

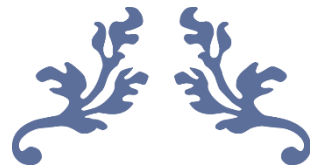
ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

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

UAB

Universitat Autònoma
de Barcelona



CARACTERÍSTICAS DE LA AFECCIÓN MUSCULAR INFLAMATORIA ASOCIADA A LA ESCLEROSIS SISTÉMICA

José Luis Tandaipán Jaime



UAB

**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Programa de Doctorado en Medicina
Departamento de Medicina

CARACTERÍSTICAS DE LA AFECCIÓN MUSCULAR INFLAMATORIA ASOCIADA A LA ESCLEROSIS SISTÉMICA

Tesis doctoral presentada para optar al grado de Doctor

Doctorando:

JOSE LUIS TANDAIPÁN JAIME

Directores:

IVÁN CASTELLVÍ BARRANCO

EDUARD GALLARDO VIGO

Tutor:

JORDI CASADEMONT I POU

2025

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

A Iván, mi maestro Sith, mi amigo, gracias a ti descubrí el gusto por la Reumatología, y más aún el de la Esclerodermia, gracias por acompañarme en este viaje casi casi espacial, con turbulencias, pero siempre se pasa mejor con unas risas, a que el reverso de la fuerza acompañarnos debe.

A Edu, per donar-me el teu suport des del primer moment, per mostrar-me el mon de les biòpsies amb moltíssima il·lusió, per creure en mi per fer aquest treball, moltes gràcies.

A mi Madre, Greta, por cultivar en mi la disciplina, el esfuerzo y sobre todo la constancia, por alegrarte de mis pequeños logros, por decirme que soy tu orgullo, a ti te lo debo todo mamá.

A mi padre, Simón, por tu inagotable fuente de positividad, que ha estado alentándome en cada momento de mi vida, y de esta tesis, por arrancarme una sonrisa siempre en mis momentos de más agobio.

A ti Manel, que por mucho que lo escriba aquí no habrá texto que pueda expresar lo feliz que estoy contigo, por darme un apoyo infinito para este proyecto, pero el proyecto más importante es el que tengo contigo.

A mi abuela Consuelo y a mi tía Flor, siempre han estado orgullosas de mí y doy lo mejor de mi para que siempre sea así, las extraño tanto.

A mi familia Serón por cuidarme siempre, Montse, Rosa, Eva, Tin, Paula, Arnau, Martin y Esteban, muchísimas gracias.

A Mire & Andy, mi comité de crisis, *my partners in crime*, por sufrir conmigo, por buscar una solución, una alternativa, por darme ánimos y sobre todo por estar ahí de principio a fin.

A Elena, muchísimas gracias por compartir momentos conmigo, por preguntar cada avance de mi tesis, por enviar siempre tus mejores energías, muchísimas muchísimas gracias.

A Yolei, mi amiga, mi compañera de risas, por creer en mí siempre y darme todo tu cariño y apoyo.

A mis compañeros de Sant Pau i Dos de Maig, muchísimas gracias por el apoyo en estos años de tesis y más aún en estas semanas.

A Rosi y al equipo de laboratorio.

LISTADO DE ABREVIATURAS

LISTADO DE ABREVIATURAS

AC	Autoanticuerpo
ACA	Anticentrómero
ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANA	Anticuerpos antinucleares
Anti-RNA-pol	Anti ARN-polimerasa-III
ARN	Ácido ribonucleico
ATA	Antitopoisomera-I / Scl-70
CHEST	<i>The American College of Chest Physicians</i>
CK	Creatinasa
CP	Capilaroscopia periungueal
CRE	Crisis renal esclerodérmica
DE	Desviación estándar
EAS	Enfermedad Autoinmune Sistémica
EEII	Extremidades inferiores
EESS	Extremidades superiores
EM	Escleromiositis
ENMC	<i>European Neuromuscular Centre</i>
EPI	Enfermedad Pulmonar Intersticial
ERS	<i>European Respiratory Society</i>
ES	Esclerosis Sistémica/Esclerodermia
ESC	<i>European Cardiology Society</i>
EScl	Esclerodermia limitada
EScd	Esclerodermia difusa
ES-IF	Esclerosis sistémica con hallazgos inflamatorios
ES-NSF	Esclerosis sistémica con hallazgos inespecíficos
EULAR	<i>European Alliance of Associations for Rheumatology</i>
EUSTAR	<i>European Scleroderma Trials and Research</i>
FR	Fenómeno de Raynaud
GI	Gastrointestinal
IC	Intervalo de confianza
ID	Intestino delgado

IECA	Inhibidores de la enzima convertora de angiotensina
IGIV	Inmunoglobulinas Intravenosas
HAP	Hipertensión arterial pulmonar
HLA	<i>Human leukocyte antigens</i>
HLA-DR	<i>Human leukocyte antigens – DR isotype</i>
MHC-I	<i>Major histocompatibility complex – class I</i>
MII	Miopatías inflamatorias idiopáticas
MxA	<i>Myxovirus-resistance protein A</i>
NCAM	<i>Neural cell adhesion molecule</i>
PDGR-A	<i>Platelet-derived growth factor receptor Alpha</i>
PDGR-B	<i>Platelet-derived growth factor receptor Beta</i>
RIQ	Rango intercuartílico
<i>SINE</i>	Esclerodermia sin esclerosis cutánea
SMN	<i>Survival of motor neuron</i>
<i>STIR</i>	<i>Short-TI Inversion Recovery</i>
µm	Micras
VEGF-165	<i>Vascular endothelial growth factor</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. VASCULOPATÍA EN LA ESCLERODERMIA.....	35
FIGURA 2. COMPONENTE INFLAMATORIO EN LA ESCLERODERMIA.....	36
FIGURA 3. COMPONENTE FIBRÓTICO EN LA ESCLERODERMIA.....	37
FIGURA 4. IMÁGENES DE NEOANGIOGÉNESIS	41
FIGURA 5. PATRÓN INICIAL DE CUTOLO.....	41
FIGURA 6. PATRÓN ACTIVO DE CUTOLO	42
FIGURA 7. PATRÓN TARDÍO DE CUTOLO	42
FIGURA 8. FENÓMENO DE RAYNAUD	43
FIGURA 9. LESIONES CUTÁNEAS EN SAL Y PIMIENTA DE LA ES	45
FIGURA 10. ESCLERODACTILIA CON RETRACCIONES TENDINOSAS.....	48
FIGURA 11. PACIENTE CON UN PATRÓN DE NEUMONÍA INTERSTICIAL NO ESPECÍFICA ASOCIADA A ESCLEROSIS SISTÉMICA.....	49
FIGURA 12. EMG CON PATRÓN MIOPÁTICO DE UN PACIENTE CON MIOPATÍA INFLAMATORIA ASOCIADA A ESCLERODERMIA.....	55
FIGURA 13. RESONANCIA MAGNÉTICA DE CUERPO ENTERO DE UN PACIENTE CON MIOPATÍA INFLAMATORIA ASOCIADA A LA ESCLERODERMIA EN LA QUE SE MUESTRA LA PRESENCIA EN STIR DE EDEMA EN LOS GRUPOS MUSCULARES PROXIMALES.	56
FIGURA 14. ANÁLISIS DEL TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR PREVIO AL INICIO DE LA MIOPATÍA INFLAMATORIA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS SISTÉMICA.	85
FIGURA 15. TRATAMIENTOS ADMINISTRADOS EN EL GRUPO DE ESCLERODERMIA CON HALLAZGOS INFLAMATORIOS	88
FIGURA 16. INMUNOHISTOQUÍMICA EN CORTES CONGELADOS EN EL GRUPO INFLAMATORIO	93
FIGURA 17. ANÁLISIS CUANTITATIVO DE FIBROSIS Y CAPILARES.....	96

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LA ES EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	82
TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE LA MIOPATÍA INFLAMATORIA	87
TABLA 3. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA MORFOLOGÍA DE LAS FIBRAS MUSCULARES ...	90
TABLA 4. ANÁLISIS DEL SUBGRUPO DE NECROSIS	94
TABLA 5. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DE LA BIOPSIA MUSCULAR COMPARADAS ENTRE EL GRUPO SSC-NSF Y LAS BIOPSIAS NORMALES	97

ÍNDICE

ÍNDICE

RESUMEN	23
ABSTRACT	27
1. INTRODUCCIÓN	33
1.1 ESCLEROSIS SISTÉMICA	33
1.1.1 EPIDEMIOLOGÍA	33
1.1.2 ETIOPATOGENIA	34
1.1.3 CRITERIOS CLASIFICATORIOS	38
1.1.4 AUTOINMUNIDAD	38
1.1.5 CAPILAROSCOPIA PERIUNGUEAL	40
1.1.6 MANIFESTACIONES CLÍNICAS	43
1.1.7 MANEJO DE LA ESCLEROSIS SISTÉMICA	51
1.2 MIOPATÍA INFLAMATORIA ASOCIADA A LA ESCLERODERMIA.....	51
1.2.1 PRESENTACIÓN CLÍNICA	51
1.2.2 AUTOINMUNIDAD	52
1.2.3 PRUEBAS COMPLEMENTARIAS.....	54
1.2.4 TRATAMIENTO	58
2. HIPÓTESIS	61
2.1 JUSTIFICACIÓN	61
2.2 HIPÓTESIS.....	62
3. OBJETIVOS:	65
3.1 OBJETIVO PRINCIPAL	65
3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS	65
4. POBLACIÓN Y MÉTODOS	69
4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	69
4.2 CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA.....	69
4.2.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	69
4.2.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	70
4.3. PROCEDENCIA DE LOS DATOS DE LOS PACIENTES	70
4.4. MEDIOS DE RECOGIDA.....	70
4.5. VARIABLES DEL ESTUDIO	70
4.5.1 VARIABLES DEMOGRÁFICAS.....	70
4.5.2 VARIABLES DE LA ESCLERODERMIA.....	71
4.5.3 VARIABLES DE LA MIOPATÍA INFLAMATORIA	72
4.5.4 VARIABLES DE EVOLUCIÓN.....	72
4.5.5 VARIABLES DE LA BIOPSIA MUSCULAR.....	73
4.6 REALIZACIÓN DE LAS BIOPSIAS MUSCULARES.....	74
4.7 PROCESAMIENTO DE LAS BIOPSIAS MUSCULARES.....	74
4.8 ANÁLISIS DE LAS BIOPSIAS MUSCULARES.....	74
4.9 ESTRUCTURA DE LAS MUESTRAS MUSCULARES.....	75
4.10 DEFINICIÓN DE GRUPOS DE ESTUDIO:.....	75
4.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	76
4.12 DECLARACIÓN ÉTICA	76

5. RESULTADOS	81
5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA MUESTRA	81
5.1.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	81
5.1.2 CARACTERÍSTICAS INMUNOLÓGICAS	81
5.1.3 CARACTERÍSTICAS DE LA ESCLERODERMIA	81
5.1.4 CARACTERÍSTICAS DE LA MIOPATÍA INFLAMATORIA	86
5.1.4.1 CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO INFLAMATORIO (<i>grupo ES-IF</i>).....	86
5.1.4.2 CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO DE HALLAZGOS INESPECÍFICOS (<i>grupo ES-NSF</i>)	88
5.1.4.3 CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO DE BIOPSIAS NORMALES.....	89
5.2 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS GENERALES	89
5.2.1 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DEL GRUPO INFLAMATORIO (<i>ES-IF</i>).....	89
5.2.2 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DEL GRUPO INESPECÍFICO (<i>ES-NSF</i>).....	97
5.2.3. COMPARACIÓN DEL GRUPO <i>ES-NSF</i> CON EL GRUPO DE BIOPSIAS NORMALES	97
6. DISCUSIÓN	100
7. CONCLUSIONES	112
8. LINEAS DE FUTURO	116
9. BIBLIOGRAFÍA	120
10. ANEXOS.....	150
10.1 CRITERIOS CLASIFICATORIOS ACR/EULAR PARA LA ESCLERODERMIA 2013	150
10.2 AUTOANTICUERPOS PRESENTES EN LA ESCLERODERMIA.....	151
10.3 ÍNDICE MODIFICADO DE RODNAN	152
10.4 RECOMENDACIONES EULAR 2023 PARA EL TRATAMIENTO DE LA ESCLERODERMIA	153
10.5 CRITERIOS CLASIFICATORIOS ACR/EULAR PARA LAS MII 2017	154
10.6 CRITERIOS CLASIFICATORIOS ACR/EULAR 2016 PARA EL SÍNDROME DE SJÖGREN.....	155
10.7 CRITERIOS CLASIFICATORIOS ACR/EULAR 2019 PARA EL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.....	156
10.8 CRITERIOS CLASIFICATORIOS ACR/EULAR 2010 PARA LA ARTRITIS REUMATOIDE.....	157
10.9 ANEXO 5. HOJA DE RECOGIDA DE MUESTRAS.....	158
10.10 PROTOCOLO DE INMUNOHISTOQUÍMICA EN MIOPATÍAS INFLAMATORIAS	162
10.11 FOTOGRAFÍA DE MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA	168

RESUMEN

ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

La Esclerosis Sistémica (ES) o Esclerodermia es la Enfermedad Autoinmune Sistémica (EAS) con peor pronóstico, cuyas complicaciones causan una elevada morbilidad y mortalidad. La miopatía inflamatoria es una complicación de la ES con mal pronóstico. Sin embargo, la miopatía inflamatoria en la ES o también llamada Escleromiositis (EM) no está bien definida, siendo el abordaje diagnóstico y terapéutico similar al de las Miopatías Inflamatorias Idiopáticas (MII). Si bien en los escasos estudios histopatológicos se han observado algunas características diferenciales en pacientes con EM, actualmente no está definido ni aceptado un perfil concreto de afección muscular inflamatoria en pacientes con EM, así como tampoco se han descrito las diferencias histológicas con pacientes con ES sin EM, o se han comparado con controles sanos.

El objetivo de esta tesis es analizar en profundidad las características clínicas e histológicas de los pacientes con ES con y sin EM.

PACIENTES Y METODOS:

Se realizó un estudio ambispectivo realizado (entre enero 2000 y diciembre 2023) en una cohorte de 340 pacientes con ES en seguimiento activo de un centro nacional de referencia. Todos los pacientes cumplían criterios ACR/EULAR 2013 para la ES. Durante el seguimiento se consideró la sospecha de miopatía inflamatoria a los pacientes que presentaban debilidad muscular objetivada mediante la escala Manual de Fuerza Muscular y al menos una de las siguientes características: elevación de los enzimas musculares (niveles Creatincinasa (CK) > 2 veces el valor normal (26–140 U/L)); patrón miopático (potenciales de unidades motora de corta duración, baja amplitud y polifásicos, con reclutamiento rápido) por EMG; o evidencia de edema muscular en el protocolo de secuencias de recuperación por inversión de tiempo corto (STIR) de la Resonancia Magnética de cuerpo entero. Las biopsias fueron indicadas como parte del manejo médico habitual, posteriormente se realizaron tinciones y mediciones específicas para valorar la serie inflamatoria, vascular y fibrótica de cada paciente.

Se obtuvieron las variables epidemiológicas y clínicas de los pacientes. Respecto a las biopsias musculares se recogieron la morfología de la fibra muscular, los hallazgos inmunohistoquímicos, la medición de capilares, el porcentaje de intersticio y el estudio de microscopia electrónica en cada biopsia. Las biopsias musculares fueron clasificadas en 3 grupos. En los dos primeros grupos se incluyeron pacientes con ES según los hallazgos obtenidos en la biopsia muscular. Se categorizaron en el grupo inflamatorio (ES-IF) si cumplían criterios histopatológicos de miopatía inflamatoria según los consensos Centro Europeo de Enfermedades Neuromusculares. El resto de pacientes con ES que no cumplían estos criterios, se incluyeron en el grupo de hallazgos no específicos (ES-NSF). El tercer grupo fueron aquellos pacientes sin EAS con sospecha inicial de miopatía no específica, que finalmente presentaron biopsias musculares normales.

RESULTADOS:

Se indicó una biopsia muscular a veintisiete pacientes con sospecha EM en una cohorte de pacientes con ES. 19 pacientes fueron clasificados en el grupo inflamatorio (ES-IF) y 8 en el grupo de hallazgos inespecíficos (ES-NSF). El grupo ES-IF presentó una mayor elevación de CK (1098,79 U/L DE \pm 1507,49 vs 298,62 U/L DE \pm 376,85; p 0,0464). Con relación a la serie inflamatoria, se expresó el MHC-I en el 95% (p <0,001), HLA-DR en el 44% (p 0,03), macrófagos en el 79% (p 0,002), NCAM en el 63% (p 0,0025) y p62 en el 41% (p 0,05). En relación con la vasculopatía, se observó que las fibras más pequeñas y con mayor porcentaje de intersticio se asociaban a neoangiogénesis (p <0,0001 y p 0,0175), y con pérdida de densidad capilar (p 0,0237 y p 0,0001). Con relación a la fibrosis, presentó más tejido intersticial (12,74% DE \pm 1,39 vs 8,82% DE \pm 0,86; p <0,0001). Dentro del grupo ES-IF, presentaron necrosis el 26% de los pacientes, observándose un aumento significativo de la mortalidad (60% vs 7,14% p 0,0374).

El 75% de los pacientes del grupo ES-NSF había recibido tratamiento inmunosupresor en algún momento de su enfermedad (p 0,033). Este grupo se comparó con un grupo de biopsias muscular normales para valorar normalidad, observando en el grupo ES-NSF que las fibras eran más pequeñas (36,91 μ m DE 12,57 vs 42,2 μ m DE 10,85 p 0,0001), con mayor porcentaje de intersticio (8,82% DE 0,86 vs 3,95% DR 0,92 p <0,0001) y menor

proporción de capilares por fibra con respecto al grupo (5,43 DE 4,02 vs 13,52 DE 8,97 p 0,0199).

CONCLUSIONES

Los resultados reportados objetivan que la biopsia muscular es útil para el diagnóstico y categorización de la EM. La EM podría presentar un patrón histopatológico propio frente a las IIM, lo cual facilitaría una mejor caracterización de esta entidad. La presencia de fibrosis y vasculopatía podrían ser un hallazgo característico de los pacientes con esclerodermia sin hallazgos inflamatorios histológicos en la biopsia muscular sugestivos de escleromiositis.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVES

Systemic Sclerosis (SSc) or scleroderma is the Systemic Autoimmune Disease (SAD) with the worst prognosis, whose complications lead to high morbidity and mortality. Inflammatory myopathy is a complication of SSc with poor prognosis. Also known as Scleromyositis (SM), inflammatory myopathy in scleroderma is not well defined, and its diagnostic and therapeutic approach is similar to that of Idiopathic Inflammatory Myopathies (IIM). A limited number of histopathological studies have observed some differential features in patients with SM. However, no specific profile of inflammatory muscle involvement has been defined or accepted in SM patients. Furthermore, histological differences between scleroderma patients with SM, without SM and healthy controls have not been described to date.

The aim of this thesis is to analyze in depth the clinical and histological characteristics of SSc patients with and without SM.

METHODS:

An ambispective study was conducted (from January 2000 to December 2023) on a cohort of 340 SSc patients under active follow-up at a national tertiary referral center. All patients met the 2013 ACR/EULAR criteria for SSc. During follow-up, inflammatory myopathy was suspected in patients presenting with muscle weakness identified through the Manual Muscle Testing scale and at least one of the following characteristics: elevated muscle enzymes (Creatine Kinase (CK) levels > 2 times the normal value (26–140 U/L)); myopathic pattern (short-duration, low-amplitude, and polyphasic motor unit potentials with rapid recruitment) on electromyography; or evidence of muscle edema on Short Tau Inversion Recovery (STIR) sequences in whole-body MRI. Muscle biopsies were performed as part of routine daily practice, followed by specific staining and measurements to assess the inflammatory, vascular, and fibrotic series in each patient.

Epidemiological and clinical variables of the patients were collected. Regarding muscle biopsies, fiber morphology, immunohistochemical findings, capillary measurements, interstitial percentage, and electron microscopy studies were analyzed. Muscle biopsies were classified into three groups. The first two groups consisted of SSc patients, categorized as inflammatory (SSc-IF) if histopathological criteria for inflammatory myopathies (as per European Neuromuscular Centre consensus) were met. Patients not meeting these criteria were classified as nonspecific findings (SSc-NSF). In the third group were included patients without SAD, but with an initial suspicion of nonspecific myopathy, which ultimately had normal muscle biopsies.

RESULTS:

Muscle biopsy was performed in a group of patients with suspected SM from a cohort of SSc patients. Nineteen patients were classified in the inflammatory group (SSc-IF), and eight in the nonspecific findings group (SSc-NSF). The SSc-IF group showed higher CK levels (1098.79 U/L SD \pm 1507.49 vs. 298.62 U/L SD \pm 376.85; $p = 0.0464$).

Regarding the inflammatory series, MHC-I was expressed in 95% ($p < 0.001$), HLA-DR in 44% ($p = 0.03$), macrophages in 79% ($p = 0.002$), NCAM in 63% ($p = 0.0025$), and p62 in 41% ($p = 0.05$). In terms of vasculopathy, the smaller fibers with higher percentages of interstitium were associated with neoangiogenesis ($p < 0.0001$ and $p = 0.0175$) and capillary density loss ($p = 0.0237$ and $p < 0.0001$). As for fibrosis, more interstitial tissue was observed (12.74% SD \pm 1.39 vs. 8.82% SD \pm 0.86; $p < 0.0001$). Within the SSc-IF group, necrosis was observed in 26%, with increased mortality (60% vs. 7.14%, $p = 0.0374$).

Seventy-five percent of the SSc-NSF group had received immunosuppressive treatment throughout the course of the disease ($p = 0.033$). This group was compared with a group of normal muscle biopsies to assess normality. The SSc-NSF group showed smaller fibers (36.91 μ m SD \pm 12.57 vs. 42.2 μ m SD \pm 10.85; $p < 0.0001$), a higher interstitial percentage (8.82% SD \pm 0.86 vs. 3.95% SD \pm 0.92; $p < 0.0001$), and a lower capillary-to-fiber ratio compared to the control group (5.43 SD \pm 4.02 vs. 13.52 SD \pm 8.97; $p = 0.0199$).

CONCLUSIONS

The reported findings suggest that muscle biopsy is a useful tool for the diagnosis and categorization of scleromyositis, which presents a distinct histopathological pattern compared to IIM. The presence of fibrosis and vasculopathy could be characteristic findings of scleroderma patients without inflammatory histologic findings in the muscle biopsy associated to scleromyositis.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ESCLEROSIS SISTÉMICA

La Esclerosis Sistémica (ES) o esclerodermia es una enfermedad autoinmune sistémica (EAS) caracterizada por afectar la microcirculación, así como condicionar fenómenos de inflamación y fibrosis. (1). Se considera a la ES una de las EAS con mayor morbimortalidad y el pronóstico está supeditado a sus complicaciones (2, 3).

1.1.1 EPIDEMIOLOGÍA

La ES presenta una distribución global, donde la incidencia estimada está entre un 1,4-8,64 casos por cada 100.000 personas/año (1,78-23,57), realizándose 0,67 millones de nuevos diagnósticos anualmente (0.14–1.84). La prevalencia es de 18,87 por 100.000 personas (1,55-25,28), con una población afectada aproximada a nivel mundial de 1.47 millones (0,12-1,97)(4, 5). Sin embargo, esta distribución varía según la región, ya que es mayor en el sur de Europa, Estados Unidos y Australia (6), como es el caso de España, donde la incidencia es de 2,3 casos por 100.000 personas/año y la prevalencia de 27,7 por 100.000 personas (7).

Es más frecuente en mujeres adultas, con una tasa de incidencia global de 21.01 por cada 100.000 mujeres/año (4.33-57.24), con una prevalencia estimada de 45.41 por 100.000 mujeres (3.79-61.87)(4), siendo ésta incluso superior en España con 47,36 por cada 100.00 mujeres/año. (4-8:1). No obstante, la afectación es más severa en hombres con una mortalidad subsecuente superior. El pico de incidencia se presenta entre los 30 y 50 años, aunque la enfermedad puede debutar a cualquier edad. La ES es más frecuente en la raza negra, con un inicio en edad más temprana, presentando un subtipo cutáneo difuso hasta de 2.5 veces mayor que en la raza blanca, con mayor tasa de mortalidad, principalmente por afección pulmonar (8).

1.1.2 ETIOPATOGENIA

La etiología actualmente es desconocida (9). La teoría más aceptada, es la que se ha descrito en otras EAS, que consiste en que en individuos genéticamente predispuestos, ante una exposición ambiental, generen una desregulación en los mecanismos compensatorios de forma persistente, donde finalmente se establecerá la enfermedad (10).

Entre los principales genes descritos en la etiopatogenia de la ES, tenemos a los genes relacionados con el sistema inmune (HLA-DQB1, HLA-DPB1, HLA-DRB1, PTPN22, STAT4, IRF5) a los relacionados con la producción de fibroblastos (COL1A1, COL1A2, TGFB1, CTGF) y finalmente a aquellos implicados en el desarrollo de vasculopatía (END1, VEGFA, NOTCH3)(11, 12). Entre los factores ambientales se han descrito derivados del silicio (polvo del silicio, silicona), compuestos inorgánicos (hidrocarburos aromáticos y alifáticos), drogas y fármacos (bleomicina, carbidopa, triptófano, pentazocina, cocaína, anorexígenos, dieltilpropio, flenfluramina) y aceite de colza, entre otros (13-15) .

También se ha postulado la posible influencia de agentes infecciosos, sin esclarecer bien su relación con la enfermedad. Entre los más estudiados se encuentran el *Helicobacter pylori*, el citomegalovirus y el parvovirus B19 (16-19).

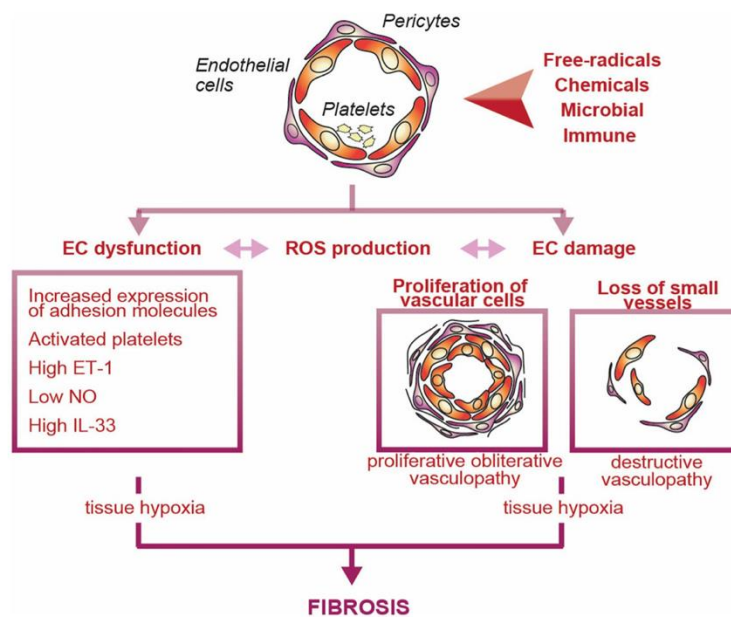
La patogenia de la ES se ha fundamentado en 3 grandes pilares, una disfunción en la microvasculatura, un proceso inflamatorio descontrolado y la producción excesiva de fibrosis, lo que genera una amplia gama de órganos afectados (9, 20).

Disfunción Microvascular

Se cree que el daño inicial es una alteración en la célula endotelial, donde las paredes de los pequeños vasos (arteriolas, capilares y vénulas) presentan una alteración en la homeostasis, generando un aumento de la permeabilidad(21). Al perder esta propiedad de protección de los vasos, la célula endotelial es vulnerable a la exposición de citoquinas inflamatorias y estimuladores de colágeno, reduciéndose el flujo sanguíneo al dañarse la microvasculatura(22). La disminución del flujo sanguíneo en los tejidos produce una alteración en la oxigenación y el suministro de nutrientes tanto a nivel cutáneo como en

el resto de los órganos(23). En consecuencia, se origina un desequilibrio en las sustancias tanto vasoconstrictoras como vasodilatadoras, las cuales, sin una regulación adecuada, originan episodios de vasoconstricción y vasodilatación patológica en la microcirculación(24). Este fenómeno permite observar en práctica clínica el fenómeno de Raynaud(25). A medida que avanza la enfermedad los vasos sanguíneos presentan daños estructurales, intentando compensar mediante una formación anómala de nuevos vasos sanguíneos, llamada angiogénesis, produciendo una mala perfusión sanguínea debido a un calibre disminuido por una hiperplasia de la capa íntima(26). Clínicamente pueden observarse úlceras digitales y otras complicaciones vasculares de la ES (9, 27). Entre las teorías que se han postulado como originarias de este daño endotelial, tenemos al estrés oxidativo, la sobreexpresión de factores de crecimiento, y la persistencia de un microambiente inflamatorio que se retroalimenta (27, 28).

Figura 1. Vasculopatía en la esclerodermia

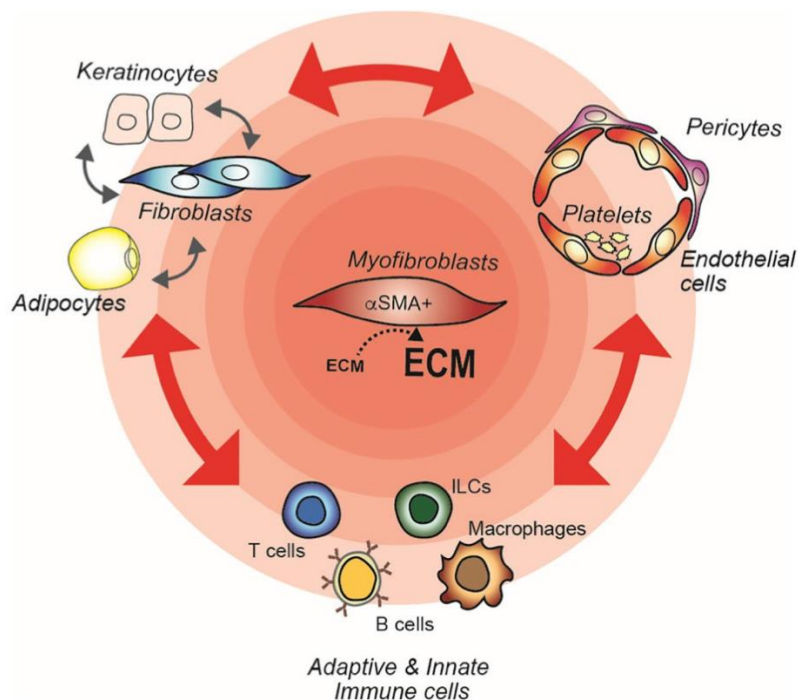


Truchetet ME, Brembilla NC, Chizzolini C. Current Concepts on the Pathogenesis of Systemic Sclerosis. Clin Rev Allergy Immunol. 2023 Jun;64(3):262-283. doi: 10.1007/s12016-021-08889-8. Epub 2021 Sep 6. PMID: 34487318; PMCID: PMC10167130. Permission obtained from Clinical Reviews in Allergy & Immunology.

Componente Inflamatorio

El sistema inmune innato y adaptativo son determinantes en la patogénesis de la Esclerodermia (27). En la inmunidad innata, el reconocimiento de patógenos es la primera respuesta, tanto los macrófagos como las células dendríticas son las primeras líneas en dar respuesta al estímulo inicial(29). Posteriormente se liberan citoquinas inflamatorias, entre las que se encuentran el factor de necrosis tumoral, la interleucina 1 y la interleucina 6(30). La activación del complemento contribuye al aumento de la permeabilidad capilar y facilita la infiltración de células inflamatorias en los tejidos (31, 32). En relación con la inmunidad adaptativa, la activación de linfocitos T (CD4+ subtipo Th2) conduce a la liberación de citocinas proinflamatorias y fibrogénicas como la interleucina 4, la interleucina 5 y la interleucina 13 (33). A su vez, tras la activación de los linfocitos B, se realiza la diferenciación de las células plasmáticas, generando la producción de autoanticuerpos (34).

Figura 2. Componente inflamatorio en la esclerodermia

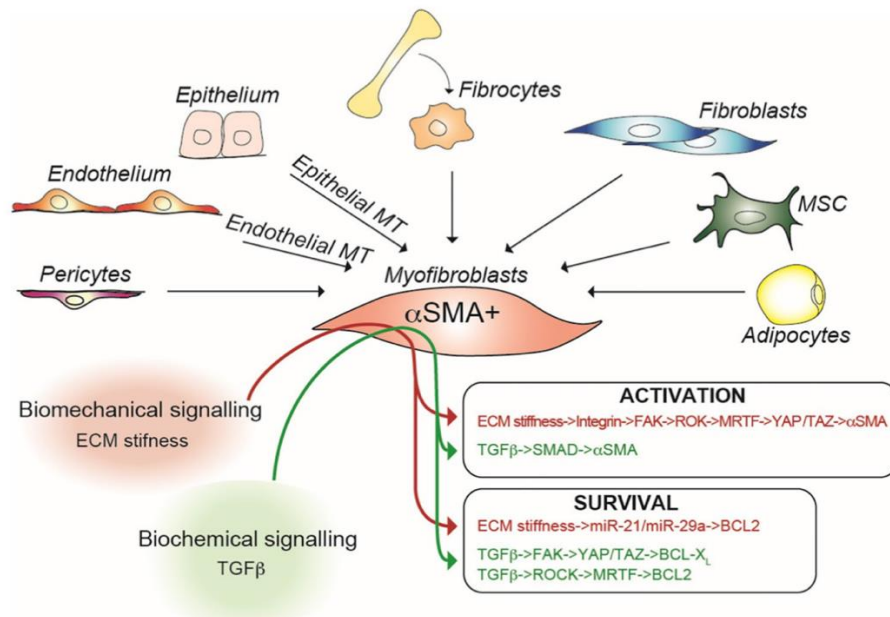


Truchetet ME, Brembilla NC, Chizzolini C. Current Concepts on the Pathogenesis of Systemic Sclerosis. Clin Rev Allergy Immunol. 2023 Jun;64(3):262-283. doi: 10.1007/s12016-021-08889-8. Epub 2021 Sep 6. PMID: 34487318; PMCID: PMC10167130. Permission obtained from Clinical Reviews in Allergy & Immunology.

Componente Fibrótico

La activación de fibroblastos y la transformación celular se generan a partir de moléculas proinflamatorias como los factores de crecimiento(35). Dichos fibroblastos pueden presentar una mutación en genes que alteran su estructura estimulando de forma anormal a la matriz extracelular(36). En ella se genera un aumento desmedido de producción de colágeno ocasionando engrosamiento y rigidez tisular(37). A su vez, se producen otros productos como la elastina, fibronectina y proteoglicanos, los cuales contribuyen a la alteración de la pared tisular(38). Las citoquinas proinflamatorias generan una retroalimentación con los principales estimuladores de los fibroblastos, que son los *transforming growth factor-beta*, *hepatocyte growth factor* y la interleucina-13 (39).

Figura 3. Componente fibrótico en la esclerodermia



Truchetet ME, Brembilla NC, Chizzolini C. Current Concepts on the Pathogenesis of Systemic Sclerosis. Clin Rev Allergy Immunol. 2023 Jun;64(3):262-283. doi: 10.1007/s12016-021-08889-8. Epub 2021 Sep 6. PMID: 34487318; PMCID: PMC10167130. Permission obtained from Clinical Reviews in Allergy & Immunology.

En resumen, la Esclerodermia es una EAS con un modelo poligénico que tras la exposición a un agente ambiental ocasiona daño orgánico mediante la alteración de la microvasculatura y la activación y producción de fibrosis, los cuales se relacionan y retroalimentan entre sí (27).

1.1.3 CRITERIOS CLASIFICATORIOS

Debido a que la ES no tiene una prueba de referencia para realizar el diagnóstico, el clínico es el que determina el diagnóstico de la enfermedad. Los criterios clasificatorios se utilizan con el fin de incluir pacientes con esta patología en proyectos de investigación clínica (6).

Los primeros criterios preliminares clasificatorios publicados fueron en 1980 por la ACR (40), sin embargo se objetivó una baja especificidad y una escasa inclusión de pacientes en las fases más precoces de la enfermedad. En 1988 LeRoy y Medsger describieron unos criterios clasificatorios donde diferenciaron principalmente a los enfermos según su grado de afección cutánea, la ES cutánea limitada (EScl) y la ES cutánea difusa (EScd) (41). Aunque hoy en día no se utiliza esta clasificación, se siguen utilizando estos términos como parte de la clasificación cutánea. Posteriormente, se han descrito otras clasificaciones con el fin de poder diferenciar mejor a los pacientes, teniendo en cuenta formas precoces o presentaciones *SINE* (esclerodermia sin esclerosis cutánea) (42, 43)), sin obtener los resultados esperados. ACR y EULAR publicaron en 2013 unos nuevos criterios clasificatorios (Anexo 10.1) en los cuales mediante una puntuación se puede clasificar a los pacientes sin necesidad de presentar afección cutánea, empleando criterios clínicos y de pruebas complementarias (44). Durante los años posteriores se han validado en diferentes cohortes, presentando una sensibilidad y especificidad elevadas (>90%) frente al resto de criterios clasificatorios (45-48).

1.1.4 AUTOINMUNIDAD

Los anticuerpos antinucleares (ANA) son los marcadores más importantes y más característicos de las EAS, presentes en más del 95% en pacientes con Esclerodermia (49). La técnica de elección para la determinación de los ANA es la inmunofluorescencia indirecta mediante células HEp-2 (50). De acuerdo con el consenso internacional *ANA PATTERN* (51, 52), según el resultado obtenido, se realizarán estudios más específicos para detectar más autoanticuerpos que son clasificados según sus características. En práctica clínica habitualmente se utilizan tiras comerciales que agrupan varios anticuerpos (53). A pesar de que el rol de los autoanticuerpos en la patogenia de la ES no está bien definido, su importancia es fundamental tanto para el diagnóstico, como

para el pronóstico de la enfermedad (54-56). Aunque se han descrito más de 7 anticuerpos específicos (Anexo 10.2), solo 3 forman parte de los criterios clasificatorios ACR/EULAR 2013, dado que son los más frecuentes en la ES (44).

1.1.4.1 Autoanticuerpo anti-centrómero (ACA)

Es el anticuerpo más frecuente en la ES, dirigido contra las proteínas del cinetocoro o centrómero que forma parte del proceso de división celular durante la mitosis. Presenta 3 subunidades antigénicas (A, B y C) siendo la diana principal la subunidad B de 80kDa (57, 58). Se ha detectado en un 50-90% de pacientes con EScl, sin embargo, puede estar presente en otras EAS como el Síndrome de Sjögren (59). Las complicaciones más frecuentemente relacionadas con ACA en la enfermedad son fenómenos vasculares como la hipertensión arterial pulmonar (60).

1.1.4.2 Autoanticuerpo anti-topoisomerasa I / Scl-70 (ATA-I)

Es un autoanticuerpo dirigido contra la enzima topoisomerasa I, que desempeña un papel importante en el desenrollamiento del ácido desoxirribonucleico (ADN) durante la replicación y transcripción celular, aunque podría tener también un efecto en el ácido ribonucleico (ARN) subsecuente (61). Presenta una alta especificidad para la EScl y su presencia en otras EAS es rara. La determinación de ATA-I se asocia a un peor pronóstico, a un mayor de desarrollar afección pulmonar intersticial, afección renal o compromiso cardíaco (62).

1.1.4.3 Autoanticuerpo anti-ARN polimerasa III (anti-RNAPol)

El ARN polimerasa III es un enzima esencial en el proceso de transcripción del ADN al ARN, específicamente en la producción de moléculas de ARN no codificantes. Forma parte de varios procesos celulares, cuya alteración puede generar un mal procesamiento del ARN mensajero y ARN transferencia, lo que puede ocasionar a su vez el desarrollo de EAS y neoplasia (63). Se encuentra presente en un 10-25% de las EScl y sus asociaciones más relevantes son con la crisis renal esclerodérmica y las neoplasias (64, 65).

1.1.4.4 Autoanticuerpo Th/To

Se dirige contra componentes del complejo ribonucleoproteico mitocondrial que interviene en la maduración del ARN ribosomal. Se detecta en un 5-10% de las EScl, las cuales presentan un mayor riesgo de desarrollar enfermedad pulmonar intersticial e hipertensión arterial pulmonar (66, 67).

Los anticuerpos anti-Pm/Scl, anti-Ku, anti-U1RNP y anti-U3RNP se comentarán posteriormente en el apartado 1.2.2.

1.1.5 CAPILAROSCOPIA PERIUNGUEAL

La capilaroscopia periungueal (CP) es una técnica no invasiva que permite el estudio de la microcirculación mediante la visualización del lecho periungueal, siendo fundamental para el estudio del fenómeno de Raynaud y la Esclerodermia (68, 69). Se han descrito alteraciones morfológicas con elevada especificidad en la ES (70). No obstante, algunas de estas alteraciones también se pueden visualizar en otras enfermedades, sobre todo dentro del espectro de otras EAS (71-73). Maricq y colaboradores propusieron la primera subclasificación en dos patrones esclerodermiformes: el patrón activo, caracterizado por la extensa pérdida de densidad capilar, presencia de áreas avasculares y desorganización global del lecho periungueal, pudiendo encontrar además fenómenos de angiogénesis (figura 4). El patrón lento fue caracterizado por la presencia de megacapilares y capilares dilatados sin clara pérdida de densidad capilar. El patrón activo se relacionó con una evolución rápida y agresiva de la enfermedad, mientras que el patrón lento se relacionó con una evolución más benigna (74-77). Posteriormente, Cutolo y colaboradores propusieron otra clasificación de tres patrones. El patrón precoz o inicial (figura 5) se caracteriza por la presencia de dilataciones capilares y algunos capilares gigantes sin pérdida de densidad capilar. El patrón activo muestra capilares gigantes y microhemorragias con leve pérdida de densidad capilar (figura 6), pudiéndose observar algún fenómeno de angiogénesis. El patrón tardío suele objetivar una marcada pérdida de densidad capilar, con destrucción del lecho periungueal y escasas de presencia de capilares gigantes o hemorragias (figura 7)(78). Algunos autores defienden una relación temporal entre los tres patrones y la evolución de la ES, así como de las complicaciones derivadas de la enfermedad (79-83).

Figura 4. Imágenes de Neoangiogénesis



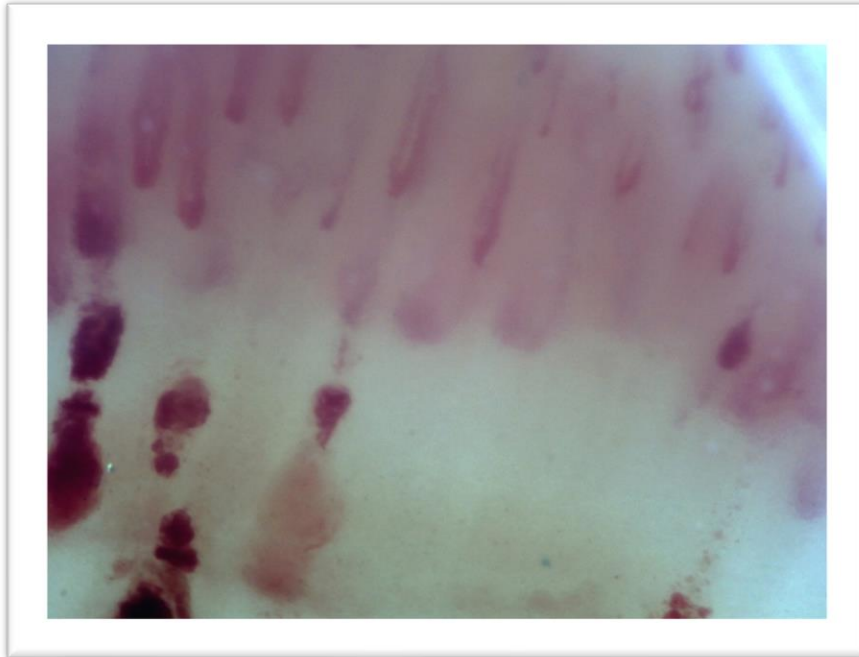
Fondo de imágenes del doctorando, publicadas con el consentimiento del paciente.

Figura 5. Patrón Inicial de Cutolo



Fondo de imágenes del doctorando, publicadas con el consentimiento del paciente.

Figura 6. Patrón Activo de Cutolo



Fondo de imágenes del doctorando, publicadas con el consentimiento del paciente.

Figura 7. Patrón Tardío de Cutolo



Fondo de imágenes del doctorando, publicadas con el consentimiento del paciente.

1.1.6 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

A continuación, pasan a detallarse las manifestaciones clínicas relevantes dentro de la esclerosis sistémica, excepto la afección muscular inflamatoria, que se detallará en el apartado 1.2.

1.1.6.1 El Fenómeno de Raynaud (FR)

En 1862 fue descrito por primera vez por el profesor Maurice Raynaud(84). Se caracteriza por fenómenos vasoespásticos en zonas acras (dedos de manos y pies, lóbulos de las orejas, punta de la lengua e incluso en pezones) tras exposición al frío, siendo más frecuente en invierno(85). También se ha descrito su aparición en pacientes que padecen estrés (figura 8)(86). Se clasifica en FR primario (Síndrome de Raynaud) o secundario a alguna enfermedad, en la mayor parte de los casos una EAS (87).

El FR suele ser el primer síntoma más precoz en la Esclerodermia, precediendo en meses o años a la afección orgánica según el subtipo clínico, por lo que está presente en los criterios clasificatorios ACR/EULAR 2013 (44). Su implicación tanto en el diagnóstico como en fases preclínicas hace que su presencia, junto a otros factores, se considere un factor de riesgo para la evolución de la ES(88).

Figura 8. Fenómeno de Raynaud



Fondo de imágenes del doctorando, publicadas con el consentimiento del paciente.

1.1.6.2 Úlceras digitales

Las úlceras digitales son una complicación generalmente asociada a la presencia de fenómeno de Raynaud grave y se definen como lesiones que están localizadas fundamentalmente en el pulpejo de los dedos en su cara palmar o distales a articulaciones interfalángicas proximales(89). Son de origen isquémico, se caracterizan por la pérdida de la continuidad epitelial y en ocasiones están cubiertas por una costra o tejido necrótico (90). Pueden ser muy dolorosas y complicarse con infecciones, asociadas o no a osteomielitis y auto amputaciones(91). Las úlceras digitales están consideradas una complicación vascular grave que afecta aproximadamente a la mitad de los pacientes, debutando en 3 de cada 4 casos a los 5 años de evolución del diagnóstico de la esclerodermia (92).

1.1.6.3 Cutánea

La fibrosis cutánea es la marca emblemática de la ES(43). Según el área que abarque se clasifica en ES cutánea limitada (EScl) o ES cutánea difusa (EScd)(41, 93). El diagnóstico es clínico, se evidencia la induración cutánea mediante la palpación, objetivando una dificultad en el momento de pellizcar la piel, debido a la pérdida de elasticidad por un engrosamiento tisular (94, 95).

Para valorar el grado de endurecimiento y la extensión que abarca, se utiliza la escala modificada de Rodnan (mRss)(anexo 10.3), que es semicuantitativa y observador dependiente (96). En la actualidad, para su aplicación en ensayos clínicos se ha propuesto una certificación avalada por el grupo EUSTAR (97).

También se han descrito lesiones de hiperpigmentación, generalmente en la EScd(98). Estas lesiones pueden ser generalizadas o parcheadas, siendo estas últimas descritas en “sal y pimienta” (figura 9), debido a la contraposición de piel hiperpigmentada con piel sana(93). Otros hallazgos consisten en la pérdida de anejos, glándulas sebáceas y ecrinas, que se traducen en áreas de alopecia, xerosis cutánea e hipohidrosis (99, 100).

Figura 9. Lesiones cutáneas en sal y pimienta de la ES



Fondo de imágenes del doctorando, publicadas con el consentimiento del paciente.

De forma retrospectiva, se ha observado que la historia natural de la induración cutánea presenta un pico máximo de extensión y engrosamiento en torno a los 3 primeros años desde el inicio de la enfermedad. Posteriormente, se mantiene una etapa de meseta que finalizará en un descenso lentamente progresivo (101). No obstante, en la actualidad se están realizando estudios focalizados en la afección cutánea tardía. Éstos incluyen en su mayoría pacientes con anticuerpos de EScd (ATA) que presentaron formas iniciales de EScl que posteriormente desarrollaron un cuadro difuso (102).

Uno de los compromisos precoces de la piel es la presencia de dedos hinchados/edematosos, mejor conocidos por su descripción en inglés "*puffy fingers*". Esta manifestación puede preceder al inicio del Fenómeno de Raynaud o surgir de manera concomitante, y su relevancia reside en que podría ser un indicador temprano de ES (103).

Las telangiectasias son otra forma de manifestación cutánea, son consideradas una dilatación postcapilar de los vasos superficiales de la piel que no se debe a inflamación o a formación de neovasos(104). Las telangiectasias se consideran un ítem dentro de los criterios clasificatorios de la enfermedad EULAR/ACR 2013(44). Su localización más habitual es en manos, cara, en mucosa yugal, labios y escote (105).

Otro tipo de afección de la piel es la calcinosis, definida como el depósito insoluble de sales de calcio en la piel(106). Se puede presentar en la ES hasta en un 40% de los casos(107). Para llegar al diagnóstico, es necesaria una prueba de imagen, tanto para localizar la lesión como para conocer su extensión(108). Las principales complicaciones de la calcinosis incluyen úlceras, infecciones recurrentes y anquilosis de las articulaciones(109). Todas ellas se han relacionado con una peor morbilidad (106, 110).

1.1.6.4 Afección Gastrointestinal

El compromiso Gastrointestinal (GI) es común en pacientes con ES, afectando hasta el 90% de los pacientes, siendo una causa de morbimortalidad elevada (111).

La afección esofágica es la manifestación GI más frecuente, presente hasta en un 90% de los casos (112-114), habiéndose descrito de manera más frecuente en la EScl (115). Los mecanismos fisiopatológicos propuestos son: el daño vascular con hipoperfusión e isquemia (116), un daño neurológico a partir de los cambios microvasculares del *vasa vasorum* y un compromiso nervioso por infiltrado inflamatorio y/o fibrótico (117). Estos cambios producen una disfunción de la motilidad esofágica, fundamentalmente de su parte más distal (118). Adicionalmente, se ha descrito un componente neurológico autoinmune en las manifestaciones gastrointestinales (119, 120). Se ha postulado la implicación de los anticuerpos antimuscarínicos del receptor 3 acetilcolina (37-39), los cuales inhibirían la contractibilidad de la musculatura lisa (121-124). Describiéndose una disminución en la amplitud de la contractibilidad y una baja presión en reposo del esfínter esofágico inferior (125, 126). Estas alteraciones ocasionan síntomas, como disfagia, tos, pirosis, regurgitación o dispepsia , siendo los dos síntomas más frecuentemente reportados la disfagia y el reflujo gastroesofágico (127).

Aproximadamente el 50% de los pacientes con ES presentan compromiso de la cavidad gástrica (128, 129). Las manifestaciones más frecuentes son el retraso en el vaciamiento gástrico y la ectasia vascular antral gástrica (130-132).

Las alteraciones del intestino delgado en la ES son frecuentes, siendo el duodeno la porción más afectada (40-88%), observando una dismotilidad, probablemente ocasionada por cambios neuropáticos y miopáticos, mediante isquemia vascular, daño nervioso, atrofia del músculo liso y finalmente fibrosis (133). Todo ello contribuye al sobrecrecimiento bacteriano intestinal favoreciendo la colonización bacteriana ascendente, produciendo náuseas, vómitos, diarrea, distensión abdominal, hinchazón y signos relacionados con malabsorción (pérdida de peso, esteatorrea, déficits vitamínicos (134-136). La pseudoobstrucción intestinal crónica se caracteriza por un deterioro de la propulsión gastrointestinal con síntomas y signos de obstrucción intestinal aguda o crónica en ausencia de oclusión mecánica (137). La neumatosis cistoide intestinal son quistes múltiples con contenido aéreo en la pared intestinal atribuido a presiones intraluminales elevadas por sobrecrecimiento bacteriano, lo cual puede evolucionar a un neumoperitoneo en caso de rotura (138).

La afección colónica (20–50%) suele ser asintomática (139). Los síntomas colónicos serían producidos por la inflamación en la pared intestinal, la cual ocasionaría atrofia muscular, fibrosis y dismotilidad. Dichas alteraciones generarían un retraso en el tiempo de tránsito intestinal, lo cual favorecería el sobrecrecimiento de bacterias, que a su vez desencadenaría una diarrea malabsortiva (140).

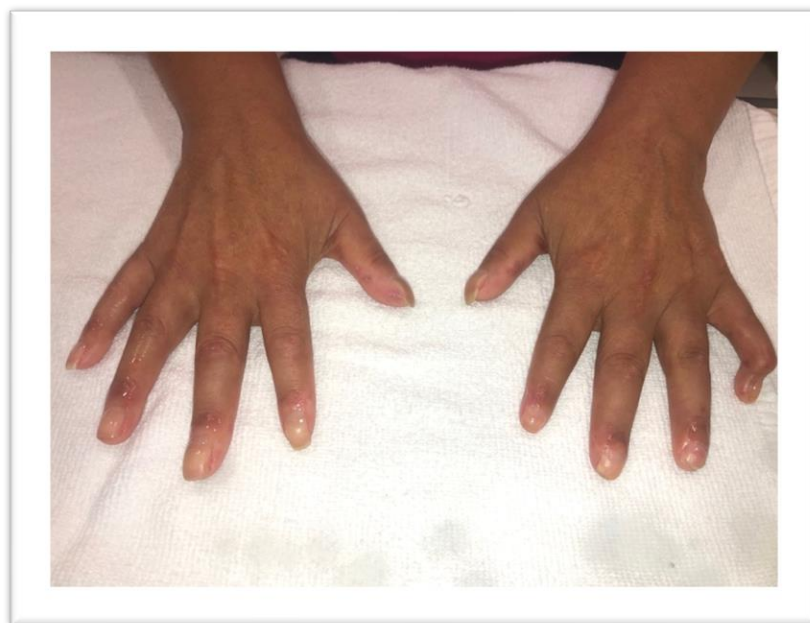
La presencia de síntomas anorrectales se da en un 50-70% de los pacientes, principalmente se ve afectado el esfínter anal interno a nivel estructural y neurógeno, ocasionando incontinencia fecal, estreñimiento y el prolapso rectal (141).

1.1.6.5 Afección Osteoarticular

La artralgia o dolor articular inespecífico es uno de los síntomas más frecuentes en la ES, mientras que la sinovitis se presenta en el 16% de los casos, predominantemente en forma poliarticular (60%)(142). Puede presentarse como un síndrome de solapamiento con la artritis reumatoide en un 2% de los pacientes (143). Es reseñable que en casos evolucionados y, sobre todo en formas con afección cutánea difusa, los pacientes presenten compromiso tendinoso (144). Se ha descrito en la literatura un patrón inflamatorio en forma de tenosinovitis(145). Sin embargo, los signos más observados

han sido las contracturas tendinosas (figura 10) y los roces tendinosos, presentes en el 31% y 11% de los casos, respectivamente(144). De igual forma, ambas manifestaciones están asociadas además de a la forma cutánea difusa, a la raza negra y a la presencia de ATA-I(146). En consecuencia, ambas forman parte de los factores de mal pronóstico de la enfermedad (147).

Figura 10. Esclerodactilia con retracciones tendinosas



Fondo de imágenes del doctorando, publicadas con el consentimiento del paciente.

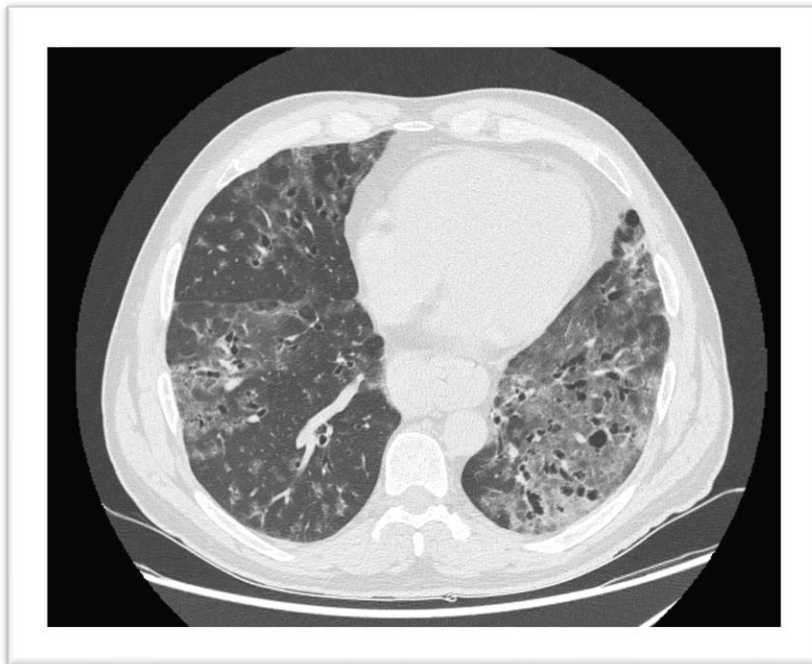
1.1.6.6 Afección Renal

La crisis renal esclerodérmica (CRE) se sitúa alrededor del 10-15%, es una manifestación vascular de la ES que provoca insuficiencia renal aguda rápidamente progresiva la cual, en la mayoría de los casos, cursa con hipertensión arterial maligna; adicionalmente, puede acompañarse de microangiopatía trombótica con anemia hemolítica microangiopática(148). Presenta una elevada tasa de morbilidad sin embargo, se ha reducido considerablemente durante los últimos años gracias a un manejo precoz (149). Se ha descrito un mayor riesgo en la EScd, el inicio reciente de la ES, las contracturas articulares, los roces tendinosos, anti-RNA-pol y/o ATA, la administración de glucocorticoides (≥ 15 mg/día) y la exposición previa a inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)(150). Por lo que se recomienda realizar un control periódico de las cifras de presión arterial, a su vez ante la sospecha de CRE es necesario el ingreso hospitalario y el inicio farmacológico con IECA (151).

1.1.6.7 Afección Pulmonar Intersticial

La enfermedad pulmonar intersticial (EPI) es la primera causa de morbilidad y mortalidad en la ES (2, 3). La prueba de elección para su diagnóstico es la tomografía computarizada torácica de alta resolución (TCAR) (Figura 11)(152). En aquellos pacientes que manifiestan algún síntoma respiratorio se llega a detectar EPI en un 40%, sin embargo, si se realiza en forma de cribado, se puede detectar entre un 75-90%, por lo que se recomienda solicitarlo al diagnóstico de la enfermedad (153). Los factores de riesgo para relacionados con el desarrollo de EPI en pacientes con ES son el sexo masculino, la EScd, los anticuerpos ATA, la raza afroamericana, la raza asiática y la afección esofágica (154, 155). En el momento del diagnóstico se recomienda realizar un estadiaje mediante pruebas de función respiratoria y la prueba de la marcha de 6 minutos. De acuerdo con el resultado obtenido, se deben de repetir de forma periódica en función del tipo y/o grado de afección pulmonar, según las últimas recomendaciones propuestas por las guías americanas reumatológicas y neumológicas ACR/CHEST 2023 (156). La forma progresiva se asocia con una mayor mortalidad, definida como un empeoramiento progresivo tanto clínico como en las pruebas de función respiratoria (157, 158).

Figura 11. Paciente con un patrón de Neumonía Intersticial No Específica asociada a Esclerosis Sistémica.



Descripción: zonas de vidrio deslustrado extensas, consolidaciones de tipo peribroncovascular, bronquiectasias y bronquiolectasias de tracción.

Fondo de imágenes del doctorando, publicadas con el consentimiento del paciente.

1.1.6.8 Hipertensión Arterial Pulmonar

La hipertensión arterial pulmonar (HAP) es una manifestación grave de la ES y se considera una de las causas de muerte más frecuentes en estos pacientes(2, 3). Su prevalencia se sitúa entre el 5% y el 12% de los pacientes con ES(159). Es significativamente relevante que los pacientes con ES pueden presentar hipertensión pulmonar por diversas causas, siendo la más característica la HAP (grupo 1)(160). Sin embargo, la hipertensión pulmonar también puede derivarse de enfermedad cardíaca izquierda (grupo 2), de EPI (grupo 3), de enfermedad tromboembólica crónica (grupo 4) o incluso de una crisis renal esclerodérmica con insuficiencia renal (grupo 5)(161).

El tratamiento se establece una vez se ha confirmado el diagnóstico mediante el estudio hemodinámico pulmonar (cateterismo de corazón derecho)(162). El tratamiento se basa en la presencia o ausencia de comorbilidades y se adapta a la gravedad de la enfermedad según la escala de riesgo de la ESC/ERS (163).

1.1.6.9 Afección Cardíaca

La afección cardíaca se asocia a un mal pronóstico y a un aumento de la mortalidad, puede ser primaria (del miocardio o pericardio) o secundaria a otras complicaciones de la esclerodermia, como hipertensión arterial pulmonar, enfermedad pulmonar intersticial o hipertensión arterial grave en contexto de una crisis renal esclerodérmica (164). La afección miocárdica generalmente es poco sintomática o silente, descrita en un 15-35% de los pacientes, no obstante en estudios de necropsias puede alcanzar hasta un 80% de los casos (165). Los factores de riesgo de presentar una afección cardíaca grave son la EScd rápidamente progresiva y la edad avanzada en el momento del diagnóstico de la ES (166). La fibrosis miocárdica parcheada es la lesión histológica típica en la ES (167). Los mismos mecanismos serían responsables de la afección del sistema de conducción y del pericardio (168). A nivel de la conducción cardíaca, el electrocardiograma basal es patológico en el 32% de los pacientes, siendo el hemibloqueo anterior de la rama izquierda (16%) y bloqueo aurículo-ventricular de primer grado (8%) las más frecuentes (169).

1.1.7 MANEJO DE LA ESCLEROSIS SISTÉMICA

El principal objetivo en el tratamiento de los pacientes con ES es prolongar su supervivencia. Con este fin, es primordial prevenir de forma precoz las complicaciones de esta entidad en su fase inicial. Desde la publicación del estudio VEDOSS (*Very Early Diagnosis of Systemic Sclerosis*) se han establecido herramientas para detectar precozmente esta entidad, con la finalidad de facilitar el diagnóstico y la clasificación de más pacientes en fases precoces o asintomáticas de la enfermedad (170, 171). En la actualidad, se recomienda realizar a todo paciente con Fenómeno de Raynaud una exploración física adecuada, un estudio inmunológico con ANA y una capilaroscopia (172). En los casos de reciente diagnóstico se recomienda el cribaje de las complicaciones mediante pruebas complementarias: analítica de sangre completa, pruebas de función respiratoria/pulmonar, ecocardiograma transtorácico, electrocardiograma y TCAR (173). En caso de que la sospecha sea de afección de un órgano concreto se realizarán procedimientos dirigidos, como el cateterismo cardiaco o la manometría esofágica (174). En relación a los tratamientos de la ES, nos centraremos en las últimas recomendaciones EULAR de 2023 (Anexo 10.3) (175).

1.2 MIOPATÍA INFLAMATORIA ASOCIADA A LA ESCLERODERMIA

La miopatía inflamatoria o miositis está descrita dentro de los síntomas musculoesqueléticos de la ES, con una prevalencia significativamente variable (5-95%) (176-198), debido a una falta de homogeneidad en la terminología. En un metaanálisis publicado en 2013 se publicó una prevalencia del 13% (IC del 95% 10-17)(199), sin embargo, este resultado podría estar infraestimado debido a la falta de consenso en cuanto a su definición (200). Su presencia se ha asociado a un mal pronóstico de la enfermedad (181, 198, 201).

1.2.1 PRESENTACIÓN CLÍNICA

La miopatía inflamatoria en ES o escleromiositis (EM) se ha asociado al subtipo cutáneo difuso (190, 194), al compromiso gastrointestinal y a la presencia de sinovitis, roces

tendinosos, crisis renal esclerodérmica, compromiso cardiaco y enfermedad pulmonar intersticial difusa (178, 181, 192, 202, 203).

Clínicamente, los pacientes manifiestan mialgias en aproximadamente un 90% de los casos (180, 204), mientras que entre un 30 a 60% expresan debilidad proximal (182, 190, 194) tanto en extremidades superiores como en inferiores. De igual forma, pueden observarse afectaciones axiales en forma del Síndrome de Cabeza Caída (205), cuya detección en práctica clínica habitual puede suponer un gran reto para el especialista (177, 184).

1.2.2 AUTOINMUNIDAD

Los anticuerpos principalmente descritos en la miopatía asociada a ES son los anti-Pm/Scl, anti-U1RNP, anti-U3RNP y anti-Ku (191, 206-214). A su vez, en otras series se han mencionado adicionalmente los anticuerpos RuvBL1/2 y anti-SMN (215-219). Sin embargo, se ha descrito la ausencia de anticuerpos hasta en un 50% de los casos (180, 220).

1.2.2.1 Anti-Pm/Scl

Es un anticuerpo dirigido contra el ARN intracelular. Se compone de un complejo exosoma multiproteico involucrado en el procesamiento y degradación de ARN. La detección de estos anticuerpos se realiza utilizando una o las dos subunidades que se han descrito como más inmunogénicas: PM/Scl-75 y PM/Scl-100 (221). Dentro de la ES se presenta hasta en un 13% de los pacientes con ES (222), mientras que su presencia en la EM se ha descrito hasta en un tercio de los pacientes, con evidencia de alteraciones inflamatorias y fibróticas en las biopsias musculares (212, 223, 224).

1.2.2.2 Anti-U1RNP

Es un AC dirigido contra el complejo de ribonucleoproteínas nucleares pequeñas (*small nuclear RNP*, por sus siglas en inglés), específicamente la subunidad U1, relacionada con el ARN mensajero. Es el anticuerpo asociado a la enfermedad mixta del tejido conectivo. Sin embargo, se puede asociar a otras enfermedades como la ES, en la que está presente

en un 5-12% de los casos (225). Está presente en el 10-46% de los pacientes con EM, asociándose en estos casos a un debut en edades más tempranas, a la forma de ES limitada y a la EPI (192, 215). En los hallazgos obtenidos en las biopsias musculares, se ha observado la presencia de necrosis, la cual se ha relacionado con una buena respuesta al tratamiento (211).

1.2.2.3 Anti-Ku

Es un AC dirigido contra el complejo Ku, una ribonucleoproteína implicada principalmente en la reparación y transcripción del ADN. Se presenta en la ES en el 1-16% de los casos, mientras que en la EM se ha detectado en un 38-55% de los pacientes (207). Su presencia se asocia con afección pulmonar (EPI e HAP), cardíaca, GI y artritis. Se han observado fenómenos de necrosis en las biopsias musculares. Su presencia sugiere una buena respuesta al tratamiento (226, 227).

1.2.2.4 Anti-U3RNP o fibrilarina

Es un AC dirigido contra ARN/fibrilarina (también conocido como anti-fibrilarina), que es una proteína que forma parte de las ribonucleoproteínas nucleolares, involucradas en la maduración y modificación del ARN ribosómico. Presente en la ES en el 1-14% de los casos, y en un 6% de los pacientes con EM. Este AC se detecta principalmente en pacientes de raza afroamericana, de menor edad, con un debut temprano de la enfermedad, que presentan un subtipo difuso, úlceras digitales, calcinosis, afección GI y cardíaca (228). En las biopsias musculares, se ha descrito principalmente fibrosis y escasa respuesta al tratamiento (215).

Entre los AC menos conocidos tenemos los Anti-RuvB1 y anti-RuvB2 (AC dirigidos contra las proteínas RuvB-like 1 y RuvB-like 2), proteínas involucradas en la replicación del ADN, la reparación del ADN y la regulación de la transcripción. Presentes en el 60% de los pacientes con EM, asociándose en este caso con un debut en edades avanzadas, el sexo masculino y EScd (216, 218). Finalmente, los Ac-SMN (*survival of motor neuron*) son AC dirigidos contra la proteína SMN, encargada del ensamblaje de los "esplicesomas", responsables de la maduración del ARN mensajero. Se ha descrito su presencia en la EM, asociado a la EScl, artritis y calcinosis (219, 229).

1.2.3 PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

Debido al curso oscilante de la presentación clínica, los hallazgos objetivados en las exploraciones complementarias son sustanciales para alcanzar el diagnóstico. Entre ellos disponemos de la elevación de enzimas musculares, un patrón miopático en el electromiograma y la presencia de edema muscular en la resonancia magnética de cuerpo entero (176, 185, 196, 197, 201, 230). Las exploraciones mencionadas previamente son empleadas principalmente en el manejo de las miopatías inflamatorias idiopáticas (IIM)(231), siendo la biopsia muscular la prueba de confirmación ante un caso de diagnóstico dudoso (232).

1.2.3.1 Enzimas musculares

La elevación de los niveles de creatincinasa (CK) es uno de criterios ACR/EULAR 2017 para la clasificación de las MII(233). En los pacientes con ES puede estar presente en un 6% a 47% de los casos (184, 190), si bien en casos de miopatía asociada a ES se ha descrito hasta en un 100% de los pacientes estudiados (181). Su presencia se ha asociado tanto a un mal pronóstico (234, 235), como a una muy buena respuesta a los tratamientos en comparación con aquellos pacientes que presentaban niveles más bajos de CK (179). La elevación de CK puede estar presente en casos de miocarditis, por lo que ante una sospecha clínica se debería solicitar una determinación de troponinas séricas (236, 237). Los niveles de aldolasa sérica también forman parte de los criterios ACR/EULAR 2017 para las IIM (233). Se observan niveles elevados de aldolasa en pacientes con miopatía asociada a ES en un 34% a 100% de los pacientes(200). Se han descrito casos en los que se detectan niveles más elevados de aldolasa que de CK (195, 238). Pese a estos resultados, los niveles de aldolasa sérica no han demostrado ser superiores a las CK como biomarcador (239). No debe despreciarse el hecho de que estos biomarcadores musculares elevados, en ausencia de sintomatología asociada, pueden estar influidos por diferentes factores como el sexo, la edad, la raza y la actividad física de los pacientes. En consecuencia, se debería revalorar aquellos casos de pacientes asintomáticos que presenten unos marcadores musculares elevados (240).

1.2.3.2 Electromiograma

El electromiograma es una herramienta que se utiliza para el diagnóstico de las MII (241). Sin embargo, no está presente en los criterios clasificatorios ACR/EULAR 2027 (233). El patrón que se observa en las MII es un patrón miopático (figura 12), que traduce una alteración muscular primaria, donde se observan (242-246):

- Potenciales de unidad motora miopáticos: de corta duración, baja amplitud y con aumento en el número de fases. Dichas características indican un daño en las fibras musculares que compromete la generación de fuerza y altera la actividad eléctrica durante la contracción voluntaria.
- Actividad espontánea anormal: ondas agudas positivas, fibrilaciones y descargas repetitivas complejas. Tales hallazgos sugieren una inflamación o lesión activa del músculo.
- Alteraciones en el reclutamiento: reclutamiento temprano con un número aumentado de motoras activadas. Estos resultados reflejan que las unidades motoras restantes intentan compensar la pérdida funcional de las fibras musculares dañadas.

En los pacientes con Escleromiositis se ha observado un EMG alterado en un 40% a 100% de los casos, observándose una distribución patológica en la musculatura proximal (176, 178, 183-186, 188, 192, 201, 220, 247-249). En algunas series se ha descrito un patrón neurógeno, sin poder relacionarlo con la miopatía (179, 180, 224, 248).

Figura 12. EMG con patrón miopático de un paciente con miopatía inflamatoria asociada a Esclerodermia

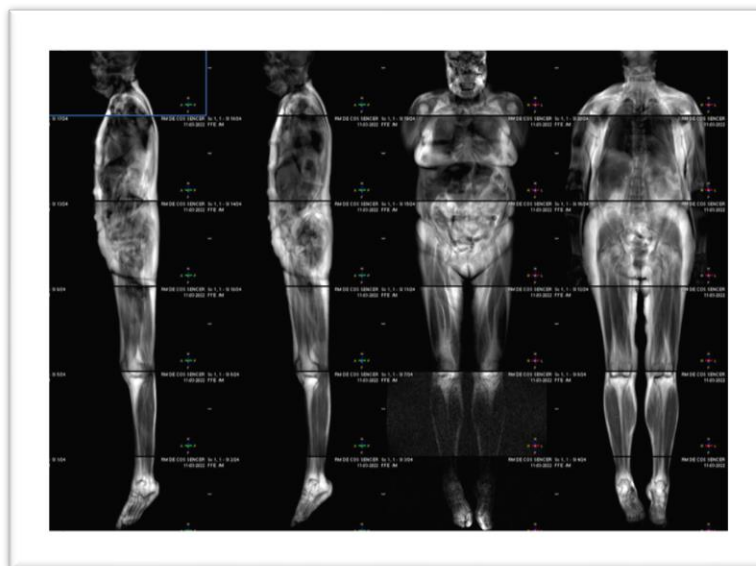
Sensory NCS												
Nervio / Lugares	Rec. Site	Onset Lat ms	Peak Lat ms	PP Amp µV	Segmentos	Distance mm	Velocity m/s					
D Superficial peroneal - Ankle												
Lat leg	Ankle	1,88	2,52	13,0	Lat leg - Ankle	100	53					
EMG Summary Table												
Músculo	Nervio	Raíces	Spontaneous						MUAP			Recruitment
			IA	Fib	PSW	Fasc	CRD	Amp	Dur.	PPP	Pattern	
D. Vastus lateralis	Femoral	L2-L4	Normal	1+	1+	None	None	None	Normal	Normal	1+	N
D. Biceps brachii	Musculocutaneous	C5-C6	Normal	None	None	None	None	None	Reduced	Reduced	2+	Precoz

Fondo de imágenes del doctorando, publicadas con el consentimiento del paciente.

1.2.3.3 Resonancia magnética de cuerpo entero

La resonancia magnética de cuerpo entero es una prueba no invasiva que permite evaluar los diferentes estadios de la miositis desde el edema muscular, el edema perifascial, la fascitis y hasta la atrofia muscular (250). Los hallazgos que se han descrito para la interpretación de miositis son: la presencia de edema en la secuencia STIR (siglas en inglés de Recuperación de Tau corta con supresión de grasa)(figura 13) y la inflamación activa que se evidencia mediante la captación de contraste en las áreas edematosas en la secuencia T1 post-gadolinio (251). Sin embargo, estas alteraciones en la resonancia magnética de cuerpo entero no son específicas de las MII e incluso pueden sobreestimar su diagnóstico (246). Debido a todo ello, no está presente en los criterios clasificatorios ACR/EULAR 2017 (233). Su principal utilidad se ha descrito en el momento de localizar el grupo muscular a biopsiar (252). En relación con la Escleromiositis, se han observado hallazgos patológicos en un 38 a 100% de los pacientes, (179, 180, 187, 195-198, 223, 224), por lo que la resonancia magnética de cuerpo entero sería una herramienta sensible para detectar edema muscular incluso en pacientes con escasa sintomatología, así como otra exploración complementaria mediante la cual valorar la afección muscular (197).

Figura 13. Resonancia magnética de cuerpo entero de un paciente con miopatía inflamatoria asociada a la esclerodermia en la que se muestra la presencia en STIR de edema en los grupos musculares proximales.



Descripción: en la secuencia STIR destaca una alteración de señal muscular compatible con edema, de distribución difusa y bilateral, afectando la cintura escapular, músculos del bíceps de ambos brazos, cintura pélvica y en los compartimientos posterior e interno de los muslos.

Fondo de imágenes del doctorando, publicadas con el consentimiento del paciente.

1.2.3.4 Biopsia muscular

La biopsia muscular sigue siendo la herramienta diagnóstica más fiable cuando se presenta una sospecha de miositis (246). A pesar de que no es indispensable en los criterios clasificatorios ACR/EULAR 2017, la información que muestra ayuda tanto en el diagnóstico como en la diferenciación de los subtipos de MII (233).

En los talleres internacionales del Centro Europeo de Enfermedades Neuromusculares, los expertos a lo largo de los años han establecido consensos para poder clasificar las MII mediante patrones histopatológicos. Dentro de las MII se encuentran la Polimiositis, la Dermatomiositis, la Miopatía Necrotizante Inmunomediada, la Miopatía por Cuerpos de Inclusión y la Miositis no específica (253, 254). Cabe destacar que la Escleromiositis no está incluida en dicha clasificación, ya que no existen criterios histopatológicos establecidos para dicha entidad.

En diversos estudios publicados recientemente se han realizado biopsias musculares a pacientes con sospecha de Escleromiositis, evidenciando hallazgos que podrían correlacionarse con los pilares de la patogenia de la ES. Hallazgos vasculares: en las primeras biopsias musculares ya se describían daños a nivel de la vascularización, observándose una disminución en el número de capilares e incluso observándose una destrucción de los mismos (255). A su vez, se han observado: una expresión capilar anormal del VEGF o PDGR-b mediante tinciones de inmunohistoquímica y una duplicación de la membrana basal con activación e incremento en el número de pericitos (176, 177, 256). Un estudio reciente de microscopía electrónica ha descrito la anatomía de los capilares, observándose un engrosamiento de la membrana basal (duplicación hasta de 4 capas) en el 65% de los casos de Escleromiositis, frente a un 0% en los casos de MII (249). Hallazgos inflamatorios: Se han descrito la expresión en el complejo de histocompatibilidad tipo 1, la presencia de necrosis e infiltrados inflamatorios (227). Según los hallazgos evidenciados, los pacientes con escleromiositis podrían cumplir patrones de MII según el ENMC (*European Neuromuscular Centre*), como serían la miopatía necrotizante inmunomediada, la polimiositis y la miopatía no específica. Sin embargo, no presentan anticuerpos específicos de MII ni desarrollan sus manifestaciones clínicas características. Hallazgos fibróticos: en diversos estudios se ha

detallado el patrón fibrótico. Éste hace referencia a la presencia de fibrosis sin hallazgos inflamatorios. Destacan tres trabajos, dos de ellos hacen mención a la mala evolución de los pacientes en los que se objetiva dicho patrón, tanto por su mala respuesta al tratamiento con inmunosupresores, como por presentar una mayor mortalidad derivada de afección cardíaca. No obstante, a su vez, estos pacientes presentaban características de mal pronóstico como un subtipo cutáneo difuso o anticuerpos ATA (224, 248, 257).

A pesar de haberse evidenciado lesiones con particularidades histopatológicas, hasta el momento actual, los hallazgos objetivados en pacientes con Escleromiositis continúan sin ser validados por la comunidad científica para con ellos poder afinar una mejor definición de esta entidad.

1.2.4 TRATAMIENTO

Actualmente, las guías EULAR para el manejo de la esclerosis sistémica no incluyen recomendaciones específicas para el manejo de la Escleromiositis(175), dada la ausencia de evidencia robusta en cuanto al manejo de esta complicación de la enfermedad. Sin embargo, en la mayor parte de casos se aborda la manifestación musculoesquelética de la esclerodermia de una manera similar a las miopatías inflamatorias(258). En la mayoría de los casos los pacientes responden bien a los glucocorticoides (prednisona 15-20 mg/día). Los glucocorticoides son considerados el tratamiento de primera línea en las enfermedades inflamatorias musculares inmunomediadas(259). Sin embargo, en el caso de la afección muscular asociada a la ES su administración debería realizarse en dosis lo más baja posible y durante el menor tiempo posible, dada la relación existente entre su uso y el desarrollo de la crisis renal esclerodérmica(260).

En los pacientes que no responden a glucocorticoides se pueden añadir inmunosupresores, siendo los más recomendados el metotrexato, el micofenolato y la azatioprina. En casos refractarios a éstos, se considerará el uso de inmunoglobulinas endovenosas o rituximab(261). Recientemente, se han publicado resultados terapéuticos positivos con el uso de inmunoglobulinas endovenosas en pacientes con esclerosis sistémica y afección muscular inflamatoria(262).

2. HIPÓTESIS

2. HIPÓTESIS

2.1 JUSTIFICACIÓN

La Esclerosis Sistémica o esclerodermia es una enfermedad autoinmune sistémica caracterizada por afectar la microcirculación, así como condicionar fenómenos de inflamación y fibrosis.

La esclerodermia es la enfermedad autoinmune sistémica minoritaria que presenta mayor morbimortalidad. Se ha demostrado que tratando sus complicaciones en etapas iniciales aumenta la supervivencia. Las complicaciones de la ES, las cuales presentan unos criterios definidos, se pueden identificar a tiempo y tratar precozmente.

La presencia de una miopatía inflamatoria en la Esclerosis Sistémica se asocia a un mal pronóstico, debido a que produce un aumento de la morbimortalidad. Suele aparecer en fases precoces de la enfermedad, asociándose al subtipo cutáneo difuso, a la EPI y a la afección cardíaca, gastrointestinal y articular. Los anticuerpos asociados a miopatía son el anti-Pm/Scl, anti-U1RNP, anti-Ku, anti-U3RNP, RuvBL1/2 y anti-SMN (25-29), pero se ha descrito la ausencia de anticuerpos hasta en la mitad de los casos.

Los pacientes manifiestan una sintomatología inespecífica, desde mialgias hasta impotencia funcional, que no en todos los casos se detectan en la exploración física. En consecuencia, las pruebas complementarias dan un soporte esencial para llegar al diagnóstico. Actualmente disponemos de la determinación de las enzimas musculares en sangre, el electromiograma, la resonancia magnética de cuerpo entero y la biopsia muscular, que es la prueba de confirmación en el caso de dudas en el diagnóstico.

La definición de la afección muscular inflamatoria en la Esclerodermia, también llamada Escleromiositis no está bien establecida, ya que además del compromiso muscular asociado a la enfermedad, los pacientes con esclerodermia pueden presentar síndromes de superposición con otras Miopatías Inflamatorias Idiopáticas (MII) y la diferenciación entre ambos cuadros no es sencilla.

Debido a esta ausencia de definición, la Escleromiositis no está contemplada ni en los criterios clasificatorios ACR/EULAR para la esclerodermia, ni en los criterios para las MII. No obstante, sí se ha descrito dentro de los Síndromes de Superposición en las IIM, la presencia de hallazgos en común con la esclerodermia. Tanto es así que es la EAS que más se asocia a este subgrupo.

Han sido diversos los intentos de definir la Escleromiositis, intentando establecer asociaciones clínicas y marcadores serológicos, sin éxito hasta la fecha. A pesar de ello, mediante la biopsia muscular, diferentes autores han podido definir hallazgos histopatológicos característicos en pacientes con Escleromiositis, así como clasificar patrones histológicos inflamatorios o fibróticos. Todo ello ha permitido diferenciar tanto la respuesta a los tratamientos como la supervivencia de los pacientes. Pese a dichos avances, estos hallazgos histopatológicos todavía no han sido validados.

Actualmente no existen criterios histológicos aceptados para definir la presencia de afección muscular inflamatoria en pacientes con Esclerosis Sistémica, por lo que el abordaje diagnóstico y terapéutico se realiza basándose en el de las MII.

2.2 HIPÓTESIS

Dada la etiopatogenia característica de la enfermedad, se puede hipotetizar que los pacientes con Escleromiositis presenten unas características histológicas específicas que permitan definir mejor el patrón de daño del tejido muscular, así como su posible abordaje terapéutico.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS:

En concordancia con la hipótesis de que los pacientes con esclerosis sistémica y afección muscular inflamatoria (Escleromiositis) presentan un perfil histológico diferenciado, los objetivos de nuestro estudio son:

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Describir ampliamente las características histológicas de la biopsia muscular realizada a pacientes con afección muscular inflamatoria en una cohorte de pacientes con esclerosis sistémica.

3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Describir las características clínicas de pacientes con afección muscular inflamatoria en una cohorte de pacientes con esclerosis sistémica, y determinar si los pacientes con esclerosis sistémica y afección muscular inflamatoria presentan características diferenciales con respecto a los otros tipos de miopatía inflamatoria idiopática.
- Describir las características de la biopsia muscular de los pacientes con esclerosis sistémica con sospecha de miopatía inflamatoria y sin evidencia de ésta en el estudio histológico.
- Determinar las diferencias entre la histología de la biopsia muscular de los pacientes con esclerosis sistémica que presentan o no inflamación muscular.

- Determinar las características clínicas y las pruebas complementarias que se asocian con el patrón histológico inflamatorio en las biopsias musculares de los pacientes con esclerosis sistémica.

4. POBLACIÓN Y MÉTODOS

4. POBLACIÓN Y MÉTODOS

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio ambispectivo realizado, desde enero 2000 hasta diciembre 2023, en una cohorte de 340 pacientes con Esclerodermia en seguimiento activo en un hospital nacional de referencia, el Hospital Universitari de la Santa Creu i Sant Pau.

4.2 CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

La muestra se ha obtenido de la revisión sistemática de los datos registrados en la historia clínica de los pacientes que cumplían los siguientes criterios de inclusión.

4.2.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes mayores de edad.
- Pacientes que cumplan criterios clasificatorios de Esclerodermia para ACR/EULAR 2013 (tabla 1) (44).
- Pacientes que no cumplieran los criterios clasificatorios ACR/EULAR 2017 para las MII (se adjuntan dichos criterios en el anexo 1)(233).
- Pacientes en los que se sospechó la presencia de miopatía inflamatoria, considerando que debían cumplir los siguientes criterios:
 - o Debilidad muscular objetivada mediante la escala Manual de Fuerza Muscular.
 - o Al menos una de las siguientes características: (a) elevación de los enzimas musculares (niveles creatincinasa > 2 veces el valor normal); (b) patrón miopático (potenciales de unidades motora de corta duración, baja amplitud y polifásicos, con reclutamiento rápido) por EMG (263-265) ; o (c) evidencia de edema muscular en el protocolo de secuencias de recuperación por inversión de tiempo corto de la resonancia magnética de cuerpo entero (250, 266-268).
- Pacientes con una biopsia muscular realizada en nuestro centro.

4.2.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes menores de edad.
- Pacientes que no cumplieran criterios clasificatorios ACR/EULAR 2013 para la Esclerosis Sistémica (tabla 1)(44).
- Pacientes que cumplían criterios clasificatorios ACR/EULAR 2017 para las MII (anexo 1)(233).
- Pacientes con biopsia muscular sin sospecha de miopatía inflamatoria.

4.3. PROCEDENCIA DE LOS DATOS DE LOS PACIENTES

El 100% de la información de los pacientes procedió de los datos clínicos y pruebas complementarias recogidas de la historia clínica de los seguimientos de consultas externas hasta 2023 o hasta la pérdida de seguimiento, abandono de los controles o fallecimiento de los pacientes.

4.4. MEDIOS DE RECOGIDA

Se recogieron de manera retrospectiva y prospectiva los datos de la historia clínica electrónica de los pacientes. Todo el conjunto de datos se almacenó en una base de datos de Redcap®.

4.5. VARIABLES DEL ESTUDIO

4.5.1 VARIABLES DEMOGRÁFICAS

Son las siguientes: Fecha de Nacimiento, sexo, raza, fecha de fallecimiento.

4.5.2 VARIABLES DE LA ESCLERODERMIA

Son las siguientes:

- Fecha de aparición del fenómeno de Raynaud
- Fecha de aparición del primer síntoma no Raynaud
- Fecha del diagnóstico de la Esclerosis Sistémica
- Subtipo subcutáneo: difuso, limitado, *SINE*
- Presencia de síndrome de superposición: Síndrome de Sjögren (criterios ACR/EULAR 2016)(269), Lupus Eritematoso Sistémico (criterios ACR/EULAR 2019)(270), Artritis Reumatoide 2010(271). Se adjuntas estos criterios en anexos.
- Presencia de úlceras digitales
- Presencia de calcinosis
- Presencia de telangiectasias
- Presencia de afección digestiva: hipomotilidad esofágica por manometría esofágica, gástrica por gastroscopia, intestinal con prueba de imagen, anal por manometría anal.
- Presencia del aparato locomotor: edema de dedos, sinovitis, roces tendinosos, contracturas tendinosas.
- Presencia de Crisis renal esclerodérmica: definida como la aparición de insuficiencia renal rápidamente progresiva junto hipertensión arterial de reciente aparición con o sin presencia de anemia hemolítica microangiopática.
- Presencia de Hipertensión arterial pulmonar: diagnosticada por cateterismo cardiaco
- Presencia de EPI: definida por la presencia de patrón intersticial en el TACAR.
- Presencia de Autoanticuerpos, se recogieron: ACA; ATA, anti-RNApol, anti-Th/to, anti-U1RNP, anti-U3RNP, anti-Pm/Scl y anti-Ku.
- En los pacientes seronegativos se realizó el estudio del anticuerpo anti-SMN.
- Capilaroscopia: presencia de capilares dilatados, neoangiogénesis, pérdida de densidad.
- Causa de fallecimiento relacionada a la esclerodermia.

4.5.3 VARIABLES DE LA MIOPATÍA INFLAMATORIA

Son las siguientes:

- Motivo de la biopsia: elevación de enzimas musculares, un EMG patológico y/o una RMN-CE patología.
- Fecha de la biopsia
- Debilidad de grupos musculares, tanto proximales, como distales. Objetiva por la escala de fuerza muscular.
- Presencia del síndrome de cabeza caída: debilidad objetivada de los músculos extensores del cuello.
- Disfagia: por anamnesis o por tránsito esofágico
- Afección cutánea: presencia de eritema en Heliotropo, pápulas y signo de Gottron.
- Afección cardíaca: por elevación sérica de troponinas o por una cardio-resonancia patológica.
- Valores de las CK al debut de la enfermedad
- Presencia de electromiograma patológico
- Presencia de RMN-CE patológica
- Tratamientos previos al diagnóstico de la Miopatía Inflamatoria: ningún tratamiento, glucocorticoides, fármacos inmunosupresores sintéticos, inmunoglobulinas intravenosas, Rituximab.
- Tratamientos utilizados para el tratamiento de la Miopatía Inflamatoria: ningún tratamiento, glucocorticoides, fármacos inmunosupresores sintéticos, inmunoglobulinas intravenosas, Rituximab.

4.5.4 VARIABLES DE EVOLUCIÓN

Son las siguientes:

- Valores de CK a los 3, 6, 12 y 24 meses del inicio de tratamiento.
- Mejoría del balance muscular a los 3 meses del inicio del tratamiento, mediante la MCR.
- Retirada de glucocorticoides 3, 6, 12 y 24 meses del inicio de tratamiento.

4.5.5 VARIABLES DE LA BIOPSIA MUSCULAR

4.5.5.1 VARIABLES MORFOLÓGICAS

Son las siguientes:

- Número de fibras por campo
- Diámetro de fibras por campo.
- Relación de capilares por fibra: 0, 1-3 y ≥ 4
- Porcentaje del intersticio por fibra
- Presencia de fibras hipertróficas
- Presencia de fibras atróficas aisladas
- Presencia de atrofia perifascicular
- Presencia de atrofia intrafascicular
- Fibras anguladas
- Variabilidad del tamaño < 10
- Variabilidad del tamaño > 10
- Presencia de necrosis
- Presencia de división
- Presencia de fagocitosis
- Localización anormal de los mionúcleos
- Tinción Gomori patológica

4.5.5.2 VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS

Son las siguientes:

- MHC-I presencia patológica: presencia en forma de patrón difuso, fibras o grupo de filas aislada, refuerzo perifascicular.
- HLA DR presencia patológica: presencia en forma de patrón difuso, fibras o grupo de filas aislada, refuerzo perifascicular.
- Complemento C5b9 patológico: presencia en vasos, depósitos intracitoplasmáticos, depósitos en la membrana.
- NCAM (*Neural cell adhesion molecule*) patológico: presencia patológica: fibras aisladas o en grupos aislados.
- Macrófagos, linfocitos CD4, CD8, CD20, CD138, PDGF-A, PDGF-B presencia patológica en forma aislada, abundantes o muy abundantes. En localizaciones

perivascular, perimisial, endomisial, intra-fibra muscular, infiltrando fascia, endoneural o en granuloma.

- MxA presencia patológica en localización endomisial y perimisial.
- p62 presencia patológica: citoplasma, localización subsarcolémica, nuclear.
- VEGF-165 presencia patológica en fibras aisladas o en grupo de fibras.

4.6 REALIZACIÓN DE LAS BIOPSIAS MUSCULARES

A todos los pacientes con sospecha de miopatía inflamatoria se les realizó un estudio histológico muscular guiado de la zona con mayor rentabilidad diagnóstica según el resultado de la valoración clínica, EMG y mediante resonancia magnética. El estudio electromiográfico se realizó en el grupo muscular del lado dominante, y la biopsia muscular se realizó en el lado contralateral.

4.7 PROCESAMIENTO DE LAS BIOPSIAS MUSCULARES

Las biopsias fueron indicadas como parte del manejo médico habitual, posteriormente analizadas para este estudio. Las muestras musculares estaban congeladas de forma rutinaria en isopentano enfriado en nitrógeno líquido y posteriormente almacenadas en nitrógeno líquido.

4.8 ANÁLISIS DE LAS BIOPSIAS MUSCULARES

Para el análisis de las biopsias, dos miembros del laboratorio de la Unidad de Neuromuscular utilizaron un protocolo donde se contempló recoger la morfología de la fibra muscular, los hallazgos inmunohistoquímicos, la medición de capilares y el porcentaje de intersticio en cada biopsia.

4.9 ESTRUCTURA DE LAS MUESTRAS MUSCULARES

Para la morfología general se realizaron las tinciones de hematoxilina-eosina y tricrómico de Gomori modificado.

Las tinciones de inmunohistoquímica que se utilizaron para valorar la serie inflamatoria fueron: el complejo mayor de histocompatibilidad tipo 1 (MCH-I) y tipo 2 (HLA-DR), CD4, CD8, CD20, CD56, CD138, p62, complejo de ataque a la membrana del complemento (MAC/C5b-9) y proteína humana MXA.

Para valorar los parámetros vasculares se realizó la tinción con la isoforma anti-angiogénica del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)-A165b. A su vez, se realizó la medición del número de capas de la membrana basal de los capilares, mediante microscopía electrónica.

Para valorar el proceso de fibrosis se realizaron tinciones con el receptor alfa y beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas.

Para la medición de las fibras musculares, la cuantificación del intersticio y el recuento de capilares, se utilizó el programa *ImageJ* (versión), previa realización de tinciones especiales (*Wheat Germ Agglutinin* (WGA) para la evaluación del tamaño y fibrosis. Finalmente, se realizó la tinción de Cavelolina/Ulex para el recuento de capilares. Las fotografías fueron hechas con el software de microscopía ZEN (Zeiss, Oberkochen, Alemania).

4.10 DEFINICIÓN DE GRUPOS DE ESTUDIO:

Las biopsias musculares fueron clasificadas en 3 grupos. En los dos primeros grupos se incluyeron pacientes con ES. Según los hallazgos obtenidos en la biopsia muscular, se categorizaron en el grupo inflamatorio (ES-IF) si cumplían criterios histopatológicos de miopatías inflamatorias según los consensos Centro Europeo de Enfermedades Neuromusculares(253, 272, 273). El resto de los pacientes, que no cumplían estos

criterios, se incluyeron en el grupo de hallazgos no específicos (ES-NSF). El tercer grupo se constituyó de pacientes sin EAS con sospecha inicial de miopatía no específica y que finalmente presentaron biopsias musculares normales.

4.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó utilizando el software RStudio versión (2023.10.31) y el programa R versión 4.3.2. Todas las pruebas se llevaron a cabo con un nivel de significancia de 0.05 y se reportaron valores de p bilaterales.

Se llevo a cabo un análisis descriptivo para todas las variables recopiladas. Para las variables categóricas, se reportaron frecuencias y porcentajes. Para las variables continuas, se calcularon la media y la desviación estándar (DE), junto con el intervalo de confianza (IC) del 95% para la media. Para las variables categóricas con dos niveles o menos, se utilizó la prueba exacta de Fisher. Para las variables categóricas con más de dos niveles, se empleó la prueba Chi-cuadrado de Pearson. Para las variables continuas, se utilizó la prueba t para muestras independientes o la prueba U de Mann-Whitney, según correspondiera.

Para evaluar la concordancia y validez de los datos recopilados, se utilizó el índice Kappa. Se generaron curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para representar el tiempo hasta la muerte desde el año del primer síntoma no relacionado con Raynaud. Para los modelos predictivos, se realizó un análisis univariado calculando la razón de momios (Odds Ratio, OR) para cada variable predictora, junto con su intervalo de confianza del 95% y su valor p.

4.12 DECLARACIÓN ÉTICA

El estudio fue aprobado por el comité de ética del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de acuerdo de la Declaración de Helsinki (EC/20/105/5895).

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA MUESTRA

5.1.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

Durante el período de seguimiento 27 pacientes de la cohorte de pacientes con esclerosis sistémica y sospecha de miopatía inflamatoria fueron sometidos a una biopsia muscular. El 96% de los pacientes eran mujeres (26/27), de raza caucásica (66,6%) y edad media al diagnóstico de la miopatía de 56 años ($DE \pm 13,62$ años).

Del global de la muestra, las pruebas complementarias que llevaron a realizar la biopsia muscular fueron las enzimas musculares, el EMG y la resonancia magnética de cuerpo entero, en el 78%, 48% y 30% de los casos, respectivamente.

Tras los hallazgos histológicos definidos previamente, del total de pacientes con esclerosis sistémica con muestra de estudio histológico muscular 19 pacientes fueron clasificados en el grupo ES-IF y ocho en el grupo ES-NSF. Se incluyeron 13 pacientes en el grupo tres, que son pacientes con sospecha de miopatía con histología muscular normal.

5.1.2 CARACTERÍSTICAS INMUNOLÓGICAS

Los anticuerpos más frecuentemente detectados fueron el anti-Centrómero, anti-RNP y anti-Ku, en el 30%, 19% y 15% de los casos, respectivamente.

Además, se encontraron otros anticuerpos como el anti-Ro (19%) y anticuerpos relacionados con la Dermatomiositis (anti-Mi2, anti-TIF-gamma y anti-NXP-2) (15%). Ninguno de los pacientes en los que se detectaron estos anticuerpos cumplía criterios clasificatorios de MII.

5.1.3 CARACTERÍSTICAS DE LA ESCLERODERMIA

La edad media al primer síntoma no Raynaud fue de $49,7 \pm 13,22$ años y de $56,03 \pm 13,63$ años al momento de la biopsia. La forma cutánea limitada estaba presente en el 59% de los casos. Las complicaciones clínicas más frecuentes de los pacientes con sospecha de

miositis fueron la presencia de afección digestiva, las telangiectasias y la EPI (78%, 70% y 37% respectivamente) (tabla 1).

Tabla 1. Características de la ES en la población de estudio

	Grupo SSc-IF (N=19)	Grupo SS-NSF (N=8)	p valor
Características sociodemográficas			
Mujeres, n (%)	19 (100%)	7 (87,50%)	0,2963
Caucásicos, n (%)	14 (73,68%)	4 (50,00%)	0,2773
Años desde el primer síntoma Raynaud a la biopsia, media (±DE)	5,42 (±5,35)	9,87 (±16,22)	0,9124
Años desde el primer síntoma No Raynaud a la biopsia, media (±DE)	5 (±4,51)	9,625 (±13,71)	0,64552
Características de la ES			
Subtipo cutáneo			
Difuso, n (%)	6 (31,58%)	2 (25,00%)	1
Limitado, n (%)	12 (63,16%)	4 (50,00%)	1
SINE, n (%)	1 (5,26%)	2 (25,00%)	0,201
Síndrome de Solapamiento			
Sin Síndrome de Solapamiento, n (%)	14 (73,68%)	5 (62,50%)	0,6578
Síndrome de Sjögren, n (%)	2 (10,53%)	3 (37,50%)	0,1358
Artritis Reumatoide, n (%)	3 (15,79%)	1 (12,50%)	1
Historial de órganos afectados			
Úlceras Digitales, n (%)	4 (21,05%)	0%	0,2855
Calcinosis, n (%)	4 (21,05%)	2 (25,00%)	1
Telangiectasia, n (%)	12 (63,16%)	7 (87,50%)	0,3645
Gastrointestinal, n (%)	16 (84,21%)	5 (62,50%)	0,3191
Articular, n (%)	8 (42,11%)	5 (62,50%)	0,4197
Crisis Renal esclerodérmica, n (%)	0%	1 (12,50%)	0,2963
HAP, n (%)	4 (21,05%)	0%	0,2855
EPI, n (%)	6 (31,58%)	2 (25,00%)	1
Perfil Inmunológico			
Anti-Centrómero, n (%)	6 (31,58%)	2 (25,00%)	1
Anti-Topoisomerasa- I, n (%)	1 (5,26%)	1 (12,50%)	0,5128
Anti-Th/To, n (%)	1 (5,26%)	2 (25,00%)	0,201
Anti-U1RNP, n (%)	3 (15,79%)	2 (25,00%)	0,6159
Anti-Ku, n (%)	2 (10,53%)	2 (25,00%)	0,5583
Anti-Pm/Scl, n (%)	2 (10,53%)	1 (12,50%)	1
Anti-Mi-2, n (%)	1 (5,26%)	0%	1
Anti-Tif-gamma, n (%)	1 (5,26%)	0%	1
Anti-NXP-2, n (%)	1 (5,26%)	0%	1
Capilaroscopia Periungueal			
Patrón normal, n (%)	3 (15,79%)	0%	0,5323
Pérdida de densidad, n (%)	15 (78,95%)	6 (75,00%)	1
Megacapilares, n (%)	12 (63,16%)	7 (87,50%)	0,3645
Neoangiogenesis, n (%)	2 (10,53%)	2 (25,00%)	0,5583
Historial de fármacos antes de la miopatía			
Sin tratamiento	14 (73,68%)	2 (25,00%)	0,0332
Glucocorticoides	4 (21,05%)	5 (62,50%)	0,0721
Inmunosupresores sintéticos	3 (15,79%)	4 (50,00%)	0,1445
IVIG	1 (5,26%)	1 (12,50%)	0,5128
Mortalidad	4 (21,05%)	2 (25,00%)	1

ES como causa de muerte	3 (15,79%)	0%	0,6159
-------------------------	------------	----	--------

EPI enfermedad intersticial pulmonar, ES Esclerosis Sistémica, ES-IF esclerosis sistémica con hallazgos inflamatorios, ES-NSF esclerosis sistémica con hallazgos inespecíficos, HAP Hipertensión Arterial Pulmonar, IGIV inmunoglobulinas intravenosas, SINE esclerodermia sin esclerosis cutánea.

5.1.3.1 Grupo Esclerodermia con Hallazgos Inflamatorios

Todas eran mujeres (n 19), la edad media al primer síntoma no Raynaud de $5 \pm 4,51$ años y de 62 años (RIQ 53-69 años) al momento de la biopsia. El 63% presentaba un subtipo limitado, 5 pacientes presentaban un síndrome de solapamiento asociado (2 con síndrome de Sjögren y 3 con artritis reumatoide).

Entre sus complicaciones se presentaron: afección gastrointestinal, telangiectasias, articular y EPI en un 84%, 63%, 42% y 32%, respectivamente. El anti-centrómero, el anti-U1RNP, anti-Ku y anti-Pm/Scl fueron presentes en el 32%, 16%, 11% y 11% de los pacientes, respectivamente.

A nivel de los hallazgos en la capilaroscopia presentaban pérdida de densidad (79%) y megacapilares (63%).

El 74% de los pacientes no había recibido un tratamiento inmunosupresor. Fallecieron tres de los cuatro pacientes a causa de la esclerodermia (dos con afección digestiva y una por enfermedad pulmonar intersticial).

5.1.3.2 Grupo Esclerodermia con Hallazgos Inespecíficos

El 88% eran mujeres, la mitad de ellas de raza caucásica. Pasaron 9,6 años ($\pm DE 13,71$) entre el primer síntoma no Raynaud y la realización de la biopsia, la edad en el momento de la biopsia fue de 56 años (RIQ 50-63 años). La mitad tenían un subtipo cutáneo limitado, presentando complicaciones similares al otro grupo (telangiectasias en un 88%, afección gastrointestinal en un 63% y articular en un 25% de los casos). Se detectaron anticuerpos anti-Th/To, anti-U1RNP y anti-Ku en un 25% de los casos en todos ellos. Se observó pérdida de densidad y megacapilares en un 88% y 75% de los pacientes, respectivamente.

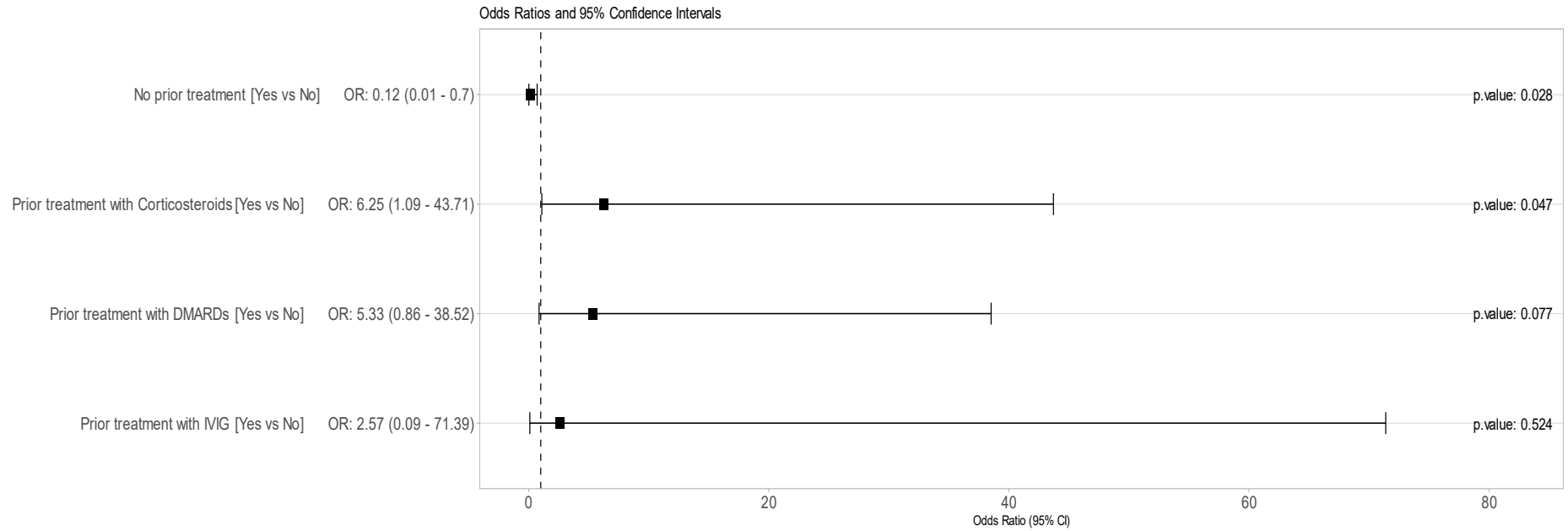
Fallecieron 2 pacientes, ninguno de ellos debido a la esclerodermia (uno por sepsis y el otro por neoplasia). El 75% de estos pacientes habían recibido previamente fármacos inmunosupresores, antes del debut de la miopatía inflamatoria.

5.1.3.3 Comparación Clínica entre Ambos Grupos

No se observaron diferencias en las variables demográficas, en las manifestaciones clínicas, en los anticuerpos ni en los hallazgos en la capilaroscopia.

Al comparar los tratamientos recibidos entre ambos grupos, se observó que el 75% de los pacientes del grupo no inflamatorio habían recibido tratamiento inmunosupresor en algún momento de su enfermedad (p 0,033). Con el efecto de intentar determinar si los pacientes con tratamiento inmunosupresor habían presentado un riesgo menor de cambios inflamatorios en la biopsia muscular, se realizó un análisis multivariante que mostró una Odds ratio de 0,12 (IC 95%: 0,01-0,7; p 0,028) de presentar una biopsia muscular inflamatoria en los pacientes que estaban bajo tratamiento inmunosupresor previo a la realización de la biopsia respecto a los que no realizaban dicho tratamiento. Este dato indica una reducción del riesgo desarrollar una miopatía inflamatoria en los pacientes inmunodeprimidos previamente. No se observaron diferencias en las demás variables relacionadas directamente con la esclerodermia (figura 14).

Figura 14. Análisis del Tratamiento Inmunosupresor Previo al Inicio de la Miopatía Inflamatoria en Pacientes con Esclerosis Sistémica.



5.1.4 CARACTERÍSTICAS DE LA MIOPATÍA INFLAMATORIA

5.1.4.1 Características del Grupo Inflamatorio (Grupo Es-If)

Clínicamente los pacientes presentaron debilidad muscular proximal en EEII, EESS y síndrome de cabeza caída en el 89%, 63% y 16%. La clínica extra muscular más frecuente fue la disfagia en el 63%.

En este grupo, destacó por una mayor elevación de CPK (1098,79 U/L DE \pm 1507,49 vs 298,62 U/L DE \pm 376,85; p 0,0464), a su vez presentaban EMG patológicos (p 0,039), mientras que solo un 54% presentaron una RMNCE patológica. Con respecto a la forma de presentación de la miopatía, no se observaron diferencias significativas en el balance muscular, ni en otra afección asociada (cutánea, cardíaca ni digestiva). Las características generales de cada grupo se resumen en la Tabla 2.

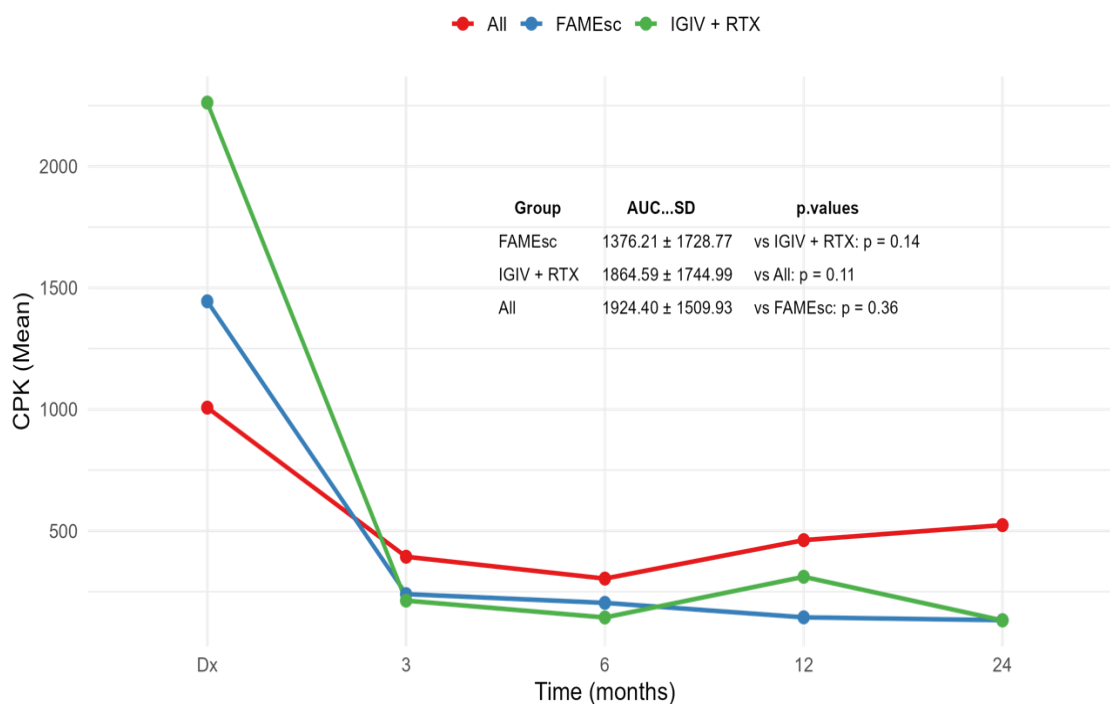
Tabla 2. Características de la Miopatía inflamatoria

	Grupo SSc-IF (N=19)	Grupo SS-NSF (N=8)	p valor
Características sociodemográficas			
Edad en el momento de la biopsia, mediana (RIQ)	62 (53-69)	56 (50-63)	0,6701
Características Clínicas			
Debilidad global proximal, n (%)	19 (100%)	8 (100%)	1
Debilidad global proximal en EEII, n (%)	17 (89,47%)	7 (87,50%)	1
Debilidad global proximal en EESS, n (%)	12 (63,16%)	6 (75,00%)	0,6758
Síndrome cabeza caída, n (%)	3 (15,79%)	0%	0,5323
Debilidad distal, n (%)	2 (10,53%)	0%	1
Afección cutánea	3 (15,79%)	1 (12,50%)	1
Disfagia	12 (63,16%)	3 (37,50%)	0,3981
Pruebas complementarias			
CK, media(±SD)	1098,79 (±1507,49)	298,62 (±376,85)	0,0464
EMG patrón miopático, n (%)	12 (63,16%)	1 (12,50%)	0,0329
RMN-CE, n (%)	6/11 (54,54%)	2/4 (50%)	1

CK creatinina, EEII extremidades inferiores, EMG electromiograma, ES Esclerosis Sistémica, ES-IF esclerosis sistémica con hallazgos inflamatorios, ES-NSF esclerosis sistémica con hallazgos inespecíficos, EESS extremidades superiores, RMC-CE resonancia magnética de cuerpo entero.

Tras el diagnóstico de miopatía inflamatoria, todos los pacientes del grupo ES-IF fueron tratados con glucocorticoides. Se emplearon fármacos modificadores de enfermedad sintéticos, inmunoglobulinas endovenosas y rituximab en el 95%, 47% y 16% de los pacientes, respectivamente. La respuesta al tratamiento fue favorable en la mayor parte de la muestra, observando una mejoría progresiva tanto en el balance muscular como en la reducción progresiva de las CPK, desde los 3 meses (p 0,017) hasta el control a los 24 meses (p 0,021). Se detallan los resultados en la Figura 15.

Figura 15. Tratamientos administrados en el grupo de Esclerodermia con hallazgos inflamatorios



Durante el período de seguimiento fallecieron 6 pacientes del total de la muestra. No se observaron diferencias en la mortalidad, ni en las curvas de supervivencia.

Del grupo inflamatorio fallecieron 3 a causa de la esclerodermia, mientras que del grupo no específico fallecieron 2 por causas no relacionadas con la esclerodermia.

5.1.4.2 Características del Grupo de Hallazgos Inespecíficos (Grupo Es-Nsf)

Clínicamente los pacientes presentaron debilidad muscular proximal en EEII y EESS en el 88% y el 75%, respectivamente. La clínica extra muscular más frecuente fue la disfagia en el 38% de los casos. Cinco pacientes presentaron una elevación de CK (298,62 UL, DE±1623,16), un paciente con patrón inespecífico en el EMG y un paciente con un patrón difuso en el protocolo STIR de la resonancia magnética de cuerpo entero.

5.1.4.3 Características del Grupo De Biopsias Normales

Se recogieron 13 pacientes que presentaron biopsias normales. El 85% eran mujeres, de raza caucásica (92%), la edad media al momento de la biopsia muscular era de 54 años (RIQ 50-56años). Dos pacientes presentaron anticuerpos positivos (anti-Ku, anti-Pm/Scl), sin cumplir criterios clasificatorios para Esclerodermia ni para MII.

Estos pacientes seguían controles en CCEE Neurología para estudio de una miopatía. Previamente a la biopsia muscular, un 30% presentaban alguna prueba complementaria alterada, 4/13 con CPK elevadas (755,23 UL, DE \pm 2182, 26), uno de ellos con patrón inespecífico en el EMG y uno con evidencia de STIR en forma difusa en la resonancia magnética de cuerpo entero. Estos pacientes fueron dados de alta tras descartarse una patología muscular primaria.

5.2 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS GENERALES

5.2.1 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DEL GRUPO INFLAMATORIO (ES-IF)

Morfológicamente las fibras musculares del grupo ES-IF eran significativamente más pequeñas (35,85 μ m DE \pm 16 vs 36,91 μ m DE \pm 12,57 p 0,0003) y con más presencia de tejido intersticial respecto a los pacientes ES-NSF (12,74% DE \pm 1,39 vs 8,82% DE \pm 0,86; p <0,0001) (tabla 3).

Tabla 3. Descripción General de la Morfología de las Fibras Musculares

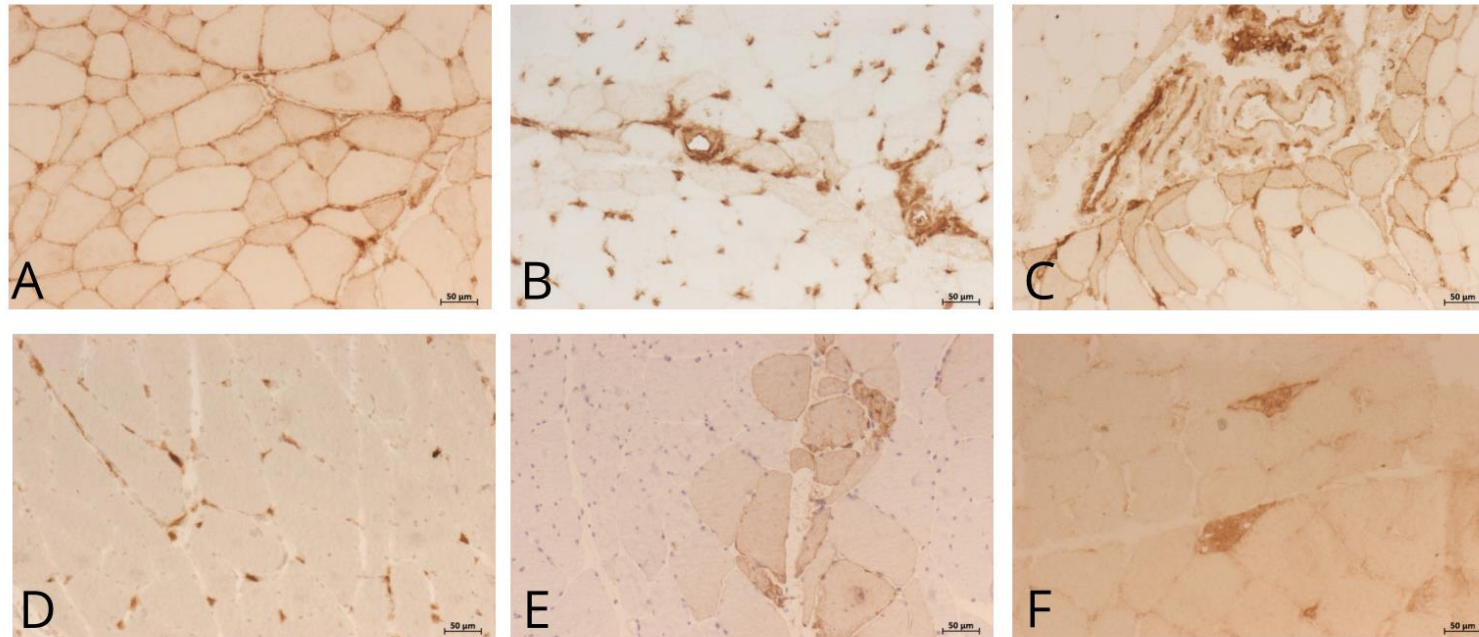
	Grupo ES-IF (N=19)	Grupo-NSF (N=8)	p valor
Morfología descriptiva			
Diámetro de fibras, media (±DE)	40.53 (9.58)	40.38 (7.93)	0.9666
Porcentaje de Intersticio, media (±DE)	12.74 (1.39)	8.82 (0.86)	< 0.0001
Variación anormal del tamaño, n (%)	10 (52.63%)	2 (25.00%)	0.2357
Atrofia Intrafascicular, n (%)	10 (52.63%)	1 (12.50%)	0.0899
Fagocitosis, n (%)	6 (31.58%)	0%	0.1358
División, n (%)	6 (31.58%)	0%	0.1358
Necrosis, n (%)	5 (26.32%)	0%	0.2798
Núcleo patológico, n (%)	7 (36.84%)	0%	0.0681
Atrofia Neurógena, n(%)	5 (26.32%)	0%	0.2798
Proporción Capilar/Fibra			
0 capilar, (n) media (±DE)	(15/19) 9.07 (±7.82)	(7/8) 8.52 (±8.98)	0.6721
1-3 capilares, (n) media (±DE)	(±22.69)	(7/8) 56.81 (±25.54)	0.9838
≥ 4 capilares, (n) mean (±DE)	(15/19) 5.22 (±3.38)	(7/8) 5.43 (±4.02)	0.9085

Tinciones de inmunohistoquímica			
MHC-I	18 (94.74%)	1/8 (12.50%)	< 0.0001
Patrón difuso, n (%)	12/18 (66.66%)	0%	0.0031
Área Perifascicular, n (%)	9/18 (50%)	0%	0.0258
Grupo Fibras aisladas, n (%)	6/18 (33.33%)	1 (12.50%)	0.6334
HLA-DR	8/18 (44.44%)	0/8 (0.00%)	0.0308
Grupo Fibras aisladas, n (%)	8/8 (100%)	0%	0.0607
Área Perifascicular, n (%)	3/8 (37.5%)	0%	0.5323
C5b-9 depósitos	5/17 (29.41%)	1/8 (12.50%)	0.6237
Capilares, n (%)	3/5 (60%)	1 (12.50%)	1
Sarcolema, n (%)	4/5 (80%)	0%	0.2855
NCAM (Leu-19/ CD-56)	12/19 (63.16%)	0/8 (0.00%)	0.0031
Fibras aisladas, n (%)	11/12 (91.66%)	0%	0.0082
Grupo Fibras aisladas, n (%)	5/12 (41.66%)	0%	0.2798
CD4+	5/19 (26.32%)	0/8 (0.00%)	1
Área Endomisial, n (%)	5/5 (100%)	0%	0.2798
Área Perimisial, n (%)	3/5 (60%)	0%	0.5323
CD8+	0/19 (0.00%)	0/7 (0%)	NP
CD20+	2/19 (10.53%)	0/8 (0%)	1
Macrófagos	15/19 (78.95%)	0/8 (0%)	0.0002
Área Endomisial, n (%)	15/15 (100%)	1 (12.50%)	0.0025
Área Perimisial, n (%)	13/15 (86.66%)	0%	0.0019
Sarcolema, n (%)	3/15 (20%)	0%	0.5323
p62	7/17 (41.18%)	0%	0.0573
Citoplasma, n (%)	7/7 (100%)	0%	0.0573
Subsarcolema, n (%)	3/7(42.85%)	0%	0.527
MxA	0/17 (0.00%)	0%	NP
PDGFR-A	2/16 (12.50%)	0/7 (0%)	1
PDGFR-B	0/14 (0.00%)	0/7 (0%)	NP
VEGF-165	1/15 (6.67%)	2/8 (25.00%)	0.2688

ES Esclerosis Sistémica, ES-IF esclerosis sistémica con hallazgos inflamatorios, ES-NSF esclerosis sistémica con hallazgos inespecíficos, HLA-DR *Human leukocyte antigens – DR isotype*, MxA *myxovirus-resistance protein A*, MHC-I *Major histocompatibility complex – class I*, NCAM *Neural cell adhesion molecule*, NP no procesado, PDGFR-A *platelet-derived growth factor receptor Alpha*, PDGFR-B *platelet-derived growth factor receptor Beta*, VEGF-165 *Vascular endothelial growth factor*.

El grupo ES-IF presentó la expresión del MHC-I (Figura 16A) en el 95% ($p < 0,001$) en forma de patrón difuso en el 66% ($p 0,003$) y con refuerzo perifascicular en el 50% ($p 0,025$). En el 44% de los pacientes se observó una expresión anómala de DR. En un 33% en el área perifascicular y en fibras aisladas en todos los casos (figura 16B y 16C) ($p 0,03$). Los macrófagos (figura 16D) infiltraban en el 79% de los casos ($p 0,002$), tanto en endomisio ($p 0,0025$) como en perimisio ($0,0019$). A su vez, el 63% de los pacientes presentó NCAM en fibras aisladas (figura 16E). Finalmente, en el citoplasma se observó la presencia del P62 (figura 16F) en el 41% de los casos ($p 0,05$). El grupo ES-NSF presentó en dos casos hallazgos inflamatorios, uno con la presencia de fibras aisladas del MHC-I y el otro presentó depósitos en el capilar del C5b-9.

Figura 16. Inmunohistoquímica en cortes congelados en el Grupo Inflamatorio



A) Expresión de MHC clase I mostrando un patrón difuso. B) Baja y C) alta expresión de DR en el área perifascicular en dos pacientes con SSc-IF. D) Macrófagos dispersos (CD68+) en el endomisio. E) Grupo de fibras en degeneración/regeneración positivas para la tinción de N-CAM. F) Fibras atróficas con expresión intracitoplasmática de p62.

Según los criterios del ENMC, el 26% de los pacientes del grupo ES-IF fueron clasificados como Miopatía Necrotizante Inmuno-mediada (MNIM), y el resto, a pesar de presentar inflamación no se pudieron clasificar en otras miopatías. De igual modo, el grupo ES-NSF tampoco se pudo clasificar debido a sus escasos hallazgos inflamatorios.

Al asociar las características clínicas con las histológicas observamos que en el subgrupo de MNIM, el 60% presentaban el síndrome cabeza caída (p 0,0350), a nivel morfológico sus fibras musculares eran más grandes (50µm DE ±9,82 vs 37,14µm DE ±7,10 p 0,0180), presentando en todos los pacientes una mayor variabilidad en el tamaño (p 0,021), con presencia de fagocitosis (p 0,0005) y una atrofia intrafascicular (p 0,0325). A su vez, presentó mayor porcentaje de tejido conectivo (13,59% DE ± 0,71 vs 12,44 DE ±1,46 p 0,0374), infiltrando en el 60% tanto al endomisio como en el endomisio (p 0,0350) (Figuras 17A-17D). Con respecto al tratamiento, se observó una respuesta más lenta (disminución de los niveles de CPK) en relación con el otro grupo a lo largo del seguimiento. A su vez se observó un aumento en la mortalidad comparado con los otros subtipos (60% vs 7,14% p 0,0374) (tabla 4).

Tabla 4. Análisis del subgrupo de Necrosis

	Sub-grupo Necrosis (N=5)	Grupo Sin Necrosis (N=14)	p valor
Hallazgos clínicos			
Síndrome de la cabeza caída	3 (60%)	0	0.0103
CK niveles al diagnóstico, media(±DE)	1665.60 (±1674.72)	896.36 (±1454.62)	0.1264
Hallazgos Biopsia Muscular			
Diámetro de la fibra, media (±DE)	50.00 (±9.82)	37.14 (±7.10)	0.018
Variación anormal del tamaño, n (%)	5 (100%)	5 (35.71%)	0.0325
Atrofia Intrafascicular, n (%)	5 (100%)	5 (35.71%)	0.0325
Fagocitosis, n (%)	5 (100%)	1 (7.14%)	0.0005
Porcentaje del Intersticio, media (±SD)	13.59 (±0.71)	12.44 (±1.46)	0.0374
Localización Endomisial, n (%)	3 (60.00%)	1 (7.14%)	0.0374
Localización Perimisial, n(%)	3 (60.00%)	0%	0.0103

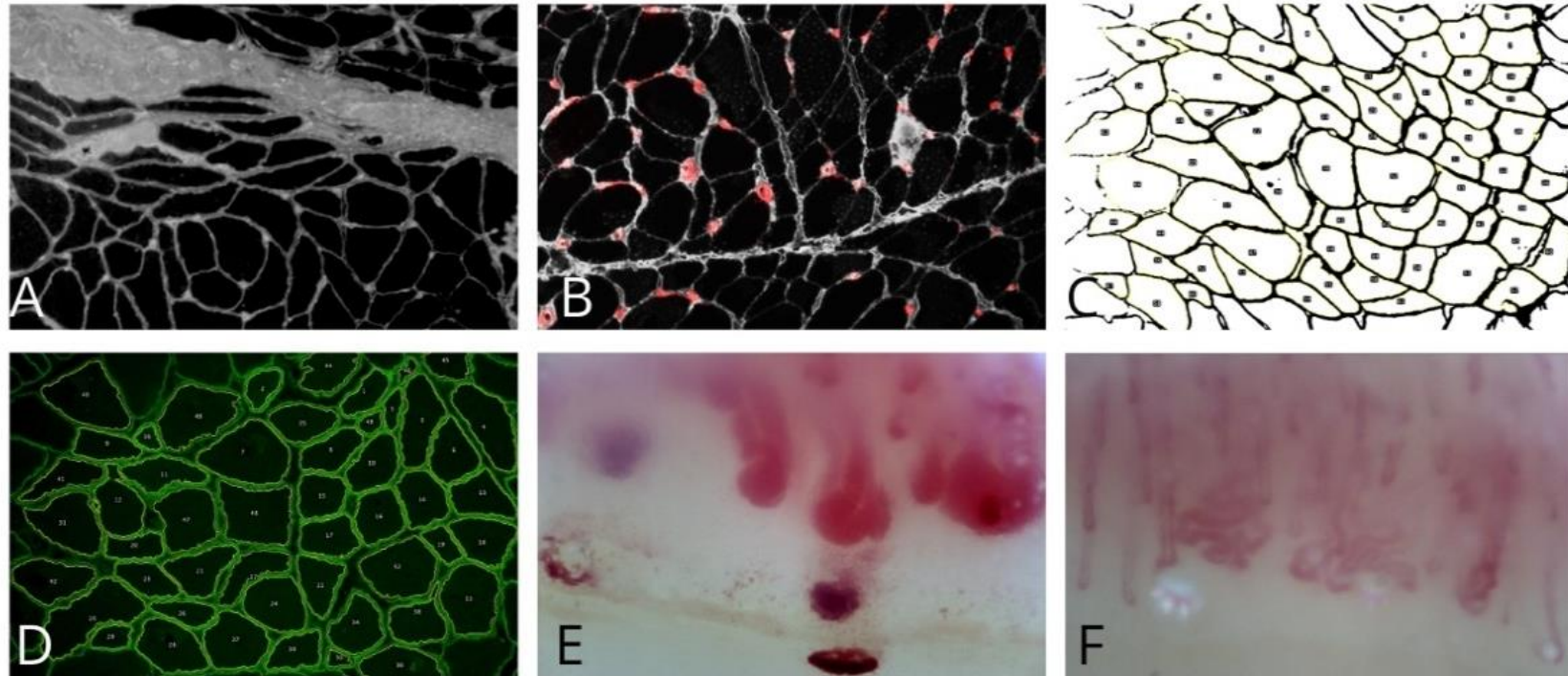
CK niveles durante el tratamiento			
3 meses, media (\pm DE)	520.60 (\pm 383.81)	153.79 (\pm 104.97)	0.0035
6 meses, media (\pm DE)	303.40 (\pm 170.33)	158.86 (\pm 90.32)	0.0266
12 meses, media (\pm DE)	383.20 (\pm 252.16)	139.29 (\pm 96.40)	0.0058
24 meses, media (\pm DE)	400.40 (\pm 388.92)	115.42 (\pm 50.73)	0.0365
Mortalidad, n (%)	3 (75%)	1 (7.14%)	0.0374
ES como causa de muerte, n (%)	2 (40%)	0%	0.0585

CK creatininasas, ES Esclerosis sistémica, DE desviación estándar

Cuando analizamos a los 3 pacientes con anticuerpos MII, todos expresaron el MHC-I, el primer paciente fibras aislada y refuerzo perifascicular, el segundo presenta una localización difusa y el tercer caso una localización difusa con refuerzo perifascicular. No obstante, ninguno de ellos presentó hallazgos típicos de DM ni cumplían criterios para otra MII.

En relación con los hallazgos de la capilaroscopia (Figura 17E y 17F), no se observaron diferencias en los patrones, no obstante, en el grupo ES-IF se observó que las fibras más pequeñas y con mayor porcentaje de intersticio se asociaban a neoangiogénesis ($p < 0,0001$ y $p 0,0175$) así como pérdida de densidad capilar ($p 0,0237$ y $p 0,0001$), mientras que los capilares dilatados solo se asociaban a menor intersticio ($p 0,0001$).

Figura 17. Análisis cuantitativo de fibrosis y capilares.



A) Tinción del tejido conectivo utilizando lectina WGA. B) Doble inmunotinción con WGA para el tejido conectivo y lectina Ulex (rojo) para los capilares. C) y D) Ejemplo de cuantificación del tamaño de las fibras con un anticuerpo anti-cav-3 que tiñe el sarcolema y el software ImageJ. E) Capilaroscopia periungueal mostrando asas capilares dilatadas, hemorragias y áreas avasculares. F) Capilaroscopia periungueal mostrando un patrón de neovangiogénesis.

5.2.2 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DEL GRUPO INESPECÍFICO (ES-NSF)

El grupo ES- NSF estaba conformado por mujeres (88%) con ES limitada, con anticuerpos asociados a miopatía (5/8), que fueron sometidas a biopsia muscular por un balance muscular alterado y elevación de CPK (5/8). El resto de los pacientes presentaban hallazgos inespecíficos tanto en el EMG (1/8) como en la resonancia magnética de cuerpo entero (2/8). El 75% de los pacientes habían recibido previamente tratamiento inmunosupresor por afección articular o por enfermedad pulmonar intersticial.

En comparación con los hallazgos de la biopsia del grupo inflamatorio, en este grupo (ES-NSF) se observaron escasos hallazgos inflamatorios. No obstante, comparten alteraciones vasculares y fibróticas a pesar de no observarse diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

5.2.3. COMPARACIÓN DEL GRUPO ES-NSF CON EL GRUPO DE BIOPSIAS NORMALES

Posteriormente, se comparó con el grupo de biopsias sin alteraciones, donde se observó que las fibras eran más pequeñas ($36,91\mu\text{m}$ DE 12,57 vs $42,2\mu\text{m}$ DE 10,85 p 0,0001), con mayor porcentaje de intersticio (8,82% DE 0,86 vs 3,95% DR 0,92 p <0,0001) y menor proporción de capilares por fibra con respecto al grupo biopsias musculares con histología normal (5,43 DE 4,02 vs 13,52 DE 8,97 p 0,0199) (tabla 5).

Tabla 5. Características Histológicas de la Biopsia Muscular comparadas entre el Grupo SSc-NSF y las biopsias normales

	Grupo ES-NSP (N=8)	Grupo Biopsias Normales (N=13)	p valor
Diámetro de la fibra, media (DE)	36,91(±12,57)	42,2(±10,85)	0,0001
Porcentaje de Intersticio, % (DE)	8,82 (±0,86)	3,95 (±0,92)	0,0001
≥ 4 capilares por fibra, (n) media (±DE)	(7/8) 5,43 (±4,02)	(11/13) 13,52 (±8,97)	0,0199

DE desviación estándar, ES-NSF esclerosis sistémica con hallazgos inespecíficos.

6. DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

El objetivo de nuestro trabajo era describir en profundidad las características histológicas y sus asociaciones clínicas de una cohorte de pacientes con esclerosis sistémica en los cuales se realizó una biopsia muscular ante la sospecha de afección muscular inflamatoria.

La caracterización histológica de la miopatía inflamatoria en la ES actualmente no se encuentra bien establecida. Previamente, algunos autores han definido la presencia de miopatía inflamatoria en la Esclerodermia basándose en la clínica del paciente, una exploración muscular compatible, así como resultados sugestivos en las diferentes pruebas complementarias, como son la electromiografía o las enzimas musculares (200, 230).

Otros autores incluso consideran el dolor muscular como síntoma que conduce a la sospecha de esta complicación. Sin embargo, este síntoma presenta una baja sensibilidad y especificidad (179, 180, 223).

Con el objetivo de aumentar la especificidad en nuestro trabajo, decidimos realizar el estudio histológico muscular dirigido únicamente a aquellos pacientes que presentaban, además de una clínica compatible mediante la evaluación del balance muscular, la presencia de hallazgos sugestivos de miopatía inflamatoria en marcadores serológicos y/o electromiografía y/o resonancia nuclear. Al comparar a los pacientes con hallazgos inflamatorios con los pacientes que no presentaron dichos hallazgos no observamos diferencias significativas en la exploración física. No obstante, tener al menos una prueba complementaria alterada, como fue en el caso de la elevación de CK o alteraciones en el EMG, nos permitió orientar mejor el diagnóstico hacia una biopsia patológica.

En la esclerosis sistémica se ha reportado ampliamente en la literatura que los pacientes con sospecha de miositis presentan cifras de CK muy elevadas (176, 201, 230).

De manera global nuestros enfermos presentaron valores de CK elevados. Los resultados de este estudio muestran que aquellos enfermos con resultados histológicos inflamatorios en la biopsia presentaron de manera estadísticamente significativa unos valores más elevados de CK frente a los pacientes con esclerodermia y biopsias no inflamatorias. Estos resultados irían en concordancia con los descritos previamente en otros estudios (215, 248). Teniendo en cuenta que la sospecha de miopatía inflamatoria existía en ambos grupos antes de realizar el estudio histológico, dicha elevación de CK podría traducir un perfil de daño miopático diferente. Adicionalmente, se ha descrito un peor pronóstico en los pacientes con escleromiositis que presentan niveles más elevados de CK, de acuerdo con lo observado en otros trabajos (181).

Existen también datos similares respecto al daño inflamatorio muscular en la ES cuando el EMG presenta un patrón miopático (176, 185, 201). En nuestro estudio el EMG nos orientó al diagnóstico de escleromiositis, que concuerda con estos estudios.

Sin embargo, en nuestro estudio y a diferencia de lo observado en otros trabajos (196, 197), la resonancia magnética de cuerpo entero no fue de utilidad para diferenciar a los pacientes con afección muscular histológicamente de características inflamatorias. Este hecho probablemente se deba en nuestro caso a que únicamente se realizó la resonancia magnética de cuerpo entero en un tercio de los pacientes a los cuales se había realizado el estudio histológico.

Cuando analizamos las manifestaciones clínicas de los pacientes con esclerodermia y la presencia de histología compatible con miopatía inflamatoria no encontramos diferencias significativas en la prevalencia de debilidad muscular objetivable. Sin embargo, detectamos una mayor prevalencia de formas cutáneas difusas, enfermedad intersticial pulmonar y afección digestiva. Estos hallazgos se han reportado en asociación con el compromiso muscular en otras cohortes de pacientes con EM (215, 248). Probablemente en nuestro caso la significación estadística no se obtuvo debido al bajo tamaño muestral.

Un resultado reseñable de este estudio es que los pacientes de nuestra cohorte que habían recibido tratamiento inmunosupresor previo a la sospecha del diagnóstico presentaban menor prevalencia de miopatía inflamatoria. Tras revisar la literatura, no se han encontrado estudios cuyos resultados sugieran que administrar tratamiento inmunosupresor pudiera prevenir la aparición de miopatía en la ES. Si bien se ha descrito en una cohorte de pacientes con esclerosis sistémica con afección cutánea difusa que el uso de tratamiento inmunosupresor previo podría asociarse a una menor presencia de complicaciones de la enfermedad a lo largo del seguimiento. En aquellos pacientes de esa cohorte a los que se administró MMF se observó una menor aparición de enfermedad intersticial pulmonar (274).

Estos datos concuerdan con los obtenidos en este estudio, lo cual permite sugerir que el uso de terapias inmunosupresoras podría modificar la evolución de la enfermedad, así como prevenir la aparición de otras complicaciones de la enfermedad.

Una de las principales fortalezas de nuestro trabajo es el análisis en profundidad de los hallazgos propios de la biopsia muscular en pacientes con miositis y ES. Así como lo descrito previamente en otras series (215, 248), nuestro análisis identifica a dos fenotipos histológicos, destacando claramente un grupo inflamatorio, el cual se ha correlacionado tanto con las pruebas complementarias como con los hallazgos histológicos. En cambio, el otro grupo se diferenció por no presentar cambios inflamatorios en la biopsia. A pesar de las diferencias observadas, encontramos algunas características histológicas comunes en ambos grupos y no presentes en estudios histológicos musculares no patológicos, como fueron alteraciones en la arquitectura vascular muscular o el grado de fibrosis presente. Por este motivo, se decidió estudiar y determinar la presencia de cambios histológicos en el grupo de pacientes incluidos en hallazgos no específicos y compararlos con los observados en el grupo de biopsias musculares normales.

El análisis exhaustivo con el uso de numerosos marcadores histológicos relacionados con la inmunidad, componente vascular y fibrosis evidenció datos interesantes. En el fenotipo inflamatorio (ES-IF) hemos observado una variabilidad en el tamaño de las

fibras, principalmente observando fibras atróficas, que sería claramente diferenciable de la atrofia perifascicular observada en las biopsias musculares de los pacientes con dermatomiositis (272, 275). En los pacientes incluidos en nuestro estudio la distribución de las fibras atróficas es difusa, lo cual probablemente se asocie principalmente al componente inflamatorio, pero también sea derivada del daño vascular y fibrótico (179, 276, 277). Los marcadores inflamatorios que observamos en los pacientes en los que se observaron dichos cambios inflamatorios histológicos fueron principalmente el MCH tipo I, el HLA-DR, la presencia de macrófagos NCAM y p62.

La presencia del MCH tipo I, así como la de macrófagos, se han descrito tanto en ES como en MII (278, 279). Sin embargo, la presencia del HLA-DR se ha descrito casi exclusivamente en biopsias musculares del Síndrome anti-sintetasa y en fibras aisladas en las miopatías por cuerpos de inclusión (280, 281). El HLA-DR pertenece al grupo MCH-II, esto implicaría una activación por parte del interferón-gamma que llevaría a la presentación de antígenos propios a los linfocitos TCD4 *helper*. En el síndrome anti-sintetasa la distribución es en áreas perifasciculares, y se cree que la presencia de sus autoanticuerpos esté predispuesta por dicho interferón (282). Por el contrario, en los hallazgos observados del grupo ES-IF, la distribución fue más por grupos con una tendencia a áreas perifasciculares con presencia de los linfocitos CD4. La relación que podrían tener dichos hallazgos en la ES podría ser explicada por la presencia de fenómenos de vasculopatía y fibrosis. Dichos fenómenos a su vez conducirían a la liberación de citoquinas como el interferón gamma, la interleucina 4 o el factor de necrosis tumoral alfa, los cuales producirían una sobreexpresión del HLA-DR (283, 284).

Con respecto al NCAM, también conocida como CD56, traduce la degeneración/regeneración de fibras musculares, sin poder descartar que puede evidenciar un proceso fibrótico, aunque no es un marcador directo de la fibrosis (285, 286). El p62, también conocido como SQSTM1, es una proteína que patognomómicamente está descrita en las miopatías por cuerpos de inclusión. Sin embargo, también se ha observado en el resto de IIM. Esta proteína traduce la acumulación de proteínas no degradadas y sugiere una disfunción en la autofagia. Su presencia en la ES traduciría más un proceso fibrótico que inflamatorio, ya que la fibrosis

altera la capacidad del músculo para mantener un equilibrio proteico adecuado. Este proceso genera la acumulación de P62 debido a una alteración en el proceso de degradación de proteínas. Cabe remarcar que el p62 tampoco es un marcador directo de fibrosis (287).

Tras observar estos marcadores que comparten su implicación tanto en la inflamación como en la fibrosis, hemos observado un alto porcentaje de fibrosis endomisial. Hemos observado en algunos pacientes la presencia únicamente de marcadores de fibrosis, principalmente el PDGFR- β , ya descrito en otras series como posible factor relacionado con la patogenia de la fibrosis en la ES (35, 177, 227, 288).

Otro hallazgo reseñable de este estudio es la observación histológica de una menor proporción de capilares por fibra en los pacientes con ES independientemente de la presencia o no de cambios inflamatorios en las biopsias musculares. Este hallazgo va en concordancia con la etiopatogenia de la enfermedad, siendo la microangiopatía y la disminución de densidad de capilares observados en la capilaroscopia periungueal los hallazgos más característicos de la Esclerodermia (176, 289). Los resultados observados en nuestro estudio están en concordancia con lo descrito en estudios previos, donde también observan la vasculopatía a través de marcadores de inmunohistoquímica (205, 230).

Recientemente se ha descrito en un estudio de microscopia electrónica que la reduplicación de las capas (>4) de la membrana basal del capilar podría ser un hallazgo distintivo en los pacientes con Escleromiositis (249). Estos datos respaldarían la realización de microscopia electrónica en las biopsias musculares de los pacientes con ES. Sin embargo, la dificultad de accesibilidad, el elevado coste y la escasez de expertos para la lectura de muestras musculares con esta técnica, hace que la aplicabilidad clínica de la microscopia electrónica en práctica clínica habitual sea limitada en la actualidad.

En el grupo inflamatorio también se evidenció una atrofia neurógena, ya descrita en algunos trabajos de Escleromiositis. Dicha atrofia podría traducir tanto daño miopático como neurológico, siendo detectadas alteraciones mixtas en el EMG en escasos estudios,

sin poder esclarecer una asociación fisiopatológica entre ambos (179, 247). No obstante, de los 5 pacientes incluidos en nuestro estudio que presentaban atrofia neurógena, ninguno presentó un patrón neurógeno en el EMG.

La categorización de los pacientes con EM dentro de los estándares de clasificación histológica muscular no está bien definida. Al analizar los hallazgos en la biopsia del grupo ES-IF e intentar aplicar los criterios histológicos del ENMC, sólo una cuarta parte cumplían criterios y únicamente para el grupo de miopatías necrotizantes inmunomediadas. El resto de biopsias no cumplían criterios para ninguna de las miopatías inflamatorias según la clasificación actual del ENMC (290). Esta limitación en la clasificación ya ha sido recogida previamente por otros autores (220, 224, 248). Teniendo en cuenta la imposibilidad de poder categorizar a la mayor parte de los pacientes con ES-IF con los criterios actuales disponibles, es importante definir los hallazgos histológicos de este subgrupo con el fin de determinar si es necesaria una categoría específica para dicho grupo dentro de las miopatías inflamatorias.

Los pacientes de nuestra cohorte que sí pudieron ser clasificados como miopatía necrotizante inmunomediada presentaron una evolución más desfavorable traducida como una peor respuesta al tratamiento y mayor morbimortalidad. Este hallazgo ha sido reportado de igual forma en otras series (215, 248). Adicionalmente, cabe destacar que en la EM la presencia de necrosis (factor de mal pronóstico) se presenta hasta en un 60% de los casos (198). En las miopatías necrotizantes inmunomediadas los principales factores de riesgo para un peor pronóstico son la presencia de neoplasias y enfermedad pulmonar intersticial (291), los cuales coinciden con los descritos en nuestro estudio.

También denota interés que tres de nuestros pacientes presentaron autoanticuerpos específicos de dermatomiositis, por el contrario, ninguno de ellos presentó una clínica compatible y curiosamente tampoco presentaron hallazgos histopatológicos característicos de DM. Estos resultados nos condujeron a descartar un síndrome de solapamiento mediante biopsia muscular. Teniendo en cuenta las implicaciones diagnósticas y terapéuticas junto con el hallazgo de estos autoanticuerpos y en consonancia con nuestros hallazgos, sería razonable proponer que, independientemente

de la sospecha clínica o un resultado sugestivo de miopatía inflamatoria en las pruebas complementarias, el estudio histológico de este grupo es fundamental para confirmar o descartar un síndrome de superposición esclerosis sistémica-dermatomiositis.

Otro hallazgo destacable es la diferencia de comportamiento en algunas características de los pacientes del grupo inflamatorio frente al grupo de hallazgos no específicos. En nuestra cohorte, se observó en el grupo ES-NSF (cambios no específicos) una menor elevación de CK y hallazgos inespecíficos tanto en el EMG, como en la resonancia magnética de cuerpo entero. Esta diferencia de comportamiento del grupo ES-NSF en sus características clínicas se vieron reforzadas al realizar el análisis histológico. Al no presentar cambios inflamatorios en su arquitectura, tanto en la morfología como en los marcadores de inmunohistoquímica, no se caracterizó a este grupo de pacientes de miositis. En consecuencia, el resultado histológico en este grupo hizo que nuestro abordaje terapéutico fuese diferente, decidiendo no tratar de manera específica la miopatía inflamatoria en estos pacientes. Durante nuestro período de seguimiento no encontramos diferencias en cuanto a la supervivencia, lo cual podría sugerir que el uso de un tratamiento específico para la miopatía inflamatoria en este grupo no aportaría beneficios significativos. Teniendo en cuenta que la primera línea de tratamiento de las miopatías inflamatorias son los glucocorticoides y que en la ES el uso de glucocorticoides se puede relacionar con la aparición de complicaciones graves como la crisis renal esclerodérmica, los hallazgos de la biopsia muscular en pacientes con ES podrían ser críticos a la hora de establecer el abordaje terapéutico de los pacientes con ES. Todo ello independientemente del resultado de las pruebas complementarias no invasivas o de la exploración física presente en el paciente. Este hallazgo no ha sido descrito en series previas, dado que no hay una definición homogénea de las características similares a las de las observadas en nuestro grupo de pacientes con ES-NSF. Sin embargo, nuestros resultados contrastan con los obtenidos en otros trabajos en los cuales se ha definido la presencia de un fenotipo histológico “fibrótico” en el que la respuesta al tratamiento es peor que la de los pacientes con inflamación marcada en la biopsia (224, 248). Existen sesgos importantes en los trabajos previamente mencionados, como la presencia de afectaciones graves de la ES, las cuales podrían condicionar el pronóstico de la misma y conducir a un tratamiento más agresivo de los pacientes, independientemente de la

afección muscular observada (3). Adicionalmente, publicaciones más recientes no han objetivado diferencias en la supervivencia entre los grupos histológicos que mostraban cambios inflamatorios y los grupos histológicos que mostraban cambios fibróticos (257).

Para finalizar, nos gustaría destacar la presencia de datos histológicos diferenciales en los pacientes con ES-NSF en comparación con el grupo de biopsias musculares sin hallazgos patológicos en pacientes sin ES. En los pacientes con Es-NSF se observó una alteración de la morfología, una mayor presencia de intersticio, así como una alteración en los capilares. Esto indicaría que, independientemente de la presencia histológica de inflamación muscular, existe un daño muscular específico de la enfermedad. Este hecho resulta especialmente relevante considerando que hasta la fecha no se cuenta con estudios publicados que hayan realizado esta comparación.

Nuestro trabajo no está exento de limitaciones. En primer lugar, el hecho de que el estudio conste de una parte retrospectiva conlleva sesgos de información inherentes a este diseño al dificultar la asociación de diferentes datos clínicos terapéuticos e histológicos. Por otra parte, la realización de tinciones específicas estuvo limitada en algunos casos. Al no poder aplicarse en muestras más antiguas por no estar disponibles, únicamente pudieron describirse los análisis histológicos realizados en el momento de la realización de la extracción de la muestra. Otra limitación de este trabajo es la ausencia del análisis en microscopía electrónica de la muestra. Teniendo en cuenta los hallazgos recientemente publicados, sería interesante el análisis de las muestras de ambos grupos de nuestro estudio mediante esta técnica. Lamentablemente, el análisis histológico de la biopsia muscular mediante microscopia electrónica en la ES conlleva cierta dificultad en el momento actual dadas las limitaciones a su acceso y a la interpretación de las muestras por especialistas cualificados. Nuestro estudio histológico basado en práctica clínica habitual de los pacientes con sospecha de EM refleja desde nuestro punto de vista un abordaje diagnóstico y terapéutico en este grupo de pacientes, aplicable en cualquier otra cohorte de enfermos con ES. Otra limitación de nuestro trabajo es no haber realizado un análisis en profundidad de la posible asociación de los resultados obtenidos en las pruebas complementarias de los pacientes con los datos histológicos. A pesar de tener un grupo con muestras musculares de pacientes sin ES ni datos inflamatorios que

podimos comparar con el grupo ES-NSF, este grupo control no se constituía de pacientes sanos, sino de pacientes a los cuales el servicio de neurología realizó un estudio muscular histológico ante la sospecha de una enfermedad neuromuscular no relacionada con enfermedades autoinmunes sistémicas y que no había mostrado alteraciones patológicas (siendo la prueba considerada como normal). Hubiese sido preferible disponer de un grupo control de pacientes sanos, sin embargo, las implicaciones éticas de realizar una biopsia muscular en dicho grupo hicieron descartar la inclusión del mismo en este estudio. La ausencia de un grupo de pacientes con ES sin sospecha de miopatía inflamatoria también es una limitación a la hora de interpretar los resultados, ya que desconocemos si la presencia de algunos de los cambios observados en el grupo ES-NSF pueden estar presentes también en estos pacientes. Para finalizar, el tamaño de la muestra de nuestro estudio fue también una limitación no despreciable.

En resumen, consideramos que nuestro trabajo permitiría identificar unos perfiles histológicos con características diferenciales en los pacientes con sospecha de miopatía inflamatoria en la esclerosis sistémica, pudiendo identificar un perfil o grupo inflamatorio mejor definido. Adicionalmente, permitiría caracterizar otro grupo sin hallazgos histológicos característicamente inflamatorios, pero con alteraciones que facilitarían diferenciarlo de la normalidad. Estos datos indicarían que los pacientes con ES pueden presentar datos histológicos identificables e inherentes a la enfermedad autoinmune sistémica subyacente.

Tras evaluar los hallazgos obtenidos en nuestro estudio, podríamos considerar que el término Escleromiositis se podría aplicar en el grupo de pacientes con ES-IF, dado que en estos pacientes se objetiva un patrón inflamatorio con características histológicas compartidas con otras miopatías inflamatorias.

7. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. En los pacientes con esclerosis sistémica y sospecha de miopatía inflamatoria en los que se ha realizado una biopsia muscular se pueden definir y diferenciar dos grupos histológicos característicos, donde el grupo inflamatorio presenta valores más altos de creatincinasa en comparación con los pacientes que presentan hallazgos histológicos no inflamatorios y no específicos.
2. Los pacientes con esclerosis sistémica y fenotipo inflamatorio parecen presentar características diferenciales propias en comparación con las descritas en los pacientes con miopatías inflamatorias idiopáticas. Asimismo, la presencia de necrosis en las biopsias musculares de pacientes con patrón histológico inflamatorio parece asociarse con un peor pronóstico de la enfermedad.
3. El uso de terapia inmunosupresora previa se asoció con una menor prevalencia de patrón histológico inflamatorio en los pacientes con esclerosis sistémica.
4. El abordaje terapéutico de los pacientes según la presencia de hallazgos inflamatorios o no en el estudio histológico fue diferente y no se relacionó con diferencias en cuanto a la supervivencia de estos. Teniendo en cuenta el posible efecto nocivo de los corticoides en la ES, esto puede indicar que el estudio histológico de los pacientes con ES y sospecha de miopatía inflamatoria es fundamental.
5. La presencia de inflamación, vasculopatía y de fibrosis evidenciadas en las biopsias musculares de pacientes con ES e histología de miopatía inflamatoria en la biopsia muscular indican una correlación con la patogenia de la

esclerosis sistémica y por tanto sugieren que la afección inflamatoria muscular es una complicación de la enfermedad.

6. El aumento del HLA-DR clase II en las biopsias musculares de pacientes con esclerosis sistémica parece implicar un mecanismo inmunológico diferente en comparación con el de otras miopatías inflamatorias como la dermatomiostis.

8. LÍNEAS DE FUTURO

8. LINEAS DE FUTURO

Dada la ausencia de estudio de cohortes con estudios histológicos en profundidad, consideramos que la presente tesis puede complementarse en un futuro con líneas de investigación complementarias de las cuales nombramos algunas a continuación:

- Complementar los hallazgos descritos con estudio de muestras de biopsia muscular de enfermos con esclerosis sistémica mediante microscopia electrónica.
- Complementar los hallazgos descritos mediante la comparación de estudio histológico muscular en pacientes con esclerosis sistémica sin sospecha clínica ni presencia de datos que sugieran una miopatía inflamatoria.
- Determinar si existen tratamientos más efectivos según el subgrupo de afección histológica muscular.
- Asociar los datos histológicos con características específicas de otras afecciones orgánicas.

9. BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Cutolo M, Soldano S, Smith V. Pathophysiology of systemic sclerosis: current understanding and new insights. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019;15(7):753-64.
2. Steen VD, Medsger TA. Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972-2002. *Annals of the rheumatic diseases*. 2007;66(7):940-4.
3. Poudel DR, Derk CT. Mortality and survival in systemic sclerosis: a review of recent literature. *Current opinion in rheumatology*. 2018;30(6):588-93.
4. Tian J, Kang S, Zhang D, Huang Y, Zhao M, Gui X, et al. Global, regional, and national incidence and prevalence of systemic sclerosis. *Clinical Immunology*. 2023;248:109267.
5. Bairkdar M, Rossides M, Westerlind H, Hesselstrand R, Arkema EV, Holmqvist M. Incidence and prevalence of systemic sclerosis globally: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2021;60(7):3121-33.
6. Allanore Y, Simms R, Distler O, Trojanowska M, Pope J, Denton CP, et al. Systemic sclerosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15002.
7. Arias-Nuñez MC, Llorca J, Vazquez-Rodriguez TR, Gomez-Acebo I, Miranda-Filloo JA, Martin J, et al. Systemic sclerosis in northwestern Spain: a 19-year epidemiologic study. *Medicine*. 2008;87(5):272-80.
8. Silver RM, Bogatkevich G, Tourkina E, Nietert PJ, Hoffman S. Racial differences between blacks and whites with systemic sclerosis. *Current opinion in rheumatology*. 2012;24(6):642-8.
9. Asano Y. The Pathogenesis of Systemic Sclerosis: An Understanding Based on a Common Pathologic Cascade across Multiple Organs and Additional Organ-Specific Pathologies. *Journal of clinical medicine*. 2020;9(9).
10. Pisetsky DS. Pathogenesis of autoimmune disease. *Nature Reviews Nephrology*. 2023;19(8):509-24.
11. Ota Y, Kuwana M. Updates on genetics in systemic sclerosis. *Inflammation and Regeneration*. 2021;41(1):17.
12. Salazar G, Mayes MD. Genetics, Epigenetics, and Genomics of Systemic Sclerosis. *Rheumatic diseases clinics of North America*. 2015;41(3):345-66.

13. Marie I, Gehanno JF, Bubenheim M, Duval-Modeste AB, Joly P, Dominique S, et al. Prospective study to evaluate the association between systemic sclerosis and occupational exposure and review of the literature. *Autoimmunity reviews*. 2014;13(2):151-6.
14. Walecka I, Roszkiewicz M, Malewska A. Potential occupational and environmental factors in SSc onset. *Ann Agric Environ Med*. 2018;25(4):596-601.
15. Phelps RG, Fleischmajer R. Clinical, pathologic, and immunopathologic manifestations of the toxic oil syndrome. Analysis of fourteen cases. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1988;18(2 Pt 1):313-24.
16. Moroncini G, Mori S, Tonnini C, Gabrielli A. Role of viral infections in the etiopathogenesis of systemic sclerosis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2013;31(2 Suppl 76):3-7.
17. Yong WC, Upala S, Sanguankeo A. Helicobacter pylori infection in systemic sclerosis: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Clinical and experimental rheumatology*. 2018;36 Suppl 113(4):168-74.
18. Arvia R, Zakrzewska K, Giovannelli L, Ristori S, Frediani E, Del Rosso M, et al. Parvovirus B19 induces cellular senescence in human dermal fibroblasts: putative role in systemic sclerosis-associated fibrosis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2022;61(9):3864-74.
19. Lunardi C, Dolcino M, Peterlana D, Bason C, Navone R, Tamassia N, et al. Antibodies against human cytomegalovirus in the pathogenesis of systemic sclerosis: a gene array approach. *PLoS Med*. 2006;3(1):e2.
20. Prajjwal P, Marsool MDM, Yadav V, Kanagala RSD, Reddy YB, John J, et al. Neurological, cardiac, musculoskeletal, and renal manifestations of scleroderma along with insights into its genetics, pathophysiology, diagnostic, and therapeutic updates. *Health Sci Rep*. 2024;7(4):e2072.
21. Sgonc R, Gruschwitz MS, Dietrich H, Recheis H, Gershwin ME, Wick G. Endothelial cell apoptosis is a primary pathogenetic event underlying skin lesions in avian and human scleroderma. *The Journal of clinical investigation*. 1996;98(3):785-92.
22. Guiducci S, Distler O, Distler JH, Matucci-Cerinic M. Mechanisms of vascular damage in SSc--implications for vascular treatment strategies. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2008;47 Suppl 5:v18-20.

23. Distler JH, Hirth A, Kurowska-Stolarska M, Gay RE, Gay S, Distler O. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *Q J Nucl Med*. 2003;47(3):149-61.
24. Distler O, Neidhart M, Gay RE, Gay S. The molecular control of angiogenesis. *Int Rev Immunol*. 2002;21(1):33-49.
25. Cooke JP, Marshall JM. Mechanisms of Raynaud's disease. *Vasc Med*. 2005;10(4):293-307.
26. Simons M, Ware JA. Therapeutic angiogenesis in cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov*. 2003;2(11):863-71.
27. Truchetet ME, Brembilla NC, Chizzolini C. Current Concepts on the Pathogenesis of Systemic Sclerosis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2023;64(3):262-83.
28. Fioretto BS, Rosa I, Matucci-Cerinic M, Romano E, Manetti M. Current Trends in Vascular Biomarkers for Systemic Sclerosis: A Narrative Review. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(4):4097.
29. Redecke V, Häcker H, Datta SK, Fermin A, Pitha PM, Broide DH, et al. Cutting edge: activation of Toll-like receptor 2 induces a Th2 immune response and promotes experimental asthma. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2004;172(5):2739-43.
30. Kräling BM, Maul GG, Jimenez SA. Mononuclear cellular infiltrates in clinically involved skin from patients with systemic sclerosis of recent onset predominantly consist of monocytes/macrophages. *Pathobiology*. 1995;63(1):48-56.
31. O'Reilly S. Innate immunity in systemic sclerosis. *Clinical and experimental immunology*. 2020;201(1):12-3.
32. Dowson C, Simpson N, Duffy L, O'Reilly S. Innate Immunity in Systemic Sclerosis. *Curr Rheumatol Rep*. 2017;19(1):2.
33. Kobayashi S, Nagafuchi Y, Shoda H, Fujio K. The Pathophysiological Roles of Regulatory T Cells in the Early Phase of Systemic Sclerosis. *Frontiers in immunology*. 2022;13:900638.
34. Scaletti C, Pratesi S, Bellando Randone S, Di Pietro L, Campochiaro C, Annunziato F, et al. The B-cells paradigm in systemic sclerosis: an update on pathophysiology and B-cell-targeted therapies. *Clinical and experimental immunology*. 2024.

35. Trojanowska M. Role of PDGF in fibrotic diseases and systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2008;47(suppl_5):v2-v4.
36. Shi-Wen X, Leask A, Abraham D. Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN2 in tissue repair, scarring and fibrosis. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2008;19(2):133-44.
37. Frommer KW, Müller-Ladner U. Expression and function of ETA and ETB receptors in SSc. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2008;47 Suppl 5:v27-8.
38. Waters CE, Shi-Wen X, Denton CP, Abraham DJ, Pearson JD. Signaling pathways regulating intercellular adhesion molecule 1 expression by endothelin 1: comparison with interleukin-1beta in normal and scleroderma dermal fibroblasts. *Arthritis and rheumatism*. 2006;54(2):649-60.
39. Ko J, Noviani M, Chellamuthu VR, Albani S, Low AHL. The Pathogenesis of Systemic Sclerosis: The Origin of Fibrosis and Interlink with Vasculopathy and Autoimmunity. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(18):14287.
40. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis and rheumatism*. 1980;23(5):581-90.
41. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, Jr., et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *The Journal of rheumatology*. 1988;15(2):202-5.
42. Denton CP, Black CM, Korn JH, de Crombrughe B. Systemic sclerosis: current pathogenetic concepts and future prospects for targeted therapy. *The Lancet*. 1996;347(9013):1453-8.
43. LeRoy EC, Medsger TA, Jr. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *The Journal of rheumatology*. 2001;28(7):1573-6.
44. 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. *Annals of the rheumatic diseases*. 2013;72(11):1747-55.

45. Park JS, Park MC, Song JJ, Park YB, Lee SK, Lee SW. Application of the 2013 ACR/EULAR classification criteria for systemic sclerosis to patients with Raynaud's phenomenon. *Arthritis research & therapy*. 2015;17(1):77.
46. Melchor S, Joven BE, Andreu JL, Loza E, Garcia de Yebenes MJ, Carmona L, et al. Validation of the 2013 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for systemic sclerosis in patients from a capillaroscopy clinic. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2016;46(3):350-5.
47. Sáez-Comet L, Simeón-Aznar CP, Pérez-Conesa M, Vallejo-Rodríguez C, Tolosa-Vilella C, Iniesta-Arandia N, et al. Applying the ACR/EULAR Systemic Sclerosis Classification Criteria to the Spanish Scleroderma Registry Cohort. *The Journal of rheumatology*. 2015;42(12):2327-31.
48. Hoffmann-Vold AM, Gunnarsson R, Garen T, Midtvedt Ø, Molberg Ø. Performance of the 2013 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Classification Criteria for Systemic Sclerosis (SSc) in large, well-defined cohorts of SSc and mixed connective tissue disease. *The Journal of rheumatology*. 2015;42(1):60-3.
49. Hamaguchi Y, Takehara K. Anti-nuclear autoantibodies in systemic sclerosis : News and perspectives. *J Scleroderma Relat Disord*. 2018;3(3):201-13.
50. 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. *Annals of the rheumatic diseases*. 2019;78(7):879-89.
51. Chan EK, Damoiseaux J, de Melo Cruvinel W, Carballo OG, Conrad K, Francescantonio PL, et al. Report on the second International Consensus on ANA Pattern (ICAP) workshop in Dresden 2015. *Lupus*. 2016;25(8):797-804.
52. Andrade LEC, Klotz W, Herold M, Musset L, Damoiseaux J, Infantino M, et al. Reflecting on a decade of the international consensus on ANA patterns (ICAP): Accomplishments and challenges from the perspective of the 7th ICAP workshop. *Autoimmunity reviews*. 2024;23(9):103608.
53. 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*. 2023;64(3):412-30.

54. Chepy A, Bourel L, Koether V, Launay D, Dubucquoi S, Sobanski V. Can Antinuclear Antibodies Have a Pathogenic Role in Systemic Sclerosis? *Frontiers in immunology*. 2022;13:930970.
55. Hamaguchi Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: predictive value for clinical evaluation and prognosis. *The Journal of dermatology*. 2010;37(1):42-53.
56. Kranenburg P, van den Hombergh WM, Knaapen-Hans HK, van den Hoogen FH, 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. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2016;55(11):2001-8.
57. Mahler M, You D, Baron M, Taillefer SS, Hudson M, Fritzler MJ. Anti-centromere antibodies in a large cohort of systemic sclerosis patients: Comparison between immunofluorescence, CENP-A and CENP-B ELISA. *Clinica Chimica Acta*. 2011;412(21):1937-43.
58. van Leeuwen NM, Boonstra M, Bakker JA, Grummels A, Jordan S, Liem S, et al. Anticentromere Antibody Levels and Isotypes and the Development of Systemic Sclerosis. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2021;73(12):2338-47.
59. Caetano J, Nihtyanova SI, Harvey J, Denton CP, Ong VH. Distinctive clinical phenotype of anti-centromere antibody-positive diffuse systemic sclerosis. *Rheumatol Adv Pract*. 2018;2(1):rky002.
60. Steen V, Medsger TA, Jr. Predictors of isolated pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and limited cutaneous involvement. *Arthritis and rheumatism*. 2003;48(2):516-22.
61. Basu D, Reveille JD. Anti-scl-70. *Autoimmunity*. 2005;38(1):65-72.
62. Jandali B, Salazar GA, Hudson M, Fritzler MJ, Lyons MA, Estrada-Y-Martin RM, et al. The Effect of Anti-Scl-70 Antibody Determination Method on Its Predictive Significance for Interstitial Lung Disease Progression in Systemic Sclerosis. *ACR Open Rheumatology*. 2022;4(4):345-51.
63. Nikpour M, Hissaria P, Byron J, Sahhar J, Micallef M, Paspaliaris W, et al. Prevalence, correlates and clinical usefulness of antibodies to RNA polymerase III in systemic sclerosis: a cross-sectional analysis of data from an Australian cohort. *Arthritis research & therapy*. 2011;13(6):R211.

64. Terras S, Hartenstein H, Höxtermann S, Gambichler T, Kreuter A. RNA polymerase III autoantibodies may indicate renal and more severe skin involvement in systemic sclerosis. *International journal of dermatology*. 2016;55(8):882-5.
65. Lazzaroni MG, Cavazzana I, Colombo E, Dobrota R, Hernandez J, Hesselstrand R, 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. *The Journal of rheumatology*. 2017;44(5):639-47.
66. Suresh S, Charlton D, Snell EK, Laffoon M, Medsger TA, Jr., Zhu L, et al. Development of Pulmonary Hypertension in Over One-Third of Patients With Th/To Antibody-Positive Scleroderma in Long-Term Follow-Up. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2022;74(9):1580-7.
67. Możdżan M, Węgiel A, Biskup L, Brzezińska O, Makowska J. Anti-Th/To Antibodies in Scleroderma: Good Prognosis or Serious Concern? *Journal of clinical medicine*. 2024;13(11):3022.
68. Smith V, Ickinger C, Hysa E, Snow M, Frech T, Sulli A, et al. Nailfold capillaroscopy. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2023;37(1):101849.
69. Lambova SN, Müller-Ladner U. Nailfold capillaroscopy in systemic sclerosis - state of the art: The evolving knowledge about capillaroscopic abnormalities in systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord*. 2019;4(3):200-11.
70. Smith V, Herrick AL, Ingegnoli F, Damjanov N, De Angelis R, Denton CP, et al. Standardisation of nailfold capillaroscopy for the assessment of patients with Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Autoimmunity reviews*. 2020;19(3):102458.
71. Lambova SN, Müller-Ladner U. "Scleroderma" and "Scleroderma-like" Capillaroscopic Pattern-Differences and Similarities. *Curr Rheumatol Rev*. 2024;20(3):304-16.
72. Cutolo M, Smith V. Detection of microvascular changes in systemic sclerosis and other rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*. 2021;17(11):665-77.
73. Álvarez Barreneche MF, Velásquez Franco CJ, Giraldo Cuartas CE, Mesa Navas MA. Capillaroscopic abnormalities in systemic lupus erythematosus and its association with clinical manifestation. *Revista Colombiana de Reumatología (English Edition)*. 2024;31(3):304-10.

74. Maricq HR, Carwile LeRoy E. Patterns of finger capillary abnormalities in connective tissue disease by "wide-field" microscopy. *Arthritis & Rheumatism*. 1973;16(5):619-28.
75. Maricq HR, LeRoy EC, D'Angelo WA, Medsger Jr. TA, Rodnan GP, Sharp GC, et al. Diagnostic potential of in vivo capillary microscopy in scleroderma and related disorders. *Arthritis & Rheumatism*. 1980;23(2):183-9.
76. Maricq HR, Harper FE, Khan MM, Tan EM, LeRoy EC. Microvascular abnormalities as possible predictors of disease subsets in Raynaud phenomenon and early connective tissue disease. *Clinical and experimental rheumatology*. 1983;1(3):195-205.
77. Maricq HR, Maize JC. Nailfold capillary abnormalities. *Clinics in rheumatic diseases*. 1982;8(2):455-78.
78. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *The Journal of rheumatology*. 2000;27(1):155-60.
79. Cutolo M, Herrick AL, Distler O, Becker MO, Beltran E, Carpentier P, et al. Nailfold Videocapillaroscopic Features and Other Clinical Risk Factors for Digital Ulcers in Systemic Sclerosis: A Multicenter, Prospective Cohort Study. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2016;68(10):2527-39.
80. Smith V, Vanhaecke A, Vandecasteele E, Guerra M, Paolino S, Melsens K, et al. Nailfold Videocapillaroscopy in Systemic Sclerosis-related Pulmonary Arterial Hypertension: A Systematic Literature Review. *The Journal of rheumatology*. 2020;47(6):888-95.
81. Smith V, Distler O, Du Four T, Cutolo M. Is there a role for nailfold videocapillaroscopy in interstitial lung disease? *Rheumatology (Oxford, England)*. 2022;61(6):2217-20.
82. Sambataro D, Sambataro G, Libra A, Vignigni G, Pino F, Fagone E, et al. Nailfold Videocapillaroscopy is a Useful Tool to Recognize Definite Forms of Systemic Sclerosis and Idiopathic Inflammatory Myositis in Interstitial Lung Disease Patients. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(5).

83. Xia Z, Wang G, Xiao H, Guo S, Liu Y, Meng F, et al. Diagnostic value of nailfold videocapillaroscopy in systemic sclerosis secondary pulmonary arterial hypertension: a meta-analysis. *Intern Med J.* 2018;48(11):1355-9.
84. Koehler U, Portig I, Hildebrandt O, Koehler NA. [Maurice Raynaud (1834-1881) and the Mystery of "Raynaud's Phenomenon"]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946).* 2019;144(25):1778-83.
85. Wigley FM. Clinical practice. Raynaud's Phenomenon. *The New England journal of medicine.* 2002;347(13):1001-8.
86. Wigley FM, Flavahan NA. Raynaud's Phenomenon. *New England Journal of Medicine.* 2016;375(6):556-65.
87. Hughes M, Allanore Y, Chung L, Pauling JD, Denton CP, Matucci-Cerinic M. Raynaud phenomenon and digital ulcers in systemic sclerosis. *Nature Reviews Rheumatology.* 2020;16(4):208-21.
88. Maciejewska M, Sikora M, Maciejewski C, Alda-Malicka R, Czuwara J, Rudnicka L. Raynaud's Phenomenon with Focus on Systemic Sclerosis. *Journal of clinical medicine.* 2022;11(9).
89. Castellví I, Simeón CP, Sarmiento M, Casademont J, Corominas H, Fonollosa V. Effect of bosentan in pulmonary hypertension development in systemic sclerosis patients with digital ulcers. *PloS one.* 2020;15(12):e0243651.
90. Baron M, Chung L, Gyger G, Hummers L, Khanna D, Mayes MD, et al. Consensus opinion of a North American Working Group regarding the classification of digital ulcers in systemic sclerosis. *Clinical rheumatology.* 2014;33(2):207-14.
91. Caramaschi P, Biasi D, Caimmi C, Barausse G, Sabbagh D, Tinazzi I, et al. Digital amputation in systemic sclerosis: prevalence and clinical associations. A retrospective longitudinal study. *The Journal of rheumatology.* 2012;39(8):1648-53.
92. Hachulla E, Clerson P, Launay D, Lambert M, Morell-Dubois S, Queyrel V, et al. Natural history of ischemic digital ulcers in systemic sclerosis: single-center retrospective longitudinal study. *The Journal of rheumatology.* 2007;34(12):2423-30.
93. Nallapati A, Wigley FM, Paik JJ. Improvement of salt and pepper skin changes in diffuse scleroderma after treatment with tofacitinib. *Clinical and experimental rheumatology.* 2022;40(10):2008-9.

94. Krieg T, Takehara K. Skin disease: a cardinal feature of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2009;48 Suppl 3:iii14-8.
95. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *The Lancet*. 2017;390(10103):1685-99.
96. Clements P, Lachenbruch P, Siebold J, White B, Weiner S, Martin R, et al. Inter and intraobserver variability of total skin thickness score (modified Rodnan TSS) in systemic sclerosis. *The Journal of rheumatology*. 1995;22(7):1281-5.
97. Khanna D, Furst DE, Clements PJ, Allanore Y, Baron M, Czirjak L, et al. Standardization of the modified Rodnan skin score for use in clinical trials of systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord*. 2017;2(1):11-8.
98. Chandra A, Sil A, Hati A, Shah KA. Salt and pepper appearance in systemic sclerosis. *QJM: An International Journal of Medicine*. 2021;115(1):41-2.
99. Singh A, Ambujam S, Varghese A, Vishranth SP, Sadanandan N. Salt-and-pepper Appearance: A Cutaneous Clue for the Diagnosis of Systemic Sclerosis. *Indian J Dermatol*. 2012;57(5):412-3.
100. Solanki KK, Hor C, Chang WSJ, Frampton C, White DHN. Clinical utility of hypo- and hyperpigmentation of skin in diffuse cutaneous systemic sclerosis. *International journal of rheumatic diseases*. 2017;20(6):767-73.
101. Bhattacharyya S, Wei J, Varga J. Understanding fibrosis in systemic sclerosis: shifting paradigms, emerging opportunities. *Nature reviews Rheumatology*. 2011;8(1):42-54.
102. Hughes M, Huang S, Alegre-Sancho JJ, Carreira PE, Engelhart M, Hachulla E, et al. Late skin fibrosis in systemic sclerosis: a study from the EUSTAR cohort. *Rheumatology*. 2022;62(SI):SI54-SI63.
103. Avouac J, Clements PJ, Khanna D, Furst DE, Allanore Y. Articular involvement in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2012;51(8):1347-56.
104. Braverman IM, Ken-Yen A. Ultrastructure and three-dimensional reconstruction of several macular and papular telangiectases. *J Invest Dermatol*. 1983;81(6):489-97.
105. Mould TL, Roberts-Thomson PJ. Pathogenesis of telangiectasia in scleroderma. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2000;18(4):195-200.
106. Davuluri S, Lood C, Chung L. Calcinosis in systemic sclerosis. *Current opinion in rheumatology*. 2022;34(6):319-27.

107. Saketkoo LA, Gordon JK, Fligelstone K, Mawdsley A, Chaudhry HA, Valenzuela A, et al. Patient Experience of Systemic Sclerosis-Related Calcinosis: An International Study Informing Clinical Trials, Practice, and the Development of the Mawdsley Calcinosis Questionnaire. *Rheumatic diseases clinics of North America*. 2023;49(2):463-81.
108. Valenzuela A, Chung L. Calcinosis: pathophysiology and management. *Current opinion in rheumatology*. 2015;27(6):542-8.
109. Pai S, Hsu V. Are there risk factors for scleroderma-related calcinosis? *Modern rheumatology*. 2018;28(3):518-22.
110. Hughes M, Herrick AL. Diagnosis and management of systemic sclerosis-related calcinosis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2023;19(1):45-54.
111. Tandaipan JL, Castellví I. Esclerosis sistémica y participación gastrointestinal. *Revista Colombiana de Reumatología*. 2020;27:44-54.
112. Roberts CGP, Hummers LK, Ravich WJ, Wigley FM, Hutchins GM. A case-control study of the pathology of oesophageal disease in systemic sclerosis (scleroderma). *Gut*. 2006;55(12):1697-703.
113. Kirby DF, Chatterjee S. Evaluation and management of gastrointestinal manifestations in scleroderma. *Current opinion in rheumatology*. 2014;26(6):621-9.
114. Wipff J, Allanore Y, Soussi F, Terris B, Abitbol V, Raymond J, et al. Prevalence of Barrett's esophagus in systemic sclerosis. *Arthritis and rheumatism*. 2005;52(9):2882-8.
115. Schmeiser T, Saar P, Jin D, Noethe M, Müller A, Soydan N, et al. Profile of gastrointestinal involvement in patients with systemic sclerosis. *Rheumatology international*. 2012;32(8):2471-8.
116. Nagy G, Kovács J, Zeher M, Czirják L. Analysis of the oral manifestations of systemic sclerosis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1994;77(2):141-6.
117. Pizzo G, Scardina GA, Messina P. Effects of a nonsurgical exercise program on the decreased mouth opening in patients with systemic scleroderma. *Clin Oral Investig*. 2003;7(3):175-8.
118. Montesi A, Pesaresi A, Cavalli ML, Ripa G, Candela M, Gabrielli A. Oropharyngeal and esophageal function in scleroderma. *Dysphagia*. 1991;6(4):219-23.
119. Wood RE, Lee P. Analysis of the oral manifestations of systemic sclerosis (scleroderma). *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1988;65(2):172-8.

120. Baron M, Hudson M, Tatibouet S, Steele R, Lo E, Gravel S, et al. The Canadian systemic sclerosis oral health study: orofacial manifestations and oral health-related quality of life in systemic sclerosis compared with the general population. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2014;53(8):1386-94.
121. Naylor WP, Douglass CW, Mix E. The nonsurgical treatment of microstomia in scleroderma: A pilot study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1984;57(5):508-11.
122. Lahcene M, Oumnia N, Matougui N, Boudjella M, Tebaibia A, Touchene B. Esophageal dysmotility in scleroderma: a prospective study of 183 cases. *Gastroenterol Clin Biol*. 2009;33(6-7):466-9.
123. Matucci-Cerinic M, Czirják L. Immune-endothelial-nerve interaction: an explanation for the failure of the gastrointestinal system in systemic sclerosis? *Annals of the rheumatic diseases*. 2009;68(5):609-10.
124. Thonhofer R, Siegel C, Trummer M, Graninger W. Early endoscopy in systemic sclerosis without gastrointestinal symptoms. *Rheumatology international*. 2012;32(1):165-8.
125. Hamel-Roy J, Devroede G, Arhan P, Tétréault L, Duranceau A, Ménard H-A. Comparative Esophageal and Anorectal Motility in Scleroderma. *Gastroenterology*. 1985;88(1, Part 1):1-7.
126. Sjogren RW. Gastrointestinal motility disorders in scleroderma. *Arthritis & Rheumatism*. 1994;37(9):1265-82.
127. Denaxas K, Ladas SD, Karamanolis GP. Evaluation and management of esophageal manifestations in systemic sclerosis. *Ann Gastroenterol*. 2018;31(2):165-70.
128. SALLAM H, MCNEARNEY TA, CHEN JDZ. Systematic review: pathophysiology and management of gastrointestinal dysmotility in systemic sclerosis (scleroderma). *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2006;23(6):691-712.
129. Clements PJ, Becvar R, Drosos AA, Ghattas L, Gabrielli A. Assessment of gastrointestinal involvement. *Clinical and experimental rheumatology*. 2003;21(3 Suppl 29):S15-8.
130. MARIE I, DUCROTTE P, ANTONIETTI M, HERVE S, LEVESQUE H. Watermelon stomach in systemic sclerosis: its incidence and management. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2008;28(4):412-21.

131. Ingraham KM, O'Brien MS, Shenin M, Derk CT, Steen VD. Gastric antral vascular ectasia in systemic sclerosis: demographics and disease predictors. *The Journal of rheumatology*. 2010;37(3):603-7.
132. Hung EW, Mayes MD, Sharif R, Assassi S, Machicao VI, Hosing C, et al. Gastric antral vascular ectasia and its clinical correlates in patients with early diffuse systemic sclerosis in the SCOT trial. *The Journal of rheumatology*. 2013;40(4):455-60.
133. Marie I, Ducrotté P, Denis P, Hellot MF, Levesque H. Outcome of small-bowel motor impairment in systemic sclerosis--a prospective manometric 5-yr follow-up. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2007;46(1):150-3.
134. Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, Förstl M, Rejchrt S, Kvetina J, et al. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol*. 2010;16(24):2978-90.
135. Balbir-Gurman A, Brook OR, Chermesh I, Braun-Moscovici Y. Pneumatosis cystoides intestinalis in scleroderma-related conditions. *Intern Med J*. 2012;42(3):323-9.
136. Parodi A, Sessarego M, Greco A, Bazzica M, Filaci G, Setti M, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in patients suffering from scleroderma: clinical effectiveness of its eradication. *The American journal of gastroenterology*. 2008;103(5):1257-62.
137. De Giorgio R, Sarnelli G, Corinaldesi R, Stanghellini V. Advances in our understanding of the pathology of chronic intestinal pseudo-obstruction. *Gut*. 2004;53(11):1549-52.
138. Wu LL, Yang YS, Dou Y, Liu QS. A systematic analysis of pneumatosis cystoides intestinalis. *World J Gastroenterol*. 2013;19(30):4973-8.
139. Madsen JL, Hendel L. Gastrointestinal transit times of radiolabeled meal in progressive systemic sclerosis. *Dig Dis Sci*. 1992;37(9):1404-8.
140. Emmanuel A. Current management of the gastrointestinal complications of systemic sclerosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(8):461-72.
141. Malandrini A, Selvi E, Villanova M, Berti G, Sabadini L, Salvadori C, et al. Autonomic nervous system and smooth muscle cell involvement in systemic sclerosis: ultrastructural study of 3 cases. *The Journal of rheumatology*. 2000;27(5):1203-6.
142. Blank RB, Nwawka OK, Yusov AA, Gordon JK. Inflammatory arthritis in systemic sclerosis: What to do? *J Scleroderma Relat Disord*. 2019;4(1):3-16.

143. Pinto AS, Santos FC, Dinis SP, Madeira N, Ferreira JF, Vaz C. Systemic sclerosis and rheumatoid arthritis overlap syndrome - management of severe cardiac, pulmonary and articular involvement. *Reumatologia*. 2023;61(1):55-62.
144. Doré A, Lucas M, Ivanco D, Medsger TA, Jr., Domsic RT. Significance of palpable tendon friction rubs in early diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Arthritis care & research*. 2013;65(8):1385-9.
145. Misra R, Darton K, Jewkes RF, Black CM, Maini RN. Arthritis in scleroderma. *British journal of rheumatology*. 1995;34(9):831-7.
146. Cuomo G, Zappia M, Iudici M, Abignano G, Rotondo A, Valentini G. The origin of tendon friction rubs in patients with systemic sclerosis: A sonographic explanation. *Arthritis & Rheumatism*. 2012;64(4):1291-3.
147. Bálint Z, Farkas H, Farkas N, Minier T, Kumánovics G, Horváth K, et al. A three-year follow-up study of the development of joint contractures in 131 patients with systemic sclerosis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2014;32(6 Suppl 86):S-68-74.
148. Woodworth TG, Suliman YA, Li W, Furst DE, Clements P. Scleroderma renal crisis and renal involvement in systemic sclerosis. *Nature Reviews Nephrology*. 2016;12(11):678-91.
149. Mouthon L, Bussone G, Berezné A, Noël L-H, Guillevin L. Scleroderma Renal Crisis. *The Journal of rheumatology*. 2014;41(6):1040-8.
150. Foocharoen C, Tonsawan P, Pongkulkiat P, Anutrakulchai S, Mahakkanukrauh A, Suwannaroj S. Management review of scleroderma renal crisis: An update with practical pointers. *Modern rheumatology*. 2022;33(1):12-20.
151. Cole A, Ong VH, Denton CP. Renal Disease and Systemic Sclerosis: an Update on Scleroderma Renal Crisis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2023;64(3):378-91.
152. Almeida RF, Watte G, Marchiori E, Altmayer S, Pacini GS, Barros MC, et al. High resolution computed tomography patterns in interstitial lung disease (ILD): prevalence and prognosis. *J Bras Pneumol*. 2020;46(5):e20190153.
153. Liakouli V, Ciancio A, Del Galdo F, Giacomelli R, Ciccia F. Systemic sclerosis interstitial lung disease: unmet needs and potential solutions. *Nature Reviews Rheumatology*. 2024;20(1):21-32.

154. Distler O, Assassi S, Cottin V, Cutolo M, Danoff SK, Denton CP, et al. Predictors of progression in systemic sclerosis patients with interstitial lung disease. *The European respiratory journal*. 2020;55(5).
155. Khanna D, Tashkin DP, Denton CP, Renzoni EA, Desai SR, Varga J. Etiology, Risk Factors, and Biomarkers in Systemic Sclerosis with Interstitial Lung Disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;201(6):650-60.
156. Johnson SR, Bernstein EJ, Bolster MB, Chung JH, Danoff SK, George MD, et al. 2023 American College of Rheumatology (ACR)/American College of Chest Physicians (CHEST) Guideline for the Screening and Monitoring of Interstitial Lung Disease in People with Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2024;76(8):1201-13.
157. Raghu G, Montesi SB, Silver RM, Hossain T, Macrea M, Herman D, et al. Treatment of Systemic Sclerosis-associated Interstitial Lung Disease: Evidence-based Recommendations. An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2024;209(2):137-52.
158. Hax V, Bredemeier M, Didonet Moro AL, Pavan TR, Vieira MV, Pitrez EH, et al. Clinical algorithms for the diagnosis and prognosis of interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2017;47(2):228-34.
159. Chaisson NF, Hassoun PM. Systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension. *Chest*. 2013;144(4):1346-56.
160. Giordano N, Corallo C, Chirico C, Brazzi A, Marinetti A, Fioravanti A, et al. Pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: Diagnosis and treatment according to the European Society of Cardiology and European Respiratory Society 2015 guidelines. *J Scleroderma Relat Disord*. 2019;4(1):35-42.
161. Naranjo M, Hassoun PM. Systemic Sclerosis-Associated Pulmonary Hypertension: Spectrum and Impact. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(5).
162. Maron BA, Abman SH, Elliott CG, Frantz RP, Hopper RK, Horn EM, et al. Pulmonary Arterial Hypertension: Diagnosis, Treatment, and Novel Advances. *Am J Respir Crit Care Med*. 2021;203(12):1472-87.
163. Humbert M, Kovacs G, Hoeper MM, Badagliacca R, Berger RMF, Brida M, et al. 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal*. 2022:2200879.

164. Lambova S. Cardiac manifestations in systemic sclerosis. *World J Cardiol.* 2014;6(9):993-1005.
165. Mavrogeni S, Koutsogeorgopoulou L, Karabela G, Stavropoulos E, Katsifis G, Raftakis J, et al. Silent myocarditis in systemic sclerosis detected by cardiovascular magnetic resonance using Lake Louise criteria. *BMC Cardiovascular Disorders.* 2017;17(1):187.
166. Nadel A, Nadel M, Taborska N, Stępień B, Gajdecki J, Brzezińska O, et al. Heart involvement in patients with systemic sclerosis—what have we learned about it in the last 5 years. *Rheumatology international.* 2024;44(10):1823-36.
167. Giucă A, Gegenava T, Mihai CM, Jurcuț C, Săftoiu A, Gîrniță DM, et al. Sclerodermic Cardiomyopathy—A State-of-the-Art Review. *Diagnostics.* 2022;12(3):669.
168. Bruni C, Ross L. Cardiac involvement in systemic sclerosis: Getting to the heart of the matter. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology.* 2021;35(3):101668.
169. Varga J, Lee DC. Getting to the heart of the matter: detecting and managing cardiac complications in systemic sclerosis. *Annals of the rheumatic diseases.* 2019;78(11):1452-3.
170. Lescoat A. Very Early Diagnosis of Systemic Sclerosis: Deciphering the heterogeneity of systemic sclerosis in the very early stages of the disease. *J Scleroderma Relat Disord.* 2023;8(1):3-6.
171. Bellando-Randone S, Del Galdo F, Lepri G, Minier T, Huscher D, Furst DE, et al. Progression of patients with Raynaud's phenomenon to systemic sclerosis: a five-year analysis of the European Scleroderma Trial and Research group multicentre, longitudinal registry study for Very Early Diagnosis of Systemic Sclerosis (VEDOSS). *Lancet Rheumatol.* 2021;3(12):e834-e43.
172. Hysa E, Pizzorni C, Sammorì S, Gotelli E, Cere A, Schenone C, et al. Microvascular damage in autoimmune connective tissue diseases: a capillaroscopic analysis from 20 years of experience in a EULAR training and research referral centre for imaging. *RMD Open.* 2023;9(3).
173. Rahaghi FF, Hsu VM, Kaner RJ, Mayes MD, Rosas IO, Saggarr R, et al. Expert consensus on the management of systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Respir Res.* 2023;24(1):6.

174. Denton CP, De Lorenzis E, Roblin E, Goldman N, Alcacer-Pitarch B, Blamont E, et al. The 2024 British Society for Rheumatology guideline for management of systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2024;63(11):2956-75.
175. Del Galdo F, Lescoat A, Conaghan PG, Bertoldo E, Čolić J, Santiago T, et al. EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: 2023 update. *Annals of the rheumatic diseases*. 2024:ard-2024-226430.
176. Corallo C, Cutolo M, Volpi N, Franci D, Aglianò M, Montella A, et al. Histopathological findings in systemic sclerosis-related myopathy: fibrosis and microangiopathy with lack of cellular inflammation. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*. 2017;9(1):3-10.
177. Siegert E, Uruha A, Goebel H-H, Preuße C, Casteleyn V, Kleefeld F, et al. Systemic sclerosis-associated myositis features minimal inflammation and characteristic capillary pathology. *Acta neuropathologica*. 2021;141(6):917-27.
178. Follansbee WP, Zerbe TR, Medsger TA, Jr. Cardiac and skeletal muscle disease in systemic sclerosis (scleroderma): a high risk association. *Am Heart J*. 1993;125(1):194-203.
179. Ranque B, Authier F-J, Le-Guern V, Pagnoux C, Berezne A, Allanore Y, et al. A descriptive and prognostic study of systemic sclerosis-associated myopathies. *Annals of the rheumatic diseases*. 2009;68(9):1474-7.
180. 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. *Scandinavian journal of rheumatology*. 2010;39(6):498-505.
181. Jung M, Bonner A, Hudson M, Baron M, Pope JE. Myopathy is a poor prognostic feature in systemic sclerosis: results from the Canadian Scleroderma Research Group (CSRG) cohort. *Scandinavian journal of rheumatology*. 2014;43(3):217-20.
182. Medsger TA, Jr., Rodnan GP, Moossy J, Vester JW. Skeletal muscle involvement in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis and rheumatism*. 1968;11(4):554-68.
183. Thompson JM, Bluestone R, Bywaters EG, Dorling J, Johnson M. Skeletal muscle involvement in systemic sclerosis. *Annals of the rheumatic diseases*. 1969;28(3):281-8.

184. Clements PJ, Furst DE, Campion DS, Bohan A, Harris R, Levy J, et al. Muscle disease in progressive systemic sclerosis: diagnostic and therapeutic considerations. *Arthritis and rheumatism*. 1978;21(1):62-71.
185. Hausmanowa-Petrusewicz I, Jabłońska S, Błaszczak M, Matz B. Electromyographic findings in various forms of progressive systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism*. 1982;25(1):61-5.
186. West SG, Killian PJ, Lawless OJ. Association of myositis and myocarditis in progressive systemic sclerosis. *Arthritis and rheumatism*. 1981;24(5):662-8.
187. Baumberger R, Jordan S, Distler O, Baschung Pfister P, Maurer B. Diagnostic measures for patients with systemic sclerosis-associated myopathy. *Clinical and experimental rheumatology*. 2021;39 Suppl 131(4):85-93.
188. Hietaharju A, Jääskeläinen S, Kalimo H, Hietarinta M. Peripheral neuromuscular manifestations in systemic sclerosis (scleroderma). *Muscle & nerve*. 1993;16(11):1204-12.
189. Mammen AL. Autoimmune myopathies: autoantibodies, phenotypes and pathogenesis. *Nat Rev Neurol*. 2011;7(6):343-54.
190. Meier FMP, Frommer KW, Dinser R, Walker UA, Czirjak L, Denton CP, et al. Update on the profile of the EUSTAR cohort: an analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research group database. *Annals of the rheumatic diseases*. 2012;71(8):1355-60.
191. Mimori T. Scleroderma-polymyositis overlap syndrome. Clinical and serologic aspects. *International journal of dermatology*. 1987;26(7):419-25.
192. Mimura Y, Ihn H, Jinnin M, Asano Y, Yamane K, Tamaki K. Clinical and laboratory features of scleroderma patients developing skeletal myopathy. *Clinical rheumatology*. 2005;24(2):99-102.
193. Russell ML, Hanna WM. Ultrastructure of muscle microvasculature in progressive systemic sclerosis: relation to clinical weakness. *The Journal of rheumatology*. 1983;10(5):741-7.
194. 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. *Annals of the rheumatic diseases*. 2007;66(6):754-63.

195. Tolédano C, Gain M, Kettaneh A, Baudin B, Johanet C, Chérin P, et al. Aldolase predicts subsequent myopathy occurrence in systemic sclerosis. *Arthritis research & therapy*. 2012;14(3):R152.
196. Schanz S, Henes J, Ulmer A, Kötter I, Fierlbeck G, Claussen CD, et al. Magnetic resonance imaging findings in patients with systemic scleroderma and musculoskeletal symptoms. *European radiology*. 2013;23(1):212-21.
197. Ross L, Lindqvist A, Costello B, Hansen D, Brown Z, Day JA, et al. Using magnetic resonance imaging to map the hidden burden of muscle involvement in systemic sclerosis. *Arthritis research & therapy*. 2022;24(1):84.
198. Zhou M, Jiang L, Nie L, Chen T, Zhang T, Sun W, et al. Myopathy is a Risk Factor for Poor Prognosis of Patients with Systemic Sclerosis: A retrospective cohort study. *Medicine*. 2020;99(33):e21734.
199. Muangchan C, Baron M, Pope J. The 15% rule in scleroderma: the frequency of severe organ complications in systemic sclerosis. A systematic review. *The Journal of rheumatology*. 2013;40(9):1545-56.
200. Giannini M, Ellezam B, Leclair V, Lefebvre F, Troyanov Y, Hudson M, et al. Scleromyositis: A distinct novel entity within the systemic sclerosis and autoimmune myositis spectrum. Implications for care and pathogenesis. *Frontiers in immunology*. 2022;13:974078.
201. Bhansing KJ, Lammens M, Knaapen HK, van Riel PL, van Engelen BG, Vonk MC. Scleroderma-polymyositis overlap syndrome versus idiopathic polymyositis and systemic sclerosis: a descriptive study on clinical features and myopathology. *Arthritis research & therapy*. 2014;16(3):R111.
202. Bhansing KJ, van Riel PL, van Engelen BGM, Fransen J, Vonk MC. Patients with Systemic Sclerosis/polymyositis Overlap Have a Worse Survival Rate Than Patients Without It. *The Journal of rheumatology*. 2016;43(10):1838-43.
203. Kerr LD, Spiera H. Myocarditis as a complication in scleroderma patients with myositis. *Clinical cardiology*. 1993;16(12):895-9.
204. Ranque B, Authier FJ, Berezne A, Guillevin L, Mouthon L. Systemic sclerosis-associated myopathy. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1108:268-82.
205. Suárez-Calvet X, Alonso-Pérez J, Castellví I, Carrasco-Rozas A, Fernández-Simón E, Zamora C, et al. Thrombospondin-1 mediates muscle damage in brachio-cervical

inflammatory myopathy and systemic sclerosis. *Neurology(R) neuroimmunology & neuroinflammation*. 2020;7(3).

206. Mahler M, Greidinger EL, Szmyrka M, Kromminga A, Fritzler MJ. Serological and clinical characterization of anti-dsDNA and anti-PM/Scl double-positive patients. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1109:311-21.

207. Belizna C, Henrion D, Beucher A, Lavigne C, Ghaali A, Lévesque H. Anti-Ku antibodies: Clinical, genetic and diagnostic insights. *Autoimmunity reviews*. 2010;9(10):691-4.

208. Rozman B, Cucnik S, Sodin-Semrl S, Czirják L, Varjú 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. *Annals of the rheumatic diseases*. 2008;67(9):1282-6.

209. 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 research & therapy*. 2011;13(5):R172.

210. Casal-Dominguez M, Pinal-Fernandez I, Corse AM, Paik J, Albayda J, Casciola-Rosen L, et al. Muscular and extramuscular features of myositis patients with anti-U1-RNP autoantibodies. *Neurology*. 2019;92(13):e1416-e26.

211. 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. *Arthritis & Rheumatology*. 2016;68(2):484-93.

212. Steen VD. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2005;35(1):35-42.

213. Cavazzana I, Fredi M, Taraborelli M, Quinzanini M, Tincani A, Franceschini F. A subset of systemic sclerosis but not of systemic lupus erythematosus is defined by isolated anti-Ku autoantibodies. *Clinical and experimental rheumatology*. 2013;31(2 Suppl 76):118-21.

214. 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. *The Journal of rheumatology*. 2002;29(7):1393-7.

215. Paik JJ, Wigley FM, Shah AA, Corse AM, Casciola-Rosen L, Hummers LK, et al. Association of Fibrosing Myopathy in Systemic Sclerosis and Higher Mortality. *Arthritis care & research*. 2017;69(11):1764-70.
216. Kaji K, Fertig N, Medsger TA, Jr., Satoh T, Hoshino K, Hamaguchi Y, et al. Autoantibodies to RuvBL1 and RuvBL2: a novel systemic sclerosis-related antibody associated with diffuse cutaneous and skeletal muscle involvement. *Arthritis care & research*. 2014;66(4):575-84.
217. Aggarwal R, Lucas M, Fertig N, Oddis CV, Medsger Jr. TA. Anti-U3 RNP autoantibodies in systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism*. 2009;60(4):1112-8.
218. Vulsteke JB, Piette Y, Bonroy C, Verschueren P, Blockmans D, Vanderschueren S, et al. Anti-RuvBL1/2 autoantibodies in patients with systemic sclerosis or idiopathic inflammatory myopathy and a nuclear speckled pattern. *Annals of the rheumatic diseases*. 2022;81(5):742-4.
219. Landon-Cardinal O, Baril-Dionne A, Hoa S, Meyer A, Leclair V, Bourré-Tessier J, et al. Recognising the spectrum of scleromyositis: HEp-2 ANA patterns allow identification of a novel clinical subset with anti-SMN autoantibodies. *RMD Open*. 2020;6(2).
220. Leclair V, D'Aoust J, Gyger G, Landon-Cardinal O, Meyer A, O'Ferrall E, et al. Autoantibody profiles delineate distinct subsets of scleromyositis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2022;61(3):1148-57.
221. Wermuth PJ, Jimenez SA. Molecular characteristics and functional differences of anti-PM/Scl autoantibodies and two other distinct and unique supramolecular structures known as "EXOSOMES". *Autoimmunity reviews*. 2020;19(10):102644.
222. Lazzaroni MG, Marasco E, Campochiaro C, DeVries-Bouwstra J, Gonzalez-Perez MI, Rojas-Serrano J, et al. The clinical phenotype of systemic sclerosis patients with anti-PM/Scl antibodies: results from the EUSTAR cohort. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2021;60(11):5028-41.
223. De Lorenzo R, Pinal-Fernandez I, Huang W, Albayda J, Tiniakou E, Johnson C, et al. Muscular and extramuscular clinical features of patients with anti-PM/Scl autoantibodies. *Neurology*. 2018;90(23):e2068-e76.

224. Paik JJ, Wigley FM, Lloyd TE, Corse AM, Casciola-Rosen L, Shah AA, et al. Spectrum of Muscle Histopathologic Findings in Forty-Two Scleroderma Patients With Weakness. *Arthritis care & research*. 2015;67(10):1416-25.
225. Yamane K, Ihn H, Kubo M, Kuwana M, Asano Y, Yazawa N, et al. Anti-U1RNP antibodies in patients with localized scleroderma. *Arch Dermatol Res*. 2001;293(9):455-9.
226. Hoa S, Hudson M, Troyanov Y, Proudman S, Walker J, Stevens W, et al. Single-specificity anti-Ku antibodies in an international cohort of 2140 systemic sclerosis subjects: clinical associations. *Medicine*. 2016;95(35):e4713.
227. Lefebvre F, Giannini M, Ellezam B, Leclair V, Troyanov Y, Hoa S, et al. Histopathological features of systemic sclerosis-associated myopathy: A scoping review. *Autoimmunity reviews*. 2021;20(7):102851.
228. Steen V, Domsic RT, Lucas M, Fertig N, Medsger TA, Jr. A clinical and serologic comparison of African American and Caucasian patients with systemic sclerosis. *Arthritis and rheumatism*. 2012;64(9):2986-94.
229. El Kamouni H, D SJ, Albert A, Hoa S, Vo C, Bourré-Tessier J, et al. Anti-SMN autoantibodies in mixed connective tissue disease are associated with a severe systemic sclerosis phenotype. *RMD Open*. 2023;9(4).
230. Chaigne B, Léonard-Louis S, Mouthon L. Systemic sclerosis associated myopathy. *Autoimmunity reviews*. 2023;22(2):103261.
231. Lundberg IE, Fujimoto M, Vencovsky J, Aggarwal R, Holmqvist M, Christopher-Stine L, et al. Idiopathic inflammatory myopathies. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7(1):86.
232. Kastrati K, Nakhost Lotfi N, Tawfik MG, Gelpi E, Hametner S, Höftberger R, et al. Impact of muscle biopsy on the clinical decision-making process in patients with suspected idiopathic inflammatory myopathy. *Journal of autoimmunity*. 2024;144:103185.
233. Lundberg IE, Tjärnlund A, Bottai M, Werth VP, Pilkington C, Visser M, et al. 2017 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies and their major subgroups. *Annals of the rheumatic diseases*. 2017;76(12):1955-64.
234. Fairley JL, Hansen D, Day J, Proudman S, Sahhar J, Ngian G-S, et al. Proximal weakness and creatine kinase elevation in systemic sclerosis: Clinical correlates,

- prognosis and functional implications. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2024;65:152363.
235. Wangkaew S, Intum J, Prasertwittayakij N, Euathrongchit J. Elevated baseline serum creatine kinase in Thai early systemic sclerosis patients is associated with high incidence of cardiopulmonary complications and poor survival: an inception cohort study. *Clinical rheumatology*. 2022;41(10):3055-63.
236. Hoekstra EM, Liem SI, Ahmed S, Levarht N, Fehres CM, Giuca A, et al. Troponin I levels in systemic sclerosis patients with myocardial involvement. *Journal of Scleroderma and Related Disorders*. 2024;9(3):185-91.
237. Hughes M, Lilleker JB, Herrick AL, Chinoy H. Cardiac troponin testing in idiopathic inflammatory myopathies and systemic sclerosis-spectrum disorders: biomarkers to distinguish between primary cardiac involvement and low-grade skeletal muscle disease activity. *Annals of the rheumatic diseases*. 2015;74(5):795-8.
238. Soontrapa P, Shahar S, Eauchai L, Ernste FC, Liewluck T. Disease spectrum of myopathies with elevated aldolase and normal creatine kinase. *Eur J Neurol*. 2024;31(2):e16117.
239. Benveniste O, Goebel HH, Stenzel W. Biomarkers in Inflammatory Myopathies- An Expanded Definition. *Front Neurol*. 2019;10:554.
240. Iaccarino L, Pegoraro E, Bello L, Bettio S, Borella E, Nalotto L, et al. Assessment of patients with idiopathic inflammatory myopathies and isolated creatin-kinase elevation. *Autoimmunity Highlights*. 2014;5(3):87-94.
241. Dalakas MC. Inflammatory Muscle Diseases. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(18):1734-47.
242. Dalakas MC. Polymyositis, dermatomyositis and inclusion-body myositis. *The New England journal of medicine*. 1991;325(21):1487-98.
243. Dalakas MC, Hohlfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet (London, England)*. 2003;362(9388):971-82.
244. Dalakas MC. Review: An update on inflammatory and autoimmune myopathies. *Neuropathology and applied neurobiology*. 2011;37(3):226-42.
245. Luo YB, Mastaglia FL. Dermatomyositis, polymyositis and immune-mediated necrotising myopathies. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1852(4):622-32.

246. Dalakas MC. Inflammatory myopathies: update on diagnosis, pathogenesis and therapies, and COVID-19-related implications. *Acta Myol.* 2020;39(4):289-301.
247. Ringel RA, Brick JE, Brick JF, Gutmann L, Riggs JE. Muscle involvement in the scleroderma syndromes. *Archives of internal medicine.* 1990;150(12):2550-2.
248. Matas-García A, Guillén-Del-Castillo A, Kisluk B, Selva-O'Callaghan A, Espinosa G, Prieto-González S, et al. Clinico-pathological phenotypes of systemic sclerosis-associated myopathy: analysis of a large multicentre cohort. *Rheumatology (Oxford, England).* 2023;62(Si):Si82-si90.
249. Ellezam B, Leclair V, Troyanov Y, Bersali I, Giannini M, Hoa S, et al. Capillary pathology with prominent basement membrane reduplication is the hallmark histopathological feature of scleromyositis. *Neuropathology and applied neurobiology.* 2022;48(7):e12840.
250. Maurer B, Walker UA. Role of MRI in Diagnosis and Management of Idiopathic Inflammatory Myopathies. *Current Rheumatology Reports.* 2015;17(11):67.
251. Rilland EDZv, Yao L, Stevens KJ, Chung LS, Fiorentino DF, Boutin RD. Myositis and Its Mimics: Guideline Updates, MRI Characteristics, and New Horizons. *American Journal of Roentgenology.* 2024;223(2):e2431359.
252. Lassche S, Janssen BH, T IJ, Fütterer JJ, Voermans NC, Heerschap A, et al. MRI-Guided Biopsy as a Tool for Diagnosis and Research of Muscle Disorders. *J Neuromuscul Dis.* 2018;5(3):315-9.
253. Hoogendijk JE, Amato AA, Lecky BR, Choy EH, Lundberg IE, Rose MR, et al. 119th ENMC international workshop: trial design in adult idiopathic inflammatory myopathies, with the exception of inclusion body myositis, 10-12 October 2003, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscular disorders : NMD.* 2004;14(5):337-45.
254. Benveniste O, Rider LG. 213th ENMC International Workshop: Outcome measures and clinical trial readiness in idiopathic inflammatory myopathies, Heemskerk, The Netherlands, 18-20 September 2015. *Neuromuscular disorders : NMD.* 2016;26(8):523-34.
255. Fleischmajer R, Perlish JS. Capillary alterations in scleroderma. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 1980;2(2):161-70.
256. Ellezam B, Leclair V, Troyanov Y, Meyer A, Hudson M, Landon-Cardinal O. Capillary basement membrane reduplication in myositis patients with mild clinical

- features of systemic sclerosis supports the concept of 'scleromyositis'. *Acta neuropathologica*. 2021;142(2):395-7.
257. Gouellec NL, Zaidan L, Chaigne B, Periou B, Cailliau E, Dhote R, et al. Muscle involvement in systemic sclerosis: high mortality not associated with nature of histological lesions. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2024.
258. Oldroyd AGS, Lilleker JB, Amin T, Aragon O, Bechman K, Cuthbert V, et al. British Society for Rheumatology guideline on management of paediatric, adolescent and adult patients with idiopathic inflammatory myopathy. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2022;61(5):1760-8.
259. Moghadam-Kia S, Aggarwal R, Oddis CV. Treatment of inflammatory myopathy: emerging therapies and therapeutic targets. *Expert Rev Clin Immunol*. 2015;11(11):1265-75.
260. Trang G, Steele R, Baron M, Hudson M. Corticosteroids and the risk of scleroderma renal crisis: a systematic review. *Rheumatology international*. 2012;32(3):645-53.
261. Meyer A, Scirè CA, Talarico R, Alexander T, Amoura Z, Avcin T, et al. Idiopathic inflammatory myopathies: state of the art on clinical practice guidelines. *RMD Open*. 2019;4(Suppl 1):e000784.
262. Tandaipan J, Guillén-Del-Castillo A, Simeón-Aznar CP, Carreira PE, De la Puente C, Narváez J, et al. Immunoglobulins in systemic sclerosis management. A large multicenter experience. *Autoimmunity reviews*. 2023;22(11):103441.
263. Paganoni S, Amato A. Electrodiagnostic evaluation of myopathies. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2013;24(1):193-207.
264. Fournier E, Tabti N. Clinical electrophysiology of muscle diseases and episodic muscle disorders. *Handb Clin Neurol*. 2019;161:269-80.
265. Pugdahl K, Johnsen B, Tankisi H, Camdessanché JP, de Carvalho M, Fawcett PRW, et al. Added value of electromyography in the diagnosis of myopathy: A consensus exercise. *Clinical Neurophysiology*. 2017;128(5):697-701.
266. Day J, Patel S, Limaye V. The role of magnetic resonance imaging techniques in evaluation and management of the idiopathic inflammatory myopathies. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2017;46(5):642-9.

267. Essouma M, de Araujo DB, Day J, Conticini E, Riopel MA, Elias AM, et al. A protocol for scoping reviews on the role of whole-body and dedicated body-part magnetic resonance imaging for assessment of adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Rheumatology international*. 2024;44(11):2403-9.
268. de Visser M, Carlier P, Vencovský J, Kubínová K, Preusse C, Albayda J, et al. 255th ENMC workshop: Muscle imaging in idiopathic inflammatory myopathies. 15th January, 16th January and 22nd January 2021 – virtual meeting and hybrid meeting on 9th and 19th September 2022 in Hoofddorp, The Netherlands. *Neuromuscular Disorders*. 2023;33(10):800-16.
269. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome. A consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts. 2017;76(1):9-16.
270. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2019;71(9):1400-12.
271. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis and rheumatism*. 2010;62(9):2569-81.
272. Mammen AL, Allenbach Y, Stenzel W, Benveniste O. 239th ENMC International Workshop: Classification of dermatomyositis, Amsterdam, the Netherlands, 14-16 December 2018. *Neuromuscular disorders : NMD*. 2020;30(1):70-92.
273. Allenbach Y, Mammen AL, Benveniste O, Stenzel W, Allenbach Y, Amato A, et al. 224th ENMC International Workshop:: Clinico-sero-pathological classification of immune-mediated necrotizing myopathies Zandvoort, The Netherlands, 14-16 October 2016. *Neuromuscular Disorders*. 2018;28(1):87-99.
274. Nihtyanova SI, Brough GM, Black CM, Denton CP. Mycophenolate mofetil in diffuse cutaneous systemic sclerosis--a retrospective analysis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2007;46(3):442-5.

275. Kamperman RG, van der Kooi AJ, de Visser M, Aronica E, Raaphorst J. Pathophysiological Mechanisms and Treatment of Dermatomyositis and Immune Mediated Necrotizing Myopathies: A Focused Review. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(8).
276. Scarpelli M, Montironi R, Tulli D, Sisti S, Matera G, Magi Galluzzi C, et al. Quantitative analysis of quadriceps muscle biopsy in systemic sclerosis. *Pathology, research and practice*. 1992;188(4-5):603-6.
277. Bratoiu I, Burlui AM, Cardoneanu A, Macovei LA, Richter P, Rusu-Zota G, et al. The Involvement of Smooth Muscle, Striated Muscle, and the Myocardium in Scleroderma: A Review. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(19).
278. Milisenda JC, Pinal-Fernandez I, Lloyd TE, Grau-Junyent JM, Christopher-Stine L, Corse AM, et al. The pattern of MHC class I expression in muscle biopsies from patients with myositis and other neuromuscular disorders. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2023;62(9):3156-60.
279. Dalakas MC. Autoimmune inflammatory myopathies. *Handb Clin Neurol*. 2023;195:425-60.
280. Aouizerate J, De Antonio M, Bassez G, Gherardi RK, Berenbaum F, Guillevin L, et al. Myofiber HLA-DR expression is a distinctive biomarker for antisynthetase-associated myopathy. *Acta Neuropathol Commun*. 2014;2:154.
281. Nelke C, Kleefeld F, Preusse C, Ruck T, Stenzel W. Inclusion body myositis and associated diseases: an argument for shared immune pathologies. *Acta Neuropathol Commun*. 2022;10(1):84.
282. Tanboon J, Inoue M, Hirakawa S, Tachimori H, Hayashi S, Noguchi S, et al. Muscle pathology of antisynthetase syndrome according to antibody subtypes. *Brain Pathol*. 2023;33(4):e13155.
283. Maehara T, Kaneko N, Perugino CA, Mattoo H, Kers J, Allard-Chamard H, et al. Cytotoxic CD4+ T lymphocytes may induce endothelial cell apoptosis in systemic sclerosis. *The Journal of clinical investigation*. 2020;130(5):2451-64.
284. Paul S, Kaplan MH, Khanna D, McCourt PM, Saha AK, Tsou PS, et al. Centromere defects, chromosome instability, and cGAS-STING activation in systemic sclerosis. *Nature communications*. 2022;13(1):7074.

285. Puxeddu I, Bongiorni F, Chimenti D, Bombardieri S, Moretta A, Bottino C, et al. Cell surface expression of activating receptors and co-receptors on peripheral blood NK cells in systemic autoimmune diseases. *Scandinavian journal of rheumatology*. 2012;41(4):298-304.
286. Cossu M, van Bon L, Nierkens S, Bellocchi C, Santaniello A, Dolstra H, et al. The magnitude of cytokine production by stimulated CD56(+) cells is associated with early stages of systemic sclerosis. *Clin Immunol*. 2016;173:76-80.
287. Liu C, Zhou X, Lu J, Zhu L, Li M. Autophagy mediates 2-methoxyestradiol-inhibited scleroderma collagen synthesis and endothelial-to-mesenchymal transition induced by hypoxia. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2019;58(11):1966-75.
288. Romano E, Rosa I, Fioretto BS, Matucci-Cerinic M, Manetti M. New Insights into Profibrotic Myofibroblast Formation in Systemic Sclerosis: When the Vascular Wall Becomes the Enemy. *Life*. 2021;11(7):610.
289. Patnaik E, Lyons M, Tran K, Pattanaik D. Endothelial Dysfunction in Systemic Sclerosis. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(18).
290. Khoo T, Lilleker JB, Thong BY-H, Leclair V, Lamb JA, Chinoy H. Reply to: Current classification criteria underestimate the incidence of idiopathic inflammatory myopathies by ignoring subgroups. *Nature Reviews Rheumatology*. 2024;20(5):313-4.
291. Ma X, Bu BT. Anti-SRP immune-mediated necrotizing myopathy: A critical review of current concepts. *Frontiers in immunology*. 2022;13:1019972.

10. ANEXOS

10. ANEXOS

10.1 Criterios Clasificatorios ACR/EULAR para la Esclerodermia 2013

ÍTEM	SUB-ÍTEM	PUNTOS
Induración cutánea de los dedos de ambas manos que se extiende a región proximal de MCF.		9
Endurecimiento de la piel de los dedos	Dedos edematosos	2
	Esclerodactilia	4
Lesiones en pulpejos de dedos	Úlceras digitales	2
	Cicatrices puntiformes en pulpejos	3
Telangiectasia		2
Alteraciones en la capilaroscopia periungueal		2
Hipertensión Arterial Pulmonar y/o Enfermedad Pulmonar Intersticial Difusa		2
Autoanticuerpos	Anti-centrómero Anti-topoisomerasa-I Anti-ARN polimerasa III	3

Una puntuación igual o mayor de 9 se pueden catalogar como pacientes con esclerodermia definida.

ARN: ácido ribonucleico; MCF: articulaciones metacarpofalángicas.

Ann Rheum Dis. 2013 Nov;72(11):1747-55.

10.2 Autoanticuerpos presentes en la Esclerodermia

Anticuerpo	Patrón ANA/ Código	Prevalencia	Subtipo cutáneo	Fenotipo clínico
Anti-Centrómero	Patrón Centromérico AC-3	15-40%	Limitada	HAP, UD, GI
Anti- Topoisomerasa I	Patrón DNA- Polimerasa I (topo I)-like AC-29	10-40%	Difusa	EPI grave, UD
Anti-ARN polimerasa III	Patrón Moteado grueso AC-5	4-25%	Difusa	CRE, fricciones tendinosas, neoplasias
Anti-U1RNP	Patrón Moteado grueso AC-5	5-35%	Limitada	Miositis, Sinovitis, HAP
Anti-Pm/Scl	Patrón Nucleolar Homogéneo AC-8	3-6%	Limitada	Miositis, EPI
Anti-U3RNP	Patrón Nucleolar Grumoso AC-9	1-5%	Difusa	EPI, HAP, CRE
Anti-Th/To	Patrón Nucleolar Homogéneo AC-8	1-7%	Limitada	HAP, EPI
Anti-Ku	Patrón Moteado Fino AC-4	1-3%	Limitada	Miositis, sinovitis, EPI

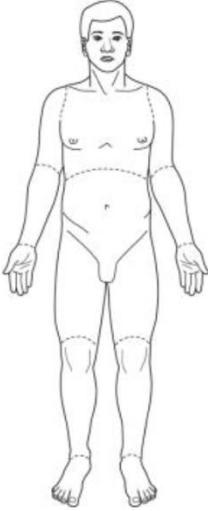
AC: autoanticuerpo; ADN: Ácido desoxirribonucleico; ARN: ácido ribonucleico; CRE: crisis renal esclerodérmica; EPI: enfermedad pulmonar intersticial, GI: gastrointestinal, UD: úlceras digitales.

10.3 Índice modificado de Rodnan

Modified Rodnan Skin Score (MRSS) Document

Subject ID: _____

Date of Examination: _____

	Right				Left				
	Fingers	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>
	Hands	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>
	Forearms	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>
	Upper Arms	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>
	Face	0 <input type="checkbox"/>		1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>			
	Anterior Chest	0 <input type="checkbox"/>		1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>			
	Abdomen	0 <input type="checkbox"/>		1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>			
	Thighs	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>
	Legs	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>
	Feet	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>
	Column Totals								
	Total:								
	Key: 0 – No Thickening 1 – Mild Thickening 2 – Moderate Thickening 3 – Severe Thickening								
Notes:									

Examiner:

Printed Name: _____

Signature: _____ Date: _____

Khanna D, Furst DE, Clements PJ, Allanore Y, Baron M, Czirjak L, Distler O, Foeldvari I, Kuwana M, Matucci-Cerinic M, Mayes M, Medsger T Jr, Merkel PA, Pope JE, Seibold JR, Steen V, Stevens W, Denton CP. Standardization of the modified Rodnan skin score for use in clinical trials of systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord.* 2017 Jan-Apr;2(1):11-18. doi: 10.5301/jsrd.5000231. PMID: 28516167; PMCID: PMC5431585.

10.4 Recomendaciones EULAR 2023 para el tratamiento de la Esclerodermia

Systemic sclerosis							
Raynaud's phenomenon	Digital ulcers	Pulmonary arterial hypertension	Musculo-skeletal	Skin fibrosis	Interstitial lung disease	Gastro-intestinal	Renal crisis
CCB PDE5i ILOPROST	PDE5i BOSENTAN ILOPROST	PDE5i ERAs ILOPROST		RITUX MTX	RITUX MMF CYC NINTEDANIB		
		RIOCIGUAT SELEXIPAG		MMF	TCZ	PPI	NO ACE INHIBITORS for prevention
		NO WARFARIN		TCZ		PROKINETICS	ACE INHIBITORS
			MTX			ANTIBIOTICS	

Schematic representation of the eight clinical domains covered by the 2023 recommendations. Note that severe prognosis is not represented. The different shades of green boxes labelled A–D represent the Strength of the Recommendation (SoR) as shown in the relative column of table. Dotted lines connect same drug or drug class across distinct clinical domains. CCB, calcium channel blocker; CYC, cyclophosphamide; ERAs, endothelin receptor antagonists; MMF, mycophenolate mofetil; MTX, methotrexate; PDE5i, phosphodiesterase five inhibitors; PPI, proton pump inhibitors; RITUX, rituximab; TCZ, tocilizumab.

Del Galdo F, Lescoat A, Conaghan PG, et al EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: 2023 update *Annals of the Rheumatic Diseases* Published Online First: 11 October 2024. doi: 10.1136/ard-2024-226430. Permission obtained from European Alliance of Associations for Rheumatology, EULAR 2024. Published by BMJ on behalf of EULAR.

10.5 Criterios Clasificatorios ACR/EULAR para las MII 2017

Característica/ síntoma o signo	Descripción	Puntuación	
		Con biopsia	Sin biopsia
Edad de inicio de los síntomas	≥18 años y <40 años	1,5	1,3
	≥40 años	2,2	2,1
Debilidad muscular	– Debilidad de los músculos proximales de los miembros superiores (simétrica, normalmente progresiva) ^a	0,7	0,7
	– Debilidad de los músculos proximales de los miembros inferiores (simétrica, normalmente progresiva) ^a	0,5	0,8
	– Los músculos flexores del cuello son relativamente más débiles que los extensores ^a	1,6	1,9
	– Los músculos proximales de los miembros inferiores son relativamente más débiles que los distales ^a	1,2	1,9
Signos cutáneos	– Eritema en heliotropo ^b	3,2	3,1
	– Pápulas de Gottron ^c	2,7	2,1
	– Signo de Gottron ^d	3,7	3,3
Otros síntomas y signos clínicos	Trastornos de la deglución o de la motilidad esofágica	0,6	0,7
Pruebas de laboratorio	– Anticuerpos anti-Jo-1 (resultado positivo de una prueba realizada con un método estandarizado y aceptado)	3,8	3,9
	– Aumento de la actividad sérica de CK, AST, ALT, LDH (el valor más alto en el transcurso de la enfermedad)	1,4	1,3
Biopsia muscular	– Infiltrados de células mononucleares en el epimisio que rodean las fibras musculares, sin penetrarlas	1,7	–
	– Infiltrados de células mononucleares en el perimisio y/o fascículos vasculares (en el perimisio o epimisio)	1,2	–
	– Atrofia perifascicular (las células que aparecen dispuestas en varias filas alrededor de los fascículos vasculares y nerviosos son visiblemente más pequeñas que las células de ubicación más central)	1,2	–
	– Vacuolas ribeteadas (se tiñen de azul en tinción hematoxilina-eosina y de rojo en tinción de Gomori modificada)	3,1	–

^a En el examen físico o a través de otra medición.

^b Eritema alrededor de los ojos de color violáceo, a veces con edema palpebral.

^c Pápulas eritematosas o violáceas, hiperqueratósicas, localizadas en la superficie extensora de las articulaciones, más frecuentemente interfalángicas y metacarpofalángicas; también pueden presentarse en muñecas, codos, rodillas y tobillos.

^d Manchas eritematosas o violáceas en la misma localización que las pápulas.

Nota: los criterios de clasificación pueden utilizarse cuando no hay otra causa que explique la sintomatología. El diagnóstico se considera seguro (probabilidad de ≥90 %) si el resultado es de ≥8,7 con biopsia o de ≥7,5 sin biopsia y es probable (≥55 %) cuando el resultado es de, respectivamente, ≥6,7 y ≥5,5.

ALT: alanina-aminotransferasa; AST aspartato-aminotransferasa, CK: creatina-cinasa, LDH: lactato deshidrogenasa

A partir de: *Arthritis Rheum.*, 2017, 69: 2271-2282; modificado

10.6 Criterios clasificatorios ACR/EULAR 2016 para el Síndrome de Sjögren

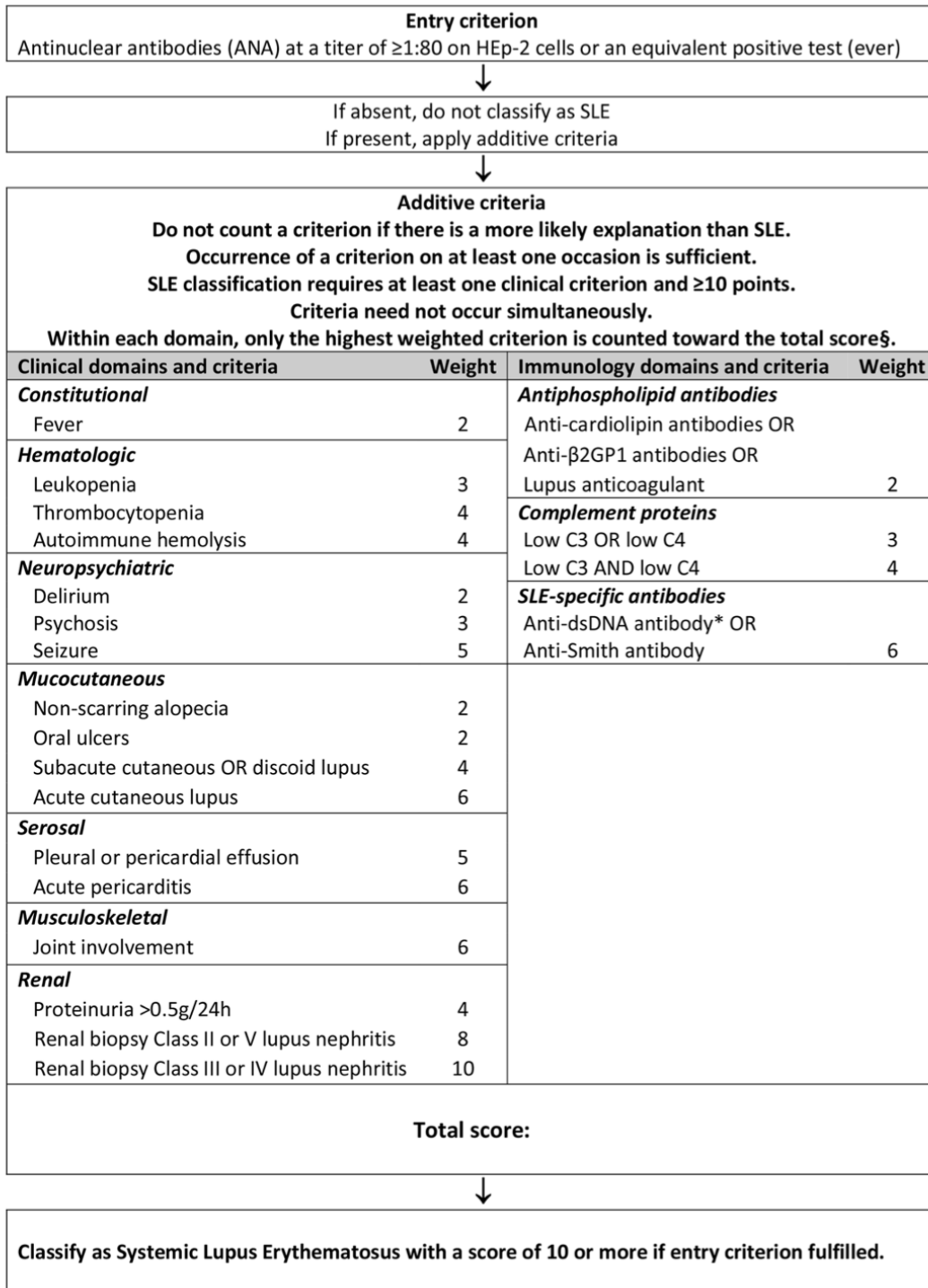
Item	MCDA*	Logistic†	Modified‡
Labial salivary gland with focal lymphocytic sialadenitis and focus score of ≥ 1 foci/4 mm ²	0.22	3	3
Anti-SSA/SSB (anti-Ro/La) positive	0.21	3‡	3‡
OSS ≥ 5	0.15	1	1
Schirmer's test ≤ 5 mm/5 minutes	0.12	1	1
UWS ≤ 0.1 ml/minute	0.12	0.5	1
Oral symptoms	0.09	–	–
Ocular symptoms	0.09	–	–
Total	1	8.5	9

* The multi-criteria decision analysis (MCDA) weights were based on the pairwise ranking of alternatives.

† The logistic and modified weights resulted from the clinician-expert rating of the development vignettes randomly selected from among the 3-cohort data set. The modified version of the logistic score assigned equal weights to the Ocular Staining Score (OSS), Schirmer's test, and unstimulated whole saliva flow rate (UWS) items.

‡ Based on anti-SSA/Ro only.

10.7 Criterios clasificatorios ACR/EULAR 2019 para el Lupus Eritematoso Sistémico



10.8 Criterios clasificatorios ACR/EULAR 2010 para la Artritis Reumatoide

	Score
Target population (Who should be tested?): Patients who	
1) have at least 1 joint with definite clinical synovitis (swelling)*	
2) with the synovitis not better explained by another disease†	
Classification criteria for RA (score-based algorithm: add score of categories A–D; a score of $\geq 6/10$ is needed for classification of a patient as having definite RA)‡	
A. Joint involvement§	
1 large joint¶	0
2–10 large joints	1
1–3 small joints (with or without involvement of large joints)#	2
4–10 small joints (with or without involvement of large joints)	3
>10 joints (at least 1 small joint)**	5
B. Serology (at least 1 test result is needed for classification)††	
Negative RF <i>and</i> negative ACPA	0
Low-positive RF <i>or</i> low-positive ACPA	2
High-positive RF <i>or</i> high-positive ACPA	3
C. Acute-phase reactants (at least 1 test result is needed for classification)‡‡	
Normal CRP <i>and</i> normal ESR	0
Abnormal CRP <i>or</i> abnormal ESR	1
D. Duration of symptoms§§	
<6 weeks	0
≥ 6 weeks	1

* The criteria are aimed at classification of newly presenting patients. In addition, patients with erosive disease typical of rheumatoid arthritis (RA) with a history compatible with prior fulfillment of the 2010 criteria should be classified as having RA. Patients with longstanding disease, including those whose disease is inactive (with or without treatment) who, based on retrospectively available data, have previously fulfilled the 2010 criteria should be classified as having RA.

† Differential diagnoses vary among patients with different presentations, but may include conditions such as systemic lupus erythematosus, psoriatic arthritis, and gout. If it is unclear about the relevant differential diagnoses to consider, an expert rheumatologist should be consulted.

‡ Although patients with a score of $< 6/10$ are not classifiable as having RA, their status can be reassessed and the criteria might be fulfilled cumulatively over time.

§ Joint involvement refers to any *swollen* or *tender* joint on examination, which may be confirmed by imaging evidence of synovitis. Distal interphalangeal joints, first carpometacarpal joints, and first metatarsophalangeal joints are *excluded from assessment*. Categories of joint distribution are classified according to the location and number of involved joints, with placement into the highest category possible based on the pattern of joint involvement.

¶ “Large joints” refers to shoulders, elbows, hips, knees, and ankles.

“Small joints” refers to the metacarpophalangeal joints, proximal interphalangeal joints, second through fifth metatarsophalangeal joints, thumb interphalangeal joints, and wrists.

** In this category, at least 1 of the involved joints must be a small joint; the other joints can include any combination of large and additional small joints, as well as other joints not specifically listed elsewhere (e.g., temporomandibular, acromioclavicular, sternoclavicular, etc.).

†† Negative refers to IU values that are less than or equal to the upper limit of normal (ULN) for the laboratory and assay; low-positive refers to IU values that are higher than the ULN but ≤ 3 times the ULN for the laboratory and assay; high-positive refers to IU values that are > 3 times the ULN for the laboratory and assay. Where rheumatoid factor (RF) information is only available as positive or negative, a positive result should be scored as low-positive for RF. ACPA = anti-citrullinated protein antibody.

‡‡ Normal/abnormal is determined by local laboratory standards. CRP = C-reactive protein; ESR = erythrocyte sedimentation rate.

§§ Duration of symptoms refers to patient self-report of the duration of signs or symptoms of synovitis (e.g., pain, swelling, tenderness) of joints that are clinically involved at the time of assessment, regardless of treatment status.

10.9 Anexo 5. Hoja de Recogida de muestras

N° Biopsia:

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS ESTUDIO MIOPATIA INFLAMATORIA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS SISTÉMIA v.01 - Guadalupe Alvarez

Fecha de RECOGIDA:
Observador: 1. 2. 3

Músculo:

- Cuádriceps
- Tríceps
- Otro: _____

Lado:

- Derecho
- Izquierdo

EVALUACIÓN ANATOMO-PATOLÓGICA

HEMATOXILINA-EOSINA

Arquitectura general del músculo: conservada / no conservada

Tamaño de las fibras:

- Normales
- Hipertróficas
- Atróficas:
 - Aisladas
 - Grupo
 - ~~Perifascicular~~
 - ~~Intrafascicular~~
- Fibras anguladas
- Variabilidad: <10 // > 10

Núcleos:

- Normales: SI / NO

Aspecto general de la fibra:

- Normal
- Necrosis
- Fagocitosis
- ~~Splitting~~

TRICRÓMICO DE GOMORI

- Tejido conectivo:
 - Normal
 - Aumentado: endomisio o perimisio, ambos
- Vacuolas SI // NO
- ~~Rimmed Vacuoles~~ SI // NO
- Agregados tubulares
- Fibras rojo rotas
- ~~Rods~~
- Cuerpos citoplásmicos
- Depósitos subsarcolémicos

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

ESTUDIO MIOPATIA INFLAMATORIA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS SISTÉMICA

v.01 - Canvi codi document

ESTUDIO DE INFLAMACIÓN

MHC DE CLASE I

- Normal SI // NO
- Localización: Parcheado // Difuso
- Refuerzo perifascicular: SI // NO

DR (MHC DE CLASE II)

- Normal SI // NO
- Localización: Parcheado // Difuso
- Refuerzo perifascicular: SI // NO

MAC (COMPLEMENTO C5b-9)

- Normal SI // NO
- Depósitos
 - En vasos
 - Intracitoplasmáticos
 - En la membrana

NCAM (LEU-19 / CD56)

- Normal SI // NO
- Expresión
 - Fibras aisladas
 - Grupos de fibras

LINFOCITOS T CD4

- Normal SI // NO
- Presencia:
 - Aislados < 10
 - Abundantes 10- 50
 - Muy abundantes > 50
- Localización:
 - Perivascular
 - ~~Perimisial~~
 - ~~Endomisial~~
 - Infiltrando la fascia
 - ~~Endoneural~~
 - En granuloma
 - Infiltrando la fibra muscular

LINFOCITOS T CD8

- Normal SI // NO
- Presencia:
 - Aislados < 10
 - Abundantes 10- 50
 - Muy abundantes > 50
- Localización:
 - Perivascular
 - ~~Perimisial~~
 - ~~Endomisial~~
 - Infiltrando la fascia
 - ~~Endoneural~~
 - En granuloma
 - Infiltrando la fibra muscular

LINFOCITOS B (CD20)

- Normal SI // NO
- Presencia:
 - Aislados < 10
 - Abundantes 10- 50
 - Muy abundantes > 50
- Localización:
 - Perivascular
 - ~~Perimisial~~
 - ~~Endomisial~~
 - Infiltrando la fascia
 - ~~Endoneural~~
 - En granuloma
 - Infiltrando la fibra muscular

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS
ESTUDIO MIOPATIA INFLAMATORIA EN PACIENTES
CON ESCLEROSIS SISTÉMICA
v.01 - ~~Confidencial~~

MACRÓFAGOS (CD68)

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">· Normal SI // NO· Presencia:<ul style="list-style-type: none">· Aislados < 10· <u>Abundantes</u> 10- 50· Muy abundantes > 50 M | <ul style="list-style-type: none">· Localización:<ul style="list-style-type: none">· Perivascular· Perimisial· Endomisial· Infiltrando la fibra muscular· Infiltrando la fascia· Endoneural· En granuloma |
|--|--|

|

CÉLULAS PLASMÁTICAS (CD138)

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">· Normal SI // NO· Presencia:<ul style="list-style-type: none">· Aislados < 10· <u>Abundantes</u> 10- 50· Muy abundantes > 50 | <ul style="list-style-type: none">· Localización:<ul style="list-style-type: none">· Perivascular· Perimisial· Endomisial· Infiltrando la fibra muscular· Infiltrando la fascia· Endoneural· En granuloma |
|--|--|

P62(IBM)

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none">· Normal SI // NO | <ul style="list-style-type: none">· Localización:<ul style="list-style-type: none">· Centro de la fibra· Subsarcolémica· Nuclear |
|---|---|

MXA (RESPUESTA INTERFERÓN TIPO 1)

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">· Normal SI // NO | <ul style="list-style-type: none">· Localización:<ul style="list-style-type: none">· Perimisial· Endomisial |
|---|--|

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS
ESTUDIO MIOPATIA INFLAMATORIA EN PACIENTES
CON ESCLEROSIS SISTÉMICA
v.01 - ~~Casos codi document~~


PDGFR-A

- | | | |
|---|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">· Normal SI // NO· Presencia:<ul style="list-style-type: none">· Aislados < 10· Abundantes <u>10</u>- 50· Muy abundantes > 50 | <ul style="list-style-type: none">· Localización:<ul style="list-style-type: none">· Perivascular· Perimisial· Endomisial· Infiltrando la fibra muscular | <ul style="list-style-type: none">· Infiltrando la fascia· Endoneural· En granuloma |
|---|---|--|

PDGFR-BETA

- | | | |
|---|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">· Normal SI // NO· Presencia:<ul style="list-style-type: none">· Aislados < 10· Abundantes <u>10</u>- 50· Muy abundantes > 50 | <ul style="list-style-type: none">· Localización:<ul style="list-style-type: none">· Perivascular· Perimisial· Endomisial· Infiltrando la fibra muscular | <ul style="list-style-type: none">· Infiltrando la fascia· Endoneural· En granuloma |
|---|---|--|

10.10 Protocolo de Inmunohistoquímica en Miopatías Inflamatorias


	PNW DE TREBALL	Codi	Data	Rev.	Realitzat	Revisat	Aprovat
	Inmunohistoquímica miopaties inflamatòries	IMM-PNW-4308	Gener 2018	02	CLR/MVR	EGV/EMN	IIS/CJR
	Modificació: canvi en el procediment.						Pàgina: 1 de 7

IMN-IMP-4005/01

Inmunohistoquímica Miopaties Inflamatòries

ÍNDEX

NOM	2
OBJECTIU	2
PRINCIPI DE MESURA	2
RESPONSABLE DE L'EXECUCIÓ	2
MOSTRA	3
EQUIPS	3
MATERIAL	2
REACTIUS	3
CONTROL INTERN	3
CONTROL EXTERN	3
ELABORACIÓ DEL FULL DE TREBALL	3
PROCEDIMENT	5
INTERPRETACIÓ DELS RESULTATS	4
REGISTRES ASSOCIATS	4
OBSERVACIONS	5
DOCUMENTS ASSOCIATS	5
BIBLIOGRAFIA	5

	PNW DE TREBALL	Codi	Data	Rev.	Realitzat	Revisat	Aprovat
	Immunohistoquímica miopaties inflamatòries	IMM-PNW-4308	Gener 2018	02	CLR/MVR	EGV/EMN	IIS/CJR
	Modificació: canvi en el procediment.						Pàgina: 2 de 7

IMN-IMP-4005/01

Nom

~~Immunohistoquímica~~ Miopaties Inflamatòries

Objectiu


La presència d'inflamació en una biòpsia muscular és un indicador de que hi ha un procés patològic actiu. És important caracteritzar aquesta inflamació per a poder arribar a un diagnòstic més acurat de la malaltia.

Principi de mesura

Les seccions de biòpsia muscular congelada s'incuben amb dilucions d'un panell d'anticossos monoclonals que reconeixen de forma específica molècules expressades en cadascun dels tipus cel·lulars que poden estar presents en els infiltrats inflamatoris intramusculars. Després de finalitzar la tinció ~~immunohistoquímica~~ es procedeix a la seva observació al microscopi de camp clar convencional.

El panell està format per:

- Macròfags (CD68 o MO)
- Cèl·lules T4 (CD4)
- Cèl·lules T8 (CD8)
- Cèl·lules B (CD20)
- Complement (C5b-9 o MAC)
- NCAM o Leu19
- Complex major d'histocompatibilitat de classe I (MHC I)
- Complex major d'histocompatibilitat de classe II (DR o MHC II)

	PNW DE TREBALL	Codi	Data	Rev.	Realitzat	Revisat	Aprovat
	www.histologia.com miopaties inflamatòries	IMM-PNW-4308	Gener 2018	02	CLR/MVR	EGV/EMN	IIS/CJR
	Modificació: canvi en el procediment.						Pàgina: 3 de 7

IMN-IMP-4005/01

Responsable de l'execució

Tècnic responsable

Mostra


Seccions congelades de biòpsia muscular emmagatzemades a -20°C.

Equips

- ~~pHmetre~~ HEM-EQA-1429
- Balança MIC-EQA-MED-044 (àrees comunes)
- Microscopi IMM-EQA-0094
- Agitador magnètic IMM-EQA-0023
- Agitador horitzontal IMM-EQA-0121
- Congelador -20 °C lab_con_17 IMM-EQF-0010
- Nevera lab_nev_02 IMM-EQF-0004

Material


- Guants
- Contenedor de residus
- Paper absorbent
- Cobreobjectes
- Aigua destil·lada
- Vasos de precipitat de 1000 ml i 500ml
- Provetes de 500ml, 1000 ml i 100 ml
- Tubs de 10 ml
- Pipetes automàtiques 1ml, 200 ~~µl~~ i 10 ~~µl~~
- Puntetes de pipetes
- Cubetes de tinció
- Cubeta d'incubació
- ~~Eppendorfs~~
- Gradetes

	PNW DE TREBALL	Codi	Data	Rev.	Realitzat	Revisat	Aprovat
	Immunohistoquímica miopaties inflamatòries	IMM-PNW-4308	Gener 2018	02	CLR/MVR	EGV/EMN	IIS/CJR
Modificació: canvi en el procediment.							Pàgina: 4 de 7

IMN-IMP-4005/01

Reactius

- Acetona nº 15 → armari reactius Immunologia LA-508
- Albúmina Sèrica Bovina (Sigma A-4503) nº 202 → nevera IMM-EQF-0004
- Sèrum Humà Normal (Jackson 009-000-121) → liofilitzat: nevera IMM-EQF-0004; reconstituït: CONGELADOR -20°C IMM-EQF-0010
- Sèrum ~~Goat~~ Normal (~~Jakson~~ 005-000-121) → liofilitzat: nevera IMM-EQF-0004; reconstituït: CONGELADOR -20°C IMM-EQF-0010
- PBS Buffer ~~Powder~~ (ImmunoConcepts, Ref 1012) → nevera 4°C IMM-EQF-0004
- Anticòs *Monoclonal Mouse anti-human* CD4 (Dako M731029) → nevera IMM-EQF-0004
- Anticòs *Monoclonal Mouse anti-human* CD8 (Dako IR623) → nevera IMM-EQF-0004
- Anticòs *Monoclonal Mouse anti-human* Macròfags (Dako M0718) → nevera IMM-EQF-0004
- Anticòs *Monoclonal Mouse anti-human* MHCI (Dako M0736) → nevera IMM-EQF-0004 (les alíquotes es guarden al congelador -20°C IMM-EQF-0010, a la nevera es guarda l'alíquota en ús).
- Anticòs *Monoclonal Mouse anti-human* Leu 19 (Becton Dickinson 347740) → nevera IMM-EQF-0004
- Anticòs *Monoclonal Mouse anti-human* CD20 (Dako M0755) → nevera IMM-EQF-0004
- Anticòs *Monoclonal Mouse anti-human* HLA-DR (Dako M704) → nevera IMM-EQF-0004
- Anticòs *Monoclonal Mouse anti-human* C5b-9 (MAC) (Dako M0777) → nevera IMM-EQF-0004
- Anticòs secundari ~~Goat Anti-Mouse~~ IgG peroxidasa (Jackson 115-035-062) → nevera IMM-EQF-0004 (les alíquotes es guarden al congelador -20°C IMM-EQF-0010, a la nevera es guarda l'alíquota en ús).
- Kit DAB peroxidasa (Vector SK-4100) → nevera IMM-EQF-0004
- Peròxid d'hidrogen 30 % nº 228 → nevera IMM-EQF-0004

	PNW DE TREBALL	Codi	Data	Rev.	Realitzat	Revisat	Aprovat
	Immunohistòquímica miopaties inflamatòries	IMM-PNW-4308	Gener 2018	02	CLR/MVR	EGV/EMN	IIS/CJR
	Modificació: canvi en el procediment.						Pàgina: 5 de 7

IMN-IMP-4005/01

- Hematoxilina (Merck 1.09249.0500) n° 167 → armari reactius Immunologia LA-508
- Medi de muntatge Aquatex n° 318 → estanteria LA-512

Control intern

Les tincions de MHCI i DR són controls interns en sí mateixes, ja que apareix marcatge als capil·lars sanguinis del teixit al qual es realitza la prova.

Per garantir la funcionalitat dels altres anticossos (T4, T8, NCAM, MO, CD20, MAC), un cop cada 6 mesos es realitzen aquestes 6 tincions a talls de múscul d'un pacient afectat de miopatia inflamatòria.

Control extern


No s'utilitza control extern.

Elaboració del full de treball

La prova feta s'anota al full de treball de biòpsies (IMM-IMP-4301) específic de cada pacient.

Procediment

- Deixar assecar les preparacions i **fixar** durant 5 minuts amb acetona a una cubeta de portaobjectes.
- Fer 3 **rentats** de 5 minuts amb PBS 1x (a cubeta)
- Incubar durant 30 minuts amb 2,5 ml de **peròxid d'hidrogen 30%** + 47,5 ml de PBS 1x(per cada cubeta). Posar en agitació (agitador horitzontal IMM-EQA-0121) i tapar amb paper de plata.
- Incubar durant 30-60 minuts amb **Blocking Goat** a una safata de tincions (afegir de 50 a 80 µl a cada preparació).
 - **Blocking Goat**: 10 ml de PBS 1x + 0,2 g d'albumina + 1 ml de sèrum humà normal + 0,5 ml de sèrum **goat** normal

	PNW DE TREBALL	Codi	Data	Rev.	Realitzat	Revisat	Aprovat
	Immunohistoquímica miopaties inflamatòries	IMM-PNW-4308	Gener 2018	02	CLR/MVR	EGV/EMN	IIS/CJR
	Modificació: canvi en el procediment.						Pàgina: 6 de 7

IMN-IMP-4005/01

**Cal tenir en compte que la solució ~~Blocking Goat~~ no es pot utilitzar passat un mes des de la seva preparació. En el cas que s'hagin format precipitats (dins del mes en ús), cal filtrar la solució per tal que no interfereixi en la tinció.*

- Incubar amb l'**Anticòs Primari** durant 1 hora a temperatura ambient, o tota la nit a 4°C a una safata de tincions.

Els anticossos es dilueixen en ~~Blocking Goat~~. Les dilucions usades són les següents (posar 80 µl de dilució a cada mostra):

- CD4, MO, NCAM, CD20, MAC: 1/40 → 2 µl d'Ac + 78 µl de ~~Blocking Goat~~
- MHCI: 1/100 → 1 µl d'Ac + 99 µl de ~~Blocking Goat~~
- DR: 1/20 → 4 µl d'Ac + 76 µl de ~~Blocking Goat~~
- CD8 → sense diluir
- Fer 3 **rentats** de 5 minuts amb PBS 1x (a cubeta)
- Incubar durant 1 hora a temperatura ambient (a safata) amb l'**anticòs secundari** ~~Goat Anti-Mouse Peroxidasa~~ (posar 75 µl de dilució a cada preparació).
 - Dilució: 1/50 → 12 µl d'Ac + 588 µl de ~~Blocking Goat~~
- Fer 3 **rentats** de 5 minuts amb PBS 1x (a cubeta)
- Revelar amb el kit **DAB** durant 5 minuts: 5 ml d'aigua destil·lada + 2 gotes de buffer + 4 gotes de DAB + 2 gotes de H₂O₂
- Parar la reacció amb aigua destil·lada: submergir les preparacions en aigua destil·lada (a cubeta)
- ~~Contratenyir~~ les preparacions amb **Hematoxilina** (menys MHCI i DR) → Posar a sobre de la preparació unes gotes d'hematoxilina filtrada (amb paper de filtre) durant aproximadament 1 minut (a safata).
- Muntar les mostres amb medi de muntatge ~~Aquatex~~ (posar un cobreobjectes sobre de cada portaobjectes).

10.11 Fotografía de microscopía electrónica

