



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

TÍTULO

Disfunción endotelial y daño microvascular en pacientes con esclerodermia.

Trabajo Tesis para optar por el Título de Magister en Enfermedades Sistémicas y

Autoinmunes

Yanira Rossana Yinde Encina

Tutora: Prof. Dra. Margarita Duarte de Laterza

Asunción-Paraguay

Año 2019

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida y la oportunidad de abrazar la medicina , dedicarme finalmente a la Reumatología que realmente amo.

A mis padres por ser herramientas de Dios para forjarme en todo este proceso.

A mi querido Padre que a pesar de su dolor y sufrimiento físico, nunca decayó y se encargo de enseñarme que las circunstancias no pueden impedirte seguir adelante

A mi madre, mujer valiente y valerosa que pese a su perdida tan grande cuido de mi en todo este proceso.

A mis amados hermanos: Gloria , Yamili, Ale, Jadiyi, Cindy, Zaydi que me apoyaron en todos los aspectos físico y espiritual en este largo camino

A todas mis tías (Armi, Olinda y Nancy) compañeras de vida.

Mi Primo Francisco gran secretario de sentimientos nobles

A mis maestras Margarita Duarte y Marcia Melo sabias mujeres, eminencias en la Reumatología que su paciencia y amor a la docencia finalmente hicieron posible todos mis logros profesionales

A mis compañeras y eventuales instructoras docentes María Isabel Acosta, Gabriela Ávila y Sonia Cabrera; que con su ganas de investigar e innovar, además del orden ,corrección y legalidad que las caracterizan hicieron posible la creación de esta maestría.

A mis queridos residentes tanto del Hospital de Clínicas y del Instituto de Previsión social me acompañaron y apoyaron moralmente en todo este proceso

A mi único y amado hijo Néstor Carrero Yinde, inspirador de mi vida, que me acompañó pacientemente en todo este tiempo quien me da fuerzas para seguir a pesar de las circunstancias.

Gracias a este pequeño hombre que Dios me entrego.

Resumen

La esclerodermia es una enfermedad crónica de carácter autoinmune cuya manifestación más importante es el desarrollo de fibrosis cutánea y de otros órganos. Se desconoce la etiología, sin embargo, se postula que existen factores genéticos implicados en su desarrollo. Uno de los mecanismos fisiopatológicos conocidos es la disfunción endotelial acompañada de fenómenos autoinmunes que conllevan a una enfermedad microvascular. En el desarrollo del daño vascular se ha demostrado la presencia de sustancias como la Endotelina-1 y la E-selectina que podrían estar implicadas en su patogenia, y que podrían constituirse como biomarcadores efectivos de diagnóstico, pronóstico y tratamiento. Las úlceras y el fenómeno de Raynaud son manifestaciones de enfermedad microvascular y son consideradas en la actualidad como las más incapacitantes para los portadores.

Objetivos: Determinar valores de biomarcadores serológicos de disfunción endotelial (i.e. Endotelina-1 y E-selectina) y su asociación con presencia de daño de la microvasculatura (i.e. úlceras cutáneas y Fenómeno de Raynaud (FRy)) en pacientes con esclerodermia.

Metodología: Estudio observacional, retrospectivo, de corte trasversal, de pacientes con diagnóstico de esclerodermia que acuden al Servicio de Reumatología del Hospital de Clínicas y perteneciente al Grupo de Estudio ESPADA. Se determinaron los valores de Endotelina-1 y E-selectina a partir de sueros de estos mismos pacientes previamente extraídos y almacenados en el biobanco de enfermedades autoinmunes. Los datos clínicos, laboratoriales se obtuvieron

mediante de la revisión de historias clínicas provenientes del archivo del departamento de Reumatología del Hospital de Clínicas.

Análisis de Datos: El análisis de datos se realizará utilizando el paquete estadístico SPSS versión 20.00. El nivel de significación para los contrastes de hipótesis estadísticas es del 0.05.

Resultados: Se analizaron un total de 38 pacientes, el sexo femenino fue predominante, con 76 %, El tiempo promedio de duración de la enfermedad fue de 7,04 años.

El tipo clínico de esclerodermia más frecuente fue la difusa, con un 60,5 %. La presencia de úlceras cutáneas se observó en 18%, y el Fenómeno de Raynaud en 96% de pacientes. La Hipertensión pulmonar se registró 2% Los valores promedio de Endotelina-1 y E-selectina medidos en ng/ml fue de respectivamente 2, 48 y 58,29 ng/dl respectivamente . Se vio valores sobre los normales de Endotelina-1 en 32 % y de E selectina en 29 % . Los marcadores inmunológicos Anticuerpos anti nucleares (ANA), anti Scl70(ATA) y anti Centromero (ACA) estuvieron positivos en 65,39 y 17% respectivamente en la forma difusa, mientras que la localizada en 60,20 26% correspondientemente . Los resultados estadísticos no detectan una asociación significativa entre las concentraciones Endotelina-1 y E-selectina con la presencia de úlceras cutáneas . La E selectina presento valores estadísticamente significativas con las formas mas severas de FRy pero no con la presencia de úlceras cutáneas. .

Conclusión: Los niveles de Endotelina-1 y E-selectina no se asociaron a la presencia de úlceras cutáneas . Las concentraciones E-selectina se asocian con las formas mas severas de FRy No hubo asociación entre características las clínicas y enfermedad microvascular Se requieren más estudios para definir marcadores biológicos específicos en pacientes de nuestra población. .

TABLA DE CONTENIDO

Página	
	INTRODUCCIÓN..... 1
	1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... 5
	1.1 Pregunta de investigación..... 5
	1.2 Justificación del estudio..... 5
	2. OBJETIVOS..... 5
	2.1 Objetivo general..... 5
	2.2 Objetivos específicos..... 5
	3. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL..... 6
	3.1. Epidemiología de la Esclerodermia..... 6
	3.2. Genética de la Esclerodermia..... 7
	3.3. Fisiopatología de la Esclerodermia..... 9
	3.4 Manifestaciones Clínicas de daño microvascular..... 14
	4. METODOLOGÍA..... 23
	4.1 Diseño..... 23
	4.1.1 Población enfocada..... 23
	4.1.2 Población accesible..... 23
	4.2 Criterios de inclusión..... 23
	4.3 Criterios de exclusión..... 23
	4.4 Reclutamiento..... 24
	4.5 Muestreo..... 24
	4.6. Variables de interés..... 24

Página

4.7 Instrumentos	25
4.9 Asuntos Estadísticos	26
4.9.1 Tamaño de la muestra	26
4.9.2 Análisis y gestión de datos	26
5. CONSIDERACIONES ÉTICAS	28
6. RESULTADOS	29
7. DISCUSIÓN	40
8. CONCLUSIONES	43
9. BIBLIOGRAFÍA	45
10. ANEXOS	55

LISTA DE TABLAS

Página

Tabla 1. Genes de susceptibilidad para desarrollo de esclerodermia	8
Tabla 2. Enfermedades con participación patogénica de la Endotelina.....	13
Tabla 3. Clasificación de Ulceras cutáneas en la esclerodermia.....	15
Tabla 4. Estadística descriptiva de características clínicas, epidemiológicas y biológicas....	29
Tabla 5. Estadística Descriptiva: Score del Fenomeno de Raynaud en población	30
Tabla 6. Estadística descriptiva: Presencia de Anticuerpos en las formas clínicas de la esclerodermia.	
Tabla 7. Valores de E - Selectina y Endotelina en población estudiada	31
Tabla 8. Comparación de los Niveles de E- Selectina y Endotelina en los pacientes según prueba de MANN WITHNEY para características clínicas epidemiológicas e inmunológicas	32
Tabla 9. Comparación entre la presencia de lesión de daño microvascular para características clínicas epidemiológicas e inmunológicas	33

LISTA DE FIGURAS**Página**

Figura 1. Valores de Endotelina y E- Selectina en pacientes con esclerodermia
.....37

Figura 2 Valores de E-Selectina en la población divididos según grados de gravedad del
Fenómeno de
Raynaud.....38

Figura 3. Regresión lineal entre la E-selectina y la Duración de la enfermedad desde el
inicio de los síntomas.....40

LISTA DE ANEXOS

Página

<i>Anexo 1. Consentimiento Escrito</i>	55
<i>Anexo 2. Manual de procedimientos</i>	57
<i>Anexo 3. Hoja de recolección de datos.</i>	59
<i>Anexo 4. Criterios EUSTAR para clasificación de la Esclerodermia.</i>	61
<i>Anexo 5. Clasificación de Esclerodermia de Leroy y Medsger</i>	62
<i>Anexo 6. Puntuación de gravedad del síndrome de Raynaud según el Medsger Severity score</i>	63
<i>Anexo 7. Índice modificado de Rodman</i>	64

Introducción

La Esclerodermia o Esclerosis Sistémica es una enfermedad crónica y heterogénea, caracterizada por fibrosis generalizada de la piel y *órganos* internos y donde existen trastornos microvasculares y un desequilibrio inmune asociado a la producción de autoanticuerpos (1). Afecta más a las mujeres en un rango etario que puede variar entre 40 y 60 años según las series analizadas en distintos puntos del planeta (2) (3)

La esclerodermia presenta un complejo conjunto de factores genéticos y autoinmunes que conducen finalmente a la remodelación fibrótica de la micro vasculatura y el resto del tejido conectivo (4). En la patogenia la enfermedad confluyen : la a enfermedad vascular (con

disfunción endotelial característica) una respuesta autoinmune y fibrosis generalizada llevando a los síntomas que caracterizan a la enfermedad (5–7).

El daño microvascular puede ser tanto funcional como estructural, estas conducen primeramente al vaso espasmo reversible con una proliferación en la íntima y un incremento de células endoteliales y musculares lisas seguido de la vasculopatía fibroproliferativa que finalmente se vuelve obliterativa llevando finalmente a las manifestaciones clínicas isquémicas tanto tempranas como tardías (8).

Otros mecanismos patogénicos descritos como angiogénesis defectuosa da lugar a neo vascularización efectiva (9), alteraciones prolongadas de la célula endotelial y la activación inducida por la isquemia y reperfusión generan una disfunción y pérdida de la integridad endotelial, con desprendimiento celular y daño tisular persistente (10) han sido descritos en esta enfermedad.

La disfunción endotelial está representada por varias alteraciones ampliamente estudiadas : alteraciones de las de las proteínas de adhesión de linfocitos y leucocitos (E-Selectina, V CAM e I CAM-1) (11–13) cuya expresión está regulada por citoquinas inflamatorias (IL-1, IL-6) (14), la Endotelina-1 potente vasconstrictor y profibrótico que aumenta pérdidas de células endoteliales ha sido implicada en la patogénesis de esta noxa. (9).

Los niveles o comportamiento de la Endotelina-1 y la E-selectina han sido evaluados como marcadores de daño endotelial en la Esclerodermia en varios estudios , buscando establecer su rol como como marcadores biológicos diagnósticos , pronóstico que puedan o predecir las graves manifestaciones clínicas vasculares y su respuesta al tratamiento(15) (17) .

Un análisis estudio con énfasis en los mecanismos fisiopatológicos demostró que el daño tisular con la posterior apoptosis, resultando en la pérdida de capilares se considera como uno de

los cambios más tempranos en la patogénesis de la esclerodermia y donde estas sustancias en especial la Endotelina presentan niveles anormales (17).

En cuanto las alteraciones inmunológicas, manifestación más representativa de alteración inmune se encuentran la producción de auto anticuerpos del tipo Anticentromeros (ACA), Anti Sclero 70 (ATA), y los anticuerpos antinucleares, siendo no solo herramientas diagnosticas sino también pronosticas en el desarrollo de la enfermedad (3, 4, 18-20).

Las Ulceras cutáneas y el fenomeno de Raynaud (FRy) y otras manifestaciones cutáneas de esta noxa son la traducción de la lesión microvascular que lleva finalmente a grandes depósitos de colágeno y matriz extracelular en la dermis y edema resultante (19). Las úlceras digitales y Fenómeno de Raynaud (FRy) son dos de las complicaciones más incapacitantes de la Esclerodermia.,las mismas causan dolor y limitación incluso resorción digital y osteomielitis (20). Un reciente estudio demostró que son las principales causantes de algia, discapacidad y afectación en la calidad de vida de estos enfermos (21). La detección precoz de los pacientes con un riesgo alto a desarrollar ulceras digitales mediante marcadores como los del daño endotelial podría permitir un tratamiento preventivo con una reducción de la morbilidad y los costos sociales. Mihai et al señala la importancia de la detección las ulceras digitales de aparición temprana pues son predictores de otras afecciones orgánicas más graves (22).

Las ulceras cutáneas pueden ser clasificadas y valoradas, pero por lo general la piel se valora clínicamente con la Escala de Rodnan medida establecida por el grupo Europeo de Estudio de la Esclerodermia; consiste en la valoración objetiva de la afección y extensión de la lesión cutánea (23). Este Indice sigue siendo el biomarcador de evolución más utilizado actualidad.(24)

Según análisis el fenómeno de Raynaud y sus formas clínicas de severidad (grados I al IV) podría tener variar según valores de factores proangiogenicos circulantes y podrían representar importantes biomarcadores.(25). La capilaroscopia del lecho ungueal es una herramienta diagnostica que permite valorar la microcirculación, encontrándose alterada en todas las fases de la esclerodermia, recientes estudios han encontrado relación entre el patrón capilaroscopico y la probabilidad del desarrollo de ulceras digitales, aumentando aún más su utilidad en la práctica médica (26–28).

Según el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos Biomarcadores o marcadores biológicos son caracteres que pueden ser medidos objetivamente y sirve como indicador de un proceso biológico normal, patogénico o demostrar respuestas farmacológicas a una intervención propuesta (24)

El objetivo principal de este estudio busca determinar el papel como biomarcadores de la Endotelina-1 y E selectina en pacientes con ulceras cutáneas y fenómeno de Raynaud , así como establecer su relación con otras características clínicas de la enfermedad y que son resultado de la enfermedad vascular.

En Paraguay no existen estudios sobre la Esclerodermia, que identifiquen biomarcadores de daño endotelial y su relación con la aparición de determinados síntomas micro vasculares isquémicos que detectados precozmente podrían aportar una importante mejoría en la calidad de vida.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Pregunta de investigación

¿Valores anormalmente altos de endotelina y E-selectina explican daños microvasculares en nuestros pacientes con esclerodermia?

1.2 Justificación del estudio

La enfermedad vascular periférica en pacientes con esclerodermia, constituye una causa importante de morbimortalidad. El conocimiento de biomarcadores específicos de afectación vascular periférica y su participación en las manifestaciones clínicas podría aportar nuevos datos sobre una población escasamente estudiada en nuestro país. Finalmente, esto podría derivar en la creación de nuevos esquemas terapéuticos.

Este trabajo se constituiría en una línea de investigación específica en Paraguay, permitiendo así el estudio y conocimiento de las características clínicas de esta población de pacientes.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Determinar los valores de biomarcadores serológicos de disfunción endotelial (i.e. Endotelina-1 y E-selectina) y su asociación con la presencia de daño de la microvasculatura (i.e. úlceras cutáneas y fenómeno de Raynaud) en pacientes con esclerodermia.

2.2 Objetivos específicos

1- Describir las características clínicas, epidemiológicas y serológicas de pacientes con esclerodermia.

2- Relacionar los valores de Endotelina-1 y E-selectina con las características clínicas, epidemiológicas y serológicas biológicas.

3- Identificar la asociación entre la presencia de daño microvascular (Ulceras Cutáneas y fenómeno de Raynaud) con las características clínicas, epidemiológicas y serológicas.

3. Marco teórico referencial

La Esclerodermia o Esclerosis Sistémica es una enfermedad crónica y compleja caracterizada por fibrosis generalizada de la piel y órganos, cuya causa principal son trastornos micro vasculares producidos a su vez por desequilibrio inmunológico que lleva a la producción de autoanticuerpos (1).

3.1. Epidemiología de la Esclerodermia.

Es una enfermedad rara. Existen escasos estudios debido al número bajo de pacientes. En Latinoamérica: Careta *et al.* brinda datos de Brasil et al reportando una incidencia de 0,3 a 3 casos nuevos por cada 100000 habitantes, siendo la mujer blanca la más frecuentemente afectada en una proporción 2-4/2 (29) . El consenso argentino de Reumatología cita una incidencia de 20-40 casos por cada millón de habitantes, siendo más afectadas las mujeres en doble proporción (30) En América Central la incidencia de 2,3 casos por cada 100000 habitantes en república Dominicana (1)(Gomez), mismo dato obtenido por Gottshalk *et al.* en ese país (31) .

En Estados Unidos un análisis epidemiológico publicado estimó una incidencia de 19,3 casos nuevos por cada millón de habitantes, con una prevalencia mayor en el sexo femenino (32).

En Europa los datos no son muy diferentes, Allcok et al manifiesta una prevalencia de esclerodermia en el Reino Unido de 8,5 casos por cada 100000 habitantes , con una proporción Mujeres/hombres 5,2/1 (33) .Una cohorte española señalo el sexo femenino como el predominante, sin embargo los varones presentaban peor evolución (34)

El papel de la raza aún es controversial. Un análisis multicentrico de 2481 pacientes con seguimiento a 20 años llevo a la conclusión de que la raza, afroamericana es un factor independiente y de mal pronóstico en la esclerodermia (35). Similares conclusiones hizo Sting et mediante su seguimiento a 10 años donde encontró que los afroamericanos presentan un perfil serológico diferente; con mayor severidad de la enfermedad pulmonar requiriendo un enfoque terapéutico diferente(32) .Un estudio dominicano, expone la misma situación: pacientes de la raza negra con descendencia afroamericana (una gran representación poblacional) presentan inicio más temprano, mayor extensión cutánea y afección sistémica que otros grupos raciales(31) . La afirmación de la mayor gravedad en la raza negra sigue sin poder generalizarse debido a falta de estudios interraciales más amplios que la confirmen.

3.2. Genética de la Esclerodermia

Según análisis epidemiológicos la esclerodermia esta englobada en un grupo de enfermedades genéticamente complejas, donde el componente ambiental puede tener un rol variable (36) (24)

Mayes et al en un estudio de agregación familiar de tres cohortes distintas hallaron mayor prevalencia de la enfermedad en grupos consanguíneos comparados con la población general (32)

Los genes asociados a la autoinmunidad desarrollan un rol importante en la patogenia de la Esclerodermia. Feghali et al mediante un análisis de polimorfismos en gemelos monocigotos

con esclerodermia hallaron alta concordancia y coincidencia de los principales alelos del complejo mayor histocompatibilidad tipo II que determinan la producción de anticuerpos haciéndolos más susceptibles al desarrollo de la enfermedad (37).

Bossini et al entre otros ha identificado genes de susceptibilidad relacionados con la respuesta inmune (innata y adaptativa) con la producción de anticuerpos y predisposición desarrollo de la enfermedad (36) ver tabla 1.

Tabla 1. Genes de susceptibilidad para desarrollo de esclerodermia

Genes Candidatos	Riesgo Relativo
HLA**DRB1	7
STAT 4	1,5
IRF5	1,3
BANK1	1,2
BLK	1,2
PTPN22	1,1

Adaptado de Bossini *et al* (36) .

En la esclerodermia y otras enfermedades autoinmunes los factores exógenos o ambientales y modificaciones epigenética son particulares, debido a la capacidad de estos últimos para cambiar (plasticidad) según la condición externa dada; esto es comprobado por Beachett et al al demostrar la plasticidad de la activación por acetilación del gen Col1A1 de los fibroblastos de la esclerodermia (38)

Wang et al señalaron también el fenómeno de plasticidad en la activación epigenética mediante la investigación de la modificación por metilación del DNA del gen FL1 produciendo

asi una activación de los fibroblastos y hallando niveles elevados metil transferasa de ADN1 y otros , con la consecuente fibrosis característica de la enfermedad (39)

La plasticidad y modificación por factores ambientales podría tener implicancia terapéutica ; Kitano et al analizaron el efecto inhibidor tricostatina A sobre la histona desacetilasa inhibiendo la expresión de genes del colágeno tipo I y II en los fibroblastos de pacientes con esclerodermia y enfermedad ocular(previamente expuestos a dosis altas de factor de crecimiento beta),resultando en una disminución del número total de fibroblastos influyendo en el desarrollo de la fibrosis cutánea (40)

La alta incidencia del sexo femenino habla de una probable asociación al cromosoma X. Uz et al demostraron con su estudio que la inactivación sesgada del cromosoma X como resultado de la modificación epigenética se encontraba en más del 44% de las pacientes con Esclerosis sistémica versus mujeres sanas, esto traería consigo la conclusión de que la presencia de la modificación sesgada podría ser un factor importante de susceptibilidad. Invernizzi et al por su lado determinaron una mayor frecuencia de monosomía del cromosoma X en en glóbulos blancos de pacientes con esclerodermia demostrando su probable papel patogénico y sugiriendo que diferentes mecanismos epigenéticos crear fenotipos diferentes de cada una de las enfermedades autoinmunes (41)

El conocimiento y comprensión de los mecanismos genéticos y epigenéticos participantes en la patogenia no solo en la Esclerodermia si no de todas las enfermedades autoinmunes debe ser el objetivo en el investigador a fin de establecer nuevos esquemas terapéuticos personalizados.

3.3. Fisiopatología de la Esclerodermia

La esclerodermia presenta un complejo conjunto de factores genéticos y autoinmunes que conducen finalmente a la remodelación fibrótica de los microvasos y el resto del tejido conectivo (4).

La patogenia de la Esclerodermia es considerada como una enfermedad vascular única iniciada por la disfunción endotelial producida a su vez por una respuesta inflamatoria autoinmune, siendo la alteración inmunológica el axioma sobre el cual se desarrolla la enfermedad (5-7).

Los mecanismos fisiopatológicos del daño vascular pueden describirse como: angiogénesis anómala, mecanismos de adhesión celular alterados y e inducción a la fibrosis que llevan a daño vascular, fenómenos inflamatorios y fibrosis.(24)

El daño microvascular vascular puede ser tanto funcional como estructural, estas conducen primeramente al vaso espasmo reversible con una proliferación en la íntima y un incremento de células endoteliales y células musculares lisas seguido de la vasculopatía fibroproliferativa que finalmente se vuelve obliterativa desencadenándose finalmente las manifestaciones clínicas isquémicas tanto tempranas como tardías (8).

Eventos repetitivos de daño por isquemia- repercusión en el tegumento y otros sistemas orgánicos pueden contribuir a la fibrosis tisular, disfunción orgánica determinando así la morbi-mortalidad

Angiogénesis anómala.

La angiogénesis defectuosa es una característica muy frecuente en la Esclerodermia , las manifestaciones clínicas tempranas como el Fenómeno de Raynaud y edema cutáneo y las tardías

como disfunción orgánica y afección cutánea extensa son debidos a la insuficiencia vascular secundarias a fibrosis de la íntima arterial que a pesar de la isquemia persistente no da lugar a neo vascularización efectiva (9).

El tejido sometido a isquemia por lesión vascular responde con activación enzimática de metaloproteinasas de la matriz (MPM) , esto implica descomposición de la misma con el consiguiente aumento de producción y liberación de factores de crecimiento angiogénicas como factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) y factores de crecimiento endotelial vascular, determinando que la angiogénesis está determinada por factores estimuladores e inhibidores de la misma (FCEV)(12,13,25).

El factor de crecimiento endotelial es uno los principales reguladores de la neo vascularización. En la esclerodermia a pesar de sus altos niveles es inefectivo, demostrando una angiogénesis anómala , hecho observado claramente en pacientes con úlceras digitales (13), donde la capilaroscopia con extensas aéreas avasculares es bastante demostrativa de un mecanismo angiogénico compensatorio ineficaz (28).

Humers et al en su análisis cuantitativo del factor de crecimiento endotelial relacionan el aumento de su concentración en pacientes con esclerodermia y enfermedad vascular (Fenómeno de Raynaud severo, Úlceras digitales e Hipertensión pulmonar). Este análisis de los factores pro y antioangiogenicos busco demostrar que los pacientes con mayor concentración de estas sustancias podría desarrollar manifestaciones más severas, sin embargo aún no se ha podido estimar su valor como biomarcador de gravedad o de desarrollo de manifestaciones clínicas de este tipo (25).

Daño Vascular: Disfunción Endotelial y Adhesión Celular anómala.

La disfunción vascular se considera una de las primeras manifestaciones clínicas de la esclerodermia, y se ha sugerido que es un evento iniciador crucial su patogénesis (42).

La lesión endotelial conduce a lesiones fibroproliferativas vasculares en múltiples órganos; sin embargo, los efectos de la disfunción vascular son más notorios cuando aparecen lesiones como Fenómeno de Raynaud, úlceras digitales, Hipertensión pulmonar(24)

Inicialmente la hipoperfusión a más de desencadenar la liberación de sustancias angiogénicas, se desarrollan una serie de eventos que desencadenan daño endotelial posterior proliferación celular implicando a células endoteliales y microvasculares. (28)

Son marcadores de daño endotelial niveles anormalmente elevados de factor Von Willebrand (43,44), Endotelina-1 (15), si bien son notorios sus cambios cuantitativos, aún se desconoce su valor como predictores.

Endotelina 1

Las endotelinas cumplen un importante papel en la patogénesis de la Esclerodermia(25)

Hay dos tipos de receptores de Endotelina : Los receptores A y B (ET-A y ET-B) Los receptores ET-A se expresan mediante células vasculares del músculo liso y median la vasoconstricción. Los receptores ET-B se expresan principalmente en las células endoteliales y median la vasodilatación. En pacientes con Esclerodermia, los receptores ET-B están regulados negativamente. Este hecho puede desplazar el equilibrio hacia la vasoconstricción y la fibrosis generando las manifestaciones clínicas características (45)

Ya en los años 90 estudios como el de Abrahan y Morelli demuestran su participación en manifestaciones clínicas vasculares como úlceras cutáneas e Hipertensión pulmonar, aunque también la relacionan con fenómenos fibróticos (46) (47)

Endotelina-1 es un potente vasoconstrictor endógeno, que también media en la proliferación, fibrosis e inflamación de las células de la pared vascular, análisis como el de Hafnner et al han determinado que concentraciones elevadas y su disminución y mejoría clínica de síntomas post tratamiento con inhibidores de sus receptores confirman aún más su participación (45)

La pérdida de células endoteliales viables también induce a la pérdida de citoquinas o sustancias vasodilatadoras: como óxido Nítrico y prostaciclina y aumento de vasoconstrictores como la Endotelina-1 (9).

Tabla 2. Enfermedades con participación patogénica de la Endotelina-1.

Hipertensión pulmonar.

Diabetes e Insulinorresistencia.

Hipertensión Arterial

Arterial.

Enfermedades del colágeno.

Falla Renal

Insuficiencia cardiaca

E-Selectina

En un estudio que buscaba determinar las modificaciones más comúnmente asociadas a disfunción endotelial se encontraron: las aumento de expresión las proteínas de adhesión de linfocitos y leucocitos (E-Selectina, V CAM e I CAM-1) (11–13) cuya expresión está regulada por citoquinas inflamatorias (IL-1,, IL2 IL-6) (14). La pérdida de células endoteliales viables también induce a la pérdida de citoquinas o sustancias vasodilatadoras: como oxido Nítrico y prostaciclina y aumento de vasoconstrictores como la Endotelina-1 (9).

La alteraciones prolongadas de la célula endotelial y la activación inducida por la isquemia y reperfusión generan una disfunción y perdida de la integridad endotelial, con desprendimiento celular y daño tisular persistente (10).

En un estudio con énfasis en los mecanismos fisiopatológicos demostró que el daño tisular con la posterior apoptosis, resultando en la perdida de capilares se considera como uno de los cambios más tempranos en la patogénesis de la esclerodermia (17).

Wodock *et al* buscaron relación entre los valores de E-selectina y las diferentes formas cutáneas y lesiones isquémicas , encontraron relación entre valores elevados de E-selectina en pacientes con esclerodermia, siendo más elevados en pacientes con enfermedad difusa que en l limitada(16) .

3.4 Manifestaciones Clínicas del daño microvascular

Afección Cutánea.

Las manifestaciones cutáneas de esta noxa son la traducción de la lesión microvascular que lleva finalmente a grandes depósitos de colágeno y matriz extracelular en la dermis y edema resultante (19). La pérdida de los capilares del lecho ungueal, el Fenómeno de Raynaud y las

ulceras cutáneas presentes en los dedos de las manos y pies, tobillos son manifestaciones que pueden presentarse tempranamente y relacionarse con el nivel de daño microvascular (11-12).

La lesión cutánea presenta tres fases: edematosa, fibrotica y atrófica, un análisis reciente identifica marcadores de daño vascular en cualquiera de las mismas, sin establecer claras diferencias.

LeRoy Clasificaron la Esclerodermia en 2 subtipos bien definidos: Difusa y Limitada ,según sus características clínicas y serológicas bien definidas(21) que observamos en la tabla 1 del Anexo 5.

La piel es valorada clínicamente con la Escala de Rodman establecido por el grupo Europeo de Estudio de la Esclerodermia (23)(Anexo 7) , esta valora la piel en 4 niveles: normal,indurada, indurada y que no puede pellicarse y adherida a los planos mas profundos, Este es el sin embargo este dato no se relaciona efectivamente con variaciones de los serológicas de los biomarcadores de la enfermedad.

Úlceras Digitales.

Las úlceras digitales son una de las complicaciones más alarmantes de la Esclerodermia, causan dolor, limitación, resorción e infección ósea (20). Un reciente estudio demostró que son las principales causantes de algia, discapacidad y afectación en la calidad de vida de estos enfermos (21). La base de datos de EUSTAR estima que aproximadamente el 40 % de los pacientes con esclerodermia presentan úlceras digitales, independientemente a la forma clínica es difusa o localizada(48) En el registro de Úlceras europeo (banco de datos de 2000 pacientes con esclerodermia) aproximadamente el 75 % de los pacientes afectados por úlceras tienen su 1er episodio dentro de los primeros 5 años del inicio de los síntomas no Raynaud, clasifica además las Úlceras en digitales, zonas expuestas a roces en miembros, abdomen tórax y por último las asociadas a calcinosis.(49) Un estudio retrospectivo a 10 años de 160 pacientes describió un promedio de 12 años de inicio de la enfermedad y la aparición de su primera úlcera también a los 5 años de inicio de síntomas diferentes al Raynaud(50)

Tabla 3. Clasificación de Úlceras cutáneas en la esclerodermia.

Tipos de Úlceras	Características
Digitales	Punta de dedos manos y pies, Pueden ser superficiales o profundas. Muy dolorosas.
Asociadas a calcinosis	Sobre superficies de roce, Indoloras
Asociadas por pérdida de tejido	Sobre cualquier superficie ósea. Muy dolorosa.

Tomado de Gallucci et al (49)

La detección precoz de los pacientes con un riesgo alto a desarrollar úlceras digitales mediante marcadores como los del daño endotelial podría permitir un tratamiento preventivo con

una reducción de la morbilidad y los costos sociales. En otro estudio se encontró que las úlceras digitales como manifestación temprana es una útil herramienta predecir otras afecciones orgánicas más graves (22). Simeón et al es su cohorte española determino la presencia de Úlceras cutáneas eran factor de riesgo independiente para la mala evolución(51).

La evolución de las úlceras puede empeorar con el tabaquismo así lo demostró n estudio americano que relacionaba anormalidades en valores de marcadores de angiogénesis y daño vascular encontró como agravante al factor extrínseco tabaco .Sin embargo podría no solo ser un confusor ya que pacientes tabaquistas tienen valores elevados de Endotelina-1(25)

La Endotelina-1 presenta un rol fundamental en la generación de úlceras cutáneas; un estudio italiano busco relacionar las concentraciones de esta proteínas en pacientes con úlceras versus no portadores, en 2 tiempos diferentes , encontrando valores elevados en los portadores, sin embargo la significancia estadística fue poca para enunciarla como un biomarcador.(52).

Fenomeno de Raynaud.

El fenómeno de Raynaud (FR) es una de las primeras manifestaciones clínicas que se pueden observar en pacientes que presentan enfermedades del tejido conectivo, en particular, la esclerosis sistémica. (53)

Se manifiesta como un cambio de coloración en las partes distales del cuerpo, se caracterizan como episodios de vasoespasmo, especialmente en las arterias y arteriolas digitales; las regiones más afectadas son los dedos de manos y pies, y de forma más infrecuente la nariz y el pabellón auricular; esto puede ser desencadenado por la exposición al frío o el estrés. (53)

La prevalencia estimada en la población general sana es de 3 a 5%, aproximadamente. Y la clasificación de FR primario y secundario se realiza de acuerdo a la asociación con una enfermedad subyacente. En el FR primario los pacientes tienen una edad de inicio más joven

(entre 15 y 30 años) y no existe evidencia de enfermedad vascular periférica, isquemia digital, lesión capilar, o anomalías en el pliegue ungueal, aun así, el diagnóstico se realiza por exclusión.(27)

Se pueden evidenciar 3 fases características según la coloración de la piel, que reflejan las diferencias que existen en la vasculatura a nivel distal: la fase isquémica en donde se observa una coloración pálida de la piel, la fase hipóxica en donde se evidencia la piel azulada, y la reperfusión, representada por el color rojizo de la piel. Expertos concuerdan en que se necesita al menos un cambio bifásico (palidez y cianosis) en el color de los dedos (54)

Los principales síntomas del FR asociados a la esclerodermia sistémica son el dolor, las parestesias, y el desarrollo de úlceras digitales; éste último síntoma como manifestación de una isquemia tisular importante debido a la alteración persistente del flujo sanguíneo; la aparición de estas úlceras se puede dar en cualquier momento de la enfermedad, alcanzando una prevalencia del 50% de pacientes con esclerodermia (23)

Se ha demostrado que el síntoma subjetivo que se asocia con más frecuencia a los ataques del Fenómeno de Raynaud primario es el entumecimiento de los dedos, presentándose en un 93.7% de pacientes, seguido por el hormigueo 53.2% y luego el dolor en un 27%; sin embargo, el dolor parece ser el síntoma principal en el FR asociado a esclerodermia, de lo que se puede suponer que el mismo represente un grado más importante de isquemia tisular no observado en el FR primario. (23)

En la fase isquémica se produce vasoconstricción de las arteriolas precapilares, en la fase hipóxica ocurre después de la constricción de las vénulas postcapilares provocando desoxigenación de la sangre secuestrada y la fase de reperfusión comprende un fenómeno reactivo hiperémico (54)

Dentro de la patogénesis de la enfermedad, las células estrellas son los fibroblastos, los cuales son activados por alteraciones vasculares con daño endotelial, donde la Endotelina I, y factor Von-Willebrand son marcadores de ese trastorno, mientras que la mala regulación de la angiogénesis y de los mecanismos de vasoconstricción y vasodilatación también son dados por la E Endotelina y E selectina demostrando adhesión celular anormal.(54)

En el análisis del grupo Europeo de Ensayos e Investigación sobre la Esclerodermia (EUSTAR) que incluyó 7655 pacientes, más del 95% presentó como antecedentes FR. En otro análisis que incluyó 469 pacientes en la cohorte VEDOSS (Very Early Diagnosis of Systemic Sclerosis) en el que demostró que los pacientes con positividad de anticuerpos antinucleares tenían más posibilidad de mostrar un patrón de esclerodermia en la capilaroscopia (53.6%). Los principales métodos auxiliares del diagnóstico lo constituyen la capilaroscopia del lecho ungueal y el análisis laboratorial en busca de autoanticuerpos. Los pacientes que presentan examen anormal en la capilaroscopia y la presencia de un anticuerpo específico, en particular de la esclerodermia, presentan un elevado riesgo de desarrollar manifestaciones sistémicas. (23) La capilaroscopia del lecho ungueal es una herramienta diagnóstica que permite valorar la microcirculación, encontrándose alterada en todas las fases de la esclerodermia, recientes estudios han encontrado relación entre el patrón capilaroscópico y la probabilidad del desarrollo de úlceras digitales, aumentando aún más su utilidad en la práctica médica (26–28)

El FRy debido a su alta frecuencia de presentación y su especificidad para demostrar daño microvascular está incluido dentro de los criterios de clasificación para Esclerodermia de la Liga Europea contra el reumatismo del año 2013(52-54).

LA guía EULAR considera el uso de Bosentan, un inhibidor del receptor de la endotelina, en la prevención de las úlceras digitales; prostanoídes IV para la cura y la reducción de nuevos

episodios, y en casos extremos, simpatectomía digital. Cuando las úlceras se encuentran infectadas deben tratarse de forma enérgica con antibióticos y analgesia para el dolor, ya que el porcentaje de recurrencia es alto. (52-53), esto resalta el papel de la endotelina en la fisiopatología de este síntoma.

A fines investigativos un equipo de estudio elaboro una división del Síndrome de Raynaud por características clínicas o formas de gravedad y busco relacionar estas etapas con las concentraciones de ciertos agentes como endotelina, factor de crecimiento derivado de las plaquetas (daño celular y proangiogenicos): Según su análisis el fenómeno de Raynaud y sus formas clínicas de severidad (grados 0 al IV) podría tener valores de factores proangiogenicos alterados circulantes y podrían representar importantes biomarcadores (25)(anexo 6).

Enfermedad pulmonar intersticial en la Esclerodermia.

La enfermedad pulmonar intersticial (EPID) es la complicación mas grave de la esclerosis sistémica, y es la primera causa de muerte en estos pacientes, tanto por fibrosis pulmonar progresiva o hipertensión arterial pulmonar avanzada. La aparición de síntomas respiratorios denota una etiología multifactorial, la aparición de EPID está dada por la alveolitis fibrosante que se identifica en las pruebas de radiología como una infiltración difusa en el parénquima pulmonar, causando una restricción en las pruebas funcionales respiratorias. (55)

La afectación pulmonar tiende a ocurrir temprano en el transcurso de la enfermedad. (56). La prevalencia de la enfermedad depende de la población estudiada, produce significancia clínica en alrededor de 42% de pacientes, y se observa en las autopsias hasta en el 80% de los casos. En los ensayos e investigaciones de una cohorte europea de esclerodermia con 5800 pacientes, el

35% de las muertes fueron atribuidas directamente a EPID en un 35%; y en 26% a la hipertensión arterial pulmonar. (50)

El enfoque en cuanto a la fisiopatología de la enfermedad se centra en un mosaico que comparte componentes vasculares, inmunes y mesenquimales; desencadenados a raíz de una lesión en el tejido conectivo que implica una respuesta disfuncional. El objetivo de todos los estudios se encuentra en el reconocimiento de la capacidad para la regresión o resolución de la fibrosis, lo cual conlleva a evitar las complicaciones graves de la enfermedad. (57)

La detección precoz y en etapas preclínicas de la enfermedad pulmonar, es fundamental. Se deben realizar pruebas funcionales respiratorias como la medición de la capacidad vital forzada (CVF) y difusión de monóxido de carbono (DLCO) para establecer la fisiología pulmonar basal; así también como la medición de la presión sistólica ventricular derecha estimada por ecocardiografía transtorácica. La tomografía de alta resolución es el medio más sensible para identificar la intersticiopatía, ya que el lavado broncoalveolar no predice la presencia o progresión de la enfermedad pulmonar en estos pacientes. (55)

Hasta el momento, no hay drogas aprobadas por la FDA para el tratamiento de la enfermedad intersticial asociada a esclerosis sistémica; no todos los pacientes requieren intervención terapéutica, ya que los que no presentan síntomas o aquellos con síntomas leves no requieren tratamiento; una desmejoría en las pruebas funcionales respiratorias o un empeoramiento de la disnea o progresión radiológica requieren inicio de terapia inmunomoduladora. (55)

Se han realizado estudios sobre ensayos controlados, ramdomizados, doble ciego , en donde se han puesto de manifiesto el amplio beneficio de la ciclofosfamida y el micofenolato como fármacos inmunosupresores utilizados en la EPID asociada a esclerosis sistémica.

Recientemente, se ha publicado el estudio SENSICIS sobre la seguridad y eficacia del nintedanib en la fibrosis pulmonar asociada a esclerosis sistémica, un antifibrótico aprobado en el tratamiento de la fibrosis pulmonar idiopática, inhibidor de la tirosina quinasa (58).

Además, se ha publicado el ensayo SCOT proponiendo la terapia mieloablativa y trasplante de células madre autólogas seleccionadas con CD34 + en pacientes con enfermedad cutánea y pulmonar severa, cuyo resultado fue superior a la ciclofosfamida en las variables primarias y secundarias y en la supervivencia de eventos (54); lo que plantearía un cambio en los últimos años en el tratamiento de estos pacientes.

Otras manifestaciones clínicas dadas por la fibrosis de órganos: del tubo digestivo, aparato respiratorio, sistema nervioso y aparato osteoartromuscular también son resultado del daño endotelial y su aparición o progresión podría estar relacionado con determinados biomarcadores (10).

Alteraciones Inmunológicas.

La alteración inmunológica es capital en la fisiopatogenia de la esclerodermia. Si bien se desconoce la causa y el efecto la asociación entre fenómenos de daño micro vascular podrían ser desencadenados por procesos inmunológicos.

Como manifestación más representativa de alteración inmune se encuentran la producción de auto anticuerpos del tipo Anticentromeros (ACA), Anti Sclero 70, y los anticuerpos antinucleares, siendo no solo herramientas diagnosticas sino también pronosticas en el desarrollo de la enfermedad (3, 4, 20).

En la cohorte española de esclerodermia, Simeón et al hallaron similares características serológicas a los descriptos anteriormente (51).

Hipertensión vascular pulmonar.

Enfermedad vascular caracterizada por un aumento de la resistencia en la pared de la arteria pulmonar.

La prevalencia en la esclerodermia es elevada, siendo de 8 a 12 % según la serie tomada (48)

Un grupo mexicano encontró una prevalencia de 36,6 % en mestizos mejicanos lo que podría sugerir más gravedad en este grupo étnico (59) . Actualmente no existen estudios en grupos latinoamericanos de esclerodermia e hipertensión pulmonar.

Es una de la causas más importantes de muerte en la esclerodermia es la presencia de Hipertension pulmonar, un grupo español de estudio de la esclerodermia informo que la presencia de hipertensión pulmonar es la complicación y causa de muerte mas importante en su cohorte(51)

La Hipertensión pulmonar en la esclerodermia se debe a 2 causas principales : la obstrucción vascular fibroproliferativa de vasos pequeños y medianos de la circulación pulmonar y la hipoxemia crónica derivada del daño del parénquima pulmonar en la intersticiopatía propia de la esclerodermia (60)

La Endotelina-1 como factor vasoconstrictor y profibrótico y la E-selectina como expresión de adherencia celular anómalo podrían representar marcadores de enfermedad vascular en sus diferentes etapas (51)

Las determinaciones de las presiones pulmonares pueden ser determinados por Ecocardiografía transtoracica y Cateterismo cardiaco, donde los valores de presión vascular en la arteria pulmonar varían según los métodos y las series. (60)

Una correcta evaluación ecocardiografía de las presiones pulmonares se obtiene con la determinación de la velocidad de flujo por la arteria pulmonar y la presión diastólica de la arteria pulmonar. Existen otros parámetros al a ser incluidos, como el cambio fraccional de aérea, el TAPSE (Movimiento anular tricúspide), y la valoración de la onda S del doppler tisular pulsado podrían mejorar la sensibilidad del estudio. (revista sociedad americana de cardiología 2015).

4. Metodología

4.1 Diseño

Estudio observacional retrospectivo, de corte transversal, con componente analítico en pacientes con diagnóstico de esclerodermia.

4.2. Población

Población enfocada

Pacientes con diagnóstico de esclerodermia.

Población accesible

Pacientes con esclerodermia que acudan a control clínico al Departamento de Reumatología del Hospital de Clínicas y que hayan sido incluidos en el estudio ESPADA, en el en el periodo de estudio.

Criterios de inclusión

- a) Pacientes con diagnóstico de esclerodermia basados en la clasificación ACR-EULAR 2013.

- b) Pacientes con diagnóstico de Esclerodermia enrolados en el grupo de Estudio de Esclerodermia (ESPADA)

Criterios de exclusión

- a) Ser portador de otra patología reumatológica o neoplásica conocida.
- b) Pacientes con esclerodermia no incluidos en el grupo ESPADA.
- c) Pacientes cuyas historias clínicas no presenten consignados los datos requeridos en nuestro estudio.

4.3. Reclutamiento

Fueron revisadas historias clínicas de pacientes con diagnóstico de Esclerodermia. El grupo de pacientes incluidos fueron los pacientes del grupo ESPADA. El grupo ESPADA constituyen una cohorte de estudio retrospectiva específica a pacientes con esclerodermia del grupo de estudio de enfermedades autoinmunes, a los cuales se les realizo extracción de muestras de sangre para la constitución de un biobanco.

Se remitieron notas de solicitud de permiso a las autoridades de la institución (Dirección de Investigaciones y la Dirección Asistencial General del Hospital de Clínicas)

4.4. Muestreo

No probabilístico, a conveniencia.

4.5. Variables de interés

Variables cualitativas.

Sexo:

Femenino/masculino.

Características clínicas:

- Tipos de Esclerodermia Sistémica en: 1. Limitada definida como la afección cutánea en rostro y/o que no se extiende más allá de la piel de los codos y rodillas y 2. Difusa que afecta además la piel de los muslos, los brazos y el tronco Clasificación EUSTAR et al (2013) (Anexo 7)
- Presencia o no de úlceras digitales en dedos de manos y pies consignadas como Presente/Ausente.
- Fenómeno de Raynaud. Definido como cambio de coloración de piel en reacción al frío y como resultado del vasoespamo. Caracterizado por una fase pálida, cianótica y eritematosa. Se considera presente cuando se presentan al menos dos de estas etapas.
- Clasificación de Fenómeno de Raynaud en grados del 0 al 4, según de clasificación de Humers et al. (2009)(24) Anexo 6. Para el análisis de datos con respecto a las variables Endotelina y E selectina, además de las comparación con las variables clínicas se procedió a la reagruparon en 2 grupos : Grupo 1, correspondiente al Raynaud simple o menos severo del grupo de Hummers y Grupo 2 correspondiente al reunión de los los grados 2,3 y4 que representan las formas mas severas.
- Valoración de Hipertensión vascular pulmonar: como presente o ausente. Definida como valores de presión sistólica en la arteria pulmonar arterial > 35 mmHg medidos por ecocardiografía doppler transtoracica.(American College of Cardiology 2015)
- Tabaquismo, consignados como si/no. Se considerará presencia de tabaquismo: Presente y activo durante el estudio o historia previa de utilización del tabaco, en alguna de sus formas y estando consignado en la historia clínica.

- Tratamiento Regular: consignado como presente o ausente. Se define pacientes con tratamiento regular durante el último año, previa a la toma de muestra.
- Presencia de anticuerpos específicos, consignados como positivos o negativos, fueron valorados los siguientes:

Anticuerpos Antinucleares (ANA), Determinados por Inmunofluorescencia indirecta considerado positivo a títulos 1/160.

Anticentromero (ACA), Determinados por el método EIA (Enzimo inmuno análisis) automatizado, considerándose valores positivos valores > 10 UI/ml

Antitopoisomerasa I (ATA). Determinados por método EIA automatizado. Siendo considerados positivos valores mayores a 25 UI/ml

Variables cuantitativas.

- Edad de inicio de síntomas, consignados en años vividos, desde el inicio de la sintomatología hasta el diagnóstico.
- Tiempo de evolución desde inicio de los síntomas a la toma de la muestra: tomado en años, Con respecto al tiempo de evolución se crearon dos conjuntos de pacientes, el criterio utilizado fue la mediana del tiempo de 4 años, los grupos formados correspondían a un periodo de tiempo inferior o superior a este.
- Score de Rodnan: consignados como valores en números enteros, según la clasificación LeRoy Anexo 7. Definido por la valoración de la piel al examen físico de 17 áreas anatómicas: en 4 grados: piel normal, engrosada, engrosada no permite pellizcar, engrosada y adherida. Así mismo, en la comparación de síntomas de daño vascular (Ulceras y el FRy) con el Score de Rodnan se establecieron dos grupos, correspondientes a una puntuación

< 10 o \geq 10. Este parámetro se determinó acorde al hallazgo de Simeón et. al (2013)

donde el valor superior a 10 representa mal pronóstico(51)

- Presión arterial pulmonar: obtenidos por ecocardiografía doppler transtoracica, consignado en mmHg, siendo considerados valores anormales como los mayores a 35 mmHg.
- Endotelina 1: Determinados por método de Enzimo inmuno análisis automatizado , mediante Kit DET 1100 –R\$D SSYSTEMS Endothelin -1 Quantikine , consignándose valores en nanogramos por mililitro(ng/ml) , considerándose rango de referencia de 0,47 - 2,00 ng/ml.
- E-selectina: Determinados por método de Enzimo inmuno análisis automatizado Valorados con Kit DSLE00-1Kit-R\$D SYSTEMS Human sE-Selectin/CD62E valores en ng/dl, siendo considerados como anormales valores de referencia 17,9 -79,2 40 ng/dl.

4.6. Instrumentos

Los datos de identificación serán registrados en una planilla diseñada para el proceso de investigación, donde se incluirán los datos resultados clínicos, laboratoriales y de otros estudios como Ecocardiografía Doppler.

Las variables clínicas fueron obtenidas de forma retrospectiva mediante la revisión de historias clínicas de pacientes con Diagnostico de Esclerodermia del Servicio de Reumatología del Hospital de Clínicas. Se utilizaron criterios ACR-EULAR 2013 (Anexo 4) para clasificación de los tipos de Esclerodermia. Los resultados de exploración clínica y otros datos corresponden a evaluaciones realizadas en fechas lo más cercanas posibles (\pm 12 semanas) a la toma de muestras biológicas por el grupo ESPADA.

Las muestras de plasma para el análisis de biomarcadores fueron obtenidas de los pacientes con Esclerodermia que participaron en la toma de biocomponentes sanguíneos del Grupo ESPADA (Grupo de estudio de Esclerodermia), cedidas por el Biobanco de Enfermedades Autoinmunes del Instituto de Ciencias de la Investigación (IICS) en el marco del Estudio IMIDS financiado por CONACYT. Se almacenó a -40° Celsius desde el momento de la extracción hasta el análisis. El análisis de muestras para obtener factor de crecimiento endotelial se analizaron mediante el test de Elisa realizado según estándares.

Los valores de Presión Ventricular Derechas estimadas por técnica de Ecocardiografía Doppler fueron tomados como indicador de enfermedad vascular pulmonar. Esta técnica se realizó en varios centros por motivos ajenos al estudio. Se tomaron datos más cercanos a la fecha de extracción de plasma.

4.7. Análisis Estadísticos

4.7.2 Análisis y gestión de datos

Las características clínico-demográficas de los pacientes incluidos fueron descriptos y presentados en tablas.

Las características clínicas, epidemiológicas y serológicas de los pacientes fueron resumidas mediante estadística descriptiva en tablas.

Se aplicaron pruebas estadísticas no paramétricas. Para comparar los valores de E-selectina y Endotelina según características clínicas, epidemiológicas y serológicas se utilizó la Prueba U de Mann-Whitney. Esta prueba es análoga a la prueba t de dos muestras. Solo que a diferencia de ésta, la prueba utilizada no utiliza ningún tipo de supuesto sobre la variable. Además, es más adecuado para el tamaño de muestra utilizado.

Para la comparación de variables categóricas dicotómicas se utilizó la prueba exacta de Fisher. Es la análoga a la Prueba Chi-cuadrado. Pero es la versión que no necesita un tamaño de muestra grande para que sus resultados sean válidos.

Los datos de los cuestionarios serán consignados en una planilla electrónica (Microsoft Office Excel 2013) y posteriormente analizados utilizando el paquete estadístico SPSS versión 20.00.

4.8. Control de Calidad

Manual de operaciones: Se realizaron una revisión de Historias Clínicas Cada ficha numerada fue verificada por el responsable del proyecto después del llenado de la misma, a fin de verificar la correcta obtención de los datos. Estarán a cargo del investigador principal el análisis y la gestión de los datos, así como la redacción y publicación de los resultados.

Los datos laboratoriales referentes a los Biomarcadores de angiogénesis y adhesión celular serán proporcionados por el Grupo de Estudio de Esclerodermia ESPADA en el marco de la determinaciones serológicas realizadas en el estudio: Riesgo Cardiovascular en esclerodermia (RCV ES) PINV15-346 y PINV-699 financiado por CONACYT .

Los datos clínicos consignados corresponderán a fechas los más cercanas posibles a la extracción de las muestras de sueros del estudio anteriormente

Análisis de datos

- Para describir características clínicas, cutáneas, epidemiológicas y serológicas biológicas de pacientes con esclerodermia, se realizaron estadísticas descriptivas de: Hipertensión vascular pulmonar, tratamiento, Score de Rodnan, tiempo de evolución de la enfermedad,

tabaquismo, forma de esclerodermia, úlceras cutáneas y Fenómeno de Raynaud, edad, sexo, ANA, ATA, ACA, Valores de E-selectina y Endotelina.

- Se analizaron valores séricos de Endotelina-1 y E selectina con la edad, sexo.
- Para estudiar la asociación entre valores de Endotelina-1 y E selectina con la presencia y severidad de la vasculopatía periférica se tomó como variable principal el Fenómeno de Raynaud.
- En la determinación de la asociación entre los valores de Endotelina-1 y E selectina con la afección pulmonar, tipo de esclerodermia y el Score de Rodnan.

4.10. Consideraciones éticas

Este protocolo de investigación fue elaborado considerando las declaraciones de Helsinki será evaluado para su aprobación por el Comité de Ética de Investigación de la FCM – UNA. Se mencionan los principios de Autonomía, beneficencia y justicia (No habrá discriminación de sexo, credo ni condición social para la inclusión de los sujetos en el estudio), los que serán garantizados a través de la presentación del consentimiento informado previamente firmado en el marco del estudio Riesgo Cardiovascular en la Esclerodermia PINV 15-346 y PIN 15-699 financiado por CONACYT y realizado por el grupo ESPADA

En la misma se explicó el procedimiento a realizar, el carácter libre y voluntario para la participación en el estudio, la ausencia de riesgos para la salud, la importancia del estudio y la absoluta confidencialidad con que serán gestionados los datos y resultados obtenidos. En cualquier momento del estudio los pacientes o responsables podrán retirarse voluntaria y libremente del proceso, independientemente del motivo que consideren.

Los gastos del proceso no afectarán a los participantes. En relación a los principios de beneficencia y justicia, caso de ser necesario se brindará orientación médica totalmente gratuita con el fin de colaborar activamente en el conocimiento y tratamiento de la enfermedad explicando que este estudio no proporcionará medicación o tratamiento alguno. El riesgo que significa este estudio para los pacientes es prácticamente nulo. No serán objeto de ensayo de fármacos ni procedimientos cruentos.

Financiación: Estudio financiado por CONACYT en el marco de su convocatoria Prociencia 2015.

RESULTADOS

Caracterización clínica, epidemiológica e inmunológica

Fueron incluidos en este estudio un total de 38 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. Se constató una relación 3:1 del sexo femenino con respecto al masculino, el valor de la media de la edad de los pacientes fue $50,1 \pm 14,43$ años. El valor de la media de la duración de la enfermedad desde el inicio de los síntomas hasta el momento del ingreso al estudio fue de $7,8 \pm 7,08$ años. Se encontraban en tratamiento regular el 86%, con corticosteroides el 47 % y/o inmunosupresores el 84% de los pacientes. Ver tabla 1

Tabla 4:

Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes

Características	Pacientes con Esclerodermia n=38 (%)
Sexo Femenino	29 (76 %)
Masculino	9 (24 %)
Tipo de esclerodermia	
• Difusa	23 (60,5%)
• Limitada	15 (39,5%)
Ulceras	7 (18,4%)
Fenómeno de Raynaud	36 (94,7%)
Tabaquismo activo	5 (21 %)
Tratamiento inmunosupresor	33 (86%)

La forma clínica más frecuente fue la esclerosis sistémica variedad difusa (60%). El grado de afectación cutánea en este grupo de pacientes fue valorado con el Índice de Rodnan, resultando con un promedio de $19,76 \pm 10,98$.

La mayoría de los pacientes incluidos presentaban FRy desde el inicio de la enfermedad. Utilizando la clasificación del FRy en grados de severidad, se observaron las cinco formas clínicas descritas, siendo la más frecuente el FRy de Grado 1 o simple (44,7%) seguido del FRy de Grado 2 (28,9%) tal y como se observa en la Tabla 5.

Tabla 5:

Score de Gravedad del Fenómeno del Raynaud en los pacientes .

Características	Pacientes con Esclerodermia n=38 (%)
Ausente	2 (5,3 %)
Grado 1	17 (44,7%)
Grado 2	11 (28,9%)
Grado 3	7 (18,4 %)
Grado 4	1 (2,6%)

La presencia de úlceras cutáneas digitales se observó en 6 pacientes y en 1 paciente la úlcera estaba ubicada en zona de extensión. No se constató úlceras sobre zonas de calcinosis. El valor de la media del índice de Rodnan en los pacientes con úlceras resultó 1,35 veces más que el promedio de los pacientes sin úlcera. El subtipo de esclerodermia difuso fue el que más frecuentemente presento úlceras con 6 casos que representando el 85% de los pacientes.

Determinación de los autoanticuerpos y niveles de Endotelina-1 y E-selectina

La presencia de auto anticuerpos (ANA, ATA y ACA) en las formas clínicas difusa y localizada se describen en la siguiente Tabla .6

Tabla 6:

Presencia de anticuerpos en las formas clínicas difusa y localizada

Anticuerpos	Esclerodermia Difusa	Esclerodermia localizada
	n=23 (%)	n =15 (%)
ANA	15 (65%)	9 (60%)
ATA	9 (39%)	3 (20%)
ACA	4 (17%)	4 (26%)

ANA: Anticuerpos antinucleares, ATA: Anticuerpos anti-Topoisomerasa I

ACA: Anticuerpos anti-centrómero.

La determinación de serológicos, Endotelina-1 y E-selectina se realizó en los 38 pacientes, los resultados de estos se muestran en la Tabla 4.

Valores promedios de Endotelina-1 y E selectina de los 38 pacientes fueron $2,4 \pm 2,48$ ng/ml y 58.29 ± 27.31 ng/ml respectivamente

Tabla 7:

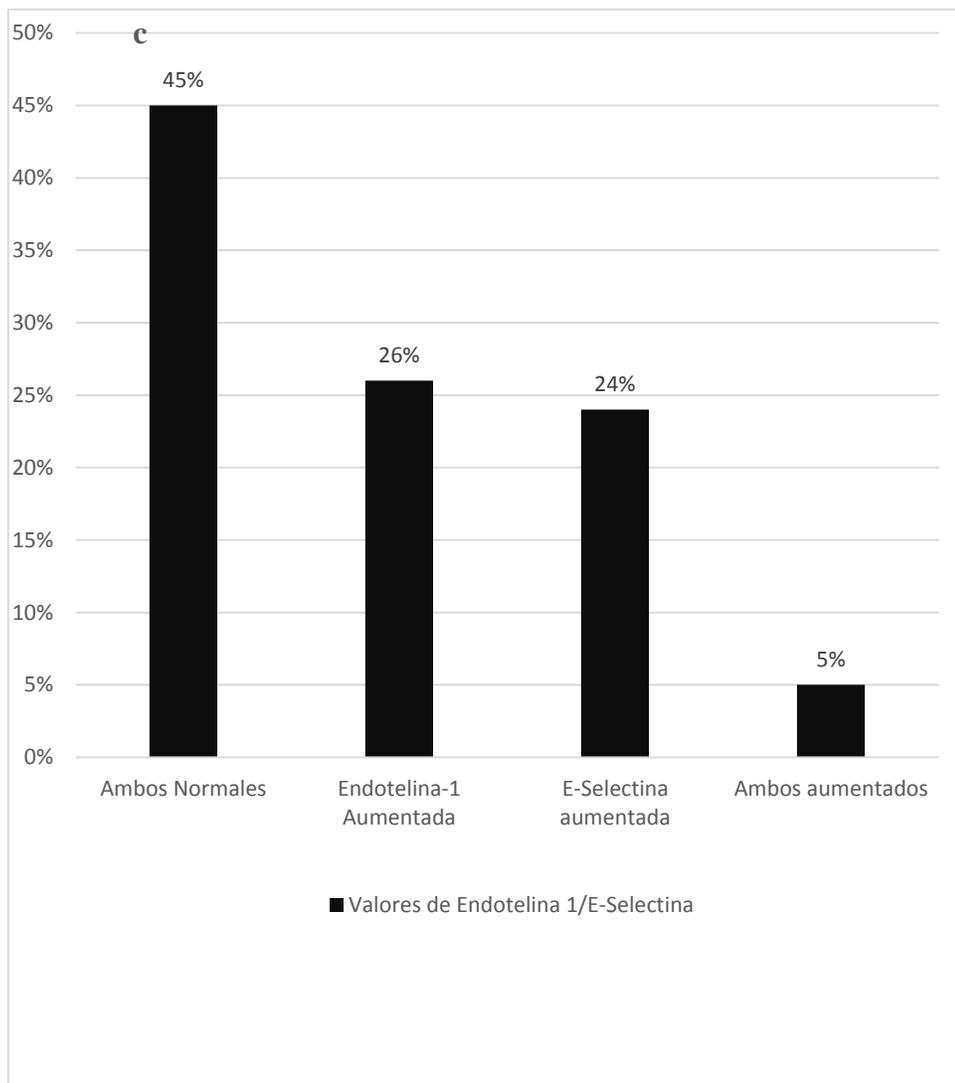
Dosaje de E-selectina y Endotelina-1 de los pacientes con Esclerodermia (n=38)

Pacientes	Género	E-Slectina (ng/ml)	Endotelina (ng/ml)
01	M	67,1	4,3
02	M	67,6	6,9
03	M	75	7,3
04	F	66,7	3,1
05	F	72,3	2,1
06	F	18	1,2
07	F	29	2,1
08	F	66	2
09	F	70,5	1,3
10	F	12	9,8
11	F	83,1	5,2
12	M	64	3,1
13	F	42	2
14	F	54	9,7
15	F	80	1,7
16	F	98	0,95

17	F	64	5,60
18	M	38,8	0,77
19	F	40,5	1,46
20	F	40,4	1,33
21	F	48,9	1,48
22	F	68	0,8
23	F	90	1,00
24	M	89,9	0,95
25	M	55,6	0,88
26	F	19,8	0,9
26	F	49,9	1,48
28	F	54,3	0,88
29	M	89,9	1,58
30	F	12,01	0,76
31	F	63,4	2,97
32	F	62,5	1,57
33	F	1,15	1,15
34	F	48,6	0,88
35	F	109,1	1,76
36	F	22,7	1,65
37	F	60	1,01
38	M	120,4	0,95

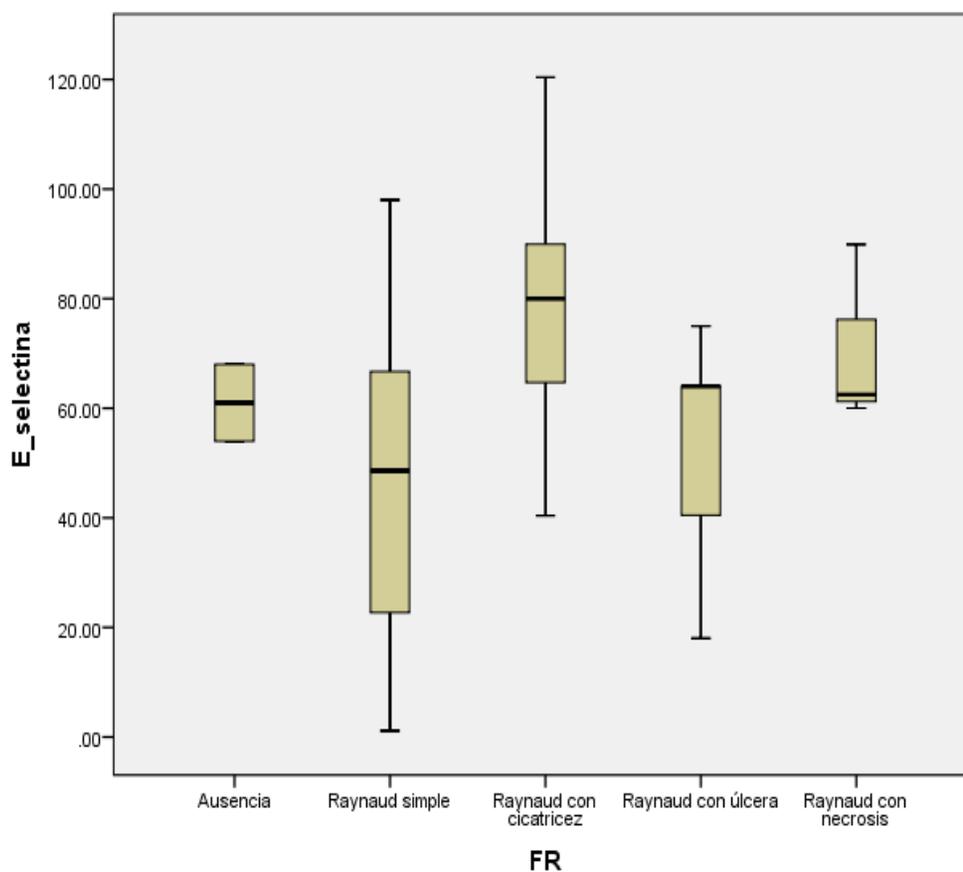
Presentaron niveles elevados de Endotelina-1 en total 12 (32%) de los pacientes, el valor promedio en estos fue: $2,34 \pm 2,77$ ng/ml. Con respecto a la E-Selectina se observó que 11 (29%) tenían niveles aumentados, el promedio en este grupo fue: $71.41 \pm 42,14$ ng/ml. Figura 1).

Figura 1: Valores de Endotelina-1 y E-Selectina en los pacientes con Esclerodermia.



El valor de la media de las concentraciones de la E selectina en relación a los diferentes grados de FRy se puede observar en el grafico 4 . Los pctes con grado II de FRy son los que presentan unos valores de las concentraciones medias mas elevadas.

Figura 2: Valores de E-Selectina en la población divididos según grados de de gravedad del Fenomeno de Raynaud.



Se empleó la prueba U de Mann-Whitney para el análisis de la asociación de los valores de E-selectina y Endotelina-1 con las variables clínicas, epidemiológicas y serológicas (tiempo de

evolución de la enfermedad desde el inicio de los síntomas, sexo, tipo de esclerodermia, y la presencia o no de tratamiento, tabaquismo, úlceras digitales, hipertensión pulmonar, Rodnan, anticuerpos grados de severidad del fenómeno de Raynaud).

Tabla 8:

Comparación de los niveles de E selectina y Endotelina en los pacientes según Prueba U de Mann-Whitney para características clínicas, epidemiológicas e inmunológicas.

Características	E-selectina Prueba U de Mann- Whitney p-valor	Endotelina-1 Prueba U de Mann- Whitney p-valor
Tiempo de evolución de la enfermedad	0.015	0.240
Sexo	0.035	0.262
Tratamiento	0.290	0.820
Tabaquismo	0.195	0.160
Tipo de esclerodermia	0.622	0.151
Úlceras digitales	0.638	0.309
Fenómeno de Raynaud	0.845	0.948
Hipertensión pulmonar	0.255	0.116
ANA (+)	0.683	0.123
ATA (+)	0.401	0.096
ACA (+)	0.420	0.162
Índice Rodnan	0.420	0.945

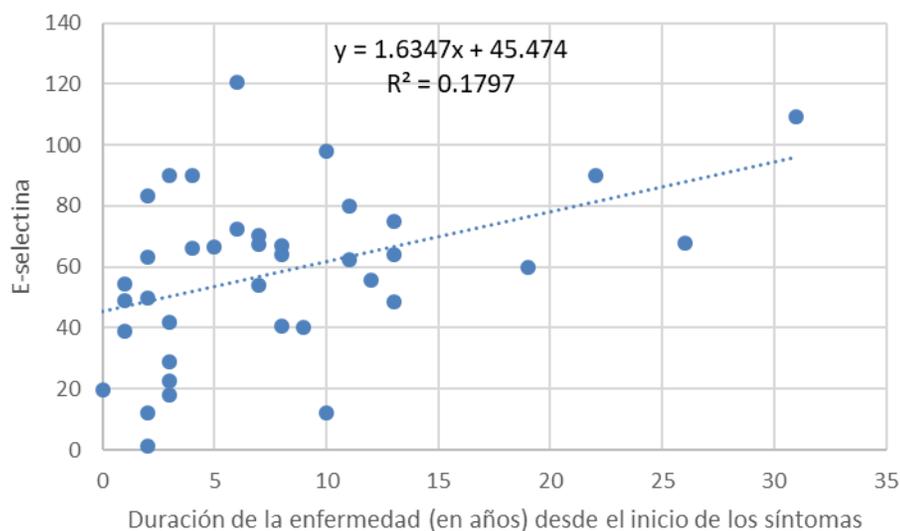
Los valores elevados de la selectina estuvieron asociados a grados de mayor severidad del FRy (p: 0.044, OR: 9,33 IC 95%: 1-86) pero no a la presencia de úlceras (p: 0,31). Las

concentraciones elevadas de endotelinas no estuvieron asociadas estadísticamente significativa a la presencia de úlceras ($p=0,65$) y los grados de mayor severidad del FRy

El p-valor fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$) para las variables: a) mayor tiempo de evolución de la enfermedad desde el inicio de los síntomas ($p=0.015$), b) sexo masculino ($p=0.035$) (Tabla 5). Sin embargo, todos los pacientes con úlceras digitales presentaron valores normales de E-selectina.

En el modelo de regresión lineal propuesto, la duración de la enfermedad (en años) desde el inicio de los síntomas es un predictor para el valor promedio de la E-selectina. Esta relación positiva indica que a medida que aumenta la duración de la enfermedad aumentan los valores promedio de E-selectina (Figura 2). Aunque, el R cuadrado=0.18; indica que esta variable solo explica un 18% de la variabilidad total de los valores de la E-selectina.

Figura 2. Regresión lineal entre la E-selectina y la Duración de la enfermedad desde el inicio de los síntomas.



En el análisis de E-selectina el p-valor fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$) para las variables: a) mayor tiempo de evolución de la enfermedad desde el inicio de los síntomas ($p= 0.015$), b) sexo masculino ($p=0.035$) (Tabla 8). Sin embargo, todos los pacientes con úlceras digitales presentaron valores normales de E-selectina.

3-Valoración de asociación de manifestaciones de daño vascular Úlcera y Raynaud con las características clínicas

Se empleó la prueba U de Mann-Whitney para el análisis de la asociación con la presencia de úlceras cutáneas y FRy con las variables clínicas, epidemiológicas y serológicas (tiempo de evolución de la enfermedad desde el inicio de los síntomas, sexo, tipo de esclerodermia, y la presencia o no de tratamiento, tabaquismo, úlceras digitales, hipertensión pulmonar, Rodnan, anticuerpos grados de severidad del fenómeno de Raynaud).

No se constató una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de autoanticuerpos y la presencia de úlceras ($p > 0,05$) ni el grado de severidad del FR y

Tabla 9:

Comparación entre la presencia de lesión de daño microvascular y características a características clínicas, epidemiológicas y inmunológicas

Características	Úlceras	Fenómeno de Raynaud
Tiempo de evolución de la enfermedad	0,427	0,316
Sexo	0,322	0,128
Tabaquismo	0,624	0,695

Tipo de esclerodermia	0,209	0,082
Índice de Rodman	0,990	0,114
ANA (+)	0,786	0,234
ATA (+)	0,409	0,879
ACA (+)	0,501	0,609

7. DISCUSIÓN

Las características demográficas: en cuanto la edad promedio y predominancia de sexo hallado en nuestro estudio fueron similares a la población mundial descritas en la literatura (29) (32) (33) (15). Debe tenerse en cuenta que las referencias bibliográficas latinoamericanas son escasas, sería de gran utilidad la creación de cohortes multicentricas a fin de determinar características propias.

El tiempo de duración de la enfermedad y tiempo transcurrido entre aparición de síntomas no Raynaud hasta el diagnóstico es mayor en nuestra población comparados a los estudios similares características (25) (16) este retardo se explicaría el nivel sociocultural de los sujetos incluidos en el análisis.

La presentación de anticuerpos en cuanto a proporción de ANA, Scl70 y Anticentromero se encuentran presentes en la población analizada, llamativamente en menor porcentaje que la citada por varios estudios (6) (61) (18), incluso de la región (29) la explicación a este fenómeno estaría en las diferencias genéticas y ambientales o simplemente técnicas poco sensibles. Deben realizarse mas estudios genéticos y de asociación para determinar las características de la población paraguaya.

La forma de afección difusa de la esclerodermia sistémica fue la forma clínica más frecuente, si bien este dato también acorde a la literatura citada en este trabajo (3) (51), el

porcentaje podría variar si en el diseño se incluyesen pacientes la forma localizada , esto permitiría tener una visión más global de la frecuencia y sugiere ampliar esta población en futuros trabajos.

No encontramos diferencias clínicamente significativas en cuanto a la extensión de lesión valorada por el score de Rodnan y los valores de Endotelina-1 ni E-selectina , el propósito de esta comparación fue determinar si existía correlación efectiva entre estas variables, pudiendo afirmar que las concentraciones de estas sustancias estaban alteradas a la par del Score sabiendo que éste constituido como factor pronostico como lo refirieron Simeon et en su estudio de cohorte española et al(51) . Esto podría deberse al diseño transversal del estudio, sería ideal la toma de en forma prospectiva en diferentes etapas clínicas de la enfermedad. Otros motivos fundamentales de la no concordancia : diferencias geográficas que determinan variaciones genéticas y ambientales y el tamaño y distribución homogénea de nuestra población o deben tomarse muestras .

Otro hecho llamativo con el Score de de Rodnan promedio en nuestra población fue elevada y similar a las cohortes nombradas en la literatura(25) (16) (62), sin embargo esta característica no se relacionó con desarrollo de úlceras como se ve en otro estudio (22), esto podría deberse también al diseño del estudio y a que los pacientes acuden tardíamente, en estudios posteriores podrían investigarse características propias de la población.

Al analizar la presentación de los fenómenos de daño microvascular (úlceras y fenómeno de Raynaud) , encontramos hechos singulares :la presentación de úlceras cutáneas en nuestra población fue menor a la citada en otros trabajos (21) (50) (51) , consideramos estas diferencias debidas sobre todo a nuestro número total de pacientes , el hecho que el clima cálido de nuestro país podría favorecer su no aparición .El fenómeno de Raynaud se presentó en casi la totalidad

de nuestros pacientes coincidentemente con la bibliografía universal, como mencionaba Cutillo en su revisión sobre el fenómeno de Raynaud: es el signo predictor más fidedigno cuando hablamos de esclerodermia siendo la capilaroscopia la ventana que nos permite valorar la microcirculación(28).

Los porcentajes de pacientes con valores promedio de Endotelina -1 en nuestra cohorte no estuvieron fuera de lo esperado en esta enfermedad, difiriendo de otros estudios (15), tampoco se logró identificar a la misma como biomarcador de desarrollo de úlceras ni Fenomeno de Raynaud , este hallazgo contrasta con un estudio de diseño similar (incluso en el bajo numero de pacientes)y que demostraban cambios en su concentración y mejoría de las lesiones una vez disminuidos su valores una ves tratados con bosentan (52), Estudios como el de Secchi (15) indicaban aumennto de los valores basales pero comparativamente a controles por lo que este estudio no puede afirmar dicho hecho. Los niveles de Endotelina-1 son frecuentemente alterados por factores externos, entre ellos la medicación inmunosupresora ya iniciada previa a la toma de muestras de nuestros pacientes que que podrían estar frenando su producción (47). Seria propicio analizar niveles en 2 tiempos diferentes sobre todo al inicio al inicio de la lesión ulcerosa.

La E-selectina proteína de adhesión celular cuya elevación es observada en proceso inflamatorio autoinmunes como la esclerodermia(8) (11) (63) en nuestro análisis no fue identificada como marcador de daño microvascular tipo ulcera sin embargo su relación positiva fue demostrada tanto afección Fenómeno de Raynaud en sus formas mas graves y el tiempo de evolución,. Esto podría deberse fundamental a la naturaleza de la molecula, perteneciente a la superfamilia familias de inmunoglobulinas cuya producción es persistente mientras dure el

proceso inflamatorio en forma activa ,este fenómeno demostrado por Vergara et al en donde sus pacientes donde si bien no presentaban un patrón numérico continuo la relacionaban con actividad de la enfermedad inflamatoria.(63) La elevación persistente y su relación con el FRy pueden explicarse también por la nula respuesta de estas moléculas al tratamiento, contrariamente a lo que sucedió con la Endotelina .

En nuestro análisis llama se observa bajo porcentaje de pacientes con E selectina elevada a pesar de la formas clínica difusa como la predominante , este fenómeno fue observado en otros análisis como el Hanejawa et al (64) a diferencia podría explicarse en las diferencia metodológicas con respecto a nuestro análisis (los valores d E selectina fueron comparados con controles sanos y en 3 determinaciones diferentes y el nuestro sin controles sanos y transversal). La E-selectina no fue identificada como marcador de afección pulmonar y si pudo observarse valores proporcionales al tiempo de duración, ambos hallazgos coincidentes con la literatura; donde la señalan a la E-selectina juntamente con la Il 2. como pronostica de daño celular en enfermedad pulmonar.(16) Las diferencias genéticas que determinan la producción de ciertas características en cada patología podría influir en este resultado. Las determinaciones laboratoriales, las condiciones del estudio y el azar podrían haber influido en los algoritmo obtenidos. Deben realizarse estudios de cohorte y multirraciales para afrontar mejor estos resultados.

La relación entre marcadores de daño vascular ulceras y fenómeno de Raynaud no fue significativa en ninguna de nuestras comparaciones, para mejorar estas inferencias se sugeriría realizar un estudio longitudinal con mayor numero de pacientes, valorando las características clínicas y su aparición en el tiempo y la actividad de la enfermedad .

Las mayores debilidades de este análisis son estudio es el diseño transversal y el tamaño de la muestra . Tomando en cuenta que ninguno de los biomarcadores se encuentra en el mercado local una de las limitaciones más importantes fueron la falta disponibilidad de recursos económicos para la realización de diferentes pruebas en centros de referencia y la necesidad de la importación de los mismos, como las determinaciones también son pioneras, la falta de pericia en el personal laboratorial podría haber contribuido con resultados no acordes a literatura mundial..

Este trabajo, el primero en Paraguay podría constituirse en el puntapié inicial para la creación de líneas de investigación específicas.

8. CONCLUSIONES

El presente trabajo tuvo como objetivo principal identificar biomarcadores de daño endotelial como la Endotelina y E-selectina y su asociación con síntomas de daño microvascular: Ulceras digitales y Raynaud en pacientes con Esclerodermia además buscar relacionarlos otras características clínicas de los pacientes, para ello se diseñó un protocolo de trabajo adecuado para la consecución de resultados .

a. Las variables clínicas más resaltantes fueron el sexo femenino predominante, la edad promedio de 50 años, la presencia de fenómeno de Raynaud en 96% de la población y úlceras digitales en el 18 % ,los marcadores serológicos más frecuentemente hallados fueron los anticuerpos ANA,Scl 70 y Anticentomero. La forma más común de la Esclerodermia fue la variedad difusa.

b. No se identifica a la Endotelina-1 ni la E-Selectina como biomarcadores de daño endotelial en pacientes con úlceras cutáneas .

c. La E- selectina presento correlación con las formas graves FRy con el tiempo de evolución de la enfermedad por lo que podrían constituirse como biomarcador de evolución, se requieren diseños de estudio más específicos podría determinarse como tal.

d. No se halló correlación entre síntomas de daño microvascular (úlceras y Fenomeno de Raynaud) con otras características clínicas.

e. Este estudio se constituye el primero en su tipo en Paraguay , se constituiría en el puntapié inicial de nuevas líneas de investigación en esta enfermedad.

Se requieren ms estudios de este tipo para arrojar resultados mas ajustados a la realidad de nuestra población general.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Assassi S, del Junco D, Sutter K, McNearney TA, Reveille JD, Karnavas A, et al. Clinical and Genetic Factors Predictive of Mortality in Early Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 15 de octubre de 2009;61(10):1403–11. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2883167/>
2. Dapena MCF. Diferencias clínico-epidemiológicas según sexo en la cohorte del registro español de esclerodermia [Internet] [<http://purl.org/dc/dcmitype/Text>]. Universidade de Santiago de Compostela; 2015 [citado 12 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=135348>
3. Gómez KE, Fermín MIJ, Frías RCM, Ramírez NC. Perfil epidemiológico de la Esclerodermia localizada tipo Morfea en el Instituto Dermatológico Dominicano y Cirugía de Piel “Dr. Huberto Bogaert Díaz” durante el periodo de Diciembre 2008- Diciembre 2013. 2014;3.
4. Durmus N, Park S-H, Reibman J, Grunig G. Aberrant Immune Response with Consequent Vascular and Connective Tissue Remodeling – Causal to Scleroderma and Associated Syndromes such as Raynaud Phenomenon and Other Fibrosing Syndromes? *Curr Opin Rheumatol*. noviembre de 2016;28(6):571–6.
5. Steen VD. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum*. agosto de 2005;35(1):35–42.

6. Mahler M, Mierau R, Genth E, Blüthner M. Development of a CENP-A/CENP-B-specific immune response in a patient with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* julio de 2002;46(7):1866–72.
7. Walker JG, Fritzler MJ. Update on autoantibodies in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol.* noviembre de 2007;19(6):580–91.
8. Pattanaik D, Brown M, Postlethwaite BC, Postlethwaite AE. Pathogenesis of Systemic Sclerosis. *Front Immunol* [Internet]. 8 de junio de 2015;6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4459100/>
9. LeRoy EC. ESCLEROSIS SISTÉMICA: una perspectiva vascular - ScienceDirect [Internet]. [citado 4 de septiembre de 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889857X05702957>
10. Wick G, Grundtman C, Mayerl C, Wimpissinger T-F, Feichtinger J, Zelger B, et al. The immunology of fibrosis. *Annu Rev Immunol.* 2013;31:107–35.
11. Munro JM. Endothelial-leukocyte adhesive interactions in inflammatory diseases. *Eur Heart J* [Internet]. diciembre de 1993 [citado 7 de septiembre de 2017];14 Suppl K:72–7. Disponible en: <http://europemc.org/abstract/med/7510638>
12. Distler JHW, 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.* septiembre de 2003;47(3):149–61.

13. Distler O, Del Rosso A, Giacomelli R, Cipriani P, Conforti ML, Guiducci S, et al. Angiogenic and angiostatic factors in systemic sclerosis: increased levels of vascular endothelial growth factor are a feature of the earliest disease stages and are associated with the absence of fingertip ulcers. *Arthritis Res.* 2002;4(6):R11.
14. Baraut J, Michel L, Verrecchia F, Farge D. Relationship between cytokine profiles and clinical outcomes in patients with systemic sclerosis. *Autoimmun Rev.* diciembre de 2010;10(2):65–73.
15. Secchi ME, Sulli A, Pizzorni C, Cutolo M. Endothelin-1 in systemic sclerosis. 1 [Internet]. 2007 [citado 4 de septiembre de 2019];129–34. Disponible en: <https://reumatismo.org/index.php/reuma/article/view/reumatismo.2007.129>
16. Wodok-Wieczorek K, Salwowska N, Syguła E, Wodok A, Wcisło-Dziadecka D, Bebenek K, et al. The correlation between serum E-selectin levels and soluble interleukin-2 receptors with relation to disease activity in localized scleroderma. *pdia* [Internet]. 2018 [citado 5 de octubre de 2019];35(6):614–9. Disponible en: <https://www.termedia.pl/doi/10.5114/ada.2018.77613>
17. Sgonc R, Gruschwitz MS, Dietrich H, Recheis H, Gershwin ME, Wick G. Endothelial cell apoptosis is a primary pathogenetic event underlying skin lesions in avian and human scleroderma. *J Clin Invest.* 1 de agosto de 1996;98(3):785–92.
18. Hudson M, Mahler M, Pope J, You D, Tatibouet S, Steele R, et al. Clinical correlates of CENP-A and CENP-B antibodies in a large cohort of patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* abril de 2012;39(4):787–94.

19. Eckes B, Wang F, Moinzadeh P, Hunzelmann N, Krieg T. Pathophysiological Mechanisms in Sclerosing Skin Diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2017;4:120.
20. S. BELLANDO-RANDONE, S. GUIDUCCI, M. MATUCCI-CERINIC. Sección 6. Capítulo 31 .Esclerodermia-Definiciones. En: *Manual de La Sociedad Española de Reumatología [Internet]*. Primera Edición. Barcelona: Elsevier España, S.L; 2014. p. 192 al 195. Disponible en: http://www.ser.es/wp-content/uploads/2015/09/Manual_ERAS.pdf
21. Mouthon L, Carpentier PH, Lok C, Clerson P, Gressin V, Hachulla E, et al. Ischemic digital ulcers affect hand disability and pain in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. julio de 2014;41(7):1317–23.
22. Mihai C, Landewé R, van der Heijde D, Walker UA, Constantin PI, Gherghe AM, et al. Digital ulcers predict a worse disease course in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. abril de 2016;75(4):681–6.
23. van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. noviembre de 2013;65(11):2737–47.
24. Castro SV, Jimenez SA. Biomarkers in systemic sclerosis. *Biomark Med [Internet]*. febrero de 2010 [citado 13 de octubre de 2019];4(1):133–47. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3049114/>

25. HUMMERS LK, HALL A, WIGLEY FM, SIMONS M. Abnormalities in the Regulators of Angiogenesis in Patients with Scleroderma. *J Rheumatol* [Internet]. marzo de 2009 [citado 29 de agosto de 2019];36(3):576–82. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4020014/>
26. Sebastiani M, Manfredi A, Lo Monaco A, Praino E, Riccieri V, Grattagliano V, et al. Capillaroscopic Skin Ulcers Risk Index (CSURI) calculated with different videocapillaroscopy devices: how its predictive values change. *Clin Exp Rheumatol*. abril de 2013;31(2 Suppl 76):115–7.
27. Cutolo M, Grassi W, Matucci Cerinic M. Raynaud’s phenomenon and the role of capillaroscopy. *Arthritis Rheum*. noviembre de 2003;48(11):3023–30.
28. 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). octubre de 2016;68(10):2527–39.
29. Careta MF, Romiti R. Localized scleroderma: clinical spectrum and therapeutic update. *An Bras Dermatol* [Internet]. 2015 [citado 12 de octubre de 2019];90(1):62–73. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4323700/>
30. Saraceno EF, Pizzariello GE, Marini MA, Raimondo NA, Ballesteros DO. PRESIDENTE SECRETARIA GENERAL SECRETARIO CIENTÍFICO TESORERA SECRETARIO DE ACTAS. :40.

31. Gottschalk P, Vásquez R, López PD, Then J, Tineo C, Loyo E. Esclerodermia en el Caribe: características en una serie de casos dominicana. *Reumatol Clin* [Internet]. 1 de noviembre de 2014 [citado 12 de octubre de 2019];10(6):373–9. Disponible en: <http://www.reumatologiaclinica.org/es-esclerodermia-el-caribe-caracteristicas-una-articulo-S1699258X14000448>
32. Mayes MD, Lacey JV, Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B, Laing TJ, et al. Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum*. agosto de 2003;48(8):2246–55.
33. Allcock RJ, Forrest I, Corris PA, Crook PR, Griffiths ID. A study of the prevalence of systemic sclerosis in northeast England. *Rheumatology (Oxford)*. mayo de 2004;43(5):596–602.
34. Mateos-Mayo A, Sánchez-Herrero A, Vilas Boas-da Silva PT, Ruedas-Martínez A, Suárez-Fernández R, Avilés-Izquierdo JA. Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con esclerodermia. *Piel* [Internet]. 19 de agosto de 2019 [citado 12 de octubre de 2019]; Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213925119302631>
35. Gelber AC, Manno RL, Shah AA, Woods A, Le EN, Boin F, et al. Race and Association With Disease Manifestations and Mortality in Scleroderma. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. julio de 2013 [citado 12 de octubre de 2019];92(4):191–205. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4553970/>

36. Bossini-Castillo L, Martín J-E, Díaz-Gallo LM, Rueda B, Martín J. Genética de la esclerodermia. *Reumatol Clin* [Internet]. 1 de septiembre de 2010 [citado 12 de octubre de 2019];6:12–5. Disponible en: <http://www.reumatologiaclinica.org/es-genetica-esclerodermia-articulo-S1699258X1000135X>
37. Feghali- Bostwick C, Medsger TA, Wright TM. Analysis of systemic sclerosis in twins reveals low concordance for disease and high concordance for the presence of antinuclear antibodies. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2003 [citado 12 de octubre de 2019];48(7):1956–63. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/art.11173>
38. Beauchef G, Bigot N, Kypriotou M, Renard E, Porée B, Widom R, et al. The p65 Subunit of NF- κ B Inhibits COL1A1 Gene Transcription in Human Dermal and Scleroderma Fibroblasts through Its Recruitment on Promoter by Protein Interaction with Transcriptional Activators (c-Krox, Sp1, and Sp3). *J Biol Chem* [Internet]. 27 de enero de 2012 [citado 12 de octubre de 2019];287(5):3462–78. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3271000/>
39. Wang Y, Kahaleh B. Epigenetic repression of bone morphogenetic protein receptor II expression in scleroderma. *J Cell Mol Med* [Internet]. octubre de 2013 [citado 12 de octubre de 2019];17(10):1291–9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4159013/>
40. Kitano A, Okada Y, Yamanka O, Shirai K, Mohan RR, Saika S. Therapeutic potential of Trichostatin A to control inflammatory and fibrogenic disorders of the ocular surface. *Mol*

Vis [Internet]. 31 de diciembre de 2010 [citado 13 de octubre de 2019];16:2964–

73. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3013068/>

41. Invernizzi P, Miozzo M, Selmi C, Persani L, Battezzati PM, Zuin M, et al. X chromosome monosomy: a common mechanism for autoimmune diseases. *J Immunol*. 1 de julio de 2005;175(1):575–8.
42. Mulligan-Kehoe MJ, Simons M. Vascular disease in scleroderma: angiogenesis and vascular repair. *Rheum Dis Clin North Am*. febrero de 2008;34(1):73–9; vi.
43. Matucci M, Lotti T. Cutaneous and plasma fibrinolytic activity in systemic sclerosis. Evidence of normal plasminogen activation. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 4 de septiembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2125582>
44. Increased factor VIII/von Willebrand factor antigen and von Willebrand factor activity in scleroderma and in Raynaud's phenomenon. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 4 de septiembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6782927>
45. Hafner F, Thomas G, Froehlich H, Steidl K, Brodmann M. Effect of a sequential therapy of bosentan and iloprost versus a monotherapy with bosentan in the treatment of scleroderma related digital ulcers. *Int Angiol*. octubre de 2011;30(5):493–5.
46. Abraham DJ, Vancheeswaran R, Dashwood MR, Rajkumar VS, Pantelides P, Xu SW, et al. Increased levels of endothelin-1 and differential endothelin type A and B receptor expression in scleroderma-associated fibrotic lung disease. *Am J Pathol* [Internet].

- septiembre de 1997 [citado 13 de octubre de 2019];151(3):831–41. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1857854/>
47. Morelli S, Ferri C, Di Francesco L, Baldoncini R, Carlesimo M, Bottoni U, et al. Plasma endothelin-1 levels in patients with systemic sclerosis: influence of pulmonary or systemic arterial hypertension. *Ann Rheum Dis* [Internet]. septiembre de 1995 [citado 13 de octubre de 2019];54(9):730–4. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1009988/>
48. 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* [Internet]. 1 de junio de 2007 [citado 17 de octubre de 2019];66(6):754–63. Disponible en: <https://ard.bmj.com/content/66/6/754>
49. Galluccio F, Matucci-Cerinic M. Registry Evaluation of Digital Ulcers in Systemic Sclerosis. *Int J Rheumatol* [Internet]. 2010 [citado 17 de octubre de 2019];2010. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2938432/>
50. 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. *J Rheumatol*. diciembre de 2007;34(12):2423–30.
51. Simeón-Aznar CP, Fonollosa-Plá V, Tolosa-Vilella C, Espinosa-Garriga G, Campillo-Grau M, Ramos-Casals M, et al. Registry of the Spanish Network for Systemic Sclerosis.

- Medicine (Baltimore) [Internet]. 30 de octubre de 2015 [citado 16 de octubre de 2019];94(43). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4985378/>
52. Cozzani E, Javor S, Laborai E, Drosera M, Parodi A. Endothelin-1 Levels in Scleroderma Patients: A Pilot Study. *ISRN Dermatol* [Internet]. 30 de julio de 2013 [citado 13 de octubre de 2019];2013. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3747472/>
53. Hummers LK, Wigley FM. Management of Raynaud's phenomenon and digital ischemic lesions in scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am*. mayo de 2003;29(2):293–313.
54. Fardoun MM, Nassif J, Issa K, Baydoun E, Eid AH. Raynaud's Phenomenon: A Brief Review of the Underlying Mechanisms. *Front Pharmacol* [Internet]. 16 de noviembre de 2016 [citado 29 de septiembre de 2019];7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5110514/>
55. Mango RL, Ryu JH, Makol A. Newer insights into the management of interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Indian Journal of Rheumatology* [Internet]. 1 de noviembre de 2017 [citado 20 de octubre de 2019];12(6):194. Disponible en: <http://www.indianjrheumatol.com/article.asp?issn=0973-3698;year=2017;volume=12;issue=6;spage=194;epage=203;aulast=Mango;type=0>
56. Silvia Ballenado Randone, Serena Guioducci, Susana Capelli, Munther Kamashta, Marco Matucci-Cerinic, Cocimo Bruni. Esclerosis Sistémica. En: *Enfermedades Inflamatorias Autoinmunes*. Primera Edición. Panama: Producciones Cientificas Ltda.; 2016. p. 397–419.

57. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet*. 7 de octubre de 2017;390(10103):1685–99.
58. Battle RW. Prevalence of Pulmonary Hypertension in Limited and Diffuse Scleroderma - ScienceDirect [Internet]. [citado 4 de septiembre de 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0012369215465961>
59. Lugo-Zamudio GE, Sepúlveda-Aldana D, García-Mayen LF, López-Gómez LM, Barbosa-Cobos RE, Delgado-Ochoa M de los D. Hipertensión arterial pulmonar asociada a esclerodermia en mestizos mexicanos. *Rev Hosp Jua Mex* [Internet]. 2013 [citado 20 de octubre de 2019];80(4):231–4. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=50917>
60. García Hernández FJ, Castillo Palma MJ, Montero Mateos E, González León R, López Haldón JE, Sánchez Román J. Cribado de hipertensión pulmonar en una cohorte española de pacientes con esclerosis sistémica. *Medicina Clínica* [Internet]. 1 de enero de 2016 [citado 20 de octubre de 2019];146(1):1–7. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002577531500322X>
61. Steen V, Domsic RT, Lucas M, Fertig N, Medsger TA. A CLINICAL AND SEROLOGIC COMPARISON OF AFRICAN-AMERICAN AND CAUCASIAN PATIENTS WITH SYSTEMIC SCLEROSIS. *Arthritis Rheum* [Internet]. septiembre de 2012 [citado 12 de octubre de 2019];64(9):2986–94. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3557827/>

62. Khanna D. Estandarización de la puntuación de la piel de Rodnan modificada para su uso en ensayos clínicos de esclerosis sistémica. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 4 de septiembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28516167/>
63. Vergara CI, Martínez BM, Caraballo LR. Las moléculas de adhesión y la respuesta inmune. biomedica [Internet]. 1 de septiembre de 1994 [citado 17 de noviembre de 2019];14(3):172. Disponible en: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/2101>
64. Hasegawa M, Asano Y, Endo H, Fujimoto M, Goto D, Ihn H, et al. Serum Adhesion Molecule Levels as Prognostic Markers in Patients with Early Systemic Sclerosis: A Multicentre, Prospective, Observational Study. PLoS One [Internet]. 6 de febrero de 2014 [citado 23 de noviembre de 2019];9(2). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3916412/>

10. ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento Escrito

Disfunción endotelial y daño microvascular en vasculopatía isquémica periférica en pacientes con Esclerodermia

Investigador Responsable: Dra. Yanira Yinde

Departamento de Reumatología del Hospital de Clínicas. FCM-UNA

-Acepto voluntariamente participar de este estudio.

-Declaro estar en pleno conocimiento de los objetivos del estudio.

-Sé que al participar del estudio no corro ningún riesgo al participar y que en caso de que los hallazgos impliquen algún riesgo futuro a su salud, se nos beneficiara con la recomendación médica pronta y pertinente.

-De la misma forma espero recibir al mes de realizadas las pruebas un informe escrito sobre el resultado del mismo con las sugerencias según el caso.

-Se me ha informado de la confidencialidad de la información recabada y de que no habrá discriminación de sexo, credo ni condición social para la inclusión de los sujetos en el estudio.

-Por último, declaro ser consciente que puedo revocar este consentimiento en cualquier momento y puedo solicitar información sobre este proyecto en cualquier fase de la misma.

Consiento en que mi hijo/a participe voluntaria y responsablemente de este estudio.

FirmaAclaración de Firma

.....CI.....Fecha...../...../.....

Revoco el consentimiento de participación de este estudio

FirmaAclaración

de

Firma

.....CI.....Fecha...../...../.....

Anexo 2. Manual de procedimientos

Título del Estudio: *Disfunción endotelial y daño microvascular con Esclerodermia.*

Investigador Responsable: Dra. Yanira Yinde

Departamento de Reumatología del Hospital de Clínicas. FCM-UNA

El Investigador Principal realizara una revisión de historias clínicas de pacientes con diagnostico de Esclerodermia del departamento de Reumatologia del Hospital de Clinicas que a su vez estén enrolados en el de Estudio de Esclerodermia(ESPADA) obteniendo datos requeridos para la realización de este análisis.

Los datos laboratoriales referentes a los Biomarcadores de angiogénesis y adhesión celular serán proporcionados por el Grupo de Estudio de Esclerodermia ESPADA en el marco de el Estudio IMIDS financiado por CONACYT .

Los datos clínicos consignados corresponderán a fechas los más cercanas posibles a la extracción de las muestras de sueros del estudio anteriormente

Datos clínicos relevantes se obtendrán de la historia clínica y clasificaran según estándares establecidos :

- Clasificación Esclerodermia: Anexo 5
- Clasificación de Severidad del Fenomeno de Raynaud: Anexo 6
- Score de Rodman: Anexo 7
- Clasificación Ecocardiografica de Hipertensión pulmonar: Anexo 8

En la revisión de expedientes clínicos participara el investigador principal y excepcionalmente médicos residentes de Reumatología y Médicos Internistas del Hospital de Clínicas de la FCM de la Universidad Nacional de Asunción. Los médicos colaboradores

evaluarán a los pacientes con diagnóstico de Esclerodermia, llenarán los cuestionarios y los remitirán al investigador principal.

Cada ficha numerada será verificada por el responsable del proyecto después del llenado de la misma, a fin de verificar la correcta obtención de los datos. Estarán a cargo del investigador principal el análisis y la gestión de los datos, así como la redacción y publicación de los resultados.

Anexo 3. Hoja de recolección de datos.

Título del Estudio: *Disfunción endotelial y daño microvascular en vasculopatía isquémica periférica en pacientes con Esclerodermia.*

Investigador Responsable: Dra. Yanira Yinde

Departamento de Reumatología del Hospital de Clínicas. FCM-UNA

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS						
GRUPO ESPADA						
FICHA CLINICA N°:			FECHA DE REVISIÓN:			
<u>DATOS FILIACIÓN</u>						
Nombre y apellido:						
Edad:			Sexo:			
<u>DATOS DEMOGRÁFICOS</u>						
Procedencia:						
<u>DATOS CLÍNICOS</u>						
Edad del Inicio de Inicio de Síntomas:						
Edad al momento del diagnóstico:						
Duración de la enfermedad desde el inicio de los síntomas:						
Duración de la enfermedad desde el diagnóstico:						
Tabaquismo durante evaluación:		Sí	No			
Tratamiento durante evaluación:		Sí	No			
Tiempo de tto.:						
Tipo: Corticoides		Sí	No	Inmunosupresor		Sí No
<u>Evaluación Cutánea</u>						
Tipo de Esclerodermia:						
Difusa:		Sí	No	Limitada:		Si No
Raynaud		Sí	No			
· Grado I						
· Grado II						

· Grado III						
Ulceras Cutáneas:	Si	No	Telangiectasias.	Sí	No	
Esclerodactilia	Si	No	Escala de Rodman.			
<u>Evaluación Respiratoria</u>						
Enfermedad pulmonar Intersticial			Sí	No		
Hipertensión Pulmonar			Sí	No		
DLCO Normal	Sí	No	CVF Normal	Sí	No	
· Leve	Sí	No	Leve	Sí	No	
· Moderada	Sí	No	Moderada	Sí	No	
· Severa	Sí	No	Severa	Sí	No	
<u>Evaluación Serológica</u>						
Anticuerpos				S	N	
				i	o	
ANA						
Scl 70						
Centrómero						
DNA						
<u>FACTRES BIOLÓGICOS</u>						
E-Selectina:						
Endotelina (ng/ml)						

Anexo 4. Criterios ACR- EUSTAR 2013 para clasificación de la Esclerodermia.

Título del Estudio: Disfunción endotelial y daño microvascular en pacientes con Esclerodermia.

Investigador Responsable: Dra. Yanira Yinde

Departamento de Reumatología del Hospital de Clínicas. FCM-UNA

Criterio	Sub criterio	Puntuación
Engrosamiento de la piel de los dedos de ambas manos que se extiende proximal a las metacarpofalángicas (criterio suficiente).		9
Engrosamiento de la piel de los dedos.	Dedos en salchicha	2
	Esclerodactilia distal a la articulación metacarpofalángica.	4
Lesiones isquémicas en yema de los dedos.	Úlceras de la extremidad digital	2
	Pitting	3
Telangiectasias		2
Capilares anormales		2
Hipertensión y/o enfermedad pulmonar	HTAP	2
	EPI	2
Fenómeno de Raynaud		3
Autoanticuerpos relacionados con la Esclerodermia ACA y ATA		3

Interpretación: 9 o más puntos se clasifica como esclerosis sistémica.

Anexo 5. Clasificación de Esclerodermia de Leroy y Medsger

Título del Estudio: *Disfunción endotelial y daño microvascular en pacientes con Esclerodermia.*

Investigador Responsable: Dra. Yanira Yinde

Departamento de Reumatología del Hospital de Clínicas. FCM-UNA

La esclerodermia localizada	Morfea Esclerodermia lineal En golpe de sable
La esclerosis sistémica	<u>La esclerosis sistémica cutánea limitada:</u> Cambios distales a la piel de codos y/o rodilla No afección troncal <u>La esclerosis sistémica cutánea difusa:</u> Cambios en la piel del tórax y abdomen Sobrepasa Metacarpofalángicas, rodillas y codos

Anexo 6. Puntuación de gravedad del síndrome de Raynaud según el Medsger Severity score

Título del Estudio: *Disfunción endotelial y daño microvascular en pacientes con Esclerodermia.*

Investigador Responsable: Dra. Yanira Yinde

Departamento de Reumatología del Hospital de Clínicas. FCM-UNA

Grados	Características clínicas
0	Sin antecedentes de fenómeno de Raynaud
1	Cambios de coloración sin pitting ni úlceras
2	Cambios de coloración con pitting
3	Cambios de coloración con úlcera digital
4	Cambios de coloración y gangrena digital

Anexo 7. Índice modificado de Rodman

Título del Estudio: *Disfunción endotelial y daño microvascular en vasculopatía isquémica periférica en pacientes con Esclerodermia.*

Investigador Responsable: Dra. Yanira Yinde

Departamento de Reumatología del Hospital de Clínicas. FCM-UNA

Nombre:

Fecha:

3	Esclerosis Adherente al plano profundo
2	Esclerosis Intermedia
1	Esclerosis superficial
0	Ausencia de Esclerosis

Cara	3	2	1	0
Tórax anterior	3	2	1	0
Abdomen	3	2	1	0

Brazo	3	2	1	0
Antebrazo	3	2	1	0
Mano	3	2	1	0
Dedos	3	2	1	0
Muslo	3	2	1	0
Pierna	3	2	1	0
Pie	3	2	1	0

Bazo	3	2
Antebrazo	3	2
Mano	3	2
Dedos	3	2
Muslo	3	2
Pierna	3	2
Pie	3	2

Puntuación Total:

