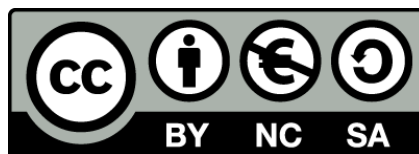




UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Caracterización serológica de la cohorte RESCLE: correlaciones clínico-pronósticas

Nerea Iniesta Arandia



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – Compartir Igual 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – Compartir Igual 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0. Spain License.**

Nerea Iniesta Arandia
Tesis Doctoral, 2020

**Caracterización
serológica de la
cohorte RESCLE:
correlación
clínico-pronóstica**

Director de tesis:
Gerard Espinosa Garriga



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Nerea Iniesta Arandia
Tesis Doctoral, 2020

**Caracterización
serológica de la
cohorte RESCLE:
correlación
clínico-pronóstica**

Director de tesis:
Gerard Espinosa Garriga



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Gerard Espinosa Garriga, Consultor del Servicio de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas del Hospital Clínic de Barcelona,

Certifica que la memoria titulada “Caracterización serológica de la cohorte RESCLE: correlaciones clínico-pronósticas” presentada por Nerea Inieta Arandia se ha realizado bajo mi dirección y considera que reúne las condiciones necesarias para ser defendida delante del tribunal correspondiente para optar al grado de Doctor en Medicina

Dr. Gerard Espinosa Garriga

Agradecimientos

Nunca pensé que este momento llegaría, y, como escribía Lucia Berlin, ha sido una gran travesía por el desierto que se inició allá por 2012. A lo largo de todos estos años he conocido a personas que de una u otra manera forman parte de esta tesis y a las cuales quiero agradecer:

En primer lugar, a Gerard Espinosa. Ya han pasado muchos años desde que nos conocimos por primera vez, gracias a la introducción de Ángel Robles (o fue Antonio Gil) en un curso para residentes. “Es igual de moderna que tú”. Con esa frase tan antiprotocolaria conseguí rotar en el servicio de Enfermedades Autoinmunes en enero de 2011 y con ella, mi gusanillo por las enfermedades sistémicas. Gracias por contagiar ese entusiasmo por aprender y, sobre todo, por animarme a acabar la tesis.

Gracias a Almudena Sánchez, del registro RESCLE. Sin tu continuo apoyo y dedicación, éste y otros trabajos del RESCLE no habrían salido a la luz. Hago el agradecimiento extensivo a Carmen Pilar Simeón, auténtica biblia de la esclerodermia y ejemplo para los investigadores nacionales e internacionales de una enfermedad tan cruel y apasionante como la esclerosis sistémica.

A los *fellows* de Sistémicas, en especial a Ignasi y a Marco, sin vuestro ejemplo habría tirado la toalla hace tiempo. A Sergio Prieto, porque se puede ser un crack como investigador y como médico.

Gracias a mis padres, por haberme educado en unos valores que me hacen ser la persona que soy y haber apostado por mí desde siempre. Nunca os estaré lo suficientemente agradecida. A mi hermana Irene, por tus consejos sobre la tesis, por nuestras charlas sobre feminismo y revolución y sobre la vida. Me hiciste muy feliz cuando me dijiste que te venías a Barcelona.

A todos mis amigos:

En Barcelona: Guille, Marta y Rigo, por darme la plasta sobre “mi amiga” la tesis y por plantear *vermuts* que al final celebramos dos veces al año; Berta y a Miriam, por las tardes de café en el Tiramisú y por el club de lectura, espero que vengan muchos más libros. A Lorna y a Jaume, por compartir maldades, que, al final es lo que nos da vidilla.

Y en la distancia: A Lola y a Rita, a quienes conocí realizando el máster de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas.

A Dani y a Bego, os quiero mucho en la distancia. Dani, gracias por seguir llamándome por teléfono aún cuando no me apetece hablar.

También quiero agradecer al personal de Urgencias del Hospital Clínic: médica/os, enfermera/os, auxiliares y administrativa/os. Gracias por hacer tan agradable el día a día de un trabajo a menudo tan ingrato.

Abreviaturas

ACR: Asociación Americana de Reumatología.

ACA: Anticuerpos anti-centrómero.

ANA: Anticuerpos antinucleares.

ARA: Anticuerpos anti-RNA polimerasa.

ATA: Anticuerpos anti-topoisomerasa.

CENP: Proteínas centroméricas.

CRE: Crisis renal esclerodérmica.

CREST: Calcinosis, Raynaud, Esclerodactilia, afectación esofágica, Telangiectasias.

CVF: Capacidad vital forzada.

DLCO: Capacidad de difusión de monóxido de carbono.

ELISA: Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima.

EPI: Enfermedad pulmonar intersticial.

ES: Esclerosis sistémica.

ESD: Esclerosis sistémica difusa.

ESL: Esclerosis sistémica limitada.

ESS: Esclerosis sistémica sine esclerodermia.

EULAR: European League Against Rheumatism.

EUSTAR: European League Against Rheumatism Scleroderma Trials and Research.

FR: Fenómeno de Raynaud.

GAVE: Ectasia vascular antral gástrica.

GEAS: Grupo de Enfermedades Autoinmunes y Sistémicas.

HAP: Hipertensión arterial pulmonar.

HLA: Complejo mayor de histocompatibilidad.

IC: Intervalo de confianza.

IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina.

IFN- γ : Interferón gamma.

IFI: Inmunofluorescencia indirecta.

IFP: Interfalángicas proximales.

IP: Inmunoprecipitación.

LES: Lupus eritematoso sistémico.

MCF: Metacarpofalángicas.

mRSS: Modified Rodnan Skin Score.

OR: Odds ratio.

PAP: Presión arterial pulmonar.

RESCLE: Registro español de pacientes con esclerodermia.

SEMI: Sociedad Española de Medicina Interna.

UD: Úlceras digitales.

Índice

I. Introducción	XX
I. Revisión bibliográfica	XX
III. Hipótesis	XX
IV. Objetivos	XX
V. Estudios publicados	XX
Primer estudio	XX
Segundo estudio	XX
VI. Discusión	XX
VII. Conclusiones	XX
Bibliografía	XX

I. Introducción

La esclerosis sistémica (ES) es una enfermedad multisistémica que se caracteriza por la presencia de fibrosis extensa, vasculopatía y datos de autoinmunidad en forma de síntesis de autoanticuerpos[1]. Clínicamente se caracteriza por la presencia del fenómeno de Raynaud (FR), el desarrollo de esclerosis cutánea y la fibrosis de diferentes órganos.

Desde el punto de vista epidemiológico, tiene un marcado predominio femenino (3:1 a 14:1)[2], afecta a mujeres en edad media y el 5% de los casos se diagnostican en la edad infantil[3]. Se considera una enfermedad poco frecuente, con una prevalencia variable según el área geográfica estudiada que oscila entre 50 y 200 casos por millón de habitantes y se han descrito incidencias de 2,3 a 22,8 casos por millón de habitantes/año[4]. Como en otras enfermedades sistémicas como el lupus eritematoso sistémico la raza juega un papel en la enfermedad. En pacientes de raza negra, en comparación con caucásicos, la enfermedad se presenta a edad más temprana[5] y en formas más graves[6].

Se desconoce con exactitud la etiopatogenia de la enfermedad, aunque se han implicado factores exógenos como algunas infecciones virales y la exposición a diferentes agentes ambientales u ocupacionales como solventes orgánicos, pesticidas o metales pesados[7]. Se han descrito tres fenómenos fundamentales en la patogenia: la vasculopatía de pequeño vaso, la alteración en la inmunidad y la disregulación en la síntesis del colágeno. Sin embargo, la característica que diferencia a la ES de otras enfermedades autoinmunes es que los fenómenos autoinmunes y la vasculopatía preceden a la fibrosis[8]. Se piensa que el daño microvascular y la activación endotelial en etapas iniciales son los primeros fenómenos en producirse, conducen a una reducción en el número de capilares y al remodelado vascular lo que ocasiona estrechamiento de la luz que lleva a la hipoxia tisular y al estrés oxidativo[9]. Las células endoteliales activadas exhiben un aumento en la expresión de moléculas de adhesión que aumentan a su vez el reclutamiento de células inflamatorias. La secreción de factores vasoconstrictores como la endotelina 1, de factores de crecimiento y factores profibróticos favorecen en última instancia la producción de matriz extracelular. Se desconoce el proceso exacto de la fibrosis, pero existe una diferenciación, reclutamiento, proliferación y activación del fibroblasto que se traduce en un exceso de depósito de colágeno en la matriz extracelular. Esto aumenta la rigidez tisular y reduce la elasticidad de los órganos afectados, lo que resulta en un estrés mecánico[9].

Respecto a la alteración de la inmunidad se han descrito alteraciones tanto en el sistema inmune innato, con un cambio de la respuesta humoral hacia un predominio Th2 y una disminución de la respuesta IFN- γ , característica de la respuesta Th1, como del sistema inmune adquirido, con la aparición de anticuerpos antinucleares (ANA), fenómeno prácticamente universal y que de manera característica se asocian con un determinado perfil clínico y pronóstico.

Desde el punto de vista clínico, las manifestaciones son muy heterogéneas, pueden afectar a cualquier órgano de la economía y son debidas fundamentalmente a la vasculopatía o a la fibrosis[10](Tabla 1). Por la primera se

explican el fenómeno de Raynaud, las úlceras digitales, la hipertensión pulmonar (HAP) y la crisis renal esclerodérmica (CRE). La fibrosis es la base de la esclerodermia cutánea, la enfermedad pulmonar intersticial (EPI) y la afectación gastrointestinal con sus diferentes manifestaciones.

TABLA 1. Principales manifestaciones clínicas de la esclerosis sistémica.

AFECTACIÓN	FRECUENCIA
Gastrointestinal	90%
Cutánea	
Esclerosis cutánea	90%
Calcinosis	25%
Vasculares	
Fenómeno de Raynaud	90%
Telangiectasias	75%
Úlceras digitales	40%
Musculoesquelética	65%
Pulmonar	
Enfermedad pulmonar intersticial	40%
Hipertensión arterial pulmonar	15%
Cardíaca	5-20%
Renal	5-10%

Modificado de: Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. Lancet 2017;390:1685-99.

Tanto la presentación clínica como el curso evolutivo es muy variable. Algunos pacientes presentan un curso indolente con fenómeno de Raynaud de años de duración y con desarrollo décadas después de hipertensión arterial pulmonar. Con mucha frecuencia, estos pacientes presentan afectación cutánea poco extensa o limitada a la cara y a la zona distal de extremidades por debajo de codos y rodillas. En el otro lado del espectro clínico, otros enfermos presentan una rápida y extensa afectación cutánea con compromiso proximal de extremidades y tronco, con fenómeno de Raynaud de pocos meses de evolución y con desarrollo precoz de afectación pulmonar intersticial, gastrointestinal, cardíaca o fracaso renal. Estos dos tipos descritos de esclerosis sistémica son la esclerodermia limitada y la esclerodermia difusa, respectivamente.

De hecho, la base de la mayoría de los criterios clasificatorios y clasificaciones de la ES ha sido el grado de extensión de la induración cutánea. Los primeros criterios fueron los de la Asociación Americana de Reumatología (ARA)(Tabla 2). Datan de 1980[11] y se diseñaron con el objetivo de ser altamente específicos. Se utilizaron durante años para la inclusión de pacientes en ensayos clínicos. Sin embargo, limitaban la sensibilidad para el diagnósti-

co de las formas limitadas y las formas iniciales de la enfermedad. Además, pacientes con síndromes esclerodermiformes como la fascitis eosinofílica o la morfea generalizada pueden cumplir los criterios de ES.

TABLA 2. Criterios de clasificación de la esclerosis sistémica de la ARA (1980).

CRITERIO MAYOR	CRITERIOS MENORES
Esclerosis cutánea proximal	Esclerodactilia Cicatrices puntiformes en el pulpejo de los dedos Fibrosis pulmonar bibasal

Para el diagnóstico de esclerosis sistémica se precisa el criterio mayor o dos criterios menores.

Para subsanar esta deficiencia, LeRoy y Medsger propusieron una nueva clasificación en 1988[12] que distinguía entre esclerosis sistémica con esclerodermia limitada (ESL) y esclerosis sistémica con esclerodermia difusa (ESD), con un buen grado de validez y valor pronóstico. A pesar de la modificación de estos criterios en 2001 (Tabla 3), seguía existiendo un 20% de pacientes con afectación limitada que no podían clasificarse como ES, lo que dificultaba su diagnóstico en las etapas iniciales. Tampoco se clasificaban como tal el 10% de los pacientes que a pesar de tener anticuerpos específicos, especialmente anticentrómero y una afectación orgánica típica, no presentaban afectación cutánea, la denominada ES sine escleroderma [13]. Finalmente, la clasificación en dos subtipos con un pronóstico diferente no siempre se cumple, ya que en el subtipo con ES limitada además de poder desarrollar HAP, característica que ya se establecía en la clasificación previa, pueden presentar EPI e incluso CRE, lo que ensombrece de manera evidente el pronóstico de los enfermos. Por otra parte, en el grupo de ES difusa donde se consideraba que la HAP era una complicación muy poco frecuente, se ha observado que hasta un 20% de los enfermos la presentan de manera tardía y en la mayoría de las ocasiones asociada a EPI, lo que empeora aún más el pronóstico de este subtipo.

TABLA 3. Subtipos de esclerosis sistémica según LeRoy y Medsger.

CARACTERÍSTICA	LIMITADA	DIFUSA
Fenómeno de Raynaud	Años de evolución	< 1 año
Inmunología	Anticentrómero 70-80%	Antitopoisomerasa 30% Raro anticentrómero
Piel	Distal a codos y rodillas	Proximal a codos y rodillas
Afectación orgánica	HAP Telangiectasias Calcinosis	Grave y precoz EPI Cardíaca Gastrointestinal Crisis renal esclerodérmica Roces tendinosos
Capilaroscopia	Megacapilares y escasa pérdida	Pérdida capilar y poca dilatación

EPI: enfermedad intersticial; HAP: hipertensión arterial pulmonar.

En la actualidad, se considera que la clasificación más idónea de la ES es la que distingue cuatro subtipos: ES limitada, ES difusa, sin esclerodermia y preesclerodermia (Tabla 4), que se definen por la extensión de la esclerosis cutánea y se asocian a determinadas afecciones viscerales, capilaroscópicas e inmunológicas.

TABLA 4. Clasificación en subtipos cutáneos de la esclerodermia.**ESCLEROSIS SISTÉMICA DIFUSA**

Presencia de FR meses antes de la afectación visceral
 Esclerosis cutánea PROXIMAL a codos y rodillas
 Presentan ATA en 30%
 Tendencia a desarrollo precoz de CRE y EPI
 Capilaroscopia con pérdida capilar

ESCLEROSIS SISTÉMICA LIMITADA

Presencia de FR años antes de la afectación visceral
 Esclerosis cutánea DISTAL a codos y rodillas
 Presentan ACA en 70-80%
 Desarrollo de HAP en etapas finales de la enfermedad

ESCLEROSIS SISTÉMICA SINE ESCLERODERMA

Presencia de FR o equivalentes (úlceras digitales, alteraciones capilaroscópicas)
 No existe afectación cutánea
 Presencia de ANAs, pueden estar presentes ATA, ACA, ARA
 Afectación visceral típica de ES: hipomotilidad esofágica, EPI, HAP, afectación cardíaca
 Capilaroscopia con dilataciones y megacapilares

PRE-ESCLERODERMIA

Fenómeno de Raynaud
 Presencia de ANAs o alteraciones capilaroscópicas características

ANA: anticuerpos antinucleares; ACA: anticuerpos anti-centrómero; ATA: anticuerpos antitopoisomerasa; ARA: anticuerpos anti-RNA polimerasa III; CRE: crisis renal esclerodérmica; EPI: enfermedad pulmonar intersticial; HAP: hipertensión arterial pulmonar.

Finalmente, en un intento de ampliar la sensibilidad y la especificidad respecto de los antiguos criterios de la ARA, en 2013 se publicaron los criterios conjuntos del Colegio Americano de Reumatología (ACR) y la Sociedad Europea de Reumatología (EULAR)[14](Tabla 5), que incluyen por primera vez la presencia de autoanticuerpos específicos, las características capilaroscópicas, así como fenómenos vasculares y manifestaciones pulmonares. Estos criterios tienen una alta sensibilidad y especificidad (91% y 92%)[14], y se ha estimado un aumento en la sensibilidad del 30-40%[15,16] respecto a los antiguos criterios, especialmente en los subtipos limitados y en la ES sine escleroderma[17].

TABLA 5. Criterios clasificatorios de esclerosis sistémica de ACR/EULAR 2013.

ITEM	SUBITEM	VALOR
Endurecimiento cutáneo que afecta a ambas manos y se extiende proximal a MCF	Años de evolución	9
Endurecimiento de la piel de los dedos	Dedos edematosos 2	4
	Esclerodactilia (distal a MCF pero proximal a IFP)	
Lesiones en pulpejos	Úlceras digitales	2
	Cicatrices puntiformes en pulpejos	3
Telangiectasias		2
Alteraciones capilaroscópicas		2
Fenómeno de Raynaud		3
Afectación pulmonar	Hipertensión pulmonar	2
	Enfermedad pulmonar intersticial	2
Anticuerpos específicos de ES	Anti-centrómero	3
	Anti-topoisomerasa	3
	Anti-RNA polimerasa III	3

ES: esclerosis sistémica; IFP: interfalángicas proximales; MCF: metacarpofalángicas.

En los últimos años, algunos autores proponen distinguir las formas tempranas y muy tempranas de ES (*early and very early scleroderma*). Las formas muy tempranas o *very early scleroderma* presentan fenómeno de Raynaud, presencia de anticuerpos específicos, presencia de dedos en salchicha (o *puffy fingers*) y alteraciones capilaroscópicas características, debiendo cumplir 2 o más criterios[18]. Un estudio describió la presencia de afectación visceral sugestiva de ES en casi las dos terceras partes de los pacientes con formas tempranas (o *early scleroderma*)[19]. Estos pacientes pueden tener afectación esofágica inicial (reflujo gastroesofágico o esfínter esofágico inferior hipotónico), disminución de la capacidad de difusión de CO en ausencia de afectación intersticial, disfunción diastólica en ausencia de hipertensión arterial, úlceras digitales, cicatrices puntiformes o calcinosis. Un estudio prospectivo mostró que estos pacientes tenían 60 veces más probabilidad de evolucionar a una ES establecida respecto de sujetos con FR aislado[20]. Esta diferenciación permite distinguir aquellos pacientes que evolucionarán a una ES definitiva y en un futuro aprovechar esta ventana de oportunidad en las fases muy iniciales de la enfermedad[21,22].

Hasta la fecha diversos estudios han estudiado la sensibilidad de los nuevos criterios clasificatorios de 2013, que permiten la clasificación del 30% de formas iniciales[22]. Cabe destacar el estudio de Trapiella y colaboradores, en que analizó 1.632 pacientes, dividiéndolos en formas tempranas y muy tempranas[23]. El 28% de los pacientes clasificados como formas tempranas evolucionaron a ES establecida, frente a un 8,3% de las muy tempranas. En los pacientes con formas tempranas fue superior el cumplimiento de los criterios de 2013 de la ACR/EULAR frente a los pacientes con formas muy iniciales (24% vs 5,6%). La afectación esofágica se identificó como un factor independiente de evolución a ES[23]. Se demuestra con este estudio la importancia de una escrupulosa valoración de la afectación orgánica en los estadios iniciales de la enfermedad a fin de monitorizar su evolución.

El pronóstico de la enfermedad ha mejorado de forma sustancial en las últimas décadas, debido al diagnóstico en etapas más iniciales y al tratamiento de las complicaciones orgánicas, especialmente de la CRE o la HAP[25,26]. Sin embargo, es una enfermedad que provoca un aumento de mortalidad respecto a la población general[27] y que, a pesar de los avances terapéuticos ésta no ha variado de manera significativa en los últimos 40 años[27]. Aproximadamente, la mitad de los pacientes fallecen por causas directamente relacionadas con la ES[28], siendo las causas más frecuentes la afectación pulmonar intersticial (35%), la hipertensión arterial pulmonar (26%) y las causas cardíacas (26%). Entre las causas no directamente relacionadas con la enfermedad destacan las neoplasias y las infecciones.

Tradicionalmente, las clasificaciones y los fenotipos clínicos de la enfermedad se han basado fundamentalmente en la extensión de la afectación cutánea. Sin embargo, desde hace unos años, algunos autores como Steen[24] preconizan una clasificación basada tanto en los subtipos cutáneos como en la presencia de determinados anticuerpos, al considerar que es la presencia de éstos la que mejor define el perfil clínico y pronóstico de los enfermos. De esta manera, el subtipo cutáneo limitado se relacionaría con el anticuerpo anticentrómero, anti-PM/Scl, anti-Th/To y anti-U1 RNP mientras que el subtipo difuso lo haría con el antitopoisomerasa, anti-RNA polimerasa 3 y anti-U3RNP, respectivamente.

Con estas premisas, en la presente tesis se analizan las características demográficas y clínicas, así como el pronóstico, de una cohorte multicéntrica de pacientes con ES de acuerdo con su perfil inmunológico.

En el apartado siguiente se realiza un análisis bibliográfico de los diferentes tipos de anticuerpos específicos de ES y su relación con las manifestaciones clínicas y el pronóstico de estos enfermos. A continuación, se presentan la hipótesis y los objetivos, los estudios publicados que conforman el cuerpo principal de la tesis, con un breve comentario de cada uno de ellos. Por último, se expone una discusión general y un anexo con un tercer artículo sobre la misma temática del que la doctoranda es autora.

II. Revisión bibliográfica

1. Anticuerpos en esclerosis sistémica

Una de las características de la ES es la presencia de ANA, que es un fenómeno universal[29] y altamente específico. La asociación entre ES y ANA se conoce desde finales de los años 60[30] y su presencia alcanza el 95% de los pacientes. La mayoría van dirigidos contra componentes nucleares y nucleolares celulares. Se desconoce el papel exacto que desarrollan en la patogenia de la enfermedad, si bien su presencia, al igual que otras enfermedades autoinmunes[31], antecede al desarrollo de los síntomas[32].

En los criterios clasificatorios de 2013 se han incluido tres ANA que se consideran específicos de ES: el anticentrómero, el antitopoisomerasa o Scl-70 y el anti-RNA polimerasa III. En general, se mantienen estables a lo largo del tiempo[33,34] y es infrecuente que coexistan dos tipos de anticuerpos específicos en un mismo paciente. En una revisión de 5.423 pacientes, la coexistencia de anticuerpos antitopoisomerasa y anticentrómero solo se describió en 28 pacientes (0,52%)[35]. Datos indirectos que apoyan el papel patogénico de estos anticuerpos son la ausencia de los mismos en sujetos sanos[36] o la correlación entre el título de algunos anticuerpos, como los antitopoisomerasa con el grado de afectación cutánea y con la actividad de la enfermedad[37-39]. Aumentos séricos de estos anticuerpos también se han relacionado con un empeoramiento clínico y con progresión de la afectación cutánea[37-39]. Kuwana y colaboradores estudiaron de manera prospectiva un grupo de 28 pacientes con anticuerpo antitopoisomerasa y documentaron su desaparición en 6 pacientes que, respecto del grupo con persistencia de los anticuerpos, tuvieron con menor frecuencia el subtipo difuso, menor afectación pulmonar intersticial y una mejor supervivencia[40]. Existen estudios *in vitro* que aportan cierta evidencia al probable papel patogénico que podrían tener algunos de estos anticuerpos. Henault y colaboradores describieron la unión específica del autoantígeno topoisomerasa I a la superficie de fibroblastos[41]. Esta unión a los fibroblastos permitiría ser reconocido por los anticuerpos antitopoisomerasa circulantes, induciendo la adhesión y activación monocitaria que a su vez amplificaría la respuesta inmunológica y en última instancia produciría fibrosis mediada por secreción local de citoquinas por los fibroblastos activados[41].

Hasta la fecha se han identificado tres tipos de anticuerpos específicos de ES, pero existen además otros no específicos de la ES (anti-fibrilarina o U3RNP, anti-PM/Scl, anti-Th/To, anti-U1RNP, anti-Ku, anti-U11/U12RNP y anti-RuvBL1/2) que también se han aislado en pacientes con ES. Cada uno de ellos se ha asociado con patrones étnicos y genéticos y condiciona un perfil de enfermedad distintivo.

1.1. Anticuerpos anticentrómero

Los anticuerpos anticentrómero fueron descritos en 1981 por Moroi[42]. Se caracterizan por presentar un patrón moteado en la inmunofluorescencia[29]. Se han descrito seis proteínas del centrómero contra las que

reaccionan los anticuerpos anticentrómero (CENP-A a CENP-F), si bien la práctica totalidad va dirigida contra el CENP-B[43]. Los títulos de este anticuerpo se mantienen estables en el tiempo y las variaciones en sus títulos no se han asociado con una mayor actividad de la enfermedad[33]. Se han asociado con el HLA-DR1, HLA-DR4, DR-5, Dw13 y DRw8, y con la delección de leucina en la posición 26 en el primer dominio del HLA-DQB1[44,45].

Se presenta en el 20-40% de los pacientes con ES, presentando diferencias raciales, siendo más frecuentes en pacientes de raza blanca que en pacientes de raza negra, latinos[46] o de origen tailandés[47]. Se asocian con el subtipo limitado, en los que está presente en un 30% de los casos y son más frecuentes en mujeres. Su presencia es muy específica de ES y su hallazgo en un sujeto con fenómeno de Raynaud predice la progresión a una ES[48]. También pueden encontrarse en pacientes con colangitis biliar primaria[49] y en el síndrome de Sjögren.

Los pacientes con anticuerpos anticentrómero desarrollan con mayor frecuencia úlceras digitales, calcinosis y telangiectasias, así como acrosteolisis. Algunos autores lo han asociado al desarrollo de HAP[50-52], que aparece en el 20% de los pacientes, si bien hay otros estudios que no han comprobado esta asociación[53-57]. Dado que no suelen presentar afectación pulmonar intersticial[58], ni tampoco cardíaca o renal, se les considera pacientes con buen pronóstico. El 40% de estos pacientes con ACA fallecen debido a HAP[54].

1.2. Anticuerpos antitopoisomerasa

Se denominaron inicialmente anti-Scl70 por considerar que el antígeno contra el que iban dirigidos era una proteína nuclear de 70 KDa, que posteriormente se identificó como una degradación de la proteína de ADN topoisomerasa I. En la inmunofluorescencia indirecta presentan un patrón nuclear y moteado fino. A semejanza de los anticentrómero, los anticuerpos antitopoisomerasa son altamente específicos de ES (97-100%), y rara vez se aíslan en sujetos sanos o en familiares de primer grado[48].

Se asocian con los antígenos HLA-DRB1, DQB1 y DPB1[45,46]. El DRB1*11 es común en todos los grupos étnicos, el HLA-DRB1*1101 se encuentra en pacientes de raza blanca y de origen afroamericano y el DRB1*1104 en pacientes de ascendencia latina y japonesa[59].

Como los anticentrómero, presentan variaciones étnicas y geográficas, siendo más frecuentes en pacientes afroamericanos, donde aparecen en la tercera parte de pacientes con esta ascendencia[24,60]. Se asocian con el subtipo difuso, si bien entre el 8%[61] y el 36%[62] de los pacientes con subtipos limitados presentan antitopoisomerasa. Su asociación clínica más característica es la afectación pulmonar intersticial, que pueden llegar a desarrollar hasta un 87% de los pacientes[57], si bien es clínicamente significativa solo en el 23% de los casos. Se ha asociado con el desarrollo de roces tendinosos[63], úlceras digitales, acrosteolisis[64], afectación cardíaca (16%)[24] y renal (10%)[65]. Debido a la asociación con afectación orgá-

nica grave, en especial la EPI[53], son pacientes de mal pronóstico[66]. La supervivencia se encuentra condicionada por la afectación pulmonar, que suele desarrollarse en los primeros años de la enfermedad. Es muy rara la coexistencia con los anticuerpos anticentrómero (0,5%)[35] u otros anticuerpos específicos de ES. El aumento de los títulos de antitopoisomerasa se correlaciona con un empeoramiento en la actividad de la enfermedad y de progresión cutánea[37–39]. En los casos en los que se ha descrito la desaparición de anticuerpos antitopoisomeras se ha asociado con una mejoría de la afectación cutánea, de la afectación pulmonar y de una mejor supervivencia[67].

1.3. Anticuerpos anti-RNA polimerasa III

Fueron descubiertos en 1993[68] y debido a la dificultad de las técnicas de inmunoprecipitación su determinación extensiva en los laboratorios no se llevó a cabo hasta el desarrollo de un ELISA, en 2004[69]. Prueba de ello es que en 2014 el 44% de los pacientes incluidos en el registro europeo EUS-TAR tenían determinado estos anticuerpos[70]. Se han descrito tres tipos RNA polimerasa y con frecuencia coexisten los tipos I y III[68,71]. Son anticuerpos con una alta sensibilidad (91%) y especificidad (99%) para ES[69]. Los anticuerpos anti-RNA polimerasa II raramente se presentan de forma aislada, son inespecíficos para ES y presentan un patrón nucleolar en la IF. En ocasiones coexisten con los antitopoisomerasa y se han aislado en algunos pacientes con lupus y en síndromes de solapamiento[72].

Se han descrito asociaciones con los HLA DRB1*0404, DRB1*11, y DQB1*03 tanto en población blanca como latinos[73], mientras que en la raza negra se asocia con HLADRB1*08[73]. Sin embargo estas asociaciones no son defendidas por todos los autores[74–76].

Es el tercer anticuerpo en frecuencia tras los anticentrómero y antitopoisomerasa, aunque su prevalencia, con amplias variaciones regionales, es muy variable. Se han descrito países con una alta prevalencia, como Estados Unidos, donde alcanza frecuencias del 25%[71,77] frente a países como Japón (6%) o Corea del Sur (3,4%)[78]. En Europa se ha descrito un gradiente norte-sur, con países con una alta prevalencia como Suecia (22%) [51] o Reino Unido (12%)[79] y otros como Francia, con frecuencias del 4%-9,4%[77,80], Italia (8%)[81] o Polonia (5%). Un reciente metaanálisis calculó una frecuencia global del 11%[82], si bien los estudios analizados en el mismo eran muy heterogéneos.

Los pacientes con anticuerpos anti-RNA polimerasa presentan con frecuencia un subtipo difuso y la afectación cutánea tiene de manera característica una rápida evolución[83,84]. En algunos estudios se ha asociado el título de estos anticuerpos con el grado de afectación cutánea[85], mientras que en otros no se ha evidenciado relación con el desarrollo de complicaciones orgánicas[86]. Estos pacientes tienen afectación tendinosa y el desarrollo de contracturas articulares[83] debido a la agresiva afectación cutánea, por lo que debería plantearse la fisioterapia precoz con el fin de evitar esta complicación.

Clásicamente se ha asociado con el desarrollo de CRE, donde aparecen en el 60% de los pacientes que presentan esta complicación[87]. Sin embargo, solo el 12-24%[83,88] de los pacientes con anti-RNA polimerasa la desarrollarán. El tiempo desde el debut de la ES hasta el desarrollo de CRE es menor que en los pacientes con CRE y antitopoisomerasa[65]. Las diferencias de prevalencia de la CRE en diferentes cohortes —menos frecuentes en países como Italia[65], Francia[89] o Japón[88], frente a series americanas y británicas[82]— reflejarían las variaciones étnicas y geográficas de estos anticuerpos.

Otra complicación que puede presentarse en las fases iniciales es la ectasia vascular antral gástrica (GAVE por su acrónimo en inglés). En el análisis de Ingraham y colaboradores de 28 pacientes que desarrollaron GAVE, solo uno presentó anticuerpos anti-RNA polimerasa. En 12 pacientes que tenían un subtipo difuso y no se aislaron anticuerpos específicos, 4 tenían un IFI con patrón moteado y 4 tenían una afectación cutánea rápidamente progresiva[90]. En el estudio posterior del grupo EUSTAR, el más extenso hasta la fecha, la presencia del anticuerpo se relacionó de manera independiente con la presencia de GAVE. En pacientes con esta complicación la presencia de anticuerpo anti-RNA polimerasa fue significativamente mayor que en el grupo control sin la misma (48% vs 16%, $p=0,01$)[91].

Un punto interesante es el desarrollo de neoplasias, en especial durante los primeros años tras el diagnóstico y en pacientes en los que el debut de la enfermedad fue en edades más tardías[83], por lo que se piensa que en este subgrupo de pacientes la ES podría representar un síndrome paraneoplásico. La presencia de mutaciones en el gen POLR3A, que codifica para el polipéptido A de la RNA polimerasa III, así como una respuesta inmuno-mediada contra este antígeno en muestras histológicas de pacientes con anticuerpo anti-RNA polimerasa y cáncer, pero no en pacientes con cáncer y otros anticuerpos, apoyaría la teoría del fenómeno paraneoplásico[92].

A pesar de que la mayoría de estudios en cohortes no mostraron asociación con la afectación pulmonar[51,64], un reciente estudio mostró que el 18% de los pacientes desarrollaron una afectación pulmonar intersticial extensa (>20%) a lo largo de 8 años de seguimiento[93]. Estudios anteriores describieron una afectación intersticial superior a la de pacientes con anticuerpo anticentrómero[94,95]. Además, en la cohorte del hospital Royal Free de Londres se mostró como factor independiente para el desarrollo de HAP[53].

1.4. Anticuerpos anti-fibrilarina o anti-U3RNP

Se describieron por primera vez en pacientes con ES en 1985[96]. Se dirigen contra la fibrilarina, componente del complejo nucleolar U3-RNP, de 34 kDa[97] y presentan un patrón nucleolar en la IFI[98].

Entre el 4-8%[99-101] de los pacientes con ES presentan estos anticuerpos, que son específicos de ES y excluyentes con los anticentrómero, topoisomerasa y RNA polimerasa[101], aunque también se han descrito en

pacientes con lupus, enfermedad indiferenciada del tejido conectivo y en sujetos con fenómeno de Raynaud[102]. Se han descrito asociaciones con los HLA-DQB1*0604 y DRB1*1302[100], mientras que otros estudios no la han confirmado[75].

Suelen ser más frecuentes en pacientes de ascendencia afroamericana[64,99,100], en hombres y en pacientes jóvenes[99,101]. Los enfermos con este tipo de anticuerpo suelen presentar un subtipo cutáneo difuso, con afectación vascular periférica, que incluye úlceras e isquemia digital.

Desde el punto de vista clínico, son pacientes con una afectación orgánica muy grave. Pueden presentar afectación pulmonar, tanto en forma de HAP, de manera semejante a la de los pacientes con anticuerpos anti-Th/To, como de afectación pulmonar intersticial, similar a la de los pacientes con anticuerpos antitopoisomerasa, y suele presentarse de forma precoz[24]. También suelen presentar afectación cardíaca (18%), gastrointestinal, con compromiso de intestino delgado en forma de malabsorción y pseudoobstrucción intestinal y renal (7%), siendo ésta más frecuente en pacientes de raza blanca. Debido a su grave afectación orgánica, son pacientes con muy mal pronóstico y fallecen sobre todo por HAP[99].

1.5. Anticuerpos anti-Th/To

Descritos inicialmente en 1982 como un anticuerpo antinucleolar que precipitaba ribonucleoproteínas asociado con la RNP 8-2 y RNA 7-2, componentes de las enzimas procesadoras de RNA RNAPasas P y MRP-[103,104]. Inicialmente se pensó que eran específicos de la ES, pero también se ha aislado en esclerodermia localizada[103]. Producen un patrón nucleolar por inmunofluorescencia. En un estudio italiano se aislaron en el 67% de los pacientes que presentaban un patrón nucleolar[105]. Se han asociado con el HLA-DRA11[106].

Son anticuerpos que se presentan con mucha menos frecuencia que los anteriores, y se encuentran en un 5-10% de pacientes con ES[107]. Son más frecuentes en pacientes de raza blanca. Clínicamente se caracterizan por presentar el subtipo cutáneo limitado y comparados con los pacientes con anticuerpo anticentrómero, tienen un fenómeno de Raynaud de menor duración hasta el inicio de los síntomas, suelen ser más jóvenes y con mayor frecuencia son varones[108]. Presentan con frecuencia dedos en salchicha o *puffy fingers*, poca afectación articular, afectación grave de intestino delgado e hipotiroidismo y rara vez presentan afectación renal[106,108]. A diferencia de los pacientes con anticentrómero, tienen afectación pulmonar intersticial precoz, de manera similar a los pacientes con anticuerpos antitopoisomerasa. Su mal pronóstico[107] deriva del desarrollo de HAP, que aparece hasta en el 23-30%[24,107,108] de los pacientes. Trabajos más recientes sin embargo, no han demostrado una peor supervivencia en este grupo de pacientes, lo que probablemente refleje el avance en el tratamiento de esta complicación[105].

1.6. Anticuerpos anti-U1RNP

Los anticuerpos anti-U1RNP se encuentran en otras enfermedades sistémicas, en especial en la enfermedad mixta del tejido conectivo, donde tiene una prevalencia cercana al 90%. En la ES su frecuencia es menor, con prevalencias del 2-14%[64,109,110]. Presentan ANAs a títulos elevados y muestran un patrón moteado en la inmunofluorescencia. Con frecuencia se aíslan en paciente afroamericanos, siendo en éstos el anticuerpo más frecuente en el subtipo cutáneo limitado. Clínicamente se caracterizan por tener poca afectación cutánea, aunque el 20% presenta una afectación difusa[24]. Suelen debutar a edades jóvenes[110] y con frecuencia tienen afectación articular (94%) y miositis (27%)[24]. A pesar de que pueden llegar a manifestar todo el espectro de manifestaciones orgánicas de la ES, las complicaciones graves se presentan con menor frecuencia en este grupo. Entre el 22-33% desarrollan afectación pulmonar intersticial[24,110] y la afectación renal es poco frecuente. La HAP en este grupo es la principal causa de muerte, si bien el pronóstico es mejor en estos pacientes que en pacientes con HAP sin este anticuerpo[111].

1.7. Anticuerpos anti-PM/Scl

Descubiertos a finales de los años 70 en pacientes con solapamiento polimiositis/esclerodermia (PM/ES)[112], fueron renombrados como anti-PM/Scl dado que el 50% de los pacientes con solapamiento con miopatía inflamatoria con este anticuerpo presentaban un perfil clínico compatible con ES[113]. Son anticuerpos poco frecuentes (0-6%)[57,114] y van dirigidos contra un complejo compuesto por 11 y 16 polipéptidos cuyos mayores determinantes antigénicos son dos proteínas de 75 y 100 kDa[115].

Presentan un patrón nucleolar homogéneo por inmunofluorescencia[116]. Con frecuencia se encuentran presentes en la escleromiositis, pero también en pacientes con polimiositis, dermatomiositis, e incluso en ES sin afectación miopática[113,117,118]. La presencia de anticuerpos anti-PM/Scl varía según los diferentes grupos étnicos, siendo poco frecuentes en afroamericanos y raramente aislado en pacientes japoneses[57,119].

Desde el punto de vista clínico estos pacientes se caracterizan por presentar un fenotipo cutáneo limitado, aunque el 20% tiene una afectación difusa[114], presentan calcinosis, úlceras digitales y miositis (58%)[64,120]. Entre el 30-78%[64,118,120-122] desarrollan EPI, sin embargo un reciente estudio en el que se comparaban las características de la EPI según tuvieran anticuerpos antitopoisomerasa o anti-PM/Scl, mostró una estabilización de la capacidad vital forzada, e incluso una mejoría del 10% de la misma en un tercio de los pacientes con anti-PM/Scl[123].

1.8. Anticuerpos anti-Ku

Se describieron en pacientes con solapamiento PM/ES[124] e inicialmente se pensó que eran específicos de ES. Posteriormente se han encontrado en pacientes con lupus eritematosos sistémico (LES), síndrome de Sjögren, artritis reumatoide, enfermedad indiferenciada del tejido conectivo y síndromes de solapamiento autoinmune con LES/PM/ES y LES/PM[125,126] o en pacientes con HAP[127].

Los anticuerpos anti-Ku reconocen un complejo de 70 y 80kDA de localización nuclear y nucleolar que se encarga de la reparación del daño del ADN, de procesos de recombinación del ADN, del mantenimiento de los telómeros y de la regulación de los genes de transcripción. Muestran un punteado fino y también un patrón nucleolar en la inmunofluorescencia.

En la ES se presentan con una frecuencia del 2-5%[125,128] y se han asociado con miositis, artritis y contracturas articulares, mientras que presentan una asociación negativa con afectaciones vasculares como las úlceras digitales o las telangiectasias[128].

1.9. Anticuerpos anti-U11/U12 RNP

Se dirigen contra las pequeñas riboproteínas nucleares que componen el núcleo del espliceosoma, encargadas de catalizar el procesamiento del pre-RNA mensajero a RNA mensajero[129]. En ES se ha descrito una frecuencia del 3,2%[130] y presentan un patrón moteado nucleolar. Pueden presentar tanto el fenotipo cutáneo difuso como el limitado, pero se caracterizan por una afectación pulmonar intersticial extensa (79%) sin que desarrollen HAP, así como por una afectación gastrointestinal[131]. Debido a ello, estos pacientes tienen una supervivencia muy reducida, con 2,25 veces más riesgo de muerte o de requerir un trasplante pulmonar que los pacientes que no presentan este anticuerpo[130].

1.10. Anticuerpos anti-RuvBL1/2

Es un anticuerpo raro, que se presenta con frecuencias en torno a 1-2%. Se describió mediante inmunoprecipitación y reconoce un doble hexámero constituido por las proteínas RuvBL1 y 2, localizadas en el nucleosoma. Produce un patrón nucleolar moteado. Los pacientes con estos anticuerpos tienen un predominio masculino, predomina el subtipo cutáneo difuso y presentan miopatía inflamatoria. A pesar de que la mayoría tiene una afectación orgánica leve, en algunos pacientes se ha documentado mayor afectación cardíaca[132].

Tal como se ha comentado en la introducción, la mayoría de las clasificaciones de la ES se basan en la distribución de la afectación cutánea. De este modo, según si el paciente tenga un subtipo limitado o difuso tendrá más riesgo de desarrollar complicaciones orgánicas, lo que influye en su pronóstico. Sin embargo, algunos autores defienden que este riesgo para

desarrollar afectación orgánica no estaría tan condicionada por la extensión cutánea de la esclerodermia cuanto por el anticuerpo presente, y lo mismo sucedería con el pronóstico. A continuación, se revisa la literatura publicada sobre la influencia de los anticuerpos en el desarrollo de las diferentes manifestaciones clínicas de pacientes con ES.

2. Anticuerpos versus subtipo cutáneo como predictores de la afectación orgánica

Tradicionalmente, la supervivencia de la ES se ha considerado condicionada a la extensión de la afectación cutánea, puesto que la afectación difusa por su mayor afectación orgánica —en especial la cardíaca y la renal[133,134]— conlleva un peor pronóstico. Por otra parte, la mejoría de la afectación cutánea, que en algunos casos puede acontecer hasta en dos terceras partes de los pacientes con fenotipo cutáneo difuso, se asocia con una mejoría en el pronóstico, independientemente de la afectación visceral[135]. Sin embargo, dentro de un mismo subtipo cutáneo puede existir cierta heterogeneidad, y así, mientras que un paciente con anticuerpo antitopoisomerasa y afectación difusa tiene mayor riesgo de desarrollar una EPI, un paciente con una afectación difusa y anticuerpo anti-RNA polimerasa tiene mayor riesgo de desarrollar una afectación renal y menor de desarrollar una EPI[24].

Por otra parte el grosor cutáneo y la variación del índice cutáneo de Rodnan modificado (en inglés, mRSS) varían a lo largo de la enfermedad. Si bien hay estudios que documentan los cambios del mRSS y su papel en la estratificación del riesgo de la ES, se basan en un número pequeño y fijo de determinaciones del mRSS[136–138]. Incluso cuando se analizan varias determinaciones de mRSS los modelos matemáticos empleados asumen una variación constante del grosor cutáneo[111,112]. Los anticuerpos, por el contrario, se mantienen invariables en el curso de la enfermedad, tienen una fuerte correlación con la afectación visceral y con las variaciones de la afectación cutánea, y en algunos casos, las variaciones de los títulos séricos se asocia con un empeoramiento clínico. Además, una determinada afectación orgánica puede variar en función del tipo de anticuerpo presente y así la EPI asociada a anticuerpos anti-PM/Scl tiene un mejor pronóstico que la asociada a antitopoisomerasa[123]. Por último, la asociación con los antígenos mayores de histocompatibilidad se ha documentado más en relación con el tipo de anticuerpo presente que con los subtipos cutáneos[73,141]. Por todo ello, algunos autores como Steen defienden el mayor peso de los anticuerpos como predictores del perfil clínico de la ES.

Con el objetivo de determinar si los mayores condicionantes del perfil clínico de un paciente son el subtipo cutáneo o bien la presencia de un anticuerpo específico se han analizado las grandes cohortes nacionales de enfermos con ES. Cabe mencionar que la mayoría de estudios solo analizan

los anticuerpos antitopoisomerasa y anticentrómero y no los anti-RNA polimerasa, lo que constituye una limitación.

El primero que analizó las características clínicas de la cohorte EUSTAR fue el estudio de Walker y colaboradores, con el análisis de 3.656 pacientes[52]. El análisis multivariante confirmó que para algunas manifestaciones clínicas el efecto del anticuerpo superaba el del subtipo cutáneo. Mientras el subtipo cutáneo difuso se asociaba de manera independiente con el grado de actividad de la enfermedad y algunas manifestaciones clínicas como las contracturas articulares, los roces tendinosos, la EPI y la CRE, la presencia de un subtipo cutáneo diferente al limitado se asociaba con la afectación muscular (elevación de marcadores musculares, debilidad y atrofia muscular) y la presencia de proteinuria. En esta cohorte, la presencia de anticuerpos antitopoisomerasa se relacionó de manera independiente con la presencia de úlceras digitales, EPI, HAP sin EPI e hipertensión arterial. Además, los anticuerpos anticentrómero predijeron el desarrollo de HAP. En conjunto, el análisis multivariante de esta cohorte mostró que los anticuerpos contribuirían al desarrollo de 15 complicaciones orgánicas frente a las 11 en que lo hacía el subtipo cutáneo.

El análisis del registro español de esclerodermia (RESCLE) de Simeón y colaboradores con 916 pacientes mostró que los subtipos cutáneos predecían con mayor exactitud el desarrollo de complicaciones orgánicas frente a los anticuerpos. En concreto, los subtipos cutáneos predecían el desarrollo de 16 complicaciones orgánicas frente a las 13 de los anticuerpos. Sin embargo, manifestaciones graves como la EPI o la EPI grave se asociaban de manera independiente a la ausencia de anticuerpo anticentrómero. En esta cohorte, manifestaciones como la afectación gastrointestinal (esofágica y gástrica), las úlceras digitales, la afectación renal y la artritis se asociaron de manera independiente con el subtipo difuso, mientras que el limitado se asoció con la presencia de fenómeno de Raynaud. Por el contrario, la presencia de anticuerpos antitopoisomerasa predijo el desarrollo de pericarditis, mientras que la presencia de anticentrómero fue un factor protector independiente para la presencia de miositis y EPI y fue predictor del desarrollo de síndrome seco.

El subtipo sine escleroderma presentó algunas diferencias respecto al subtipo limitado, como una mayor frecuencia de cardiopatía isquémica y una mayor presión arterial pulmonar sistólica. Por estas diferencias los autores recomiendan la clasificación en 3 subtipos cutáneos. Los autores concluyen que, mientras la subdivisión en subtipos cutáneos es la que refleja de manera más fidedigna la historia natural de la enfermedad, el perfil inmunológico ayuda a definir las complicaciones viscerales y suponen una herramienta útil para predecir complicaciones como la EPI.

En el análisis de la cohorte del hospital Royal Free de Londres con 649 pacientes[142], Nihtyanova y colaboradores analizaron el peso de los subtipos cutáneos como predictores de mortalidad y de afectación visceral frente al de los anticuerpos. Mientras que el anticuerpo antitopoisomerasa se mostró como predictor de EPI, la presencia de anticentrómero fue el factor protector de esta complicación. Los autores también encontraron una

fuerte asociación entre los anticuerpos anti-RNA polimerasa y el desarrollo de CRE y el papel protector de los anticentrómero en el desarrollo de ésta. Sin embargo, el único anticuerpo que se asoció de manera significativa con la supervivencia fue el anticentrómero, si bien esta asociación no se confirmó en el análisis por subtipos, lo que sugería que la mejor supervivencia en estos pacientes se debería a la influencia del subtipo cutáneo y no tanto al anticuerpo.

Otro estudio anterior de este mismo grupo[53] en el que desarrollaron modelos que predijeran el desarrollo de afectación pulmonar en un grupo de pacientes no seleccionado con ES mostró que los anticuerpos tenían una validez predictiva con independencia del subtipo cutáneo. Mientras que el subtipo difuso y la presencia de anticuerpo antitopoisomerasa se asociaron con el desarrollo de EPI, los anti-RNA polimerasa y anti-U3 RNP se asociaron con la EPI. El desarrollo de HAP no se asoció con el subtipo cutáneo ni con ningún anticuerpo.

Estudios de otras cohortes, como la de Pittsburg, en las que se analizó el papel del subtipo cutáneo y de los anticuerpos en el desarrollo de HAP, mostró que, tanto la presencia del subtipo limitado como de anticuerpos como los anti-Th/To o anti-U3 RNP predecían el desarrollo de ésta. La presencia de anticuerpos como el anti U11/U12 RNP predijo el desarrollo de HAP secundaria. Al contrario, los anticuerpos anticentrómero se mostraron protectores para HAP secundaria[143].

3. Anticuerpos versus subtipo cutáneo como predictores del pronóstico

Debido a la asociación entre el perfil serológico y el fenotipo clínico, los anticuerpos también pueden emplearse como predictores de supervivencia en la ES. De los anticuerpos específicos más frecuentes de ES, los antitopoisomerasa son los que tradicionalmente se han considerado un factor independiente de mal pronóstico debido a su asociación con el desarrollo de EPI, en especial durante los primeros años de la enfermedad[51,54,57,144]. Otros análisis como el de una cohorte japonesa mostró que la supervivencia de los pacientes con antitopoisomerasa y fenotipo cutáneo difuso no era diferente de la de aquellos con antitopoisomerasa y subtipo limitado (71% vs 76% a los 10 años, respectivamente), por lo que los autores concluyeron que la supervivencia se asociaba más con el tipo de anticuerpo que con el subtipo cutáneo[57].

Otro estudio de una cohorte de pacientes franco-canadienses[145] analizó los factores predictores de mortalidad. La presencia de anticuerpo antitopoisomerasa se asoció de manera significativa a un aumento de mortalidad (HR 2,3; 95%IC (1,1-5,09)), que, sin embargo, no se confirmó en el análisis multivariante. En una cohorte italiana multicéntrica de 1.012 pacientes[146], Ferri

y colaboradores describieron una supervivencia a los 10 años de 72,2% en los pacientes con antitopoisomerasa frente al 80,8% de los que tenían otro anticuerpo diferente a éste. Un análisis más reciente de una cohorte monocéntrica por el mismo autor[26] mostró una supervivencia a los 10 años algo superior en pacientes con anticuerpo antitopoisomerasa respecto a los pacientes con otro anticuerpo (75,6% vs 82,5%, $p=0,04$). La presencia de antitopoisomerasa se asoció con un aumento del riesgo de mortalidad del 61%.

Un metaanálisis anterior que analizó diferentes cohortes internacionales, confirmó un aumento del riesgo de mortalidad del 30% en pacientes con antitopoisomerasa[66]. Otros factores que se asociaron a un aumento de mortalidad en el análisis multivariante fueron la presencia de afectación pulmonar, renal o cardíaca.

En el análisis del registro RESCLE sobre supervivencia y las causas de mortalidad, la presencia de antitopoisomerasa y la ausencia de anticentrómero se asociaron con peores supervivencias, si bien ninguno de los dos anticuerpos se mostró como factor de riesgo independiente[147]. La supervivencia encontrada a los 5, 10 y 20 años desde el inicio de los síntomas en pacientes con anticuerpo antitopoisomerasa fue de 90%, 85% y 67%, respectivamente, mientras que los pacientes con anticentrómero mostraron supervivencias del 97%, 95% y 85% a los 5, 10 y 20 años, respectivamente.

El análisis de cohortes previas al empleo de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) mostró una mortalidad muy superior en los pacientes con anticuerpo anti-RNA polimerasa, con supervivencias cercanas al 30% a los 10 años, superando a la de los pacientes con antitopoisomerasa[57]. Estudios realizados a partir del empleo sistemático de IECAS en las CRE han mostrado supervivencias similares a con anticentrómero o los anti-U1RNP, considerados de buen pronóstico. Esta reducción de la mortalidad se ha debido por una parte al tratamiento precoz de la CRE y, por otro, a la baja frecuencia de afectación pulmonar en esta población[64].

Posteriormente, Domsic definió un modelo predictor de mortalidad a los 5 años en los pacientes con subtipo difuso e inicio reciente (dentro de los dos años tras el primer síntoma) en la cohorte de Pittsburgh y la aplicaron posteriormente en una cohorte inglesa. Entre los factores que se identificaron como predictores de mortalidad se encontraba la presencia de anticuerpo anti-RNA polimerasa, que redujo un 11% la probabilidad de muerte[148].

Los anticuerpos anticentrómero se han asociado clásicamente a un buen pronóstico[54]. En el estudio de Kuwana y colaboradores, estos pacientes presentaban una supervivencia a los 10 años del 96% frente al 76% de los pacientes con antitopoisomerasa. En la mayor serie de pacientes con ES, la cohorte de Pittsburgh, se describía una supervivencia a los 5 años del 85% y a los 10 años del 75%, similares a la que presentaban los pacientes con anti-RNA polimerasa[64] que era de 95% y 75% a los 5 y 10 años, respectivamente[33,38].

Respecto al resto de anticuerpos, los pacientes con anti-U3RNP[99] presentaron una peor supervivencia que los que no lo tenían, con superviven-

cias a los 5 y 10 años de 75% y 56% frente a 81% y 66% respectivamente ($p=0,102$). Tras ajustar por la edad al diagnóstico y sexo los pacientes con este anticuerpo presentaron una significativa peor supervivencia, con un HR 1,38 (IC95% 1,05-1,82, $p=0,019$). La causa más frecuente de muerte en estos pacientes fue la HAP, constituyendo el 30% de las causas de muerte (frente al 10% en los pacientes sin anti-U3RNP).

Debido a la alta prevalencia de EPI grave en el grupo de pacientes con anticuerpos anti-U11/U12[130] que llega a alcanzar al 70%, los que desarrollan esta complicación tienen 2,25 veces más riesgo de muerte que los pacientes con EPI que no presentan este anticuerpo. Su supervivencia es mala, del 66% a los 10 años. Por el contrario, Fertig y colaboradores no encontraron diferencias significativas con los pacientes que no tenían este anticuerpo.

En la cohorte de Pittsburg, los anticuerpos anti-Th/To se asociaron con una peor supervivencia dentro del subtipo cutáneo limitado[64] debido a la presencia de afectación pulmonar fibrótica y vascular. Steen en su serie describió supervivencias del 78% y del 65% a los 5 y 10 años, respectivamente[24](Tabla 6).

Los pacientes con anticuerpos anti-PM/Scl presentan un buen pronóstico y en comparación con otros pacientes con EPI tienen mejores supervivencias. El grupo de Koshik describió supervivencias del 91% a los 10 años del diagnóstico y del 66% a los 20 años. Tras ajustar por edad, género y subtipo difuso, los pacientes con anticuerpo anti-PM/Scl presentaron un 68% menos de probabilidad de morir a los 10 años que aquellos sin este anticuerpo (HR=0,32; $p=0,006$)[122]. Steen en su serie describe supervivencias a los 5 y 10 años de 95% y 72%, respectivamente[24].

A pesar de que los pacientes con anticuerpos anti-U1 RNP pueden desarrollar cualquier complicación orgánica de la ES, suelen tener un buen pronóstico. En la serie de Steen fueron los pacientes que presentaron una mejor supervivencia[64]. En un análisis de pacientes con HAP la supervivencia de los pacientes con este anticuerpo fue mejor de forma significativa[111].

TABLA 6. Supervivencias de los pacientes con esclerodermia según el fenotipo cutáneo y el anticuerpo presente.

Supervivencia (%)	Fenotipo cutáneo difuso			Fenotipo cutáneo difuso			
	ATA	ARA	U3-RNP	ACA	Th/To	Pm/Scl	U1-RNP
-5 años	78	90	80	87	78	95	78
-10 años	65	75	61	75	65	72	65

Supervivencia desde el diagnóstico.
Modificado de: Steen VD. The many faces of scleroderma. *Rheum Dis Clin N Am* 2008;34:1-15.

4. Pacientes serodiscordantes y el papel del subtipo cutáneo y del perfil inmunológico en el fenotipo clínico y el pronóstico

Tal como se ha comentado al inicio de este apartado, el anticuerpo anticentrómero se asocia con el subtipo limitado, en el que está presente en un 30% de los casos, mientras que los antitopoisomerasa son el segundo anticuerpo más frecuente en pacientes con ES, y se asocian con el subtipo cutáneo difuso. Finalmente, los anticuerpos anti-RNA polimerasa están presentes en un 11% de pacientes con ES y se asocian en la mayoría de ellos con el subtipo cutáneo difuso. Sin embargo, en la práctica clínica se describen pacientes con ES en los que el subtipo cutáneo no se acompaña del anticuerpo correspondiente. Así, frente a los enfermos “clásicos” con fenotipo difuso y antitopoisomerasa, fenotipo limitado y anticentrómero y fenotipo difuso y anti-RNA polimerasa, existen los que denominamos “serodiscordantes” que serían aquellos con fenotipo difuso y anticentrómero, fenotipo limitado y antitopoisomerasa y fenotipo limitado y anti-RNA polimerasa, respectivamente. Este grupo de pacientes serodiscordantes es de especial interés pues su análisis puede aportar valiosa información acerca del peso que el perfil inmunológico o el fenotipo cutáneo tiene en las manifestaciones clínicas y el pronóstico de los enfermos con ES. Sin embargo, no existen muchos estudios que se hayan centrado en estos pacientes o que hayan comparado las manifestaciones clínicas de inicio, acumuladas y el pronóstico frente a los pacientes “clásicos”. A continuación, se describen los hallazgos más importantes de algunos de estos estudios.

En el análisis de la cohorte canadiense[61] de 551 pacientes se planteó si la subdivisión en función del anticuerpo predecía mejor el fenotipo clínico que el subtipo cutáneo. Según este planteamiento los pacientes con fenotipo difuso y anticuerpo anticentrómero deberían ser más parecidos a aquellos con fenotipo limitado y anticentrómero que aquellos con fenotipo difuso y antitopoisomerasa. Del mismo modo, los pacientes con fenotipo limitado y antitopoisomerasa serían más similares a aquellos con fenotipo difuso y antitopoisomerasa que aquellos con fenotipo limitado y anticentrómero. Los autores observaron que, de manera similar a las características demográficas, la afectación orgánica se asociaba más con el anticuerpo presente que con el subtipo cutáneo. Así, la HAP fue mayor en pacientes con anticentrómero, tanto con fenotipo difuso como limitado (16,3% y 13,7%, respectivamente), frente a los pacientes con antitopoisomerasa y fenotipo difuso y antitopoisomerasa y fenotipo limitado (9,9% y 4,8% respectivamente). Por el contrario, la EPI fue más prevalente en los pacientes con antitopoisomerasa, ya tuvieran fenotipo difuso o limitado (56,4% y 49%), frente a aquellos con anticentrómero ya fueran subtipo difuso o limitado (22,1% y 13,3%). La afectación renal también fue superior en los pacientes con antitopoisomerasa y fenotipo difuso como con antitopoisomerasa y fenotipo limitado (2,7% y 3,8%) frente a los pacientes con anticuerpo anticentrómero, tanto con fenotipo difuso como limitado (0% y 0,7%, respectivamente). Los pa-

cientes con anticentrómero presentaron más afectación esofágica comparados con los pacientes con antitopoisomerasa. Por el contrario, manifestaciones como la artritis, la calcinosis, las contracturas articulares y las úlceras digitales se asociaron más con el subtipo cutáneo que con el anticuerpo presente. Respecto al análisis de supervivencia, los autores encontraron que ésta se veía influida tanto por la serología como por el subtipo cutáneo, de manera que los pacientes con anticuerpos antitopoisomerasa y fenotipo cutáneo difuso tenían un peor pronóstico comparados con aquellos con anticentrómero y fenotipo cutáneo limitado ($p=0,0313$) y antitopoisomerasa y fenotipo cutáneo limitado ($p=0,0115$). Los autores concluyen que un abordaje que incluyera tanto las características serológicas como el subtipo cutáneo proveería una mayor información pronóstica.

Otro estudio posterior de la cohorte de Nijmegen[150], de Kranenburg y colaboradores, estudió si el fenotipo clínico dependía del subtipo cutáneo o del anticuerpo presente. Para ello dividieron a los pacientes en cuatro grupos: pacientes con subtipo cutáneo limitado y anticuerpo antitopoisomerasa, subtipo cutáneo limitado y topoisomerasa negativos, subtipo cutáneo difuso y antitopoisomerasa y subtipo cutáneo difuso y topoisomerasa negativos. Respecto a la afectación orgánica, la más frecuente fue la EPI, que, a su vez, fue más frecuente en los enfermos con formas limitadas y antitopoisomerasa. Tras ajustar por variables confusoras, los autores observaron que, respecto a la presencia de EPI, los pacientes con formas limitadas y antitopoisomerasa eran de forma significativa diferentes de aquellos con formas limitada y antitopoisomerasa negativos, pero no respecto de aquellos con subtipo difuso y antitopoisomerasa (48,8%vs 24,7% vs 60,3%, respectivamente). No encontraron diferencias significativas en cuanto a la frecuencia de HAP o en la afectación cardíaca. La afectación renal, si bien poco prevalente (14 casos, 3,1%), solo afectó a los pacientes con el subtipo difuso. Respecto a la supervivencia, los pacientes con el subtipo limitado y anticuerpos antitopoisomerasa presentaron una mejor supervivencia que aquellos con subtipo difuso y antitopoisomerasa, con supervivencias acumuladas a los 15 años de 75,1% y 52,9%, respectivamente. Dado que casi la mitad de los pacientes con formas difusas y anticuerpos antitopoisomerasa presentaban EPI, los autores plantean si estos pacientes pudieran tener una base fisiopatológica que se asemejara a los enfermos con formas cutáneas difusas.

Un estudio anterior[136] estudió las características de los pacientes con anticuerpos antitopoisomerasa, analizándolos según los subtipos cutáneos, evidenció que la afectación vascular periférica, la gastrointestinal o la EPI eran igual de frecuentes independientemente del subtipo cutáneo, mientras que la afectación musculoesquelética y la afectación renal fueron más frecuentes en los subtipos difusos. A pesar de que la afectación cardíaca no fue más frecuente en el subtipo difuso que en el limitado, los pacientes que presentaban una rápida evolución de la piel presentaban mayor afectación cardíaca que aquellos con subtipo difuso de lenta progresión. En el análisis de supervivencia los pacientes con subtipo difuso y anticuerpo antitopoisomerasa se diferenciaron de aquellos con subtipo limitado y antitopoisomerasa (40% vs 86% a los 10 años) debido el desproporcionado número de muertes por causa cardíaca en el primer grupo.

Como se comentó anteriormente, en la cohorte canadiense la supervivencia se vio influida tanto por el anticuerpo como por el subtipo cutáneo, de manera que los pacientes con fenotipo cutáneo difuso y anticuerpos antitopoisomerasa presentaron un peor pronóstico comparados con aquellos con subtipo limitado y anticentrómero ($p=0,0313$) y aquellos con subtipo limitado y antitopoisomerasa ($p=0,0115$). La supervivencia a los 10 años para los diferentes grupos de pacientes fue la siguiente: subtipo difuso y antitopoisomerasa 60%, subtipo limitado y anticentrómero 80%, subtipo difuso y anticentrómero 95% y subtipo limitado y antitopoisomerasa cercana al 100%.

5. Registro de Pacientes con Esclerodermia (RESCLE)

En enfermedades poco prevalentes como la ES es fundamental el análisis de grandes cohortes que permitan analizar de forma longitudinal las formas de presentación de la enfermedad, sus manifestaciones acumuladas y su pronóstico. Además, ayudan a identificar subgrupos de pacientes de alto riesgo, permitiendo observar la historia natural de la enfermedad en condiciones reales, el análisis de la afectación orgánica y permitiendo su investigación.

La presente tesis se ha basado en el análisis de la cohorte del Registro de pacientes con Esclerodermia (RESCLE). Este es el registro español de pacientes con esclerodermia que fue creado en 2006 en el marco del Grupo de Enfermedades Autoinmunes y Sistémicas (GEAS) de la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI). Se trata de un registro multicéntrico en el que se recogen los datos de pacientes con esclerodermia controlados en los Servicios de Medicina Interna. Actualmente (febrero de 2020) incluye a 2.173 pacientes distribuidos en 40 centros hospitalarios de toda la geografía del estado español.

El registro se diseñó con un carácter retrospectivo con el fin de incluir a todos los enfermos con esclerodermia controlados en los diferentes hospitales hasta ese momento. Sin embargo, también posee una parte prospectiva en la que se van introduciendo los datos en los diferentes seguimientos temporales (anuales). Desde el punto de vista de las variables se incluyen las demográficas; variables temporales; manifestaciones clínicas acumuladas por sistemas y órganos; datos de exploraciones complementarias: espirometrías, ecocardiografías, tomografías torácicas de alta resolución, variables analíticas como el perfil inmunológico y, finalmente, los diferentes tratamientos (grupos farmacológicos). Todas las variables se introducen por un responsable de cada hospital en un entorno digital registros.shmedical.es/rescle/login.php y es el centro coordinador quien realiza controles de calidad de forma periódica.

El esfuerzo continuado de todos los miembros del RESCLE y del centro coordinador ha permitido la realización de numerosos trabajos publicados

en revistas con factor de impacto. Para destacar algunos de ellos, hasta la fecha ha permitido analizar las asociaciones clínicas por subtipo cutáneo[151], la aplicabilidad de los nuevos criterios diagnósticos en la cohorte española[17], las causas de mortalidad en los pacientes con ES[147] e incluso desarrollar un algoritmo para predecir la mortalidad a 15 años[152], entre otros.

III. Hipótesis

La esclerodermia es una enfermedad rara, poco prevalente, que cursa con manifestaciones vasculares, como el fenómeno de Raynaud, pulmonares, como la enfermedad pulmonar intersticial o la hipertensión arterial pulmonar y renales, como la crisis renal esclerodérmica. Todas ellas determinan un aumento de la mortalidad de los pacientes respecto a la población general.

El fenotipo clínico de los pacientes con esclerodermia clásicamente se había relacionado con el grado de extensión cutánea. Sin embargo, estudios procedentes de registros nacionales e internacionales han mostrado que, al clasificar los pacientes en subtipos serológicos de acuerdo con la presencia de determinados anticuerpos, variaba la frecuencia y gravedad de las complicaciones orgánicas, lo que sugiere que la presencia de anticuerpos específicos predice de manera más acertada que la extensión cutánea el desarrollo de complicaciones viscerales.

La presente tesis plantea la hipótesis de si la presencia de anticuerpos específicos en una cohorte de pacientes con esclerodermia confiere un determinado fenotipo clínico e influye en el pronóstico de la enfermedad.

IV. Objetivos

Objetivos generales

1. Describir la prevalencia de los anticuerpos específicos en una muestra multicéntrica de pacientes con esclerodermia correspondiente a la cohorte RESCLE.
2. Comparar las diferencias clínicas, epidemiológicas y capilaroscópicas en función de la presencia o ausencia de estos anticuerpos específicos.
3. Describir la relación entre la presencia/ausencia de un determinado anticuerpo con su evolución pronóstica.

Objetivos particulares

Primer estudio

- Describir la prevalencia de los anticuerpos específicos, anticentrómero, antitopoisomerasa y anti-RNA polimerasa III en una muestra multicéntrica de pacientes con esclerodermia correspondiente a la cohorte RESCLE.
- Comparar las manifestaciones demográficas, clínicas de inicio, manifestaciones acumuladas y capilaroscópicas de la cohorte de pacientes con esclerodermia del registro RESCLE de acuerdo con la presencia de cada uno de estos anticuerpos específicos, anticentrómero, antitopoisomerasa y anti-RNA polimerasa III.
- Describir el pronóstico de estos pacientes en función de la presencia de estos anticuerpos específicos: anticentrómero, antitopoisomerasa y anti-RNA polimerasa III.

Segundo estudio

- Describir la prevalencia de los grupos de pacientes serodiscordantes con esclerodermia (fenotipo cutáneo limitado y anticuerpo antitopoisomerasa, fenotipo cutáneo difuso y anticuerpo anticentrómero y fenotipo cutáneo sin esclerodermia y anticuerpo antitopoisomerasa) en la cohorte del registro RESCLE.
- Describir las manifestaciones clínicas y el pronóstico de los pacientes serodiscordantes (fenotipo cutáneo limitado y anticuerpo antitopoisomerasa, fenotipo cutáneo difuso y anticuerpo anticentrómero y fenotipo cutáneo sin esclerodermia y anticuerpo antitopoisomerasa) y compararlas con los de los seroconcordantes o “clásicos” (fenotipo difuso y antitopoisomerasa, fenotipo limitado y anticentrómero y fenotipo sin esclerodermia y anticentrómero).

- Analizar los pacientes que presentaron una transición en su subtipo cutáneo (de subtipo limitado a difuso y de sin esclerodermia a limitado).

V. Estudios publicados

Primer estudio:

Iniesta Arandia N, Simeón-Aznar CP, Guillén del Castillo A, Colunga Argüelles D, Rubio-Rivas M, Trapiella Martínez L, García Hernández FJ, Sáez Comet L, Egurbide Arberas MV, Ortego-Centeno N, Freire M, Marí Alfonso B, Vargas Hitos JA, Ríos Blanco JJ; Todolí Parra JA, Rodríguez-Carballeira M, Marín Ballvé A, Chamorro Fernández AJ, Pla Salas X, Madroñero Vuelta AB, Ruiz Muñoz M, Fonollosa Pla V, Espinosa G, on behalf of RESCLE investigators, Autoimmune Diseases Study Group (GEAS). Influence of antibody profile in clinical features and prognosis in a cohort of Spanish patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2017; 35 (Suppl. 106): S98-S105.

Influence of antibody profile in clinical features and prognosis in a cohort of Spanish patients with systemic sclerosis

N. Iniesta Arandía¹, C.P. Simeón-Aznar², A. Guillén del Castillo², D. Colunga Argüelles³, M. Rubio-Rivas⁴, L. Trapiella Martínez MD⁵, F.J. García Hernández⁶, L. Sáez Comet⁷, M.V. Egurbide Arberas⁸, N. Ortego-Centeno⁹, M. Freire¹⁰, B.M. Alfonso¹¹, J.A. Vargas Hitos¹², J.J. Ríos Blanco¹³, J.A. Todolí Parra¹⁴, M. Rodríguez-Carballeira¹⁵, A. Marín Ballvé¹⁶, A.J. Chamorro Fernández¹⁷, X. Pla Salas¹⁸, A.B. Madroñero Vuelta¹⁹, M. Ruiz Muñoz²⁰, V. Fonollosa Pla², G. Espinosa¹ on behalf of RESCLE investigators, Autoimmune Diseases Study Group (GEAS)

For affiliations see page 7.

Nerea Iniesta Arandía, MD, Carmen Pilar Simeón-Aznar, MD, PhD, Alfredo Guillén del Castillo, MD, Dolores Colunga Argüelles, MD, Manuel Rubio-Rivas, MD, PhD, Luis Trapiella Martínez, MD, Francisco José García Hernández, MD, PhD, Luis Sáez Comet, MD, PhD, María Victoria Egurbide Arberas, MD, PhD, Norberto Ortego-Centeno, MD, PhD, Mayka Freire, MD, PhD, M^o Begoña Mari Alfonso, MD, Jose Antonio Vargas Hitos, MD, PhD, Juan José Ríos Blanco, MD, PhD, Jose Antonio Todolí Parra, MD, Mónica Rodríguez-Carballeira, MD, PhD, Adela Marín Ballvé, MD, PhD, Antonio Javier Chamorro Fernández, MD, PhD, Xavier Pla Salas, MD, Ana Belén Madroñero Vuelta, MD, PhD, Manuel Ruiz Muñoz, MD, Vicent Fonollosa Pla, MD, PhD, Gerard Espinosa, MD, PhD, on behalf of RESCLE investigators, Autoimmune Diseases Study Group (GEAS)*

*A full list of RESCLE investigators is given in the appendix.

Please address correspondence to: Gerard Espinosa, Department of Autoimmune Diseases, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Catalonia, Spain. E-mail: gespino@clinic.cat

Received on June 23, 2017; accepted in revised form on September 1, 2017.

Clin Exp Rheumatol 2017; 35 (Suppl. 106): S00-S00.

© Copyright CLINICAL AND EXPERIMENTAL RHEUMATOLOGY 2017.

Key words: systemic sclerosis, anti-topoisomerase antibody, anti-centromere antibody, anti-RNA-polymerase III antibody, anti-nuclear antibodies, antibody profile.

Funding: This project was funded by an unrestricted educational scholarship granted by Laboratorios Actelion. Actelion had no access to the data of the RESCLE Registry database.

Competing interests: none declared.

ABSTRACT

Objective. To assess the clinical manifestations and prognosis of Spanish patients with systemic sclerosis (SSc) according to their immunological profile.

Methods. From the Spanish Scleroderma Study Group or RESCLE (Registro de ESCLErodemia as Spanish nomenclature) Registry we selected those patients in which anti-centromere (ACA), anti-topoisomerase I (ATA), and anti-RNA polymerase III (ARA) antibodies had been determined, and a single positivity for each SSc specific antibody was detected. Demographic, clinical, laboratory, and survival data were compared according to the serologic status of these antibodies.

Results. Overall, 209 SSc patients were included. In 128 (61%) patients ACA was the only positive antibody, 46 (22%) were only positive for ATA, and 35 (17%) for ARA. Of note, the three groups were mutually exclusive. In univariate analysis, patients with ACA presented more frequently limited cutaneous SSc (lcSSc) ($p<0.001$) whereas diffuse cutaneous SSc (dcSSc) was the most frequent subtype in patients with ATA (54%) and ARA (62%) (both $p<0.001$). Positive patients for ARA showed the highest prevalence of joint involvement ($p<0.001$) and those from ATA group had a higher prevalence of interstitial lung disease (ILD) ($p<0.001$). Scleroderma renal crisis was more frequent in the ARA group ($p<0.001$). In multivariate analysis, ACA were associated with female gender and were protective for dcSSc and ILD. ATA were found to be protective for lcSSc and they were independently

associated with interstitial reticular pattern. ARA positivity was independently associated with dcSSc. We did not find differences in mortality between the three groups.

Conclusions. In Spanish SSc patients, the presence of SSc specific antibodies conferred a distinctive clinical profile.

Introduction

Specific antibodies in autoimmune diseases constitute a helpful tool in diagnosis and identification of certain disease manifestations (1). Classically, clinical manifestations of systemic sclerosis (SSc) such as digital ulcers, pulmonary hypertension (PH), interstitial lung disease (ILD), and scleroderma renal crisis (SRC) have been associated with the extension of skin involvement, defining limited cutaneous SSc (lcSSc) and diffuse cutaneous SSc (dcSSc) (2). However, several authors suggest that these subtypes of the disease do not accurately correlate with internal organ complications (3, 4). Conversely, the presence of some specific antibodies would better define the clinical presentation, cumulative manifestations and prognosis of SSc patients (3, 5-7).

Circulating antinuclear antibodies (ANA) are almost a universal finding in SSc patients (4) and their absence should call into question for this diagnosis. Among them, anti-centromere (ACA), anti-topoisomerase I (ATA), and anti-RNA polymerase III (ARA) antibodies are the most SSc specific antibodies, found in over 50% of patients with the disease (8, 9). These antibodies are generally exclusive of each oth-

Antibody profile in systemic sclerosis / N. Iniesta Arandia et al.

er and usually remain unchanged over time (8-10). Of interest, ACA, ATA and ARA have been recently included in the new American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism (ACR/EULAR) clinical classification criteria for SSc (11).

ACA are found in over 30% of SSc patients (4) being more frequent in Caucasians and women (3,4). ACA are the antibodies most frequently found in lcSSc (3, 4, 6, 10, 12-16). Considering organ involvement, ACA have been related to a higher risk of developing PH (3, 14, 17) and calcinosis (4, 17) whereas they have been found to be protective for ILD (6, 14, 15, 18), and heart and renal involvement (19). ATA are the most frequent antibodies in dcSSc (2, 6, 8-10, 12-17, 20-22) and they have been linked to digital ulcers (3, 14, 17, 22), ILD (3, 6, 13, 14, 16, 17, 21-24), and to poor prognosis (25). Finally, ARA are frequently detected in dcSSc subtype (13, 14, 16, 17, 21) and they have been related with higher risk of developing SRC (13, 17, 26-28), gastric antral vascular ectasia (17, 29, 30), and recently a causal relation with cancer has been suggested (28, 31-34). The aim of the present study was to compare the clinical manifestations and prognosis of SSc patients from the Spanish Scleroderma Study Group database or RESCLE (*Registro de ES-CLErdermia* as Spanish nomenclature) Registry according to the presence of each one of the mutually exclusive single classificatory antibodies.

Methods*Patients*

The RESCLE is the first Spanish nationwide cross-sectional registry created by the Spanish Society Internal Medicine in 2006 (6). Twenty centres with extensive experience in the management of patients with SSc are participating in the registry. We considered SSc diagnosis when patients fulfilled criteria of the modified classification proposed by LeRoy and Medsger (25) and/or the 2013 ACR/EULAR criteria for SSc (35). Demographic, clinical, immunological, and nailfold capillaroscopic data encompassing 260 variables were collected according to

Table I. Demographic, clinical, and immunological characteristics of 209 patients with systemic sclerosis

	n
Sex, male/female	28/181 (13/87)
Age at disease onset, mean \pm SD (years)	44.2 \pm 16.4
Age at disease diagnosis, mean \pm SD (years) (n=178)	51.2 \pm 16.0
Time disease onset-diagnosis, mean \pm SD (years) (n=168)	7.1 \pm 10.7
Time of follow-up sine disease diagnosis, mean \pm SD (years) (n=192)	9.3 \pm 8.3
Time of follow-up since disease onset, mean \pm SD (years) (n=178)	16.1 \pm 12.5
Type of scleroderma (n=208)	
Limited cutaneous systemic sclerosis	111 (53)
Diffuse cutaneous systemic sclerosis	50 (24)
Sine scleroderma	31 (15)
Pre-scleroderma	11 (5)
First manifestation (n=204)	
Raynaud's phenomenon	173 (85)
Arthralgia	9 (4)
Puffy hands	7 (3)
Skin sclerosis	6 (3)
Cumulative clinical manifestations	
Peripheral vascular manifestations	
Raynaud's phenomenon (n=206)	202 (98)
Telangiectasias (n=209)	129 (62)
Digital ulcers (n=209)	89 (43)
Osteomuscular manifestations	
Calcinosis (n=206)	43 (21)
Arthritis (n=122)	22 (18)
Myositis (n=122)	17 (14)
Digestive tract involvement	
Esophagus (n=134)	26 (19)
Lung Involvement	
Interstitial lung disease (n=207)	81 (39)
Pulmonary hypertension (n=174)	50 (29)
Heart involvement	
Ischemia (n=70)	14 (20)
Conduction alterations	21 (10)
Pericarditis (n=69)	10 (14)
Renal involvement	
Scleroderma renal crisis (n=78)	8 (10)
Other manifestations	
Sicca syndrome (n=208)	65 (31)
Peripheral neuropathy (n=205)	26 (13)
Neoplasia (n=209)	24 (11)
Capillaroscopy pattern (n=172)	
Slow pattern	90 (52)
Active pattern	45 (26)
Death	23 (11)

*All data derived from 209 patients except when indicated. Values of categorical variables are the number and percentage and those for continuous variables are presented as mean \pm standard deviation.

a standard protocol and then entered into a SPSS database. All participating centres obtained Ethics Committee approval and all participants provided written informed consent to participate in the study.

For the present study, we selected from the RESCLE those patients in which ACA, ATA, and ARA had been determined, and a single positivity for each SSc specific antibodies was detected. The three groups, ACA positive, ATA

positive, and ARA positive were always mutually exclusive.

Laboratory features

Antinuclear antibodies were identified by indirect immunofluorescence assay using Hep-2 cell lines or by immunofluorescence using triple cryostat section (liver-stomach-kidney). The ACA and ATA were determined by ELISA kits. ARA were determined using ELISA, immunoblot kit or fluoroenzyme

Antibody profile in systemic sclerosis / N. Iniesta Arandia et al.

Table II. Demographic characteristics, presenting manifestation, capillaroscopic patterns, and immunological features of patients with systemic sclerosis according their immunological profile.

	ACA group (n=128)	ATA group (n=46)	ARA group (n=35)	P global	ACA vs ATA	ACA vs ARA	ATA vs ARA
<i>Type of scleroderma</i>							
Limited cutaneous SSc	88 (69)	13 (28)	10 (29)	<0.001	<0.001	<0.001	NS
Diffuse cutaneous SSc	4 (3)	25 (54)	21 (62)	<0.001	<0.001	<0.001	NS
Sine scleroderma	27 (21)	2 (4)	2 (6)	0.006	0.010	0.044	NS
Pre-scleroderma	6 (5)	4 (9)	1 (3)	NS	-	-	-
Sex (female)	118 (92)	36 (78)	27 (77)	0.012	0.018	0.028	NS
Age at disease onset (yrs)(n=178)	45.3 ± 16.5	43.4 ± 16.2	41.4 ± 16.2	NS	-	-	-
Age at disease diagnosis (yrs)(n=178)	54.1 ± 15.5	47.5 ± 15.3	46.0 ± 16.9	0.008	0.049	0.032	NS
Time onset-diagnosis (yrs)(n=168)	9.4 ± 12.3	4.0 ± 6.5	3.6 ± 7.1	0.004	0.019	0.028	NS
Follow-up from disease onset (yrs)	18.3 ± 13.9	12.7 ± 9.4	13.4 ± 9.7	0.021	0.043	NS	NS
Follow-up from disease diagnosis (yrs)	9.2 ± 8.0	9.5 ± 9.5	9.5 ± 8.1	NS	-	-	-
<i>Presenting manifestation (n=204)</i>							
Raynaud's phenomenon	119 (94)	36 (80)	18 (55)	<0.001	0.013	<0.001	0.025
Puffy hands	0	3 (7)	4 (12)	0.001	0.017	0.020	NS
Arthralgia	1 (1)	2 (4)	6 (18)	<0.001	NS	<0.001	NS
Skin sclerosis	1 (1)	1 (2)	4 (12)	0.003	NS	0.007	NS
2013's ACR/EULAR criteria of SSc (n=188)	100 (90)	38 (88)	33 (97)	NS	-	-	-
<i>Capillaroscopic patterns (n=172)</i>							
Slow pattern	65 (58)	15 (43)	10 (42)	NS	-	-	-
Active pattern	24 (21)	12 (34)	9 (38)	NS	-	-	-
<i>Immunological features</i>							
Rheumatoid factor (n=170)	28 (27)	10 (26)	2 (7)	NS	-	-	-
Anti-Ro antibody (n=200)	18 (15)	5 (12)	3 (9)	NS	-	-	-
Anti-La antibody (n=199)	1 (1)	2 (5)	2 (6)	NS	-	-	-
Anti-Sm antibody (n=195)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	NS	-	-	-
Anti-RNP antibody (n=196)	1 (1)	2 (5)	0 (0)	NS	-	-	-
Anti-M2 antibody (n=178)	17 (16)	1 (2)	3 (10)	NS	-	-	-
Anti-Ku antibody (n=129)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-	-	-	-
Lupus anticoagulant (n=141)	7 (8)	2 (6)	1 (5)	NS	-	-	-
IgG anticardiolipin antibody (n=153)	4 (4)	1 (3)	0 (0)	NS	-	-	-
IgM anticardiolipin antibody (n=153)	7 (7)	4 (11)	1 (5)	NS	-	-	-
Anti-thyroid antibody (n=110)	15 (21)	3 (16)	1 (6)	NS	-	-	-

All data derived from 209 patients except when indicated.

Values of categorical variables are expressed as number and percentage and those for continuous variables are presented as mean ± standard deviation.

Abbreviations: ACA: anti-centromere antibody; ACR/EULAR: American College of Rheumatism/European League Against Rheumatism; ARA: anti-RNA polymerase III antibody; ATA: anti-topoisomerase I antibody; NS: not significant; SSc: systemic sclerosis; yrs: years.

immunoassay kit. Manufacturer-specified cut-off points were used to define both antibodies as present or absent in each centre. Borderline results were considered as negative.

Statistical analysis

Results from continuous variables are presented as mean ± standard deviation (SD) and categorical data as percentages. A cross-sectional analysis of the antibodies was performed. For statistical evaluation a contingency table tests was used (Pearson Chi-Square test exact Fisher's test) to identify significant differences or associations among the groups for qualitative variables and ANOVA was used for the quantitative ones. The Bonferroni method was used for correction of multiple comparisons. Significance was considered whenever

p value was under 0.05. Significant differences on univariate comparisons were then retested by forward multivariate logistic regression with calculation of odds ratio (OR) estimates and 95% confidence interval (CI). Survival curves were calculated using the Kaplan-Meier method and log-rank ratio was used to identify differences. All statistical analysis was performed with SPSS 18.0 for Windows (SPSS, Chicago, IL, USA).

Results

The whole cohort comprised 209 patients. The main demographic characteristics and initial and cumulative clinical manifestations of the entire cohort are described Table I. Considering the immunological profile, three mutually exclusive groups were defined:

ACA group in 128 (61%) patients, ATA group in 46 (22%), and ARA group in 35 (17%) patients, respectively. Table II describes the demographic characteristics, initial presentation, and immunological features, Table III the prevalence of cumulative clinical characteristics, and Table IV the causes of death and survival rates of SSc patients according to the immunological profile.

Clinical associations according the immunological profile

Patients with ACA presented more frequently the lcSSc subtype (69%) (*p*<0.001). Conversely, dcSSc was the most frequent subtype in patients with ATA (54%) and ARA (62%) (both *p*<0.001). Interestingly, sine scleroderma subtype was more frequent in ACA group (*p*=0.006) (Table II). The time

Antibody profile in systemic sclerosis / N. Iniesta Arandia et al.

Table III. Cumulative clinical manifestations of patients with systemic sclerosis according their immunological profile.

	ACA group (n=128)	ATA group (n=46)	ARA group (n=35)	P global	ACA vs ATA	ACA vs ARA	ATA vs ARA
Peripheral vascular manifestations							
Raynaud's phenomenon	123 (98)	46 (100)	33 (97)	NS	-	-	-
Digital ulcers	48 (38)	20 (43)	21 (60)	NS	-	-	-
Telangiectasias (n=209)	77 (60)	26 (57)	26 (74)	NS	-	-	-
Acro-osteolysis (n=122)	2 (3)	3 (9)	2 (8)	NS	-	-	-
Osteomuscular							
Calcinosis (n=206)	25 (20)	8 (18)	10 (29)	NS	-	-	-
Arthritis (n=122)	6 (9)	9 (26)	7 (29)	0.032	0.038	0.038	-
Myositis (n=122)	7 (11)	6 (18)	4 (17)	NS	-	-	-
Tendon friction rubs (n=122)	1 (2)	1 (3)	3 (13)	NS	-	-	-
Digestive involvement							
Esophagus (n=134)	17 (20)	3 (11)	6 (27)	NS	-	-	-
Stomach (n=174)	14 (13)	4 (10)	3 (10)	NS	-	-	-
Malabsorption (n=206)	25 (20)	8 (18)	10 (29)	NS	-	-	-
Lung involvement							
ILD (n=207)	29 (23)	31 (67)	21 (60)	<0.001	<0.001	<0.001	NS
FVC (%) (n=195)	88.4 ± 21.2	73.4 ± 25.4	75.0 ± 16.6	<0.001	<0.001	0.006	NS
Severe ILD (FVC<70%) (n=195)	22 (18)	22 (51)	12 (36)	<0.001	<0.001	0.036	NS
DLCO/VA (%) (n=180)	73.2 ± 18.6	75.7 ± 16.8	72.0 ± 17.8	NS	-	-	-
Ground-glass pattern (n=145)	15 (20)	26 (67)	18 (56)	<0.001	<0.001	<0.001	NS
Reticular pattern (n=144)	10 (14)	21 (54)	11 (35)	<0.001	<0.001	0.016	NS
PH by echocardiogram (n=147)	27 (29)	6 (18)	3 (14)	NS	-	-	-
PH by RSHC (n=40)	20 (77)	5 (83)	5 (63)	NS	-	-	-
PAH (without ILD) (n=176)	13 (12)	1 (2)	1 (3)	NS	-	-	-
ILD and PH (n=147)	14 (15)	6 (18)	2 (10)	NS	-	-	-
Heart involvement							
Pericarditis (n=69)	5 (13)	4 (22)	1 (8)	NS	-	-	-
Conduction alteration (n=209)	12 (9)	7 (15)	2 (6)	NS	-	-	-
Diastolic dysfunction (n=168)	53 (53)	21 (54)	15 (52)	NS	-	-	-
Ischemia (n=70)	7 (18)	4 (22)	3 (23)	NS	-	-	-
Renal involvement							
Scleroderma renal crisis (n=78)	0	3 (17)	5 (33)	<0.001	0.021	0.001	NS
Other manifestations							
Peripheral neuropathy (n=205)	14 (11)	9 (20)	3 (9)	NS	-	-	-
Sicca syndrome (n=205)	47 (37)	13 (28)	5 (14)	0.033	NS	0.023	NS
Neoplasia (n=209)	13 (10)	3 (7)	8 (23)	NS	-	-	-
Synchronous with SSc onset (n=203)	0	0	1 (3)	NS	-	-	-
Synchronous with SSc diagnosis (n=207)	1 (1)	0	2 (6)	NS	-	-	-

All data derived from 209 patients except when indicated. Values of categorical variables are expressed in number and percentage and those for continuous variables are presented as mean ± standard deviation.

Abbreviations: DLCO/VA: diffusing capacity of the lung for carbon monoxide divided by alveolar volume; FVC: forced vital capacity; ILD: interstitial lung disease; NS: not significant; PAH: pulmonary arterial hypertension; PH: pulmonary hypertension; RSHC: right-sided heart catheterization; SSc: systemic sclerosis.

between disease onset and diagnosis was shorter in ATA (4.0 ± 6.5 years) and ARA patients (3.6 ± 7.1 years) than in ACA patients (9.4 ± 12.3 years) ($p=0.004$). Follow-up from disease diagnosis was similar among the three groups.

Non-Raynaud's phenomenon features (puffy hands, arthralgia, and skin sclerosis) as presenting manifestation were more frequent in the ARA group (45%) compared with the ATA group (20%) ($p=0.025$), and the ACA group (6%) ($p<0.001$). Retrospective analysis showed that the percentages of patients

who fulfilled the 2013 ACR/EULAR classification SSc criteria were similar in the three groups of patients. From the immunological point of view, the prevalence of other non-specific SSc antibodies was similar between the three groups (Table II).

Considering cumulative organ involvement, patients with ACA had less frequently arthritis ($p=0.032$), ILD ($p<0.001$), and severe ILD defined as forced vital capacity $<70\%$ ($p<0.001$). Conversely, positive patients for ATA had a higher prevalence of ILD (67%) ($p<0.001$) and severe ILD (51%)

($p<0.001$) whereas those from the ARA group showed the highest prevalence of joint involvement. Patients of the ARA group showed a trend to present more vascular involvement in form of digital ulcers (60%) ($p=0.058$). Although the prevalence of pulmonary arterial hypertension (without ILD) seemed to be higher in the ACA group ($p=0.083$), the prevalence of PH -assessed by echocardiography and/or right-sided heart catheterisation- was similar between the three groups. Of note, patients with ARA had higher prevalence of SRC (33%) versus 17%

Antibody profile in systemic sclerosis / N. Iniesta Arandia et al.

Table IV. Death rate, causes of death, and survival rates of patients with SSc according their immunological profile.

	ACA group (n=128)	ATA group (n=46)	ARA group (n=35)	p
Death rate	11 (9)	7 (15)	5 (14)	NS
SSc-related causes of death	4 (36)	6 (86)	3 (60)	NS
ILD	0	2 (29)	2 (40)	NS
PH	3 (27)	1 (14)	0	NS
ILD and PH	1 (9)	1 (14)	1 (20)	NS
Scleroderma renal crisis	0	2 (29)	1 (20)	NS
Non-SSc related	7 (64)	1 (14)	2 (40)	NS
Neoplasia	1 (9)	0	1 (20)	NS
Ischemic myocardiopathy	1 (9)	0	0	NS
Stroke	1 (9)	0	0	NS
Chronic renal failure	0	0	0	-
Chronic obstructive pulmonary disease	0	0	0	-
Sepsis	0	0	1 (20)	NS
Pulmonary embolism	0	0	0	-
Arrhythmia	0	0	0	-
Others	4 (36)	1 (4)	0	NS
Mean survival time since SSc onset (yrs)	51.3 ± 2.8	27.8 ± 2.7	31.2 ± 2.3	-
<i>Survival since SSc onset</i>				
At 5 years	0.960	1.000	1.000	NS
At 10 years	0.936	0.970	0.891	NS
At 20 years	0.923	0.637	0.891	NS
At 30 years	0.896	0.510	0.891	NS
Mean survival time since SSc diagnosis (yrs)	28.7 ± 1.2	30.6 ± 5.2	25.7 ± 2.2	-
<i>Survival since SSc diagnosis</i>				
At 5 years	0.945	1.000	0.969	NS
At 10 years	0.929	0.900	0.807	NS
At 20 years	0.851	0.585	0.807	NS
At 30 years	0.851	0.439	0.807	NS

Values of categorical variables are expressed in number and percentage and those for continuous variables are presented as mean ± standard deviation. Abbreviations: ILD: interstitial lung disease; NS: not significant; PH: pulmonary hypertension; SSc: systemic sclerosis; yrs: years.

in the ATA group ($p=0.001$) and 0% in the ACA group ($p<0.001$). In addition, they presented the highest prevalence of neoplasia (23%) compared with the ACA group (10%) and the ATA group (7%) although these differences did not reach statistical significance ($p=0.055$). Interestingly, synchronous malignancies with SSc (diagnosis made between 6 months before and 12 months after SSc onset or diagnosis) (32) were also more frequent in the ARA group (Table III).

In multivariate analysis, ACA were associated with female gender (OR 3.96, 95%CI 1.39-11.31; $p=0.01$), and were protective for dcSSc (OR 0.02, 95%CI 0.01-0.08; $p<0.001$), for arthralgia as first manifestation (OR 0.09, 95%CI 0.01-0.99; $p=0.04$), and ILD (OR 0.30, 95%CI 0.13-0.66; $p<0.001$). ATA were found to be protective for lcSSc (OR 0.22, 95%CI 0.09-0.52; $p<0.001$) and

sine scleroderma subtypes (OR 0.09, 95%CI 0.01-0.76; $p=0.027$), respectively. Conversely, they were independently associated with interstitial reticular pattern by high-resolution computed tomography (OR 3.60, 95%CI 1.53-8.48; $p<0.001$). Finally, ARA positivity was independently associated with diffuse cutaneous involvement (OR 8.23, 95%CI 3.46-19.58; $p<0.001$), and arthralgia as presenting SSc manifestation (OR 10.22, 95%CI 1.93-54.06; $p<0.001$). Conversely, it was protective for sicca syndrome (OR 0.26, 95%CI 0.08-0.88; $p=0.03$).

Mortality according to the immunological profile

Twenty-three (11%) patients died during the follow-up in the overall cohort. We did not find differences in terms of death rate nor in causes of death (SSc or non-SSc related) according

to the immunological profile (Table IV). The overall cohort survival rate from disease onset at 5, 10, 20, and 30 years were 97.6%, 93.8%, 87.1%, and 82.6%, respectively. Although patients with ATA had the lowest mean survival time from SSc onset (27.8±2.7 years), the Kaplan-Meier survival curves were not different for the three groups of patients (long-rank 0.116) (Fig. 1). No differences were found when SSc diagnosis instead of disease onset was considered (data not shown).

Discussion

In the present study we analysed the clinical manifestations and prognosis of a cohort of Spanish SSc patients according to their immunological profile. The main strength of the study was that SSc patients included had mutually exclusive single-SSc-specific antibodies. In the multivariate analysis, we identified distinctive clinical phenotypes considering immunological profiles. Conversely, prognosis in terms of survival curves was similar among the three groups of patients.

Patients positive for ACA were more frequently female (92%) and some clinical features such as diffuse cutaneous involvement and ILD were less common compared to patients positive for ATA and ARA, in accordance with previous data (3, 4, 6, 13-15, 18, 22, 36). Whereas age at disease onset was similar among three groups, the elapsed time to SSc diagnosis was longer in patients with ACA positivity. The low prevalence of non-Raynaud's phenomenon features as presenting manifestation and of lung involvement might explain this difference. In fact, the presence of ACA was protective for clinically significant ILD whereas ATA predicted its presence (36). The prevalence of PH, assessed by echocardiography and/or right-sided heart catheterisation, was similar among the three groups. The relationship between ACA positivity and development of PH has been confirmed in some studies (3, 14, 17), but not in others (13, 15, 21, 37, 38).

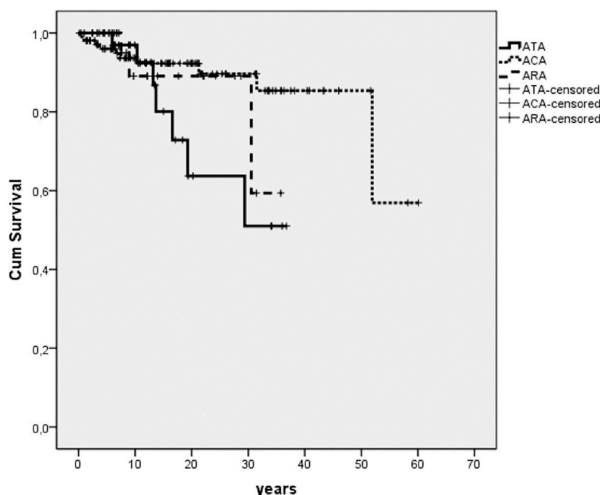
Significant clinical associations in positive ATA patients included higher prevalence of ILD by high-resolution

Antibody profile in systemic sclerosis / N. Iniesta Arandia et al.

computed tomography and lesser prevalence of limited cutaneous and sine scleroderma subtypes in accordance with previous data (3, 6, 13, 14, 17, 20-22).

The prevalence of ARA in SSc patients ranges from 4-25%, higher in Northern than Southern countries in European series, suggesting differences in genetic background (39). As expected, most of the ARA patients had diffuse cutaneous subtype (13, 14, 16, 17, 21). One of the most dreadful complications of SSc was SRC, particularly in ARA patients (13, 17, 28, 40). However, although ARA positive patients showed a high prevalence of SRC, this was not significant in the multivariate analysis. The low prevalence of SRC (10%) in the overall series could explain the lack of significant differences with the other groups of patients. Globally, malignancies were more frequent (33%) in ARA-positive patients. Interestingly, the prevalence of synchronous neoplasia with both SSc onset and SSc diagnosis were also more frequent in ARA group. In the last years, a growing body of evidence associating ARA and malignancy has emerged (28, 31-34). Nowadays, a screening of cancer is advised in all ARA positive patients at SSc diagnosis, based on expert opinion. However, there is no formal recommendation on the screening tests and the length of the follow-up period (34).

Survival rate in the overall cohort ranged from 97.6% at 5 years to 82.6% at 30 years of follow-up with no differences neither in terms of death rate nor in causes of death according to the immunological profile. These results are very similar to previous data from a recent meta-analysis (41) and other European series (42-44). As elegantly proposed by Steen (5), SSc could be considered as diverse distinct entities depending on their serology. In fact, some national (6, 13, 14, 22, 27) and international registries (3) of SSc patients have demonstrated that antibody status contributed to organ complications in more extent than the cutaneous subtype did. In front of the dynamic changes of skin involvement over time, the rarity of the specific SSc



Long Rank ratio $p=0.116$

Fig. 1. Kaplan-Meier curves for patients with systemic sclerosis from disease onset according to immunological profile.

Years	Long Rank ratio $p=0.116$ Patients at risk				
	0-5	5-10	10-20	20-30	30-40
Overall series	165	128.5	83	44.5	21
ACA group	98.5	79	56	33.5	17
ATA group	38.5	29	16.5	5.5	2
ARA group	28	20.1	10.5	5.5	2

Abbreviations: ACA: anti-centromere antibody; ARA: anti-RNA polymerase III antibody; ATA: anti-topoisomerase I antibody.

antibody disappearance (4) could be a useful marker to identify clinical phenotypes and prognosis of SSc patients. The main strengths of the present study include the large number of patients derived from the Spanish geographical location and the fact that three groups of patients were mutually exclusive from the immunological point of view. Moreover, the prevalence of other non-specific antibodies was similar among the three groups. Therefore, the distinctive clinical profiles identified were directly related to each specific SSc-antibody. The main limitation of our study is the low determination rate of some of these antibodies. Until recently, ARA could not be determined

on a routine basis in some Spanish immunology laboratories. Moreover, the laboratory techniques to determine these antibodies were not the same in each participating centre, but borderline results were considered as negative. In the whole series, the number of right-sided heart catheterization was too small to suggest a causal relationship between PH and the antibody profile. In addition, some clinical manifestations such as SCR and neoplasia were represented by a small number of patients giving difficult to achieve statistical significance.

In spite of these limitations, this is the first study performed in a large cohort of Spanish SSc patients that confirms

that the specific SSc antibody profile is associated with differences in clinical presentation and cumulative manifestations. Specific SSc autoantibodies are a useful tool to the physician providing additional and valuable information to the currently used classification according to the extent of skin involvement.

Acknowledgments

We gratefully acknowledge all investigators who form part of the RESCLE Registry. We also thank the RESCLE Registry Coordinating Centre, S&H Medical Science Service, for their quality control data, logistic and administrative support and Prof. Salvador Ortiz, Universidad Autónoma de Madrid and Statistical Advisor S&H Medical Science Service for the statistical analysis of the data presented in this paper.

Affiliations

¹Department of Autoimmune Diseases, Institut Clinic de Medicina i Dermatologia, Hospital Clinic, Barcelona; ²Systemic Autoimmune Diseases Unit, Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona; ³Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo; ⁴Department of Internal Medicine, Hospital Universitario de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona; ⁵Department of Internal Medicine, Hospital de Cabueñes, Gijón; ⁶Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla; ⁷Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza; ⁸Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Cruces, Barakaldo; ⁹Systemic Autoimmune Diseases Unit, Hospital Campus de la Salud, Complejo Universitario de Granada; ¹⁰Thrombosis and Vasculitis Unit, Department of Internal Medicine, Complejo Hospitalario Universitario de Vigo; ¹¹Department of Internal Medicine, Corporación Sanitaria Universitaria Parc Taulí, Sabadell, Barcelona; ¹²Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada; ¹³Department of Internal Medicine,

Hospital Universitario La Paz, Madrid; ¹⁴Department of Internal Medicine, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia; ¹⁵Department of Internal Medicine, Hospital Universitari Mútua Terrassa, Barcelona; ¹⁶Department of Internal Medicine, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza; ¹⁷Department of Internal Medicine, Complejo Asistencial Universitario de Salamanca; ¹⁸Department of Internal Medicine, Consorci Hospitalari de Vic, Barcelona; ¹⁹Department of Internal Medicine, Hospital General San Jorge, Huesca; ²⁰Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain.

Appendix

RESCLE Registry members:

Callejas Moraga E, Carbonell C, Castillo MJ, Chamorro AJ, Colunga D, Egurbide MV, Espinosa G, Esteve C, Fonollosa V, Freire M, García Hernández FJ, González León R, Guillén del Castillo A, Iniesta N, Madroñero AB, Marí B, Marín A, Moreno Higuera M, Ortego-Centeno N, Pestaña M, Pla X, Ríos Blanco JJ, Rodríguez Carballeira M, Rubio Rivas M, Ruiz Muñoz M, Sáez Comet L, Segovia P, Simeón CP, Soto-Peleiteiro A, Todolí JA, Tolosa C, Trapiella L, Vargas Hitos JA, Vázquez-Triñanes C.

References

1. AGMON-LEVIN N, DAMOISEAUX J, KALLENBERG C *et al.*: International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014; 73: 17-23.
2. LEROY EC, BLACK C, FLEISCHMAJER R *et al.*: Scleroderma (systemic sclerosis): Classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15: 202-5.
3. WALKER UA, TYNDALL A, CZIRJÁK L *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: 754-63.
4. STEEN VD: Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 35: 35-42.
5. STEEN VD: The many faces of scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 2008; 34: 1-15.
6. SIMEÓN-AZNAR CP, FONOLLOSA-PLÁ V, TOLOSA-VILELLA C *et al.*: Registry of the Spanish Network for Systemic Sclerosis: clinical pattern according to cutaneous subsets and immunological status. *Semin Arthritis Rheum* 2012; 41: 789-800.
7. BARSOTTI S, STAGNARO C, D'ASCANIO A,

8. DELLA ROSSA A: One year in review 2016: systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2016; 34 (Suppl. 100): S3-13.
9. ELHAI M, AVOUAC J, KAHANAA, ALLANORE Y: Systemic sclerosis: recent insights. *Joint Bone Spine* 2015; 82: 145-53.
10. ALLANORE Y, SIMMS R, DISTLER O *et al.*: Systemic sclerosis. *Nat Rev Dis Primers* 2015; 1: 15002.
11. NIHTYANOVA SI, DENTON CP: Autoantibodies as predictive tools in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol* 2010; 6: 112-6.
12. VAN DEN HOOGEN F, KHANNA D, FRANZEN J *et al.*: 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: 1747-55.
13. HESSELSTRAND R, SCHEJA A, SHEN GQ, WIK A, AKESSON A: The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2003; 42: 534-40.
14. GRAF SW, HAKENDORF P, LESTER S *et al.*: South Australian Scleroderma Register: autoantibodies as predictive biomarkers of phenotype and outcome. *Int J Rheum Dis* 2012; 15: 102-9.
15. MIERAU R, MOINZADEH P, RIEMEKASTEN G *et al.*: Frequency of disease-associated and other nuclear autoantibodies in patients of the German network for systemic scleroderma: correlation with characteristic clinical features. *Arthritis Res Ther* 2011; 13: R172.
16. LOW AHL, WONG S, THUMBOO J *et al.*: Evaluation of a new multi-parallel line immunoassay for systemic sclerosis-associated antibodies in an Asian population. *Rheumatology* 2012; 51: 1465-70.
17. HAMAGUCHI Y, HASEGAWA M, FUJIMOTO M *et al.*: The clinical relevance of serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Br J Dermatol* 2008; 158: 487-95.
18. PATTERSON KA, ROBERTS-THOMSON PJ, LESTER S *et al.*: Interpretation of an extended autoantibody profile in a well-characterized Australian systemic sclerosis (scleroderma) cohort using principal components analysis. *Arthritis Rheum* 2015; 67: 3234-44.
19. 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: 223-30.
20. STEEN VD, POWELL DL, MEDSGER TA JR: Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 196-203.
21. REVEILLE JD, SOLOMON DH: Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear, Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum* 2003; 49: 399-412.
22. VILLALTA D, IMBASTARO T, DI GIOVANNI S *et al.*: Diagnostic accuracy and predictive value of extended autoantibody profile in systemic sclerosis. *Autoimmun Rev* 2012; 12: 114-20.
23. VANTHUYNE M, SMITH V, DE LANGHE E *et*

Antibody profile in systemic sclerosis / N. Iniesta Arandia et al.

- al.: The Belgian Systemic Sclerosis Cohort: correlations between disease severity scores, cutaneous subsets, and autoantibody profile. *J Rheumatol* 2012; 39: 2127-33.
23. WANG J, ASSASSI S, GUO G *et al.*: Clinical and serological features of systemic sclerosis in a Chinese cohort. *Clin Rheumatol* 2013; 32: 617-21.
 24. SUJAU I, NG CT, STHANESHWAR P *et al.*: Clinical and autoantibody profile in systemic sclerosis: baseline characteristics from a West Malaysian cohort. *Int J Rheum Dis* 2015; 18: 459-65.
 25. IOANNIDIS JPA, VLACHOYIANNOPOULOS PG, HAIDICH AB *et al.*: Mortality in systemic sclerosis: an international meta-analysis of individual patient data. *Am J Med* 2005; 118: 2-10.
 26. PENN H, HOWIE AJ, KINGDON EJ *et al.*: Scleroderma renal crisis: Patient characteristics and long-term outcomes. *QJM* 2007; 100: 485-94.
 27. MEYER O, DE CHAISEMARTIN L, NICAISE-ROLAND P *et al.*: Anti-RNA polymerase III antibody prevalence and associated clinical manifestations in a large series of French patients with systemic sclerosis: A cross-sectional study. *J Rheumatol* 2010; 37: 125-30.
 28. NIKPOUR M, HISSARIA P, BYRON J *et al.*: Prevalence, correlates and clinical usefulness of antibodies to RNA polymerase III in systemic sclerosis: a cross-sectional analysis of data from an Australian cohort. *Arthritis Res Ther* 2011; 13(6): R211.
 29. INGRAHAM KM, O'BRIEN MS, SHENIN M, DERK CT, STEEN VD: Gastric antral vascular ectasia in systemic sclerosis: demographics and disease predictors. *J Rheumatol* 2010; 37: 603-7.
 30. CERIBELLI A, CAVAZZANA I, AIRO P, FRANCESCHINI F: Anti-RNA polymerase III antibodies as a risk marker for early gastric antral vascular ectasia (GAVE) in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2010; 37: 1544.
 31. SHAH AA, ROSEN A, HUMMERS L, WIGLEY F, CASCIOLA-ROSEN L: Close temporal relationship between onset of cancer and scleroderma in patients with RNA polymerase I/III antibodies. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 2787-95.
 32. MOINZADEH P, FONSECA C, HELLMICH M *et al.*: Association of anti-RNA polymerase III autoantibodies and cancer in scleroderma. *Arthritis Res Ther* 2014; 16: R53.
 33. AIRO P, CERIBELLI A, CAVAZZANA I, TARABORELLI M, ZINGARELLI S, FRANCESCHINI F: Malignancies in Italian patients with systemic sclerosis positive for anti-RNA polymerase III antibodies. *J Rheumatol* 2011; 38: 1329-34.
 34. LAZZARONI MG, CAVAZZANA I, COLOMBO I *et al.*: Malignancies in patients with anti-RNA polymerase III antibodies and systemic sclerosis: analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research Cohort and possible recommendations for screening. *J Rheumatol* 2017; 44: 639-47.
 35. LEROY EC, MEDSGER TA: Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001; 28: 1573-6.
 36. NIHTYANOVA SI, SCHREIBER BE, ONG VH *et al.*: Prediction of pulmonary complications and long-term survival in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2014; 66: 1625-35.
 37. HANKE K, BECKER MO, BRUECKNER CS *et al.*: Anticentromere-A and anticentromere-B antibodies show high concordance and similar clinical associations in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2010; 37: 2548-52.
 38. GLIDDON AE, DORE CJ, DUNPHY J, BETTERIDGE Z, MCHUGH NJ, MADDISON PJ: Antinuclear antibodies and clinical associations in a British cohort with limited cutaneous systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2011; 38: 702-5.
 39. SOBANSKI V, DAUGHET L, LEFÈVRE G *et al.*: Prevalence of anti-RNA polymerase III antibodies in systemic sclerosis: new data from a French cohort, systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheum* 2014; 66: 407-17.
 40. NGUYEN B, ASSASSI S, ARNETT F, MAYES C: Association of RNA polymerase III antibodies with scleroderma renal crisis. *J Rheumatol* 2010; 37: 1068.
 41. 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* 2014; 44: 208-19.
 42. TYNDALL AJ, BANNERT B, VONK M *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: 1809-15.
 43. 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: 285-93.
 44. SIMEÓN-AZNAAR CP, FONOLLOSA-PLÁ V, TOLOSA-VILELLA C *et al.*: Registry of the Spanish Network for Systemic Sclerosis survival, prognostic factors, and causes of death. *Medicine* 2015; 94: e1728.

El objetivo principal del primer estudio fue valorar la influencia de los anticuerpos específicos de esclerodermia, anticentrómero (ACA), antitopoisomerasa (ATA) y anti-RNA polimerasa (ARA) en las manifestaciones clínicas iniciales, acumuladas, capilaroscópicas y en el pronóstico de los pacientes del registro RESCLE.

Para ello se seleccionaron del registro RESCLE los pacientes que tuvieran determinados los tres anticuerpos con positividad de forma exclusiva para cada uno de ellos. Se identificaron 209, 61% de ellos presentaron ACA, 22% ATA y 17% eran positivos solamente para ARA. La prevalencia de otros anticuerpos no específicos de esclerodermia fue similar en los tres grupos.

Desde el punto de vista clínico, los pacientes con ACA presentaron con mayor frecuencia el subtipo cutáneo limitado (69% vs 28% en aquellos con ATA y 29% en aquellos con ARA), presentaron menos artritis (9% vs 26% con ATA y 29% con ARA), menos EPI (23% vs 67% con ATA y 60% con ARA) o EPI grave, expresada como una capacidad vital forzada <70% (18% vs 51% con ATA vs 36% con ARA). Si bien la edad al debut de la enfermedad fue similar en los tres grupos de pacientes, en los pacientes con ACA el tiempo desde el debut de la enfermedad hasta su diagnóstico expresado en años fue superior ($9,4 \pm 12,3$ años vs $4,0 \pm 6,5$ con ATA vs $3,6 \pm 7,1$ con ARA). La prevalencia de HAP, medida bien mediante ecocardiograma y/o cateterismo derecho, fue similar en los tres grupos. En el análisis multivariante la presencia de ACA se mostró como factor de protección para el desarrollo de EPI.

Los pacientes con ATA presentaron con mayor frecuencia EPI, determinada mediante tomografía computarizada de alta resolución, (67% vs 23% con ACA y 60% con ARA), EPI grave (51% vs 18% con ACA vs 36% con ARA) y menor prevalencia de los subtipos cutáneos sin esclerodermia (4% vs 21% con ACA y 29% con ARA) o limitado (28% vs 69% con ACA vs 29% con ARA). En el análisis multivariante, la presencia de ATA se asoció de manera independiente con el desarrollo de EPI y se mostró protectora para la presencia del fenotipo cutáneo limitado.

Los pacientes con ARA presentaron con mayor frecuencia como manifestación clínica inicial alguna manifestación diferente del fenómeno de Raynaud (45% vs 20% con ATA y 6% con ACA), con mayor frecuencia presentaron el subtipo difuso y más CRE (33% vs 17% con ATA y 0% con ACA), asociación que no fue significativa en el análisis multivariante. Curiosamente, los pacientes con ARA presentaron una mayor tendencia al desarrollo de neoplasias (23% vs 7% con ATA y 10% con ACA), tanto sincrónicas al debut como al diagnóstico de la enfermedad y más úlceras digitales (60% vs 43% con ATA y 38% con ACA). En el análisis multivariante la presencia de ARA se asoció de manera independiente con el subtipo cutáneo difuso y con las manifestaciones articulares como manifestación inicial. Por el contrario, se mostró protector para el desarrollo de síndrome seco.

La supervivencia global de la cohorte fue del 97,6% a los 5 años y de 82,6% a los 30 años de seguimiento, sin que se encontraran diferencias en el porcentaje de muertes ni tampoco en la causa de muerte según el anticuerpo presente.

A la vista de los resultados concluimos que en la cohorte de pacientes con esclerodermia del registro RESCLE se identifican fenotipos clínicos distintivos en función del perfil inmunológico. Sin embargo, el pronóstico, en términos de curvas de supervivencia, fue similar en los tres grupos de pacientes.

Segundo estudio:

Iniesta Arandia N, Espinosa G, Tolosa Vilella C, Guillén del Castillo A, Rubio Rivas M, Freire M, Vargas Hitos JA, Todolí Parra JA, Rodríguez Carballera M, Marín Ballvé A, Colunga Argüelles D, González de Echávarri Pérez de Heredia C, Ortego-Centeno N, Trapiella Martínez L, Pla Salas X, Chamorro AJ, Perales Fraile I, Ruiz Muñoz M, Fernández de la Puebla Giménez RA, Madroñero Vuelta AB, Pons Martín del Campo I, Jimenez Pérez de Heredia I, González García A, Fonollosa Pla V, Simeón Aznar CP, on behalf of RESCLE Investigators, Autoimmune Diseases Study Group (GEAS). Serodiscordant patients with systemic sclerosis: when antibody does not correspond to skin involvement. Clin Exp Rheumatol 2020 Jan 14. [Epub ahead of print]

Serodiscordant patients with systemic sclerosis: when antibody does not correspond to skin involvement

N. Iniesta Arandia¹, G. Espinosa¹, C. Tolosa Vilella², A. Guillén del Castillo³, M. Rubio Rivas⁴, M. Freire⁵, J.A. Vargas Hitos⁶, J.A. Todolí Parra⁷, M. Rodríguez Carballeira⁸, A. Marín Ballvé⁹, D. Colunga Argüelles¹⁰, C. González de Echávarri Pérez de Heredia¹¹, N. Ortego-Centeno¹², L. Trapiella Martínez¹³, X. Pla Salas¹⁴, A.J. Chamorro¹⁵, I. Perales Fraile¹⁶, M. Ruiz Muñoz¹⁷, R.Á. Fernández de la Puebla Giménez¹⁸, A.B. Madroño Vuelta¹⁹, I. Pons Martín del Campo²⁰, I. Jimenez Pérez de Heredia²¹, A. González García²², V. Fonollosa Pla³, C.P. Simeón Aznar³ on behalf of RESCLE Investigators, Autoimmune Diseases Study Group (GEAS)

Affiliations: see page 7.

Nerea Iniesta Arandia, MD
Gerard Espinosa, MD, PhD
Carles Tolosa Vilella, MD, PhD
Alfredo Guillén del Castillo, MD, PhD
Manuel Rubio Rivas, MD, PhD
Mayka Freire, MD, PhD
José Antonio Vargas Hitos, MD, PhD
José Antonio Todolí Parra, MD
Mónica Rodríguez Carballeira, MD, PhD
Adela Marín Ballvé, MD, PhD
Dolores Colunga Argüelles, MD
Cristina González de Echávarri Pérez de Heredia, MD
Norberto Ortego-Centeno, MD, PhD
Luis Trapiella Martínez, MD, PhD
Xavier Pla Salas, MD
Antonio J. Chamorro, MD, PhD
Isabel Perales Fraile, MD
Manuel Ruiz Muñoz, MD
Rafael Á. Fernández de la Puebla Giménez, MD, PhD
Ana Belén Madroño Vuelta, MD, PhD
Isaac Pons Martín del Campo, MD
Iratxe Jiménez Pérez de Heredia, MD
Andrés González García, MD
Vicent Fonollosa Pla, MD PhD
Carmen Pilar Simeón Aznar, MD, PhD

A full list of RESCLE investigators is given in the appendix.

Please address correspondence to:
Gerard Espinosa, MD, PhD,
Department of Autoimmune Diseases,
Hospital Clínic, Villarroel 170,
08036 Barcelona, Catalonia, Spain.
E-mail: gespino@clinic.cat

Received on May 31, 2019; accepted in revised form on September 26, 2019.

© Copyright CLINICAL AND
EXPERIMENTAL RHEUMATOLOGY 2020.

Key words: limited, diffuse cutaneous systemic sclerosis, sine scleroderma, anti-centromere-antibody, anti-topoisomerase antibody, prognosis.

Funding: This work was supported by an unrestricted educational scholarship granted by Laboratorios Actelion. Actelion had no access to the data of the RESCLE Registry database.

Competing interests: see page 8.

ABSTRACT

Objective. Diffuse cutaneous systemic sclerosis (dcSSc) is associated with anti-topoisomerase (ATA) whereas limited cutaneous (lcSSc) and sine scleroderma (ssSSc) are mainly associated with anti-centromere antibody (ACA). Serodiscordant patients were defined as lcSSc subjects with ATA, dcSSc with ACA, and ssSSc with ATA. The aim of the present study was to compare the clinical manifestations and prognosis between serodiscordant patients and their counterparts (those with lcSSc with ACA, dcSSc with ATA and ssSSc with ACA, respectively).

Methods. From the Spanish Scleroderma Registry we selected those patients in which skin involvement (dcSSc, lcSSc or ssSSc) was detailed at baseline and last visit and ACA and ATA had been determined. Demographic, clinical characteristics, and survival data were compared according to the antibody status.

Results. The whole cohort comprised 901 patients and six mutually exclusive groups were defined: lcSScACA in 511 (57%) patients, lcSScATA group in 87 (10%), dcSScATA group in 172 (19%), dcSScACA group in 21 (2%), ssSScACA group in 92 (10%), and ssSScATA group in 18 (2%) patients, respectively. Interstitial lung disease (ILD) and severe ILD were more frequent in patients with dcSScATA than in those with dcSScACA. Conversely, the prevalence of isolated pulmonary hypertension (without ILD) was higher in those with dcSScACA (15% versus 2%; $p=0.018$). No differences were found regarding survival when comparing serodiscordant patients with the seroconcordant patients.

Conclusions. In our cohort, the prevalence of serodiscordant SSc patients was low. They differed from their counterparts in some clinical manifestations. The management of patients with SSc should be guided by both serology and cutaneous subtype.

Introduction

Classically, patients with systemic sclerosis (SSc) have been divided in two main groups according to the extent of skin involvement, the diffuse cutaneous SSc (dcSSc) and the limited cutaneous SSc (lcSSc), respectively (1, 2). From an immunological point of view, the two most common anti-nuclear antibodies in SSc are anti-centromere (ACA) and anti-topoisomerase I antibodies (ATA). They both can be found up to 50% of SSc patients (3). A close association between the cutaneous involvement and autoantibody status is known. In fact, ACA, the most common antibody in lcSSc - is present in 70-80% of them - whereas ATA is the most frequent in dcSSc, present in approximately 30% of patients (4). In an effort to better define disease subgroups, two studies showed that the classification according to autoantibodies was as strongly associated with the clinical manifestations as the categorisation into cutaneous subtypes (5, 6). In addition to lcSSc and dcSSc, a third subset of patients, SSc sine scleroderma (ssSSc), defined by the presence of Raynaud's phenomenon (RP), any typical scleroderma visceral involvement, and any SSc-associated autoantibodies but no cutaneous sclerosis has been considered (7). Given its

Serodiscordant SSc patients in a large Spanish cohort / N. Iniesta Aranda et al.

similar prognosis, the majority of studies include ssSSc patients in the lcSSc subtype. Some authors, however, highlighted the existence of clinical differences between both types. In general, ACA is the most frequent autoantibody found in patients with ssSSc (6, 8).

In the majority of International and National registries of SSc patients (5, 9-11), a low number of serodiscordant subjects defined by dcSSc with ACA (dcSScACA), lcSSc with ATA (lcSScATA), and ssSSc with ATA (ssSScATA) have been described. In fact, around 30% of ATA patients present with lcSSc whereas 5% of ACA patients develop dcSSc (12). A recent multicentric study showed that 50% of ssSSc patients had ACA whereas only 17% presented with ATA (13). Little is known about the prognosis and clinical characteristics of this group of patients. In order to better define the clinical course and survival of these serodiscordant SSc patients, we described the clinical manifestations and prognosis of patients with dcSScACA, lcSScATA, and ssSScATA and compared them with those of dcSScATA, lcSScACA, and ssSScACA, respectively, from the Spanish Scleroderma Registry or RESCLE (Registro de ESCLerodermia as Spanish nomenclature) Registry. As a secondary objective we planned the rate of transition of skin subtype (from limited to diffuse and from sine to limited) and the characteristics of patients who transitioned during the evolution.

Patients and methods

The present study was a retrospective cohort study. Data were obtained from the Spanish Scleroderma Registry (RESCLE), a project created by the Autoimmune Diseases Working Group (GEAS) within the Spanish Society of Internal Medicine (SEMI) in 2006. The registry includes incident cases of SSc and patients with a previous diagnosis of SSc who fulfilled the 2013 ACR/EULAR criteria (14) and/or the modified criteria proposed by LeRoy and Medsger in 1988 (7) to avoid the possible missing of patients with ssSSc or lcSSc who would not fulfill the 2013 ACR criteria. Data were collected retrospectively until 2006 and prospec-

tively onwards. Disease onset was defined as the date of the first self-reported symptom (RP in the majority of patients). Thirty hospitals nationwide are participating in the registry and all of them obtained local Ethics Committee approval. In addition, we also received ethics board approval from our institution (Hospital Clinic, Barcelona, Spain, ref. HCP 2011/6413).

Demographic, clinical, immunological and capillaroscopic data encompassing 260 variables were collected according to a standard protocol. Detailed definitions of the cutaneous subsets, clinical features, organ involvements, nailfold capillaroscopy patterns, and immunological features have been published elsewhere (6, 15-18). Since the modified Rodnan skin score (mRss) (19) is not included in the registry database, patients were classified as diffuse subtype if they ever had skin thickening proximal to elbow or knees (upper arms, thighs, chest, abdomen or back) prior to the baseline visit, even if it had regressed to a lcSSc distribution as previously described (20).

For the present study, we selected from the RESCLE those patients in which skin involvement (dcSSc, lcSSc or ssSSc) was detailed at the first and last visit and ACA and ATA had been determined, and a single positivity for each SSc specific antibodies was detected. Immunological studies were performed in each participating center. ANA was identified by indirect immunofluorescence assay using Hep-2 cell lines or by immunofluorescence using triple tissue cryostat section (liver-stomach-kidney). ACA and ATA were determined by ELISA kits. Manufacturer-specified cut-off points were used to define both antibodies as present or absent in each center. To avoid false positive results, borderline results were considered as negative.

Statistical analysis

Results from continuous variables are presented as median (interquartile range) and categorical data as percentages. For statistical evaluation a contingency table test was used (exact Fisher's test) to identify significant differences or associations among the groups for qualitative variables and t-

test was used for the quantitative ones. The Bonferroni method was used for correction of multiple comparisons. Significance was considered whenever p value was under 0.05. Survival curves were calculated using the Kaplan-Meier method and log-rank ratio was used to identify differences. All statistical analysis was performed with SPSS 18.0 for Windows (SPSS, Chicago, IL, USA).

Results

The whole cohort comprised 901 patients. The main demographic, initial and cumulative clinical manifestations of the entire cohort are described in Table S1 (Supplementary material). Of the total of 901 patients, 598 (66%) were classified as lcSSc, 193 (21%) were classified as dcSSc, and 110 (12%) were classified as ssSSc. Five hundred and eleven (85%) of the lcSSc were ACA positive and 87 (15%) were ATA positive. Within the dcSSc subtype, 172 patients (89%) were ATA positive and 21 (1%) were ACA positive. Ninety-two (84%) patients with ssSSc were ACA positive and 18 (16%) were ATA positive.

Demographic characteristics, initial presentation, and immunological features according to the type of cutaneous involvement and immunological profile

Demographic characteristics, initial presentation, immunological features, and capillaroscopic patterns of the six groups are listed in Table I. Of note, we did not find differences between dcSSc patients regardless their antibody status and the same fact occurred among patients with ssSSc. Time from onset of disease to diagnosis was shorter in lcSSc-ATA group (2.5 (0.7-7.2) years) compared with lcSScACA group (4.0 (1.1-12.4) years) ($p=0.012$). Compared with patients with lcSScATA, those with lcSScACA presented with higher percentage of RP (95% vs. 79%; $p<0.001$) and lower prevalence of puffy hands (3% vs. 9%; $p=0.017$) as presenting manifestations of SSc. Patients with ATA, were very similar regardless their skin involvement, except for a higher prevalence of active cap-

Serodiscordant SSc patients in a large Spanish cohort / N. Iniesta Aranda et al.

Table I. Demographic characteristics, presenting manifestation, and capillaroscopic patterns of patients with systemic sclerosis according to the skin involvement and immunological profile.

	dcSSc		p	lcSSc		p	ssSSc		p	p global
	ATA (n=172)	ACA (n=21)		ATA (n=87)	ACA (n=511)		ATA (n=18)	ACA (n=92)		
Sex (female)	148 (86)	20 (95)	NS	75 (86)	475 (93)	NS	15 (83)	87 (95)	NS	0.022
Age at disease onset (yrs)(836)	43.7 (33.5-55.7)	44.4 (39.8-48.3)	NS	46.7 (32.2-55.4)	45.3 (36.1-56.5)	NS	36.0 (22.8-55.4)	49.5 (36.1-57.0)	NS	NS
Age at disease diagnosis (yrs) (862)	47.6 (37.8-57.9)	48.4 (39.8-63.4)	NS	51.6 (38.9-60.9)	54.9 (44.2-65.4)	NS	44.7 (39.3-59.0)	55.7 (42.5-65.2)	NS	<0.001
Time onset-diagnosis (yrs) (812)	1.4 (0.3-4.4)	2.0 (0.1-9.2)	NS	2.5 (0.7-7.2)	4 (1.1-12.4)	0.012	4.1 (2.0-7.0)	5.2 (1.7-10.0)	NS	<0.001
Follow-up from disease onset (yrs) (836)	10.5 (5.4-18.8)	10.9 (6.3-16.4)	NS	12.7 (5.6-19.5)	15.7 (8.2-26.3)	NS	9.2 (5.3-20.0)	11.4 (5.0-18.1)	NS	<0.001
Follow-up from disease diagnosis (yrs) (862)	7.0 (3.6-15.5)	6.1 (4.0-10.1)	NS	7.3 (2.5-13.3)	8.2 (3.3-14.5)	NS	3.6 (1.9-10.9)	4.2 (1.4-9.8)	NS	0.003
<i>Presenting manifestation (871)</i>										
Raynaud's phenomenon	127 (78)	15 (83)	NS	69 (79)	461 (93)	<0.001	14 (82)	81 (91)	NS	<0.001
Puffy hands	9 (6)	1 (6)	NS	8 (9)	16 (3)	0.017	2 (12)	3 (3)	NS	NS
Arthralgia	4 (3)	0	NS	3 (3)	4 (1)	NS	0	0	NS	NS
Skin sclerosis	16 (10)	2 (11)	NS	3 (3)	9 (2)	NS	0	1 (1)	NS	<0.001
<i>SSc criteria</i>										
1980 ACR (898)	170 (99)	21 (100)	NS	63 (72)	311 (61)	NS	3 (17)	9 (10)	NS	<0.001
2013 ACR/EULAR (815)	172 (100)	21 (100)	NS	80 (98)	483 (98)	NS	2 (29)	28 (67)	NS	<0.001
<i>Capillaroscopy patterns (720)</i>										
Slow pattern	48 (41)	5 (29)	NS	33 (54)	257 (60)	NS	5 (36)	40 (51)	NS	0.001
Active pattern	60 (51)	10 (59)	NS	20 (33)	128 (30)	NS	3 (21)	13 (16)	NS	<0.001
<i>Immunological features</i>										
Rheumatoid factor (692)	29 (21)	4 (27)	NS	17 (25)	109 (28)	NS	1 (7)	17 (25)	NS	NS
Anti-Ro antibody (855)	22 (13)	3 (15)	NS	12 (15)	60 (12)	NS	4 (24)	13 (15)	NS	NS
Anti-La antibody (848)	8 (5)	1 (5)	NS	5 (6)	11 (2)	NS	0	8 (9)	NS	0.036
Anti-Sin antibody (827)	1 (1)	1 (5)	NS	0	5 (1)	NS	0	1 (1)	NS	NS
Anti-RNP antibody (840)	5 (3)	0	NS	5 (6)	14 (3)	NS	1 (6)	2 (2)	NS	NS
Lupus anticoagulant (368)	3 (4)	1 (9)	NS	3 (9)	18 (9)	NS	1 (10)	3 (7)	NS	NS
IgG anticardiolipin antibody (578)	2 (2)	1 (6)	NS	4 (8)	23 (7)	NS	0	1 (2)	NS	NS
IgM anticardiolipin antibody (578)	4 (4)	1 (6)	NS	6 (12)	20 (6)	NS	1 (8)	4 (8)	NS	NS
Anti-thyroid antibody (260)	10 (25)	3 (75)	NS	6 (27)	41 (25)	NS	3 (60)	6 (21)	NS	NS

All data derived from 901 patients, except when indicated.

Values of categorical variables are expressed as number and percentage and those for continuous variables are presented as median (interquartile range).

ACA: anti-centromere antibody; ACR/EULAR: American College of Rheumatism/European League Against Rheumatism; ATA: anti-topoisomerase I antibody; dcSSc: diffuse cutaneous SSc; lcSSc: limited cutaneous SSc; NS: not significant; ssSSc: sine scleroderma SSc; SSc: systemic sclerosis; yrs: years.

illaroscopic pattern in those with dcSSc (51% vs. 33% and 21%, $p<0.001$). Similarly, the comparison between patients with ACA (dcSScACA, lcSScACA, and ssSScACA) only found differences in terms of distribution of capillaroscopic patterns (Table I). In fact, the great number of differences took place between patients with dcSScATA and those with lcSScACA and between patients with dcSScATA and those with ssSScACA (Table I). Rates of overlapping with other autoantibodies were similar among the groups irrespective of their cutaneous subtype (dcSSc, lcSSc, and ssSSc) or immunological profile (ATA and ACA) (Table I).

Cumulative clinical manifestations according to the type of cutaneous involvement and immunological profile
Cumulative clinical manifestations in the six groups are listed in Table II. Interstitial lung disease (ILD) and severe ILD, defined as forced vital capacity (FVC) <70%, were more frequent in

patients with dcSScATA than in those with dcSScACA (Table II). Conversely, the prevalence of isolated pulmonary hypertension (without ILD) was higher in those with dcSScACA than those with dcSScATA (15% vs. 2%; $p=0.018$). Some differences were found among patients with lcSScATA and those with lcSScACA. The former presented more frequently ILD (64% vs. 29%; $p<0.001$) and severe ILD (38% vs. 12%; $p<0.001$) whereas digital ulcers (42% vs. 29%; $p<0.001$) and telangiectasias (68% vs. 61%; $p=0.016$) were more frequent in the latter. Considering patients with ssSSc, those with ATA had more frequently digital ulcers (28% vs. 10%; $p<0.001$) and severe ILD (40% vs. 9%; $p=0.006$). On the contrary, telangiectasia was more frequent in ssSSc-ACA+ patients (46% vs. 22%; $p<0.001$). Regarding pulmonary manifestations, FVC% predicted values were lower among the subtypes with ATA compared with those of ACA. Most of the differences were found among patients with dcSScATA and

those with lcSScACA and between patients with dcSScATA and ssSScACA. Of note, we did not find differences between patients with lcSScATA and those with ssSScATA (Table II).

Mortality according to the type of cutaneous involvement and immunological profile

Overall, 165 (18%) patients died during the follow-up. We did not find differences in terms of death rate nor in the causes of death (SSc and non-SSc related) according to the immunological profile (dcSScATA versus dcSScACA; lcSScATA versus lcSScACA, and ssSScATA versus ssSScACA) (Table III). In fact, the only difference that we found was a higher prevalence of pulmonary hypertension as SSc-related cause of death in dcSScACA versus dcSScATA (40% vs. 2%; $p=0.001$). Of note, no differences were found considering the Kaplan-Meier survival curves from disease onset when we compared dcSScATA vs. dcSScACA (log-rank $p=0.431$), lcSScATA

Serodiscordant SSc patients in a large Spanish cohort / N. Iniesta Aranda et al.

Table II. Cumulative clinical manifestations of patients with SSc according to their cutaneous subtype and immunological profile.

	dcSSc			lcSSc			ssSSc			p	p global
	ATA (n=172)	ACA (n=21)	p	ATA (n=87)	ACA (n=511)	p	ATA (n=18)	ACA (n=92)	p		
<i>Peripheral vascular manifestations</i>											
Raynaud's phenomenon (898)	164 (95)	19 (90)	NS	83 (95)	502 (99)	NS	16 (89)	89 (98)	NS	0.009	
Digital ulcers (900)	112 (65)	13 (62)	NS	25 (29)	212 (42)	<0.001	5 (28)	9 (10)	<0.001	<0.001	
Telangiectasia (897)	112 (65)	16 (76)	NS	53 (61)	347 (68)	0.016	4 (22)	42 (46)	<0.001	<0.001	
Acro-osteolysis (627)	22 (15)	2 (11)	NS	5 (7)	26 (8)	NS	0	1 (2)	NS	0.053	
<i>Osteoarticular</i>											
Calcinosis (897)	43 (25)	9 (43)	NS	16 (18)	131 (26)	NS	0	9 (10)	NS	<0.001	
Arthritis (627)	45 (30)	3 (16)	NS	16 (24)	48 (14)	NS	1 (8)	2 (5)	NS	<0.001	
Myositis (627)	29 (20)	1 (5)	NS	4 (6)	19 (6)	NS	1 (8)	3 (7)	NS	<0.001	
Tendon friction rubs (627)	16 (11)	3 (16)	NS	2 (3)	8 (2)	NS	0	0	NS	<0.001	
<i>Digestive involvement</i>											
Oesophagus (676)	132 (91)	15 (88)	NS	49 (82)	314 (85)	NS	12 (92)	65 (89)	NS	NS	
Stomach (669)	33 (23)	2 (12)	NS	7 (12)	76 (21)	NS	2 (17)	11 (15)	NS	NS	
Malabsorption (756)	13 (9)	2 (13)	NS	3 (4)	34 (8)	NS	1 (7)	4 (6)	NS	NS	
<i>Lung Involvement</i>											
ILD (896)	144 (84)	12 (57)	0.007	56 (64)	146 (29)	<0.001	8 (44)	20 (22)	NS	<0.001	
FVC (% (805))	67.3 (53.6-85.0)	86.7 (76.0-103.0)	0.001	77.3 (62.0-94.0)	93.1 (81.0-105.0)	<0.001	79.0 (58.0-96.6)	93.0 (82.0-103.0)	NS	<0.001	
Severe ILD (FVC<70%) (805)	85 (53)	3 (14)	<0.001	30 (38)	55 (12)	<0.001	6 (40)	8 (9)	0.006	<0.001	
DLCO < 70% (% (695))	105 (74)	10 (59)	NS	40 (58)	206 (54)	NS	8 (57)	37 (49)	NS	0.001	
DLCO/VA (% (703))	78.0 (60.0-85.8)	64.0 (58.0-94.0)	NS	79.0 (66.0-91.0)	74.9 (62.0-89.0)	NS	80.7 (51.0-89.9)	80.0 (67.5-91.0)	NS	NS	
Ground-glass pattern (602)	97 (71)	6 (46)	NS	35 (54)	73 (23)	<0.001	5 (42)	10 (19)	NS	<0.001	
Reticular pattern (651)	93 (60)	5 (33)	NS	38 (54)	53 (15)	<0.001	3 (23)	5 (9)	NS	<0.001	
PH by echocardiogram (511)	28 (35)	4 (40)	NS	11 (24)	80 (25)	NS	2 (20)	9 (19)	NS	NS	
PH by RSHC (122)	15 (63)	6 (100)	NS	4 (50)	55 (75)	NS	1 (50)	6 (67)	NS	NS	
Isolated PH (w/o ILD) (781)	3 (2)	3 (15)	0.018	6 (7)	56 (13)	NS	0	7 (10)	NS	0.001	
<i>Heart involvement</i>											
Pericarditis (471)	22 (20)	2 (13)	NS	4 (8)	17 (6)	NS	0	2 (8)	NS	0.006	
Conduction alteration	30 (17)	1 (5)	NS	15 (17)	57 (11)	NS	1 (6)	7 (8)	NS	<0.001	
Diastolic dysfunction (570)	33 (38)	1 (9)	NS	19 (33)	133 (39)	NS	6 (46)	21 (35)	NS	NS	
<i>Renal involvement</i>											
SCR (896)	12 (7)	2 (10)	NS	2 (2)	3 (1)	NS	0	0	-	NS	
Neoplasia	16 (9)	0	NS	11 (13)	53 (10)	NS	4 (22)	8 (9)	NS	NS	

All data derived from 901 patients, except when indicated.

Values of categorical variables are expressed as number and percentage and those for continuous variables are presented as median (interquartile range).

ACA: anti-centromere antibody; ATA: anti-topoisomerase I antibody; dcSSc: diffuse cutaneous SSc; DLCO/VA: diffusing capacity of the lung for carbon monoxide divided by alveolar volume; FVC: forced vital capacity; ILD: interstitial lung disease; lcSSc: limited cutaneous SSc; NS: not significant; PH: pulmonary hypertension; RSHC: right-sided heart catheterization; SCR: scleroderma renal crisis; ssSSc: sine scleroderma SSc; SSc: systemic sclerosis; w/o: without; yrs: years.

vs. lcSScACA (log rank $p=0.918$), and ssSScATA and ssSScACA (log rank $p=0.938$), respectively (Fig. 1). No differences were found when SSc diagnosis instead of disease onset was considered (Fig. 2).

Change of cutaneous subtype

A secondary objective was to describe the characteristics of patients who changed the cutaneous subtype (limited to diffuse and sine to limited) during the evolution. Overall, 11 out of 598 (2%) patients with lcSSc changed to dcSSc, 7 of them were ATA positive and 4 had ACA with a similar mean time to transition (9.6 ± 10.6 years vs. 10.1 ± 10.7 years, respectively). Of note, we did not find differences either in the demographic characteristics, presenting manifestations, capillaroscopic patterns, cumulative manifestations, death rates nor in the causes of death

and survival curves among two groups. Sixteen out of 110 (14%) patients with ssSSc changed to lcSSc. The majority of them had ACA ($n=14$) whereas only 2 had ATA. The time to transition was longer in those with ACA but without significant difference (8.8 ± 8.1 years vs. 4.5 ± 0.0 years). Demographic, presenting and cumulative manifestations, capillaroscopic patterns, death rates and causes of death and survival curves were similar among these two groups.

Discussion

In the present study we analysed the clinical manifestations and prognosis of a cohort of Spanish SSc patients according to their cutaneous involvement and immunological profile focusing on the serodiscordant patients. The prevalence of these subsets of SSc patients in the present cohort was low, only 10% considering lcSScATA and 2% in case

of dcSScACA and ssSScATA, respectively. Compared with dcSScATA, lcSScACA, and ssSScACA, serodiscordant SSc patients presented some differences in presenting and cumulative manifestations. Death rates, causes of death, and prognosis were similar in patients with the same cutaneous subtype regardless their immunological profile.

The prevalence of serodiscordant SSc patients varies between studies (Table IV) (5, 9-11, 21-30). In the majority of the studies (13, 31-33), the serological profile of patients with SSc was generally similar to those of lcSSc subjects showing high rates of ACA (ranging from 46% to 50%) whereas ATA rates were less frequent (from 7% to 17%). The different prevalence of serodiscordant patients in the present study may be explained by the different ethnic origin and genetic factors from SSc patients included in the different

Serodiscordant SSc patients in a large Spanish cohort / N. Iniesta Aranda et al.

Table III. Death rate, causes of death, and survival rates of patients with SSc according their cutaneous involvement and immunological profile.

	dcSSc			lcSSc			ssSSc			p global
	ATA (n=172)	ACA (n=21)	p	ATA (n=87)	ACA (n=511)	p	ATA (n=18)	ACA (n=92)	p	
Death rate	55 (32)	10 (48)	NS	10 (11)	77 (15)	NS	2 (11)	11 (12)	NS	<0.001
SSc-related causes of death (157)	31 (62)	8 (80)	NS	7 (70)	30 (41)	NS	0	6 (55)	NS	0.028
ILD (165)	8 (15)	2 (20)	NS	0	5 (6)	NS	0	0	-	NS
PH (165)	1 (2)	4 (40)	0.001	3 (30)	18 (23)	NS	0	2 (18)	NS	0.005
ILD and PH (165)	11 (20)	1 (10)	NS	1 (10)	2 (3)	NS	0	1 (9)	NS	0.045
Scleroderma renal crisis (165)	6 (11)	0	NS	1 (10)	0	NS	0	0	-	0.046
Non-SSc related causes of death (157)	19 (38)	2 (20)	NS	3 (30)	44 (59)	NS	2 (100)	5 (45)	NS	0.028
Neoplasia (165)	7 (13)	0	NS	1 (10)	6 (8)	NS	0	1 (9)	NS	NS
Ischemic cardiopathy (165)	1 (2)	0	NS	0	3 (4)	NS	0	2 (18)	NS	NS
Stroke (165)	0	0	-	0	1 (1)	NS	0	0	-	NS
Chronic renal failure (165)	0	0	-	0	0	-	0	0	-	-
COPD (165)	0	0	-	0	1 (1)	NS	0	0	-	NS
Sepsis (165)	2 (4)	1 (10)	NS	0	4 (5)	NS	1 (50)	1 (9)	NS	NS
Pulmonary embolism (165)	0	0	-	0	1 (1)	NS	0	0	-	NS
Arrhythmia (165)	1 (2)	1 (10)	NS	0	0	-	0	0	-	NS
Mean survival time since SSc onset (yrs)	25.3±1.6	23.7±5.0	-	52.9±4.2	43.8±1.8	-	49.6±12.8	43.6±3.3	-	-
<i>Survival since disease onset (836)</i>										
At 5 years	0.947	0.854	NS	0.971	0.982	NS	0.933	0.954	NS	0.009
At 10 years	0.860	0.741	NS	0.955	0.964	NS	0.933	0.936	NS	<0.001
At 20 years	0.621	0.555	NS	0.814	0.900	NS	0.933	0.812	NS	<0.001
At 30 years	0.345	0.296	NS	0.705	0.785	NS	0.622	0.812	NS	<0.001
Mean survival time since SSc diagnosis (yrs)	22.1±2.2	16.1±3.6	-	26.8±1.8	33.6±2.2	-	16.5±1.3	18.7±1.5	-	-
<i>Survival since disease diagnosis (862)</i>										
At 5 years	0.887	0.782	NS	0.939	0.955	NS	1	0.899	NS	0.017
At 10 years	0.751	0.469	0.032	0.914	0.897	NS	1	0.814	NS	<0.001
At 20 years	0.534	0.352	NS	0.783	0.731	NS	0.800	0.597	NS	<0.001
At 30 years	0.186	0.352	NS	0.652	0.536	NS	0.800	0.597	NS	<0.001

All data derived from 901 patients, except when indicated.

Values of categorical variables are expressed in number and percentage and those for continuous variables are presented as mean ± standard deviation.

ACA: anti-centromere antibody; ATA: anti-topoisomerase I antibody; dcSSc: diffuse cutaneous SSc; ILD: interstitial lung disease; lcSSc: limited cutaneous SSc; NS: not significant; PH: pulmonary hypertension; ssSSc: sine scleroderma SSc; SSc: systemic sclerosis; yrs: years.

cohorts, but also by the methodological differences such as the inclusion criteria or the laboratory techniques employed in each of them.

In terms of demographic characteristics and presenting SSc manifestations, there were no differences in patients with dcSSc and ssSSc regardless their immunological profile. In patients with lcSSc, those with ATA presented high prevalence of RP and shorter time from SSc onset to diagnosis (2.5 vs. 4 years; $p=0.012$). In addition, the prevalence of initial active and slow capillaroscopic patterns were similar among the six groups of SSc patients.

Considering cumulative organ manifestations, the most important finding of the present study is the higher prevalence of ILD and severe ILD defined as FVC <70% in patients with ATA with lower mean of FVC% predicted despite they presented with the same cutaneous subtype. This finding is maintained in all groups of serodiscordant patients. Conversely, pulmonary hypertension was more frequent in those patients

with ACA, although the difference was only statistically significant in the group of dcSSc. In the light of these results, antibody status seems to be more important in predicting pulmonary manifestations than skin status. These results are in accordance with previous observations from Canadian Scleroderma Research Group (10) and EUSTAR cohort (34) where the autoantibody profile seemed to associate stronger with demographics and visceral damage than the skin subgroup.

One of the strengths of the present study is the inclusion of patients with ssSSc. Demographic characteristics and organ involvement at the moment of diagnosis did not relate with serological status. On the contrary, some cumulative manifestations were significantly associated with the presence of ATA such as digital ulcers and severe ILD whereas telangiectasia was more frequent in ssSScACA patients.

In terms of survival, no differences were found among serodiscordant patients and their respective counterparts.

In other words, skin subtype would influence survival in more extent than the antibody status would. This in line with the classical studies in which diffuse subtype, usually associated with high prevalence and severity organ involvement and, therefore, burden of disease was related with higher mortality (26, 35). However, in a very recent study by Boonstra and colleagues (36), 22% (n=22/101) of ATA patients were classified as low-risk patients (*i.e.* those whose subgroup mortality was equal or lower than the cohort mortality rate), and 35% (54/153) of ACA patients were included in the high-risk group patients.

To the best of our knowledge, only few studies have specifically evaluated the organ involvement and survival of serodiscordant SSc patients. In one of them, Kranenburg *et al.* (11) compared the main characteristics of 58 patients with lcSScATA, 237 with lcSScATA negative, 78 with dcSScATA positive, and 87 patients with dcSScATA negative. Organ involvement at SSc diagno-

Serodiscordant SSc patients in a large Spanish cohort / N. Iniesta Aranda et al.

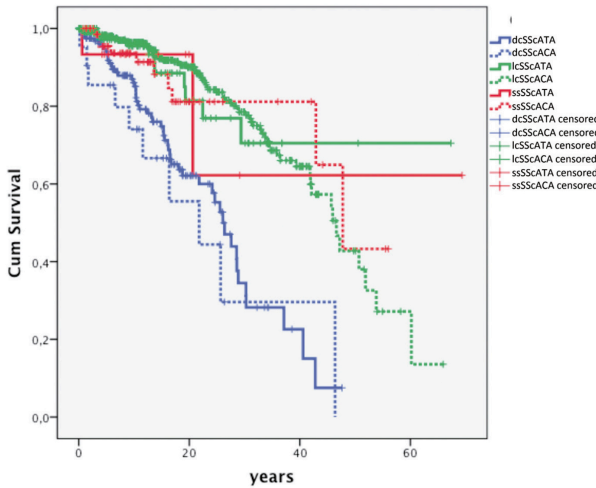


Fig. 1. Kaplan-Meier curves for patients with systemic sclerosis from disease onset according to cutaneous involvement and immunological profile.

Log-rank ratio p-value global (global) < 0.001
 Log-rank ratio p-value (dcSScATA versus dcSScACA) = 0.431
 Log-rank ratio p-value (lcSScATA versus lcSScACA) = 0.918
 Log-rank ratio p-value (ssSScATA versus ssSScACA) = 0.938
 Log-rank ratio p-value (dcSScATA versus lcSScATA versus ssSScATA) = 0.001
 Log-rank ratio p-value (dcSScACA versus lcSScACA versus ssSScACA) < 0.001

Patients at risk

	Years				
	0-5	5-10	10-20	20-30	30-40
Overall series	774	622	421	209	97
dcSScATA	153	117	74	28	9
dcSScACA	21	16	10	4	1
lcSScATA	76	59	39	17	7
lcSScACA	442	370	263	146	72
ssSScATA	14	10	5	3	1
ssSScACA	68	50	30	11	7

Abbreviations: ACA: anti-centromere antibody; ATA: anti-topoisomerase I antibody; dcSSc: diffuse cutaneous SSc; lcSSc: limited cutaneous SSc; sine scleroderma SSc; SSc: systemic sclerosis.

sis did not differ among the four subgroups. As cumulative manifestation, lcSScATA positive patients had a higher occurrence of ILD than those with lcSScATA negative. On the contrary, no differences were found in pulmonary hypertension, cardiac involvement or scleroderma renal crisis. Concerning survival, lcSScATA positive patients resembled those with lcSScATA negative. Of note, the authors did not describe in detail the antibody status of those patients ATA negative and they

did not include patients with ssSSc. In another study, Srivastava *et al.* (10) compared the prevalence and clinical manifestations between serodiscordant patients (dcSScACA and lcSScATA) with their counterparts (dcSScATA and lcSScACA). Similarly to our results, pulmonary hypertension was more prevalent in lcSScACA patients than in those with lcSScATA (13.7% versus 4.8%) and ILD was more frequent in lcSScATA patients than in those with lcSScACA (49.0% vs. 13.3%). In terms

of survival, the authors did not find difference between patients with lcSScACA and those with lcSScATA (log-rank $p=0.1290$) whereas dcSScATA patients exhibited worse survival compared to those with dcSScACA (log-rank $p=0.0313$). However, these two studies (10, 11) and the previous from Perera *et al.* (28) differed from the current study in the objective. While we took into account the cutaneous subtype and then compared SSc patients according to their antibody status, they considered first the serological status (ATA or ACA) and then analysed the role of cutaneous subtype. This may explain some differences among them and the present study. In addition, previous studies did not include patients with ssSSc.

In the present study, the percentage of patients classified initially as lcSSc who transitioned to dcSSc was very low (2%) without differences in ATA or ACA distribution among them. Perera *et al.* (28) found that 7% of lcSSc patients transitioned to dcSSc subtype but they only analysed SSc patients with ATA. In the Canadian Scleroderma Research Group (10), 14% of lcSSc patients were classified as dcSSc during follow-up, 29.3% of them were ATA positive and 9.2% were ATA negative ($p=0.001$). Of note, in the present study, 14% of patients with ssSSc changed to lcSSc, and the majority of them had ACA. In a multicenter study, 30 out of 57 ssSSc patients were reclassified as lcSSc within 1.9 years (13). Unfortunately, information about their immunological status was not reported. The main strengths of the present study include the fact that the six groups of patients were mutually exclusive from the cutaneous and immunological point of view. Of note, the prevalence of overlap with other non-specific autoantibodies were similar among the different groups of SSc patients regardless their cutaneous subtype and immunological profile. Therefore, the distinctive clinical profiles identified were directly related to each specific SSc-antibody. In addition, hospitals that participate in RESCLE have different levels and this ensures the inclusion of SSc patients with different degrees of

Serodiscordant SSc patients in a large Spanish cohort / N. Iniesta Aranda et al.

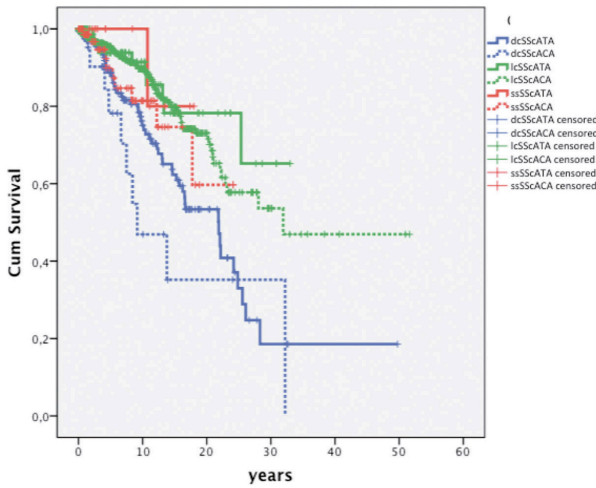


Fig. 2. Kaplan-Meier curves for patients with systemic sclerosis from disease diagnosis according to cutaneous involvement and immunological profile.

Log-rank ratio p-value global (global) <0.001
 Log-rank ratio p-value (dcSScATA versus dcSScACA) = 0.130
 Log-rank ratio p-value (lcSScATA vs lcSScACA) = 0.480
 Log-rank ratio p-value (ssSScATA vs ssSScACA) = 0.475
 Log-rank ratio p-value (dcSScATA versus lcSScATA versus ssSScATA) = 0.006
 Log-rank ratio p-value (dcSScACA versus lcSScACA versus ssSScACA) < 0.001

Patients at risk

	Years				
	0-5	5-10	10-20	20-30	30-40
Overall series	724	459	239	61	12
dcSScATA	147	93	51	16	2
dcSScACA	19	12	5	2	1
lcSScATA	72	44	24	7	2
lcSScACA	415	276	145	35	7
ssSScATA	11	6	3	0	0
ssSScACA	60	28	11	1	0

Abbreviations: ACA: anti-centromere antibody; ATA: anti-topoisomerase I antibody; dcSSc: diffuse cutaneous SSc; lcSSc: limited cutaneous SSc; sine scleroderma SSc; SSc: systemic sclerosis.

organ involvement and severity. In this sense, the data provided by RESCLE represent a real picture of these subgroups of SSc patients. Furthermore, the present study is the first to compare the clinical profile and survival of ssSSc patients according to their immunological profile. The main limitation is the low number of serodiscordant patients despite the large originating cohort. This may prevent finding differences between groups and may be the cause of the differences found

with previous studies. The present study does not have central laboratory and immunological studies were performed by each participating centre. To avoid false positive results, borderline results were considered as negative. Some clinical manifestations such as scleroderma renal crisis and neoplasia were underrepresented, giving difficult to achieve statistical significance. The effect of treatment on SSc patient survival has not been taken into account. We did not include in the analysis anti-

RNA polymerase III antibody (ARA). However, the rate of SSc patients with ARA positive in the RESCLE is very low (15) precluding specific analysis. Another potentially important bias is the influence of duration of disease before SSc diagnosis on the analysis. In fact, the disease duration at the enrollment visit was relatively high but similar to other cohorts and, importantly, without differences between SSc subtypes. Moreover, Kaplan-Meier survival curves were similar regardless of whether the onset of disease or the diagnosis of disease was considered. In the end and as a National registry of patients, the quality on the acquisition data relies on the leading physician. However, death and well-defined SSc-specific organ involvements are robust endpoints, increasing the external validity of our findings.

In conclusion, this study showed that the prevalence of SSc serodiscordant patients in RESCLE cohort is low and that antibody status may modulate some clinical manifestations of these subtypes of SSc patients. The management of patients with SSc should be guided by a combination of skin involvement and serology status. However, new biomarkers would be a helpful tool to explain the differences in these SSc subtypes (37). More studies on serodiscordant patients are warranted to confirm our results.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge all investigators who are part of the RESCLE Registry. We also thank the RESCLE Registry Coordinating Centre, S&H Medical Science Service, for their quality control data, logistic and administrative support and Prof. Salvador Ortiz, Universidad Autónoma de Madrid and Statistical Advisor S&H Medical Science Service for the statistical analysis of the data presented in this paper.

Affiliations

¹Department of Autoimmune Diseases, Institut Clinic de Medicina i Dermatologia, Hospital Clinic, Barcelona; ²Department of Internal Medicine, Corporación Sanitaria Universitaria Parc

Serodiscordant SSc patients in a large Spanish cohort / N. Iniesta Aranda et al.

Table IV. Prevalence of serodiscordant patients with SSc.

Author (year) (ref)	N	dcSScACA	lcSScATA
Walker (2007) EUSTAR cohort (5)	2373	3.4%	20.7%
Srivastava (2015) CSRG (10)	511	16.5%	9.4%
Wuttge (2015) (21)	55	0	7.2%
Horimoto (2015) (22)	38	0	5.2%
Nihtyanova (2014) (23)	398	0.3%	10.0%
Mierau (2011) GNSRR (9)	686	1.7%	20.6%
Joven (2010) (24)	118	5.1%	13.5%
Ferri (2002) (25)	755	11.3%	25.3%
Scussel-Lonzetti (2002) (26)	96	1.0%	16.7%
Kranenburg (2016) (11)	-	-	58/460 (12.6%)
Patterson (2015) (27)	-	5/135 (3.7%)	-
Perera (2007) (28)	-	-	27/212 (12.7%)
Meyer (2007) (29)	-	6/75 (8%)	-
Allcock (2004) (30)	-	2/18 (11.1%)	11/61 (18%)
Present study	901	2%	10%

CSRG: Canadian Scleroderma Research Group; EUSTAR: European Scleroderma Trials And Registry group; GNSRR: German Network for Systemic Scleroderma Registry.

Taulí, Sabadell, Barcelona; ³Unit of Autoimmune Diseases, Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona; ⁴Unit of Autoimmune Diseases, Department of Internal Medicine, Hospital Universitario de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona; ⁵Department of Internal Medicine, Hospital Clínico Universitario de Santiago, Santiago de Compostela, A Coruña; ⁶Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada; ⁷Department of Internal Medicine, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia; ⁸Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Mútua Terrassa, Barcelona; ⁹Unit of Autoimmune Diseases, Department of Internal Medicine, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza; ¹⁰Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo; ¹¹Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Cruces, Bizcaia, Barakaldo; ¹²Unit of Systemic Autoimmune Diseases, Department of Internal Medicine, Hospital Campus de la Salud, Complejo Universitario de Granada; ¹³Unit of Systemic Autoimmune Diseases, Department of Internal Medicine, Hospital de Cabueñes, Gijón, Asturias; ¹⁴Unit of Systemic Autoimmune Diseases, Department of Internal Medicine, Consorci Hospitalari de Vic, Vic, Barcelona; ¹⁵Department of Internal Medicine, Complejo Asistencial Universitario de Salamanca; ¹⁶De-

partment of Internal Medicine, Hospital Universitario Rey Juan Carlos, Móstoles, Madrid; ¹⁷Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Alcorcón, Madrid; ¹⁸Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba; ¹⁹Department of Internal Medicine, Hospital General San Jorge, Huesca; ²⁰Department of Internal Medicine, Xarxa Assistencial Universitària de Manresa, Barcelona; ²¹Department of Internal Medicine, Hospital de Sagunto, Sagunto, Valencia; ²²Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, Spain.

Competing interests

M. Rubio-Rivas has received consulting fees or honoraria (less than \$10,000 per year) from Actelion Pharmaceuticals. All other authors declared no competing interests.

Appendix

RESCLE Registry members

Callejas Moraga E, Carbonell C, Chamorro AJ, Colunga D, Espinosa G, Fernández de la Puebla RA, Fonollosa V, Freire M, González de Echávarri C, González García A, Gracia Tello B, Guillén del Castillo A, Iniesta N, Jiménez Pérez de Heredia I, Madroño AB, Marín Ballvé A, Ortego-Centeno N, Perales I, Pestaña M, Pla Salas X, Pons Martín del Campo I, Rodríguez Carballeira M, Rodríguez Pinto I, Rubio Rivas M, Ruiz Muñoz M, Segovia P,

Simeón CP, Tari EV, Todolí JA, Tolosa C, Trapiella L, Vargas Hitos JA.

References

- DENTON CP, KHANNA D: Systemic sclerosis. *Lancet* 2017; 390: 1685-99.
- ALLANORE Y, SIMMS R, DISTLER O *et al.*: Systemic sclerosis. *Nature Rev Dis Prim* 2015; 1: 15002.
- VILLALTA D, IMBASTARO T, DI GIOVANNI S *et al.*: Diagnostic accuracy and predictive value of extended autoantibody profile in systemic sclerosis. *Autoimmun Rev* 2012; 12: 114-20.
- LEROY EC, BLACK C, FLEISCHMAJER R *et al.*: Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15: 202-5.
- WALKER UA, TYNDALL A, CZIRJAK L *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: 754-63.
- SIMEÓN-AZNAAR CP, FONOLLOSA-PLÁ V, TOLOSA-VILELLA C *et al.*: Registry of the Spanish Network for Systemic Sclerosis: clinical pattern according to cutaneous subsets and immunological status. *Semin Arthritis Rheum* 2012; 41: 789-800.
- LEROY EC, MEDSGER TA: Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001; 28: 1573-6.
- POORMOGHIM H, LUCAS M, FERTIG N, MEDSGER TA JR.: Systemic sclerosis sine scleroderma: demographic, clinical and serologic features and survival in forty-eight patients. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 444-51.
- MIERAU R, MOINZADEH P, RIEMEKAESTEN G *et al.*: Frequency of disease-associated and other nuclear autoantibodies in patients of the German Network for Systemic Scleroderma: correlation with characteristic clinical features. *Arthritis Res Ther* 2011; 13: R172.
- SRIVASTAVA N, HUDSON M, TATIBOUET S, WANG M, BARON M, FRITZLER MJ, CANADIAN SCLERODERMA RESEARCH GROUP (CSRG): Thinking outside the box—The associations with cutaneous involvement and autoantibody status in systemic sclerosis are not always what we expect. *Semin Arthritis Res* 2015; 45: 184-9.
- KRANENBURG P, VAN DEN HOMBERGH WMT, KNAAPEN-HANS HKA, VAN DEN HOOGEN FJH, FRANSEN J, VONK MC: Survival and organ involvement in patients with limited cutaneous systemic sclerosis and antitopoisomerase-I antibodies: determined by skin subtype or auto-antibody subtype? A long-term follow-up study. *Rheumatology* 2016; 55: 2001-8.
- STEEN VD: The many faces of scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 2008; 34: 1-15.
- DIAB S, DOSTROVSKY N, HUDSON M, TATIBOUET S, FRITZLER MJ, BARON M, THE CANADIAN SCLERODERMA RESEARCH GROUP *et al.*: Systemic Sclerosis Sine Scleroderma: A multicenter study of 1417 subjects. *J Rheumatol* 2014; 41: 2179-85.
- VAN DEN HOOGEN F, KHANNA D, FRANSEN

Serodiscordant SSc patients in a large Spanish cohort / N. Iniesta Aranda et al.

- J et al.*: 2013 Classification Criteria for Systemic Sclerosis. An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Collaborative Initiative. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: 1747-55.
15. INIESTA-ARANDIA N, SIMEÓN-AZNAR CP, GUILLÉN DEL CASTILLO A *et al.*: Influence of antibody profile in clinical features and prognosis in a cohort of Spanish patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2017; 35 (Suppl. 106): S98-105.
 16. TRAPIELLA-MARTINEZ L, DIAZ-LOPEZ JB, CAMINAL-MONTERO L *et al.*: Very early and early systemic sclerosis in the Spanish scleroderma Registry (RESCLE) cohort. *Autoimmun Rev* 2017; 16: 796-802.
 17. PESTAÑA-FERNÁNDEZ M, RUBIO-RIVAS M, TOLOSA-VILELLA C *et al.*: Long-term efficacy and safety of monotherapy versus combination therapy in systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension: a retrospective cohort study from a Nationwide Spanish Scleroderma Registry (RESCLE). *J Rheumatol* 2019 Feb 15.
 18. SAEZ-COMET L, SIMEÓN-AZNAR CP, PEREZ-CONESA M *et al.*: Applying the ACR/EULAR Systemic Sclerosis Classification Criteria to the Spanish Scleroderma Registry Cohort. *J Rheumatol* 2015; 42: 2327-31.
 19. CLEMENTS P, LACHENBRUCH P, SIEBOLD J *et al.*: Inter and intraobserver variability of total skin thickness score (modified Rodnan TSS) in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1995; 22: 1281-5.
 20. DOMSIC RT, MEDSGER TA Jr: Disease subsets in clinical practice. In: VARGA J, DENTON C, WIGLEY F (Eds.) Scleroderma. From pathogenesis to comprehensive management. Springer 2012: 45-52.
 21. WUTTGE DM, CARLSEN AL, TEKU G *et al.*: Specific autoantibody profiles and disease subgroups correlate with circulating microRNA in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2015; 54: 2100-7.
 22. HORIMOTO AMC, PEREIRA DA COSTA I: Autoantibodies in systemic sclerosis and their clinical correlation in patients from a Mid-western region of Brazil. *Rev Bras Rheumatol* 2015; 55: 229-39.
 23. NIHTYANOVA SI, SCHREIBER BE, ONG VH *et al.*: Prediction of pulmonary complications and long-term survival in systemic sclerosis. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66: 1625-35.
 24. 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: 285-93.
 25. FERRI C, VALENTINI G, COZZI F *et al.*: Systemic sclerosis. Demographic, clinical, and serologic features and survival in 1,012 Italian patients. *Medicine* (Baltimore) 2002; 81: 139-53.
 26. SCUSSEL-LONZETTIL, JOYAL F, RAYNAULD JP *et al.*: Predicting mortality in systemic sclerosis: analysis of a cohort of 309 French Canadian patients with emphasis on features at diagnosis as predictive factors for survival. *Medicine* (Baltimore) 2002; 81: 154-67.
 27. PATTERSON KA, ROBERTS-THOMSON PJ, LESTER S *et al.*: Interpretation of an extended autoantibody profile in a well-characterized Australian systemic sclerosis (scleroderma) cohort using principal components analysis. *Arthritis Rheum* 2015; 12: 3234-44.
 28. PERERA A, FERTIG N, LUCAS M *et al.*: Clinical subsets, skin thickness progression rate, and serum antibody levels in systemic sclerosis patients with anti-topoisomerase I antibody. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2740-6.
 29. MEYER OC, FERTIG N, LUCAS M, SOMOGYI N, MEDSGER TA Jr: Disease subsets, antinuclear antibody profile, and clinical features in 127 French and 247 US adult patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2007; 34: 104-9.
 30. ALLCOCK RJ, FORREST I, CORRIS PA, CROOK PR, GRIFFITHS ID: A study of the prevalence of systemic sclerosis in Northeast England. *Rheumatology* 2004; 43: 596-602.
 31. POORMOGHIM H, LUCAS M, FERTIG N, MEDSGER TA Jr: Systemic sclerosis sine scleroderma. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 444-51.
 32. SIMEÓN-AZNAR CP, TOLOSA-VILELLA C, GABARRÓ-JULIA L *et al.*: Systemic sclerosis sine scleroderma and limited cutaneous systemic sclerosis: similarities and differences. *Clin Exp Rheumatol* 2014; 32 (Suppl. 86): S33-40.
 33. KUCHARZ EJ, KOPEĆ-MEDREK M: Systemic sclerosis sine scleroderma. *Adv Clin Exp Med* 2017; 26: 875-80.
 34. SOBANSKI V, GIOVANNELLI J, ALLANORE Y *et al.*: Phenotypes determined by cluster analysis and their survival in the prospective EUSTAR cohort of patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheumatol* 2019 Apr 10.
 35. TYNDALL AJ, BANNERT B, VONK M, AIRO P, COZZI F, CARREIRA PE: 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: 1809-15.
 36. BOONSTRA M, MERTENS BJA, BAKKER JA *et al.*: To what extent do autoantibodies help to identify high-risk patients in systemic sclerosis? *Clin Exp Rheumatol* 2018; 36 (Suppl. 113): S109-17.
 37. ORLANDI M, BARSOTTI S, LEPRI G *et al.*: One year in review 2018: systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2018; 36 (Suppl. 113): S3-23.

El objetivo del segundo artículo fue comparar las características clínicas y pronósticas de los pacientes con esclerodermia que denominamos serodiscordantes, es decir, aquellos en los que el fenotipo cutáneo no se corresponde con el anticuerpo más frecuente para cada uno de ellos, con los pacientes seroconcordantes o “clásicos”. Tradicionalmente, el fenotipo cutáneo difuso se ha relacionado con el anticuerpo antitopoisomerasa (ATA) y el limitado, con el anticentrómero (ACA). Además, los pacientes con el fenotipo sin esclerodermia presentan con mayor frecuencia el ACA. Estos serían los pacientes que denominamos seroconcordantes. En oposición a éstos se encuentran los pacientes serodiscordantes, que son pacientes con fenotipo cutáneo limitado o sin esclerodermia y ATA y aquellos con fenotipo difuso y ACA. Como objetivo secundario se analizó el porcentaje de pacientes que presentó transición en el subtipo cutáneo (de sin esclerodermia a limitada y de limitada a difusa) y se analizaron las características clínicas de estos pacientes.

Para ello se seleccionaron de la cohorte RESCLE aquellos pacientes que tuvieran registrado el subtipo cutáneo en la primera y la última visita y que tuvieran una única positividad antigénica (ACA o ATA). Se distribuyeron en 6 grupos mutuamente excluyentes en función del subtipo cutáneo y del anticuerpo presente. Se seleccionaron un total de 901 pacientes, 598 (66%) se clasificaron como subtipo limitado, 193 (21%) como difuso y 110 (12%) como sin esclerodermia. Ochenta y siete (10%) pacientes presentaron el fenotipo limitado con ATA, 21 (2%) el fenotipo difuso con ACA y 18 (2%) el fenotipo sin esclerodermia con ATA.

No se encontraron diferencias en relación con las manifestaciones iniciales, características demográficas o patrones capilaroscópicos en los pacientes con fenotipo cutáneo difuso o sin esclerodermia. En los pacientes con subtipo limitado, el tiempo desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico fue menor en los pacientes con ATA respecto de los que tenían ACA. Además, el fenómeno de Raynaud como síntoma inicial fue más frecuente en los pacientes con ACA respecto de los que tenían ATA (95% vs 79%, respectivamente), mientras que los *puffy fingers* fueron menos frecuentes que en los pacientes con ATA (3% vs 9%). La distribución de otros anticuerpos no específicos fue similar tanto por subtipo cutáneo como por presencia de anticuerpo.

Respecto a las manifestaciones acumuladas, en los pacientes con subtipo difuso, los pacientes con ACA tuvieron mayor afectación intersticial (84% vs 57%) y EPI grave (FVC<70%) (53% vs 14%) que los pacientes con ACA. En este subtipo cutáneo los pacientes con ACA presentaron más HAP aislada que los pacientes con ATA (15% vs 2%).

En los pacientes con subtipo limitado, la EPI (64% vs 29%) y la EPI grave (38% vs 12%) también fueron más frecuentes en los pacientes con ATA, mientras que las manifestaciones vasculares fueron más frecuentes en los pacientes con ACA, tanto las úlceras digitales (42% vs 29%), como las telangiectasias (68% vs 61%).

Los pacientes con ATA y subtipo sine esclerodermia presentaron más úlceras digitales (28% vs 10%) y EPI grave (40% vs 9%), mientras contraron diferencias entre los pacientes con fenotipo cutáneo limitado y ATA y los sin esclerodermia con ATA.

El 18% de los pacientes falleció a lo largo del seguimiento, sin que se encontraran diferencias significativas respecto a la mortalidad o las causas de muerte entre los seis subgrupos, a excepción de una mayor mortalidad por HAP en el grupo de fenotipo difuso y ACA respecto de los subtipos difuso con ATA (40% vs 2%). Tampoco se encontraron diferencias en las curvas de supervivencia entre los pacientes serodiscordantes y sus correspondientes seroconcordantes. En otras palabras, no se encontraron diferencias en la supervivencia entre pacientes con un mismo subtipo cutáneo con independencia del anticuerpo presente. Por tanto, se puede concluir que la extensión cutánea tiene mayor influencia sobre la supervivencia que el tipo de anticuerpo presente.

Once (2%) pacientes con subtipo cutáneo limitado progresaron a un subtipo difuso y la mayoría presentaban ATA (n=7). La media de tiempo de progresión fue similar en ambos grupos (ACA o ATA). No se observaron diferencias clínicas, inmunológicas o pronósticas entre los dos grupos. Dieciséis (14%) pacientes con el fenotipo inicial sin esclerodermia progresaron a limitada y la mayoría presentaba ACA (n=14). Tampoco se encontraron diferencias en los dos grupos a excepción de un mayor tiempo hasta la transición en los pacientes con ACA, que no resultó significativo.

En base a los resultados obtenidos podemos afirmar que la presencia de pacientes serodiscordantes es infrecuente en la cohorte RESCLE. Además, algunas manifestaciones como la EPI en los pacientes con ATA o la tendencia a la HAP en pacientes con ACA se predicen mejor por el estado serológico que por el subtipo cutáneo. Por el contrario, en nuestra cohorte, la supervivencia está más influenciada por el subtipo cutáneo que por el tipo de anticuerpo.

Tercer estudio:

JCR: Journal of Clinical Rheumatology

Anti-PM/Scl antibodies in systemic sclerosis: clinical associations in a multicentric Spanish cohort
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Anti-PM/Scl antibodies in systemic sclerosis: clinical associations in a multicentric Spanish cohort
Article Type:	Original Articles
Keywords:	Systemic sclerosis, scleroderma, anti-PM/Scl antibodies, antibodies, PM/Scl
Corresponding Author:	Gerard Espinosa, MD Hospital Clinic Barcelona, Catalunya SPAIN
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Hospital Clinic
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Nerea Iniesta Arandia
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Nerea Iniesta Arandia
	Gerard Espinosa, MD
	Alfredo Gullien del Castillo
	Carles Tolosa Vilella
	Dolores Colunga-Argüelles
	Cristina Gonzalez de Echevarría Perez de Heredia
	Gema M Lledó
	Luis Saez-Comet
	Norberto Ortego-Centeno
	Jose A Vargas-Hitos
	Manuel Rubio-Rivas
	Mayka Freire
	Juan Jose Rios-Blanco
	Monica Rodriguez-Carballeira
	Luis Trapiella-Martinez
	Vicent Fonollosa-Pla
	Carmen Pilar Simeon-Aznar
Order of Authors Secondary Information:	
Manuscript Region of Origin:	SPAIN
Abstract:	Objectives: To assess the clinical profile of patients with anti-PM/Scl (PM/Scl) antibodies in a cohort of Spanish patients with systemic sclerosis (SSc). Methods: From the Spanish Scleroderma Study Group database, we selected patients in whom PM/Scl antibodies had been tested. We compared demographic, clinical, laboratory, and survival data between patients with and without PM/Scl antibodies.

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

	<p>Results: Seventy-two out of 947 (7%) patients tested positive for PM/Scl antibodies. Patients with PM/Scl antibodies presented initially with more puffy fingers and arthralgias but less Raynaud’s phenomenon (RP). Regarding cumulative manifestations, myositis and arthritis were more prevalent in patients with PM/Scl antibodies, as well as pulmonary fibrosis. On the contrary, patients with PM/Scl antibodies had less HAP. No difference in terms of survival at 5 and 10 years was noticed between the two groups. Conclusions: In Spanish SSc patients, PM/Scl antibodies are associated with a distinct clinical profile. However, PM/Scl antibodies did not influence survival.</p>
<p>Suggested Reviewers:</p>	<p>Vincent . Sobanski, MD Consultant, Centre de Référence des Maladies Auto-immunes Systémiques Rares du Nord et Nord-Ouest de France (CeRAINO) vincent.sobanski@univ-lille.fr Dr. Sobanski is an expert on systemic sclerosis and he has published about the topic of the current manuscript</p> <p>Maaïke . Boonstra, MD Consultant, Leiden University Medical Centre, Leiden, The Netherlands m.boonstra@lumc.nl Dr. Boonstra is an expert on autoantibodies in patients with systemic autoimmune diseases.</p>
<p>Opposed Reviewers:</p>	

Cover Letter

Graciela S. Alarcón
Editor-in-chief
Journal of Clinical Rheumatology

Dear Editor,

Please find enclosed the manuscript entitled "Anti-PM/Scl antibodies in systemic sclerosis: clinical associations in a multicentric Spanish cohort". Please consider this manuscript for its possible publication in Journal of Clinical Rheumatology as an Original Article.

Anti-PM/Scl antibodies are non-specific autoantibodies found in 5-10% of patients with systemic sclerosis. Since they have not been routinely described in national or international cohorts published to date there are scarce data regarding the patients with positive anti-PM/Scl antibodies. In the current paper, we described the main clinical manifestations, laboratory features, and outcome of scleroderma patients and anti-PM/Scl antibodies positive and compared them with those patients without these antibodies.

This study has been performed on the frame of Spanish Scleroderma Study Group (RESCLE; Registro de ESCLerodermia, as Spanish nomenclature). Several studies have been published from the same group (PMID: 32194200, 31969223, 30770503, 30535994, 29931516, 29246416, 29214548, 28980912, 28980905, 28564618, 28229826, 27312381, 26472418, and 24646463).

All authors have read and approved submission of the manuscript, and the manuscript has not been published and is not being considered for publication elsewhere. There are no conflicts of interest to disclose.

Thank you for the opportunity to submit our work to your journal. Please do not hesitate to contact the corresponding author if any questions arise.

Sincerely yours,

Dr. Nerea Inieta,
Servei de Malalties Autoimmunes,
Hospital Clinic,
Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain.
Phone: +34 93 2275774.
Fax. +34 93 2271707.
E-mail: niniestaa@gmail.com

Main document

Anti-PM/Scl antibodies in systemic sclerosis: clinical associations in a multicentric Spanish cohort**Short running head: PM/Scl antibodies in scleroderma**

Nerea Iniesta Arandia MD¹, Gerard Espinosa MD PhD¹, Alfredo Guillén del Castillo MD PhD², Carles Tolosa-Vilella MD PhD³, Dolores Colunga-Argüelles MD⁴, Cristina González de Echávarri Pérez de Heredia MD⁵, Gema M Lledó MD¹, Luis Sáez Comet MD PhD⁶, Norberto Ortego-Centeno MD PhD⁷, José Antonio Vargas Hito MD PhD⁸, Manuel Rubio-Rivas MD PhD⁹, Mayka Freire MD PhD¹⁰, Juan José Ríos-Blanco MD PhD¹¹, Mónica Rodríguez-Carballeira MD PhD¹², Luis Trapiella-Martínez MD PhD¹³, Vicent Fonollosa-Pla MD PhD², Carmen Pilar Simeón-Aznar MD PhD², on behalf of RESCLE Investigators, Autoimmune Diseases Study Group (GEAS)*.

¹Department of Autoimmune Diseases, Institut Clinic de Medicina i Dermatologia, Hospital Clínic, Barcelona, Catalonia, Spain; ²Department of Internal Medicine, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Catalonia, Spain; ³Department of Internal Medicine, Corporación Sanitaria Universitaria Parc Taulí, Sabadell, Barcelona, Catalonia, Spain; ⁴Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Asturias, Spain; ⁵Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Cruces, Barakaldo, Vizcaya, Spain; ⁶Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain; ⁷Department of Internal Medicine, Hospital Campus de la Salud, Complejo Universitario de

Granada, Granada, Spain; ⁸Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, Spain; ⁹Department of Internal Medicine, Hospital Universitario de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain; ¹⁰Department of Internal Medicine, Hospital Clínico Universitario de Santiago, Santiago de Compostela, A Coruña, Spain; ¹¹Department of Internal Medicine, Hospital La Paz, Madrid, Spain; ¹²Department of Internal Medicine, Hospital Universitari Mutua de Terrassa, Terrassa, Barcelona, Catalonia, Spain; ¹³Department of Internal Medicine, Hospital de Cabueñes, Gijón, Asturias, Spain, on behalf of RESCLE Investigators, Autoimmune Diseases Study Group (GEAS)*

* A full list of RESCLE investigators is given in the appendix

Funding: This project was supported by an unrestricted educational scholarship granted by Laboratorios Actelion. Actelion had no access to the data of the RESCLE Registry database.

Corresponding author: Gerard Espinosa, MD, PhD. Department of Autoimmune Diseases, Hospital Clínic, Barcelona, Catalonia, Spain. Phone number: +34 93 2275774. Fax number: +34 93 2271707, e-mail: gespino@clinic.cat

Abstract

Objectives: To assess the clinical profile of patients with anti-PM/Scl (PM/Scl) antibodies in a cohort of Spanish patients with systemic sclerosis (SSc).

Methods: From the Spanish Scleroderma Study Group database, we selected patients in whom PM/Scl antibodies had been tested. We compared demographic, clinical, laboratory, and survival data between patients with and without PM/Scl antibodies.

Results: Seventy-two out of 947 (7%) patients tested positive for PM/Scl antibodies. Patients with PM/Scl antibodies presented initially with more puffy fingers and arthralgias but less Raynaud's phenomenon (RP). Regarding cumulative manifestations, myositis and arthritis were more prevalent in patients with PM/Scl antibodies, as well as pulmonary fibrosis. On the contrary, patients with PM/Scl antibodies had less HAP. No difference in terms of survival at 5 and 10 years was noticed between the two groups.

Conclusions: In Spanish SSc patients, PM/Scl antibodies are associated with a distinct clinical profile. However, PM/Scl antibodies did not influence survival.

Key words: Systemic sclerosis, scleroderma, anti-PM/Scl antibodies, antibodies, PM/Scl

Introduction

Systemic sclerosis (SSc) is an autoimmune disease characterized by a variable degree of fibrosis in skin and internal organs, dysfunction of the microvasculature and autoimmunity[1]. Classically, two main skin subtypes have been defined: limited SSc (lcSSc) and diffuse SSc (dcSSc)[2]. Severe organ manifestations such as digital ulcers, pulmonary hypertension (PH), interstitial lung disease (ILD), and scleroderma renal crisis (SRC) have traditionally been related to the cutaneous extension. Some authors, however, defend that skin involvement does not adequately predict organ complications and prognosis in SSc patients[3,4]. In this sense, the clinical presentation and cumulated manifestations would be mostly conditioned by the presence of any of the specific autoantibodies rather than the extent of the cutaneous involvement[3–5]. There have been described 7 types of SSc-specific antibodies, with anti-centromere (ACA), anti-topoisomerase (ATA) and anti-RNA-polymerase 3 (ARA) being the most prevalent, conferring a distinctive clinical expression [6]. Moreover, autoantibodies have been recently included in the 2013 ACR/EULAR classificatory criteria for systemic sclerosis[7].

Anti-PM/Scl (PM/Scl) antibodies, on the contrary, are SSc-associated antibodies but are not specific to SSc. They were discovered by Wolfe et al in 1977 in a group of patients with polymyositis[8]. Later, Reichlin and colleagues proposed to name this antigen PM/Scl since it appeared almost universally in polymyositis (PM) and scleroderma-overlap syndrome [9]. The PM/Scl antibodies have been described in patients with overlap syndromes with SSc and dermatomyositis (DM) or PM, but also in DM or PM alone, and even in SSc without myositis features [10–12]. The true prevalence of PM/Scl antibodies in SSc patients is

unknown, ranging from 2.5% to 12.5%[6,13]. Due to the low prevalence of these antibodies, the relationship with clinical features have been derived from small group of patients, however, an association with muscular involvement [6,11–14], pulmonary fibrosis[14–16], calcinosis [11-12] and a relatively benign prognosis[15,17,18] have been described.

The aim of this study was to assess the prevalence of PM/Scl antibodies in SSc patients, and to identify the demographic, clinical and outcome in a large multi-centered Spanish cohort.

Patients and Methods

Patients: The Spanish Scleroderma Study Group or RESCLE (*Registro de ESCLerodermia*, as Spanish nomenclature) was created in 2006 by the Spanish Society of Internal Medicine with the aim of providing a large series of patients with SSc[5,19]. Briefly, RESCLE is a multicenter Spanish registry formed by centres with extensive experience in the management of patients with SSc as previously described[5]. To avoid excluding patients with clear diagnosis of SSc who did not fulfill the American College of Rheumatology (ACR) preliminary classification criteria[20], LeRoy and Medsger classification criteria were also considered [21].

We selected those patients in which PM/Scl antibodies were tested. Demographic, clinical, immunological and capillaroscopic data encompassing 90 variables were collected according to a standard protocol and then entered into a SPSS database. Definitions of clinical variables are included in the available on-line appendix 1. All participating centres obtained ethics committee approval.

Immunological features: Antinuclear antibodies (ANA) were identified by indirect immunofluorescence (IIF) assay using Hep-2 cell lines or by IIF using triple tissue cryostat section (liver-stomach-kidney). The ACA and antibodies to extractable nuclear antigens (SSA/Ro, SSB/La, Sm, RNP, ATA) and RNA-pol III were also determined. PM/Scl antibodies were determined using ELISA, immunoblot kit or fluoroenzymeimmuno assay kit. Manufacturer-specified cut-off points were used to define both antibodies as present or absent in each centre. Borderline results were considered as negative.

Statistical analysis

Results from continuous variables are presented as mean \pm standard deviation (SD) and categorical data as percentages. A cross-sectional analysis of the PM/Scl antibodies was performed based on last follow-up. Comparisons were performed between patients with and without PM/Scl antibodies.

For statistical evaluation, a contingency table test was used (exact Fisher's test) to identify significant differences or associations among the groups for qualitative variables and t-test was used for the quantitative ones. Significance was considered whenever p value was under 0.05. Logistic regressions were estimated to evaluate multiple comparisons including variables with a p value in univariate analysis <0.1 and tested in more than 75% of patients. Survival curves were calculated using the Kaplan-Meier method and log-rank ratio was used to identify differences. All statistical analysis was performed with SPSS 18.0 for Windows (SPSS, Chicago, IL, USA).

Results

Characteristics of the general series:

Nine-hundred-and forty-seven patients were tested for PM/Scl antibodies (52,3%). Among the patients tested for PM/Scl antibodies, the dcSSc subtype was more frequent (24% versus 19%; $p=0.003$), they were younger at disease onset (44.4 ± 16.1 years versus 47.5 ± 16.2 years; $p<0.001$) and at SSc diagnosis (50.2 ± 15.3 years versus 54.2 ± 15.6 years; $p<0.001$) and had more frequently digital ulcers (43% versus 36%, $p=0.003$), arthritis (24% versus 18%, $p=0.008$), myositis (19% versus 8%; $p<0.001$) and ILD (46% versus 38%; $p=0.002$) than those without PM/Scl antibodies determination.

Taking into account the general series, there was a female predominance and the lcSSc was the most common skin subtype. Table 1 summarizes the demographic characteristics, and clinical features.

Clinical associations with PM/Scl antibodies:

Seventy-two out of 947 SSc patients (7,6%) were positive for PM/Scl antibodies. Table 2 summarises the demographic characteristics, the initial presentation and cumulative manifestations.

Time from disease onset to fulfilment of SSc classification criteria was significantly lower in patients with PM/Scl antibodies (3.2 ± 4.5 years versus 6.1 ± 9.5 years; $p<0.001$). There was no difference in terms of distribution of skin subtype between PM/Scl antibodies positive and negative patients nor we found differences in the demographic characteristics. On the contrary, PM/Scl antibodies patients presented more with puffy fingers (11% versus 2%; $p=0.002$) and arthralgias (11% versus 4%; $p=0.03$) but less RP (65% versus 82%, $p=0.002$) as

initial manifestations. Regarding cumulative manifestations, myositis (51% versus 15%; $p<0.001$) and arthritis (43% versus 22%; $p=0.001$) were more frequent in PM/Scl antibodies positive patients. Likewise, interstitial pulmonary disease was more prevalent in patients with PM/Scl antibodies (60% versus 45%, $p=0.014$), with lower FVC ($77,4\% \pm 23,1\%$ versus $85,8 \pm 23,1$; $p=0.006$) and more severe ILD as assessed by forced vital capacity (FVC) $<70\%$ (41% versus 24%; $p=0.004$). On the contrary, pulmonary hypertension tended to be less prevalent in the PM/Scl antibodies group (15% versus 28%; $p=0.052$). Regarding radiologic features, ground-glass pattern was more frequently noted in the PM/Scl antibodies group. Although the mean systolic PAP was higher in patients with PM/Scl antibodies ($38,8 \pm 13,7$ mmHg versus $33,5 \pm 15,2$ mmHg; $p=0.009$) (Table 2), there was no difference in mean PAP as measured by right-sided heart catheterization.

We also found other SSc-specific autoantibodies in PM/Scl antibodies patients (Table 2). Interestingly, a negative association with ACA and ATA was described (4.5% versus 44%, $p<0.001$, and 7.4% versus 19%, $p=0.02$, respectively).

In 64 patients, PM/Scl was the only positive antigen specificity. This subset of patients maintained similar characteristics considering presenting and cumulative manifestations. Of note, puffy fingers (12% versus 2.3%; $p<0.001$) and arthralgias (12% versus 4.2%; $p=0.015$) were more frequent as the presenting manifestation of SSc whereas RP was significantly less frequent (60% versus 82%; $p<0.001$). Of note, the prevalence of arthritis and myositis was significantly higher as cumulative SSc manifestation (48% versus 22%; $p<0.001$) and (41% versus 8%; $p<0.001$), respectively.

Multivariate analysis confirmed an independent association of arthritis (OR 2.04; 95% CI, 1.06-3.90; $p=0.032$), and myositis (OR 3.03; 95% CI, 1.58-5.8; $p<0.001$) with antibodies to PM/Scl, respectively, as well as a negative association with the presence of ATA (OR 0.28; 95% CI, 0.11-0.75, $p=0.011$) and ACA (OR 0.12; 95% CI, 0.04-0.40; $p<0.001$).

Death rate was similar in patients with and without PM/Scl antibodies (18% versus 17%; $p=0.871$)(Table 3). Considering the causes of death, non-SSc related deaths were more frequent than SSc-related deaths, without significant differences among PM/Scl antibodies positive and negative groups. Neither we found differences with respect to SSc-related deaths. Moreover, from fulfilment of classification criteria, the 5- and 10-years survival rate of patients with PM/Scl antibodies was 91% and 82% respectively, without differences with those without PM/Scl antibodies (93% and 85%, respectively). We did not detect differences when we performed sensitivity analyses using Kaplan-Meier curves considering disease onset regardless the initial symptom (RP and non-Raynaud's symptom) (data not shown). We found the same results in mortality rate and causes of death when we compared patients with isolated PM/Scl antibodies with those with other SSc specific antibodies (data not shown).

Discussion:

In this cross-sectional analysis on a large number of patients with SSc included at RESCLE, the prevalence of PM/Scl antibodies was 7%. Puffy fingers and arthralgias were more frequent as the presenting SSc manifestation in patients with PM/Scl antibodies and musculoskeletal manifestations, namely myositis and arthritis were more frequent during follow-up. The presence of PM/Scl antibodies was not associated with a shortened survival compared to patients without these autoantibodies.

The PM/Scl antibodies are a heterogeneous group of antibodies directed against the nuclear PM/Scl macromolecular complex. In 1999 this complex was shown to be the human counterpart of the yeast exosome, involved in RNA degradation and processing. According to their molecular weights, the two main autoantigenic protein components are PM/Scl-75 and PM/Scl-100 [22–24], although many other exosome proteins have also been proved to be target antigens[25]. Contrary to previous belief [26], the PM/Scl-75 antigen has been shown to be PM/Scl main antigen in SSc [13,27]. They have been generally described in patients with the overlap syndrome of polymyositis and in a small proportion of SSc patients [6,13,15–18]. The prevalence of PM/Scl antibodies in our cohort is similar to previously published studies in which frequencies between 2.5% and 12.5% [6,13] were described in SSc patients. Unlike previous published data we did not find a correlation between the presence of PM/Scl antibodies and lcSS [15,17,28–30]. Only one study to date has found an association of dcSSc and PM/Scl-75 antibody [13], and in others, no association with skin subtypes has been defined [16,30]. In accordance with Hanke et al[13], patients with PM/Scl antibodies had more frequently myositis and, although not

statistically relevant, they tended to have less PH. Conversely, we did not find any significant association between PM/Scl antibodies and younger age at diagnosis as did other authors[6,15,30]. Interestingly, the mean time between disease onset and disease diagnosis was significantly lower in patients with PM/Scl antibodies. A possible explanation for this finding may be the high prevalence of myositis, which is a very obvious clinical manifestation. From the immunological point of view, we confirmed a negative association with ACA and ATA. Although anti-PM/Scl antibodies are SSc-associated and not SSc specific antibodies, it is largely known a mutually exclusive nature of SSc antibodies. It is possible that ethnic variations among populations or non-specific reactivity to PM/Scl account for these results.

Survival in patients with PM/Scl antibodies exceeded 80% at 5 and 10 years and was not different to the SSc comparison group. Similar cumulative survival rates have been described in PM/Scl antibodies patients by other authors[13,32].

In a review of the most relevant studies on PM/Scl antibodies (Table 4) the most frequent clinical manifestations associated with the presence of these antibodies were calcinosis, myositis and ILD. However, most of these studies were performed determining PM/Scl antibodies in coexistence with other SSc-specific antibodies, which could account for the presence of overlapping manifestations. Another explanation for this diversity would be the different detection method employed (Supplementary Table 1). While older studies were performed using anti-PM/Scl antibodies, most recent studies employed an ELISA based on a synthetic peptide, PM1-Alfa, the major epitope of PM/Scl-100. Although proven to be more sensitive than assays employing recombinant PM/Scl-75 and Pm/Scl-100 for the detection

of PM/Scl antibodies[26], this finding could be more representative for PM/Scl-overlap syndrome patients[26,31]. Moreover, since most ELISA and line immune-assays (LIA) are based on PM/Scl-100 as antigen source, reactivity to anti-PM/Scl-75 can be missed, as is the case in dcSSc patients[13]. In view of these findings, some authors advocate for the detection of both antigen specificities when analysing PM/Scl antibodies.

As elegantly proposed by Steen[3], SSc could be considered as 7 distinct entities because features of patients with SSc differ depending on their serology. In fact, some national[5] and international registries[4,33] of SSc patients have demonstrated that antibody status contributed to organ complications in more extent than the cutaneous subtype does[34,35]. When dealing with low-prevalence antibodies large well-phenotyped cohorts are needed [30].

Strength of our study includes the large number of patients derived from the same geographical location. The main limitation of our study is the low determination rate of these antibodies, which was not uniformly determined in all SSc patients, suggesting that only patients with a specific clinical profile would be tested for PM/Scl antibodies. Although in most patients (89%) the PM/Scl antibodies were the only positive antigen specificity, we cannot rule out that the coexistence with other specificities would influence some clinical associations. Moreover, the laboratory techniques to determine these antibodies were not centralized. In spite of these limitations, our study represents a real-life picture of SSc patients with PM/Scl antibodies.

In conclusion, our study demonstrated a similar prevalence of PM/Scl antibodies in Spanish SSc patients compared with other SSc patients from other countries and showed an association with a distinct clinical profile without influencing survival.

Acknowledgments

We gratefully acknowledge all investigators who form part of the RESCLE Registry. This project was possible thanks to an educational unrestricted scholarship granted by Laboratorios Actelion. We also thank the RESCLE Registry Coordinating Center (S&H Medical Science Service) for its quality control data, logistic and administrative support and Prof. Salvador Ortiz, Universidad Autónoma de Madrid and Statistical Advisor S&H Medical Science Service, for the statistical analysis of the data presented in this paper.

Conflict of interest statement

The authors have no conflicts of interest to disclose.

Appendix: RESCLE Registry members:

Callejas Moraga E, Carbonell C, Chamorro AJ, Colunga D, Espinosa G, Fernández de la Puebla RA, Fonollosa V, Freire M, González de Echávarri C, González García A, Gracia Tello B, Guillén del Castillo A, Iniesta N, Jiménez Pérez de Heredia I, Madroñero AB, Marín Ballvé A, Ortego-Centeno N, Perales I, Pestaña M, Pla Salas X, Pons Martín del Campo I, Rodríguez Carballeira M, Rodríguez Pinto I, Rubio Rivas M, Ruiz Muñoz M, Segovia P, Simeón CP, Tarí EV, Todolí JA, Tolosa C, Trapiella L, Vargas Hitos JA

References

- [1] Gabrielli A, Avvedimento E V, Krieg T. Scleroderma. *N Engl J Med* 2009;360:1989–2003.
- [2] Denton CP, Khanna D. Seminar Systemic sclerosis. *Lancet* 2017;6736:1–15.
doi:10.1016/S0140-6736(17)30933-9.1016/S0140-6736(17)30933-9.
- [3] Steen VD. The many faces of scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 2008;34:1–15.
- [4] 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;66:754–63.
- [5] Simeón-Aznar CP, Fonollosa-Plá V, Tolosa-Vilella C, Espinosa-Garriga G, Ramos-Casals M, Campillo-Grau M, et al. Registry of the Spanish Network for Systemic Sclerosis: Clinical Pattern According to Cutaneous Subsets and Immunological Status. *Semin Arthritis Rheum* 2012;41:789–800.
doi:10.1016/j.semarthrit.2011.10.004.1016/j.semarthrit.2011.10.004.
- [6] Steen VD. Autoantibodies in Systemic Sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005;35:35–42. doi:10.1016/j.semarthrit.2005.03.005.1016/j.semarthrit.2005.03.005.
- [7] Van Den Hoogen, F., Khanna D., Franzen J. et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2013;72:1747–1755.
- [8] Wolfe JF, Adelstein E, Sharp GC. Antinuclear antibody with distinct specificity for Find the latest version: Concise Antinuclear Antibody with Distinct Specificity for

- Polymyositis. *J Clin Invest* 1977;59:176–8.
- [9] Reichlin M, Madisson, P. J., Targoff I, Bunch T, Arnett F, Sharp, G., Treadwell, E., Tan WM. Antibodies to a Nuclear / Nucleolar Antigen In Patients with Polymyositis Overlap Syndromes. *J Clin Immunol* 1984;4.
- [10] Cepeda EJ RJ. Autoantibodies in systemic sclerosis and fibrosing syndromes: clinical indications and relevance. *Curr Opin Rheumatol* 2004;16:723–32.
- [11] Raijmakers R, Renz M, Wiemann C, Egberts WV, Seelig HP, van Venrooij WJ PG. PM-ScI-75 is the main autoantigen in patients with the polymyositis/scleroderma overlap syndrome. *Arthritis Rheum* 2004;50:565–9.
- [12] 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;4:40–4.
- [13] Hanke K, Brückner CS, Dähnrich C, Huscher D, Komorowski L, Meyer W, et al. Antibodies against PM/ScI-75 and PM/ScI-100 are independent markers for different subsets of systemic sclerosis patients. *Arthritis Res Ther* 2009;11:R22.
doi:10.1186/ar261410.1186/ar2614.
- [14] Ranque B, Bérezné A, Le-Guern V, Pagnoux C, Allanore Y, Launay D, Hachulla E, Authier FJ, Gherardi R, Kahan A, Cabane J, Guillemin L ML. Myopathies related to systemic sclerosis: a case-control study of associated clinical and immunological features. *Scand J Rheumatol* 2010;39:498–505.
- [15] Koschik II RW, Fertig N, Lucas MR, Domsic RT, Medsger TA. Anti-PM-scl antibody in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2012;30:S12–6.

- [16] Marguerie C, Bunn CC, Copier J, Bernstein R, Gilroy J, Black CM, et al. The clinical and immunogenetic features of patients with autoantibodies to the nucleolar antigen PM-Scl. *Med* 1992;71:327–36.
- [17] Oddis C, Okano Y, Rudert W, Trucco M, Duquesnoy R, Medsger T. Serum autoantibody to the nuclear antigen PM-Scl. Clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum* 1992;35:1211–7.
- [18] Vanderghyest F, Ocmant A, Sordet C, Humbel RL, Goetz J, Roufosse F, et al. Anti-PM/Scl antibodies in connective tissue disease: Clinical and biological assessment of 14 patients. *Clin Exp Rheumatol* 2006;24:129–33.
- [19] Alba MA, Velasco C, Simeón CP, Fonollosa V, Trapiella L, Egurbide MV, et al. Early-versus Late-Onset Systemic Sclerosis: Differences in Clinical Presentation and Outcome in 1037 Patients. *Med* 2014;93:73–81.
doi:10.1097/MD.0000000000001810.1097/MD.000000000000018.
- [20] 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;23:581–90.
- [21] LeRoy EC, Medsger TA. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001;28:1573–6.
- [22] Alderuccio F, Chan EKL, Tan EM. Molecular characterization of an autoantigen of PM-Scl in the polymyositis/scleroderma overlap syndrome: A unique and complete human cDNA encoding an apparent 75-kD acidic protein of the nucleolar complex. *J Exp Med* 1991;173:941–52.

- [23] Ge Q, Frank MB, O'Brien C, Targoff IN. Cloning of a complementary DNA coding for the 100-kD antigenic protein of the PM-Scl autoantigen. *J Clin Invest* 1992;90:559–70.
- [24] Gelpi C, Algueró A, Angeles Martinez M, Vidal S, Juarez C, Rodriguez-Sanchez JL, et al. Identification of protein components reactive with anti-PM/Scl autoantibodies. *Clin Exp Immunol* 1990;81:59–64.
- [25] Brouwer R, Egberts WTMV, Hengstman GJD, Raijmakers R, Van Engelen BGM, Seelig HP, et al. Autoantibodies directed to novel components of the PM/Scl complex, the human exosome. *Arthritis Res* 2002;4:134–8. doi:10.1186/ar38910.1186/ar389.
- [26] Mahler M, Raijmakers R, Dährnich C, Blüthner M, Fritzler MJ. Clinical evaluation of autoantibodies to a novel PM/Scl peptide antigen. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R704–713.
- [27] Raijmakers R, Egberts W V, Van Venrooij WJ, Pruijn GJM. The association of the human PM/Scl-75 autoantigen with the exosome is dependent on a newly identified N terminus. *J Biol Chem* 2003;278:30698–704.
doi:10.1074/jbc.M30248820010.1074/jbc.M302488200.
- [28] Wodkowski M, Hudson M, Proudman S, Walker J, Stevens W, Nikpour M, et al. Clinical correlates of monospecific anti-PM75 and anti-PM100 antibodies in a tri-nation cohort of 1574 systemic sclerosis subjects. *Autoimmunity* 2015;48:542–51.
doi:10.3109/08916934.2015.107723110.3109/08916934.2015.1077231.
- [29] Mierau R, Moinzadeh P, Riemekasten G, Melchers I, Meurer M, Reichenberger F, et al. Frequency of disease-associated and other nuclear autoantibodies in patients of

- the German Network for Systemic Scleroderma: correlation with characteristic clinical features. *Arthritis Res Ther* 2011;13:R172.
doi:10.1186/ar349510.1186/ar3495.
- [30] D'Aoust J, Hudson M, Tatibouet S, Wick J, Mahler M, Baron M, et al. Clinical and serologic correlates of anti-pm/scl antibodies in systemic sclerosis: A multicenter study of 763 patients. *Arthritis Rheumatol* 2014;66:1608–15.
doi:10.1002/art.3842810.1002/art.38428.
- [31] Mahler M, Fritzler MJ. PM1-Alpha ELISA: The assay of choice for the detection of anti-PM/Scl autoantibodies? *Autoimmun Rev* 2009;8:373–8.
doi:10.1016/j.autrev.2008.12.00110.1016/j.autrev.2008.12.001.
- [32] Nihtyanova SI, Denton CP. Autoantibodies as predictive tools in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6:112–6.
- [33] Meyer O, De Chaisemartin L, Nicaise-Roland P, Cabane J, Tubach F, Dieude P, et al. Anti-RNA polymerase III antibody prevalence and associated clinical manifestations in a large series of French patients with systemic sclerosis: A cross-sectional study. *J Rheumatol* 2010;37:125–30.
- [34] Walker U a, Tyndall A, Czirájk L, Denton CP, Farge-Bancel D, Kowal-Bielecka O, et al. Geographical variation of disease manifestations in systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) group database. *Ann Rheum Dis* 2009;68:856–62. doi:10.1136/ard.2006.06290110.1136/ard.2006.062901.
- [35] Simeón-Aznar CP, Fonollosa-Plá V, Tolosa-Vilella C, Espinosa-Garriga G, Ramos-Casals M, Campillo-Grau M, et al. Registry of the Spanish Network for Systemic Sclerosis:

Clinical Pattern According to Cutaneous Subsets and Immunological Status. Semin
Arthritis Rheum 2012;41:789–800.

Table 1

Table 1: Demographic, clinical and immunologic characteristics of the 1797 patients with systemic sclerosis.

Characteristic	N	No. (%)
Sex, male/female (%)	1797	202/1595 (7/55)
Age at disease onset, mean±SD, (years)	1677	45.9 ± 16.2
Age at diagnosis, mean±SD, (years)	1716	52.1 ± 15.5
Time SSc onset to SSc diagnosis, mean ± SD, (years)	1657	6.2 ± 9.4
Death	1797	330 (18)
Systemic sclerosis-related	310	157 (51)
Type of scleroderma		
Limited cutaneous systemic sclerosis	1778	1063 (60)
Diffuse cutaneous systemic sclerosis	1778	384 (22)
SSc sine scleroderma	1778	199 (11)
Pre-scleroderma	1778	125 (7.0)
First manifestation		
Raynaud´s phenomenon	1722	1421 (83)
Arthralgias	1722	96 (5.6)
Cumulative clinical manifestations		
<i>Peripheral vascular manifestations</i>		
Raynaud´s phenomenon	1780	1700 (96)
Telangiectasias	1778	1045 (59)
Digital ulcers	1786	704 (39)
<i>Osteomuscular manifestations</i>		
Calcinosis	1780	378 (21)
Arthritis	1236	261 (21)
Myositis	1237	166 (13)
<i>Digestive tract involvement</i>		
Esophagus	1240	1054 (85)
<i>Lung involvement</i>		
Interstitial lung disease	1778	749 (42)
Pulmonary hypertension	1407	353 (25)
<i>Heart involvement</i>		
Conduction alteration	907	196 (22)
Ischemia	909	119 (13)
Pericarditis	906	77 (8.5)
<i>Renal involvement</i>		
Scleroderma renal crisis	920	42 (4.6)
Immunologic features		
Antinuclear antibodies	1789	1659 (93)
Anti-topoisomerase I antibody	1602	332 (21)
Anticentromere antibody	1603	759 (47)
Anti-RNA polymerase III antibody	336	41 (12)
Anti-PMScl antibody	947	72 (7.6)
ACR/EULAR	1526	1425 (93)
Survival 5 years	1715	0.914
Survival 10 years	1715	0.820

All data derived from 1797 patients except when indicated.

Table 2

Table 2: Demographic characteristics, clinical manifestations and serologic profiles according to PM/Scl antibody status.

	N	PM/Scl negative (n=875)	PM/Scl positive (n=72)	P
Type of scleroderma				
Limited cutaneous systemic sclerosis	936	498 (57)	37 (54)	0,613
Diffuse cutaneous systemic sclerosis	936	211 (24)	18 (26)	0,771
SSc sine scleroderma	936	98 (11)	9 (13)	0,693
Pre-scleroderma	936	55 (6.3)	4 (5.8)	1,000
Sex (female, %)	947	773 (88)	59 (82)	0,131
Age at disease onset, mean±SD (years)	886	44,5±16,1	43,3±16,5	0,567
Age at diagnosis, mean±SD (years)	910	50,5±15,2	47,0±16,1	0,071
Time from symptoms to diagnosis	878	6,1±9,5	3,2±4,5	<0,001
ACR criteria 2013	825	716 (94)	54 (90)	0,279
First manifestation				
Raynaud's phenomenon	899	684 (82)	43 (65)	0,002
Puffy fingers	899	19 (2.3)	7 (11)	0,002
Arthralgia	899	35 (4.2)	7 (11)	0,029
Cumulative manifestations				
<i>Peripheral vascular manifestations</i>				
Raynaud's phenomenon	941	834 (96)	63 (93)	0,240
Telangiectasia	941	539 (62)	35 (52)	0,152
Digital ulcers	944	378 (43)	26 (37)	0,380
<i>Osteomuscular</i>				
Calcinosis	942	195 (22)	20 (29)	0,179
Arthritis	640	130 (22)	23 (43)	0,001
Myositis	643	90 (15)	29 (51)	<0,001
<i>Digestive involvement</i>				
Esophagus	668	548 (87)	31 (89)	1,000
<i>Lung involvement</i>				
Interstitial lung disease	939	386 (45)	43 (60)	0,014
Forced vital capacity (%) (mean±SD)	837	85,8±23,1	77,4±23,1	0,006
Forced vital capacity <70%	837	184 (24)	26 (41)	0,004
Pulmonary arterial hypertension	776	204 (28)	8 (15)	0,052
Pulmonary arterial pressure (by US)	607	34,6±17,3	29,4±8,5	0,009
Pulmonary arterial pressure (by RSHC)	117	33,5±15,2	38,8±13,7	0,447
Ground-glass pattern	589	184 (34)	31(61)	<0,001
Reticular pattern	624	170 (30)	18 (35)	0,528
Honeycombing	556	37 (7.3)	3 (6)	1,000
<i>Heart involvement</i>				
Conduction alteration	451	97 (23)	8 (32)	0,329
Ischemia	451	61 (14)	5 (21)	0,373
LVEF<50	789	18 (2.5)	2 (3.6)	0,647
LVDD	602	201 (36)	20 (42)	0,533
<i>Renal involvement</i>				
Scleroderma renal crisis	449	19 (4.5)	2 (8.7)	0,293
Neoplasia	937	90 (10)	9 (13)	0,542
<i>Nail-fold capillaroscopy pattern</i>				
Active	758	219 (31)	17(31)	1,000
Slow	758	378 (54)	29(54)	1,000
Immunologic features				
Antinuclear antibodies	946	817 (93)	69 (96)	0,615
Anti-topoisomerase I antibody	890	154 (19)	5 (7.4)	0,020
Anti-centromere antibody	893	360 (44)	3 (4.5)	<0,001
Anti-RNA-polymerase III antibody	285	36 (14)	0 (0.00)	0,054
Anti-RNP	947	149 (17%)	13 (18%)	0,871
Anti-Mi2	149	72 (52%)	5 (45%)	0,760

All data derived from 947 patients except when indicated; percentages in (%).

Values of categorical variables are expressed as number and percentage and those for continuous variables are presented as mean ± standard deviation. Abbreviations: ACR: American College of Rheumatism; LVDD: Left ventricular diastolic dysfunction; LVEF: Left ventricular ejection fraction; US: Doppler ultrasound; RSHC: right-sided heart catheterization

Table 3

Table 3: Death rate, causes of death, and survival rates of patients with SSc according to their immunological profile.

Values are the number and percentages.

	PM/ScI negative (n=875)	PM/ScI positive (n=72)	P
Death	149 (17%)	13 (18%)	0.871
SSc-related causes of death	60 (40%)	5 (38%)	1.000
ILD	18 (12%)	2 (15%)	0.664
PH	24 (16%)	1 (7.7%)	0.694
ILD and PH	14 (9.4%)	0 (0.00%)	0.606
Scleroderma renal crisis	4 (2.7%)	2 (15%)	0.074
Non-SSc related	89 (60%)	8 (62%)	1.000
Neoplasia	10 (6.7%)	3 (23%)	0.072
Ischemic cardiopathy	3 (2.0%)	0 (0.00%)	1.000
Stroke	1 (0.67%)	0 (0.00%)	1.000
Chronic renal failure	2 (1.3%)	0 (0.00%)	1.000
COPD	1 (0.67%)	0 (0.00%)	1.000
Sepsis	14 (9.4%)	2 (15%)	0.620
Pulmonary embolism	2 (1.3%)	0 (0.00%)	1.000
Arrhythmia	2 (1.3%)	1 (7.7%)	0.223
Others	43 (29%)	0 (0.00%)	0.021
Survival since diagnosis (yrs)	8,9±8,0	7,9±6,9	0,326
5-years	0.929	0.913	0.494
10-years	0.849	0.818	0.474
Survival since disease onset (yrs)	15,1±11,8	12,1±9,1	0,009
5-years	0.961	0.931	0.162
10-years	0.917	0.906	0.371

Abbreviations: COPD: chronic obstructive pulmonary disease; ILD: interstitial lung disease; PH: pulmonary hypertension; SSc: systemic sclerosis.

Table 4

Table 4: Comparative analysis of the clinical associations in scleroderma patients with anti-PM/Sci antibodies

Study	Anti-PM-75		Anti-PM-100		Anti-PM/Sci		Anti-PM1-α	
	Villalta [35]	Muro [36]	Villalta [35]	Pluro [36]	Koschik [15]	Marcou [29]	Marguerite [16]	Ortiz [17]
Reference	[13]	[13]	[13]	[16]	[15]	[29]	[16]	[17]
Year	2009	2015	2009	2015	2012	2011	1992	1992
Country	Germany	USA/Canada/Australia	Germany	Japan	USA	Germany	UK	USA
Monospecific	No	No	No	No	No	No	No	No
Diagnostic method	LIA	ELISA/IP	LIA	ELISA/IP	Double-IB	IF/ELISA	CIE	IF
Total study population	280	223	280	223	2425	863	879	400
Anti-PM/Sci-positive patients	29(10.4%)	14(6.7%)	20(7.1%)	11(5.0%)	7(6(3.1%)	4(2(4.9%)	3(2(3.6%)	1(6(4%)
Comparison group	negative	NA	negative	NA	negative	Total study/ comparison	Anti-PM/Sci made	Anti-PM/Sci
Skin subtype	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Immunoscore	3(10.3%)	1(7.7%)	3(11%)	NA	2(8(5.8%)	1(4(5.8%)	1(7(5.1%)	3(7(5.8%)
Overlap	38(20.6%)	44(25%)	38(40%)	NA	3(6(47.3%)	2(2(5.3%)	0	1(10%)
Clinical manifestations	44.2(26.5%)	45.7(26.5%)	48.3(36.8%)	NA	37.6(94.2%)	47.6(95.1%)	13(13.1%)	10(10%)
Mixed	65.5(37.1%)	NA	60(39.5%)	NA	NA	21.4(9(5.7%)	40.6	NA
Calcinosis	NA	NA	35(38.1%)	NA	51(33.4%)	47.6(95.1%)	87.5	NA
Contractures	79.3(45.9%)	NA	NA	NA	34(34.7%)	NA	75(9(5.8%)	20(20.2%)
Skin HRSS	11.3(6.7%)	NA	NA	NA	84(37.9%)	21.4(9(5.0%)	NA	NA
PAH	6.5(3.7%)	NA	NA	NA	6(3.5%)	33.3(38.2%)	97	NA
ILD	55.2(32.7%)	NA	55(39.5%)	NA	5(3.5%)	4.7(9(4.6%)	NA	NA
Gastrointestinal	24.1(38.4%)	NA	20(34.2%)	NA	50(37%)	21.4(9(3.3%)	78	37.5(38.3%)
Heart	NA	NA	0(0%)	NA	13(3.2%)	11.5(9(3.2%)	NA	NA

Comparisons expressed in percentage (positive vs negative). CIE: Counter immunoelectrophoresis; dcSSc: diffuse cutaneous systemic sclerosis; ILD: interstitial lung disease; IP: Immunoprecipitation; ICSSc: limited cutaneous systemic sclerosis; LIA: Line immunosassay; mBSS: modified Rodnan skin score; NA: not available; IF: indirect immunofluorescence; NA: not available; PAH: pulmonary arterial hypertension; SSc: systemic sclerosis.

Supplemental Data File (.doc., .tif, .pdf, etc.)

Supplementary Table 1: Definitions of clinical variables in the different studies that have analyzed scleroderma patients with anti-PM/SCI antibodies.

Study	Anti-PM-75			Anti-PM-100			Anti-PM/SCI			Anti-PM-a				
	Hanke	Vilalta	Muro	Hanke	Vilalta	Muro	Woodward	Kocich	Mirneu	Marguerie	Odds	Inera	D'Amor	Maks
Diagnostic method	Enzyme-linked immunosorbent assay	Enzyme-linked assay	ELISA	Enzyme-linked assay	Enzyme-linked assay	ELISA	Enzyme-linked assay	Double immunodiffusion	IDB-PM/SCI and/or immunodiffusion	ELISA/PM-12B electrophoresis	Immunodiffusion	ELISA, ELIA, IB	ELISA/PM-12B	ELISA/PM-12B
Diagnosis								Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
ICSC	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
dSSc	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
Oral p	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
Age at disease onset	Not defined	Not defined	Not defined	Not defined	Not defined	Not defined	Not defined	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
Digital ulcers	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
Muscle	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
Calcinosis	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
Contractures	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
Arthritis	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
Swing tests	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement
PMH	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement	Stiff skin involvement

ILD	Bilateral fibrosis and/or HRTC	Bilateral fibrosis and/or HRTC	Bilateral fibrosis and/or HRTC	Bilateral fibrosis and/or HRTC	Bilateral fibrosis and/or HRTC	Pulmonary fibrosis	Pulmonary fibrosis	Pulmonary fibrosis	Pulmonary fibrosis	Restrictive pulmonary pattern fibrosis and/or HRTC	Pulmonary fibrosis and/or HRTC
Gastrointestinal	Colon involvement	NA	Presence of ERD and/or fibrosis patient survey	Colon involvement	Presence of ERD and/or fibrosis patient survey	Esophageal dimorphic structure	GI involvement disturbance malaportion dysphagia subjective	Dysphagia esophageal dimotily	NA	Esophageal malaportion breathless incoherent periodic or CT scan	Esophageal dimotily
Renal	NA	Accelerated hypertension or dialysis oliguria failure	NA	NA	NA	Sclerema renalitis	Renal insufficiency dialysis crisis	Proteinuria renal insufficiency	NA	Accelerated hypertension	Sclerema renalitis
Heart	NA	NA	NA	NA	NA	LVEF < 45% side vent failure	Right bundle conduction disturbance, block dysfunction echocardiography	NA	NA	Restrictive pulmonary pattern fibrosis and/or HRTC	Pulmonary fibrosis and/or HRTC

ACR/EULAR: American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism; CK: creatinine kinase; CTD: connective tissue disease; dSSc: diffuse cutaneous systemic sclerosis; DM: dermatomyositis; EA: enzyme immune assay; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; EWG: electromyography; GERD: gastroesophageal reflux disease; HRTC: high-resolution computed tomography; IB: immunoblot; ID: immunodiffusion; ILD: interstitial lung disease; LGS: limited cutaneous systemic sclerosis; LVEF: left ventricular ejection fraction; MCTD: mixed connective tissue disease; mSSc: modified Rodhan skin score; NA: not available; PAH: pulmonary arterial hypertension; PAP: pulmonary arterial pressure; PM: polymyositis; RA: rheumatoid arthritis; RHSC: right-sided heart catheterization; RVEF: right ventricle ejection fraction; Rx: radiography; SJS: Sjogren's syndrome; SLE: systemic lupus erythematosus; SSC: systemic sclerosis; UCTD: undifferentiated connective tissue disease.

VI. Discusión

Los anticuerpos específicos son una herramienta útil en el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes. Por ello se incluyen en la mayoría de los criterios clasificatorios dada su elevada sensibilidad y especificidad. En algunos casos son considerados patogénicos, como los anticuerpos anti-dsDNA en el caso del lupus eritematoso sistémico. En otros, como en la esclerodermia, los anticuerpos constituyen unos marcadores diagnósticos de la enfermedad aunque su papel patogénico todavía se encuentra por definir.

Además de facilitar al clínico el diagnóstico ante un cuadro clínico sugestivo, su presencia en la esclerosis sistémica se ha asociado con un determinado fenotipo clínico. Este último punto, sin embargo, es sujeto de debate. Tradicionalmente, se habían definido dos formas clínicas bien diferenciadas en función de la extensión de la afectación cutánea o esclerodermia: de un lado, la forma limitada, y por otro, la forma difusa. Cada una de ellas presenta unas manifestaciones clínicas y capilaroscópicas características y un pronóstico bien definido. De hecho, cada una de ellas se ha asociado a un perfil determinado de autoanticuerpos específico; el anticentrómero, al subtipo cutáneo limitado; y el antitopoisomerasa o el anti-RNA polimerasa III, a las formas difusas. De forma más reciente, algunos autores han puesto en duda esta clasificación clásica y postulan que los fenotipos clínicos y el pronóstico de estos pacientes no se correlacionan de manera tan precisa con la extensión cutánea, sino que, por el contrario, los anticuerpos específicos podrían predecir mejor la forma de presentación, las manifestaciones acumuladas o incluso el pronóstico.

El primer artículo de la presente tesis analiza, de hecho, las características de la cohorte de pacientes del registro RESCLE en base a la presencia de cada uno de los tres anticuerpos específicos de esclerodermia.

Los pacientes con anticuerpo anticentrómero fueron mayoritariamente mujeres, presentaron con mayor frecuencia el subtipo cutáneo limitado y una menor afectación intersticial pulmonar en comparación con los pacientes que tenían anticuerpo anti-RNA polimerasa III o antitopoisomerasa. Además, el tiempo hasta el diagnóstico de la enfermedad fue mayor. El hecho de que estos pacientes debutaran con manifestaciones diferentes al fenómeno de Raynaud o tuvieran menos EPI podría explicar estas diferencias. En el estudio multivariante, la presencia de dicho anticuerpo se mostró protectora para el desarrollo de EPI. Estos hallazgos se encuentran en concordancia con la literatura previa. La presencia de HAP fue similar en los tres grupos de pacientes, si bien no todos los estudios apoyan esta asociación. El número de cateterismo derechos realizados en nuestro estudio fue bajo para sugerir una asociación causal con un anticuerpo y supone una limitación del estudio.

En nuestra cohorte confirmamos la relación conocida entre el anticuerpo antitopoisomerasa y la EPI, así como la menor frecuencia de los pacientes con este anticuerpo a presentar los subtipos limitado y sin esclerodermia.

En los pacientes con anticuerpos anti-RNA polimerasa III hubo una mayor tendencia a presentar CRE, si bien en el análisis multivariante no lo identificó como un factor independiente. La baja prevalencia de esta complica-

ción (10%) en la serie global podría justificar la ausencia de relación. En los últimos años han aumentado los trabajos que asocian la presencia de este anticuerpo con el desarrollo de neoplasias, en especial en los tres años posteriores al diagnóstico de la enfermedad. En nuestra serie, los pacientes con anticuerpos anti-RNA polimerasa III presentaron mayor número de neoplasias de manera sincrónica, tanto al debut como al diagnóstico de la enfermedad. Existe la recomendación no consensuada de realizar pruebas de cribado en estos pacientes, sin embargo actualmente no existe un criterio unánime sobre qué pruebas realizar ni la periodicidad con la que deben realizarse las mismas.

Los pacientes con anticuerpos anti-RNA polimerasa presentaron EPI con una frecuencia similar a la de los pacientes con antitopoisomerasa. Un reciente estudio de una cohorte de pacientes con anti-RNA polimerasa mostró que hasta el 18% presentaba EPI grave y mostraban una progresión superior a la de los pacientes con antitopoisomerasa. Debido al bajo número de casos no se realizó un análisis multivariante. Los autores describen dos tipos de pacientes con anticuerpo anti-RNA polimerasa: uno, con pruebas funcionales respiratorias y tomografía computarizada torácica de alta resolución normales y bajo riesgo de progresión y un segundo grupo con alto riesgo de afectación intersticial, que probablemente sean los que tienen una afectación cutánea más agresiva y se beneficiaría de una vigilancia estrecha y tratamiento específico.

Una limitación de nuestro estudio es que no se pudieron determinar los anticuerpos anti-RNA polimerasa en todos los centros del RESCLE y que el escaso número de pacientes con este perfil inmunológico probablemente explicaría la ausencia de asociación con algunas manifestaciones clínicas.

La supervivencia global fue alta a los 5 años, sin que hubiera diferencias entre el tipo de anticuerpo presente. Estos datos están en línea con un reciente metaanálisis y otros estudios de cohortes europeas.

En conclusión, nuestro estudio confirmó la asociación de los anticuerpos específicos de esclerodermia con determinadas manifestaciones clínicas iniciales y acumuladas.

En el segundo artículo se compararon las principales características entre los pacientes con esclerodermia “seroconcordantes” (subtipo cutáneo y anticuerpo) con aquellos “serodiscordantes”. Dentro del primer grupo se situarían los enfermos con formas limitadas y anticuerpos anticentrómero y formas difusas y antitopoisomerasa o anti-RNA polimerasa III, respectivamente. En el segundo grupo tendríamos aquellos en que el subtipo cutáneo no se correspondería con el anticuerpo específico, es decir, fenotipo limitado y antitopoisomerasas o anti-RNA polimerasa y fenotipo difuso y anticentrómero. Estos pacientes “serodiscordantes” han sido poco estudiados hasta el momento y constituyen una buena población de estudio para comprobar el papel que la extensión cutánea o el perfil inmunológico juegan en el desarrollo de ciertas manifestaciones clínicas y en el pronóstico.

Los resultados del segundo estudio confirman la baja presencia de pacientes serodiscordantes en la cohorte RESCLE. La proporción de estos pacientes en otras series es muy variable y en general superior a la de nuestro estudio lo que podría reflejar la variabilidad genética y étnica respecto a otras cohortes de la literatura.

Respecto a las manifestaciones clínicas acumuladas, el hallazgo más interesante es el papel predictor de los anticuerpos en el desarrollo de complicaciones pulmonares. Los pacientes con antitopoisomerasa desarrollaron EPI, mientras que los pacientes con anticentrómero presentaron con más frecuencia HAP, sin embargo, esta asociación solo fue significativa en el grupo con fenotipo cutáneo difuso y anticuerpo anticentrómero. El análisis de la cohorte canadiense de Srivastava también mostró asociaciones entre los anticuerpos y las manifestaciones clínicas. En su estudio, los pacientes con antitopoisomerasa presentaron más afectación intersticial comparados con los pacientes con anticentrómero. Por el contrario, los pacientes con anticentrómero presentaron más HAP. En esa cohorte encontraron otras manifestaciones, como la esofágica o la renal, que se asociaron en mayor medida con el tipo de anticuerpo que con el subtipo cutáneo (anticentrómero en las manifestaciones esofágicas y antitopoisomerasa con las manifestaciones renales). En nuestro caso, el hecho de que la CRE sea una complicación infrecuente podría justificar la ausencia de asociaciones encontradas.

En los pacientes con anticuerpo antitopoisomerasa y fenotipo sin esclerodermia fueron más frecuentes las úlceras digitales y la EPI grave, mientras que los pacientes con anticentrómero y subtipo sin esclerodermia presentaron más telangiectasias.

Otra de las fortalezas de nuestro estudio es la inclusión de pacientes con el subtipo sin esclerodermia. Debido a sus semejanzas clínicas y serológicas con el subtipo limitado, algunos autores la incluyen dentro del espectro de la forma limitada, mientras que otros defienden que constituya otro subtipo debido a sus diferentes manifestaciones pulmonares y con el fin de no infra-diagnosticar a estos pacientes.

No se encontraron diferencias en cuanto a la supervivencia en pacientes serodiscordantes o seroconcordantes, lo que sugiere que la supervivencia estaría más condicionada por el subtipo cutáneo que por el anticuerpo presente y vendría a corroborar los hallazgos del primer artículo. Tal y como se comentó en la introducción, los pacientes con formas difusas con una gran afectación visceral y en general grave, presentan una mayor mortalidad comparados con los pacientes con formas limitadas o sin esclerodermia. En el reciente estudio de Boonstra se analizó la influencia que aportaba el anticuerpo para que un paciente fuera clasificado de alto riesgo. Se clasificó a los pacientes en 5 grupos de riesgo en función de la mortalidad. Hasta el 22% de los pacientes con anticuerpo antitopoisomerasa fueron incluidos en los grupos de bajo riesgo y un 35% de los pacientes con anticentrómero se clasificó en el grupo de alto riesgo, por lo que los autores concluyen que el tipo de anticuerpo únicamente contribuiría de manera parcial a la estratificación de riesgo.

Hasta la fecha, pocos autores han analizado las características y la supervivencia de pacientes serodiscordantes. En la cohorte holandesa de Kranenburg, los pacientes con anticuerpo antitopoisomerasa y subtipo limitado presentaron más EPI que aquellos con formas limitadas y antitopoisomerasa negativos. No encontraron diferencias en cuanto a las manifestaciones cardíacas, renales o de HAP. Respecto a la supervivencia, los pacientes con antitopoisomerasa y subtipo limitado fueron similares a los enfermos con formas limitadas y antitopoisomerasa negativos.

El hecho de que los trabajos realizados clasifiquen a los pacientes según el anticuerpo y posteriormente analicen el subtipo cutáneo, a diferencia de nuestro estudio, podría explicar la ausencia de asociaciones.

El porcentaje de pacientes que progresaron de subtipo cutáneo fue menor que en otras series. Mientras que los pacientes que progresaron de formas limitadas a difusas no presentaron diferencias en cuanto a la presencia del anticuerpo, ni tampoco en las características clínicas respecto a los que no lo hicieron, los pacientes que pasaron del subtipo sin esclerodermia a una forma limitada presentaron con mayor frecuencia el anticuerpo anticentrómero. Tampoco se encontraron diferencias entre los grupos que progresaron de una forma sin esclerodermia de los que no lo hicieron. En el grupo canadiense el 14% de los pacientes con formas limitadas se reclasificaron como difusas y fueron con mayor frecuencia los que tenían anticuerpo antitopoisomerasa.

En el tercer artículo se analizan las características de los pacientes que presentaban anti-PM/Scl.

Los anticuerpos anti-PM/Scl se descubrieron inicialmente en pacientes con solapamiento con miopatías inflamatorias y son menos frecuentes en pacientes con ES. La prevalencia (7%) de estos anticuerpos en una cohorte de ES se encuentra dentro de las descritas en la literatura (2,5-12,5%). Al contrario que en la mayoría de las series, en las que se describe una asociación con el subtipo limitado, no se encontró un subtipo predominante. Tampoco encontramos una menor edad al diagnóstico, hallazgo común en la mayoría de las series. En los pacientes con anti-PM/Scl el tiempo desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico fue menor que en los pacientes negativos, probablemente por la presencia de miositis, una manifestación muy evidente.

Otra manifestación clínica muy frecuente fue la EPI, si bien no se identificó como un factor independiente en el estudio multivariante. Ésta es una asociación clínica frecuente en la mayoría de series publicadas de pacientes con anti-PM/Scl. Cabe mencionar un estudio reciente del hospital Vall d'Hebron en el que se compararon pacientes con EPI y anti-PM/Scl frente a pacientes con EPI y ATA. Los pacientes con anti-PM/Scl tuvieron significativamente menos disnea, menor deterioro del FVC e incluso un tercio de los pacientes presentaron mejoría de la FVC en el seguimiento evolutivo. Los pacientes con anti-PM/Scl también tuvieron una mejor supervivencia comparados con los pacientes con ATA.

Los pacientes con anti-PM/Scl de nuestra cohorte no tuvieron una supervivencia diferente de los que no lo tenían. Estos datos están en línea con la literatura, en los que los pacientes con anti-PM/Scl generalmente más jóvenes y con una afectación intersticial menos grave tienen una baja mortalidad.

Las principales limitaciones del estudio son, al igual que en los anteriores trabajos, la determinación de los anticuerpos en cada centro de procedencia y aunque en la mayoría (89%) de los pacientes fue el único anticuerpo aislado, no podemos descartar que algunas manifestaciones clínicas se deban a la coexistencia con otros anticuerpos.

La pregunta que daba origen a esta tesis cuestionaba si el perfil fenotípico y el pronóstico de una paciente con esclerosis sistémica viene definido por la dotación serológica o, por el contrario, por el grado de afectación cutánea. Hasta la fecha, la pregunta del millón de la esclerodermia sigue huérfana de respuesta. A excepción de algunas neoplasias en pacientes con RNA polimerasa III no se ha podido documentar el depósito in situ de anticuerpos, sin embargo, en el caso de los pacientes con anticentrómero y antitopoisomerasa ni siquiera se encuentran en muestras histológicas (por ejemplo en biopsias pulmonares en pacientes con EPI o depósitos renales tras una CRE). Por lo tanto, el papel patogénico de los anticuerpos en la esclerodermia podría ser únicamente parcial. Para complicar aún más el debate, en práctica clínica diaria vemos pacientes con una misma serología y subtipo cutáneo que presentan un comportamiento clínico diferente, lo que sugiere la existencia de factores patogénicos adicionales que modularían esta expresividad clínica y pronóstica. Por lo tanto, y a modo de resumen, en el manejo clínico de los pacientes con esclerodermia no solo deberemos atender al tipo de anticuerpo que presentan si no también a otros factores como la extensión cutánea o su origen racial.

VII.

Conclusiones

Conclusiones del primer estudio

1. Existen asociaciones conocidas entre anticuerpos y manifestaciones clínicas: los pacientes con ACA presentaron con menos frecuencia EPI y artritis, los pacientes con ATA mayor frecuencia EPI y los pacientes con ARA, mayor afectación articular y mayor tendencia a presentar neoplasias y CRE.
2. La presencia de ACA se mostró protectora para el desarrollo del subtipo difuso de esclerosis sistémica y afectación pulmonar intersticial, la presencia de ATA se mostró protectora para el subtipo limitado y sin esclerodermia y fue un factor independiente para la EPI. Los anticuerpos anti-RNA polimerasa III se asociaron con el subtipo difuso de la esclerodermia y con manifestaciones articulares como síntomas de inicio.
3. La frecuencia de los anticuerpos no específicos de esclerodermia fue similar en los pacientes con independencia de los anticuerpos ATA, ACA o ARA.
4. No se encontraron diferencias en la supervivencia en los tres grupos de pacientes con ATA, ACA o ARA.

Conclusiones del segundo estudio

1. Los anticuerpos fueron los mejores predictores de la afectación pulmonar intersticial de la esclerodermia.
2. La frecuencia de pacientes serodiscordantes en nuestra cohorte es baja.
3. El subtipo cutáneo fue mejor predictor de la supervivencia que el tipo de anticuerpo.
4. El porcentaje de pacientes en el que se modifica el subtipo cutáneo durante la evolución es bajo. Los pacientes con el fenotipo sin esclerodermia que progresaban al fenotipo limitado presentaron con mayor frecuencia ACA. La progresión del fenotipo limitado a difuso no se asoció con ningún anticuerpo.

Conclusiones globales

1. En la cohorte RESCLE algunas manifestaciones clínicas se explican mejor por el perfil de anticuerpos que por el fenotipo cutáneo.

2. Algunas manifestaciones clínicas como la CRE y las neoplasias son poco frecuentes en nuestra cohorte y por ello no se pudo establecer asociaciones con los anticuerpos específicos.
3. Además de los anticuerpos específicos de la ES se han descrito otros anticuerpos sin asociación con los anteriores ni con los subtipos cutáneos.
4. El pronóstico de los pacientes con ES en la cohorte RESCLE está determinado por el subtipo cutáneo y no por la presencia de un determinado anticuerpo.
5. La presencia de pacientes serodiscordantes es baja dentro del RESCLE y las manifestaciones pulmonares, especialmente la EPI, son las que más se asocian con los anticuerpos específicos.
6. El manejo de pacientes con esclerodermia debe guiarse por el tipo de anticuerpo presente, pero también por factores como la extensión cutánea o el origen étnico.

Bibliografía

- [1] Gabrielli A, Avvedimento E, Kt. Scleroderma. *N Engl J Med* 2009; 360:1989–2003.
- [2] Silman, A.J., Howard, Y., Hicklin, A.J. et al. Geographical clustering of scleroderma in south and west London. *Br J Rheumatol* 1990;29:93–96.
- [3] Zulian, F. and Martini G. Childhood systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 2007;19:592–597.
- [4] Chiffot H, Fautzi B, Sordet C, Chatelus E, Sibilia J. Incidence and prevalence of systemic sclerosis: a systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum* 2008;37:223–35.
- [5] Mayes M, Lacey Jr J, Beebe-Dimmer J, Gillespie B, Cooper B, Laing T, Schottenfeld D. Prevalence, Incidence, Survival, and Disease Characteristics of Systemic Sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum* 2003;48:2246–55.
- [6] Gelber AC, Manno RL, Shah AA, Woods A, Le EN, Boin F, et al. Race and association with disease manifestations and mortality in scleroderma: A 20-year experience at the Johns Hopkins Scleroderma Center and review of the literature. *Med (United States)* 2013;92: 191–205. doi:10.1097/MD.0b013e31829be125.
- [7] Mora GF. Systemic sclerosis: environmental factors. *J Rheumatol* 2009;36:2383–2396.
- [8] Varga J, Abraham D. Systemic sclerosis: A prototypic multisystem fibrotic disorder. *J Clin Invest* 2007;117:557–67. doi:10.1172/JCI31139.
- [9] Allanore Y, Simms R, Distler O, Trojanowska M, Pope J, Denton CP, et al. Systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol Rev Dis Prim* 2015;1:1–21. doi:10.1038/nrdp.2015.2.
- [10] Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet* 2017;390:1685–99. doi:10.1016/S0140-6736(17)30933-9.
- [11] Masi A, Medsger T, Altman RD, D'Angelo W, Fries J, et al. 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;23:581–90.
- [12] LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, et al. Scleroderma (systemic sclerosis): Classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988;15:202–5.

- [13] Poormoghim H, Lucas M, Fertig N, Medsger TA. Demographic, Clinical, and Serologic Features and Survival in Forty-Eight Patients 2000;43:444–51.
- [14] 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;65:2737–47. doi:10.1002/art.38098.
- [15] Joven BE, Escribano P, Andreu JL, Loza E, Jimenez C, de Ybenes MJG, et al. 2013 ACR/EULAR systemic sclerosis classification criteria in patients with associated pulmonary arterial hypertension. *Semin Arthritis Rheum* 2017. doi:10.1016/j.semarthrit.2017.10.006.
- [16] Andréasson K, Saxne T, Bergknut C, Hesselstrand R, Englund M. Prevalence and incidence of systemic sclerosis in southern Sweden: Population-based data with case ascertainment using the 1980 ARA criteria and the proposed ACR-EULAR classification criteria. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1788–92. doi:10.1136/annrheumdis-2013-203618.
- [17] Sáez-Comet L, Simeón-Aznar CP, Pérez-Conesa M, Vallejo-Rodríguez C, Tolosa-Vilella C, Iñesta-Arandia N, et al. Applying the ACR/EULAR systemic sclerosis classification criteria to the Spanish scleroderma registry cohort. *J Rheumatol* 2015;42:2327–31. doi:10.3899/jrheum.150144.
- [18] Avouac J, Fransen J, Walker UA, Riccieri V, Smith V, Muller C, et al. Preliminary criteria for the very early diagnosis of systemic sclerosis: results of a Delphi Consensus Study from EULAR Scleroderma Trials and Research Group. *Ann Rheum Dis* 2011;70:476–81. doi:10.1136/ard.2010.136929.
- [19] Valentini G, Cuomo G, Abignano G, Petrillo A, Vettori S, Capasso A, et al. Early systemic sclerosis: Assessment of clinical and pre-clinical organ involvement in patients with different disease features. *Rheumatology* 2011;50:317–23. doi:10.1093/rheumatology/keq176.
- [20] Koenig M, Joyal F, Fritzler MJ, Roussin A, Abrahamowicz M, Boire G, et al. Autoantibodies and microvascular damage are independent predictive factors for the progression of Raynaud's phenomenon to systemic sclerosis: A twentyyear prospective study of 586 patients, with validation of proposed criteria for early systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2008;58:3902–12. doi:10.1002/art.24038.

- [21] Bellando-Randone S, Matucci-Cerinic M. Very Early Systemic Sclerosis and Presystemic Sclerosis: Definition, Recognition, Clinical Relevance and Future Directions. *Curr Rheumatol Rep* 2017;19. doi:10.1007/s11926-017-0684-2.
- [22] Araújo FC, Camargo CZ, Kayser C. Validation of the ACR/EULAR classification criteria for systemic sclerosis in patients with early scleroderma. *Rheumatol Int* 2017;37:1825–33. doi:10.1007/s00296-017-3787-1.
- [23] Trapiella-Martínez L, Díaz-López JB, Caminal-Montero L, Tolosa-Vilella C, Guillén-Del Castillo A, Colunga-Argüelles D, et al. Very early and early systemic sclerosis in the Spanish scleroderma Registry (RESCLE) cohort. *Autoimmun Rev* 2017;16:796–802. doi:10.1016/j.autrev.2017.05.013.
- [24] Steen VD. The many faces of scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 2008;34:1–15.
- [25] Steen VD MT, Steen VD, Medsger TA. Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972-2002. *Ann Rheum Dis* 2007;66:940–4. doi:10.1136/ard.2006.066068.
- [26] 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;13:1026–34. doi:10.1016/j.autrev.2014.08.029.
- [27] Elhai M, Meune C. Original article Trends in mortality in patients with systemic sclerosis over 40 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies 2012:1017–26. doi:10.1093/rheumatology/ker269.
- [28] 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 2010:1809–15. doi:10.1136/ard.2009.114264.
- [29] Bernstein RM, Steigerwald JC TE. Association of antinuclear and antinucleolar antibodies in progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 1982;48:43–51.
- [30] Rothfield NF, Rodnan GP. Rothfield NF, Rodnan GP: Serum antinuclear antibodies in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1968;11:607–17.

- [31] Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone M V., Scofield RH, Dennis GJ, James JA, et al. Development of Autoantibodies before the Clinical Onset of Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med* 2003;349:1526–33. doi:10.1056/NEJMoa021933.
- [32] Fritzler MJ, Kinsella TD, Garbutt E. The CREST Syndrome: A Distinct Serologic Entity with Anticentromere Antibodies 1980;69.
- [33] Tramposh H, Smith C, Senecal JL RN. A long-term longitudinal study of anticentromere antibodies. *Arthritis Rheum* 1982;27:121–4.
- [34] Hildebrandt S, Weber S. A long-term longitudinal isotypic study of antitopoisomerase I autoantibodies. *Rheumatol Int* 1993;12:231–4.
- [35] T. Dick, R. Mierau, P-Bartz-Bazzanella, M. Alavi, M. Stoyanova-Scholz, J. Kindler EG. Coexistence of antitopoisomerase I and anticentromere antibodies in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2002;61:121–7.
- [36] Reveille, J D. SD, Reveille JD, Solomon DH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: Anticentromere, Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum* 2003;49:399–412. doi:10.1002/art.11113.
- [37] Hu PQ, Fertig N, Medsger TA, Wright TM. Correlation of serum anti-DNA topoisomerase I antibody levels with disease severity and activity in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2003;48:1363–73. doi:10.1002/art.10977.
- [38] Hamaguchi Y, Fujimoto M, Hasegawa M. Re-emergence of anti-topoisomerase I antibody with exacerbated development of skin sclerosis in a patient with systemic sclerosis. *J Am Dermatol* 2010;62:142–4. doi:10.1016/j.jaad.2009.01.032.
- [39] Sato S, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Takehara K. Clinical significance of antitopoisomerase I antibody levels determined by ELISA in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2001;40:1135–40.
- [40] Kuwana M, Kaburaki J, Mimori T, Kawakami Y, Tojo T. Longitudinal analysis of autoantibody response to topoisomerase I in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2000;43:1074–84. doi:10.1002/1529-0131(200005)43:5<1074::AID-ANR18>3.0.CO;2-E.

- [41] Henault J, Robitaille G, Senecal J, Raymond Y. DNA Topoisomerase I Binding to Fibroblasts Induces Monocyte Adhesion and Activation in the Presence of Anti-Topoisomerase I Autoantibodies From Systemic Sclerosis Patients. *Arthritis Rheum* 2006;54:963–73. doi:10.1002/art.21646.
- [42] Moroi Y, Peebles C. Autoantibody to centromere (kinetochore) in scleroderma sera 1980;77:1627–31.
- [43] Earnshaw WC, Machlint PS, Bordwell BJ, Rothfield NF, Cleveland DONW. Analysis of anticentromere autoantibodies using cloned autoantigen CENP-B 1987;84:4979–83.
- [44] NJ. McHugh, J. Whyte, C. Artlett, DC. Briggs, CO. Stephens, NJ. Olsen, NG. Gusseva, PJ. Maddison, CM. Black KW. Anti-centromere antibodies (ACA) in systemic sclerosis patients and their relatives: a serological and HLA study. *Clin Exp Immunol* 1994;96:267–74.
- [45] Reveille JD, Altman RD, Arnett FC. Association of amino acid sequences in the HLA-DQB1 first domain with antitopoisomerase I autoantibody response in scleroderma (progressive systemic sclerosis). Find the latest version: 1992;5.
- [46] Reveille JD, Fischbach M, Mcnearney T, Friedman AW, Aguilar MB, Lisse J, et al. Systemic Sclerosis in 3 US Ethnic Groups: A Comparison of Clinical, Sociodemographic, Serologic, and Immunogenetic Determinants. *Semin Arthritis Rheum* 2001;30:332–46. doi:10.1053/sarh.2001.20268.
- [47] Mcneilage LJ, Ud UY, Whittingham S. Racial differences in antinuclear antibody patterns and clinical manifestations of scleroderma. *Arthritis Rheum* 1989;32:54–60.
- [48] Reveille JD, Solomon DH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: Anticentromere, Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum* 2003;49:399–412. doi:10.1002/art.11113.
- [49] Rigamonti C, Shand L, Feudjo M, Bunn CC, Black CM, Denton CP. Clinical features and prognosis of primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis. *Gut* 2006;55:388–94.
- [50] Patterson KA, Roberts-Thomson PJ, Lester S, Tan JA, Hakendorf P, Rischmueller M, et al. Interpretation of an extended autoantibody profile in a wellcharacterized Australian systemic sclerosis (Scleroderma) cohort using principal components analysis. *Arthritis Rheumatol* 2015;67:3234–44. doi:10.1002/art.39316.

- [51] Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis 2003;534–40. doi:10.1093/rheumatology/keg170.
- [52] Walker U, Tyndall A, Czirják L, Denton C, Farge-Bancel D, Kowal-Bielecka O, et al. Clinical risk assessment of organ manifestations in systemic Research group database. *Ann Rheum Dis* 2007;66:754–63. doi:10.1136/ard.2006.062901.
- [53] 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;66:1625–35. doi:10.1002/art.38390.
- [54] Steen VD, Powell DL MTJ, Steen VD, Powell DL MTJ, Steen VD., Powell DL. MTJ, Steen VD, Powell DL, Medsger T a, et al. Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1988;31:196–203. doi:10.1016/0923-1811(93)91335-R.
- [55] Steen V, Medsger TA. Predictors of Isolated Pulmonary Hypertension in Patients With Systemic Sclerosis and Limited Cutaneous Involvement 2003;48:516–22. doi:10.1002/art.10775.
- [56] C, Ferri, G. Valentini, F. Cozzi, M. Sebastiani, C. Michelassi, G. La Montagna, A. Bullo, M. Cazzato, E. Tirri, F. Storino, D. Giuggioli, G. Cuomo, M. Rosada, S. Bombardieri, S. Todesco GT. Demographic , Clinical , and Serologic Features and Survival. *Med* 2002;81:139–53.
- [57] Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, Tojo T, Homma M. Clinical and prognostic associations based on serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1994;37:75–83.
- [58] Kane GC, Varga J, Conant EF, Spirn PW, Jimenez S, Fish J, et al. Lung involvement in systemic sclerosis (scleroderma): Relation to classification based on extent of skin involvement or autoantibody status. *Respir Med* 1996;90:223–30. doi:10.1016/S0954-6111(96)90291-7.
- [59] Kuwana M, Okano Y, Kaburaki J , Tojo T MT, Kuwana M, Okano Y, Kaburaki J, Tojo T, Medsger Jr. TA. Racial differences in the distribution of systemic sclerosis-related serum antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum* 1994;37:902–6. doi:10.1002/art.1780370619.

- [60] Krzyszczyk ME, Li Y, Ross SJ, Ceribelli A, Chan EKL, Bubb MR, et al. Gender and ethnicity differences in the prevalence of scleroderma-related autoantibodies. *Clin Rheumatol* 2011;30:1333–9. doi:10.1007/s10067-011-1751-0.
- [61] Srivastava N, Hudson M, Tatibouet S, Wang M, Baron M, Fritzler MJ, et al. Thinking outside the box-The associations with cutaneous involvement and autoantibody status in systemic sclerosis are not always what we expect. *Semin Arthritis Rheum* 2015;45:184–9. doi:10.1016/j.semarthrit.2015.04.009.
- [62] 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;66:754–63.
- [63] Ranque B, Bérezné a, Le-Guern V, Pagnoux C, Allanore Y, Launay D, et al. Myopathies related to systemic sclerosis: A case-control study of associated clinical and immunological features. *Scand J Rheumatol* 2010;39:498–505. doi:10.3109/03009741003774626.
- [64] Steen VD. Autoantibodies in Systemic Sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005;35:35–42. doi:10.1016/j.semarthrit.2005.03.005.
- [65] Codullo V, Cavazzana I, Bonino C, Alpini C, Cavagna L, Cozzi F, et al. Serologic profile and mortality rates of scleroderma renal crisis in Italy. *J Rheumatol* 2009;36:1464–9.
- [66] Ioannidis JPA, Vlachoyiannopoulos PG, Haidich A, Medsger TA, Lucas M, Michet CJ, et al. Mortality in systemic sclerosis: an international meta-analysis of individual patient data. *Am J Med* 2005;118:2–10. doi:10.1016/j.amjmed.2004.04.031.
- [67] Kuwana M, Kaburaki J, Minori T, Kawakami T TT. Longitudinal analysis of autoantibodies response to topoisomerase I in systemic sclerosis. vol. 43. 2000.
- [68] 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 1993;91:1399–404.
- [69] Kuwana M, Okano Y, Pandey JP, Silver RM, Fertig N, Medsger T a. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of anti-RNA polymerase III antibody: analytical accuracy and clinical associations in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2005;52:2425–32. doi:10.1002/art.21232.

- [70] Lazzaroni M, Airò P. Anti-RNA polymerase III antibodies in patients with suspected and definite systemic sclerosis: Why and how to screen 2018. doi:10.1177/2397198318786158.
- [71] Okano Y, Steen VD, Medsger T. Autoantibody reactive with RNA polymerase III in systemic sclerosis. *Ann Intern Med* 1993;119:1005–13.
- [72] Satoh M, Ajmani AK, Ogasawara T, Langdon JJ, Hirakata M, Wang J, et al. Autoantibodies to RNA Polymerase II Are Common in Systemic Lupus Erythematosus and Overlap Syndrome. *J Clin Invest* 1994;94:1981–9.
- [73] Arnett FC, Gourh P, Shete S, Ahn CW, Honey RE, Agarwal K, et al. Major histocompatibility complex (MHC) class II alleles, haplotypes and epitopes which confer susceptibility or protection in systemic sclerosis: analyses in 1300 Caucasian, African-American and Hispanic cases and 1000 controls 2010:822–7. doi:10.1136/ard.2009.111906.
- [74] Gilchrist FC, Bunn C, Foley PJ, Lympny PA, Black CM, Welsh KI, et al. Class II HLA associations with autoantibodies in scleroderma: a highly significant role for HLA-DP 2001;15:76–81.
- [75] Falkner D, Wilson J, Fertig N, Medsger TA, Morel PA. Studies of HLA-DR and DQ Alleles in Systemic Sclerosis Patients With Autoantibodies to RNA Polymerases and U3-RNP (Fibrillar). *J Rheumatol* 2000;27:1196–202.
- [76] Fanning GC, Welsh KI, Bunn C, Bois RDU, Black CM. HLA associations in three mutually exclusive autoantibody subgroups in UK systemic sclerosis patients. *Br J Rheumatol* 1998;37:201–7.
- [77] Meyer O, Fertig N, Lucas M, Somogyi N, Medsger T. Disease subsets, antinuclear antibody profile, and clinical features in 127 French and 247 US adult patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2007;34:104–9.
- [78] Kang E, Lee E, Kim D, Im C, Lee H, Song Y. Anti-RNA Polymerase Antibodies in Korean Patients With Systemic Sclerosis and Their Association With Clinical Features. *Clin Exp Rheumatol* 2005;23:731–2.
- [79] Bunn CC, Denton CP, Shi-Wen X, Knight C, Black CM. ANTI-RNA polymerases and other autoantibody specificities in systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1998;37:15–20.

- [80] Meyer O, De Chaisemartin L, Nicaise-Roland P, Cabane J, Tubach F, Dieude P, et al. Anti-RNA polymerase III antibody prevalence and associated clinical manifestations in a large series of French patients with systemic sclerosis: A cross-sectional study. *J Rheumatol* 2010;37:125–30.
- [81] Bardoni a, Rossi P, Salvini R, Bobbio-Pallavicini F, Caporali R, Montecucco C. Autoantibodies to RNA-polymerases in Italian patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* n.d.;21:301–6.
- [82] Sobanski V, Dauchet L, Lefe 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 2014;66:407–17. doi:10.1002/art.38219.
- [83] Lazzaroni M, Cavazzana I, Colombo E, Dobrota R, Hesselstrand R, Varju C, et al. Malignancies in Patients with Anti-RNA Polymerase III Antibodies and Systemic Sclerosis: Analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research Cohort and Possible Recommendations for Screening Malignancies in Patients with Anti-RNA Polymerase III Antibod 2017. doi:10.3899/jrheum.160817.
- [84] Cavazzana I, Angela C, Paolo A, Stefania Z, Angela T, Franco F. Autoimmunity Reviews Anti-RNA polymerase III antibodies: A marker of systemic sclerosis with rapid onset and skin thickening progression. *Autoimmun Rev* 2009;8:580–4. doi:10.1016/j.autrev.2009.02.002.
- [85] Satoh T, Ishikawa O, Ihn H, Endo H, Kawaguchi Y, Sasaki T, et al. Clinical usefulness of anti-RNA polymerase III antibody measurement by enzyme-linked immunosorbent assay 2009:1570–4. doi:10.1093/rheumatology/kep290.
- [86] Nihtyanova SI, Parker JC, Black CM, Bunn CC, Denton CP. A longitudinal study of anti-RNA polymerase III antibody levels in systemic sclerosis 2009:1218–21. doi:10.1093/rheumatology/kep215.
- [87] 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;100:485–94. doi:10.1093/qjmed/hcm052.
- [88] Hamaguchi Y, Koderu M, Matsushita T, Hasegawa M, Inaba Y, Usuda T, et al. Clinical and Immunologic Predictors of Scleroderma Renal Crisis in Japanese Systemic Sclerosis Patients With Anti-RNA Polymerase III Autoantibodies 2015;67:1045–52. doi:10.1002/art.38994.

- [89] 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;67:110–6. doi:10.1136/ard.2006.066985.
- [90] Ingraham KM, O'Brien MS, Shenin M, Derk CT S V. Gastric antral vascular ectasia in systemic sclerosis: demographics and disease predictors. *J Rheumatol* 2010;37:603–7.
- [91] Ghrénassia E, Avouac J, Khanna D, Derk CT, Distler O, Suliman YA et al. Prevalence, correlates and outcomes of gastric antral vascular ectasia in systemic sclerosis: a EUSTAR case control study. *J Rheumatol* 2014;41:99-105.
- [92] Joseph CG, Darrach E, Shah AA, Skora AD, Livia A, Wigley FM, et al. Association of the Autoimmune Disease Scleroderma with an Immunologic Response to Cancer. *Science (80-)* 2014;343:152–7. doi:10.1126/science.1246886. Association.
- [93] Hoffmann-Vold Am, Midtvedt O, Tennoe AH, garen T, Lund MB, Aalokken TM, Andrassen AK, Elhage F, Brunborg C, Taraldsrud E MO. Cardiopulmonary Disease Development in Anti-RNA Polymerase III-positive Systemic Sclerosis: Comparative Analyses from an Unselected, Prospective Patient Cohort. *J Rheumatol* 2017.
- [94] Airo P, Ceribelli A, Cavazzana I, Taraborelli M, Zingarelli S, Franceschini F, et al. Polymerase III Antibodies Maligancies in Italian Patients with Systemic Sclerosis Positive for Anti-RNA Polymerase III Antibodies 2011;38. doi:10.3899/jrhe-um.101144.
- [95] Motegi S, Toki S, Yamada K, Uchiyama A. Demographic and clinical features of systemic sclerosis patients with anti-RNA polymerase III antibodies. *J Dermatol* 2015;42:189–92. doi:10.1111/1346-8138.12722.
- [96] Lischwe MA, Ochs RL, Reddy R, Cook G, Yeoman LC, Tang EM, et al. Purification and Partial Characterization of a Nucleolar Scleroderma ABC Em &” 1985;14304–10.
- [97] Baserga SJ, Yang XW, Steitz JA. An intact Box C sequence in the U3 snRNA is required for binding of fibrillarln, the protein common to the major family of nucleolar snRNPs. *EMBO J* 1991;10:2645–51.

- [98] Reimer G, Steen VD, Penning CA, Medsger Jr. TA, Tan EM. Correlates between autoantibodies to nucleolar antigens and clinical features in patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1988;31:525–32. doi:10.1002/art.1780310409.
- [99] Aggarwal R, Lucas M, Fertig N, Oddis CV, Medsger TA. Anti-U3 RNP Autoantibodies in Systemic Sclerosis 2009;60:1112–8. doi:10.1002/art.24409.
- [100] Arnett FC, Reveille JD, Goldstein R, Pollard KM, Leaird K, Smith EA, et al. Autoantibodies to fibrillarin in systemic sclerosis (scleroderma) An Immunogenetic, Serologic, and Clinical Analysis. *Arthritis Rheum* 1996;39:1151–60.
- [101] Tormey VJ, Bunn CC, Denton CP, Black CM. Anti-fibrillarin antibodies in systemic sclerosis 2001:1157–62.
- [102] Eenennaam HVAN, Vogelzangs JHP, Brouwer R, Pluk H, Pruijn GJM, Venrooij WJVAN. Autoantibodies against small nucleolar ribonucleoprotein complexes and their. *Clin Exp Immunol* 2002;130:532–40.
- [103] Yamane K, Ihn H, Kubo M, Kuwana M, Asano Y, Yazawa N. Antibodies to Th/Toribonucleoprotein in patients with localized scleroderma. *Rheumatology* 2001;40:683–6.
- [104] Reddy R, EM T, Henning D, Nogha K, Bush H. Detection of a nucleolar 7–2 ribonucleoprotein and cytoplasmic 8–2 ribonucleoprotein with autoantibodies from patients with scleroderma. *J Biol Chem* 1983;258:1383–6.
- [105] Ceribelli A, Cavazzana I, Airò P, Tincani A, Franceschini F, Pauley B, et al. Anti- Th/To Antibodies In Italian Scleroderma Patients: Clinical And Immunological Correlations And Comparison With Patients With Anti-Centromere Antibodies. *Ann Rheum Dis* 2010;69:2010.
- [106] Falkner D, Wilson J, Medsger TA, Morel PA. HLA And Clinical Associations In Systemic Sclerosis Patients With Anti-Th /To Antibodies 1998;41:74–80.
- [107] Okano Y, Jr TAM. Autoantibody to Th Ribonucleoprotein (Nucleolar 7-2 RNA Protein particle) in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1990;33:8–10.
- [108] 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;48:203–9. doi:10.1002/art.10760.

- [109] Hamaguchi Y, Hasegawa M, Fujimoto M, Matsushita T, Komura K, Kaji K, et al. The clinical relevance of serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Br J Dermatol* 2008;158:487–95. doi:10.1111/j.1365-2133.2007.08392.x.
- [110] Jacobsen S, Halberg P, Ullman S, Van Venrooij WJ, Høier-Madsen M, Wiik A, et al. Clinical features and serum antinuclear antibodies in 230 Danish patients with systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1998;37:39–45.
- [111] Sobanski V, Giovannelli J, Lynch BM, Schreiber BE, Nihtyanova SI, Harvey J, et al. Characteristics and Survival of Anti-U1 RNP Antibody – Positive Patients With Connective Tissue Disease – Associated Pulmonary Arterial Hypertension 2016;68:484–93. doi:10.1002/art.39432.
- [112] Wolfe JF, Adelstein E, Sharp GC. Antinuclear antibody with distinct specificity for Find the latest version: Concise Antinuclear Antibody with Distinct Specificity for Polymyositis. *J Clin Invest* 1977;59:176–8.
- [113] Reichlin M, Madisson, P. J., Targoff I, Bunch T, Arnett F, Sharp, G., Treadwell, E., Tan WM. Antibodies to a Nuclear / Nucleolar Antigen In Patients with Polymyositis Overlap Syndromes. *J Clin Immunol* 1984;4.
- [114] Hanke K, Bruckner CS, Dahnrich C, Huscher D, Komorowski L, Meyer W, et al. Antibodies against PM/Scl-75 and PM/Scl-100 are independent markers for different subsets of systemic sclerosis patients. *Arthritis Res Ther* 2009;11:R22. doi:10.1186/ar2614.
- [115] Brouwer R, Egberts WTMV, Hengstman GJD, Raijmakers R, Van Engelen BGM, Seelig HP, et al. Autoantibodies directed to novel components of the PM/Scl complex, the human exosome. *Arthritis Res* 2002;4:134–8. doi:10.1186/ar389.
- [116] Mahler M, Fritzler MJ. The changing landscape of the clinical value of the PM/Scl autoantibody system. *Arthritis Res Ther* 2009;11:106. doi:10.1186/ar2646.
- [117] Fabien N, Rousset H. Immunological diagnostic of scleroderma. *Pathol Biol* 2002;50:243–55. doi:10.1016/S0369-8114(02)00296-1.
- [118] Reimer G, Scheer U, Peters J-M, Tan EM. Immunolocalization and partial characterization of a nucleolar autoantigen (PM-Scl) associated with polymyositis/scleroderma overlap syndromes. *J Immunol* 1986;137:3802–8.

- [119] Muro Y, Hosono Y, Sugiura K, Ogawa Y, Mimori T, Akiyama M. Anti-PM/Scl antibodies are found in Japanese patients with various systemic autoimmune conditions besides myositis and scleroderma. *Arthritis Res Ther* 2015;17:1–10. doi:10.1186/s13075-015-0573-x.
- [120] Genth E, Mierau R, Genetzky P, Von Mühlen CA, Kaufmann S, Von Wilmowsky H, et al. Immunogenetic associations of scleroderma-related antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum* 1990;33:657–65.
- [121] Marguerie C, Bunn CC, Copier J, Bernstein R, Gilroy J, Black CM, et al. The clinical and immunogenetic features of patients with autoantibodies to the nucleolar antigen PM-Scl. *Med* 1992;71:327–36.
- [122] Koschik II RW, Fertig N, Lucas MR, Domsic RT, Medsger TA, Koschik 2nd RW, et al. Anti-PM-scl antibody in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2012;30:S12–6.
- [123] Guillen-Del Castillo A, Pilar Simeón-Aznar C, Fonollosa-Pla V, Alonso-Vila S, Reverte-Vinaixa MM, Muñoz X, et al. Good outcome of interstitial lung disease in patients with scleroderma associated to anti-PM/Scl antibody. *Semin Arthritis Rheum* 2014;44:331–7. doi:10.1016/j.semarthrit.2014.07.002.
- [124] Mimori T, Akizuki M, Yamagata H et al. Characterization of a high molecular weight acidic nuclear protein recognized by autoantibodies in sera from patients with polymyositis-scleroderma overlap. *J Clin Invest* 1981;68:611–20.
- [125] Cavazzana I, Ceribelli A, Quinzanini M, Scarsi M, Cattaneo R, Franceschini F. Prevalence and clinical associations of anti-Ku antibodies in systemic autoimmune diseases. *Lupus* 2008;17:727. doi:10.1177/0961203308089442.
- [126] Franceschini F, Cavazzana I, Generali D, Quinzanini M, Viardi L, Ghirardello A, et al. Anti-Ku antibodies in connective tissue diseases: Clinical and serological evaluation of 14 patients. *J Rheumatol* 2002;29:1393–7.
- [127] Isern R, Yaneva M, Weiner E, Dantzker D, Rich S. Autoantibodies in patients with primary pulmonary hypertension: Association with anti-Ku. *Am J Med* 1992;93:307–12.
- [128] Rozman B, Cucnik S, Sodin-Semrl S, Czirja L, Varju C, Distler O, et al. Prevalence and clinical associations of anti-Ku antibodies in patients with systemic sclerosis: a European EUSTAR-initiated multi-centre case – control study. *Ann Rheum Dis* 2008;67:1282–6. doi:10.1136/ard.2007.073981.

- [129] Wassarman KM, Steitz JA. The Low-Abundance Ull and U12 Small Nuclear Ribonucleoproteins (snRNPs) Interact To Form a Two-snRNP Complex 1992;12:1276–85.
- [130] 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 Rheum* 2009;61:958–65. doi:10.1002/art.24586.
- [131] McMahan Z, Domsic RT, Zhu L, Medsger TA, Casciola-Rosen L, Shah AA. Anti-RNPC-3 (U11/U12) Antibodies in Systemic Sclerosis in Patients With Moderateto-Severe Gastrointestinal Dysmotility. *Arthritis Care Res* 2019;71:1164–70.
- [132] Kaji K, Fertig N, Medsger Jr. TA, Satoh T, Hoshino K, Hama-guchi Y, et al. Autoantibodies to RuvBL1 and RuvBL2: A novel systemic sclerosis-related antibody associated with diffuse cutaneous and skeletal muscle involvement. *Arthritis Care Res* 2014;66:575–84. doi:10.1002/acr.22163.
- [133] Steen VD, Medsger TA. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma 2000;43:2437–44.
- [134] Clements PJ, Hurwitz EL, Wong WKEE, Seibold JR, Mayes M, White B, et al. Skin thickness score as a predictor and correlate of outcome in systemic sclerosis. High-Dose Versus Low-Dose Penicillamine Trial 2000;43:2445–54.
- [135] Steen VD, Medsger TA. Improvement in Skin Thickening in Systemic Sclerosis Associated With Improved Survival 2001;44:2828–35.
- [136] Perera A, Fertig N, Lucas M, Rodriguez-reyna TS, Hu P, Steen VD, et al. Clinical Subsets, Skin Thickness Progression Rate, and Serum Antibody Levels in Systemic Sclerosis Patients With Anti-Topoisomerase I Antibody. *Arthritis Rheum* 2007;56:2740–6. doi:10.1002/art.22747.
- [137] Dobrota R, Maurer B, Graf N, Jordan S, Mihai C, Kowal-bielecka O, et al. Prediction of improvement in skin fibrosis in diffuse cutaneous systemic sclerosis: a EUSTAR analysis. *Ann Rheum Dis* 2016;1743–8. doi:10.1136/annrheumdis-2015-208024.
- [138] Maurer B, Graf N, Michel BA, Müller-ladner U, Czirják L, Denton CP, et al. Prediction of worsening of skin fibrosis in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis using the EUSTAR database. *Ann Rheum Dis* 2015;74:1124–31. doi:10.1136/annrheumdis-2014-205226.

- [139] Amjadi S, Maranian P, Furst DE, Clements PJ, Wong WK, Postlethwaite AE, et al. Course of Modified Rodnan Skin Score in Systemic Sclerosis Clinical Trials: Analysis of 3 Large Multicenter, Randomized Clinical Trials. *Arthritis Rheum* 2010;60:2490–8. doi:10.1002/art.24681.Course.
- [140] Merkel PA, Silliman NP, Clements PJ, Denton CP, Furst DE, Pope JE. Patterns and Predictors of Change in Outcome Measures in Clinical Trials in Scleroderma An Individual Patient Meta-Analysis of 629 Subjects with Diffuse Scleroderma 2013;64:3420–9. doi:10.1002/art.34427.Patterns.
- [141] Bossini-Castillo L, López-Isac E, Mayes MD, Martín J. Genetics of systemic sclerosis. *Semin Immunopathol* 2015;37:443–51. doi:10.1007/s00281-015-0499-z.
- [142] Nihtyanova SI, Ong VH, Denton CP. Systemic Sclerosis Disease Subset Is a Better Predictor Of Long Term Outcome Than Autoantibody Profile n.d.:8–9.
- [143] Mohile M, Lucas M, Medsger T, Steen V. Clinical subtype and autoantibodies both help predict pulmonary arterial hypertension, but autoantibodies are stronger predictors of developing secondary pulmonary hypertension. *Clin Exp Rheumatol* 2014;32:S-21.
- [144] 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;42:2660–5.
- [145] Scussel-Lonzetti L, Joyal F, Raynauld J, Roussin A, Rich É, Goulet J, et al. Predicting Mortality in Systemic Sclerosis Analysis of a Cohort of 309 French Canadian Patients with Emphasis on Features at Diagnosis as Predictive Factors for Survival. *Med* 2002;81:154–67.
- [146] Ferri C, Valentini G, Cozzi F, Michelassi C, La Montagna G, Bullo A et al. Systemic sclerosis: demographic, clinical, and serologic features and survival in 1,012 Italian patients. *Medicine (Baltimore)* 2001;81:139-53.
- [147] Simeon-Aznar C, Fonollosa-Plà V, Tolosa-Vilella C, Espinosa-Garriga G, Campillo-Grau M, et al. Registry of the Spanish Network for Systemic Sclerosis. Survival, prognostic factors, and causes of death. *Med* 2015;94:1–9. doi:10.1097/MD.0000000000001728.

- [148] Domsic RT, Nihtyanova SI, Wisniewski SR, Fine MJ, Lucas M, Kwok CK, et al. Derivation and External Validation of a Prediction Rule for Five-Year Mortality in Patients With Early Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheumatol* 2016;68:993–1003. doi:10.1002/art.39490.
- [149] Steen VD. Autoantibodies in Systemic Sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005;35:35–42. doi:10.1016/j.semarthrit.2005.03.005.
- [150] Kranenburg P, Hombergh WMT Van Den, Knaapen-hans HKA, Hoogen FHJ Van Den, Fransen J, Vonk MC. Survival and organ involvement in patients with limited cutaneous systemic sclerosis and anti-topoisomerase-I antibodies: determined by skin subtype or auto-antibody subtype? A long-term follow-up study. *Rheumatol* 2016;55:1–8. doi:10.1093/rheumatology/kew298.
- [151] Simeón-Aznar CP, Fonollosa-Plá V, Tolosa-Vilella C, Espinosa-Garriga G, Ramos-Casals M, Campillo-Grau M, et al. Registry of the Spanish Network for Systemic Sclerosis: Clinical Pattern According to Cutaneous Subsets and Immunological Status. *Semin Arthritis Rheum* 2012;41:789–800. doi:10.1016/j.semarthrit.2011.10.004.
- [152] Rubio-Rivas M, Corbella X, Guillén-Del-Castillo A, Tolosa Vilella C, Colunga-Argüelles D, Argibay A, et al. Spanish scleroderma risk score (RESCLESCORE) to predict 15-year all-cause mortality in scleroderma patients at the time of diagnosis based on the RESCLE cohort: Derivation and internal validation. *Autoimmun Rev* 2020. doi:10.1016/j.autrev.2020.102507.

