovi R, Pesci A, Ghiso L, Bodini A, et al. Cysteinyl leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbations. *Thorax*. 2003;58(6):505–9.
299. Edmé JL, Tellart AS, Launay D, Neviere R, Grutzmacher C, Boulenguez C, et al. Cytokine concentrations in exhaled breath condensates in systemic sclerosis. *Inflamm Res*. 2008;57(4):151–6.
300. De Santis M, Bosello S, La Torre G, Capuano A, Toluoso B, Pagliari G, et al. Functional, radiological and biological markers of alveolitis and infections of the lower respiratory tract in patients with systemic sclerosis. *Respir Res*. 2005;17(6):96.
301. Crestani B, Aubier M. [Scleroderma and alveolar inflammation]. *Rev Mal Respir*. 1996;13(1):15–20.
302. Alivernini S, De Santis M, Toluoso B, Mannocci A, Bosello SL, Peluso G, et al. Skin ulcers in systemic sclerosis: Determinants of presence and predictive factors of healing. *J Am Acad Dermatol*. 2009;72(4):748.

303. Yalçinkaya Y, Adın- Çınar S, Artım-Esen B, Kamalı S, Pehlivan Ö, Öcal L, et al. Capillaroscopic findings and vascular biomarkers in systemic sclerosis: Association of low CD40L levels with late scleroderma pattern. *Microvasc Res.* 2016;108:17–21.
304. Cutolo M, Pizzorni C, Sulli A. Capillaroscopy. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2005;19(3):437–52.
305. Sallam H, McNearney TA, Doshi D, Chen JDZ. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) improves upper GI symptoms and balances the sympathovagal activity in scleroderma patients. *Dig Dis Sci.* 2007;52(5):1329–37.
306. Della Bella S, Molteni M, Mascagni B, Zulian C, Compasso S, Scorza R. Cytokine production in scleroderma patients: Effects of therapy with either iloprost or nifedipine. *Clin Exp Rheumatol.* 1997;15(2):135–41.
307. Ross L, Stevens W, Rabusa C, Wilson M, Ferdowski N, Walker J, et al. The role of inflammatory markers in assessment of disease activity in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2018;36 Suppl 1(4):126–34.
308. Muangchan C, Harding S, Khimdas S, Bonner A, Baron M, Pope J. Association of C-reactive protein with high disease activity in systemic sclerosis: Results from the Canadian Scleroderma Research Group. *Arthritis Care Res.* 2012;64(9):1405–14.
309. Czirják L, Kumánovics G, Varjú C, Nagy Z, Pákozdi A, Szekanecz Z, et al. Survival and causes of death in 366 Hungarian patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(1):59–63.
310. Bryan C, Knight C, Black CM, Silman AJ. Prediction of five-year survival following presentation with scleroderma: Development of a simple model using three disease factors at first visit. *Arthritis Rheum.* 1999;42(12):2660–5.
311. Fransen J, Popa-Diaconu D, Hesselstrand R, Carreira P, Valentini G, Beretta L, et al. Clinical prediction of 5-year survival in systemic sclerosis: Validation of a simple prognostic model in EUSTAR centres. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(10):1788–92.

312. Liu X, Mayes MD, Pedroza C, Draeger HT, Gonzalez EB, Harper BE, et al. Does C-reactive protein predict the long-term progression of interstitial lung disease and survival in patients with early systemic sclerosis? *Arthritis Care Res.* 2013;65(8):1375–80.
313. Mortensen RF. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. *Immunol Res.* 2001;24(2):163–76.
314. Valentini G, Della Rossa A, Bombardieri S, Bencivelli W, Silman AJ, D'Angelo S, et al. European multicentre study to define disease activity criteria for systemic sclerosis. II. Identification of disease activity variables and development of preliminary activity indexes. *Ann Rheum Dis.* 2001;60(6):592–8.
315. Valentini G, Bencivelli W, Bombardieri S, D'Angelo S, Della Rossa A, Silman AJ, et al. European Scleroderma Study Group to define disease activity criteria for systemic sclerosis. III. Assessment of the construct validity of the preliminary activity criteria. *Ann Rheum Dis.* 2003;62(9):901–3.
316. Joven BE, Almodovar R, Carmona L, Carreira PE. Survival, Causes of Death, and Risk Factors Associated With Mortality in Spanish Systemic Sclerosis Patients: Results From a Single University Hospital. *Semin Arthritis Rheum.* 2010;39(4):285–93.
317. Yamane K, Ihn H, Asano Y, Yazawa N, Kubo M, Kikuchi K, et al. Clinical and laboratory features of scleroderma patients with pulmonary hypertension. *Rheumatology.* 2000;39(11):1269–71.
318. Allanore Y, Borderie D, Avouac J, Zerkak D, Meune C, Hachulla E, et al. High N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels and low diffusing capacity for carbon monoxide as independent predictors of the occurrence of precapillary pulmonary arterial hypertension in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2008;58(1):284–91.
319. Sunderkötter C, Herrgott I, Brückner C, Moinzadeh P, Pfeiffer C, Gerß J, et al. Comparison of patients with and without digital ulcers in systemic sclerosis: Detection of possible risk factors. *Br J Dermatol.* 2009;160(4):835–43.
320. Altman RD, Medsger TA, Bloch DA, Michel BA. Predictors of survival in systemic sclerosis (Scleroderma). *Arthritis Rheum.* 1991;34(4):403–13.

321. Manfredi A, Sebastiani M, Carraro V, Iudici M, Bocci M, Vukatana G, et al. Prediction risk chart for scleroderma digital ulcers: A composite predictive model based on capillaroscopic, demographic and clinico-serological parameters. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2015;59(2):133–43.
322. Simpson RJ, Hammacher A, Smith DK, Matthews JM, Ward LD. Interleukin-6: Structure-function relationships. *Protein Sci.* 1997;6(5):929–55.
323. Imhof A, Fröhlich M, Loewel H, Helbecque N, Woodward M, Amouyel P, et al. Distributions of C-reactive protein measured by high-sensitivity assays in apparently healthy men and women from different populations in Europe. *Clin Chem.* 2003;49(4):669–72.
324. Woloshin S, Schwartz LM. Distribution of C-Reactive Protein Values in the United States. *N Engl J Med.* 2005;352(15):1611–3.
325. Kelley-Hedgpeth A, Lloyd-Jones DM, Colvin A, Matthews KA, Johnston J, Sowers MR, et al. Ethnic differences in C-reactive protein concentrations. *Clin Chem.* 2008;54(6):1027–37.
326. Hutchinson WL, Koenig W, Fröhlich M, Sund M, Lowe GDO, Pepys MB. Immunoradiometric assay of circulating C-reactive protein: Age-related values in the adult general population. *Clin Chem.* 2000;46(7):934–8.
327. Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Price N, Dinges DF, Mullington JM. Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clin Chem.* 2001;47(3):426–30.
328. Ohtsuka T. Relation between elevated high-sensitivity C-reactive protein and anti-mitochondria antibody in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol.* 2008;35(2):70–5.
329. Ohtsuka T. Serum interleukin-6 level is reflected in elevated high-sensitivity C-reactive protein level in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol.* 2010;37(9):801–6.
330. Tennent GA, Dziadzio M, Triantafillidou E, Davies P, Gallimore JR, Denton CP, et al. Normal circulating serum amyloid P component concentration in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2007;56(6):2013–7.

331. Nagy Z, Czirják L. Increased levels of amino terminal propeptide of type III procollagen are an unfavourable predictor of survival in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2005;23(2):165–72.
332. Quarck R, Nawrot T, Meyns B, Delcroix M. C-Reactive Protein. A New Predictor of Adverse Outcome in Pulmonary Arterial Hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(14):1211–8.
333. Nishijima C. Renal vascular damage in Japanese patients with systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2001;40(4):406–9.
334. Jinnin M, Ihn H, Yamane K, Asano Y, Yazawa N, Tamaki K. Clinical features of patients with systemic sclerosis accompanied by rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21(1):91–4.
335. 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: Results from the EULAR Scleroderma Trial and Research Group (EUSTAR) database. *J Rheumatol*. 2010;37(7):1488–501.
336. Stuart RA, Littlewood AJ, Maddison PJ, Hall ND. Elevated serum interleukin-6 levels associated with active disease in systemic connective tissue disorders. *Clin Exp Rheumatol*. 1995;13(1):17–22.
337. Liu Z, Yuan X, Luo Y, He Y, Jiang Y, Chen ZK, et al. Evaluating the effects of immunosuppressants on human immunity using cytokine profiles of whole blood. *Cytokine*. 2009;45(2):141–7.
338. Galiè N, Hoeper MM, Humbert M, Torbicki A, Vachiery JL, Barbera JA, Beghetti M, Corris P, Gaine S, Gibbs JS, Gomez-Sanchez MA, Jondeau G, Klepetko W, Opitz C, Peacock A, Rubin L, Zellweger M SG. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the 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 Internat. *Eur Hear J*. 2009;30(20):2493–537.
339. Traub Y, Boner G. Sclerodermal renal crisis. *Harefuah*. 1985;108(10):491–3.
340. Parra JAT. Manual de capilaroscopia periungueal. 2º edición. J.R Calabuig Alborch, editor.

341. Grupo Capilaroscopia (GREC). <http://www.capilaroscopia.es/#/>.
342. HR M. Capillary abnormalities, Raynaud's phenomenon, and systemic sclerosis in patients with localized scleroderma. *Arch Dermatol*. 1992;128(5):630–2.
343. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2000;27:155–60.
344. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr*. 2006;7(2):79–108.
345. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, et al. Guidelines for the Echocardiographic Assessment of the Right Heart in Adults: A Report from the American Society of Echocardiography. Endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and. *J Am Soc Echocardiogr*. 2010;23(7):685–713.
346. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr*. 2009;10(2):165–93.
347. MA GF. Principios del doppler cardiaco. Interamericana. McGraw-Hil. 995 p.
348. Sociedad Española de Imagen Cardíaca (SEIC). <https://ecocardio.com/documentos/valores-referencia.html>.
349. Lauer MS, Larson MG, Levy D. Gender-specific reference M-mode values in adults: Population-derived values with consideration of the impact of height. *J Am Coll Cardiol*. 1995;26(4):1039–46.
350. H F. Echocardiography. Echocardiographic evaluation of cardiac. Fifth edit.
351. <https://www.separ.es/?q=node/191>.
352. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standarization of spirometry. *European Respiratory Journal*. 2005.

353. Donato L, Giovanna Elisiana C, Giuseppe G, Pietro S, Michele C, Brunetti ND, et al. Utility of FVC/DLCO ratio to stratify the risk of mortality in unselected subjects with pulmonary hypertension. *Intern Emerg Med*. 2017;12(3):319–26.
354. B Sidhu, N Hashemi, A Rashidian, S Sharma, N Gill, P Mills VB. Utility of Pulmonary Function Testing in Detection of Pulmonary Arterial Hypertension. 2012.
355. Haberman SJ. The Analysis of Residuals in Cross-Classified Tables. *Biometrics*. 1973;
356. Delgado-Rodríguez M, A A, C F-A. Should the definition for the negative likelihood ratio be changed? *J Clin Epidemiol*. 1997;50(6):639–40.
357. <http://www.openepi.com>.
358. Sáez-Comet L, Simeón-Aznar CP, Pérez-Conesa M, Vallejo-Rodríguez C, Tolosa-Vilella C, Iniesta-Arandia N, et al. Applying the ACR/EULAR systemic sclerosis classification criteria to the Spanish scleroderma registry cohort. *J Rheumatol*. 2015;
359. Meier FMP, Frommer KW, Dinser R, Walker UA, Czirjak L, Denton CP, et al. Update on the profile of the EUSTAR cohort: An analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research group database. *Ann Rheum Dis*. 2012;71:1355–60.
360. Si Ahmed-Bouali D, Bouali F, Haddoum F, Kalem K, Otmani F, Arrada M. [Hypertension in scleroderma: A vital emergency]. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*. 2015;64(3):192–8.
361. Marí-Alfonso B, Simeón-Aznar CP, Guillén-Del Castillo A, Rubio-Rivas M, Trapiella-Martínez L, Todolí-Parra JA, et al. Hepatobiliary involvement in systemic sclerosis and the cutaneous subsets: Characteristics and survival of patients from the Spanish RESCLE Registry. *Semin Arthritis Rheum*. 2018;
362. Chalifoux SL, Konyon PG, Choi G, Saab S. Extrahepatic Manifestations of Primary Biliary Cholangitis. *Gut Liver*. 2017;11(6):771–80.

363. Marasini B, Gagetta M, Rossi V, Ferrari P. Rheumatic disorders and primary biliary cirrhosis: An appraisal of 170 Italian patients. *Ann Rheum Dis.* 2001;60:1046–9.
364. Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, Gold EB, Watnik M, Utts J, et al. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: A controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology.* 2005;42:1194–202.
365. Inoue K, Hirohara J, Nakano T, Seki T, Sasaki H, Higuchi K, et al. Prediction of prognosis of primary biliary cirrhosis in Japan. *Liver.* 1995;15:70–7.
366. Posselt RT, Coelho VN, Pigozzo DC, Guerrer MI, Fagundes M da C, Nisihara R, et al. Prevalence of thyroid autoantibodies in patients with systematic autoimmune rheumatic diseases. Cross-sectional study. *Sao Paulo Med J.* 2017;
367. Avouac J, Sordet C, Depinay C, Ardizzone M, Vacher-Lavenu MC, Sibilia J, et al. Systemic sclerosis-associated Sjögren's syndrome and relationship to the limited cutaneous subtype: Results of a prospective study of sicca syndrome in 133 consecutive patients. *Arthritis Rheum.* 2006;
368. Alarcón-Segovia D, Ibáñez G, Hernández-Ortíz J, Velázquez-Forero F, González-Jiménez Y. Sjögren's syndrome in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Am J Med.* 1974;
369. Ohtsuka T. Relation between elevated high-sensitivity C-reactive protein and anti-mitochondria antibody in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol.* 2008;35(2):70–5.
370. Bosello S, Angelucci C, Lama G, Alivernini S, Proietti G, Toluoso B, et al. Characterization of inflammatory cell infiltrate of scleroderma skin: B cells and skin score progression. *Arthritis Res Ther.* 2018;20(1):75.
371. Linsalata M, Riezzo G, Attoma BD, Clemente C, Orlando A, Russo F. Noninvasive biomarkers of gut barrier function identify two subtypes of patients suffering from diarrhoea predominant-IBS : a case-control study. *Gastroenterology.* 2018;18:167.

372. Ernst M, Thiem S, Nguyen PM, Eissmann M, Putoczki TL. Epithelial gp130/Stat3 functions: An intestinal signaling node in health and disease. *Semin Immunol*. 2014;26(1):29–37.
373. Gout T, Östör AJK, Nisar MK. Lower gastrointestinal perforation in rheumatoid arthritis patients treated with conventional DMARDs or tocilizumab: A systematic literature review. *Clin Rheumatol*. 2011;30(11):1471–4.
374. Chora I, Guiducci S, Manetti M, Romano E, Mazzotta C, Bellando-Randone S, et al. Vascular biomarkers and correlation with peripheral vasculopathy in systemic sclerosis. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2015;14(4):314–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2014.12.001>
375. Ribatti D, Cantatore FP, Vacca A, D'Amore M, Ria R, Roncali L, et al. Systemic sclerosis stimulates angiogenesis in the chick embryo chorioallantoic membrane. *Clin Rheumatol*. 1998;17:115–20.
376. Manetti M, Guiducci S, Ibba-Manneschi L, Matucci-Cerinic M. Mechanisms in the loss of capillaries in systemic sclerosis: Angiogenesis versus vasculogenesis. *J Cell Mol Med*. 2010;14(6 A):1241–54.
377. Kuhn KA, Manieri NA, Liu TC, Stappenbeck TS. IL-6 stimulates intestinal epithelial proliferation and repair after injury. *PLoS One*. 2014;9(12):e114195.
378. Woodrick RS, Ruderman EM. Interleukin 6 inhibition: RA and beyond. *Bull NYU Hosp Jt Dis*. 2011;69:225–9.
379. Frech TM, Hudson M. Protective role of interleukin-6 in systemic sclerosis gastrointestinal tract involvement: Case report and review of the literature. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33(91):S179-181.
380. Kaye SA, Seifalian AM, Lim SG, Hamilton G, Black CM. Ischaemia of the small intestine in patients with systemic sclerosis: Raynaud's phenomenon or chronic vasculopathy? *QJM*. 1994;87(8):495–500.
381. Subias PE, Mir JAB, Suberviola V. Evaluación diagnóstica y pronóstica actual de la hipertensión pulmonar. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63:583–96.

382. Lau EMT, Tamura Y, McGoon MD, Sitbon O. The 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: A practical chronicle of progress. *Eur Respir J*. 2015;46(4):879–82.
383. De Lauretis A, Sestini P, Pantelidis P, Hoyles R, Hansell DM, Goh NSL, et al. Serum interleukin 6 is predictive of early functional decline and mortality in interstitial lung disease associated with systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2013;40(4):435–46.
384. Mukerjee D, St. George D, Knight C, Davar J, Wells AU, Du Bois RM, et al. Echocardiography and pulmonary function as screening tests for pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2004;43(4):461–6.
385. Schoenfeld SR, Castelino F V. Evaluation and management approaches for scleroderma lung disease. *Ther Adv Respir Dis*. 2017;11(8):327–40.
386. Guillen-del Castillo A, Sánchez-Vidaurre S, Simeón-Aznar CP, Cruz MJ, Fonollosa-Pla V, Muñoz X. Prognostic Role of Exhaled Breath Condensate pH and Fraction Exhaled Nitric Oxide in Systemic Sclerosis Related Interstitial Lung Disease. *Arch Bronconeumol*. 2017;
387. Chung L, Domsic RT, Lingala B, Alkassab F, Bolster M, Csuka ME, et al. Survival and predictors of mortality in systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension: Outcomes from the pulmonary hypertension assessment and recognition of outcomes in Scleroderma registry. *Arthritis Care Res*. 2014;66(3):489–95.
388. Steen VD, Graham G, Conte C, Owens G, Medsger TA. Isolated diffusing capacity reduction in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 1992;
389. Thurnham D, Northrop-Clewes C. Biomarkers for the differentiation of anemia and their clinical usefulness. *J Blood Med*. 2013;4:11–22.
390. Bussone G, Bérezné A, Pestre V, Guillevin L, Mouthon L. The scleroderma kidney: Progress in risk factors, therapy, and prevention. *Curr Rheumatol Rep*. 2011;13(1):37–43.
391. Eltahir HM, Nazmy MH. Esomeprazole ameliorates CCl<sub>4</sub>induced liver fibrosis in rats via modulating oxidative stress, inflammatory, fibrogenic and apoptotic markers. *Biomed Pharmacother*. 2018;97:1356–65.

392. Maier C, Ramming A, Bergmann C, Weinkam R, Kittan N, Schett G, et al. Inhibition of phosphodiesterase 4 (PDE4) reduces dermal fibrosis by interfering with the release of interleukin-6 from M2 macrophages. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(6):1133–41.
393. Schrör K, Huber K. Platelets, inflammation and anti-inflammatory drugs in ACS and CAD. *Thromb Haemost*. 2015;114(3):498–518.
394. Steinhubl SR, Badimon JJ, Bhatt DL, Herbert JM, Lüscher T. Clinical evidence for anti-inflammatory effects of antiplatelet therapy in patients with atherothrombotic disease. *Vasc Med*. 2007;12:113–22.
395. Chen F, Teachey DT, Pequignot E, Frey N, Porter D, Maude SL, et al. Measuring IL-6 and sIL-6R in serum from patients treated with tocilizumab and/or siltuximab following CAR T cell therapy. *J Immunol Methods*. 2016;434:1–8.
396. Nishimoto N, Terao K, Mima T, Nakahara H, Takagi N, Takeuchi T. Mechanisms and pathologic significances in increase in serum interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor after administration of an anti-IL-6 receptor antibody, tocilizumab, in patients with rheumatoid arthritis and Castleman disease. *Blood*. 2008;112(10):3959–64.
397. Muangchan C, Pope JE. Interleukin 6 in systemic sclerosis and potential implications for targeted therapy. *J Rheumatol*. 2012;39(6):1120–4.
398. Silva Fuente-Alba C, Molina Villagra M. Likelihood ratio (razón de verosimilitud): definición y aplicación en Radiología. *Rev Argentina Radiol [Internet]*. 2017;81(3):204–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rard.2016.11.002>



*ANEXOS*



## Información al paciente sobre el Estudio de nuevos marcadores en la Esclerosis Sistémica

Proyecto de investigación titulado: Estudio de nuevos marcadores en la Esclerosis Sistémica

Investigador principal: Dra. Gracia Tello

Servicio: Medicina Interna-Enfermedades Autoinmunes

### **Introducción:**

La esclerodermia (también conocida como esclerosis sistémica) es una enfermedad crónica que hace que la piel se torne gruesa y se endurezca, provoca una acumulación de tejido cicatrizante y produce daño a los órganos internos como el corazón y los vasos sanguíneos, los pulmones, el estómago y los riñones. Los síntomas de la esclerodermia varían ampliamente y pueden ser menores o hasta presentar un riesgo para la vida, dependiendo de lo extendida que esté la enfermedad y de las partes del cuerpo que estén afectadas.

La esclerodermia es relativamente inusual. En su mayoría, mujeres de 30 a 50 años. La causa de la esclerodermia no se conoce. Existen distintos tipos de esclerodermia y enfermedades relacionadas. Asimismo, los nombres pueden ser confusos. Los dos tipos principales son la localizada (la cual afecta la piel del rostro, las manos y los pies) y la sistémica (la cual también puede afectar los vasos sanguíneos y los principales órganos internos).

Aunque la causa no se conoce múltiples estudios refieren que factores genéticos (genes diferentes) parecen ser importantes en la enfermedad. Si bien la exposición a ciertas sustancias químicas podría influir en que algunas personas tengan esclerodermia, la gran mayoría de los pacientes con esclerodermia no presentan antecedentes de exposición a ninguna toxina sospechosa. Es probable que la causa de la esclerodermia sea más complicada.

En algunos estudios se identifican diferentes moléculas (como la IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , HFG) que parece que juegan un papel importante como mediadores en la cascada de inflamación de esta enfermedad. Sin embargo, muy pocos estudios intentan ver las variaciones de estos marcadores a lo largo del tiempo y, mucho menos, asociarlos de manera global con los brotes o la posible clínica que pueda surgir a lo largo de la evolución de la Esclerosis sistémica.

### **Objetivos:**

Le solicitamos su participación en este proyecto de investigación cuyo objetivo principal es cuantificar diferentes valores clínicos, analíticos y pruebas complementarias a lo largo del tiempo con la finalidad de conocer su asociación con la Esclerosis sistémica y poder ver su relación con la clínica y los brotes.

**Beneficios:**

Es posible que de su participación en este estudio no se obtenga un beneficio directo. Sin embargo, profundizar en la descripción de esta enfermedad sin duda repercutirá en una mejor identificación de los pacientes, y quizás en poder realizar un diagnóstico en estados más precoces de la evolución. Finalmente, el estudio intentará relacionar los diferentes brotes de la enfermedad con dichos parámetros, con la finalidad de poder realizar en un futuro un diagnóstico precoz no sólo de la enfermedad, si no también de los brotes.

**Participación:**

La participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted no quiere participar, seguirá sus controles habituales con su especialista. Si usted acepta inicialmente participar y después no quiere completar el estudio, podrá abandonarlo sin ningún problema, y sus datos serán eliminados de la base de datos y en ningún caso se usarán para estudios posteriores. Para ejercer su derecho de revocación del consentimiento puede contactar con el investigador principal en nuestro centro, el Dr. Gracia Tello (Servicio de Medicina Interna, teléfono: 976 76 57 00)

**Procedimientos del estudio:**

Si usted acepta participar en este estudio, deberá firmar el consentimiento informado. A continuación, los datos clínicos relevantes en el diagnóstico de su enfermedad serán incluidos en una base de datos codificada, donde no serán identificables datos personales suyos. Esta base de datos incluirá un apartado específico de seguimiento donde se recogerán los tratamientos que usted vaya recibiendo, efectos secundarios, resultados analíticos evolutivos y eventuales recaídas. Estos datos se actualizarán periódicamente durante sus visitas de seguimiento en las consultas externas de nuestro servicio, sin que esto suponga un esfuerzo o un tiempo adicional para usted.

**Posibles riesgos para usted:**

No existe ningún riesgo relacionado con la participación en este estudio, ya que sólo se recogen los datos clínicos de su enfermedad y los datos de los análisis de rutina que usted se vaya practicando durante el seguimiento de la enfermedad.

**Protección de datos personales:**

De acuerdo con la Ley 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, los datos personales que se obtengan serán los necesarios para cubrir los fines del estudio. En ninguno de los informes del estudio aparecerá su nombre, y su identidad no será revelada a persona alguna salvo para cumplir con los fines del estudio, y en el caso de urgencia médica o requerimiento legal. Cualquier información de carácter personal que pueda ser identificable será conservada por métodos informáticos en condiciones de seguridad por el Laboratorio de Enfermedades Sistémicas del HCU Lozano Blesa o por una institución designada por ella. El acceso a dicha información quedará restringido al personal que participa en dicho proyecto,

designado al efecto o a otro personal autorizado que estará obligado a mantener la confidencialidad de la información.

De acuerdo con la ley vigente, tiene usted derecho al acceso de sus datos personales; asimismo, y si está justificado, tiene derecho a su rectificación y cancelación. Si así lo desea, deberá solicitarlo al médico que le atiende en este estudio.

De acuerdo con la legislación vigente, tiene derecho a ser informado de los datos relevantes para su salud que se obtengan en el curso del estudio. Esta información se le comunicará si lo desea; en el caso de que prefiera no ser informado, su decisión se respetará.

Si necesita más información sobre este estudio puede contactar con el investigador responsable, el Dr. Gracia Tello del Servicio de Medicina Interna/Unidad enfermedades Autoinmunes Sistémicas (Telefono 976 76 57 00, Mail [bcgracia@salud.aragon.es](mailto:bcgracia@salud.aragon.es))

Consentimiento informado del paciente

Título del estudio: Estudio de nuevos marcadores en la Esclerosis Sistémica

Yo (nombre y apellidos)\_\_\_\_\_ He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He hablado con: Dra. Marín Ballvé, De Escalante, Boldova o Gracia Tello

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:1. Cuando quiera2. Sin tener que dar explicaciones3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.Fecha y firma del participante Fecha y firma del investigador