



Universidad
Zaragoza

TRABAJO FIN DE MÁSTER

UTILIDAD CLÍNICA Y PRONÓSTICA DE LA DETERMINACIÓN POR INMUNOBLOT DEL “PERFIL DE 12 ANTICUERPOS ASOCIADOS A ESCLERODERMIA” EN PACIENTES CON SOSPECHA O DIAGNÓSTICO DE ESCLERODERMIA

The clinical significance and prognostic value of 12 antibodies associated with systemic sclerosis included in a line blot assay in patients with suspected or diagnosed scleroderma.

Autor

Paula López de Turiso Giner

Directores

José Vellilla Marco

Luis Martínez Lostao

Luis Saez Comet

Facultad de Medicina

2023

INDICE

Resumen	2
Abstract	3
1. INTRODUCCIÓN:	4
1.1 EPIDEMIOLOGÍA	4
1.2 FISIOPATOLOGÍA	5
1.3 FORMAS CLÍNICAS DE ESCLERODERMIA.	5
1.4 CRITERIOS CLASIFICATORIOS.	6
1.5 MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y EVOLUCIÓN	7
Afectación vascular periférica:.....	8
Afectación cutánea y musculoesquelética:.....	8
Afectación digestiva:.....	9
Afectación pulmonar:	10
Afectación cardíaca:.....	10
Afectación renal:.....	10
1.6 AUTOANTICUERPOS ASOCIADOS A LA ESCLERODERMIA	11
TÉCNICAS DE LABORATORIO	12
1.7 CURSO DE LA ENFERMEDAD Y PRONÓSTICO	18
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO Y OBJETIVOS:	19
3. MATERIAL Y MÉTODOS:	20
4. RESULTADOS	24
4.1 Características demográficas y clínicas de la muestra.	24
4.2 Manifestaciones clínicas asociadas a la positividad de los distintos autoanticuerpos. ..	28
4.3 Afectación visceral asociada a la positividad de los distintos autoanticuerpos	31
4.4 Supervivencia e incidencia acumulada de la evolución de la enfermedad según los distintos autoanticuerpos.	33
4.4.1 Análisis de supervivencia desde Raynaud hasta EPID	33
4.4.2 Análisis de supervivencia desde Raynaud hasta Hipertensión Pulmonar	35
5. DISCUSIÓN	38
6. CONCLUSIONES.	44
7. BIBLIOGRAFÍA:	45

Resumen

Introducción: La esclerosis sistémica progresiva (ESP) o esclerodermia, es una enfermedad autoinmune sistémica altamente heterogénea en cuanto a su curso clínico. La detección de autoanticuerpos asociados a la enfermedad por nuevas técnicas puede ayudar a predecir el desarrollo de manifestaciones y complicaciones.

Objetivos: Identificar los fenotipos clínicos asociados a la positividad de cada uno de los 12 anticuerpos incluidos en un panel de inmunoblot que se asocian a la esclerodermia.

Método: Se recogieron todos los pacientes con positividad para el perfil específico de autoanticuerpos en los análisis realizados en el Hospital Clínico Lozano Blesa de Zaragoza entre marzo de 2019 y diciembre de 2022. Este panel incluye: Scl-70, CENP-A, CENP-B, PM-Scl100, PM-Scl75, Ku, RNA polimerasa III, U1-RNP (68kD/A/C), Th/To, Fibrilarina, NOR-90 y SSA/Ro52kD. Se analizó mediante tablas de contingencia y análisis de supervivencia si su positividad modificaba la presentación clínica de la enfermedad.

Resultados: Se incluyeron 186 pacientes únicos. La positividad para CENPA o CENPB fue de 56 (30,1%) siendo la más frecuente y se asoció a menor morbimortalidad en cuanto a Enfermedad pulmonar intersticial (EPI) e Hipertensión Pulmonar (HTP), Hazard ratio (HR) de 0,20($p<0,001$) y 0,33($p=0,013$) respectivamente. Scl70, $n=20$ (10,8%) se asoció a una mayor proporción de EPI y HTP, Odds ratio (OR) de 17 y 7,23 respectivamente ($p<0,001$). RNA Pol-III, $n=17$ (9,1%) también mostró mayor riesgo de EPID y HTP con OR de 2,83($p=0,036$) y 4,67($p=0,005$). PM-Scl100($n=15$; 8,1%), PM-Scl75 ($n=5$; 4,3%), Ku ($n=8$; 4,3%), U1-RNP ($n=12$; 6,5%), Th/To ($n=11$; 5,9%), U3RNP ($n=10$; 5,4%), NOR-90 ($n=14$; 7,5%) y SSA/Ro52kD ($n=35$; 18,8%) no mostraron asociaciones significativas con afectaciones viscerales.

Conclusiones: La presencia de ciertos anticuerpos en el suero de los pacientes puede ayudar a predecir la progresión de la enfermedad y, por tanto, contribuir a guiar la monitorización, tratamiento y perfilar el pronóstico de los pacientes.

Palabras clave: Esclerosis sistémica, anticuerpos, enfermedad pulmonar intersticial, inmunoblot, hipertensión pulmonar.

Abstract

Background: Systemic sclerosis (SSc) also known as scleroderma, is a highly heterogeneous autoimmune disease in terms of its clinical course. Autoantibodies detection through novel techniques may help predict the risk of developing complications or specific clinical manifestations.

Objectives: To identify the clinical phenotypes associated with a positive result for any of the 12 antibodies included in a line blot assay developed for the identification of SSc related autoantibodies.

Methods: Every patient with a positive result for the SSc specific line blot assay conducted at Lozano Blesa Hospital in Zaragoza between March 2019 and December 2022 was included. This line blot assay aimed to detect Scl-70, CENP-A, CENP-B, PM-Scl100, PM-Scl75, Ku, RNA polymerase III, U1-RNP (68kD/A/C), Th/To, Fibrillarin, NOR-90, and SSA/Ro52kD. Survival and chi-square analysis were performed to assess whether any positivity for any of them was associated with a specific disease form.

Findings: A total of 186 patients were included. A positive result for CENPA/CENPB was found in 56 participants (30,1%), being the most frequent, and it correlated with diminished risk of Interstitial Lung Disease (ILD) and Pulmonary Hypertension (PH), Hazard ratio (HR) of 0.20 ($p<0.001$) and 0.33 ($p=0.013$) respectively. Scl70, $n=20$ (10.8%), correlated with an increased proportion of ILD and PH, Odds ratio (OR) of 17 and 7.23 respectively ($p<0.001$). RNA pol-III, $n=17$ (9.1%), also manifested elevated risk of EPID and HTP with OR of 2.83 ($p=0.036$) and 4.67 ($p=0.005$). PM-Scl100($n=15$; 8.1%), PM-Scl75 ($n=5$; 4.3%), Ku ($n=8$; 4.3%), U1-RNP ($n=12$; 6.5%), Th/To ($n=11$; 5.9%), U3RNP ($n=10$; 5.4%), NOR-90 ($n=14$; 7.5%), and SSA/Ro52kD ($n=35$; 18.8%) exhibited no significant associations with any organ involvement.

Conclusions: The detection of specific antibodies in serum can assist in predicting disease progression and decision-making regarding the follow up and the treatment of each patient.

Key words: Systemic sclerosis, antibodies, interstitial lung disease, immunoblot, pulmonary hypertension.

1. INTRODUCCIÓN:

La Esclerosis Sistémica Progresiva o esclerodermia (ESP) es una enfermedad altamente heterogénea. Se clasifica en el espectro de las Enfermedades Autoinmunes Sistémicas (EAIS), más concretamente, dentro de las denominadas enfermedades sistémicas del tejido conectivo.

Su patogénesis se caracteriza por afectación a nivel del endotelio vascular, presencia de autoanticuerpos y aparición de fibrosis. La afectación más común es la de la piel, pero puede afectar a múltiples órganos y sistemas, siendo esta afectación visceral la principal determinante de su morbimortalidad (1).

La esclerodermia es una enfermedad con una baja prevalencia y un curso clínico progresivo, de gravedad variable, dependiendo de las características clínicas y autoinmunes del paciente.

En la mayoría de los casos, el diagnóstico de esclerodermia es tardío, debido a la gran variabilidad e inespecificidad de sus síntomas. La aparición en los últimos años de nuevos tratamientos, especialmente en casos de afectación visceral severa, subraya la importancia de la identificación precoz y la instauración temprana de las terapias (2).

1.1 EPIDEMIOLOGÍA

La prevalencia y la incidencia de la esclerodermia tiene una gran variabilidad entre los distintos estudios epidemiológicos. Este hecho se debe a la evolución de los criterios de clasificación a lo largo de los años y de la situación demográfica.

Según los datos disponibles la incidencia poblacional de esclerodermia se estima entre 8 a 56 casos nuevos por millón de personas/año y su prevalencia entre 38 y 341 casos por millón de personas (3). Como la mayoría de las enfermedades autoinmunes, afecta predominantemente a mujeres, con una proporción de 8:1. La edad media de aparición se encuentra entre los 40 y 50 años, aunque varía en función de la forma clínica, el sexo y la procedencia geográfica (4).

1.2 FISIOPATOLOGÍA

La fisiopatología de la esclerodermia es compleja. Etiológicamente, la esclerodermia se desencadena tras la exposición a distintos factores ambientales no identificados, sobre un individuo genéticamente predispuesto.

Se distinguen tres hechos patogénicos: La afectación del endotelio vascular, la presencia de autoanticuerpos circulantes y la aparición de fibrosis. Inicialmente aparece el daño a nivel del endotelio vascular, con una respuesta autoinmune e inflamatoria desproporcionada y desorganizada. Como resultado final se produce un proceso fibrótico con acumulación de proteínas de la matriz extracelular tanto en la piel como en los órganos. (5,6).

1.3 FORMAS CLÍNICAS DE ESCLERODERMIA.

La esclerodermia es una enfermedad heterogénea, con gran variabilidad entre sus manifestaciones clínicas y pronósticas. Para una mejor comprensión de la enfermedad, se propuso clasificarla en distintos subtipos clínicos.

Clásicamente, se distinguen 4 formas clínicas en función de la afectación cutánea, la afectación visceral, los hallazgos capilaroscópicos y la positividad de los anticuerpos (7)

- **Pre-esclerodermia:** Pacientes únicamente con fenómeno de Raynaud, presencia de autoanticuerpos específicos circulantes y alteración capilaroscópica.
- **Esclerodermia Difusa:** Cursa con fenómeno de Raynaud y posterior aparición en menos de un año de afectación cutánea, como dactilitis o esclerosis proximal. Estos pacientes además presentan afectación visceral múltiple de instauración temprana en forma de enfermedad pulmonar intersticial, enfermedad gastrointestinal, renal y/o miocárdica. En las pruebas complementarias se objetiva alteración en la capilaroscopia con pérdida o dilatación de capilares y se pueden detectar en sangre autoanticuerpos anti-topoisomerasa I o anti-Scl70 (30%) y anti-RNA polimerasa I, II o III (15%).

- **Esclerodermia Limitada:** Este subtipo presenta años de evolución de fenómeno de Raynaud como único síntoma. Puede aparecer esclerosis cutánea de distribución predominantemente acral y las manifestaciones viscerales tienen una aparición tardía. La capilaroscopia se caracteriza por dilatación del capilar con escasa pérdida y en el 70-80% de los casos están presentes los anticuerpos anti-centrómero.
- **Esclerodermia sin afectación cutánea:** Presenta fenómeno de Raynaud sin manifestaciones cutáneas asociadas. Además, la manifestación visceral puede ser variada en forma de fibrosis pulmonar, enfermedad renal, cardíaca o gastrointestinal. Presentan anticuerpos anti-centrómero en un 40% de los pacientes y antiScl70 en un 20% aunque con cierta variabilidad según la cohorte consultada.

1.4 CRITERIOS CLASIFICATORIOS.

Los criterios clasificatorios de esclerodermia se encuentran en constante revisión debido al estudio continuo de esta entidad y la aparición de nueva evidencia sobre sus características.

Así, en 1980 el American College of Rheumatology (ACR) propuso unos criterios clasificatorios muy restrictivos, ya que, no identificaban adecuadamente a todos los pacientes, excluyendo los casos de esclerodermia temprana y algunas formas cutáneas limitadas de la enfermedad.

Posteriormente, en 1988 y 2001, LeRoy y Medsger propusieron nuevos criterios que incluyeron entre sus ítems el fenómeno de Raynaud, la fibrosis de la piel, la positividad de autoanticuerpos específicos y alteración en la capilaroscopia ungueal. Estos nuevos criterios aumentaron la sensibilidad para la clasificación (8).

Finalmente, en 2013 el ACR y la EULAR (European Alliance of Associations for Rheumatology) conjuntamente proponen los criterios clasificatorios de la esclerodermia, vigentes en el momento actual. Estos criterios constan de 8 ítems, cada

uno de los cuales se asocia a una puntuación específica. Sumados, determinan la probabilidad diagnóstica de esclerodermia (**Tabla 1**) (9).

Tabla 1: Criterios clasificatorios de la esclerodermia (ACR/EULAR 2013).

ÍTEM	SUBÍTEM	PUNTOS
Endurecimiento de la piel de ambas manos proximal a articulaciones metacarpofalángicas (criterio suficiente)		9
Endurecimiento de la piel de los dedos (contar solo la puntuación más alta)	Hinchazón de la totalidad de los dedos	2
	Esclerodactilia	4
Lesiones en las yemas de los dedos (contar solo la puntuación más alta)	Úlceras en las yemas de los dedos	2
	Cicatrices en yemas de dedos (<i>pitting scars</i>)	3
Telangiectasias		2
Anomalías de los capilares del lecho ungueal típicas de la esclerodermia		2
Hipertensión arterial pulmonar y/o enfermedad pulmonar intersticial		2
Fenómeno de Raynaud		3
Anticuerpos relacionados con esclerodermia: anti-centrómero, anti-topoisomerasa I ó anti-RNAPolimerasa III		3
Interpretación: se puede diagnosticar esclerodermia, si la puntuación total es ≥ 9.		

Estos criterios NO SON APLICABLES en pacientes con engrosamiento cutáneo o trastornos similares a la esclerosis sistémica que pueden explicarse por otras causas, como fibrosis esclerosante nefrogénica, morfea generalizada, fascitis eosinofílica, escleredema relacionado con diabetes, escleromixedema, eritromelalgia, porfiria o enfermedad del injerto contra huésped.

1.5 MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y EVOLUCIÓN

Como ya hemos comentado, la esclerodermia afecta a múltiples órganos de forma heterogénea y con distintos niveles de gravedad. Las manifestaciones clínicas más características son el fenómeno de Raynaud y la esclerodactilia. La causa de muerte más frecuente de estos pacientes es la afectación pulmonar (9). Además, puede cursar de forma larvada o progresar rápidamente, por lo que requiere un seguimiento estrecho desde el inicio de la enfermedad. De esta manera, podremos hacer frente a las complicaciones evolutivas y posibilitar su tratamiento específico (10,11).

Las principales manifestaciones clínicas son:

Afectación vascular periférica:

El **fenómeno de Raynaud** es una alteración transitoria de la perfusión a nivel digital tanto de manos como de pies. En su forma más típica se manifiesta con cambios en la coloración de la piel, en tres fases: palidez, cianosis y eritema de reflujo (12).

Este fenómeno está presente en el 90% de los pacientes con esclerodermia, pero tiene una baja especificidad. Puede ocurrir meses o años antes de la aparición de otras manifestaciones relacionadas con la enfermedad (13,14). En general, desde que se detecta hasta que se realiza el diagnóstico definitivo de esclerodermia transcurren 6 años de media (15).

Las **úlceras digitales** aparecen en la mitad de los pacientes con esclerodermia. Éstas son de origen isquémico por alteración microvascular y se relacionan con el fenómeno de Raynaud. El 20% de los pacientes con úlceras sufren complicaciones como impotencia funcional o infecciones, por lo que se trata de una patología con un gran impacto en la calidad de vida (10,13).

Otra manifestación secundaria a la alteración microvascular es la aparición de **telangiectasias cutáneas** en cara y palmas (11).

Todas las manifestaciones previamente descritas se deben a cambios en la microcirculación sistémica. Estos cambios se pueden objetivar gracias a la capilaroscopia del pliegue ungueal. La pérdida de capilares, la presencia de megacapilares o microhemorragias son las anomalías características de la esclerodermia. Éstas se encuentran en el 74% de los pacientes y son un marcador de actividad de la enfermedad (13,14).

Afectación cutánea y musculoesquelética:

Las manifestaciones cutáneas están presentes en la mayoría de los casos de esclerodermia. Solo encontramos un 5% de los pacientes sin afectación cutánea, que son clasificados como Esclerosis Sistémica sin esclerodermia (11).

La afectación de la piel se produce al inicio del curso de la enfermedad, por lo que tiene un papel crucial en el diagnóstico. Así mismo, la progresión de la afectación cutánea tiene un papel pronóstico como predictor independiente de la mortalidad (10,16).

La alteración de la piel más características es la **fibrosis cutánea**. Suele instaurarse en tras varias fases, inicialmente se produce una inflamación de los dedos, también denominada dactilitis. Posteriormente evoluciona hacia un engrosamiento o endurecimiento de la piel de los dedos de las manos y pies de forma simétrica, calificada como **esclerodactilia**. Un 20% de los pacientes presentaron esclerodactilia al inicio del desarrollo de su enfermedad (13).

Otras manifestaciones características son la fibrosis peribucal con amimia secundaria, xerostomía y síndrome seco por esclerosis de las glándulas exocrinas.

Las manifestaciones musculoesqueléticas más frecuentes son las artralgias, afectación muscular y roces tendinosos secundarios al engrosamiento de la vaina del tendón (11).

Afectación digestiva:

Las manifestaciones digestivas son muy diversas y ocurren en la mayoría de los pacientes con esclerodermia. Presentan una alta morbilidad debido a la dificultad para su diagnóstico y la ausencia de tratamientos curativos.

El 90% de los pacientes presentan síntomas del tracto digestivo superior como disfagia, reflujo gastroesofágico, disfunción de la motilidad del intestino delgado y sobrecrecimiento bacteriano (17,18).

En el tracto digestivo inferior, debido a la dismotilidad, los pacientes presentan estreñimiento, distensión abdominal y en un 50-70% de los casos, incontinencia fecal (19).

Afectación pulmonar:

La afectación pulmonar se manifiesta en forma de disnea, disminución de la tolerancia al ejercicio y tos crónica. Se presenta de dos formas clínicas patológicas distintas:

- **Enfermedad pulmonar intersticial difusa (EPID):** Aparece en el 30-50% de los pacientes con esclerodermia en los primeros 5 años tras el diagnóstico. La EPID es la principal causa de muerte en estos pacientes, por lo que deberemos sospecharla al encontrar alteraciones en la espirometría, aunque el diagnóstico definitivo se realiza con la tomografía computarizada torácica de alta resolución (TACAR) (11,13,20).
- **Hipertensión pulmonar (HTP):** Aparece en el 5-15% de los pacientes y su detección precoz mejora significativamente su pronóstico vital tras la instauración del tratamiento. La prueba diagnóstica definitiva es el cateterismo derecho, tras sospecharla por ecocardiografía transtorácico (10,11,13).

Afectación cardíaca:

La esclerodermia produce una gran variedad de manifestaciones a nivel cardíaco como disfunción sistólica y diastólica del ventrículo izquierdo, insuficiencia cardíaca, pericarditis, fibrosis miocárdica y anomalías en la conducción entre otras. Este hecho hace difícil estimar la prevalencia con exactitud, que oscila entre un 7-32% de los pacientes (13,21).

La afectación cardíaca sintomática se asocia con un aumento en la mortalidad en los pacientes con esclerodermia (13,21,22).

Afectación renal:

La afectación renal es una manifestación relativamente frecuente. En un 20% de los casos puede pasar desapercibida, por ausencia de síntomas o por aparición de síntomas inespecíficos como proteinuria, hipertensión o fracaso renal leve.

La **crisis renal** es una forma de presentación grave que cursa con deterioro rápido de la función renal e hipertensión. Ésta es un factor de riesgo de mortalidad, presente en un 5-10% de los pacientes, aunque afortunadamente cada vez más infrecuente debido a la

eficacia del tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs). Se asocia al sexo masculino, a la positividad de los anticuerpos anti-ARNpol-III y al uso prolongado de corticoides (13,23).

1.6 AUTOANTICUERPOS ASOCIADOS A LA ESCLERODERMIA

Los autoanticuerpos son inmunoglobulinas dirigidas contra determinados antígenos propios. Como en el conjunto de las enfermedades autoinmunes sistémicas, en la esclerodermia los autoanticuerpos característicos se dirigen frente a antígenos presentes en múltiples órganos, como son las estructuras celulares. Los más relevantes son los anticuerpos anti-nucleares (ANA), terminología obsoleta, ya que, actualmente se prefiere el término anticuerpos anti-celulares. Este cambio es debido a que los antígenos diana están presentes no sólo en el núcleo celular sino también en el citoplasma, membranas celulares o en estructuras mitóticas como son el nucléolo o centrómeros (24).

Estos anticuerpos son de gran importancia en la esclerodermia, ya que se encuentran positivos en el 90-95% de los pacientes diagnosticados de esta enfermedad, aunque, hay que resaltar que su negatividad no excluye el diagnóstico (25).

Los anticuerpos anti-celulares tienen diferentes subtipos que se relacionan con las enfermedades autoinmunes sistémicas. En el caso de la esclerodermia encontramos autoanticuerpos con una alta especificidad de esta enfermedad, ya que éstos tienen una aparición infrecuente en otras enfermedades autoinmunes o en personas sanas (26,27). Por ello, tiene relevancia conocer el perfil de autoanticuerpos de manera precoz, en cuanto a clase y título, ya que éste no cambia durante el transcurso de la enfermedad del paciente (26,28).

TÉCNICAS DE LABORATORIO

Ante la sospecha clínica de esclerodermia se realiza el estudio de autoinmunidad. La técnica de referencia de la determinación de la positividad de los ANAs es la inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre células HEP-2. Esta técnica tiene una alta sensibilidad para reconocer ANA e identificar patrones morfológicos, por lo que sigue siendo una técnica de cribado obligatoria en el estudio de pacientes con sospecha de enfermedades autoinmunes sistémicas.

Como se ha comentado previamente los ANA son positivos en la mayoría de los pacientes con esclerodermia, siendo los patrones anti-nucleolares y anti-centroméricos los más frecuentemente descritos por IFI.

La totalidad de los patrones por IFI en células HEP-2 según el ICAP se recogen en la **Tabla 2**.

A) Nucleares

Patrón	Descripción	Antígenos diana	Enfermedades asociadas
AC1	HOMOGENEO nuclear	dsDNA, nucleosomas, histonas	LES, lupus por fármacos
AC2	MOTEADO FINO DENSO	DFS70	Diagnóstico de exclusión
AC3	CENTRÓMERO	CENP-B, CENP-A	ESP (limitada)
AC4	MOTEADO FINO	SSA, SSB / Ku / Mi2, TIF1γ	LES, LES neonat, SSj/ Solapamiento
AC5	MOTEADO GRUESO	U1-RNP, Sm, RNA pol III	LES, EMTC, ESP
AC6 AC7	PUNTOS NUCLEARES Puntos nucleares escasos	Sp100, NXP2 (P80-coilina)	CPB, MII LES, SSj
AC8 AC9 AC10 AC29	Nucleolar homogéneo Nucleolar moteado Nucleolar granular Nucleolar + Homogéneo	PM-Scl, Th/To Fibrilarina-U3RNP RNA pol I, NOR90 Scl70 (Topoisomerasa I)	Solapamiento, ESP ESP ESP ESP (difusa)
AC11-12	Membrana nuclear	Gp210, Láminas	CBP, LES, SSj
AC13	Pleomórfico	PCNA	No específico (¿LES?)
AC14	CENP-F	CENP-F	Neoplasia

B) Citoplásmicos

Patrón	Descripción	Antígenos diana	Enfermedades asociadas
AC15	Fibras en haces	F-Actina	HAI
AC17 AC18	Otras fibras citoplásmicas Cuerpos GW (lisosoma)	Vimentina, tropomiosina Varios antígenos	No específicos No específicos
AC19	Moteado fino	tRNA sintetasa (PL7, PL12), HGMCR, SRP, Ribosomal P	MII, EPI LES
AC20	= 19 + puntos nucleares	Jo1	MII, EPI
AC21	Moteado grueso	Antimitocondriales (M2)	CBP
AC22 AC24-27	Aparato Golgi mitótico: centrosoma, huso, NuMA,	Varios antígenos	No específicos de enfermedad

Tabla 2: Patrones Celulares por IFI sobre células Hep-2: Descripción morfológica, Antígenos Diana y Enfermedades asociadas. Se destacan sobre fondo amarillo los patrones asociados a ESP y en letra negrita los Antígenos dianas (29).

La IFI es un procedimiento profesional-dependiente por su alta subjetividad, no permite concretar los antígenos diana contra los que van dirigidos y aunque recientemente se ha creado la iniciativa *International Consensus on standardized nomenclature of Antinuclear antibody HEp-2 Cell Patterns (ICAP)* (30), sigue sin existir todavía una estandarización universalmente aceptada. Por lo que una vez confirmada la positividad de los ANAs, es necesario, realizar otros estudios adicionales para poder categorizar los diferentes anticuerpos específicos (26,27).

Estos estudios se basan principalmente en el empleo de técnicas como el ensayo inmunoabsorbente directo ligado a enzimas (ELISA) o la inmunotransferencia (inmunoblot) que permiten la identificación estandarizada y automatizada de autoanticuerpos dirigidos contra antígenos celulares concretos.

La técnica ELISA se utiliza de forma rutinaria en la práctica clínica habitual por su bajo coste y reproducibilidad, sin embargo, como inconvenientes sólo permite la identificación de un solo autoanticuerpo en cada estudio, tiene una tasa no desdeñable de falsos positivos y un análisis limitado de los subtipos de anticuerpos. Por otra parte, la técnica de inmunotransferencia o inmunoblot puede identificar antígenos específicos de forma simultánea con una alta rentabilidad. No obstante, como limitaciones presenta una baja sensibilidad y necesita de una validación adicional (25,31).

Como podemos objetivar ninguna de las técnicas previamente comentadas son perfectas, por lo que se han realizado estudios posteriores para comparar la concordancia entre estas técnicas y la convencional (IFI). Éstos determinaron una buena correlación, por lo que estas técnicas se utilizan de forma conjunta con las tradicionales (31,32).

En cuanto a los autoanticuerpos específicos o relacionados con esclerodermia, clásicamente encontrábamos 3: Anti-centrómero, anti-ADN topoisomerasa I y anti-RNA polimerasa III. Todos ellos están incluidos en los criterios diagnósticos de esclerodermia del 2013 de la European Alliance of Associations for Rheumatology (EULAR) (26) . Las características de estos anticuerpos son:

- **Anticuerpo anti-centrómero:** Son autoanticuerpos dirigidos contra proteínas centroméricas, como CENP-A y CENP-B. Estos autoanticuerpos tienen una alta especificidad para esclerodermia, y los encontramos en un 20-30% de los pacientes. Además, su presencia junto con el fenómeno de Raynaud, predice un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad (26).

Los anti-centrómero se asocian con una forma de afectación cutánea limitada, calcinosis, hipertensión pulmonar y enlentecimiento del tránsito intestinal. Más infrecuente es la aparición de lesiones vasculares o musculoesqueléticas.

La principal causa de muerte en los pacientes con anti-centrómero positivo es la hipertensión pulmonar de aparición en etapas tardías, se desarrolla en el 10-20% de los casos (28,31).

- **Anticuerpo anti-topoisomerasa I (Scl70):** Estos autoanticuerpos reaccionan frente a proteína nativa de 100 kDa. Se encuentran en el 15-40% de los pacientes con esclerodermia según las series, con una alta especificidad (28).

Las manifestaciones clínicas asociadas son la afectación cutánea difusa, afectación vascular periférica en forma de úlceras y cicatrices, así como, afectación cardíaca grave. La aparición de enfermedad pulmonar intersticial se presenta en más de un 70% de los pacientes con esclerodermia y positividad para

anticuerpos anti-topoisomerasa I, por lo que estos autoanticuerpos son un indicador de mal pronóstico y disminución de la supervivencia (25,26).

- **Anticuerpo anti-RNA polimerasa III (ARNpol-III):** Estos autoanticuerpos están presentes en el 10-15% de los pacientes con esclerodermia. Las manifestaciones clínicas más frecuentemente son la afectación cutánea rápidamente progresiva, manifestaciones articulares, crisis renales y ectasia vascular gástrica antral (GAVE). Asimismo, parece haber una relación entre estos anticuerpos y neoplasias malignas, pendiente de confirmar con más estudios (31). Afortunadamente, presenta una menor asociación con fibrosis pulmonar respecto al anticuerpo anti-Scl70 (25).

Ahora bien, hasta en un tercio de los pacientes diagnosticados de esclerodermia no se detectan ninguno de los tres autoanticuerpos previamente comentados. Sin embargo, la mayoría de ellos presentan anticuerpos anti-celulares positivos. Por lo que en los últimos años se han intentado identificar nuevos autoanticuerpos asociados a esclerodermia ANA positivo, pero negatividad para los autoanticuerpos clásicos. Como son:

Autoanticuerpos reactivos frente a proteínas o estructuras del nucleolo: Mantiene una alta especificidad diagnóstica de esclerodermia. Estos autoanticuerpos son anti-U3 RNP (U3RNP) o anti-fibrilarina, los anti-Th/To (Th/To) y los anti-NOR90 (Nor90).

- **Anticuerpo anti-U3 RNP (U3RNP):** Es un autoanticuerpo frente a una proteína fibrilarina y un componente del complejo nucleolar U3-RNP. Se trata de un anticuerpo específico de esclerodermia y es positivo en el 4-10% de los casos. Puede presentar ambas formas de manifestación cutánea, aunque la más frecuente es la difusa. Además, en el 30% de los casos presenta manifestaciones viscerales graves como obstrucción intestinal, miocardiopatía e hipertensión pulmonar de comienzo rápido y grave. Por todo lo comentado previamente este anticuerpo se asocia con mal pronóstico y una supervivencia similar a los pacientes con esclerodermia y anticuerpos anti-Scl70 (26,31).

- **Anticuerpo anti-Th/To (Th/To):** Son autoanticuerpos específicos de esclerodermia y están dirigidos contra subunidades del complejo de la ribonucleoproteína en el nucléolo. Su prevalencia en los pacientes con esclerodermia es del 1-13% de los casos, y presentan una forma de afectación cutánea limitada. Los anticuerpos anti-Th/To presenta una alta incidencia de afectación pulmonar tanto en forma de hipertensión pulmonar como de enfermedad pulmonar intersticial, con una disminución de la supervivencia respecto a otros anticuerpos con afectación cutánea limitada (25,33).
- **Anticuerpo anti-NOR90 (NOR90):** Son autoanticuerpos presentes en múltiples enfermedades autoinmunes que se dirigen contra la región organizadora del nucléolo. En el caso de la esclerodermia están presentes en el 1-5% de los casos y se asocian con artralgias, fenómeno de Raynaud y afectación cutánea limitada. Conllevan una afectación visceral benigna y un pronóstico favorable (26,28).

Autoanticuerpos comunes a otras conectivopatías: Se asocian con otras conectivopatías, con una menor especificidad diagnóstica de esclerodermia. Suelen cursar en forma de síndromes de superposición o solapamiento. Los anti-U1 RNP asociados a Enfermedades mixtas del tejido conectivo, los anti-PM/Scl asociados a miositis, los anti-Ku asociados a lupus eritematoso sistémico (LES) y/o miositis. Por último, los anti-Ro52, están asociados a LES y síndrome de Sjögren, y positivos en hasta el 20-30% de los pacientes con esclerodermia, simultáneamente o no a algunos de los anteriores.

- **Anticuerpo anti-U1 RNP (U1RNP):** Son autoanticuerpos dirigidos contra las proteínas del ARN nuclear. Éstos se relacionan habitualmente con la enfermedad mixta del tejido conectivo. Aunque, no sean anticuerpos específicos de esclerodermia se pueden encontrar en un 6-7% de los pacientes. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son articular y musculoesquelética. Puede aparecer hipertensión pulmonar, pero con un curso más indolente y sin aumento de la mortalidad(26,31).

- **Anticuerpo anti-PM/Scl (PM/Scl 100 y 75):** Los autoanticuerpos están dirigidos principalmente contra proteínas del exoma humano, las más importantes son PM/Scl-75 y PM /Scl-100. El anticuerpo anti-PM/Scl se observa en el 4% de los pacientes con esclerodermia, y suele aparecer de forma conjunta con otros anticuerpos específicos de esta enfermedad. Las manifestaciones clínicas de estos pacientes se caracterizan en afectación muscular, calcinosis y fibrosis pulmonar con una evolución más favorable (25,31).
- **Anticuerpo anti-Ku (Ku):** El antígeno Ku es una proteína unida al ADN que se encarga de su reparación y regulación. Los autoanticuerpos anti-Ku están relacionados con los síndromes de superposición (overlap), en su mayoría con lupus eritematoso sistémico y miositis. Por ello, no son específicos de esclerodermia, pero podemos encontrarlos positivos en un 1-5% de los casos. Cuando aparecen se manifiestan en forma de artralgias o afectación cutánea limitada, rara vez como manifestaciones viscerales graves lo que le confiere un buen pronóstico (25,31)
- **Anticuerpo anti-Ro52:** Se trata de autoanticuerpo frente al citoplasma del complejo de la ribonucleoproteína. Aparece en el 20-30% de los pacientes con esclerodermia, aunque, no es exclusivo de esta entidad.
Por el momento, no está bien establecida la relación entre estos autoanticuerpos y las manifestaciones clínicas. Si bien, en algunos estudios la presencia de anticuerpos anti-Ro52 positivos en pacientes con esclerodermia aumentan el riesgo de afectación pulmonar grave, con escasa presencia de afectación cutánea(25,28).

En resumen, los autoanticuerpos anti-celulares se encuentran en la mayoría de los pacientes con esclerodermia. Existen diferentes subtipos que son específicos de esta enfermedad, y son necesarios para el diagnóstico.

Estos autoanticuerpos son biomarcadores que se asocian a las distintas manifestaciones clínicas y complicaciones a nivel visceral. Por este motivo, se han propuesto como herramienta para clasificar y estratificar la gravedad de la enfermedad.

Los autoanticuerpos específicos de esclerodermia juegan un papel importante como predictores de la progresión y el pronóstico de los pacientes. Pudiendo instaurar un seguimiento más estrecho y un tratamiento precoz según las características autoinmunes y clínicas de los pacientes.

1.7 CURSO DE LA ENFERMEDAD Y PRONÓSTICO

Pese a su heterogeneidad clínica, globalmente, la esclerodermia conlleva una importante morbi-mortalidad, por lo que es considerada una enfermedad grave e invalidante. Su curso clínico es muy variable entre los distintos pacientes, a pesar de presentar manifestaciones clínicas similares. Por ello, es necesario identificar marcadores predictores y pronósticos de la enfermedad. En la bibliografía se han señalado como factores pronósticos de mortalidad: la afectación cutánea difusa con una rápida progresión, la afectación visceral, la presencia de anticuerpos anti-topoisomerasa I, el sexo masculino y la edad avanzada (34,35).

La mortalidad en la esclerodermia puede producirse por una progresión de la enfermedad con afectación visceral o por complicaciones relacionadas, como son las infecciones o neoplasias. Las principales causas de muerte en estos pacientes son la enfermedad pulmonar intersticial, la hipertensión pulmonar, la afectación cardíaca y en menor medida, la afectación renal en forma de crisis renal. En resumen, el 65% de las muertes en estos pacientes está relacionado con la enfermedad (36).

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO Y OBJETIVOS:

La esclerodermia es una enfermedad heterogénea, crónica y progresiva que cursa con manifestaciones potencialmente graves e invalidantes. Es necesario la identificación de subgrupos de la enfermedad según los diferentes patrones de manifestaciones clínicas y autoinmunes, con el objetivo de diagnosticar de forma temprana manifestaciones viscerales futuras. De esta manera, se podría establecer perfiles inmunológicos pronósticos que posibiliten el desarrollo de estrategias diagnósticas, de seguimiento y tratamiento más eficaces, mejorando el pronóstico vital y funcional de los pacientes con esclerodermia.

En la bibliografía revisada, la positividad de los distintos autoanticuerpos asociados a la esclerodermia pueden ser biomarcadores de fenotipos concretos de la enfermedad que faciliten el abordaje terapéutico más precoz y específico.

La reciente incorporación en el Servicio de Inmunología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de una tecnología que permite la determinación simultánea de 12 autoanticuerpos asociados a esclerodermia puede ayudar a conocer dichos aspectos de los pacientes en nuestro medio, mejorar la asistencia poblacional y aumentar el conocimiento científico de la enfermedad.

Principal: Identificar los fenotipos clínicos actuales y evolutivos asociados a la positividad de cada uno de los autoanticuerpos asociados a esclerodermia, analizados por la técnica de inmunoblot en un panel de 12 autoanticuerpos distintos.

Secundarios:

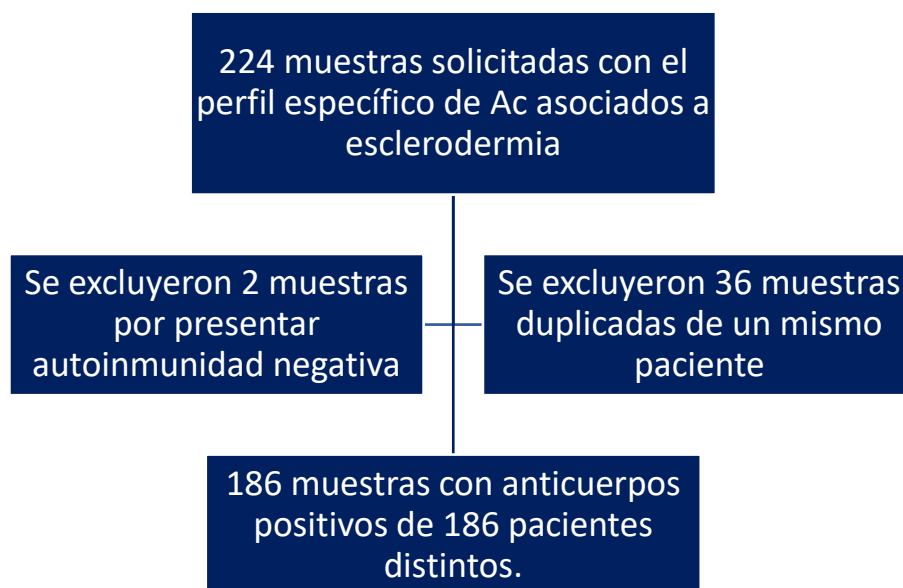
- Conocer la frecuencia de los autoanticuerpos asociados a esclerodermia en nuestro medio, tanto en pacientes con diagnóstico como de sospecha de esclerodermia.
- Describir los aspectos epidemiológicos, manifestaciones clínica y patrón de afectación visceral asociados a la positividad de los distintos autoanticuerpos analizados.
- Analizar los aspectos evolutivos pronósticos y de supervivencia en función de la positividad de dichos autoanticuerpos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS:

Diseño del estudio:

Estudio observacional retrospectivo en el que se han analizado a los pacientes con determinación positiva para el “perfil específico de Autoanticuerpos asociados a Esclerodermia”.

La población estudiada fueron los pacientes en seguimiento en consultas de Enfermedades Autoinmunes del Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS) con positividad para el “perfil específico de Autoanticuerpos asociados a Esclerodermia” del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza entre marzo de 2019 y diciembre de 2022. El perfil específico de Autoanticuerpos asociados a Esclerodermia consta de los siguientes autoanticuerpos: Scl-70, CENP-A, CENP-B, PM-Scl100, PM-Scl75, Ku, RNA polimerasa III, U1-RNP (68kD/A/C), Th/To, Fibrilarina, NOR-90 y SSA/Ro52kD.



Criterios de inclusión: Pacientes mayores de 18 años con positividad para la determinación del perfil específico de Autoanticuerpos asociados a Esclerodermia entre marzo 2019 y diciembre 2022.

Criterios de exclusión: Pacientes con determinación negativa para el perfil específico de Autoanticuerpos asociados a Esclerodermia o aquellos pacientes con perfil de autoanticuerpos iguales en distintas muestras.

Fuentes de información y protocolo de recogida de datos:

Las variables se recogieron de la historia clínica electrónica de cada uno de los pacientes tras la aprobación del proyecto por el Comité de Ética de la Investigación de la Comunidad de Aragón. Estos pacientes están incluidos en una base de datos de la sección de Enfermedades Autoinmunes del Hospital Universitario Miguel Servet. Al comienzo de la observación, habitualmente en la primera consulta se solicita tanto consentimiento verbal como escrito para la inclusión en dicha base de datos. Sus datos se utilizarán de forma anónima y confidencial, con fines académicos.

Variables recogidas:

- **Datos demográficos:** edad, sexo, hábito tabáquico, aparición de neoplasia durante el seguimiento.
- **Diagnóstico:** se definió como Esclerodermia a los pacientes que cumplieran los criterios clasificatorios de 2013 según ACR/EULAR. Así como, se recabaron los diagnósticos de otras enfermedades autoinmunes.
- **Manifestaciones clínicas:** se recogieron su presencia (variable cualitativa dicotómica si/no) y la fecha de aparición.
 - Fenómeno de Raynaud, esclerodactilia, telangiectasias, úlceras o cicatrices digitales, dactilitis, esclerosis proximal, calcinosis, morfea.
 - Artralgias.
 - Disnea.
 - Afectación cutánea, se clasifico en esclerodermia limitada, difusa y pre-esclerodermia según el criterio del médico responsable.
 - Afectación digestiva definida como reflujo gastroesofágico o disfagia.
 - Afectación pulmonar:
 - Enfermedad pulmonar intersticial difusa (EPID): El diagnóstico se estableció por una capacidad vital forzada < 70% o aparición de fibrosis en la tomografía axial computerizada de alta resolución.
 - Hipertensión pulmonar (HTP): Se define como patológico una presión arterial pulmonar sistólica (PAPs) estimada por ecocardiografía

transtorácica >35 mmHg o presión arterial pulmonar media > 25 mmHg por cateterismo derecho.

- Afectación isquémica vascular: Se definió como la progresión desde fenómeno de Raynaud hasta la aparición de úlceras o cicatrices digitales.
- **Pruebas complementarias:**
 - Patrón inmunológico: ANA y “perfil específico de autoanticuerpos asociados a esclerodermia” del Servicio de Inmunología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa que contiene autoanticuerpos contra: Scl-70; CENPA; CENP-B; PM-Scl100; PM-Scl75; Ku; RNA Polimerasa III; U1-RNP (68kD/A/C); Th/To, Fibrilarina; NOR-90, SSA/Ro52kD).
 - Capilaroscopia: normal o patológica.
 - Espirometría: se obtuvieron datos de la capacidad vital forzada (CVF) y de la DLCO mediante test de difusión. Se interpretó como patológico una CVF <70% y DLCO < 80%.
 - Test de la marcha: se recogió la saturación de oxígeno y la distancia recorrida al final de la prueba.
 - Ecocardiografía transtorácica: se recogieron medidas de TAPSE, presión y arterial pulmonar sistólica (PAPs). Los valores patológicos se describieron como TAPSE < 18 mm y PAPs > 35 mmHg.
 - Cateterismo derecho: una presión arterial pulmonar media superior a 25 mmHg se definió como patológica.
 - Tomografía axial computerizada de alta resolución (TACAR): la presencia de signos de fibrosis se determinó como el hallazgo patológico.
- **Mortalidad:** defunción durante el seguimiento, fecha de defunción y causa de la muerte.

Se recogió la fecha de aparición de todas las manifestaciones clínicas, viscerales y pruebas realizadas con resultado patológico. En el caso de que un paciente no desarrollará alguna manifestación, a fin del análisis de supervivencia, se consideró como fecha fin de observación el 1 de agosto de 2023.

Análisis estadístico:

Para el análisis estadístico se ha utilizado el software IBM SPSS Statistics 26. Se ha realizado un estudio descriptivo de todas las variables recogidas. En el caso de las variables cuantitativas con distribución normal se expresó mediante media y desviación estándar. Para las variables que no siguieron una distribución normal, o presentaron gran asimetría, se emplearon mediana y rango intercuartílico. De las variables cualitativas se presenta la frecuencia y el porcentaje respecto del total.

Para comprobar asociación entre dos variables cualitativas se utilizó el test de χ^2 considerando como significativos los valores de p inferiores a 0,05. En los análisis que se esperaron menos de 5 observaciones en alguna casilla se utilizó el test exacto de Fisher. Se proporcionó como medida de riesgo de las asociaciones significativas la Odds ratio.

Para comprobar la diferencia entre medias de dos grupos se utilizó la T de Student o ANOVA si el número de observaciones era superior a 30 en cada grupo o si se comprobó la normalidad de la distribución con la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

En el análisis de supervivencia se emplearon curvas de Kaplan-Meier y si se cumplía la proporcionalidad de riesgos se calcularon el test de Log Rank y el Hazard ratio en el caso de que la diferencia fuera significativa

Aspectos éticos:

Este estudio no implica ningún riesgo para los pacientes, por su diseño observacional y retrospectivo. La recogida de datos y su análisis posterior se realizó únicamente por el investigador principal y los directores del trabajo. Durante este proceso no se incluyeron datos de carácter personal con los que poder identificar a los pacientes.

Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA), con el Acta N°09/2023 en la reunión del día 03/05/2023, según la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y los principios éticos aplicables.

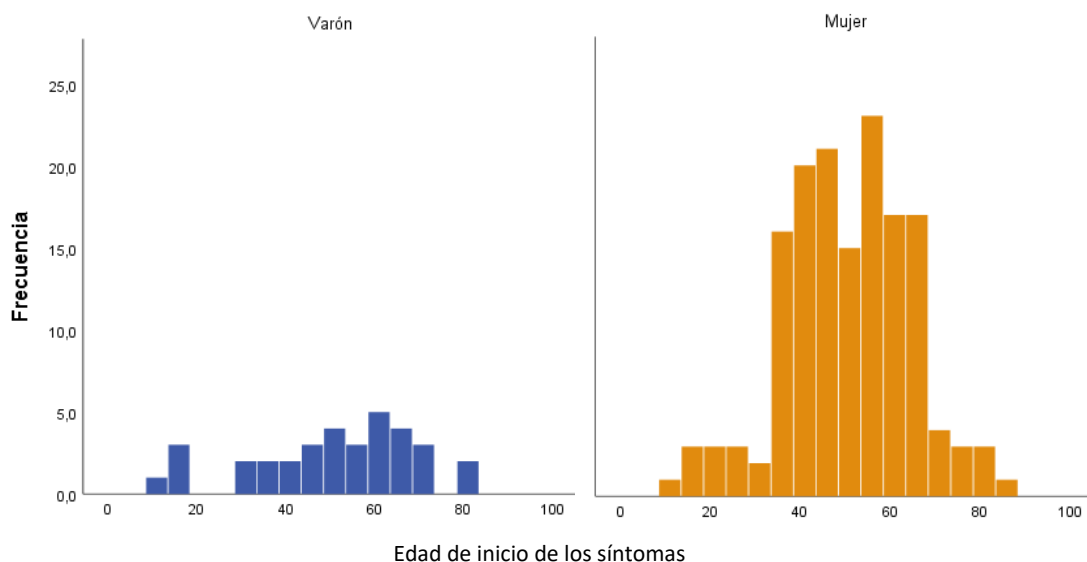
4. RESULTADOS.

Se incluyeron un total de 224 muestras con positividad para alguno de los distintos autoanticuerpos recogidos en el panel específico de esclerodermia. Se excluyeron del estudio dos muestras con autoinmunidad negativa y 36 muestras duplicadas. Al final, analizamos 186 muestras de 186 pacientes únicos en seguimiento en consultas de Enfermedades Autoinmunes por sospecha o diagnóstico de esclerodermia, entre marzo de 2019 y diciembre de 2022.

4.1 Características demográficas y clínicas de la muestra.

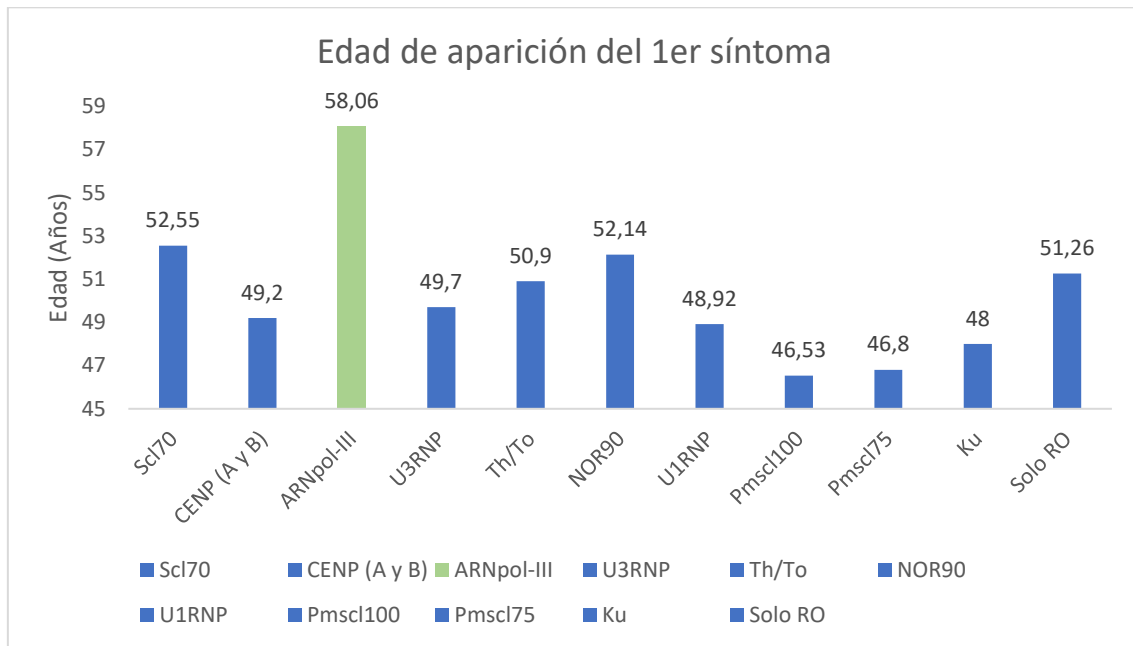
De los 186 pacientes, el 81,7% (n=152) fueron mujeres y el 18,2% (n=34) hombres. La edad media de aparición del primer síntoma relacionado con esclerodermia fue de 50,39 años (DE 14,95). No hubo diferencias entre sexo y la edad de aparición de los síntomas como queda representado en el **Figura 1** (p=0.09).

Figura 1: La distribución etaria y del sexo



Cabe destacar que la presencia de anti-U3RNP tuvo una asociación estadísticamente significativa con el sexo masculino. Y, en cuanto a la edad, la positividad de anti-ARN pol-III confería un retraso en la presentación de la enfermedad en 3 años (T-student; p=0,026) . El resto de los anticuerpos, aunque presentaron diferentes edades medias, no fueron estadísticamente significativas, como queda reflejado en el **Figura 2**.

Figura 2: Edad medida de presentación del primer síntoma según los anticuerpos.



En la **Tabla 3** se recogen las características basales de la muestra. El primer síntoma más frecuentemente reportado fue el fenómeno de Raynaud, en el 55,4% (n=103) de los casos. En segundo lugar, las artromialgias (n=56; 30,1%), seguido de la disnea (n=16; 8,6%) y otros síntomas como la vasculitis o las úlceras digitales, entre otras (n=11; 5,9%). El 7% (n=13) de los pacientes presentaron afectación tumoral. El carcinoma de pulmón (n=6) y el de mama (n=2) fueron las neoplasias más frecuentemente encontradas. La principal causa de muerte (n=12; 6,5%) fue producida por la progresión de la esclerosis sistémica en forma de afectación pulmonar (HTP o EPID) y, en segundo lugar, las infecciones tanto virales como bacterianas.

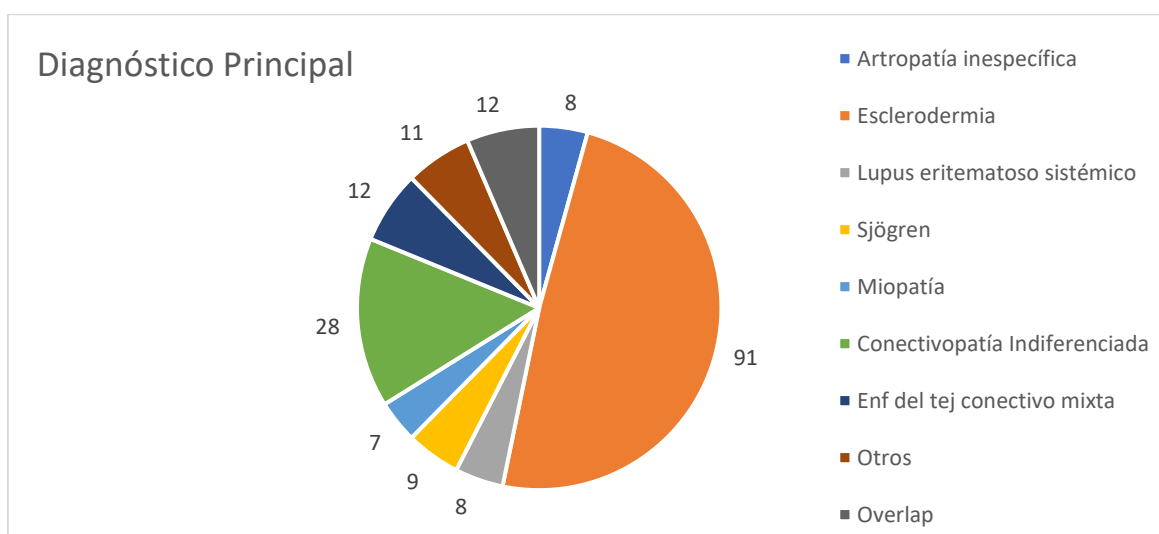
Tabla 3. Características demográficas y clínicas basales de la muestra

Sexo (%)	Mujer	152 (81,7%)
	Hombre	34 (18,27%)
Edad en la determinación (Media)		57,78 (DE 15,09)
Edad aparición del primer síntoma (Media)		50,39 (DE 14,95)
Primer síntoma de aparición de la clínica	Raynaud	103 (55,4%)
	Disnea	16 (8,6%)
	Artromialgias	56 (30,1%)
	Otros	11 (5,9%)
Tabaco (%)		70 (37,5%)
Neoplasia (%)		13 (7,0%)
Fallecimiento (%)		12 (6,5%)

En este estudio se recogieron 95 pacientes (51,1%) con diagnóstico de esclerodermia según los criterios clasificatorios de la ACR/EULAR 2013. La frecuencia de aparición de las formas clínicas de esclerodermia fue limitada (79%), difusa (21%) y pre-esclerodermia (7.3%).

La otra mitad de los pacientes tuvieron un diagnóstico alternativo a la esclerodermia, siendo los más frecuentes: conectivopatía indiferenciada (15%), síndrome overlap entre distintas enfermedades autoinmunes (6%) y enfermedad mixta del tejido conectivo (6%). La distribución de los distintos diagnósticos podemos observarlo en el **Figura 3**.

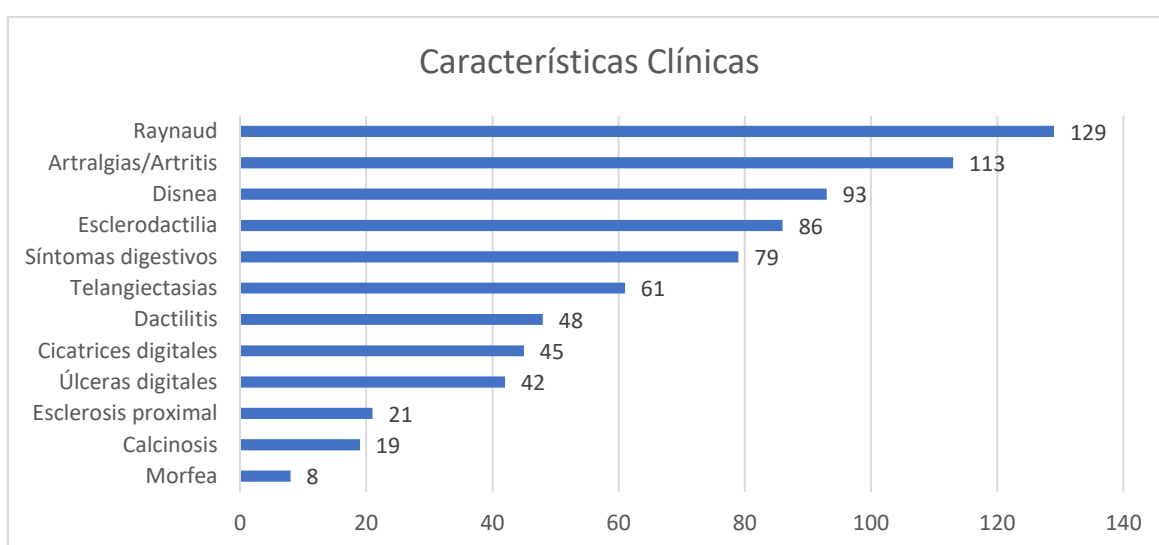
Figura 3: Distribución del diagnóstico principal en los pacientes de la muestra.



En la **Figura 4** se puede observar la clínica presentada por los pacientes estudiados, y la frecuencia de aparición de los síntomas. El fenómeno de Raynaud se encontró en el 69,4% (n=129) de los pacientes, siendo el síntoma predominante y el síntoma más frecuente al debut. El 60,8% (n=113) de los pacientes presentaron afectación articular en forma de artralgias o artritis y la mitad de los pacientes presentaron disnea (n=93) en algún momento del seguimiento.

La frecuencia de aparición de otros síntomas fue: esclerodactilia (46,2%; n=86), telangiectasias (32,8%; n=61), dactilitis (25,8%; n=48) y úlceras digitales (22,6%; n=42).

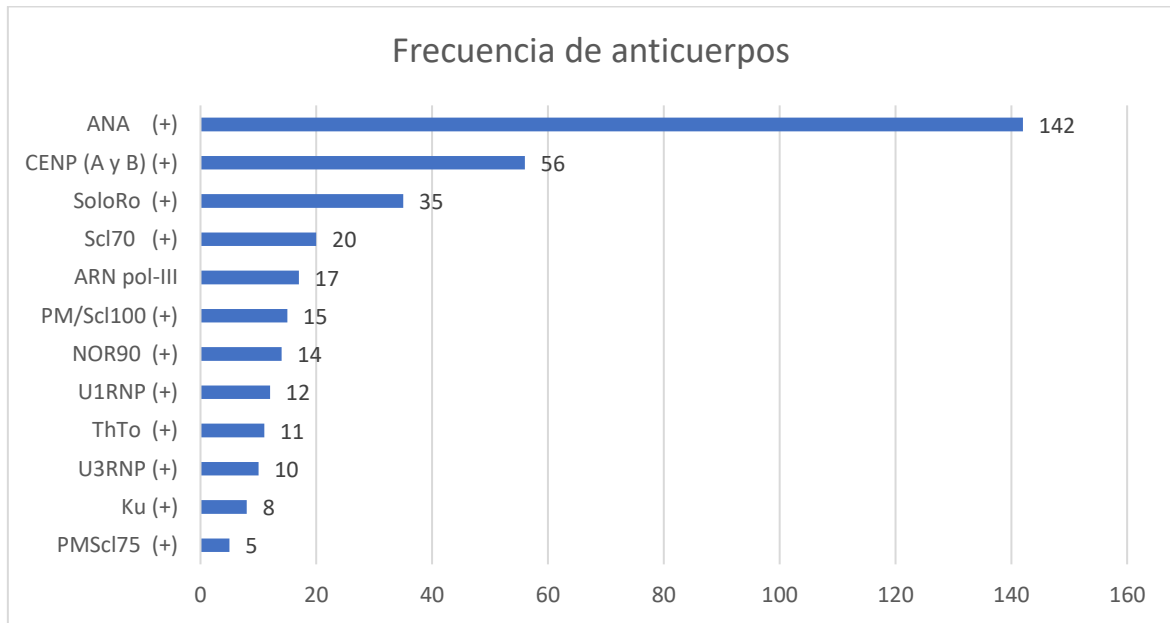
Figura 4. Frecuencia de aparición de las manifestaciones clínicas (nº de pacientes)



En cuanto a la frecuencia con la que se detectaron los autoanticuerpos circulantes asociados a esclerodermia, hay que destacar que por el diseño del estudio todas las determinaciones fueron positivas para al menos un autoanticuerpo. Aunque infrecuente, encontramos muestras de un único paciente con varios autoanticuerpos positivos.

El autoanticuerpo más frecuentemente aislado fue el anti-centrómero (30,1%) y, en segundo lugar, el anti-Ro52 como único anticuerpo en la muestra (18,8%). Con una frecuencia menor al 10% de los casos encontramos autoanticuerpos contra: Scl70 (n=20), ARNpol-III (n=17), PM/Scl100 (n=15), NOR 90 (n=14), U1RNP (n=12), Th/To (n=11) y U3RNP (n=10). Y, los anticuerpos más raros en cuanto a frecuencia fueron PM/Scl75 (n=5) y Ku (n=8). Se resumen los hallazgos en la **Figura 5**.

Figura 5. Frecuencia de aparición de los autoanticuerpos positivos en la muestra



4.2 Manifestaciones clínicas asociadas a la positividad de los distintos autoanticuerpos.

En el análisis de asociación de manifestaciones clínicas con la presencia de los considerados autoanticuerpos clásicos, representado en la **Tabla 4**. Encontramos, que la presencia de anti-Scl70 aumentaba el riesgo significativamente de todas las variables clínicas analizadas, a excepción de artralgias y calcinosis. Particularmente suponía una alta probabilidad de sufrir fenómeno de Raynaud y esclerosis proximal.

En el caso de los pacientes con anti-centrómero positivo presentaban con mayor frecuencia telangiectasias, fenómeno de Raynaud y disnea. Por último, el anti-ARNpol-III confería únicamente mayor probabilidad de manifestar esclerodactilia, esclerosis proximal y telangiectasias.

Tabla 4. Asociación de manifestaciones clínicas y anticuerpos.

	Scl70	Centrómero (CENPA o CENPB)	ARNpol-III	Total
Nº de casos (% del total de pacientes)	20(10.8%)	56 (30,1%)	17 (9,1%)	186
Raynaud	20 (100%) p=0,002 *	49 (87,5%) p <0,001 OR 4,375	15(88,2%) p=0,76	129 (69,4%)
Dactilitis	13(65%) p<0,001 OR 7	18 (32,1%) p 0,195	5 (29,4%) p=0,77	48 (25,8%)
Esclerodactilia	17 (85%) p=0,001 OR 8	32 (57,1%) p= 0,050	14 (82,4%) p=0.002 OR 6	86 (46,2%)
Úlceras digitales	9 (45%) p=0,02 OR 3.2	14 (25%) P=0,604	4 (23,5%) p=0,92	42 (22,6%)
Cicatrices dedos	9 (45%) p=0,029 OR 2,9	18 (32,1%) p=0,097	3 (17,6%) p=0,76	45 (24,2%)
Esclerosis proximal	10 (50%) p< 0,001 OR 14	4 (7,1%) p = 0,241	7 (41,2%) p<0,001 OR 7,7	21 (11,3%)
Telangiectasias	11 (55%) p= 0,02 OR 2,8	25 (44,6%) p= 0,024 OR 2,10	10 (58,8%) p=0,016 OR 3.3	61 (32,8%)
Calcinosis	3 (15%) p= 0,436	9 (16,1%) p = 0,83	4 (23,5%) p=0,078	19 (10%)
Artralgias	12 (60%) p= 0,94	31 (55,4%) p= 0,323	9 (52,9%) p=0,48	113 (60,8%)
Disnea	15 (75%) p=0,018 OR 3,38	35 (62,5%) p=0,025 OR 2,00	11 (64,7%) p=0,203	93 (50%)

Se expresa el nº total de casos positivos para el anticuerpo que expresa la manifestación correspondiente y (% dentro de los positivos para el anticuerpo) Valor de p según test de Chi cuadrado y test exacto de Fisher. OR: Odds ratio

*No se calculó OR por no haber eventos en una de las casillas.

** Se resaltan en verde las asociaciones significativas que confieren un aumento del riesgo.

En cuanto a los considerados anticuerpos altamente específicos de esclerodermia, pero no constitutivos de criterio diagnóstico, los hallazgos se resumen en la **Tabla 5**.

El anti-U3RNP dotaba de un menor riesgo de presentar disnea, en el límite de la significación, y anti-NOR90 disminuía la probabilidad de manifestar esclerodactilia o cicatrices en los dedos. En el caso de anti-Th/To no encontramos asociación con ninguna manifestación clínica recogida.

Tabla 5. Asociación de manifestaciones clínicas y anticuerpos.

	U3RNP	Th/To	NOR90	Total
Nº de casos (% del total de pacientes)	10 (5,4%)	11 (5,9%)	14 (7,5%)	186
Raynaud	5(50%) p=0,17	8(72,7%) p=0,55	7 (50%) p=0,13	129 (69,4%)
Dactilitis	4 (40%) p=0,28	2(18,2%) p=0,73	2 (14,3%) p=0,52	48 (25,8%)
Esclerodactilia	3 (30%) p=0,34	4(36,4%) p=0,5	3 (21,4%) p=0,053 OR 0,3	86 (46,2%)
Úlceras digitales	3 (30%) p=0,69	2(18,2%) p=0,71	1 (7,1%) p=0,19	42 (22,6%)
Cicatrices dedos	2 (20%) p=1,0	4(36,4%) p=0,46	0 p=0,024 *	45 (24,2%)
Esclerosis proximal	0 (0%) p=0,6	1 (9,1%) p=1,0	1 (7,1%) p=1	21 (11,3%)
Telangiectasias	1 (10%) p=0,17	4(36,4%) p=0,75	3 (21,4%) p=0,55	61 (32,8%)
Calcinosis	0 (0%) p=0,602	1 (9,1%) p=1,0	1 (7,1%) p=1	19 (10%)
Artralgias	6 (60%) p=0,96	6(54,4%) p=0,75	8 (57,1%) p=0,774	113 (60,8%)
Disnea	2 (20%) p=0,05 OR 0,23	6(54,4%) p=1,0	8 (57,1%) p=0,578	93 (50%)

Se expresa el nº total de casos positivos para el anticuerpo que expresa la manifestación correspondiente y (% dentro de los positivos para el anticuerpo) Valor de p según test de Chi cuadrado y test exacto de Fisher. OR: Odds ratio

*No se calculó OR por no haber eventos en una de las casillas.

** Se resaltan en amarillo las asociaciones significativas que confieren un menor riesgo

Por último, los anticuerpos incluidos en el panel, comunes a otras conectivopatías y, por tanto, baja especificidad para esclerodermia, se recogen en la **Tabla 6**.

Los anti-PM/Scl75, anti-Ku y anti-Ro52 proporcionaban un menor riesgo de presentar fenómeno de Raynaud. Además, en el caso de los anti-Ro52 encontrábamos una menor probabilidad de presentar dactilitis, esclerodactilia y telangiectasias. No hallamos una asociación significativa entre las manifestaciones clínicas y los anticuerpos anti-U1RNP o PM/Scl75.

Tabla 6. Asociación de manifestaciones clínicas y anticuerpos.

	U1RNP	PM/Sci100	PM/Sci75	Ku	SoloRo	Total
Nº de casos (% del total de pacientes)	12 (6,5%)	15 (8,1%)	5 (4,3%)	8 (4,3%)	35 (18,8%)	186
Raynaud	8 (66,7%) p=0,53	12 (80%) p=0,35	1 (20%) p=0,03 OR 0,10	3(37,5%) p=0,06 OR 0,24	14 (40%) p<0,001 OR 0,2	129 (69,4%)
Dactilitis	3 (25%) p=1,0	3 (20%) p=0,76	1 (20%) p=0,375	0 p=0,08	2 (5,7%) p=0,003 OR 0,13	48 (25,8%)
Esclerodactilia	4 (33%) p=0,35	8 (53,3%) p=0,5	1 (20%) p=0,37	2 (25%) p=0,3	8 (22,9%) p=0,002 OR 0,2	86 (46,2%)
Úlceras digitales	1 (8,3%) p=0,30	5 (33,3%) p=0,29	1(20%) p=0,68	1 (12,5%) p=0,68	6 (17,1%) p=0,39	42 (22,6%)
Cicatrices dedos	2 (16,7%) p=0,73	5 (33,3%) p=0,36	1 (20%) p=1,0	1 (12,5%) p=0,68	6 (17,1%) p=0,28	45 (24,2%)
Esclerosis proximal	0 (0%) p=0,36	0 (0%) p=0,22	0 (0%) p=1,0	0 (0%) p=0,6	2 (5,7%) p=0,37	21 (11,3%)
Telangiectasias	4 (33,3%) p=1,0	6 (40%) p=0,57	1 (20%) p=1,0	1 (12,5%) p=0,27	4 (11,4%) p=0,002 OR 0,213	61 (32,8%)
Calcinosis	0 (0%) p=0,61	2 (13,3%) p=0,65	0 (0%) p=1,0	0 (0%) p=1,0	2 (5,7%) p=0,53	19 (10%)
Artralgias	7 (58,3%) p=0,85	11 (73,3%) p=0,29	2 (40%) p= 0,38	2 (25%) p=0,06	25 (71,4%) p=0,18	113 (60,8%)
Disnea	4 (33,3%) p=0,372	6 (40%) p=0,419	1 (20%) p=0,36	5 (62,5%) p=0,72	13 (37,1%) p=0,091	93 (50%)

Se expresa el nº total de casos positivos para el anticuerpo que expresa la manifestación correspondiente y (% dentro de los positivos para el anticuerpo) Valor de p según test de Chi cuadrado y test exacto de Fisher. OR: Odds ratio

*No se calculó OR por no haber eventos en una de las casillas.

** Se resaltan en amarillo las asociaciones significativas que confieren un menor riesgo

4.3 Afectación visceral asociada a la positividad de los distintos autoanticuerpos.

En nuestro estudio, registramos como afectación visceral de la enfermedad: la enfermedad pulmonar intersticial, la hipertensión pulmonar, la afectación digestiva y la afectación isquémica vascular.

La alteración visceral más comúnmente reportada fue la patología digestiva (57,52%; n=107), definimos los casos como enfermedad por reflujo y/o disfgia. En nuestra

muestra tanto anti-Scl70 como anti-ARNpol-III se asociaban con un mayor riesgo de presentar este tipo de complicación.

En segundo lugar, hallamos las manifestaciones pulmonares divididas en dos entidades, la hipertensión pulmonar y la enfermedad pulmonar intersticial. En nuestro estudio se registraron un total de 57 casos de EPID (30,6%) y 35 casos de HTP (18,81%), ambas afectaciones presentaron una asociación y un riesgo aumentado en los pacientes con anti-Scl70 y anti-ARNpol-III positivos. Cabe destacar que los pacientes con anti-centrómero presentaron una menor probabilidad de sufrir EPID durante su evolución en comparación con el resto de los pacientes de la muestra.

La afectación isquémica vascular se definió como la progresión desde un fenómeno de Raynaud hasta la aparición de cicatrices y úlceras. En este caso encontramos 56 casos (30,1%) de esta entidad, encontrando una asociación con la presencia de anti-Scl70 sin encontrar relación con el resto de los autoanticuerpos.

Si bien se encontraron casos de afectación visceral en los pacientes con otros autoanticuerpos recogidos, ninguna de estas asociaciones fue estadísticamente significativa. Todos los hallazgos previamente expuestos se muestran en la **Tabla 7**.

Tabla 7: Asociación entre las manifestaciones viscerales con cada autoanticuerpo.

	Enfermedad pulmonar intersticial	Hipertensión pulmonar	Afectación digestiva	Afectación isquémica vascular
Scl70	17 (85%) p<0,001 OR 17	11 (55%) p<0,001 OR 7,23	16 (80%) p<0,01 OR 6,5	10 (50%) p=0,04 OR 2,6
CENP (A y B)	8 (14,3%) p<0,001 OR 0,27	8 (14,3%) p=0,299	27 (48,2%) p=0,299	20 (35,7%) p=0,274
ARNpol-III	9 (52,9%) p=0,036 OR 2,83	8 (47,1%) p=0,005 OR 4,67	11 (64,7%) p=0,05 OR 2,72	4 (23,5%) p=0,5
U3RNP	1 (10%) p=0,28	0 (0%) p=0,21	4 (40%) p=1,00	3 (30%) p=0,64
Th/To	4 (36.4%) p=0,74	3 (27.8%) p=0,43	5 (45.5%) p=1,00	4 (36.4%) p=0,73
NOR-90	4 (28.6%) p=1,00	4 (28.6%) p=0,30	5 (35.7%) p=0,59	1 (7.1%) p=0,068

U1RNP	4 (33,3%) p=1,00	1 (8,3%) p=0,46	4 (33,3%) p= 0,5	2 (16,7%) p 0,51
Pmscl100	5 (33%) p=0,77	0 (0%) p=0,078	4 (26,7%) p=0,19	5 (33,3%) p=0,77
Pmscl75	1 (20%) p=1,00	0 (0%) p=0,58	1 (20%) p=0,39	1 (20%) p=1,00
Ku	3 (37,5%) p=0,66	2 (25%) p=0,64	1 (12,5%) p=0,14	1 (12,5%) p=0,43
Solo RO	8 (23%) p=0,26	3 (8,6%) p=0,08	10 (28,6%) p=0,065	11 (31,4%) p=0,85
TOTAL	57	35	107	56

Se expresa el nº total de casos positivos para el anticuerpo que expresa la manifestación correspondiente y (% dentro de los positivos para el anticuerpo) Valor de p según test de Chi cuadrado y test exacto de Fisher. OR: Odds ratio

*Se resaltan en amarillo las asociaciones significativas que confieren un menor riesgo y en verde las que confieren un mayor riesgo.

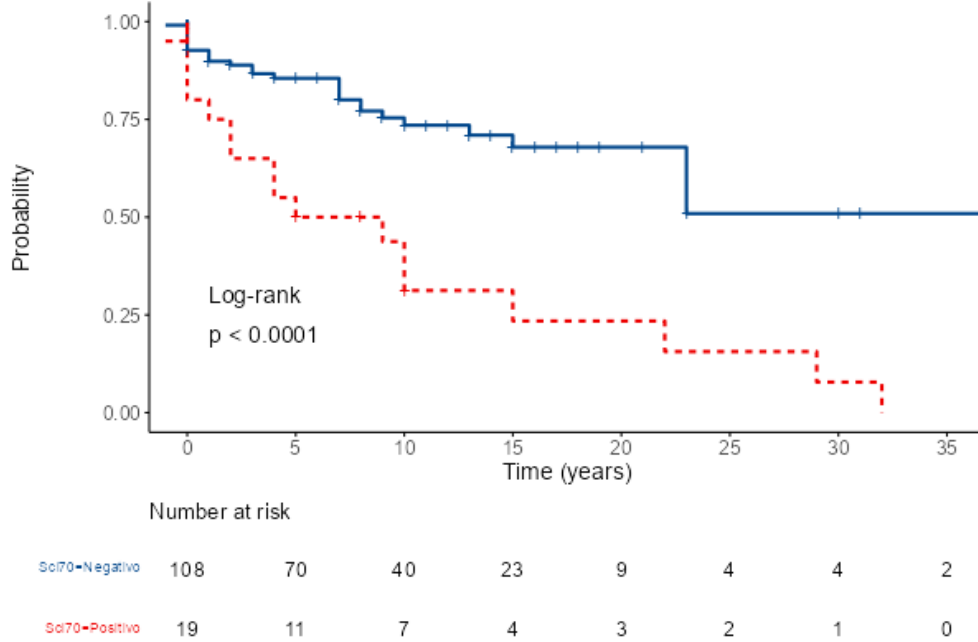
4.4 Supervivencia e incidencia acumulada de la evolución de la enfermedad según los distintos autoanticuerpos.

En este apartado analizamos la evolución desde la aparición de fenómeno de Raynaud hasta la presentación de enfermedad pulmonar en forma de EPID o HTP. Solo se incluyen pacientes que han presentado fenómeno de Raynaud.

4.4.1 Análisis de supervivencia desde Raynaud hasta EPID

En el análisis del tiempo libre de enfermedad pulmonar intersticial difusa desde la detección del fenómeno de Raynaud, encontramos diferencias significativas en varios grupos de pacientes. El grupo con positividad para Scl70 (n=19), se halló un aumento del riesgo de desarrollar EPID (Hazard Ratio [HR] 2,43; CI 95%: 1,58;3,75, p < 0,001). (**Figura 6**)

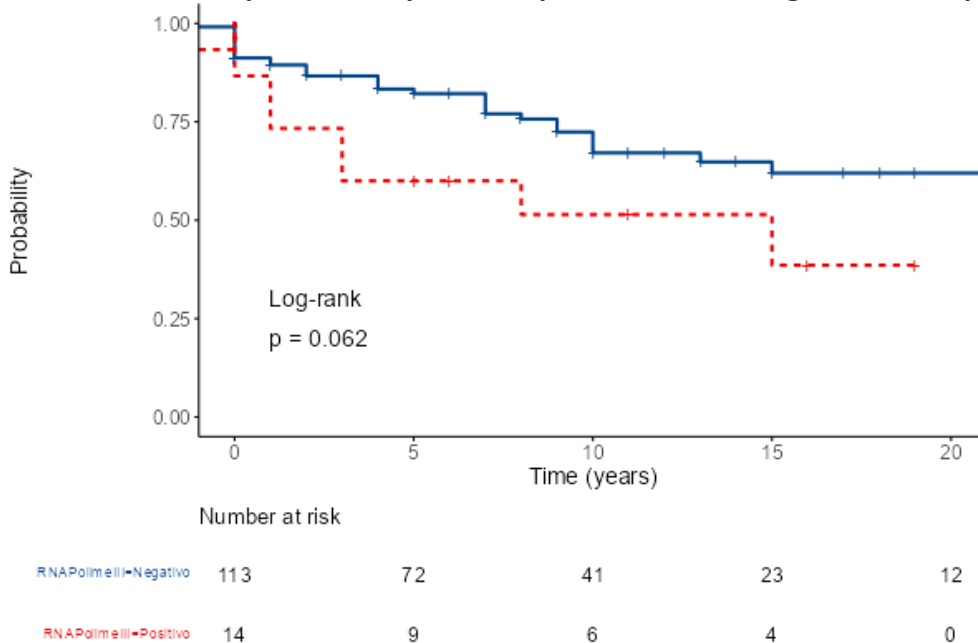
Figura 6. Curvas de supervivencia para Tiempo libre de EPID según anti-ScI70



Análisis mediante método de Kaplan Meier del tiempo libre de EPID en pacientes anti-ScI70 positivos (línea roja) comparado con ScI70 negativos (línea azul)

En los pacientes que presentaban ARNpol-III (n=14) detectamos un exceso de riesgo que no alcanzó significancia estadística pero sí se puede considerar tendencia. El HR fue de 1,66 (CI 95%: 0,96;2,88, $p = 0,071$). (Figura 7)

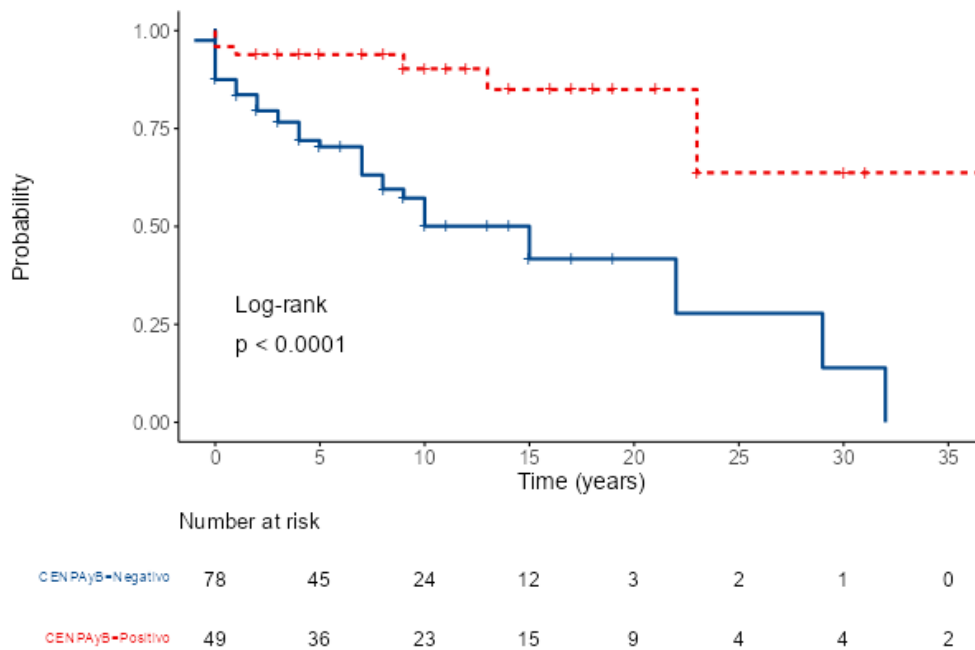
Figura 7. Curvas de supervivencia para Tiempo libre de EPID según anti-RNAPol-III



Análisis mediante método de Kaplan Meier del tiempo libre de EPID en pacientes anti-ARNpol-III positivos (línea roja) comparado con anti-ARNpol-III negativos (línea azul).

La presencia de anticuerpos anti-centrómero en suero (n=49) afectó al riesgo de presentar EPID de manera inversa. Su presencia protege frente a la aparición de EPID con un HR de 0,20 (CI 95%: 0,09;0,45, p < 0,001). (Figura 8)

Figura 8. Curvas de supervivencia para Tiempo libre de EPID según anti-centrómero



Análisis mediante método de Kaplan Meier del tiempo libre de EPID en pacientes anti-centrómero positivos (línea roja) comparado con anti-centrómero negativos (línea azul)

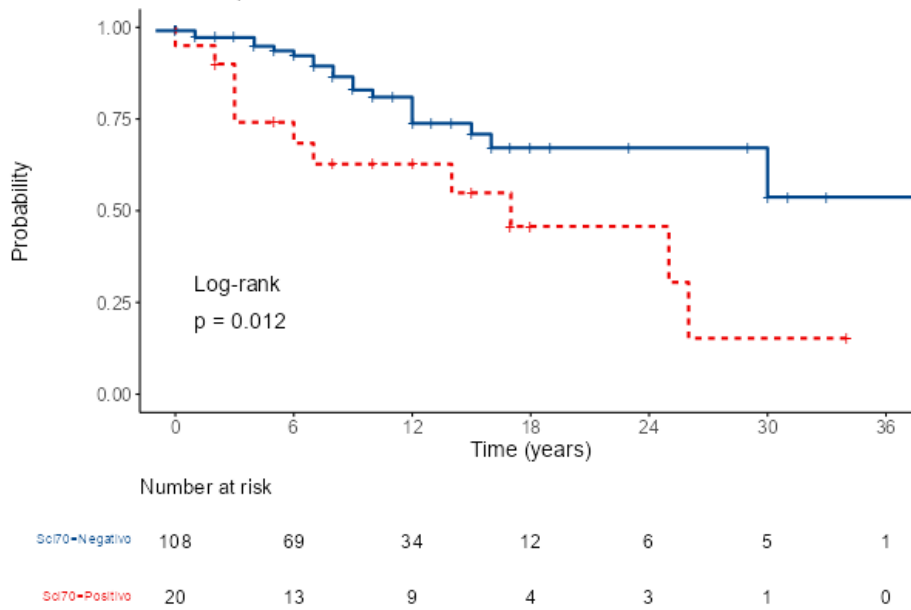
La presencia de autoanticuerpos contra U3RNP, Th/to, NOR90, U1RNP, PM/Scl100, PM/Scl75, Ku y Ro no demostró un aumento significativo del número de eventos durante el periodo de seguimiento.

4.4.2 Análisis de supervivencia desde Raynaud hasta Hipertensión Pulmonar

En el análisis de supervivencia, se observaron variaciones significativas en la aparición de hipertensión pulmonar (HTP) desde el inicio del fenómeno de Raynaud en tres grupos de pacientes.

El conjunto de pacientes con positividad para anti-Scl70 (n=20) mostraron un aumento de riesgo de desarrollar HTP frente a los anti-Scl70 negativo, HR de 2,61 (CI 95%: 1,09;3,68, p < 0,025).

Figura 9. Curvas de supervivencia para Tiempo libre de HTP según anti-ScI70



Análisis mediante método de Kaplan Meier del tiempo libre de HTP en pacientes anti-ScI70 positivos (línea roja) comparado con anti-ScI70 negativos (línea azul).

De nuevo, los pacientes que expresaron anticuerpos anti-ARNpol-III (n=14) sufrieron un aumento del riesgo de presentar HTP frente al grupo negativo, HR de 2,00 (CI 95%: 1,09;3,68, p = 0,025). (Figura 10)

Figura 10. Curvas de supervivencia para Tiempo libre de HTP según anti-ARNpol-III

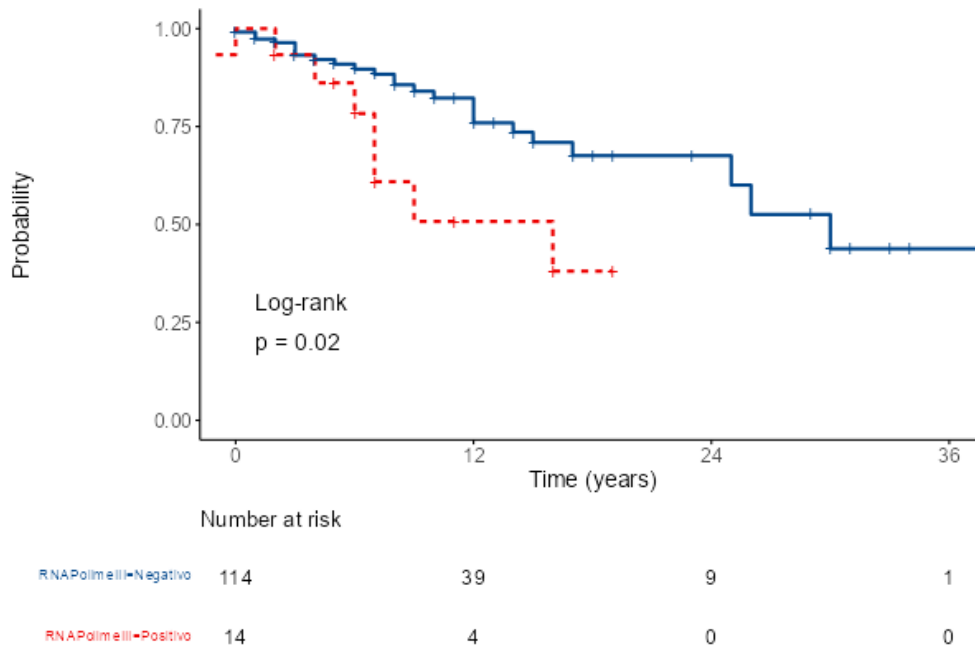
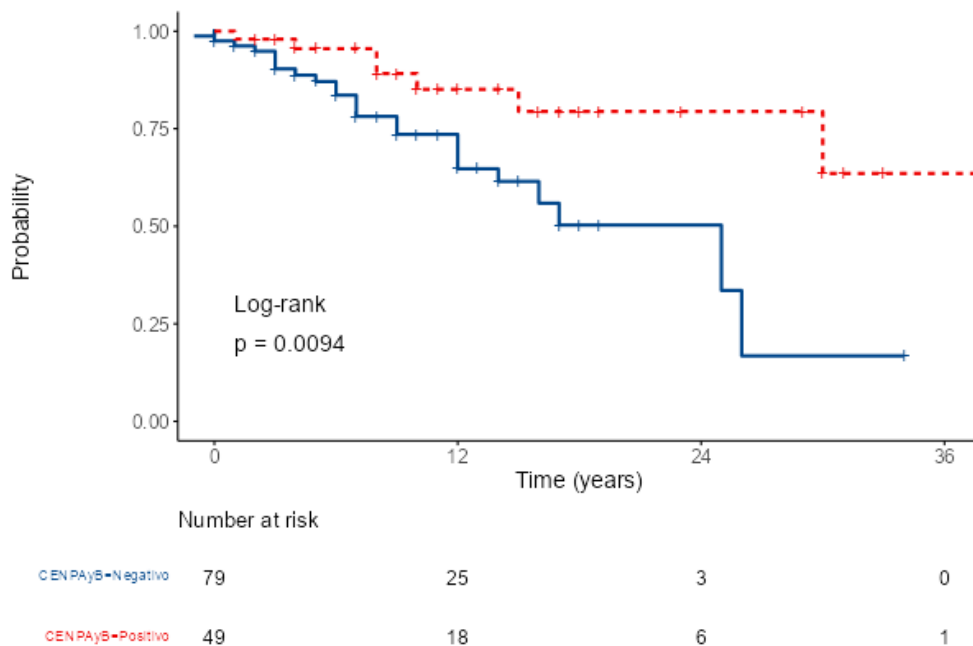


Figura 10. Análisis mediante método de Kaplan Meier del tiempo libre de HTP en pacientes anti-ARNpol-III positivos (línea roja) comparado con anti-ARNpol-III negativos (línea azul).

La detección de anticuerpos anti-centrómero en suero (n=49) se asoció con una disminución del riesgo de desarrollar HTP frente a pacientes sin este tipo de anticuerpos, HR de 0,33 (CI 95%: 0,14;0,79, p = 0,013). (Figura 11)

Figura 11. Curvas de supervivencia para Tiempo libre de HTP según anti-centrómero



Análisis mediante método de Kaplan Meier del tiempo libre de HTP en pacientes anti-centrómero positivos (línea roja) comparado con anti-centrómero negativos (línea azul).

Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas para la presencia de autoanticuerpos contra U3RNP, Th/to, NOR90, U1RNP, PM/Sci100, PM/Sci75, Ku y Ro.

5. DISCUSIÓN.

La esclerodermia es una enfermedad autoinmune sistémica de carácter progresivo. A lo largo de su evolución se pueden presentar complicaciones de órganos internos graves que condicionan un detrimento en la calidad de vida de los pacientes y una elevada mortalidad. Por este motivo, es crucial poder encontrar nuevos marcadores pronósticos que ayuden al clínico a diseñar un plan de seguimiento y tratamiento personalizado.

En este estudio retrospectivo y observacional, se analizaron 186 muestras analíticas positivas de pacientes únicos. El perfil autoinmune específico de esclerodermia se analizó mediante la técnica de inmunoblot. La hipótesis inicial de este estudio fue determinar si existe una asociación entre los autoanticuerpos relacionados con esclerodermia, las manifestaciones clínicas y la evolución de la enfermedad.

La esclerodermia es una enfermedad que clásicamente se presenta en la edad media de la vida y con predominio de sexo femenino (37,38). En nuestro estudio se reprodujo este perfil de paciente ya que el 81,7% de los casos fueron mujeres y la edad media fue de 50,39 años. Esta edad media, sin embargo, se vio influida de manera significativa por la presencia de anti-RNAPol III. Los pacientes que mostraban positividad para este anticuerpo tuvieron una edad de presentación más tardía. Este hallazgo ha sido descrito en otros trabajos como el de Stochmal et al (31).

En nuestra muestra, a pesar de la menor representación de los varones, hallamos una asociación significativa entre el sexo masculino y la presencia de anti-U3RNP como en el estudio de Almaabdi et al (28). El resto de los autoanticuerpos no mostraron diferencias en la distribución en cuanto al sexo o edad.

En cuanto a la frecuencia de los autoanticuerpos, en la mayoría de estudios, incluido el nuestro, el autoanticuerpo anti-centrómero fue el más frecuentemente reportado (1,26) y la frecuencia de aparición de los anticuerpos no categorizados como clásicos era menor a un 10% (28,31). Sin embargo, encontramos una frecuencia menor de anti-Scl70 y anti-ARNpol III respecto a la literatura (25,39). Este hecho puede deberse a la variabilidad étnica y demográfica. En este sentido, la tasa de positividad de los pacientes

con esclerodermia para anti-centrómero es de un 41% en España frente a un 25% en Inglaterra o un 18% en Suecia (40).

Aunque la mayoría de los pacientes presentaban positividad para un único anticuerpo relacionado con esclerodermia, y clásicamente se consideraban excluyentes entre sí, en estudios posteriores se ha demostrado que hasta 0,6-5% de los pacientes pueden presentar doble positividad. En nuestro estudio, el 4% de las muestras analizadas presentaban este fenómeno de forma simultánea. Este hallazgo no se puede atribuir únicamente a progresos técnicos y puede que respondan a una mejor caracterización de todo el espectro de la enfermedad (28,41). El análisis de los pacientes con doble positividad quedó fuera de los objetivos de este trabajo.

Respecto al objetivo principal del trabajo, analizamos la asociación de las diferentes manifestaciones clínicas y los autoanticuerpos positivos.

El grupo de pacientes con anti-Scl70 positivos mostró un riesgo significativamente mayor de presentar la mayoría de los síntomas asociados a la enfermedad: fenómeno de Raynaud, dactilitis, esclerosis proximal, disnea, úlceras y cicatrices digitales (25,31). También objetivamos una mayor probabilidad de desarrollar EPID e HTP. En resumen, los hallazgos fueron acordes con lo conocido previamente y se corresponde con una alta morbimortalidad y pronóstico desfavorable (42).

En los pacientes con anti-centrómero positivos encontramos un aumento significativo de fenómeno de Raynaud, telangiectasias y disnea. No encontramos asociación con calcinosis como en otros trabajos, pero puede ser debido a que fue una manifestación poco frecuente (10%) en nuestra muestra (25). En las manifestaciones viscerales, este grupo de pacientes mostró una disminución del riesgo de presentar HTP y EPID. Este anticuerpo resultó ser un factor protector respecto a EPID en nuestra muestra, pero debemos tener en cuenta que por el diseño del estudio partíamos de muestras positivas, por lo que, este resultado no puede extrapolarse a población general.

En el caso de anti-ARNpol III objetivamos asociación significativa con esclerodactilia, esclerosis proximal y telangiectasias. En resumen, presentaron mayor riesgo de

esclerodermia difusa. Esta mayor proporción de afectación cutánea se ha observado en otras cohortes. En cuanto a afectación visceral, este grupo mostró tasas significativamente mayores de EPID o HTP (25).

La afectación digestiva merece una aclaración aparte. La esclerodermia puede causar una gran variabilidad de síntomas a dicho nivel, en su gran mayoría inespecíficos y con una alta prevalencia en la población general. En nuestro estudio, solo recogimos como afectación digestiva la sensación subjetiva de pirosis, y observamos que en el caso de anti-Scl70 y anti-ARNpol-III exhibieron mayor riesgo de presentarlo. Esta observación está en línea con lo publicado hasta la fecha, pero por el motivo expuesto no creemos que se pueda obtener ninguna conclusión más (18,25).

En el caso de los autoanticuerpos clásicos, los previamente comentados, dichas asociaciones han sido ampliamente descritas en la literatura, y en su mayoría, se reprodujeron en nuestro estudio. Sin embargo, en los anticuerpos no definidos como clásicos, las características clínicas no están tan bien definidas. Para su estudio los clasificamos en autoanticuerpos reactivos frente a estructuras del nucleolo con una alta especificidad para esclerodermia y autoanticuerpos comunes a otras conectivopatías.

En el grupo de los autoanticuerpos reactivos con una alta especificidad para la enfermedad hallamos anti-U3RNP, anti-Th/To y anti-NOR90. El análisis se detalla a continuación.

Encontramos una frecuencia de autoanticuerpos anti-NOR90 similar al trabajo de Koutsianas et al (43), y objetivamos una menor probabilidad de presentar esclerodactilia o cicatrices. Sin embargo, no hallamos asociación con el fenómeno de Raynaud, aunque, este hecho fue considerablemente descrito en otros estudios (28,42,43).

El anti-U3RNP, es un autoanticuerpo con una especificidad alta para esclerodermia, en nuestro trabajo encontramos una tendencia hacia una menor probabilidad de presentar disnea que no alcanzó significancia estadística, y no objetivamos aumento del riesgo de HTP o EPID. Un hallazgo contradictorio a lo descrito en la literatura, ya que, según ésta

se asocia a manifestaciones pulmonares graves que determinan un peor pronóstico, relación que no encontramos en nuestro estudio (28,31).

El 5,9% de los pacientes presentaron positividad para anti-Th/To. No encontramos asociación significativa con las manifestaciones estudiadas, sin embargo, no es desdeñable el porcentaje de aparición de EPID (36%) y de HTP (27,8%), hallazgo descrito en la literatura que confiere un peor pronóstico (28,42).

En el otro grupo de autoanticuerpos, los comunes a otras conectivopatías, lo componen el anti-U1RNP, anti-PM/Scl (75 y 100), anti-Ku y anti-Ro52. Las características detectadas en nuestro estudio son las siguientes:

La positividad para anti-Ku, confería un riesgo menor de fenómeno de Raynaud en nuestra muestra. Esta asociación negativa con la afectación vascular también se encontró en el estudio de Almaabdi et al (28) y en el de Cavazzana et al (25). No obstante, en ambos estudios describen una asociación con EPID. Dicho hallazgo no fue demostrado en nuestro trabajo, aunque el 62,5% de los pacientes presentaron disnea y no en todos los casos fue estudiado con TACAR o pruebas funcionales respiratorias.

Los pacientes con presencia de anti-Ro52 como único anticuerpo, presentaron una menor probabilidad de desarrollar fenómeno de Raynaud, dactilitis, esclerodactilia y telangiectasias. Esta disminución de riesgo se puede atribuir a que anti-Ro52 es un autoanticuerpo relacionado con otras enfermedades autoinmunes, con una baja especificidad para esclerodermia, y en este trabajo hemos analizado fundamentalmente síntomas y signos característicos de esta entidad (25). En cualquier caso, no encontramos evidencia de que presentar anti-Ro52 se asociara a ninguna manifestación visceral.

En nuestra muestra, no encontramos una asociación clara entre las manifestaciones estudiadas y anti-U1RNP, aunque, si observamos una frecuencia elevada de presentación de fenómeno de Raynaud (66,7%) y de artralgias (58,3%) como en otros estudios (26,31). En el caso de los pacientes que presentan anti-PM/Scl (75 o 100), solo

encontramos una menor probabilidad de presentar fenómeno de Raynaud en caso de positividad para anti-PmScl75, esto puede ser debido a que este tipo de anticuerpo se asocia a una presentación más centrada en la miositis, sin tanta afectación vascular como en la esclerodermia (26).

En la segunda parte de nuestro trabajo quisimos analizar el tiempo libre de las complicaciones viscerales más relevantes. Como punto de partida utilizamos el fenómeno de Raynaud, ya que, es el motivo más frecuente de inicio de estudio en la esclerodermia. Se encuentra en el 90-95% de los casos (44). En nuestro trabajo, está presente en el 70% de los pacientes y en el 55,4% de los casos es el primer síntoma de aparición. Como evento consideramos el desarrollo de HTP o EPID, y agrupamos a los pacientes según los autoanticuerpos que presentaban.

En el análisis de supervivencia, observamos variaciones significativas del tiempo libre de eventos, HTP y EPID, en los grupos de pacientes con anti-Scl70, anti-centrómero, anti-ARNpol-III.

Respecto a anti-Scl70 y anti-centrómero, objetivamos un aumento de riesgo en el primero y disminución en el segundo. Estos datos son bien conocidos, por lo que, nuestro estudio aporta reproductibilidad de los hallazgos.

En el caso de anti-ARNpol-III, la asociación con afectación visceral pulmonar descrita hasta la fecha es mucho menos clara. En el estudio de Hoffmann-Vold et al (45), que incluyó a 33 pacientes positivos para este anticuerpo, no se encontraron diferencias significativas en el riesgo de EPID o HTP. En nuestro trabajo, sí detectamos un aumento del riesgo de desarrollar estas manifestaciones por lo que consideramos que es un hallazgo muy relevante y que precisa de confirmación en estudios multicéntricos o en otras cohortes.

Entre las principales limitaciones del estudio se encuentra su diseño retrospectivo, el carácter unicéntrico, la ausencia de controles sanos y la utilización de métodos indirectos para el diagnóstico de algunas manifestaciones como en el caso de la hipertensión pulmonar.

Como fortalezas del estudio destaca un tamaño muestral suficiente, la ausencia de variaciones atribuibles a la técnica diagnóstica y la gran relevancia clínica de los hallazgos descritos, entre los que se incluye algún resultado novedoso con posibilidad de aplicación a la práctica habitual.

6. CONCLUSIONES.

1. El perfil inmunológico de esclerodermia es una herramienta de gran utilidad para la clasificación de los pacientes en distintos fenotipos con cursos de la enfermedad muy diferentes.
2. La identificación de estos fenotipos puede conseguir un seguimiento más individualizado, y, por tanto, instaurar tratamientos precoces.
3. La presencia de anticuerpo anti-Scl70 en el suero de los pacientes es un factor que implica peor pronóstico, mientras que la positividad de anti-centrómero predice un curso más benigno de la enfermedad.
4. El anticuerpo anti-ARNpol-III se asocia a una afectación cutánea extensa y parece implicar una mayor tasa de enfermedad pulmonar intersticial e hipertensión pulmonar. Sin embargo, es una asociación que requiere más investigación.
5. Los autoanticuerpos no considerados clásicos, pero relacionados con la esclerodermia, no demostraron un riesgo aumentado de desarrollar hipertensión pulmonar o enfermedad pulmonar intersticial. En cualquier caso, este hallazgo debe interpretarse con cautela, siendo necesarios estudios posteriores que lo confirmen.

7. BIBLIOGRAFÍA:

1. Morrisroe K, Stevens W, Sahhar J, Ngian GS, Ferdowsi N, Hansen D, et al. The clinical and economic burden of systemic sclerosis related interstitial lung disease. *Rheumatol Oxf Engl*. 1 de agosto de 2020;59(8):1878-88.
2. Elhai M, Meune C, Boubaya M, Avouac J, Hachulla E, Balbir-Gurman A, et al. Mapping and predicting mortality from systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. noviembre de 2017;76(11):1897-905.
3. Ingegnoli F, Ughi N, Mihai C. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic sclerosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. abril de 2018;32(2):223-40.
4. Chiffrot H, Fautrel B, Sordet C, Chatelus E, Sibilia J. Incidence and prevalence of systemic sclerosis: a systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum*. febrero de 2008;37(4):223-35.
5. Cutolo M, Soldano S, Smith V. Pathophysiology of systemic sclerosis: current understanding and new insights. *Expert Rev Clin Immunol*. julio de 2019;15(7):753-64.
6. Rosendahl AH, Schönborn K, Krieg T. Pathophysiology of systemic sclerosis (scleroderma). *Kaohsiung J Med Sci*. marzo de 2022;38(3):187-95.
7. Systemic sclerosis: current pathogenetic concepts and future prospects for targeted therapy. *Lancet Lond Engl*. 25 de mayo de 1996;347(9013):1453-8.
8. 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*. noviembre de 2013;65(11):2737-47.
9. Cervera Segura R. Enfermedades autoinmunes sistémicas. En: *Enfermedades autoinmunes sistémicas*. 5ª. Madrid: Panamericana; 2015. p. 69-88.
10. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet Lond Engl*. 7 de octubre de 2017;390(10103):1685-99.
11. Volkman ER, Andréasson K, Smith V. Systemic sclerosis. *Lancet Lond Engl*. 28 de enero de 2023;401(10373):304-18.
12. Herrick AL, Wigley FM. Raynaud's phenomenon. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. febrero de 2020;34(1):101474.
13. Jerjen R, Nikpour M, Krieg T, Denton CP, Saracino AM. Systemic sclerosis in adults. Part I: Clinical features and pathogenesis. *J Am Acad Dermatol*. noviembre de 2022;87(5):937-54.
14. 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 twenty-year prospective study of 586 patients, with validation of proposed criteria for early systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. diciembre de 2008;58(12):3902-12.
15. Bellando-Randone S, Matucci-Cerinic M. Very early systemic sclerosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. agosto de 2019;33(4):101428.
16. Sobanski V, Dauchet L, Lefèvre G, Lambert M, Morell-Dubois S, Sy T, et al. Prevalence of anti-RNA polymerase III antibodies in systemic sclerosis: New data from a French cohort and a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. febrero de 2014;66(2):407-17.
17. Marie I, Ducrotté P, Denis P, Menard JF, Levesque H. Small intestinal bacterial

- overgrowth in systemic sclerosis. *Rheumatol Oxf Engl*. octubre de 2009;48(10):1314-9.
18. Volkman ER, McMahan Z. Gastrointestinal involvement in systemic sclerosis: pathogenesis, assessment and treatment. *Curr Opin Rheumatol*. 1 de noviembre de 2022;34(6):328-36.
 19. Garros A, Marjoux S, Khouatra C, Coppere B, Grange C, Hot A, et al. Prevalence of fecal incontinence in a cohort of systemic sclerosis patients within a regional referral network. *United Eur Gastroenterol J*. noviembre de 2017;5(7):1046-50.
 20. Bergamasco A, Hartmann N, Wallace L, Verpillat P. Epidemiology of systemic sclerosis and systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Clin Epidemiol*. 2019;11:257-73.
 21. Desai CS, Lee DC, Shah SJ. Systemic sclerosis and the heart: current diagnosis and management. *Curr Opin Rheumatol*. noviembre de 2011;23(6):545-54.
 22. Gokcen N. Serum markers in systemic sclerosis with cardiac involvement. *Clin Rheumatol*. octubre de 2023;42(10):2577-88.
 23. Woodworth TG, Suliman YA, Li W, Furst DE, Clements P. Scleroderma renal crisis and renal involvement in systemic sclerosis. *Nat Rev Nephrol*. noviembre de 2016;12(11):678-91.
 24. Hernández-Flórez D, Valor L. Neither the anti-nuclear antibodies nor the anti-extractable nuclear antigens Are What They Used to Be. A Future Change of Nomenclature. *Reumatol Clin*. 2018;14(6):317-9.
 25. Cavazzana I, Vojinovic T, Airo' P, Fredi M, Ceribelli A, Pedretti E, et al. Systemic Sclerosis-Specific Antibodies: Novel and Classical Biomarkers. *Clin Rev Allergy Immunol*. junio de 2023;64(3):412-30.
 26. Hamaguchi Y, Takehara K. Anti-nuclear autoantibodies in systemic sclerosis : News and perspectives. *J Scleroderma Relat Disord*. octubre de 2018;3(3):201-13.
 27. Okano Y. Antinuclear antibody in systemic sclerosis (scleroderma). *Rheum Dis Clin North Am*. noviembre de 1996;22(4):709-35.
 28. Almaabdi K, Ahmad Z, Johnson SR. Advanced Autoantibody Testing in Systemic Sclerosis. *Diagn Basel Switz*. 23 de febrero de 2023;13(5):851.
 29. Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, Conrad K, Francescantonio PLC, Fritzler MJ, et al. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann Rheum Dis*. julio de 2019;78(7):879-89.
 30. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Francescantonio PLC, et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014-2015. *Front Immunol*. 2015;6:412.
 31. Stochmal A, Czuwara J, Trojanowska M, Rudnicka L. Antinuclear Antibodies in Systemic Sclerosis: an Update. *Clin Rev Allergy Immunol*. 1 de febrero de 2020;58(1):40-51.
 32. Low AHL, Wong S, Thumboo J, Ng SC, Lim JY, Ng X, et al. Evaluation of a new multi-parallel line immunoassay for systemic sclerosis-associated antibodies in an Asian population. *Rheumatol Oxf Engl*. agosto de 2012;51(8):1465-70.
 33. 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*. enero de 2003;48(1):203-9.
 34. Simeón CP, Armadans L, Fonollosa V, Solans R, Selva A, Villar M, et al. Mortality

and prognostic factors in Spanish patients with systemic sclerosis. *Rheumatol Oxf Engl.* enero de 2003;42(1):71-5.

35. Ioannidis JPA, Vlachoyiannopoulos PG, Haidich AB, Medsger TA, Lucas M, Michet CJ, et al. Mortality in systemic sclerosis: an international meta-analysis of individual patient data. *Am J Med.* enero de 2005;118(1):2-10.

36. Tyndall AJ, Bannert B, Vonk M, Airò P, Cozzi F, Carreira PE, et al. Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database. *Ann Rheum Dis.* octubre de 2010;69(10):1809-15.

37. Mayes MD, Lacey JV, Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B, Laing TJ, et al. Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum.* agosto de 2003;48(8):2246-55.

38. Hoffmann-Vold AM, Allanore Y, Alves M, Brunborg C, Airó P, Ananieva LP, et al. Progressive interstitial lung disease in patients with systemic sclerosis-associated interstitial lung disease in the EUSTAR database. *Ann Rheum Dis.* febrero de 2021;80(2):219-27.

39. Ho KT, Reveille JD. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. *Arthritis Res Ther.* 2003;5(2):80-93.

40. Koenig M, Dieudé M, Senécal JL. Predictive value of antinuclear autoantibodies: the lessons of the systemic sclerosis autoantibodies. *Autoimmun Rev.* septiembre de 2008;7(8):588-93.

41. Clark KEN, Campochiaro C, Host LV, Sari A, Harvey J, Denton CP, et al. Combinations of scleroderma hallmark autoantibodies associate with distinct clinical phenotypes. *Sci Rep.* 2 de julio de 2022;12(1):11212.

42. Hamaguchi Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: predictive value for clinical evaluation and prognosis. *J Dermatol.* enero de 2010;37(1):42-53.

43. Koutsianas C, Levasseur K, Rutter M, Webber C, Bhole MV, Bell C, et al. 204 A lost-to-follow-up autoantibody for the diagnosis of autoimmune disease: prevalence and clinical characteristics of anti-NOR90/hUBF positive patients. *Rheumatology.* 1 de abril de 2018;57(suppl_3):key075.428.

44. Muruganandam M, Ariza-Hutchinson A, Patel RA, Sibbitt WL. Biomarkers in the Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Systemic Sclerosis. *J Inflamm Res.* 2023;16:4633-60.

45. Hoffmann-Vold AM, Midtvedt Ø, Tennøe AH, Garen T, Lund MB, Aaløkken TM, et al. Cardiopulmonary Disease Development in Anti-RNA Polymerase III-positive Systemic Sclerosis: Comparative Analyses from an Unselected, Prospective Patient Cohort. *J Rheumatol.* abril de 2017;44(4):459-65.