

R. 21194

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARÍA GENERAL

Quinta entrega de la tesis Doctoral
n.º 44 número 181 del libro
correspondiente a la tesis
de Sevilla, _____

El Jefe del Negociado de Tesis,

Alvarado

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO MEDICINA

1.0
C/155

MANIFESTACIONES CUTÁNEAS EN ENFERMEDADES
AUTOINMUNES.
CORRELACIÓN CON PARÁMETROS SEROLÓGICOS.

ANA M^a CARRIZOSA ESQUIVEL

DIRECTORES:

D. FRANCISCO CAMACHO MARTINEZ

CATEDRÁTICO DE DERMATOLOGÍA. FAC. MEDICINA DE SEVILLA

D. FÉLIX LÓPEZ ELORZA

DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS.

ADJUNTO DEL DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA DEL HOSP.

UNIVERS. VIRGEN MACARENA DE SEVILLA

SEVILLA 1994.

X

Prudencia

[Faint, illegible handwritten scribble]

ANA G. RAMOS



Adva. Dr. Fedriani, s/n.
Teléfs. 437 22 41 - 437 64 74
Fax 438 27 63
41071 SEVILLA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE MEDICINA

DERMATOLOGIA

MEDICO - QUIRURGICA Y VENEREOLOGIA

Profesor Dr. Camacho Martínez

DON FRANCISCO CAMACHO MARTINEZ, CATEDRATICO DE DERMATOLOGIA MEDICO-QUIRURGICA Y VENEREOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE SEVILLA,

CERTIFICA: Que la Tesis Doctoral que se presenta a juicio del Tribunal por la Sra. Aspirante al Título de Doctor, Dña. Ana Carrizosa Esquivel, titulada **MANIFESTACIONES CUTANEAS EN ENFERMEDADES AUTOINMUNES. CORRELACION CON PARAMETROS SEROLOGICOS**, ha sido realizada bajo mi dirección durante los cursos académicos 1989-1990 al 1992-1993, considerándola adecuada para el fin indicado y, en consecuencia, doy mi

VISTO BUENO para que la citada Tesis Doctoral sea presentada en el Rectorado de la Universidad de Sevilla como paso previo a su lectura.

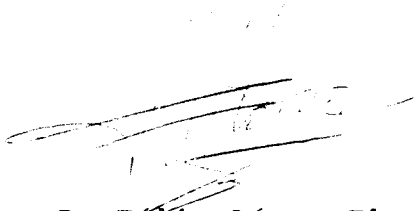
Y para que conste a los efectos oportunos, así lo firmo en Sevilla a dieciocho de Julio de mil novecientos noventa y cuatro.

Prof. Francisco Camacho Martínez
Catedrático Dermatología. Facultad Medicina

DON FELIX LÓPEZ ELORZA, DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS, INMUNÓLOGO,
ADJUNTO DEL DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO
"VIRGEN MACARENA" DE SEVILLA,

CERTIFICA: Que la tesis doctoral que se presenta a juicio del
tribunal por la Sra. Aspirante al Título de Doctor,
Dña. Ana M^a Carrizosa Esquivel, titulada
**"MANIFESTACIONES CUTÁNEAS EN ENFERMEDADES AUTOINMUNES.
CORRELACION CON PARÁMETROS SEROLÓGICOS"**, ha sido
realizada bajo mi codirección durante los cursos
académicos 1989-1990 al 1992-1993, considerándola
adecuada para el fin indicado.

y para que conste, firmo el presente certificado en Sevilla
dieciocho de Julio de mil novecientos noventa y cuatro.



Dr. D. Félix López Elorza

Departamento de Bioquímica del Hospt. U. "Virgen Macarena"

Sevilla

A Ignacio, Angela y Ricardo.

AGRADECIMIENTOS.

A D. Francisco Camacho Martinez y D. Félix López Elorza, por su colaboración en el proyecto y realización de este trabajo.

A D. José Ramón Armas Padrón, Profesor Titular de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de Sevilla, por su cooperación en las imágenes iconográficas y asesoramiento en la técnica de IFI.

Al Dr. Jesús González Vilches, Jefe de Sección de Hepatología del Departamento de Bioquímica del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla, que generosamente me cedió su cámara húmeda, utilizada también en su tesis doctoral.

A mis compañeros del Departamento de Dermatología, Dr. Miguel Ortega Resina y Dra. Ana M^a Pérez Bernal, por los pacientes proporcionados de sus consultas.

Quiero hacer mención especial a aquellos que de forma indirecta, por su dedicación y actitud también han hecho posible la realización de esta tesis: la residente de Análisis Clínicos, Paula Meireles da Silva y los residentes de Bioquímica, Mariana Lozano Barranco y Andrés Camacho Carretero; a la delegada comercial del laboratorio proveedor de los Kits de inmunofluorescencia, Dña.

Inmaculada Fernández, y a mis compañeros y amigos Francisco Javier Espinosa Olmedo y Juan Carlos Gómez Rosado por su asesoramiento en estadística e informática.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.	1
I.- OBJETIVOS.	1
II.- MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA:	3
A.- DEFINICIÓN Y PRINCIPIOS DE LA MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA.-	3
B.- BASES FÍSICO-QUÍMICAS DEL FENÓMENO DE LA FLUORESCENCIA.	8
C.- APLICACIÓN A LA DERMATOLOGÍA. INMUNOFLUORESCENCIA: TÉCNICA.	10
III.- EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA.	19
A. SIGNIFICADO E INTERPRETACIÓN DE LOS ANAs.	26
B. ANTICUERPOS ANTINUCLEARES ESPECÍFICOS.	31
IV.- TOLERANCIA INMUNOLÓGICA.	32
A.- AUTOTOLERANCIA	32
B.- AUTOINMUNIDAD Y ENFERMEDAD AUTOINMUNE	34
V.- DERMATOSIS AUTOINMUNES.	46
A.- LUPUS ERITEMATOSO	46
1.- CLASIFICACIÓN.	49
2.- LUPUS ERITEMATOSO CUTÁNEO	53
3.- LUPUS ERITEMATOSO INTERMEDIO. (SUBAGUDO).	61
4.- LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.	64
B.- LIQUEN PLANO	65
C.- ESCLERODERMIA	83

1.- ESCLERODERMIA SISTÉMICA.	83
2.- ESCLERODERMIA LOCALIZADA. MORFEA.	97
D.- PENFIGOIDE AMPOLLOSO.	102
 MATERIAL Y MÉTODOS	107
I.- PACIENTES.	107
II.- TEJIDOS.	120
III.- MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA.	125
IV.- METODOLOGÍA.	135
 RESULTADOS	140
I.- ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.	141
II.- ANTICUERPOS ORGANOESPECÍFICOS.	152
III.- ANTI-DNA Y ANTICUERPOS ANTICITOPLASMÁTICOS.	162
IV.- TABLA RESUMEN: DERMATOSIS AUTOINMUNES- AUTOANTICUEROS.	172
V.- ICONOGRAFÍA	173
VI.- VALORACIÓN ESTADÍSTICA RESPECTO AL GRUPO CONTROL	188
VII.- VALORACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE LOS DISTINTOS SUBGRUPOS.	202
 DISCUSIÓN	208
I.- NECESIDAD DEL TRABAJO.	208
II.- DISCUSIÓN RESPECTO A MATERIAL Y MÉTODOS.	210
III.- ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.	214

IV.- ANTICUERPOS ANTI-n-DNA.	225
V.- ANTICUERPOS ORGANOESPECÍFICOS.	228
VI.- ANTICUERPOS ANTICITOPLASMÁTICOS.	240
CONCLUSIONES	244
BIBLIOGRAFIA	250

INTRODUCCIÓN.

I.- OBJETIVOS.

La piel no es una simple barrera física que aísla el organismo del exterior, sino que forma parte activa del sistema inmunitario y en ella se producen respuestas inmunes frente a una gran variedad de antígenos, comportándose como un órgano diana en las enfermedades de base patogénica autoinmune.

En los últimos 50 años, el examen de la piel y suero mediante las técnicas de los anticuerpos fluorescentes ha progresado desde ser una técnica de investigación hasta convertirse en un método habitual de rutina de considerable valor, especialmente en las enfermedades ampollas y en las conectivopatías. Proporcionan una ayuda diagnóstica a los dermatólogos, así como un mejor entendimiento de la fisiopatología de las dermatosis autoinmunes. Se requiere en la actualidad, por lo tanto, un uso continuado de las técnicas de inmunofluorescencia directa e indirecta en la práctica diaria de la Dermatología.

El presente trabajo de investigación pretende realizar un estudio, mediante la técnica de **INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)**, de los anticuerpos antinucleares (ANA), anti-DNA, y autoanticuerpos organoespecíficos en pacientes

con dermatosis autoinmunes, proponiéndose los siguientes

OBJETIVOS:

- Puesta a punto de la técnica de IFI como método de investigación habitual en el Departamento de Dermatología.

- Determinar la frecuencia de ANA, Anti-DNA, anticitoplasmáticos y anticuerpos organoespecíficos en los distintos grupos de enfermos estudiados y comparar con grupo control.

- Clasificación diagnóstica y pronóstica en base a los resultados de dicha técnica.

- Comparar los resultados entre los distintos substratos con el fin de seleccionar el o los más adecuados para usar en Dermatología.

- Buscar asociaciones a otras enfermedades autoinmunes mediante la detección autoanticuerpos organoespecíficos.

II.- MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA:

A.- DEFINICIÓN Y PRINCIPIOS DE LA MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA.-¹

FLUORESCENCIA.- Numerosos cuerpos, al someterlos a radiaciones lumínicas de determinada longitud de onda, tienen la propiedad de emitir un rayo de longitud mayor que el incidente y de una duración igual al tiempo de exposición.

Etimología.- Debe su nombre a que la fotoluminiscencia la observó por primera vez BREWSTER sobre el "fluoruro de calcio".

Hay que distinguir:

a) Luz de excitación.- La producida por el foco luminoso, del microscopio adecuado, que incide sobre el objeto. Los rayos de corta longitud de onda ejercen el máximo poder excitador, por ello el fenómeno de la fluorescencia se da en toda su pureza bajo la acción de los rayos ultravioletas. No obstante, puede ser originada por luces de otras longitudes de onda.

b) Luz de fluorescencia.- La producida por el objeto al incidir la luz de excitación. Su intensidad energética

es más débil que la anterior y la longitud de onda mayor. Es la que será finalmente captada por el observador.

Por tanto, en la microscopía de fluorescencia el observador ve la luz producida por el propio objeto examinado, a diferencia de lo que sucede en el microscopio ordinario en que la luz de la lámpara es transmitida por el objeto, y en la ultramicroscopía o en el examen directo, donde la luz es reflejada.

PRINCIPIOS DE LA MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA.-

Se basa en la propiedad de ciertas sustancias de emitir luz, es decir, de volverse fluorescentes, bajo la acción de diversas influencias externas. Si en la muestra que examinamos hay sustancias dotadas de esta propiedad, veremos dicho objeto con luz propia.

Distintos tipos de luminiscencia:

a) Termoluminiscencia.- Luz propia emitida por el objeto al ser calentado a una temperatura determinada.

b) fotoluminiscencia.- Emisión de luz por el objeto bajo la acción de radiaciones de cualquier tipo.

c) Fluorescencia.- Radiación propia de un cuerpo de igual duración a la radiación determinante.

d) Fosforescencia.- Radiación de un cuerpo que dura más del tiempo de la radiación causal.

Las relaciones existentes entre longitud de onda de la radiación causal y de la fluorescencia provocada están sujetas a leyes precisas. La más importante fue establecida por STOKES, que es válida tanto para sólidos como líquidos, "la luz de fluorescencia posee siempre una longitud de onda mayor que la excitadora".

TIPOS DE FLUORESCENCIA.-

a) FLUORESCENCIA ESPONTÁNEA, PRIMARIA O AUTOFLUORESCENCIA.

La producida por sustancias expuestas a la luz de excitación sin tratamiento ni modificación química previa. Pueden presentarla cuerpos minerales y orgánicos. No es de intensidad suficiente para un examen detenido y más bien constituye un obstáculo cuando tratamos de realizar sobre tales elementos estudios de fluorescencia.

b) FLUORESCENCIA INDUCIDA O SECUNDARIA.

La conferida por las sustancias solubles fluorescentes (Fluorocromos) a los objetos no fluorescentes. HAITINGER² denominó FLUOROTINCIÓN al proceso de coloración.

FLUOROCROMOS.-

Sustancias primarias muy fluorescentes que poseen la capacidad de ligarse a moléculas no fluorescentes confiriéndoles esta propiedad. La mayoría son colorantes básicos.

Incluso a concentraciones mínimas ($1/10^4$ - $1/10^6$), confieren su propiedad a las diversas muestras: células, microorganismos y hasta fracciones protéicas macromoleculares (globulinas). Por tanto, la agresión química a la estructura con que se conjugan es mínima o nula.

El color de la fluorescencia que provocan puede ser muy diferente del propio del fluorocromo a la luz natural, ya que "este tipo de coloración está condicionada por el pH de utilización, concentración y tiempo de coloración". Insuficientemente coloreada una preparación sólo mostrará débil fluorescencia sin policromía; sobrecoloreada, tendrá falta de diferenciación.

Los fluorocromos son muy numerosos y tienen una estructura química completamente distinta de los colorantes clásicos. LANGERON³ los clasifica en 7 grupos (TABLA I).

TABLA I. CLASIFICACIÓN DE LOS FLUOROCROMOS

1.- Grupo de las Acridinas.

- 1.1.- Corifosfina
- 1.2.- Amarillo de acridina
- 1.3.- Naranja de acridina
- 1.4.- Atebrina
- 1.5.- Fosfina 3 R

2.- Grupo de los Tiazoles.

- 2.1.- Tioflavina S
- 2.2.- Tioflavina T
- 2.3.- Tripaflavina
- 2.4.- Amarillo de primulina
- 2.5.- Amarillo de tiazol

3.- Grupo de las quinolimidas

- 3.1.- Rojo de tiazina

4.- Grupo de la quinoleina

- 4.1.- Sulfato de berberina

5.- Grupo de fenilmetano

- 5.1.- Auramina
- 5.2.- Fluoresceína
- 5.3.- Derivados del ácido ftálico:

Rodamina

Mercurocromo

6.- Grupo de los extractos vegetales

- 6.1.- Extracto de ruibarbo
- 6.2.- Extracto de raíces de queloidina
- 6.3.- Tintura de clorofila

7.- Grupo de las flavonas

B.- BASES FÍSICO-QUÍMICAS DEL FENÓMENO DE LA FLUORESCENCIA.⁴

Si un fotón choca con las moléculas de un cuerpo cualquiera, que se encuentra en un cierto estado vibratorio al que está asociado un nivel de energía determinado, los átomos periféricos y sus núcleos atómicos vibran más fuertemente una vez captada la energía del fotón. Se dice que están excitados.

Esta situación es inestable en sustancias no fluorescentes. La molécula excitada vuelve rápidamente a su estado anterior perdiendo toda la energía recibida al emitir un fotón de la misma longitud de onda que tenía el que lo excitó.

En las sustancias fluorescentes, a causa de su envoltura física y química, la molécula excitada pierde una parte de su energía sobrante, que cede a las moléculas vecinas, y la otra parte se pierde en forma de un fotón. La energía del fotón es más débil que en la luz excitadora. Según la Ley de PLANCK, su frecuencia es menor y su longitud de onda más grande. Después de esta emisión, la molécula vuelve a su estado inicial.

La intensidad de la fluorescencia, a menudo débil, depende de tres factores:

- a) Intensidad del rayo excitador.
- b) Bandas de absorción del fluorocromo. Cada fluorocromo posee espectro característico de absorción y emisión.
- c) Rendimiento cuántico. Todo rayo es emitido bajo la forma de pequeños acúmulos de energía: los cuantos.

En el fenómeno de fluorescencia, los cuantos de gran energía son absorbidos por la molécula que los restituye en cuantos de menor energía en el momento de emisión de la luz de fluorescencia.

El rendimiento cuántico es la relación entre el número de cuantos emitidos y el de absorbidos; su aumento determina un acrecentamiento de la fluorescencia, condicionado por la temperatura, constitución química del fluorocromo, viscosidad de la solución del colorante, pH y concentración. Además, ciertos tipos de iones halógenos, metales pesados, así como los fijadores histológicos también pueden influir.

La puesta a punto de un microscopio de fluorescencia necesita una concordancia favorable de los factores mencionados.

C.- APLICACIÓN A LA DERMATOLOGÍA. INMUNOFLOURESCENCIA: TÉCNICA.

En 1942, COONS y KAPPLAN^{5,6} realizaron los primeros trabajos para la detección de material antigénico usando anticuerpos unidos a fluoresceína como una tinción histológica específica. Su técnica, en la actualidad, consiste en marcar proteínas con un fluorocromo efectuándose una unión química que no altera sus propiedades inmunológicas. La proteína se hace entonces visible a la luz ultravioleta.

Inicialmente se utilizó el isocianato de fluoresceína, pero formaba complejos inestables dificultando su empleo. Más tarde, en 1985, RIGGS⁷ lo sustituyó por isotiocianato de fluoresceína, que proporciona conjugados estables de fluorescencia verde que pueden conservarse en frío durante un tiempo prolongado.

TÉCNICA:

Será descrita con más detalle en el apartado IV de Material y métodos (metodología) adelantando en esta sección algunos detalles y características generales de la técnica.⁴

1.- Preparación del conjugado.

Actualmente existen preparados comerciales excelentes. Generalmente, los antisueros se preparan en cabras o conejos, inmunizando con suero polivalente o inmunoglobulinas monovalentes relativamente puras obtenidas de pacientes con mieloma. De este modo, se puede preparar un antisuero contra cualquiera de las inmunoglobulinas conocidas, pero el antisuero mismo es un anticuerpo IgG. Por tanto, un antisuero anti-IgA humana preparado en cabra es denominado suero de cabra anti-IgA humana. Cuando el animal alcanza un alto título de anticuerpo, se sangra y se obtiene el antisuero, ya por precipitación de las inmunoglobulinas por sulfato amónico, por etanol frío, o por cromatografía en dietilaminoetilcelulosa. Si la inmunoglobulina que se utilizó para inmunizar a la cabra era pura, el anticuerpo resultante será puro y en su precipitante encontraremos muchas globulinas pero un sólo anticuerpo. Si existe contaminación con otras antiinmunoglobulinas, se puede hacer una purificación precipitando las antiinmunoglobulinas contaminantes con inmunoglobulinas puras del tipo correspondiente. El antisuero purificado se marca entonces con isotiocianato de fluoresceína con procedimientos ya muy estandarizados (WOOD y cols. 1965)⁸.

Los conjugados que se usan con más frecuencia son: 1) Conjugados polivalentes de amplio espectro, que son

específicos para varias clases de inmunoglobulinas; 2) Conjugados que son monoespecíficos para una cadena pesada en particular, y 3) Conjugados específicos para el complemento.

2.- Sensibilidad del conjugado.

Es necesario que la concentración del anticuerpo, así como la relación fluoresceína/proteína, sea especificada para que seamos capaces de seleccionar la dilución más apropiada.

Las concentraciones de anticuerpo pueden ser calculadas por inmunodifusión radial. La cantidad de isotiocianato de fluoresceína en los conjugados puede determinarse también por técnicas estándar utilizando los coeficientes de extinción. Se sugiere que la razón fluoresceína/proteína en los conjugados utilizados para la detección de anticuerpos antinucleares sea entre 1.8 y 4.5. La concentración del anticuerpo determina la dilución a la que se puede utilizar el antisuero para obtener la tinción específica deseada. La concentración de fluoresceína no unida al anticuerpo determina el grado de tinción no específica. Por tanto, la tinción no específica está en función de la concentración de fluoresceína, y la específica, de la concentración del anticuerpo. Si la razón fluoresceína/proteína es muy alta, será mucha la tinción inespecífica, y el conjugado es inservible. Si la citada

razón es demasiado baja, ni siquiera la tinción específica será visible. De esta forma, una medida de la aceptabilidad del conjugado es la razón fluoresceína/proteína.

Los conjugados se deberían dializar exhaustivamente, hasta que no hubiera en el preparado ninguna fluoresceína libre.

3.- Preparación de conjugados para su uso.

Para obtener una actividad óptima, los conjugados se deberían diluir con tampón fosfato (Ph 7.4) en 4 por 100 de seroalbúmina bovina. Para detectar anticuerpos antinucleares, los conjugados deberían contener 25-50 microgramos de anticuerpo por ml.

El método más seguro para determinar que un conjugado es específico en un determinado tipo de tinción es hacer una titulación en "tablero de ajedrez" que consiste en una titulación, con diluciones seriadas en aumento, de un suero positivo con diferentes concentraciones del conjugado, del cual sepamos la concentración del anticuerpo. El punto límite es la última dilución que da un resultado positivo. Para conseguir resultados muy específicos se debe utilizar dos diluciones por debajo del punto límite. Si se requiere una especificidad baja y una alta sensibilidad, para detectar anticuerpos débiles, se pueden utilizar diluciones del conjugado a 1/20-1/40.

4.- Procedimientos de tinción.

a) Inmunofluorescencia directa (IFD). Este procedimiento es relativamente sencillo, pero hay que recordar que esta técnica sirve para detectar la presencia de una sustancia específica en un área determinada, sin que haya ninguna implicación inmunológica. Por tanto, una tinción positiva con anti IgG significa que hay IgG fijada a ese tejido.

Se pegan secciones de criostato (4-6 micras de espesor) a un porta, se lavan en tampón fosfato (pH 7.4) durante unos minutos, se elimina el exceso de tampón y se pone una gota de conjugado en la sección tisular. Se incuba en cámara húmeda 30 minutos, se lava y se monta con glicerol y un cubreobjetos.

b) Inmunofluorescencia indirecta (IFI). Es parecida a la técnica de IFD, pero se requiere un paso más y, a causa de que los anticuerpos se detectan en un suero problema, tiene más implicaciones inmunológicas.

Se cortan con un criostato secciones del tejido seleccionado y se montan en portas o bien se utilizan los portas comercializados. El suero diluido a 1/20 o 1/40 puede ser aplicado entonces a la sección incubando 30 minutos y lavado con tampón fosfato. Los controles se deben hacer: con suero humano normal a la misma dilución, con

suero salino y con un suero positivo para los anticuerpos que estemos buscando. Después de lavar, se seca el exceso de tampón fosfato alrededor de la sección y, sin dejar secar el tejido, se aplica el conjugado diluido. Se ponen las preparaciones, de nuevo, en una cámara húmeda durante unos 30 minutos, después de los cuales se lavan y se montan con glicerol.

5.- Tipos de fluorescencia.

1) Autofluorescencia. Ya comentada anteriormente, que es natural en los tejidos, en secciones tisulares de la piel se presenta como una fluorescencia azul de las fibras elásticas.

2) Tinción inespecífica. Resultante de una tinción no inmunológica con el anticuerpo marcado con fluoresceína.

3) Tinción específica. Por reacción inmunológica de las proteínas marcadas con fluoresceína. La tinción específica puede ser la que buscamos u otra, no deseable. Esta última resulta de la reacción no inmunológica (por ejemplo depósito) de inmunoglobulinas humanas con secciones tisulares, que luego serán detectadas por el conjugado fluoresceinado antiinmunoglobulinas. Esta fuente de error es particularmente importante cuando se usa suero sin diluir: la dilución de comienzo debiera ser al menos de

1/10. Por tanto, diluciones altas de comienzo aumentarán la especificidad de la prueba.

6.- Manejo de sueros y tejidos.

Los anticuerpos en los sueros son muy estables pues se mantienen varios días a temperatura ambiente. Sin embargo, la repetición de congelaciones-descongelaciones provoca una rápida pérdida de actividad, por lo cual debería evitarse. En general, uno o dos ciclos de descongelación-congelación afectarían sólo moderadamente al anticuerpo, pero cinco o más ciclos pueden originar una pérdida total de actividad, aún con sueros de altas titulaciones. Una vez que el suero llegue al laboratorio debería guardarse en el congelador hasta que se utilice. Los trozos de tejido se deben congelar rápidamente después de obtenerlos para lograr los mejores resultados.

7.- Limitaciones.

Para hacer bien la inmunofluorescencia, se necesitan individuos expertos en ella y en sus limitaciones. Es necesario una selección adecuada de materiales y conjugados así como una cuidadosa observación de las preparaciones. Se requieren controles apropiados para interpretar reacciones específicas y distinguir éstas de artefactos no específicos y otros patrones que causen confusión diagnóstica. Una de las mayores necesidades actuales es la

estandarización, de tal forma que los resultados de un laboratorio puedan ser interpretados en otro. Se avanzó en ello en las conclusiones del Grupo Internacional de Estandarización de Inmunofluorescencia (1967) y en una mesa redonda celebrada en 1968⁹. En todas las publicaciones donde se utilice inmunofluorescencia se debería exigir la especificación de la fuente del conjugado, las pruebas de su pureza, la concentración del anticuerpo y la razón fluoresceína/proteína. En el manual preparado bajo los auspicios del programa nacional USA de Dermatología, facilitado por el doctor ERNST BEUTNER de la Universidad del Estado de Nueva York en Búfalo, se detallan algunos métodos de estandarización y de comprobación de especificidad.

Los artefactos más frecuentes son¹⁰:

1. Tinciones inespecíficas:

- Resultados falsos positivos debido a antígenos de grupos sanguíneos. Ocurre especialmente cuando los sueros se utilizan a una dilución menor de 1/20.

- Resultados falsos positivos debidos a membranas mucosas. Las biopsias de membranas mucosas normales, en inmunofluorescencia directa, presentan frecuentemente fluorescencia intercelular inespecífica.

- Mala interpretación de anticuerpos antinucleares.

Los anticuerpos antinucleares de patrón periférico pueden confundirse con fluorescencia intercelular. Esta es, normalmente muy débil o está ausente en uno de los polos de las células basales, mientras que los anticuerpos antinucleares se detectan por igual alrededor de toda la célula.

2. Fallos en el procesamiento:

La inmunofluorescencia es una reacción inmunológica sensible que ocurre in vitro, en un portaobjetos y que es fácilmente influenciada por variables fisicoquímicas como período de incubación, temperatura, pH, fuerza iónica y concentración de soluciones empleadas en el procesamiento, modo de fijación y preservación de los substratos, y también por contaminación de antígenos y anticuerpos relacionados o de microorganismos.

Son frecuentes también los fallos debidos a las repetidas congelaciones y descongelaciones de los substratos, que resulta en una fluorescencia intercelular epidérmica moteada, y en pérdida de la antigenicidad.

3. Autofluorescencia:

De algunos tejidos que pueden simular patrones causando confusión diagnóstica.

III.- EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA INMUNOFLOURESCENCIA INDIRECTA.

Las células plasmáticas de los pacientes con enfermedades autoinmunes producen anticuerpos dirigidos contra sus propios tejidos. Durante los últimos 40 años, el desarrollo de nuevas técnicas han dado lugar a una gran variedad de test serológicos para la detección de estos autoanticuerpos.

El primer test serológico usado para el diagnóstico del lupus eritematoso sistémico (LES) fue la célula LE. Descrito en 1948 por HARGRAVES¹¹ como hallazgo casual observado en médula ósea de pacientes con LES.

Posteriormente, HASERICK y SUNDBERG corroboraron sus hallazgos en médula ósea¹² y, en un estudio posterior¹³, descubrieron que el suero de pacientes con LES era capaz de producir el fenómeno de la célula LE cuando se incubaba con médula ósea normal.

En 1950 COONS y KAPLAN describieron, en un clásico artículo, que un antígeno podía ser detectado mediante anticuerpos unidos a fluoresceína empleándose como una tinción histoquímica específica⁶. La aplicación clínica de este hallazgo no llegó hasta siete años después con las publicaciones de FRIOU y BARDAWIL donde describieron los resultados de la técnica de los anticuerpos fluorescentes

en el suero de pacientes con lupus, esclerodermia y dermatomiositis^{14,15}, y relacionaron estos factores con los responsables de la formación de la célula LE. Debido a su sensibilidad, y a los resultados semicuantitativos, indicaron que este test era un método aplicable para el estudio de estas conectivopatías.

En 1961, BECK describió diferentes patrones de fluorescencia nuclear, siendo el test de anticuerpos antinucleares fluorescentes (FANA TEST) cada vez más popular¹⁶. Investigó la presencia de factores antinucleares en el suero de pacientes con síndrome de SJÖGREN, lupus eritematoso sistémico y otras enfermedades del colágeno mediante la técnica de los anticuerpos fluorescentes (FANA) usando como substrato hígado de rata. Identificaron por este método, tres patrones de fluorescencia nuclear; homogéneo, moteado y nucleolar.

A pesar de la gran importancia de estos hallazgos, se consideró que esta técnica tenía algunos **inconvenientes**:

- El test no estaba estandarizado
- Diferentes investigadores usaban términos similares para diferentes procesos.
- Los patrones podían cambiar según el título de anticuerpos.
- No todos los substratos eran iguales
- Subjetividad del observador

- Patrones similares creados por distintos antígenos
- Problemas inherentes a cualquier técnica con microscopio de fluorescencia (filtros, fuentes luminosas, conjugados...).

ANAs con diferentes especificidad antigénica producirán distintos modelos de fluorescencia nuclear dependiendo de la distribución de los antígenos dentro del núcleo. Si un suero contiene dos o más tipos diferentes de ANAs , aparecerá una combinación de patrones de fluorescencia.

Existen distintas clasificaciones de los patrones de fluorescencia. Tradicionalmente se reconocen cuatro patrones de fluorescencia: **homogéneo, periférico, nucleolar y moteado**. Sin embargo, numerosos investigadores, como BURNHAM¹⁷ y TAN¹⁸, han destacado distintos patrones con relevancia clínica. BURNHAM, usando como substrato improntas de bazo humano, reconoció dos categorías mayores de patrones de fluorescencia nuclear: **particulado y no particulado**.

El grupo no particulado está constituido por el patrón periférico, homogéneo y el leucocito-específico. Altos títulos en este grupo es característico del LES y deberá realizarse una determinación de los anticuerpos anti-DNA para confirmarlo. El patrón particulado está constituido por el nucleolar, el moteado y los "otros particulados".

BURNHAM definió el verdadero patrón moteado como una entidad distinta vista especialmente en pacientes con CREST o esclerosis sistémica progresiva. Los "otros particulados" son difíciles de diferenciar unos de otros y están asociados a los ENA (Anticuerpos antinucleares extractables).

Para el autor, esta clasificación debería ser usada como un chequeo práctico para aquellas personas sospechosas de presentar una enfermedad del tejido conectivo. El principal valor diagnóstico y pronóstico del test está en separar el patrón nucleolar y moteado del resto de los particulados. Otros datos adicionales diagnósticos y pronósticos serán obtenidos mediante otros test inmunológicos que se realizarán según los resultados obtenidos de los ANAs.

Respecto a los distintos **substratos** utilizados para la determinación de los ANAs, en 1981 LORINCZ¹⁹ encontró más de diez tipos diferentes de células y cultivos celulares humanos y no humanos usados como substratos [timo de ternero, hígado y riñón de roedores, epidermis bovina, improntas de bazo humano, epidermis, riñón, tiroides y células endometriales humanas, células KB (carcinoma epidermoide de mucosa oral) y Hep-2 (carcinoma de laringe)]. Existen diferencias tanto cuantitativas como cualitativas entre los distintos substratos. Por ejemplo, el núcleo de hígado murino, carece o tiene bajas

concentraciones de antígenos presentes en células de bazo humano o en células tumorales humanas²⁰. También, ciertos antígenos presentes en el riñón de rata son mucho más fáciles de detectar en el núcleo de células tumorales humanas²¹. Parece ser también, que los distintos métodos de fijación pueden alterar significativamente el perfil nuclear antigénico, así como el momento del ciclo de división celular en que se encuentre la célula¹⁹. No debe sorprender obtener distintos resultados en un mismo suero cuando se usan diferentes substratos celulares. Por otra parte, bajos niveles de anticuerpos pueden ser encontrados en individuos normales, por lo que es necesario que cada laboratorio calibre su técnica con un suficiente número de sueros controles en orden a determinar que título de ANA es realmente anormal. En general, el primer título anormal es aquel que es encontrado en menos del 5% de los sueros controles. Este título puede variar diez veces en función de las diferencias del substrato solamente²¹. Las **líneas celulares** ofrecen la ventaja, como **substrato standard**, de una disponibilidad universal, homogeneidad de la población celular, facilidad para distinguir los distintos patrones celulares, sensibilidad y posibilidad de almacenar durante un tiempo prolongado²².

ANAs con diferente especificidad antigénica producirán distintos modelos de fluorescencia nuclear dependiendo de la distribución de los antígenos dentro del núcleo. Si un

suero contiene dos o más tipos diferentes de ANAs , aparecerá una combinación de patrones de fluorescencia.

Con el uso como substrato de las células HEP-2 se dio un paso adelante en el desarrollo de un ensayo estandarizado.

SONTHEIMER²³ ha usado la clasificación de BURNHAM para formular su propia clasificación para los patrones encontrados con el substrato que para él es más útil, la línea celular tumoral Hep-2. Esta línea celular deriva del carcinoma escamoso de laringe y está disponible comercialmente en forma de monohileras de células tumorales fijadas en portas de cristal. Este substrato, ofrece la ventaja de ser de origen humano y poseer células en distintos estados del ciclo celular, así como presentar un gran núcleo y múltiples nucléolos.

Divide los patrones en dos grupos: **continuo** a través del núcleo entero (homogéneo) o alrededor de la periferia (periférico), y **discontinuo** (nucleolar, discretamente moteado -centromérico- y particulado). Los patrones específicos de enfermedad son el periférico (LES), nucleolar (esclerodermia sistémica) y centromérico (CREST y esclerodermia sistémica).

Los dos modelos restantes, el homogéneo y el particulado, no son específicos, especialmente cuando se presentan a bajos títulos.

Desde que el patrón discretamente moteado ha sido asociado a una enfermedad específica, se le considerará como un modelo separado. Este patrón y el particulado se encuadraban en la pasado como "patrón moteado". Es probable en el futuro, que dentro del modelo particulado se encuentren diferentes configuraciones de fluorescencia nuclear con correlaciones clínicas distintas.

A. SIGNIFICADO E INTERPRETACIÓN DE LOS ANAs.²⁴

Con los múltiples tipos de ANA que han sido descritos en las últimas tres décadas, el acercamiento al diagnóstico y manejo de estas enfermedades ha cambiado extraordinariamente. El problema al que ahora tienen que hacer frente los clínicos es el conocimiento de que ANA deben solicitar y como interpretar los resultados. Es importante elegir correctamente el substrato para la detección de ciertos antígenos. Por ejemplo, el antígeno SS-A/Ro está presente en cantidades indetectables cuando se usa tejidos de ratón o rata como substratos, pero está presente en grandes cantidades cuando se usan líneas de células epitelioides humanas como las Hep-2 o BK. Esto tiene importancia práctica, ya que un suero que contenga sólo anticuerpos contra el antígeno SSA-Ro daría unos resultados ANA negativos en riñón de ratón pero positivo si se usara como substrato las células Hep-2. Algunos antígenos nucleares, como el SS-A/Ro y el nRNP son muy solubles. El lavado del substrato antes de que se fijen, en el caso del RNP, o el uso de metanol o etanol como fijador del substrato en el caso del SS-A/Ro pueden disolver el antígeno y dar lugar a un resultado falsamente negativo. Por lo tanto, el clínico no sólo necesita saber el título al que el laboratorio considera positivo, sino también saber que **substrato** usan para interpretar apropiadamente el resultado de los ANAs que ha solicitado.

El patrón moteado es el observado con mayor frecuencia y también el más variado en su descripción²⁵. El patrón "verdadero moteado", descrito por BURNHAM, es característico de la tinción del anticentrómero. Anticuerpos contra proteínas no histonas como nRNP, Sm, y SS-B/La, muestran una típica inmunofluorescencia moteada más agrupada. Es también frecuente encontrar sueros con un fuerte patrón moteado y ser incapaces de demostrar anticuerpos contra un antígeno bien caracterizado como el Sm o el RNP. En tales casos, el sistema antígeno-anticuerpo responsable para el patrón moteado aun no ha sido identificado.

Anticuerpos contra dsDNA, histonas y desoxirribonucleoproteínas muestran característicamente un patrón homogéneo, mientras el periférico se piensa que es típico del anti-ds-DNA y posiblemente de anticuerpos anti-desoxirribonucleoproteínas o histonas.

El patrón de fluorescencia nucleolar aparece en el suero de pacientes con esclerodermia sistémica, lupus eritematoso sistémico, síndrome de SJÖGREN y fenómeno de RAYNAUD. El sistema antígeno-anticuerpo responsable aun no han sido identificado.

Los patrones de fluorescencia nuclear no son diagnósticos, pero sirven para identificar los ANAs específicos responsables de la fluorescencia nuclear

demostrada en un suero determinado. Por ejemplo, uno estaría interesado en el resultado de los test anti-SM y anti-RNP en un suero que presenta altos títulos de patrón moteado IFI-ANA.

A la hora de interpretar un resultado de ANA positivo, es importante considerar la edad del paciente, la presencia de algún medicamento inductor de ANA, el grado de sospecha de conectivopatía y el título de ANA. Por ejemplo, un título bajo de ANA puede observarse en el 18% de la población mayor de 65 años pero sólo en el 4% de la población joven²⁶.

La presencia de poliartralgias y un ANA 1:80 en una mujer de 25 años con la analítica de sangre y orina normal y anticuerpos dsDNA, Sm, RNP, SS-A/Ro, y SS-B/La negativos no permite hacer un diagnóstico concreto, pero se debe sospechar una enfermedad autoinmune y hacer un seguimiento del enfermo.

Los dos medicamentos capaces de producir ANAs con mayor frecuencia son la procainamida y la hidralacina²⁷.

Aproximadamente del 50 al 75% de los pacientes en tratamiento con procainamida desarrolla ANA con la aparición de LUPUS-LIKE síndrome en el 20% y con hidralacina el 24 al 50%, dando lugar al lupus del 8 al 13% de los enfermos. Otros medicamentos son isoniacida,

clorpromacina y drogas anti-convulsivantes como la etosuximida, trimetadiona, y derivados de la hidantoína.

La frecuencia de ANA positivos en varias enfermedades autoinmunes es la siguiente: Lupus eritematoso sistémico del 95-100%. Esta positividad es tan característica que un resultado negativo en un paciente con un posible diagnóstico de lupus habría que considerar las siguientes posibilidades: (1) el diagnóstico no es LES, (2) un error en el resultado de laboratorio, (3) es uno de los 5-8% de pacientes con LES y ANA negativos o "ANA dependiente de sustrato". Otras conectivopatías son: Síndrome de SJÖGREN (80%), Enfermedad mixta del tejido conectivo (100%), lupus inducido por drogas (100%) y esclerosis sistémica progresiva (60-90%). Con respecto a la importancia en cuanto a la diferencias en el sustrato, el 60% de los pacientes con esclerosis sistémica progresiva son ANA positivos usando como sustrato riñón de ratón, mientras que son ANA positivos en un 90% si se usa como sustrato células Hep-2, donde puede reconocerse el patrón anticentrómero característico del síndrome CREST¹⁸. TAN¹⁸ comparó los resultados usando riñón de ratón y las células Hep-2, y encontró un aumento en la sensibilidad con este último sustrato, debido a la tinción del anticentrómero, que se pierde en el riñón de ratón o, si se presenta, se confunde con el patrón moteado. Tampoco se observa el patrón nucleolar ya que los nucléolos son escasos en órganos maduros y pueden no estar presentes en todas las

células en el plano de la sección del tejido. Lo mismo ocurre en la polimiositis-dermatomiositis, que presenta un 16-39% de ANA positivos en riñón de ratón y un 74% en células Hep-2.

B. ANTICUERPOS ANTINUCLEARES ESPECÍFICOS.

En general, el test IFI-ANA responde a la pregunta si el suero de un paciente contiene anticuerpos antinucleares. Con un IFI-ANA positivo el siguiente paso es intentar identificar la especificidad del anticuerpo antinuclear responsable de la inmunofluorescencia. Esta información puede ser de ayuda a los clínicos ya que ciertos ANA sirven como marcadores serológicos para enfermedades autoinmunes específicas, como por ejemplo anti-SM en el LES. Estos anticuerpos se pueden detectar mediante distintos procedimientos como doble inmunodifusión, conrainmuno-electroforesis, radioinmunoensayo y ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)^{28,29, 25, 30,31}. La solicitud de un ANA específico puede ser sugerida por la presentación clínica del enfermo y el patrón de IFI-ANA que demuestre o bien el laboratorio puede ofrecer un perfil de ANA que debe incluir: Sm, RNP, DsDNA, Ssa-Ro y SSB-La.

IV.- TOLERANCIA INMUNOLÓGICA.

A.- AUTOTOLERANCIA^{32,33,34}

Una de las bases fundamentales del sistema inmunitario es la tolerancia a los tejidos propios y la falta de esa tolerancia a los antígenos extraños; es decir, el desarrollo frente a éstos de una respuesta inmunitaria apropiada. La hipótesis original de BURNET y FENNER sobre la falta de respuesta contra los autoantígenos afirmaba que todos los linfocitos con especificidad contra lo propio eran eliminados antes de la madurez. Este concepto es insostenible, puesto que en los animales adultos normales se encuentran células B autorreactivas. Actualmente se cree que estas células existen de modo normal, pero que se hallan en estado quiescente, debido a la falta de reconocimiento asociativo de los autoantígenos por las células Th (delección funcional o clonal). Las células B son incapaces de responder a los antígenos por falta de ayuda de células T como consecuencia de la delección clonal de las células Th autorreactivas. Esta tolerancia puede ser soslayada si un antígeno entrecruza las células B con células Th de especificidad diferente que sean capaces de sustituir al clono deleccionado.

Según esta hipótesis, el sistema de células Ts proporciona un mecanismo de refuerzo para el mantenimiento

de la autotolerancia por delección de las células Th autorreactivas.

Un mecanismo alternativo de seguridad contra fallos, mediado por las célula T, se ha denominado efecto de "veto celular", es decir; las células T potencialmente autorreactivas son "vetadas" por otras células T.

El agotamiento de las células Ts durante la ontogenia conduce a un aumento de las células B autorreactivas, pero no de las Th. Parece ser que el sistema inmunitario confía principalmente en la delección de las células Th (efectivas a partir de la vida neonatal), y secundariamente en la generación de células Ts, o del veto celular, que se requiere para enfrentarse con los autoantígenos que aparecen en épocas posteriores de la vida, por ejemplo en la pubertad.

B.- AUTOINMUNIDAD Y ENFERMEDAD AUTOINMUNE^{35,36,37}

La diversidad del sistema inmunitario es extraordinaria, y el repertorio de las especificidades expresadas por las poblaciones de células B y T incluye muchas que van dirigidas contra los componentes propios.

Existen mecanismos complicados que el organismo debe establecer para distinguir entre determinantes propios y extraños y evitar así la autorreactividad.

Sin embargo, todo mecanismo tiene un riesgo de fallo, y los mecanismos de autorreconocimiento no constituyen ninguna excepción. Y así, se han identificado diversas enfermedades en las que existe abundante producción de autoanticuerpos y células T autorreactivas. Uno de los primeros ejemplos en los que se reconoció la asociación de autoanticuerpos con enfermedad de un órgano determinado fue la tiroiditis de HASHIMOTO. El suero de pacientes con enfermedad de HASHIMOTO suele tener anticuerpos contra la tiroglobulina, la principal proteína yodada en el líquido folicular de los acinos tiroideos y contra un antígeno citoplasmático o microsómico - la peroxidasa tiroidea -, responsable de la yodación de la tiroglobulina.

ESPECTRO DE LAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES.

Los anticuerpos que acabamos de describir en relación con la enfermedad de HASHIMOTO y con el mixedema primario reaccionan sólo con el tiroides, y no con otro tejido del organismo. En cambio, el suero de pacientes con enfermedades como el lupus eritematoso reaccionan con muchos tejidos del organismo, a veces con todos ellos.

Las enfermedades asociadas con fenómenos autoinmunes tienden a distribuirse dentro de un espectro. En un extremo de éste, ejemplificado por la tiroiditis de HASHIMOTO, los anticuerpos y la lesión destructiva invasora se dirigen contra un sólo órgano del cuerpo. En el otro extremo, cuyo ejemplo sería el LES, los anticuerpos se dirigen contra antígenos dispersos por todo el cuerpo, por lo que las lesiones características de la enfermedad se hallan diseminadas. De este modo, podemos hablar de enfermedades autoinmunes organoespecíficas y no organoespecíficas; en la figura I, se enumeran estas enfermedades según el lugar del espectro donde se encuentran.

ESPECTRO DE LAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES

<p>ORGANOSPECÍFICAS</p>	<p>Tiroiditis de HASHIMOTO Mixedema primario Tirotoxicosis Anemia perniciosa Gastritis atrófica autoinmune Enfermedad de ADDISON Menopausia prematura (pocos casos) Diabetes mellitus insulín dependiente Síndrome de GOODPASTURE Miastenia gravis Infertilidad masculina (pocos casos) Pénfigo vulgar Penfigoide Oftalmía simpática Uveítis facogénica Esclerosis múltiple (?) Anemia hemolítica autoinmune Púrpura trombopénica idiopática Leucopenia idiopática Cirrosis biliar primaria Hepatitis crónica activa (HBsAg neg.) Cirrosis criptogenética (pocos casos) Colitis ulcerosa Síndrome de SJÖGREN Artritis reumatoide Dermatomiositis Esclerodermia Enfermedad mixta del tej.conectivo</p>
<p>NO ORGANOSPECÍFICAS</p>	<p>Lupus eritematoso crónico Lupus eritematoso sistémico</p>

Fig.I. Espectro de enfermedades autoinmunes. Las enfermedades autoinmunes pueden dividirse en organoespecíficas y no organoespecíficas, según se dirija la respuesta principalmente contra antígenos localizados en determinados órganos o contra antígenos de amplia distribución.

Los órganos diana habituales en las enfermedades organoespecíficas son el tiroides, suprarrenales, estómago y páncreas. Por otro lado, las enfermedades no organoespecíficas, que incluyen los llamados trastornos reumatológicos, afectan a la piel, riñón, articulaciones y músculos.

Es interesante el hecho de que en cada extremo del espectro existe una superposición notable. Por ejemplo, los anticuerpos antitiroideos se encuentran muy frecuentemente en pacientes con anemia perniciosa, que experimentan autoinmunidad gástrica; además, estos pacientes tienen una incidencia de enfermedad autoinmune tiroidea superior a la observada en la población normal.

Del mismo modo, los pacientes con autoinmunidad tiroidea muestran una incidencia anormalmente elevada de autoanticuerpos antiestómago y, con incidencia menor, la propia enfermedad clínica, la anemia perniciosa. El grupo de trastornos reumatológicos, en el extremo no organoespecífico del espectro, muestra una superposición considerable entre ellos, y así, el cuadro clínico del LES, por ejemplo, se asocia frecuentemente con rasgos de la artritis reumatoidea. En las enfermedades no organoespecíficas, los complejos formados con los antígenos se depositan de modo sistémico sobre todo en el riñón, las articulaciones y la piel, dando lugar a las manifestaciones más diseminadas de la enfermedad. Por el contrario, la

superposición entre enfermedades situadas en los dos extremos del espectro es relativamente rara y resultan extremadamente inusuales los casos con presentación simultánea de LES y tiroiditis. Por lo que respecta a las enfermedades organoespecíficas, las lesiones están restringidas, pues el antígeno del órgano actúa como diana para el ataque inmunológico. En el grupo no organoespecífico, el antígeno está diseminado por todo el cuerpo.

Los mecanismos por los cuales se producen las lesiones inmunopatológicas en la autoinmunidad varían según la localización de la enfermedad dentro del espectro. Cuando el antígeno se localiza en un órgano determinado, la hipersensibilidad de tipo II y las reacciones mediadas por células adquieren su máxima importancia. En la autoinmunidad no organoespecífica, el depósito de complejos inmunes en los lugares de filtraciones es asimismo relevante.

PATOGENIA

Si se encuentran autoanticuerpos en asociación con una determinada enfermedad, existen tres posibles explicaciones lógicas:

1. La autoinmunidad es responsable de las lesiones características de la enfermedad.

2. Hay un proceso patológico que, a través de la producción de lesiones hísticas, conduce secundariamente al desarrollo de autoanticuerpos.

3. Existe un factor que produce al mismo tiempo las lesiones y la autoinmunidad.

Los autoanticuerpos secundarios a una lesión se han encontrado en ciertas circunstancias, como, por ejemplo, los autoanticuerpos anticorazón que pueden seguir al infarto de miocardio. Sin embargo, es poco frecuente que se induzca la aparición de autoanticuerpos tras la liberación de autoantígenos por un simple traumatismo. La primera proposición; es decir, que ciertas enfermedades están causadas por el proceso autoinmune, se comprueba mediante la inducción deliberada de autoinmuniad en un animal de experimentación dando lugar a la producción de las lesiones. De hecho, es posible provocar ciertas enfermedades organoespecíficas en animales de experimentación mediante la inyección del antígeno causal con el adyuvante completo de FREUND. La tiroglobulina puede inducir una enfermedad inflamatoria del tiroides, mientras que la proteína básica de la mielina es capaz de inducir encefalomiелitis en animales que hayan sido autoinmunizados adecuadamente. Puede observarse especificidad estricta de órganos, puesto que las lesiones se limitan en ambos casos a los órganos o sistemas orgánicos en los que se localiza el antígeno usado para la inmunización. En el caso de los

animales a los que se inyecta tiroglobulina, no sólo se produce anticuerpos antitiroideos, sino que la glándula aparece infiltrada por células mononucleares y la arquitectura acinar se transforma bajo su influencia.

La capacidad de inducir estas enfermedades autoinmunes experimentales depende de la cepa animal utilizada. Por ejemplo, se ha observado que la susceptibilidad de ratas y ratones frente a la encefalomiелitis inducida por la proteína básica de la mielina depende de un pequeño número de loci génicos, de los que los más importantes son los genes del MHC de clase II. Asimismo, es posible provocar encefalomiелitis autoalérgica, en cepas susceptibles, mediante la inyección de líneas celulares T específicas para la proteína básica de la mielina. Estas líneas son CD4+, y se ha visto que la inducción de la enfermedad puede bloquearse si se tratan los receptores con anticuerpos frente a CD4+, inmediatamente antes del comienzo de la enfermedad. Los resultados obtenidos indican la importancia de las células T autorreactivas restringidas por las moléculas MHC de clase II en el desarrollo de estos procesos, y subrayan el papel del MHC.

ETIOLOGIA

La etiología de la enfermedad autoinmune puede considerarse únicamente en relación con los mecanismos por

los cuales un individuo mantiene la tolerancia hacia las moléculas propias.

Estos mecanismos comprenden:

1. Aislamiento del autoantígeno respecto del sistema inmunitario
2. Delección de los clones de células T autorreactivas, en el curso del desarrollo.
3. Ausencia de procesamiento y presentación de moléculas propias.
4. Acción de las células T supresoras en el amortiguamiento de la respuesta autoinmunitaria.

Algunos de estos mecanismos son relevantes para ciertos autoantígenos, y algunos otros mecanismos lo son para otros autoantígenos.

Suele aceptarse hoy en día que existen en el organismo linfocitos autorreactivos para múltiples autoantígenos en potencia; algunos de los datos demostrativos de ello son:

- La tiroglobulina en adyuvante completo de Freund y otros adyuvantes (p. ej. lipopolisacárido, poli-A:U) induce autoinmunidad en animales normales.

- Un pequeño porcentaje de células B normales se unen a la antitiroglobulina en superficie.

- La línea celular T cerebroespecífica procedente de ratas normales induce encefalomiелitis.

- Los linfocitos cultivados con testículos o tiroides singénicos se vuelven autosensibilizados.

Además, hoy se sabe que muchas proteínas de las que antes se creía que se encontraban aisladas respecto del sistema inmunitario, por ejemplo la tiroglobulina, se hallan disponibles para los linfocitos recirculantes. Todo ello conduce a una situación en la cual los linfocitos autorreactivos y el autoantígeno pueden establecer contacto en el individuo normal. La autorreactividad frente a tales antígenos debe controlarse por la falta de presentación del antígeno o por las células T supresoras. La autoinmunidad puede producirse por un cortocircuito de la regulación que cause activación directa de las células Th o active a otras células, las T-contrasupresoras, que conviertan a las células Th en resistentes a la supresión. El autoantígeno también podría cortocircuitar a las células Th para estimular directamente a las células B y a las T efectoras.

Los controles de la autorreactividad incluyen diferentes tipos de células T supresoras, que elaboran un complejo de actividad T supresora. Se ha postulado que los

defectos en, quizá, más de un tipo de célula T supresora, podrían ser importantes para el desarrollo de una respuesta autoinmune. Es interesante hacer notar que, en los estudios efectuados sobre los familiares clínicamente no afectados de pacientes con LES, se ha observado que estos individuos comparten con los pacientes un defecto en la generación de células T supresoras inespecíficas, lo que sugiere, en primer lugar, que el defecto no es consecuencia de la enfermedad y, en segundo lugar, que es incapaz por sí sólo de originar el LES. Todo esto es compatible con la discusión previa en el sentido de que pueden estar implicados varios factores en la producción de la enfermedad autoinmune, y puede ser necesario postular ulteriores anomalías en las células T reguladoras, ya sean antígenoespecíficas o idiotipoespecíficas.

Otro factor importante en el mantenimiento de la autotolerancia debe ser la incapacidad de las células T cooperadoras autorreactivas para poder reconocer a las moléculas potencialmente antigénicas sobre células que normalmente no expresan genes MHC de clase II. En estas circunstancias, prevalece el "silencio inmunológico" debido a que estas células T sólo pueden reconocer al antígeno cuando se presentan asociado a moléculas de clase II. Este silencio inmunológico podría quebrantarse por una expresión inadecuada de la clase II.

Por lo tanto, en la actualidad nos enfrentamos a un enigma no resuelto: ¿se inicia la inmunidad por algún factor ajeno a las células T que produzca expresión inadecuada de moléculas MHC de clase II? ¿o bien se induce la expresión de la clase II por una autoinmunidad preexistente, en cuyo caso podría contribuir a la continuación del proceso patogénico?.

Sin embargo, éstas no son las únicas posibilidades, y podrían operar otros factores no necesariamente exclusivos.

De gran interés son las sugerencias de ALLISON y WEIGLE sobre la posible actuación de un mecanismo que establezca un cortocircuito para las células T. Según esta idea, dado que la falta de respuesta de las células T y B efectoras finales puede deberse a supresión o a la adquisición de tolerancia por las células T cooperadoras específicas para el autoantígeno (células T inductoras), cualquier circunstancia que conduzca al cortocircuito de estas células T tolerantes, podría estimular directamente a los linfocitos efectoras. En presencia de un antígeno con reacción cruzada puede suministrar ayuda una nueva población de células Th que reaccione con un determinante del portador extraño. La unión de un fármaco con el autoantígeno puede actuar también determinante del portador reconocido por las células Th. Otra posibilidad es la de que el autoantígeno pueda alterarse estructuralmente a

través de anomalías en su síntesis o procesamiento. El nuevo determinante del portador puede estar o bien en una molécula que tenga también el determinante autoantigénico o bien en una molécula diferente asociada con el autoantígeno en una membrana celular. También se puede inducir autoinmunidad por los activadores policlonales (virus de EPSTEIN- BARR, o los polisacáridos bacterianos) que estimulan a las células autorreactivas directamente.

Una nueva hipótesis es la inducción de autoinmunidad por estimulación a través del idiotipo. Puede producirse autoinmunidad si las células T o B autorreactivas tienen un idiotipo público que dé reacción cruzada con el idiotipo presente en el anticuerpo estimulado por un agente microbiano o incluso con una estructura del propio germen. Daría lugar a cooperación por el Th anti-idiotipo. Incluso en este caso, parece improbable que la respuesta autoinmune pueda mantenerse a menos que exista algún defecto en la célula T supresora antiidiopática, lo que vuelve a resaltar la considerable importancia de la intervención de factores múltiples en el establecimiento de la autoinmunidad prolongada.

V.- DERMATOSIS AUTOINMUNES.

A.- LUPUS ERITEMATOSO

El lupus eritematoso (LE) es una enfermedad muy variable en sus formas de presentación clínica consistiendo más en una colección de síntomas que en una enfermedad con un patrón uniforme. Sin embargo, todas las forma clínicas tienen un hallazgo en común, la **fotosensibilidad**.

Actualmente se proponen tres factores determinantes de la fotosensibilidad³⁸:

1º) La susceptibilidad a las radiaciones ultravioletas, que da lugar a la liberación de citoquinas dérmicas y epidérmicas.

2º) Bajo la acción de estas radiaciones, se produce la liberación o translocación de antígenos secuestrados en la dermis y epidermis.

3º) Estas citoquinas actúan sobre mecanismos inmunológicos específicos dirigidos contra los antígenos liberados en el epitelio.

Estos tres factores se interrelacionan entre si pudiéndose proponer la siguiente secuencia patogénica:

Estadio I.- Las radiaciones ultravioletas A y B liberan citoquinas dérmicas y epidérmicas (TNF α , IL-1, IL6, proteínas de estrés o de choque térmico...) y mediadores de la inflamación.

Estadio II.- Las citoquinas inducen localmente cambios en la dermis y epidermis [liberación de moléculas ICAM-1, VCAM-1, translocación de antígenos (Ro, La...)], y sistémicamente activan a los leucocitos dando lugar al ...

Estadio III.- Dónde se produce la unión de los autoanticuerpos contra los antígenos secuestrados y la migración y adhesión de los leucocitos a la epidermis.

Estadio IV.- Lisis de los queratinocitos por citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos o por linfocitos T citotóxicos, con la consecuente liberación de las citoquinas epidérmicas, que junto a la activación local de linfocitos T y la activación endotelial darán lugar a la persistencia y extensión de las lesiones.

Esta secuencia puede ser propuesta tanto para el lupus subagudo, lupus crónico, lupus tumidus o lupus eritematoso cutáneo agudo, con diferentes efectores específicos del daño tisular según el caso (anticuerpos, inmunocomplejos,

linfocitos T citotóxicos, "CD8 T cells") pero con similar susceptibilidad genética a la liberación de citoquinas inducidas por las radiaciones ultravioletas.

1.- CLASIFICACIÓN.

El lupus eritematoso se divide en tres entidades - cutáneo o discoide, intermedio y sistémico-. El subgrupo intermedio lo constituye el lupus eritematoso subagudo.

Desde hace tiempo se discute si el lupus cutáneo (LEC) y el lupus sistémico (LES) son variantes de la misma enfermedad. Las evidencias en favor de esta hipótesis son las siguientes:

1. Las lesiones cutáneas del LES y LEC son clínica e histológicamente indistinguibles.
2. Ciertos hallazgos clínicos aparecen en los dos tipos de afecciones.
3. Se pueden demostrar anormalidades hematológicas, bioquímicas e inmunológicas similares en ambas condiciones, aunque la incidencia de anormalidades es menor en LEC.
4. Se han descrito casos de pacientes con LEC que han desarrollado un lupus sistémico.
5. Pacientes con LES pueden presentar elementos discoides.

6. La paniculitis lúpica aparece tanto en el LEC como en el LES.

Sin embargo, las siguientes observaciones indican la posibilidad de que pueda tratarse de distintas enfermedades:

1. El riesgo de un paciente con LEC de desarrollar un LES es pequeño. Varía desde 1.3%³⁹ al 5%⁴⁰. El riesgo es más elevado cuando presentan alteraciones serológicas (6.5)%^{39,41} y en pacientes con LEC diseminado (22%) que en LEC confinado a cabeza y cuello (1.25%)⁴¹.

2. La presencia de anomalías de laboratorio en el LEC no parece predisponer al desarrollo de LES⁴² aunque son frecuentes en LEC diseminado^{41,43}.

3. Las inmunoglobulinas y el complemento están presentes en piel no afecta de pacientes con LES y ausentes en pacientes con LEC⁴⁴.

4. La mayoría de pacientes con LEC expuestos a radiaciones ultravioleta, estrés, traumas, etc., no desarrollan la enfermedad sistémica.

5. La distribución por edad y sexo del LES⁴⁵ es extraordinariamente distinta del LEC⁴⁶.

Se ha propuesto que tanto el LES como el LEC son iniciados por la aparición de mutaciones somáticas en las "Stem cells" linfocíticas de individuos predispuestos y que son genéticamente distintos (como lo demuestra la diferente incidencia de HLA-B8 entre LEC y LES)⁴⁷. Hay al menos tres genotipos relacionados con la edad de comienzo en el LEC⁴⁸.

La incidencia con respecto al sexo es distinta en las dos enfermedades. El índice mujer:hombre de portadores al nacimiento en el LES es alrededor de 4.5:1⁴⁵, y se ha propuesto que el genotipo incluye tres alelos dominantes ligados al cromosoma X. Por el contrario, el índice de sexo (mujer-hombre) de portadores al nacimiento en LEC es 1.2, 1.4 y 2.6:1 en los tres genotipos y parece probable que hay solamente un alelo ligado al cromosoma X en el genotipo 2 y dos en el genotipo 3⁴⁸. Probablemente, alelos autosómicos predisponentes estén también presentes en todos los genotipos tanto en el lupus sistémico como en el cutáneo.

Más evidencias de que el LES y LEC son enfermedades genéticamente distintas son los estudios de histocompatibilidad de las dos afecciones⁴⁷. Hay una diferencia importante en la incidencia del HLA B-8 en mujeres que desarrollan cada enfermedad entre los 15 y 39 años. Se considera que existen pacientes que pueden tener predisposición para una o las dos enfermedades. Aquellos pacientes que "se convierten" de LEC a LES, y aquellos con LES que presentan elementos discoides en la piel deben

estar predispuestos genéticamente a ambas afecciones. Aquellos pacientes con sólo un genotipo para el LEC nunca se convertirá en LES, incluso cuando esté sujeto a factores ambientales, como drogas, infecciones bacterianas o virales, radiaciones ultravioletas o estrés.

Actualmente, no es posible determinar el patrón genético de pacientes individuales o predecir acertadamente una pequeña proporción de pacientes con elementos discoides que desarrollen un LES. Sin embargo, es evidente que la presencia del HLA B-8 en una mujer con elementos discoides, en una edad entre los 15 y 40 años, indique un riesgo elevado de "convertirse" en una enfermedad sistémica. Los autoanticuerpos séricos no son el patógeno primario en estas enfermedades, pero probablemente reflejan la autoinmunidad celular subyacente que causa la enfermedad.

2.- LUPUS ERITEMATOSO CUTÁNEO

Definición. El LEC es una enfermedad benigna de la piel que afecta principalmente la región facial y se caracteriza por placas eritematosas, descamativas, de distinto tamaño, bien delimitadas, que tienden a la curación con atrofia, cicatrización y alteraciones en la pigmentación.

Se subdivide en la forma localizada, en la cual los elementos están localizados en la cara, sobre la barbilla, el cuero cabelludo y los pabellones auriculares, y una forma diseminada donde los elementos se hallan distribuidos por toda la superficie corporal incluyendo zonas no fotoexpuestas.

Etiología. La enfermedad presenta una distribución característica en cuanto a edad y sexo. Afecta dos veces más a mujeres que a hombres. La edad de comienzo es en la cuarta década en mujeres y un poco después en varones. El 3% de los casos comienza antes de los 15 años, y el 2.5% después de los 70 años. Los casos familiares son muy poco frecuentes; en algunas series, se han encontrado un 4%⁴⁹. Se han propuesto factores genéticos en la patogénesis de la enfermedad^{45,48}. Existen al menos tres genotipos relacionados con la edad de comienzo, y hay probablemente un cuarto correspondiente a esos casos transitorios en los que existen depósitos de inmunoglobulinas en la piel sana

de estos pacientes. Un estudio reciente de KNOP⁵⁰ ha encontrado una asociación positiva con HLA-B7, B8, Cw7, DR2, Dr3 y DQWI. El riesgo relativo se aumenta con ciertas combinaciones de antígenos como HLA-Cw7, DR3 y DQw1 y para HLA-B7, HLA-Cw7 y DR3. Los pacientes de ambos sexos que desarrollan lesiones entre los 15 y 39 años tienen una elevada incidencia de HLA-B7, y mujeres sobre los 40 años de edad, de HLA-B8⁴⁷. Las mutaciones somáticas ocurren en loci ligados al cromosoma X y autosómicos en una Stem cell linfoide. Como resultado, se desarrolla un clon de linfocitos que sintetizan autoanticuerpos. Después de un período de latencia de unos 4 años en mujeres y 2 en varones, los signos clínicos de la enfermedad comienzan a manifestarse. Normalmente, un mecanismo de defensa endógeno aparece dirigido contra este clon de linfocitos. Los factores ambientales, interfiriendo estos mecanismos de defensa, pueden precipitar el comienzo de la enfermedad o producir exacerbaciones una vez que los signos clínicos se han desarrollado. Elementos parecidos a los discoides han aparecido después de trasplantes de médula ósea alogénicos, constituyendo una prueba más de una etiología autoagresiva.

El comienzo de las lesiones puede ser precipitado por una serie de factores como traumatismos, estrés, quemadura solar, infecciones, exposición al frío y embarazo. Una vez desarrolladas las lesiones, existen varios factores capaces de exacerbarlas, como la luz del sol en un 68% de los casos. Otros autores⁵¹ han negado el papel de la luz del

sol como factor exacerbante. Los estudios más recientes⁵² han demostrado que experimentalmente pueden inducirse elementos discoides por UVB, UVA y luz visible en pacientes con LED. Más de la mitad de los pacientes notan que empeoran en verano, y un 10% en invierno. Un 13% de las pacientes notan empeoramiento premenstrual. Durante el embarazo, suele empeorar en los tres primeros meses mejorando en los seis restantes y empeorando tras el parto.

Dermatopatología. El examen anatomopatológico de las lesiones cutáneas del lupus permiten confirmar su diagnóstico. Este se obtiene por la combinación de una serie de hallazgos, ya que ningún dato es exclusivo ni específico de la enfermedad. Las lesiones características de la epidermis consisten en atrofia con hiperqueratosis y pequeños focos de paraqueratosis, tapones córneos, así como vacuolización de las células de la capa basal y cantidad variable de cuerpos coloides⁵³. En ocasiones, se observa necrosis focal de todas las capas de la epidermis, ya sea por vacuolización o por necrosis eosinofílica. Este dato histológico suele corresponder a los bordes de las lesiones anulares del lupus subagudo⁵⁴.

Además del engrosamiento PAS-positivo de la membrana basal, los cambios dérmicos incluyen edema, incontinencia pigmentaria, ectasia vascular, extravasación de hematíes, presencia de cuerpos coloides e infiltrado inflamatorio de

disposición perivascular, en banda subepidérmica y, sobre todo, perianexial⁵³. No existen rasgos histológicos propios para cada tipo clínico de lesión cutánea y, como mucho, las diferencias se limitan al grado de intensidad con que aparecen. Es, por tanto, muy difícil identificar los distintos tipos de lupus cutáneo desde el punto de vista anatomopatológico⁵⁵.

Inmunofluorescencia directa. Desde hace más de 20 años se ha demostrado el depósito de inmunoglobulinas y complemento en el 90% aproximadamente de las lesiones cutáneas del LED, así como en la piel sana de pacientes afectados de LES. Se localizan en la dermis papilar, inmediatamente por debajo de la membrana basal, y aparecen como una banda de material fluorescente de morfología variable. Es característico el depósito simultáneo de varios tipos de inmunoglobulinas, sobre todo IgM e IgG. La IgM constituye la inmunoglobulina más sensible pero menos específica, mientras que la IgA es la que se detecta con menor frecuencia⁵⁶. Recientemente, en el lupus eritematoso subagudo se ha descrito un patrón distintivo, constituido por finas partículas intracelulares y extracelulares de IgG, localizadas a lo largo de la capa basal, la región subepidérmica y el infiltrado dérmico⁵⁷.

Alteraciones analíticas. En una serie de 120 pacientes⁴², se encontraron alteraciones en el 55%. En un tercio de los pacientes pueden encontrarse anemia,

leucopenia o trombocitopenia, así como un aumento de la VSG en un 20%.

Las globulinas séricas se encuentran elevadas en un 29% de los pacientes, siendo las gammaglobulinas las afectadas con más frecuencia. Los niveles elevados de IgG se asocian a cicatrización. Puede aparecer serología luética falsamente positiva en un 26% de los casos, así como anticuerpos anticardiolipina (principalmente IgM) a bajo título en el 15%, estando asociados a anticuerpos antinucleares, aunque no parece indicar una acentuada tendencia trombótica. En ocasiones, el fenómeno LE aparece positivo en el 1.7% y el factor reumatoide en el 17% de los pacientes⁵⁸.

Los anticuerpos antinucleares aparecen en el 35% de los casos, siendo el patrón homogéneo dos veces más frecuente que el moteado⁵⁸. Los ANA se encuentran comúnmente en pacientes ancianos, en aquellos con mucho tiempo de evolución y en los que presentan extensa afectación de la piel. Son también más frecuentes en pacientes con perniosis, fenómeno de RAYNAUD y dolores articulares⁵⁹. La incidencia de ANA varía según las distintas series: 5%⁴⁹, 13%⁶⁰, 50%⁶¹, y 60%⁶², pero tales diferencias pueden ser debidas a la selección de los pacientes o a la sensibilidad de las técnicas experimentales^{21.63}. No se han detectado anticuerpos

antinucleares extractables específicos para los pacientes con LEC.

La incidencia de anticuerpos anti-DNA varia del 0%⁶³ al 27%⁶⁴. En esta última serie, los pacientes no mostraron afectación sistémica y, después de un seguimiento de tres años, no evolucionaron a LES. En algunas ocasiones, los niveles de complemento sérico se encuentran disminuidos. A veces se han observado niveles disminuidos de C4, pero no existe un perfil específico de complemento en estos pacientes⁵⁸.

Los pacientes con LEC y eritema multiforme presentan anticuerpos anti-LA asociados a ANA con patrón moteado, así como factor reumatoide positivo⁵⁸.

Se ha encontrado una incidencia elevada de anticuerpos antitiroideos en pacientes con LEC, particularmente en mujeres⁶¹. Los anticuerpos anticélulas parietales aparecen en el 13% de los pacientes, pero esta frecuencia no es estadísticamente superior a la observada en los controles sanos (11%)⁶¹.

Los recuentos de células T son más bajos que en los controles, mientras las células B permanecen en cantidades normales.

Clinica. La cara y el cuero cabelludo son las zonas más afectadas, siguiendo en frecuencia pabellones auriculares, nariz, brazos, piernas y tronco. El elemento circunscrito o discoide es el más frecuente y aparece particularmente en las mejillas, puente nasal, orejas, superficies laterales del cuello y cuero cabelludo, ocasionando placas de alopecia cicatricial.

Las mucosas están afectadas en un 24% de los casos⁶⁵. En un 9% de los casos aparecen elementos en la mucosa nasal, y, en la misma proporción, placas hiperqueratósicas parecidas a las del liquen plano en mucosa oral y paladar. Los labios muestran engrosamiento y enrojecimiento en ocasiones con ulceración superficial y costras, curando con cicatrización. Pueden aparecer elementos eritematosos en vulva en un 5% de los casos⁶⁵ y alrededor del ano⁶⁶.

Tratamiento. Las medidas generales juegan un papel importante en el manejo del enfermo. Deben evitar una exposición solar excesiva y usar fotoprotectores de alto índice de protección. El tratamiento tópico con corticoides es suficiente en muchas ocasiones para controlar el proceso. En casos resistentes, se pueden usar inyecciones intralesionales de corticoides tipo acetónido de triamcinolona 5-10 mg/ml, cada 6 semanas.

En aquellos casos que no responden a la medicación tópica son necesarios los antipalúdicos por vía oral. El

más efectivo es el sulfato de cloroquina, a una dosis de 200 mg dos veces al día durante unas seis semanas para ir reduciendo la dosis posteriormente. Debido a los efectos tóxicos relacionados con la dosis total acumulada, se suele limitar el ciclo de tratamiento en unos 6 meses. En caso de existir náuseas y vómitos, se puede cambiar a la hidroxicloroquina a la dosis de 400-800 mg dos veces al día. Entre los efectos secundarios destacan depósitos corneales, retinopatía, pigmentación del paladar, uñas y piernas, blanqueamiento del pelo y bigote, dermatitis exfoliativa, erupciones liquenoides, miopatías, neuropatías y trastornos mentales, pero estos son infrecuentes. Las manifestaciones oculares pueden prevenirse con revisiones oftalmológicas periódicas.

En caso de no responder al tratamiento convencional puede realizarse otras medidas terapéuticas como la talidomida a la dosis de 400 mg/día. Se requiere tratamiento anticonceptivo en casos de mujeres en edad fértil. Otros tratamientos usados con distintos resultados son: ciclofosfamida, azatioprina, interferón α 2a, escisión de las lesiones, dermabrasión, láser CO₂, etc...⁵⁸.

3.- LUPUS ERITEMATOSO INTERMEDIO. (SUBAGUDO).⁶⁷

Las dos características que definen las lesiones de este subtipo y las diferencia del LEC son su extremada fotosensibilidad y el carácter transitorio y no cicatricial.

Las lesiones aparecen en forma de brotes, en ocasiones recidivantes, más frecuentes en épocas primaverales o estivales. Consisten en máculas, pápulas o pequeñas placas eritematosas, localizadas en cara, cuello, escote, espalda, hombros y región externa de las extremidades superiores, que evolucionan hacia una morfología anular o policíclica, con un centro claro y borde eritematodescamativo o, más rara vez, placas eritematoescamosas de aspecto psoriasiforme. En ocasiones, los bordes activos de las lesiones anulares son vesiculosos, exudativos o costrosos.

Se observa también un grupo de pacientes con pápulas eritematosas, más o menos infiltradas, localizadas preferentemente en la cara y el dorso de las manos y, con menor frecuencia, también en el tórax y las extremidades superiores, que evolucionan por brotes y no dejan cicatriz. El estudio histológico o la presencia de ANA confirman en estos casos el diagnóstico de lupus. Aunque su morfología no es anular ni psoriasiforme, se incluyen a estos pacientes dentro del subgrupo LECS, debido al carácter

transitorio de las lesiones y su curación sin cicatriz (LECS papuloescamoso)⁶⁸.

Ambos grupos de pacientes presentan, con una frecuencia variable, afección de mucosas, alopecia no cicatricial, telangiectasias periungueales y livedo reticular.

Aproximadamente la mitad de estos enfermos cumplen cuatro o más criterios ARA para el diagnóstico de LES⁶⁹. La mayoría refiere algún síntoma general, como astenia, anorexia, febrícula o artromialgias. El 10% de los pacientes pueden desarrollar lesión renal o neurológica, posibilidad que debe tenerse en cuenta desde el momento en que a un paciente se le diagnostica un LECS⁷⁰.

Se ha discutido mucho sobre la existencia de determinadas características inmunogenéticas que permitan definir este subgrupo de lupus⁷¹. En el suero de los pacientes no siempre se detectan ANAs, probablemente dependiendo de la técnica de laboratorio empleada para su determinación; con frecuencia se hallan anticuerpos anti-Ro y anti-La circulantes y es poco frecuente la presencia de anti-ADN, Sm, RNP e hipocomplementemia. El estudio de los antígenos de histocompatibilidad parece demostrar cierto predominio de los antígenos B8 y DR3. Sólo el grupo de pacientes con lesiones anulares presentan un claro predominio, respecto a la población sana, de anticuerpos

anti-Ro (59%) y anti-La (25%), así como HLA-B8 (37%) y HLA-DR-3 (59%). Esta relación no se comprueba ni en el grupo de pacientes afectos de LEC, ni en los LECS con lesiones papuloescamosas⁶⁸. Con ello, se avala el concepto de que el subgrupo de LECS se define sólo por las lesiones cutáneas características, y, a pesar de que éstas implican un determinado contexto inmunogenético, la presencia de anti-Ro o HLA-DR-3 no son requisitos indispensables para definir este subgrupo de lupus.

4.- LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.

Se trata de la manifestación cutánea más característica del LES, el exantema malar, y su versión más generalizada en forma de erupción maculopapular discreta y fugaz. El eritema en "alas de mariposa" o exantema malar se describe como máculas o pápulas, discretamente eritematosas, confluentes, acompañadas a veces de edema. Estas lesiones pueden extenderse a cuello, escote, superficie de extensión de las extremidades, dorso de las manos y dedos (entre las articulaciones), espalda y superficie anterior del tórax. Con frecuencia estas lesiones confluyen configurando un reticulado muy característico, similar a la lédedo reticular. Son de aparición aguda y evolución fugaz, de días a pocas semanas, y coinciden, en general, con la aparición de complicaciones sistémicas. Por tanto, la observación de estas lesiones debe hacer sospechar actividad sistémica y lesión visceral severa. A veces la erupción adquiere el aspecto de un exantema morbiliforme y tal grado de extensión que puede simular una toxicodermia, eritema polimorfo o, incluso una necrolisis epidérmica tóxica^{72,73}.

B.- LIQUEN PLANO

El liquen plano (LP) o liquen "ruber plano" de WILSON (1867) es un auténtico síndrome cutáneo-mucoso de patogenia todavía incierta, desencadenado por factores muy diversos e incluso con frecuencia idiopático. Es una enfermedad de distribución mundial, sin predisposición racial, aunque su incidencia varia considerablemente de unos países a otros. En Nigeria, el LP es una de las enfermedades más comunes, presentándose en la mayoría de los casos de forma aguda así como también de forma hipertrófica. La frecuencia es igual en ambos sexos, existiendo notable predominio por la edad media de la vida, entre los 30 y 60 años⁷⁴. Se han descrito casos de LP dentro de una misma familia^{75.76}, calculándose una incidencia del 10.7% en una serie⁷⁷, y casos en gemelos homocigóticos⁷⁸, lo que sugiere una predisposición genética en esta afección. En algunas ocasiones se ha asociado a enfermedades autoinmunes como miastenia gravis, cirrosis biliar primaria, colitis ulcerosa, etc., pero en la mayoría de los casos de LP no se han detectado estas asociaciones⁷⁹.

Patogénesis. Según la hipótesis etiopatogénica de BLACK y NEWTON⁸⁰, en individuos genéticamente predispuestos, la llegada a la epidermis de diversos antígenos (medicamentos, ¿virus?, proteínas y sustancias desnaturalizadas -tumores malignos...-, aloinjertos -enfermedad injerto contra huésped-), induciría una

proliferación de células de LANGERHANS (presentadoras de antígeno) y una reacción inmunológica mediada por linfocitos T que culminaría con la necrosis de los queratinoblastos y formación de cuerpos coloides.

Un hallazgo constante del infiltrado dérmico linfocitario en las reacciones liquenoides es su epidermotropismo. Además, estas células son linfocitos Ia positivos, representando una población de linfocitos T estimulados. Estas células son capaces de actuar como agentes efectores con capacidad citotóxica.

Se han observado queratinocitos HLA-DR positivos en la epidermis sobre el infiltrado dérmico que contiene linfocitos T activados. Los estudios más recientes⁸¹ indican que es el gamma-interferón segregado por estos linfocitos el que induce la expresión del HLA-DR. Los queratinocitos también producen una serie de citoquinas que atraen a los linfocitos hacia la epidermis, produciéndose una serie de interacciones queratinocitos-linfocitos que son la base patogénica de estas reacciones.

Dermatopatología. Uno de los hallazgos histológicos más precoces es la alteración de la capa basal de la epidermis, que aparece antes de que el infiltrado en banda esté totalmente desarrollado. Lo primero que se observa es el aumento del número de células de LANGERHANS en el epitelio. Este infiltrado linfocitario que es

superficial alcanza la unión dermoepidérmica y causa degeneración vacuolar y hendiduras a lo largo de la unión dermo-epidérmica justo antes que los queratinocitos necróticos (cuerpos coloides) empiecen a acumularse.

Sin embargo, los cambios histológicos característicos aparecen cuando la pápula se ha desarrollado completamente. El centro de la pápula corresponde a un área de acantosis irregular con hipergranulosis e hiperqueratosis compacta. El engrosamiento focal del estrato granuloso y el infiltrado corresponde a las estriás de WICKHAM. En el centro de la pápula las crestas interpilares adoptan la morfología en "dientes de sierra". El daño de la capa basal de la epidermis da lugar a los siguientes cambios histológicos:

- Cuerpos coloides. Son queratinocitos necróticos que pueden presentarse aislados o en acúmulos. Puede aparentar que toda una cresta interpilar se ha transformado en un bloque de cuerpos coloides o bien una separación focal de la epidermis dando lugar a los espacios de MAX JOSEPH. En los elementos antiguos o hipertróficos, los cuerpos coloides se hallan reducidos.

- Incontinencia pigmentaria. En las pápulas activas los melanocitos están ausentes o muy disminuidos en número. La melanina liberada de los gránulos es

fagocitada por los macrófagos de la dermis papilar, permaneciendo posteriormente esta pigmentación una vez que el proceso se ha resuelto.

- Cambios epidérmicos. El estrato granuloso se engruesa de manera irregular (granulosis discontinua) y hay hiperqueratosis ortoqueratósica.

- Infiltrado inflamatorio en banda. En los estadios más precoces aparece un infiltrado perivascular que posteriormente se extiende por todo el límite dermo-epidérmico y alrededor de los vasos de la dermis papilar que se hallan dilatados y algunos con fibroplasia. El infiltrado es casi siempre linfocitario, y, en pocas ocasiones, las células plasmáticas son numerosas.

- Liquen plano de mucosas. El epitelio se parece a la epidermis de la piel ya que desaparece la apariencia vacuolada de las células ricas en glucógeno de la mucosa normal. En esta variante, las células plasmáticas son abundantes en el infiltrado en banda y los cuerpos coloides son menos numerosos que en los elementos cutáneos. Puede aparecer ligera displasia epitelial sin que sea signo de actividad preneoplásica aunque cuando la displasia es moderada o severa debe considerarse como una lesión precancerosa.

Inmunofluorescencia directa. Se observan depósitos globulares de IgM, y ocasionalmente de IgG e IgA a nivel de los cuerpos coloides y en la membrana basal, donde también aparecen depósitos de fibrina⁸³. Estos hallazgos no son específicos del LP ya que pueden ser vistos también en el lupus eritematoso, eritema multiforme, así como en reacciones liquenoides inducidas por medicamentos. En el caso de LP de mucosa oral, el estudio mediante IFD de la mucosa gingival demostró que el depósito de fibrina en la membrana basal y en los cuerpos citoides muestran una sensibilidad como prueba diagnóstica del 79% y, aunque la histología y la impresión clínica tienen una sensibilidad mayor que la IFD, con un test positivo el valor predictivo se eleva al 92 %⁸⁴.

Inmunofluorescencia indirecta. Hasta 1984 los estudios mediante IFI realizados en el LP no habían mostrado hallazgos característicos y definitivos. Usando piel lesional y suero de pacientes con LP, OLSEN y cols.⁸⁵ han demostrado la existencia de un antígeno específico ,LPSA (lichen planus specific antigen), situado en el estrato granuloso y espinoso, en el 80% de los pacientes con LP. No lo observaron en piel de personas sanas ni en pacientes con otras dermatosis. El papel de este antígeno en la patogénesis del LP es desconocido y lo consideran como un fenómeno secundario.

Otros autores, apoyados en este estudio, usaron la IFI para diferenciar el LP de otras dermatosis liquenoides⁸⁶ como puede ser los síndromes de solapamiento entre Liquen-Lupus.

LIN y cols.⁸⁷, basándose en una hipótesis autoinmune para el LP oral, ensayaron los sueros de pacientes usando como substrato esófago de rata, esófago de mono, mucosa oral humana y piel, para comprobar si los resultados negativos obtenidos hasta entonces eran debidos a la insensibilidad de los substratos. Mediante IFI se encontró que el esófago de rata era el substrato más sensible. Con este substrato se han demostrado tres patrones de fluorescencia de autoanticuerpos anticélulas basales en el epitelio: anticitoplasmático, antimembranoso y antinuclear. También han encontrado autoanticuerpos anti-células basales (anti-BCA) en el 54% de pacientes con liquen plano oral. Estos anti-BCA persisten durante meses o años y disminuyen después de aplicaciones tópicas de corticoides. Estos anti-BCA pueden ser autoanticuerpos que van dirigidos contra antígenos alterados específicos de las células basales. En 40 casos de Liquen plano oral erosivo el 43% presentaron el patrón membranoso, el 10% citoplasmático y el 3% nuclear. En los 23 casos de LP no erosivo el 35% presentaron patrón membranoso, 17% citoplasmático y 0% nuclear sin que exista diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Los títulos encontrados son de menos de 1/80 y la fluorescencia está limitada a la capa

basal. Por el contrario, usando el mismo substrato, se han observado altos títulos de anticuerpos contra el núcleo de estas células epiteliales en pacientes diagnosticados de liquen erosivo⁸⁸ y otros cuadros erosivos de mucosas, de difícil diagnóstico, englobados bajo el término de estomatitis crónica ulcerosa^{89,90}. En el primer trabajo firmado por AURORA PARODI⁸⁸ presenta a dos pacientes con liquen erosivo e infección latente por VHB. Detectan anticuerpos antinucleares dirigidos contra el núcleo de células epiteliales. Investigan la naturaleza de dicho antígeno mediante inmunofluorescencia indirecta, doble inmunodifusión, conrainmunolectroforesis, ELISA, tratamientos enzimáticos e inmunoblotting. Mediante IFI encontraron títulos de 1/5120 y 1/10240 con patrón moteado usando como substrato esófago de mono. También los detectan usando como substrato piel humana normal, labio de rata, esófago de ternero, y queratinocitos humanos cultivados. No se detectan en las HEP-2, BK ni células de carcinoma de mama. Se concluye con que estos anticuerpos van dirigidos contra antígenos presentes en células epiteliales de varias especies de mamíferos. Tal antígeno no ha podido ser identificado como una nucleoproteína como lo sugiere el patrón moteado. Los hallazgos mediante CIE fueron negativos y a excepción de las células epiteliales, otros substratos han resultado negativos por IFI. Por otra parte, no pueden ser reconocidos como una nucleoproteína soluble (SNP) ni como una histona de acuerdo con TAN y cols. porque su patrón en IFI es moteado y no homogéneo como lo muestran

las histonas y la SNP. La actividad antigénica parece ser principalmente afectada por enzimas que rompen el DNA, y secundariamente por enzimas que hidrolizan proteínas, mientras el RNA parece ser un obstáculo para la accesibilidad al epítipo. Además, el antígeno no debe ser una molécula ordinaria del DNA ya que no se halla en otros tejidos como hígado de rata y timo de ternero. Estos hallazgos sugieren que estos anticuerpos antinucleares van dirigidos contra un complejo DNA-proteínas no histonas multimolecular. Los otros dos estudios^{89,90} recogen 10 casos de estomatitis crónica ulcerosa, dos de los cuales eran los casos de A. PARODI. Usan como substratos riñón de ratón, HEP-2, piel de mono, esófago de mono, esófago de cobaya y crithidia lucilae. Los sueros fueron positivos para el esófago de mono y cobaya con patrón moteado en los dos substratos distribuyéndose en los núcleos de la capa basal del epitelio, siendo los títulos en el esófago de cobaya (1/10240) muy superiores a los observados en el esófago de mono (1/2560). Fueron negativos para las HEP-2 y el hígado de rata. Tampoco se encontraron anti-DNA de doble cadena con las crithidia.

Volviendo sobre los anticuerpos anti-citoplasmáticos (anticuerpos anticitoplasma epidérmicos-ACE-), se han demostrado en otras dermatosis (lupus, aftas bucales, reacción injerto contra huésped) tumores malignos (melanomas) y en el 17% de los controles sanos^{91,92,93}. SAURAT⁹¹ encontró anticuerpos anticitoplasmáticos

epidérmicos en 15 de 17 pacientes (88%) con trasplante de médula ósea que reaccionan a nivel de la capa basal del epitelio del esófago de conejo. La fluorescencia afecta al citoplasma de las células basales, sin fluorescencia en el núcleo. La membrana basal no aparece teñida. Los títulos de estos anticuerpos variaban de 1/10 a 1/1300. En el grupo control, entre los que figuraban 23 pacientes con LP, sólo tres presentaron títulos de 1/10, y de los 24 controles normales solo uno mostró un título de 1/50. BYSTRYN⁹² encontró anticuerpos contra el citoplasma de células epidérmicas de personas sanas en el 17% de los controles sanos, 21% de pacientes con varias dermatosis y 32% de pacientes con tumores malignos. Estos anticuerpos reaccionan contra diferentes antígenos citoplasmáticos alguno de los cuales parecen ser tejido y especie específicos, mientras que otros pueden estar presentes en epitelio estratificado heterólogo (esófago de cobaya, músculo liso de rata) o células de músculo liso. La especificidad por los antígenos citoplasmáticos distinguen estos anticuerpos de aquellos que aparecen contra otros componentes de la epidermis humana como los anticuerpos del pénfigo y penfigoide, o los dirigidos contra el núcleo ANA. La especificidad por las células epidérmicas los diferencian de aquellos que reaccionan contra los componentes citoplasmáticos de otros tejidos como las células parietales de la mucosa gástrica, y los antimitocondriales de las células de riñón de rata. El significado patogénico de estos anticuerpos aún no ha sido

determinado. Es posible que, una vez dado acceso a las células epiteliales por alguna injuria inicial, los anticuerpos anticitoplasma agraven o prolonguen el daño tisular. Por último, hay que citar el trabajo de CASTELL⁹³ en el que de 9 enfermos con LP solo en tres encontró anticuerpos anticitoplasma usando como substrato piel humana, sin demostrar hallazgos característicos ni definidos en la IFI ni IFD.

Clínica. La lesión elemental es una pápula redondeada o poligonal, desde rosa o roja a violácea o pardusca, brillante, firme, lisa y a veces discretamente escamosa que presenta en la superficie finísimas líneas grisáceas, translúcidas, sinuosas y entrecruzadas que se tornan muy evidentes después de aplicar alcohol o aceite de cedro: las estriás de WICKHAM. Al principio puntiformes o lenticulares, las pápulas constituyen placas de contornos irregulares algo elevadas y centro deprimido más oscuro al aumentar de tamaño y/o confluir entre sí: LP anular. La erupción cutánea, por lo general insidiosa y con prurito intenso, tiene localizaciones electivas: en la superficie anterior de las muñecas, dorso de manos, antebrazos, piernas y región lumbar, donde pueden adoptar disposiciones anulares, circinadas, serpinginosas, estriadas (por fenómeno isomorfo de KÖEBNER) y lineales o zoniformes extensas. En palmas de manos y plantas de pies las pápulas del LP son casi siempre más queratósicas y, si permanecen aisladas, no difieren de otras poroqueratosis o quedan

engastadas en el tegumento formando diminutas depresiones cupuliformes. Si confluyen originan una queratodermia difícil de identificar clínicamente en ausencia de lesiones típicas.

Habitualmente existe participación de las mucosas. Se han observado manifestaciones a nivel de conjuntiva, faringolaringe, esófago, estómago, intestino, ano, vejiga urinaria y tímpano. Pero, sin duda, las más características suceden en la boca y genitales externos, hasta el punto de que pueden proporcionar datos claves. En efecto, a nivel del tercio posterior de la mucosa geniana, y menos a veces en el prolabio, se aprecian numerosos puntos, pequeños anillos, fino reticulado o arborizaciones blanquecinas en "hoja de helecho". Por su parte, el dorso de la lengua toma un aspecto leucoplasiforme, pero las papilas quedan íntegras. Pueden desarrollarse zonas atróficas, erosivas y ulceradas con riesgo moderado de cancerización⁹⁴. En la mucosa genital (glande, superficie interna de prepucio y vulva) las pápulas son extensas, voluminosas, con bordes salientes en "brocal de pozo".

Casi el 10% de los pacientes presenta alteraciones ungueales⁹⁵: estrías o surcos longitudinales del limbo, adelgazamiento, hiperqueratosis del lecho, onicomadesis, pterigium y anoniquia.

En el cuero cabelludo es excepcional encontrar pápulas típicas del LP. Por el contrario, se desarrolla hiperqueratosis folicular con unas zonas de atrofia y alopecia cicatricial definitiva que constituye un estado pseudopeládico.

Variantes.

LIQUEN PLANO AMPOLLOSO. Poco frecuente, suele ocurrir en las formas agudas e interesa piel y mucosas desarrollándose flictenas de tamaño variado sobre las lesiones papulosas y placas previas o fuera de éstas. En algunos casos se trataría de un penfigoide ampoloso sobreañadido⁹⁶.

LIQUEN PLANO EROSIVO DE LAS EXTREMIDADES. Se caracteriza por erosiones y ulceraciones precedidas o no de ampollas, muy dolorosas, tenaces, extensas y simétricas, de predominio en los pies, superficie plantar de los dedos y metatarso, talones, tobillos, etc., que evolucionan por brotes con cicatrizaciones parciales. También afecta a mucosas dermopapilares y suelen coexistir lesiones típicas, onicolisis y anoniquia permanente. Es más frecuente en mujeres de edad media, y el curso crónico, progresivo y las dificultades terapéuticas llevan a la invalidez. Se han registrado en la literatura observaciones de liquen erosivo de las extremidades asociados a

diversas alteraciones inmunológicas tales como hipergammaglobulinemia, hipocomplementemia, artritis reumatoide, cirrosis biliar primaria y tiroiditis autoinmune, por lo que se plantea la posibilidad de vinculaciones entre esta particular variedad de liquen y enfermedades autoinmunes⁹⁷.

LIQUEN PLANO ORAL. Afecta al 2% de la población general⁹⁸. Los elementos, confinados a la boca o con afectación mínima de la piel, aparecen en el 15% de los casos. No difieren de los que aparecen concomitantemente con las lesiones en piel, pero cuando aparecen sólo en la cavidad oral, en ocasiones, pueden plantear problemas diagnósticos. En lengua y cavidad oral pueden ser confundidos con leucoplasias y en el margen de la encía con gingivitis o candidiasis crónica que posteriormente pueden coexistir.

Otras afecciones que deben excluirse son las "placas de los fumadores", que afectan al paladar, y el nevus blanco esponjoso que aparece en el suelo de la boca. En pocas ocasiones pueden aparecer ampollas en la mucosa oral y encías, con erosiones y formación de membranas. La **Gingivitis Descamativa** es el término usado para esta forma cuando aparece en las encías y es muy parecida a las lesiones del pénfigo y penfigoide. Las formas ulceradas aparecen

frecuentemente en la mucosa oral y superficie ventral de la lengua, pero son más profundas cuando afectan a la superficie dorsal de la lengua. En el manejo de estos pacientes es muy importante prevenir los factores desencadenantes o exacerbantes, como el consumo de medicamentos que provoquen reacciones liquenoides, minimizar factores que desencadenen el fenómeno isomorfo de KÖEBNER, como placas gingivales y cálculos, hábitos orales como morderse los labios o los carrillos, dentadura rugosa o rota; también el papel de las candidiasis debe ser evaluado antes y durante el tratamiento ya que el uso continuado de los corticoides puede favorecer su crecimiento⁹⁸. Los pacientes con LP oral deben ser revisados periódicamente debido al potencial degenerativo de estas lesiones. Estudios prospectivos han calculado una incidencia del 0.5-1.2%. Generalmente, los casos de neoplasias aparecieron en áreas de atrofia, erosiones o ulceraciones, siendo la transformación más frecuente en carcinoma verrucoso. Otros factores de riesgo, como el tabaco, alcoholismo y traumatismos, pueden ser responsables de inducir estos cambios degenerativos⁹⁹.

LIQUEN PLANO HIPERTROFICO. Suele aparecer en los miembros inferiores, especialmente en los maleolos. El desarrollo de elementos hipertróficos enlentece el curso de la afección, pudiendo permanecer durante

muchos años. Cuando las lesiones regresan, permanece un área de pigmentación y cicatrización con algún grado de atrofia. Debe ser distinguido del liquen simple crónico y del liquen amiloideo.

LIQUEN PLANO FOLICULAR. En el cuero cabelludo determina alopecia cicatricial tipo "pseudopelada de BROCQ". A veces coexisten pápulas foliculares en piel lampiña y alopecia en axilas y zonas genitales (denominado Síndrome de PICCARDI-LASSUER-GRAHAM LITTLE).

LIQUEN PLANO ACTÍNICO. Propio de países tropicales. Los elementos aparecen en superficies fotoexpuestas y se caracterizan por placas numulares, bien delimitadas con centro hiperpigmentado rodeada por una llamativa superficie hipopigmentada.

Enfermedades asociadas. Cada vez son más numerosos los casos de LP idiopático asociados a enfermedades autoinmunes como colitis ulcerosa, alopecia areata, vitíligo¹⁰⁰, tiroiditis autoinmune y cirrosis biliar primaria^{97.101}. La presencia de erupciones liquenoides en pacientes con cirrosis biliar primaria apoya la hipótesis de una patogenia similar en ambas entidades, en la que una alteración en la antigenicidad de las células del epitelio epidérmico y de los conductos biliares simularía la situación de la enfermedad injerto contra huésped, en la

que los linfocitos del donante reaccionan contra antígenos epiteliales del receptor. Otros trabajos no encuentran diferencias significativas con respecto al grupo control en la proporción de anticuerpos organoespecíficos como los antimúsculo liso, antimitocondriales, anticélulas parietales y antitiroideos⁷⁹. Sin embargo, continua habiendo mucha controversia respecto a la posible asociación entre LP y enfermedades hepáticas, señalándose, como las hepatopatías más frecuentes, la hepatitis crónica activa, la cirrosis biliar primaria y la cirrosis criptogenética¹⁰².

Distintos trabajos publicados recientemente parecen defender que la enfermedad hepática crónica asociada al liquen plano podría guardar alguna relación con la infección por el VHB o VHC¹⁰³. Se sugiere que el liquen plano podría ser el resultado de una reacción autoinmune mediada por células frente a una gran variedad de antígenos entre los que el VHB podría desempeñar un papel importante, y que la enfermedad hepática crónica en pacientes con LP sería en la mayoría de los casos, una hepatopatía crónica autoinmune postviral resultante fundamentalmente de la infección por el VHC. Otros autores, sin embargo, fallan en confirmar una asociación definida entre el LP y la cirrosis biliar primaria o la hepatitis crónica activa¹⁰⁴.

Tratamiento. En casos graves en los que la afección interfiere con la vida del paciente, en casos de ulceración

de las membranas mucosas o cuando existe destrucción progresiva de la uña, se utilizan los corticoides sistémicos a una dosis de 15-20 mg. de prednisolona o similares.

En casos menos agresivos, se realiza tratamiento sintomático con corticoides tópicos asociados a antihistamínicos por vía oral.

Los elementos hipertróficos se benefician de curas oclusivas con corticoides o bien en inyecciones intralesionales. Las lesiones ulceradas de plantas pueden requerir injertos de piel. Las lesiones de boca, si causan síntomas pueden tratarse con enjuagues bucales. El acetónido de triamcinolona en orabase es útil en ocasiones, pero en casos severos se requiere la administración oral de corticoides a dosis superiores que para los elementos en piel. Otras medidas ensayadas han sido con etretinato oral o isotretinoín, pero los efectos secundarios son frecuentes¹⁰⁵. Lo mismo ocurre con la ciclosporina A por vía sistémica cuyos efectos adversos en la función renal limitan su uso, y tópicamente no se han demostrado resultados concluyentes¹⁰⁶. Actualmente, se han conseguido buenos resultados usando **sulfato de hidroxiclороquina** a la dosis de 200-400 mg/día, tanto en las formas de placas como en las erosivas^{89,90,107}. Si estos ensayos a doble ciego confirman la eficacia de la hidroxiclороquina, entonces su

papel en el tratamiento del liquen plano oral podrá ser tan importante como lo es en el tratamiento del lupus discoide.

C.- ESCLERODERMIA

1.- ESCLERODERMIA SISTÉMICA.

La esclerodermia sistémica (ES) es un proceso generalizado del tejido conectivo que afecta la piel, sinovia y ciertos órganos internos, con fibrosis y alteraciones de la microcirculación, en el que la afectación cutánea es la clave del diagnóstico, pero cuya gravedad y pronóstico están estrechamente relacionados con la afección visceral de la enfermedad.

La mayoría de los autores han coincidido en basar los criterios de clasificación de la ES en el aspecto cutáneo de la enfermedad. La localización, extensión, y el modo de progresión de la esclerosis cutánea en el primer año de evolución de la enfermedad orienta sobre el posible curso y pronóstico de cada caso individual.

Recientemente, fruto de una colaboración multicéntrica¹⁰⁸, se ha establecido la clasificación de la ES en dos formas: esclerodermia sistémica limitada (ESL) y esclerodermia sistémica difusa (ESD) (TABLA II), que se distinguen entre si por la localización y extensión de la esclerosis cutánea, así como por los criterios clínicos inmunológicos y pronósticos.

**Tabla II. CLASIFICACIÓN DE LA
ESCLERODERMIA SISTÉMICA ***

Esclerodermia sistémica limitada (ESL) Esclerodactilia (tipo I) Acrosclerosis (tipo II) Esclerodermia sistémica difusa (ESD) (tipo III)
--

* Según la extensión de la esclerosis cutánea en el primer año de evolución de la enfermedad.

Clinica. La ESL incluye los tipos I (esclerodactilia) y II (acroesclerosis) de las clasificaciones anteriores. El término esclerodactilia designa la esclerosis limitada a los dedos de la mano o pies, y el término acrosclerosis la limitada entre las articulaciones metacarpofalángicas y codos o entre las metatarsofalángicas y rodillas. La ESD o tipo III, es a la que afecta los brazos, el tórax, el abdomen y las piernas, tanto cuando la afección se inicia en estas zonas como cuando lo hace en zonas acras, pero compromete dichas áreas proximales en menos de un año.

El diagnóstico de la enfermedad en sus estadios iniciales puede ser difícil, ya que ciertos signos y síntomas se observan a menudo en la Enfermedad de RAYNAUD, en otras enfermedades del colágeno (síndromes de solapamiento) y en otros procesos asociados a induración de la piel. La afección cutánea, acompañada o precedida de Fenómeno de RAYNAUD, constituye habitualmente el primer síntoma, y por sí sola puede contribuir al reconocimiento de la enfermedad. En general, en estadios iniciales, la piel aparece edematosa, ligeramente indurada y en ocasiones

eritematosa. Estos cambios se inician casi siempre en las partes acras. Así, los dedos de las manos aparecen engrosados y no pueden ser extendidos en su totalidad. Esta fase puede tener una duración variable de semanas o meses, después de la cual se desarrolla progresivamente la esclerosis: la piel se torna dura, lisa, adherida a planos profundos, lo que confiere una consistencia leñosa. Se pierden los pliegues fisiológicos, incluso los de la cara, con una sensación inicial de rejuvenecimiento, pero con la aparición posterior de una facies inexpresiva y gestualmente inmóvil. Los labios se adelgazan, disminuye la amplitud de la apertura bucal y aparecen finos pliegues radiales peribucales. Este período de induración puede durar muchos años¹⁰⁹. El endurecimiento de la piel próxima a las articulaciones metacarpofalángicas proporciona el diagnóstico definitivo en el 90% de los pacientes. La esclerodactilia aislada no permite el diagnóstico ya que puede ser secundaria a otros procesos. A medida que se desarrolla la fibrosis aparece alopecia y anhidrosis, por desaparición de los anejos y alteraciones de la pigmentación de la zona afectada. Posteriormente pueden aparecer telangiectasias, formadas por asas capilares y vénulas dilatadas, que conforman una superficie rojo vinosa, de contornos irregulares, aspecto mapeado, coloración uniforme, que se distinguen bien de las arañas vasculares. La piel que cubre las eminencias óseas se vuelve vulnerable a los traumatismos, con posibles

ulceraciones por roces mínimos, muy difíciles de tratar por la naturaleza de la piel en la que asientan.

Casi todos los pacientes tienen Fenómeno de RAYNAUD, por lo que son frecuentes las necrosis isquémicas y las ulceraciones de las puntas de los dedos. La infección secundaria de las ulceraciones puede conducir a gangrena que, junto con la reabsorción ósea, ocasiona deformaciones articulares severas y disolución completa de las falanges terminales. Los pies pueden afectarse igual que las manos, pero con menor frecuencia.

Es posible la calcificación intracutánea y subcutánea (calcinosis circunscrita), de variable tamaño y con tendencia a su eliminación al exterior, formando ulceraciones dolorosas por las que se emite un material espeso, blanquecino y compuesto por cristales pleomórficos de hidroxapatita. Esta tendencia a la calcificación no se acompaña de alteraciones evidentes del metabolismo fosfocálcico, y se creen debidas a una alteración local de los tejidos afectados¹⁰⁹ (TABLA III).

TABLA III. DIFERENCIAS CLINICOINMUNOLÓGICAS ENTRE LAS DOS FORMAS DE ESCLERODERMIA

	ESCLEROSIS SISTÉMICA LIMITADA	ESCLEROSIS SISTÉMICA DIFUSA
Síndrome de Raynaud	+1 año (10-15)	- 1 año
Esclerosis cutánea	Manos, antebrazos, pies, cara	Brazos, tronco, abdomen
Afección articular	No	Tendosinovitis, roces tendinosos
Afección visceral	Tardía	Precoz y severa
Anticuerpos	Anticentrómero	Antitopoisomerasa
Capilaroscopia	Dilatación de asas capilares	Dilatación y desaparición de asas capilares

Patogenia.

Alteraciones vasculares. Papel de la célula endotelial.

Son numerosas las hipótesis que han intentado explicar las sucesivas fases que conducen a la presencia de las dos peculiaridades más genuinas de la enfermedad, es decir: la fibrosis y las alteraciones vasculares. La observación, sin embargo, de alteraciones estructurales y funcionales de la microcirculación en etapas tempranas de la enfermedad, y antes del inicio de la fibrosis, puede indicar que la lesión vascular ocuparía los primeros lugares de la secuencia patogénica¹¹⁰. La lesión histológica vascular en la ES se localiza sobre todo en los pequeños vasos de prácticamente todo el organismo y consiste en una proliferación de la íntima (matriz mucoide y células miointimales), con estenosis de la luz superior al 75% y posibilidad de trombosis y fibrosis de la adventicia. En la microcirculación las alteraciones que pueden observarse son: vacuolización de la célula endotelial con amplias hendiduras entre las células, reduplicación de la membrana basal y un infiltrado celular perivascular a expensas fundamentalmente de linfocitos T activados.

Varios estudios funcionales y morfológicos de las lesiones vasculares presentes en la ES han demostrado que podría considerarse la disfunción de la célula endotelial

como la alteración fundamental, tanto en el comienzo de la enfermedad como en etapas posteriores. Durante los últimos años, se ha demostrado el considerable potencial biológico del endotelio al ponerse de manifiesto su capacidad para sintetizar una importante cantidad de sustancias como factores de crecimiento y citocinas, proteínas adhesivas y de la matriz extracelular (fibronectina, factor VON WILLEBRAND, colágenos III, IV, y V), factores anticoagulantes (antitrombina II, proteína S) y proteínas vasoactivas (factor de relajación, endotelina, prostaciclina)¹¹⁰.

En la ES, una agresión sobre la célula endotelial, por el momento desconocida, provocaría su "activación" con la consiguiente posibilidad de producirse un desequilibrio entre la acciones de las diversas sustancias sintetizadas e inducir un estado protrombótico y/o profibrótico¹¹⁰. El mecanismo o factor agresor es desconocido, pero de los estudios realizados se han obtenido varias propuestas:

- 1) Presencia de un factor citotóxico circulante (actividad citotóxica del suero, actividad proteolítica sérica, acción del leucotrieno D4, citotoxicidad celular mediada por anticuerpos, alteración de la fibronectina)¹¹¹.

- 2) Mecanismo inmunológico, en el que el factor agresor podría ser uno o varios mediadores

inmunológicos (citoquinas, IL1, IL2, linfocitotoxina, gamma-interferón, factor transformador beta del crecimiento) sintetizados por células T activadas, con posibilidad de actuar, no sólo sobre la célula endotelial sino sobre el intersticio perivascular (fibroblastos)¹¹². Al mismo tiempo, debe tenerse en consideración la contribución al proceso inmunológico de la propia célula endotelial, puesto que ésta es capaz de modular la respuesta de las células T al mimetizar la función monocítica, así como colaborar en la síntesis de IL2 por las células T. Así pues, la célula endotelial podría intervenir en el mecanismo patogénico como célula diana y, a la vez, como elemento perpetuador del proceso.

Fibroblastos. Es conocido que los fibroblastos de pacientes con ES sintetizan mayor cantidad de colágeno. La activación inicial de estas células para la síntesis de colágeno parece ser mediada por citoquinas liberadas de las células inflamatorias (Factor transformador beta del crecimiento) y por moléculas de la matriz extracelular que proveen señales que regulan el metabolismo de los fibroblastos. Sin embargo, las células permanecen activadas incluso después de que halla desaparecido el infiltrado inflamatorio, por lo que se plantea la posibilidad de que estos fibroblastos tengan autonomía en su participación debido a una alteración en los receptores que median las interacciones entre la matriz extracelular y los

fibroblastos no produciéndose el retrocontrol negativo necesario para frenar la síntesis de colágeno¹¹².

Autoanticuerpos en la esclerosis sistémica.

Una clara expresión de las alteraciones inmunológicas observadas en la ES es la presencia de una amplia variedad de autoanticuerpos, especialmente de antinucleares y antinucleolares. Su papel exacto en la patogenia de la enfermedad está aún por definir; sin embargo, la especificidad demostrada por alguno de ellos ha servido para poder establecer diferentes correlaciones clínicas dentro del espectro de la ES. Mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), la frecuencia de autoanticuerpos en la ES varía. Cuando se utilizan como substrato secciones de líneas celulares en cultivo (HEP-2), el porcentaje se eleva hasta el 98% y permite, además, poner de manifiesto nuevos patrones de fluorescencia que en el caso de la ES han sido definitivos para evidenciar, por ejemplo, los anticuerpos anticentrómero¹⁸. Los patrones detectados con mayor frecuencia son el nucleolar y diferentes tipos de moteados, mientras que el homogéneo es raro. Con la aplicación de otras técnicas (inmunodifusión, immunoblotting), la diversidad de patrones ha podido concretarse a un número limitado de identidades antigénicas e incluso se ha podido definir, en algunos casos, su composición molecular.

Anticuerpos anticentrómero. Hace casi 10 años se pusieron de manifiesto mediante IFI unos autoanticuerpos que daban un patrón moteado fino (con substrato HEP-2) y eran reactivos con antígenos centroméricos localizados en la estructura del cinetocore¹¹³. En los estudios clínicos realizados, los AAC se han detectado en el 30% de enfermos con ES, de los cuales casi el 96% corresponde a la forma limitada (CREST) de la enfermedad. No obstante, en una amplia serie descrita, la mayoría de los pacientes con dicha forma clínica no tienen esta especificidad antigénica¹¹⁴. De todos modos los AAC deben considerarse bastante específicos de la ES. Es más, algunos casos con fenómeno de Raynaud y AAC positivos han desarrollado a lo largo del tiempo la enfermedad y, casi siempre en su forma limitada¹¹⁵. También se ha comprobado que los enfermos con AAC tienen menos afectación intersticial pulmonar, aunque no una menor frecuencia de hipertensión arterial pulmonar¹¹⁴.

Anticuerpos antitopoisomerasa I (anti-Scl 70).

Otro de los autoanticuerpos de interés detectado en la ES es el anti-Scl 70 que reacciona con la ADN-topoisomerasa I 100 kDal¹¹⁶. Ésta es una enzima que interviene en la transcripción y replicación del ADN y en la segregación de las moléculas de ADN hijas, localizada tanto en el núcleo como en el nucléolo. La positividad de los anti-Scl 70 es variable (8-48%), pero se consideran marcadores específicos. Entre el 30 y el 75% de los enfermos con la

forma difusa tienen anti-Scl 70¹¹⁴. Su relación con determinadas manifestaciones clínicas, concretamente con la fibrosis pulmonar, no ha podido establecerse de manera uniforme. Un dato que merece ser destacado es la evidente polaridad existente entre los AAC y los anti-Scl 70. Su asociación en un mismo paciente es excepcional. De confirmarse, la mutua exclusión de estos sistemas inmunológicos podría sugerir la presencia de entidades clínicas distintas determinadas por una inmunología también diferente.

Anticuerpos antinucleolares. Los autoanticuerpos que por IFI dan un patrón nucleolar se han considerado en múltiples trabajos como sugestivos de ES. Dicho patrón se detecta en el 24-40% de los casos, y varias especificidades antigénicas son responsables de él: anti-PM Scl, presente en alrededor del 3% de los pacientes y en la mayoría de los que tienen miositis acompañante; anti-U3 RNP (fibrilarina), cuya presencia no ha podido relacionarse con un subgrupo claramente definido; anti-ARN-polimerasa I, que se puede detectar en un 4% de enfermos y, aunque en los estudios clínicos efectuados el número de casos es pequeño, su positividad parece relacionarse con un tipo de ES más grave (afección renal); otros autoanticuerpos antinucleolares, como los anti-NOR 90 o los anti-To (7-2 ribonucleoproteína nucleolar), que también han sido descritos en la ES precisan de valoración en series más amplias para poder confirmar alguna asociación clínica específica¹¹⁷.

El estudio de las características y funciones de estas identidades antigénicas ha representado en muchos casos una contribución al conocimiento de algunos aspectos de la biología celular, pero, desde el punto de vista clínico, su mayor utilidad se ha obtenido al constituirse muchas de ellas en marcadores específicos de la enfermedad así como de sus subtipos clínicos.

Anticuerpos antimitocondriales. Se han estudiado recientemente en la Clínica Mayo, encontrándose la asociación con la esclerodermia sistémica en el 4% de los pacientes diagnosticados de cirrosis biliar primaria en ese centro. En este trabajo¹¹⁸, todos los casos de esclerodermia cumplían los criterios diagnósticos del síndrome CREST y el 91% presentaban queratoconjuntivitis seca (PACK: cirrosis biliar primaria, anticuerpos antimitocondriales, síndrome CREST y queratoconjuntivitis seca). Con anterioridad, otros autores han publicado casos de asociación de cirrosis biliar primaria a esclerodermia sistémica^{119,120,121}. Generalmente los casos descritos presentan formas moderadas de esclerodermia, rara vez progresiva.

Anticuerpos antitiroideos. La esclerodermia sistémica se ha asociado a la enfermedad de GRAVES-BASEDOW y al hipotiroidismo. La patogenia de esta asociación, encontrada por ciertos autores en alrededor del 50% de las esclerodermias, permanece aún mal explicada, pero se sabe

que existe en la esclerodermia y en el hipotiroidismo un acúmulo dérmico de mucopolisacáridos. Además, las hormonas tiroideas intervienen en la regulación de la síntesis y degradación del colágeno^{122,123}.

Tratamiento.

En la actualidad no existe un fármaco específico que sea eficaz en el tratamiento de la ES. Según las directrices formuladas por las nuevas aportaciones a la patogenia, se ha podido comprobar que fármacos vasodilatadores, inhibidores de la activación de las plaquetas, bloqueadores de los canales de calcio, antagonistas de la serotonina o la perfusión de prostaglandinas pueden mejorar en algunos casos las manifestaciones clínicas del trastorno vascular, si bien lo ideal sería prevenirlas. En razón de su posible acción inhibidora sobre la proliferación del colágeno, la D-penicilamina se ha utilizado con algunos resultados alentadores, pero también con importantes efectos secundarios y, sin cumplir los requisitos de un estudio bien controlado. Los resultados de los ensayos con otros preparados, como factor XIII, activadores del plasminógeno tisular, 5-fluorouracilo, ácido paraaminobenzoico, la plasmaféresis o la globulina antilinfocítica T-específica, comparten la problemática común del resto de propuestas terapéuticas, es decir: éxitos parciales, escaso número de casos, y pocos estudios controlados. Los glucocorticoides

deben tenerse en cuenta ante la presentación de alguna manifestación clínica concreta, como la miopatía, y como posible asociación a otros tipos de medidas terapéuticas.

No debe olvidarse, por otro lado, el tratamiento específico de cada una de las complicaciones viscerales, en general, y de las renales, en particular, puesto que en este último caso se dispone de una terapéutica eficaz mediante los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina, en la grave situación de la crisis renal esclerodérmica¹²⁴.

2.- ESCLERODERMIA LOCALIZADA. MORFEA.

Se denomina esclerodermia localizada (EL) a un trastorno del tejido conectivo limitado a la piel, tejido graso, músculo y, a veces periostio. A diferencia de la ES, esta forma de esclerodermia suele constituir un proceso de escasa gravedad. Sin embargo, las características morfológicas e histopatológicas de las lesiones cutáneas en la EL son esencialmente las mismas que las observadas en la ES, lo cual, junto a la existencia de formas de transición, hace suponer que ambas formas de esclerodermia no constituyen dos entidades distintas, sino que representan los dos polos opuestos de un mismo proceso patológico cuyos límites no están bien definidos y en el que pueden encontrarse numerosas formas intermedias¹²⁵.

Etiología. La causa de la EL es desconocida. En ocasiones se ha relacionado con traumatismos e inmovilizaciones. Los factores hormonales influyen en la enfermedad, pudiendo desencadenarse o agravarse con el embarazo. Se ha relacionado también con infecciones por borrelia, encontrándose títulos elevados de anticuerpos antiborrelia en el suero de pacientes con morfea así como la presencia de organismos viables en biopsias de lesiones de morfea^{126,127,128}. Estos hallazgos no se han confirmado y varios estudios no han encontrado tal aumento en la frecuencia de anticuerpos¹²⁹.

En algunos casos de morfea se ha observado una incidencia familiar, si bien no se ha demostrado asociación con algún tipo de HLA¹³⁰. Se han encontrado anticuerpos anti-DNA en 7 de 18 niños con morfea localizada¹³¹, y, usando como substrato células HEP-2, el 50% de los pacientes con placas de morfeas de todo tipo presentaban ANA¹³². Hay una incidencia elevada de autoanticuerpos organoespecíficos en los pacientes y en sus familiares (anti-músculo liso, anti-tiroideos, anti-células parietales). Estos hallazgos junto con el hecho que elementos semejantes a las morfeas aparecen en las reacciones injerto contra huésped¹³³ y asociaciones a la cirrosis biliar primaria¹³⁴.¹³⁵, sugieren una base inmunológica para la EL así como una similitud patogénica entre dichas afecciones.

Clinica.

Morfea guttata y/o en placas. Constituye la forma más habitual de presentación y se caracteriza por máculas o placas de piel indurada, de color blanco porcelana o marfil limitadas por un halo violáceo distintivo. En el centro de la placa, es característica la disminución o la ausencia de vello, claro exponente de la atrofia sufrida por el folículo pilosebáceo. Varias lesiones más evolucionadas se tornan atróficas e irregularmente hipopigmentadas e hiperpigmentadas. Es frecuente la afección del tejido

celular subcutáneo, que se atrofia en los estadios más tardíos de la lesión.

Morfea generalizada. Cuando las lesiones de morfea en placa ocupan la mayor parte del tegumento se habla de morfea generalizada. La afección puede extenderse, de forma simétrica, al tronco y las cuatro extremidades, en las que puede ocasionar severas deformaciones y una gran incapacidad funcional; en general, la cara se halla respetada. En ocasiones, este cuadro se acompaña de manifestaciones extracutáneas, así como de eosinofilia, hipergammaglobulinemia y positividad de ANA¹³⁶.

Esclerodermia lineal. Como su nombre indica, se caracteriza por elementos indurados de morfología lineal, localizados principalmente en extremidades y cara. Existe mayor tendencia a la atrofia de la piel, grasa, músculo e incluso hueso, por lo que con frecuencia son lesiones desfigurantes. A menudo siguen un trayecto metamérico y pueden coexistir con elementos de morfea en placas. Cuando el proceso esclerodermiforme afecta la cara, puede originar una hemiatrofia facial.

La asociación de esclerodermia lineal y positividad de ANA se ha descrito con una frecuencia variable pero superior al 40% de los casos¹³⁷. Esto se asocia a posible afección sistémica como nefritis o fenómeno de RAYNAUD. Se ha comunicado también la coexistencia de esclerodermia

lineal y manifestaciones clínicas o inmunológicas de LES¹³⁸. Otros autores no han encontrado estas asociaciones¹³⁹.

Dermatopatología. La epidermis puede estar normal o adelgazada, con pérdida de crestas interpapilares. Al principio la dermis aparece edematosa, con aumento y degeneración de las fibras de colágeno, adquiriendo un aspecto homogéneo y eosinófilo. Puede existir un pequeño infiltrado linfocítico perivascular. Infiltrados celulares linfocitarios, células plasmáticas y macrófagos, tanto perivasculares como difusos, aparecen en el 84% de los casos y preceden a la fibrosis¹⁴⁰. Posteriormente, la dermis aparece engrosada, con colágeno denso y relativamente pocos fibroblastos. El tejido elástico está reducido. Con el paso del tiempo, se pierden los apéndices dérmicos y la grasa subcutánea. Los vasos dérmicos pueden mostrar engrosamiento de la íntima. Las técnicas inmunohistológicas muestran depósitos de IgM y C3 en la membrana basal y en los vasos dérmicos, principalmente en las lesiones más extensas y profundas, pero no existe relación con enfermedad sistémica.

Los hallazgos histológicos son similares a aquellos vistos en la morfea generalizada y en la piel de la esclerosis sistémica.

Tratamiento. Las morfeas en placas suelen tener una remisión espontánea, por lo que se puede permitir que sigan

su curso natural. No obstante, pueden usarse corticoides tópicos o intralesionales, y en ocasiones se han utilizado etretinate, paraminobenzoato potásico y griseofulvina, aunque los resultados de estos últimos no han sido evaluados. En casos de morfea lineal puede efectuarse tratamiento quirúrgico para la corrección de las deformidades de los miembros, así como rehabilitación. Igualmente en la morfea generalizada será necesario fisioterapia para prevenir contracturas. Los corticosteroides orales pueden ser útiles especialmente en aquellos casos de comienzo agudo¹⁴¹.

D.- PENFIGOIDE AMPOLLOSO.

El penfigoide ampolloso (PA) es una dermatosis ampollosa de comienzo habitual entre los 65 y 75 años, aunque puede aparecer en los cuarenta y ocasionalmente en los niños. No existe predilección por ningún grupo racial o geográfico y no predomina ningún fenotipo HLA.

Etiología. El antígeno del PA es una molécula de transmembrana localizada en los hemidesmosomas de las células basales^{142,143,144}, que parece mostrar una heterogeneidad molecular.

El hecho de que los anticuerpos antimembrana no sean suficientes para provocar la formación de ampollas y que la actividad de la dermatosis no se correlacione con los niveles de anticuerpos circulantes, sugiere que, si los anticuerpos tienen un efecto patogénico, éste no es directo. De distintos estudios se concluye que las células inflamatorias juegan un papel primordial. Así, se ha demostrado la degranulación de los mastocitos en piel afectada cerca de la membrana basal¹⁴⁵, los enzimas lisosómicos de los eosinófilos en la lámina lúcida en fases precoces en la formación de ampollas¹⁴⁶, y factores quimiotácticos de los eosinófilos y neutrófilos en el fluido de las ampollas.

Los anticuerpos del penfigoide son capaces de fijar el complemento por la vía clásica y la alternativa¹⁴⁷ y producen factores quimiotácticos como el C5a. El hallazgo del factor H (betaIH), un regulador de la actividad biológica del C3b, y del complejo de ataque a la membrana, en la membrana basal, confirma la participación del complemento en la patogénesis de la enfermedad¹⁴⁸.

Con todos estos datos se propone el siguiente mecanismo para la formación de las ampollas: los anticuerpos se unen a la membrana basal y activan al complemento. Los componentes del complemento, especialmente C3a y C5a atraen a los leucocitos y actúan como anafilotoxinas, degranulan a los mastocitos y liberan los mediadores de la inflamación. Los leucocitos son atraídos hacia la membrana basal produciendo, gracias a sus enzimas lisosómicas, la lisis de la membrana basal y la formación de ampollas.

Clínica. Suele comenzar con un rash inespecífico en los miembros, de tipo urticarial o eczematoso. Las ampollas son tensas y pueden tener un diámetro de más de 7 cm., aparecen en piel eritematosa o normal y, en ocasiones, se asocian a edema subcutáneo. Suelen localizarse en la superficie de flexión de los miembros y en la zona central del abdomen. Los elementos en mucosas aparecen con menos frecuencia e intensidad que en el pénfigo vulgar y habitualmente se limitan a la boca.

La afección se suele acompañar de leucocitosis, pero la fiebre es infrecuente y el estado general permanece conservado.

Existen muchos casos publicados de PA asociado a otras enfermedades autoinmunes. Estos incluyen enfermedades organoespecíficas, como anemia perniciosa^{149.150}, diabetes mellitus insulino dependiente¹⁵¹, enfermedades tiroideas^{151.152} y vitíligo¹⁵³, así como afecciones multisistémicas como la artritis reumatoide¹⁵¹ y el lupus eritematoso sistémico¹⁵⁴. También se han descrito asociaciones a polimiositis, polimialgia reumática, alopecia areata¹⁵⁵, miastenia gravis y cirrosis biliar primaria^{153.156}. Sin embargo, un trabajo reciente realizado con 108 pacientes con PA y 108 controles sanos, no aporta diferencias significativas en la incidencia de enfermedades autoinmunes en pacientes con PA y los controles, ni encuentran un determinado alelo HLA asociado al PA¹⁵⁷.

Histopatología. Se observa una ampolla subepidérmica donde el techo de la ampolla lo forma la epidermis que permanece intacta. El infiltrado inflamatorio dérmico está constituido por numerosos eosinófilos y neutrófilos con linfocitos e histiocitos.

Inmunofluorescencia. La IFD se considera esencial para confirmar el diagnóstico clínico e histológico. La biopsia de la encía, cuando afecta la mucosa oral, arroja los

mejores resultados con un 77% de sensibilidad y un 100% de valor predictivo. El depósito de IgG, C3, o ambos, siguiendo un patrón lineal a lo largo de la membrana basal tiene un valor predictivo del 79%, 93% y 96% respectivamente⁸⁴. La IFI puede ser útil para monitorizar al paciente, pero es de limitado valor. Se han observado anticuerpos antimembrana basal en los siguientes procesos: quemaduras y síndrome de la piel escaldada estafilocócica, psoriasis, úlceras de miembros inferiores¹⁵⁸, hipertrofia prostática benigna¹⁵⁹ y eczema. A veces, los pacientes con PA tienen anticuerpos del pénfigo, sin olvidar que pénfigo y penfigode ampoloso pueden coexistir¹⁶⁰.

Microscopio electrónico. Muestra una formación de ampolla a nivel de la lamina lúcida. En los elementos más evolucionados la membrana plasmática de las células basales aparece dañada y en aquellos lugares con infiltrado celular la lamina densa se vuelve discontinua y fragmentada.

Tratamiento. Los corticosteroides por vía oral son el tratamiento de elección, siendo en la mayoría de los casos suficiente una dosis de 40-60 mg al día de prednisolona. Dosis más elevadas suelen ser necesarias en pacientes jóvenes y en aquellos con gran actividad.

Una minoría de pacientes parece responder a dapsona o sulfapiridina¹⁶¹. Estos pacientes suelen ser más jóvenes

y las biopsias muestran un predominio de neutrófilos más que de eosinófilos.

MATERIAL Y MÉTODOS

I.- PACIENTES.

Durante los años 1991 y 1992 hemos recogido en el Departamento de Dermatología M.Q. y Venereología de la Facultad de Medicina de Sevilla, suero de 176 pacientes clasificados de la siguiente forma: 126 enfermedades autoinmunes (TABLA I), un grupo miscelánea constituido por 17 dermatosis inflamatorias recogidas al azar (TABLA II), y un grupo control constituido por 33 pacientes con patología quirúrgica menor (TABLA III).

A todos se les realizó una historia clínica, insistiendo en los antecedentes personales y familiares de procesos autoinmunes. Se recogió, asimismo, el tiempo de evolución, analítica general, estudio dermatopatológico y de inmunofluorescencia. Esta información fue registrada en una base de datos [IBM Serie Assistant (FIGURA 1)] y en un programa estadístico [Rsigma (FIGURA 2)] para su posterior valoración.

Según el tipo de afección, agrupamos estos pacientes de la siguiente forma:

I. LUPUS ERITEMATOSO: 45 pacientes:

Lupus cutáneo: 35 pacientes

Lupus sistémico: 4 pacientes

Lupus intermedio: 6 pacientes

La distribución por edades y sexo queda reflejada en la **TABLA IV**. En cada subgrupo, hay que destacar la mayor proporción de mujeres y el predominio, excepto en el lupus sistémico, en la edad media de la vida.

En el grupo del **lupus cutáneo**, se consideraron tres posibilidades según la localización de los elementos: en cara y cuero cabelludo (**localizado**); en miembros y superficies no fotoexpuestas (**generalizado**), y con presencia o no de síntomas generales (perniosis, fenómeno de Raynaud, artralgias, etc.)(**TABLA V**).

Entre las características clínicas, cabe destacar la falta de afectación de la mucosa oral en todos los casos, la existencia de fotosensibilidad en el 60 % y que, entre los antecedentes personales de enfermedades autoinmunes, hubo un caso de vitíligo y otro de espondilitis anquilopoyética, y, entre los antecedentes familiares, un caso de lupus sistémico y otro de erupción solar no determinada.

II. LIQUEN PLANO (LP): Hemos recogido un total de 47 pacientes con LP, de los que 25 correspondían al tipo erosivo de mucosas, 11 a liquen plano oral no erosivo, 4 presentaban afectación de piel y mucosa oral, 3 únicamente con elementos cutáneos sin afectación de mucosas, 3 liquen plano ampolloso y 1 liquen-lupus (**TABLA VI**).

Entre los antecedentes personales, destacan las hepatopatías, que se presentaron en el 60 % de los pacientes con liquen erosivo (50 % relacionado con el VHB y en el 12 % con el VHC) y en el 12,5 % de los pacientes con liquen plano no erosivo (relacionado sólo con el VHB, ningún caso con el VHC). Entre los antecedentes personales y familiares, no se recogió ningún caso de enfermedad autoinmune. La distribución de los pacientes por edad y sexo está reflejada en la **TABLA VII**.

III. MORFEA: Los 18 pacientes, 13 mujeres y 5 hombres, se distribuyeron en tres grupos atendiendo a la forma clínica: 10 con morfea en placas, 5 lineales y 3 generalizadas. Las edades estaban comprendidas entre los 14 y 75 años, con una media de edad de 38,31. El tiempo de evolución comprende desde 3 a 15 años. Como factores desencadenantes cabe destacar los traumatismos en dos casos y embarazo en otro. Entre los antecedentes personales, no se ha recogido ningún caso de enfermedad autoinmune, y, entre los familiares, cabe destacar la presencia de morfea en padre e hija. No se comprobaron otros antecedentes familiares de enfermedad autoinmune. Los anticuerpos antiborrelia fueron positivos en 5 casos.

IV. ESCLERODERMIA SISTÉMICA: Grupo constituido por 9 pacientes, de ellos 8 mujeres, de edades comprendidas entre los 38 y 73 años, con una media de 58,62. El tiempo de evolución varió entre los 7 y 26 años. El 70% presentaba

fenómeno de RAYNAUD y el 50% alteraciones esofágicas. Sólo un paciente presentó alteración de la función renal. No se recogen antecedentes personales y/o familiares de enfermedades autoinmunes.

V. PENFIGOIDE AMPOLLOSO: Grupo integrado por 7 pacientes, 4 mujeres y tres hombres, con edades comprendidas entre los 87 y 59 años, y un tiempo de evolución de la afección que varió de 1 a 4 años. Entre los antecedentes personales destacaban un carcinoma de mama en una paciente. No hubo asociación a enfermedades autoinmunes.

VI. GRUPO CONTROL: (TABLA III). Constituido por 18 mujeres y 15 hombres en edades comprendidas entre los 75 y 12 años, con una media de 46,06. De este grupo se excluyeron todos los que presentaban antecedentes personales o familiares de patología autoinmune o dermatosis inflamatoria.

VII. MISCELÁNEA. (TABLA II): Grupo constituido por 17 pacientes, 12 mujeres y 5 hombres, con edades comprendidas entre los 23 y 77 años con una media de 43,6 años. Sólo en un paciente con dermatitis herpetiforme, se demostró asociación con una tiroiditis de HASHIMOTO. En el resto, no encontramos otros antecedentes personales y/o familiares de patología autoinmune.

TABLA I:
ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Lupus eritematoso	45
Liquen plano	47
Morfeas	18
Esclerosis sistémica	9
Penfigoide ampolloso	7
TOTAL	126

**Selección de Dermatosis Autoinmunes
observadas con mayor frecuencia en
el Departamento de Dermatología.**

(Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla)

TABLA II:
GRUPO MISCELÁNEA

Pénfigo vulgar	2
Eritema nodoso	2
Liquen escleroatrófico	1
Eritema polimorfo	1
Herpes gestationis	1
Dermatitis herpetiforme	1
Alopecia areata	2
Aftas bucales	1
Urticaria crónica	1
Urticaria Vasculitis	5
TOTAL	17

Grupo de dermatosis inflamatorias
que servirá para comparar con las dermatosis autoinmunes
(TABLA I) y con el grupo control (tabla III)

TABLA III:
GRUPO CONTROL

Fibrohistiocitoma	1
Cuerno cutáneo	1
Nevus pigmentario	9
Hidrocistoma	1
Basalioma	1
Léntigo senil	1
Lipoma	2
Fibromas	5
Quiste epidérmico	10
Quiste mixoide	1
TOTAL	33

Debido a la disponibilidad de nuestras consultas quirúrgicas, hemos empleado suero, extraído para la analítica preoperatoria, como control representativo de un grupo sin patología autoinmune o inflamatoria.

TABLA IV:
LUPUS ERITEMATOSO.
DISTRIBUCIÓN POR EDADES Y SEXO.

	EDAD RANGO / MEDIA	SEXO HOMBRE / MUJER
L.CUTÁNEO	27 - 72 / 44	13 / 22
L.INTERMEDIO	34 - 58 / 45	2 / 4
L.SISTÉMICO	13 - 40 / 21,2	1 / 3

**Predominio en mujeres y
en las edades medias de la vida.**

TABLA V:
LUPUS CUTÁNEO

Localizado	16
Generalizado	13
Síntomas Generales	
SIN	29
CON	6

Distribución del grupo de pacientes con lupus cutáneo.

**Ligero predominio de enfermos con
lupus localizado (en cara y cuero cabelludo),
y ausencia de síntomas generales en
la mayoría de los casos.**

TABLA VI:
LIQUEN PLANO

Liquen erosivo	25
Liquen plano (no erosivo):	18
- Mucosa	11
- Mucosa + Piel	4
- Piel	3
Liquen plano-ampollosa	3
Liquen - Lupus	1

**Predominio en la muestra del
liquen de mucosas, principalmente en su forma erosiva.**

TABLA VII:
LIQUEN PLANO.
DISTRIBUCIÓN POR EDADES Y SEXO.

	EDAD RANGO / MEDIA	SEXO HOMBRE / MUJER	TIEMPO EVOLUCIÓN
L.Erosivo	46 - 86 / 62	5 / 20	3 - 14 años
L.Plano	21 - 72 / 41,8	8 / 10	1 - 10 años

El liquen plano erosivo incide con mayor frecuencia en edades avanzadas, mientras que el liquen plano no erosivo predomina en la edad media de la vida.

En ambos casos, es más frecuente en mujeres y con tendencia a la cronicidad.

**FIGURA 1: FICHA PARA EL SEGUIMIENTO DE PACIENTES
EN ESTUDIO DE INMUNOFLUORESCENCIA
(IBM FILING ASSISTANT)**

*** DATOS DE FILIACIÓN ***

Primer apellido:

Nºorden:

Segundo apellido:

Nºhistoria:

Nombre:

Sexo:

Edad:

*** ANTECEDENTES ***

Personales:

Familiares:

*** DIAGNOSTICO ***

Tipo clínico:

Tiempo de evolución:

Estudio histológico:

*** ANALÍTICA ***

*** TRATAMIENTO ***

II.- TEJIDOS.

Se ha realizado estudio de INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA usando como substratos Kits comercializados por la casa ATOM. Se han estudiado:

- **Anticuerpos Antinucleares** usando cuatro substratos diferentes: **Hígado de rata, células HEP-2, esófago de rata y esófago de mono.**

Los anticuerpos antinucleares del suero se unen a sus correspondientes antígenos presentes en el corte del tejido (hígado, esófago de rata y esófago de mono), o cultivo celular (HEP-2 -células tumorales humanas de carcinoma de laringe-). Como hemos comentado anteriormente en la introducción, estas líneas celulares tienen la ventaja de poseer un núcleo más grande y por lo tanto se distinguen con mayor facilidad sus distintas estructuras, no contienen proteínas extracelulares y el gran número de células mitóticas permiten la aparición de numerosos antígenos que no aparecen en los cortes de tejidos. Se considera positivo todo suero que origina una fluorescencia nuclear a una dilución 1/40 o mayor.

- **Anticuerpos anti-DNA nativo:** usando como substrato ***Crithidia luciliae***.

Se definen los anticuerpos anti-DNA de doble cadena como aquellos capaces de reconocer los determinantes antigénicos de la desoxirribosa fosfato del esqueleto del DNA.

La *Crithidia luciliae* es un hemoflagelado que posee una mitocondria modificada denominada Kinetoplasto que contiene DNA de doble hélice, no asociado a histonas, y que aparentemente no presenta ningún otro antígeno. El kinetoplasto es un orgánulo de aspecto redondeado, de tamaño inferior al núcleo y situado entre éste y el corpúsculo basal.

La lectura debe realizarse únicamente en organismos separados, y en los que se diferencien claramente el núcleo del kinetoplasto.

Se considera positivo todo suero que origina una fluorescencia brillante localizada en el kinetoplasto a una dilución 1/40 (1/20 Atom) o superior. Los sueros que origina una fluorescencia en el núcleo o en el corpúsculo basal, pero no en el kinetoplasto, son negativos.

- Anticuerpos Anti-mitocondriales: Riñón de rata.

Los anticuerpos anti-mitocondriales son un grupo de autoanticuerpos que reaccionan con diferentes antígenos mitocondriales, siendo el más común el llamado anti-M2, dirigido contra antígenos lipoprotéicos de la membrana mitocondrial interna. Se considera positivo todo suero que originan una fluorescencia granular en el citoplasma de las células de los túbulos renales a una dilución 1/10 o superior. Los títulos superiores a 1/80 son fuertemente indicativos de enfermedades hepáticas obstructivas, especialmente cirrosis biliar primaria (90-100% de los casos^{162,163}), y con menor frecuencia en la hepatitis crónica activa. Se observan también en otras hepatopatías, conectivopatías, e incluso en el 0.3% de la población normal^{163,164}.

- Anticuerpos Antitiroideos (Antimicrosomales y Antitiroglobulinas).: Tiroides de mono

Los anticuerpos anti-tiroideos (ATA) del suero se unen a sus correspondientes antígenos presentes en un corte de tiroides de mono. Pueden encontrarse dos tipos de anticuerpos anti-tiroideos: anti-microsomales y anti-tiroglobulina.

Los anticuerpos anti-microsomales originan fluorescencia granular en el citoplasma de las células epiteliales de los folículos del tiroides.

Los anticuerpos anti-tiroglobulinas originan una fluorescencia en las secreciones glandulares presentes en la luz de los folículos tiroideos.

Ambos anticuerpos pueden coexistir en un mismo suero.

Se considera positivo todo suero que origina una fluorescencia a una dilución 1/40.

- Anticuerpos anti-músculo liso: estómago de rata.

Los anticuerpos antimúsculo liso se unen a sus correspondientes antígenos en un corte de estómago de rata. Se considera positivo todo suero que origina fluorescencia en las fibras de músculo liso de la mucosa gástrica a una dilución 1/20 o superior. También muestran fluorescencia las fibras musculares aisladas en la lámina propia y en las paredes de los vasos.

La presencia de anticuerpos anti-músculo liso en títulos superiores a 1/80 son fuertemente indicativos de hepatitis crónica activa.

- Anticuerpos anti-células parietales: estómago de rata.

Se considera positivo todo suero que origina fluorescencia granular en el citoplasma de las células parietales de la mucosa gástrica a una dilución 1/10 o superior.

Los anticuerpos anti-mitocondriales originan en la mucosa gástrica una fluorescencia análoga a la producida por los anticuerpos anti-células parietales; por tanto, en el caso de un resultado positivo, debe confirmarse la ausencia de AMA ensayando la muestra frente a un corte de riñón de rata.

La presencia de anticuerpos anti-células parietales es indicativa de la existencia de anemia perniciosa. Se halla presente en el 80% de los pacientes con esta afección y también pueden encontrarse en casos de atrofia gástrica. No se ha establecido una relación definida entre el título de anticuerpos anti-células parietales y la historia del paciente.

III.- MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA.^{1,4}

El microscopio de fluorescencia consta de un estativo ordinario y una lámpara, en la actualidad de vapor de mercurio, de superpresión (35 atmósferas) tipo HB 200 (casa Osram) ó S 200 (casa Phillips). La luz proyectada es recogida por un espejo cóncavo y enviada, a través de una lente correctora de cuarzo, a un espejo aluminizado que la encauza hacia el objeto. El haz luminoso debe ser filtrado en su origen para eliminar las radiaciones visibles; para lograrlo se utilizan los filtros selectores o de excitación. Este haz luminoso, llega al objeto, a través del condensador.

La fluorescencia del objeto es examinada por el observador previa colocación entre aquel y el ocular de un segundo filtro, llamado de detención, que absorberá todas las radiaciones de baja longitud de onda no agotadas por el objeto fluorescente dejando pasar sólo la luz visible que emite.

COMPONENTES DEL MICROSCOPIO:

1.- FUENTE LUMINOSA.

La fuente de luz para microscopía de fluorescencia debe tener longitudes de onda de la luz ultravioleta y azul. La mayor parte del trabajo de inmunofluorescencia se

efectúa con lámparas de vapor de mercurio a alta presión, aunque las de deuterio, cuarzo, halógenos y xenón son también de uso satisfactorio. La lámpara de vapor de mercurio tiene picos máximos de emisión a los 365, 405 y 435 nm. haciéndolo ideal para microscopía de fluorescencia.

La lámpara de mercurio más usada es la de descarga de cuarzo-mercurio operando alrededor de 20 atmósferas y con una intensidad comprendida entre los 150 a 250 vatios. Tienen gran brillo (25.000 luces/cm²) lo que permite el uso de cortos tiempos de exposición en la microfotografía y una mayor luminosidad. Hay que dejarlas enfriar antes de utilizarlas nuevamente y una vez conectadas se obtendrá el máximo brillo a los 10-20 minutos. Tienen una duración de 400 horas. Pasado este tiempo se reduce su eficacia en un 40%-50%. Los frecuentes encendidos de la lámpara tienden a acortar su vida y por ello es recomendable, una vez encendida, no apagarla si se va a utilizar el mismo día.

2.- FILTROS.

Para trabajos de microscopía de fluorescencia son necesarios dos tipos de filtros:

1.- Filtros de excitación.-

Al ser atravesados por los rayos que emite la fuente luminosa absorben casi la totalidad de la luz visible

dejando sólo pasar la verdadera luz de excitación. Son de vidrio con óxido de níquel. Para el trabajo con ultravioletas se utilizan permeables para 300-400 nm con un rendimiento óptimo a los 350 nm que corresponde, aproximadamente, al máximo de las lámparas de vapor de mercurio.

2.- Filtros de detención.-

Después que la luz de excitación ha atravesado la muestra y causado la emisión de luz de fluorescencia, compuesta de luz ultravioleta y luz visible, es necesario colocar filtros entre el objetivo y el ocular del microscopio, o bien en el ocular, según el tipo de aparato, que absorban la luz ultravioleta y azul violeta y sólo dejen pasar la luz visible.

Estos filtros se conocen como filtros de detención. De no utilizarlos nos exponemos a:

- a) Superposiciones de color en el ocular del microscopio si se trabaja en el sector azul, pues la luz de fluorescencia es de mayor longitud de onda que la luz de excitación.
- b) Falta de protección de los ojos frente a la acción nociva de los UV que pueden causar oftalmías purulentas y cataratas.
- c) Velar las microfotografías.

No obstante, estos filtros también tienen un inconveniente: absorben un 50%, como mínimo, de la luz de fluorescencia. Los filtros de detención han de adaptarse en cada caso a los filtros de excitación según el tipo de fluorescencia que se adopte. Este método, llamado "Técnica de filtros cruzados", es desde hace tiempo el más utilizado en la práctica ya que permite lograr el máximo de contraste. Detienen toda la luz de excitación y dejan pasar sólo la luz de fluorescencia, en longitudes de onda visibles, que brilla sobre un fondo totalmente negro.

En la práctica no se alcanza este objetivo, pues si eliminamos totalmente el rayo visible de la lámpara aumentando el espesor de los filtros de excitación, también disminuimos la luz de excitación y en consecuencia la luz de fluorescencia, ya disminuida con la absorción por el filtro de detención. En definitiva, para obtener el máximo de fluorescencia es necesario ajustar los filtros de excitación y detención para obtener un contraste máximo sin demasiada pérdida de brillo.

3.- ÓPTICA.-

Durante mucho tiempo, se consideró indispensable el cuarzo para los sistemas ópticos del microscopios de fluorescencia, pero se ha demostrado con posterioridad que el vidrio corriente y, sobre todo, el vidrio Uviol es permeable al ultravioleta próximo y, hacia los 365 nm, absorbe igual que el cuarzo. Sin embargo, para estudios de fluorescencia con reemisión, sigue siendo necesaria la óptica de cuarzo ya que el vidrio absorbe dichos rayos.

1.- Espejo.-

Al principio se utilizaba un prisma de cuarzo, pero basta un espejo corriente. Cuando las preparaciones tienen débil brillo, se emplea un espejo de aluminio para aumentar la intensidad de la luz.

2.- Condensador de campo oscuro.-

Se impone en microscopía de fluorescencia una vez comprobado que la visibilidad depende del contraste. Resulta muy superior a los otros métodos.

Se utiliza en todas las longitudes de onda visibles y en los ultravioletas hasta menos de 360 nm. Es un valioso iluminador y, así mismo, filtro primario,

facilitando el uso de radiaciones excitantes intensas.

Su eficacia depende del índice de refracción N_o/N_m de las estructuras del objeto que se observa, donde N_o es el índice del objeto y N_m es el medio que le rodea. Cuando N_o es igual a N_m , para una longitud de onda dada, la luz diseminará por las zonas no fluorescentes del objeto y la imagen plana será uniformemente negra. Si la longitud de onda activa fluorescencia en la muestra, sólo ésta será observada.

La muestra ideal para los condensadores de campo oscuro sería cuando la dispersión lumínica del objeto y del medio que la rodea sea igual, no siendo en tal caso necesario el empleo de filtros.

En la práctica, cuando es necesario trabajar con longitudes de onda ultravioleta, muchas de las luces que inciden en las regiones no fluorescentes de la muestra difunden y algunas llegan al ocular pero la mayoría se absorben en el objetivo y lentes del ocular no dañando los ojos ni interfiriendo la imagen fluorescente. Por tanto, no requieren filtros secundarios para la observación directa. En cambio, para la microfotografía hay que insertar en el ocular

un filtro que absorba la mayoría de los ultravioletas.

Cuando se emplea la excitación por azul violeta u otras longitudes de onda visibles, precisan filtros más fuertes que absorban la imagen visible del campo oscuro.

Presentan varias ventajas: Cuando los objetos son muy pequeños, el campo iluminado puede ser obstáculo para comprobar su fluorescencia. Con los condensadores de campo oscuro disminuye considerablemente la intensidad de la luz de fluorescencia aumentando el contraste, pero el observador logra mayor seguridad al no penetrar en el objetivo elementos de luz excitadora.

3.- Objetivos. -

Cuando se usan objetivos apocromáticos de inmersión en aceite, y debido a los componentes del sistema, se pierde intensidad de la imagen. También pueden ocurrir pérdidas de contraste si se emplean modelos antiguos de fluorita.

Los objetivos apocromáticos de inmersión en agua destilada se usan bastante, sobre todo el X 50. No

dan buenos resultados, pues disminuye la intensidad de la imagen por el número de lentes que contienen.

Los objetivos apocromáticos de 4 X 40 mm de NA 0,95 con anillo de regulación permiten buenas observaciones. Su mayor apertura numérica produce imágenes brillantes de gran importancia para la microfotografía. Las aberraciones de esfericidad y cromáticas debidas al espesor variable de los cubreobjetos se reducen al mínimo.

Los modernos objetivos de fluorita proporcionan imágenes de alta calidad, buen contraste y resolución casi igual que los objetivos apocromáticos superándolos en la microfotografía en color.

Los "Objetivos especiales para Microscopía de Fluorescencia" poseen un sistema de filtros de absorción montados antes del sistema de lentes, posición ideal pero que limita el grado de absorción secundaria.

La práctica ha demostrado que los mejores objetivos son los que tienen NA lo más alta posible y una pieza ocular de x 8 a x 12, logrando conos máximos de fluorescencia e imágenes de gran contraste en campo oscuro y NA 1,0. Las muestras se montan en

portaobjetos de 1,2 mm de espesor en medio acuoso con índice de refracción de 1,33 a 1,45.

Los objetivos de inmersión con NA superior a 1,14 se utilizan para examen de preparaciones excitadas con radiaciones ultravioletas a 365 nm y sólo requieren un filtro secundario. A 400 nm precisan filtros más fuertes si se emplea apertura completa.

4.- Oculares.-

Son oculares normales periplanáticos. Es interesante utilizar débiles aumentos cuando la intensidad luminosa es escasa, puesto que el brillo de la imagen disminuye según el cuadrado de la amplificación del ocular.

En definitiva: El microscopio de fluorescencia actual, exceptuadas las técnicas de fluorescencia con reemisión de ultravioletas, no es más que un microscopio corriente difiriendo por su iluminación y otros detalles.

4.- MICROFOTOGRAFIA.-

Los cuerpos fluorescentes que emiten en la región visible presentan determinadas coloraciones de fluorescencia que son carácter esencial de la imagen

obtenida. Por tanto, es necesaria la microfotografía en color, difícil, y que exige superar dos escollos:

- a) Débil intensidad de la fluorescencia.
- b) Contraste o diferencias de brillo entre varias zonas del mismo campo microscópico.

La intensidad de la fluorescencia que impresionará la película depende de numerosos factores: Fuente luminosa, sistema óptico, fluorocromo y sensibilidad de la película.

Para cada tipo de aparato y preparación es necesaria una película adecuada de las siguientes características:

- a) Gran velocidad. - Como la luz emitida por el objeto fluorescente es poco intensa las películas de poca velocidad requerirán considerables tiempos de exposición. Entonces, al concentrarse la luz ultravioleta durante mucho tiempo sobre un grupo celular blanqueará la coloración fluorescente. Además pueden ocurrir vibraciones que causen imágenes borrosas.
- b) Gran poder resolutivo. - Para captar fielmente los detalles morfológicos.
- c) Reproducir con exactitud los colores fluorescentes.
- d) El fondo debe ser negro como normalmente aparece para el ojo.

IV. METODOLOGÍA.

Técnicas e instrumentos utilizados.

MUESTRAS:

Las muestras de sangre se han extraído por punción venosa con material estéril en la fosa antecubital y recogidas en tubos desechables heparinizados, donde se centrifugó a 400 r.p.m. durante diez minutos. El suero fue extraído y alicuotado en fracciones de 1 ml. que se congelaron a - 80°C hasta su uso. Ninguna muestra fue recongelada más de dos veces.

MATERIALES:

- Centrifugadora
- Arcón congelador
- Kits comercializados casa Atom.

Contenido y composición de los Kits:

- Portaobjetos con pocillos de cortes de tejidos o cultivos celulares.
- Control positivo: 0.3 mL. Suero humano, azida sódica 0.1 g/L
- Control negativo: 0.3 mL. Suero humano, azida sódica 0.1 g/L

- Conjugado FITC/Evans, Rata. 1.5 mL. Suero anti-inmunoglobulinas humanas conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC), azul de Evans, azida sódica 0.1 g/L.

- Tampón fosfatos. Para 4 X 500 mL. Polvos fosfatos 130mmol/L (Phosphate-buffered saline solution [PBS]) ph 7,2 una vez reconstituido.

- Medio de montaje. 3 ml. Glicerina tamponada, azida sódica 0.1 g/L.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS.

Tampón fosfatos: Se disuelve el contenido de un sobre en 500 ml. de agua destilada. Permanece estable una semana a 2-8°C.

Los restantes componentes se utilizan tal como se suministran y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

MATERIAL ADICIONAL.

- Cámara húmeda. Cuyo fondo se halla recubierto por una esponja húmeda.

- Pipetas Pasteur.

- Cubetas de tinción y pinzas.

- Cubreobjetos de 24x60 mm.

- Microscopios de fluorescencia (fotomicroscopio Zeiss dotado de lámpara de vapor de mercurio HBO 200 W/4 L1 Osram, microscopio Leitz laborlux 11 dotado de lámpara de vapor de mercurio HBO 200 W/4 L1 Osram).

PROCEDIMIENTO:

El test de IFI se suele llevar a cabo en una habitación a temperatura ambiente.

1. Se dejan atemperar los componentes del kit durante unos minutos. Hay que tener la precaución de no tocar los substratos durante todo el procedimiento.

2. Se diluyen 20 microlitros de la muestra en tampón fosfatos, y posteriormente se deposita con la pipeta Pasteur una gota (25-50 microlitros) de la muestra diluida y de los controles positivo y negativo, a la misma dilución que la muestra, sobre el substrato fijado en el portaobjetos, procurando cubrirlos perfectamente.

3. Incubar el portaobjeto durante 30 minutos a temperatura ambiente (15-30°C) en cámara húmeda.
4. Se eliminan las gotas de las muestras inclinando el portaobjeto y golpeándolo ligeramente evitando la mezcla de sueros.
5. Se lava el portaobjetos sumergiéndolo en una cubeta de unos 400 ml., llenos los 3/4, con tampón fosfatos durante 5 minutos. Se cambia el tampón fosfato y se repite el lavado dos veces más.
6. Se seca el portaobjetos cuidadosamente con ayuda de un papel absorbente y sin pelusa. El substrato permanecerá siempre húmedo.
7. Se deposita una gota del conjugado en cada pocillo y se vuelve a incubar en la cámara húmeda a temperatura ambiente (15-30°C) durante 30 minutos.
8. Se vuelve a lavar el portaobjetos y secar igual que en los pasos 5 y 6.
9. Se depositan varias gotas del medio de montaje y se coloca un cubreobjeto evitando la formación de burbujas de aire.

Lectura e interpretación.

Variables a medir :

- positivo/negativo
- patrones
- diluciones.
- tratamiento en la base de datos
- tratamiento estadístico de los resultados.

RESULTADOS

I.- ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.

TABLA I: LUPUS DISCOIDE. ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.

	H. RATA	HEP-2	E. MONO	E. RATA
1 (L)	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO
2 (G)	NEGATIVO	1/320 PERIFERICO	NEGATIVO	NEGATIVO
3 (G-SG)	1/40 NUCLEOLAR	1/160 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO
4 (L-SG)	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO
5 (G)	NEGATIVO	1/80 PERIFERICO	NEGATIVO	NEGATIVO
6 (G-SG)	1/40 HOMOGENEO	1/80 MOTEADO	NEGATIVO	NEGATIVO
7 (L)	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO
8 (L)	NEGATIVO	1/160 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO
9 (L)	NEGATIVO	1/160 PERIFERICO	NEGATIVO	NEGATIVO
10 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
11 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
12 (G)	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO- MOTEADO	NEGATIVO	NEGATIVO
13 (L)	NEGATIVO	1/160 MOTEADO	NEGATIVO	NEGATIVO
14 (G-SG)	NEGATIVO	1/80 PERIFERICO	1/80 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO
15 (L)	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO	1/80 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO
16 (G)	NEGATIVO	1/80 PERIFERICO	NEGATIVO	NEGATIVO
17 (L)	1/40 HOMOGENEO	1/160 PERIFERICO	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO
18 (L-SG)	NEGATIVO	1/40 PERIFERICO	1/40 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO
19 (G)	1/80 NUCLEOLAR	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO
20 (G-SG)	1/160 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO

**TABLA I (CONTINUACION): LUPUS DISCOIDE.
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.**

	HIGADO RATA	HEP-2	ESOFAGO MONO	ESOFAGO RATA
21 (L)	1/320 MOTEADO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO- PERIFERICO	NEGATIVO
22 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
23 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
24 (G)	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
25 (L)	NEGATIVO	1/40 PERIFERICO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
26 (G)	1/40 MOTEADO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 PERIFERICO
27 (G)	1/80 PERIFERICO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
28 (L)	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
29 (G-SG)	1/80 MOTEADO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	1/80 HOMOGENEO
30 (G)	1/640 MOTEADO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO	1/80 HOMOGENEO
31 (L)	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
32 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
33 (G)	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO
34 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
35 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 PERIFERICO	1/40 PERIFERICO
TOTAL + / -	15 / 20	18 / 17	11 / 24	16 / 19

L: Localizado; G: Generalizado; SG: Con síntomas generales.

El mejor sustrato hallado para la determinación de los ANA en los pacientes con Lupus Discoide son las líneas celulares HEP-2 (51.7% positivos), seguido del esófago de rata (45.1%). Los títulos obtenidos son bajos en todos los sustratos (el 83% <1/160 y 17% / 1/160 para las células Hep-2). El patrón que aparece con más frecuencia en este sustrato es el periférico (22.85%), seguido del homogéneo (20%) y el moteado (8.5).

TABLA II: LIQUEN PLANO.
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.

	HIGADO DE RATA	HEP-2	ESOFAGO DE MONO	ESOFAGO DE RATA
1 (LA)	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	1/320 HOMOGENEO	NEGATIVO
2 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
5 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
6 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
8 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
9 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
10 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
11 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
12 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
13 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO
14 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
15 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/160 MOTEADO
16 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
17 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
18 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
19 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
20 (LE)	NEGATIVO	1/80 PERIFERICO	1/80 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO
21 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 MOTEADO
22 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
23 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
24 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/160 MOTEADO
25 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	1/40 MOTEADO

LE: Liquen erosivo; LP: Liquen plano; LA: Liquen ampolloso.

TABLA II (CONTINUACION): LIQUEN PLANO.
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.

	HIGADO DE RATA	HEP-2	ESOFAGO DE MONO	ESOFAGO DE RATA
26 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
27 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
28 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 MOTEADO
29 (LE)	1/160 HOMOGENEO	NEGATIVO	1/160 MOTEADO	1/80 HOMOGENEO
30 (LE)	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO	1/640 HOMOGENEO	1/160 MOTEADO
31 (LE)	1/80 NUCLEOLAR	NEGATIVO	NEGATIVO	1/640 MOTEADO
32 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
33 (LE)	1/80 MOTEADO	NEGATIVO	1/320 MOTEADO	1/320 HOMOGENEO
34 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/320 MOTEADO
35 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
36 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO
37 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO
38 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
39 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO
40 (LA)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 PERIFERICO	NEGATIVO
41 (LL)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 PERIFERICO
42 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
43 (LE)	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO	1/160 MOTEADO
44 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO
45 (LP)	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO

LP: Liquen plano; LE: Liquen erosivo; LA: Liquen ampolloso; LL: Liquen-lupus.

**TABLA II (CONTINUACION): LIQUEN PLANO.
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.**

	HIGADO DE RATA	HEP-2	ESOFAGO DE MONO	ESOFAGO DE RATA
46 (LE)	1/80 PERIFERICO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
47 (LA)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO
TOTAL + / -	7 / 40	2 / 45	13 / 34	19 / 28

LP: Liquen plano; LE: Liquen erosivo; LA: Liquen ampolloso; LL: Liquen-lupus.

La presencia de anticuerpos antinucleares en pacientes con LP es dependiente del sustrato empleado para su determinación. El mejor sustrato es el esófago de rata (40.42%) seguido del esófago de mono (27.65%). Las células Hep-2 (4.25%) y el hígado de rata (14.89%), no son válidos para la determinación de ANA en estos pacientes. Los títulos obtenidos son <1/160 en el 63% de los casos y >/ 1/160 en el 37%. Los patrones encontrados (en el esófago de rata) son el moteado en 9 casos, el homogéneo en 9 y uno periférico.

**TABLA III: MORFEA.
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.**

	HIGADO DE RATA	HEP-2	ESOFAGO DE MONO	ESOFAGO DE RATA
1 (L)	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
2 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
5 (G)	NEGATIVO	1/40 PERIFERICO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
6 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
8 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
9 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
10 (G)	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO
11 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO	NEGATIVO
12 (B)	1/40 NUCLEOLAR	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
13 (B)	1/320 HOMOGENEO	NEGATIVO	1/80 HOMOGENEO	1/160 HOMOGENEO
14 (B)	1/320 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO	1/80 HOMOGENEO	1/160 HOMOGENEO
15 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
16 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
17 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
18 (L)	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	6 / 12	2 / 16	4 / 14	4 / 14

L: Localizada; **B:** En banda; **G:** Generalizada.

El mejor sustrato para la determinación de ANA en pacientes con morfea es el hígado de rata (33.3%), seguido en igual proporción (22.2%) por el esófago de mono y rata. El menor porcentaje lo hemos obtenido con las células Hep-2. El patrón más frecuentemente observado es el homogéneo.

**TABLA IV: ESCLERODERMIA SISTEMICA.
ANTICUERPOS ANTINUCLARES.**

	HIGADO DE RATA	HEP-2	ESOFAGO DE MONO	ESOFAGO DE RATA
1 *	NEGATIVO	1/80 CENTROMERO	NEGATIVO	NEGATIVO
2	NEGATIVO	1/80 PERIFERICO	1/1280 MOTEADO	1/10240 MOTEADO
3	NEGATIVO	1/320 HOMOGENEO	1/1280 MOTEADO	1/5120 MOTEADO
4	NEGATIVO	NEGATIVO	1/1280 MOTEADO	1/5120 MOTEADO
5	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
6	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/320 HOMOGENEO
7	1/320 MOTEADO	1/80 MOTEADO	1/160 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO
8	1/640 HOMOGENEO	1/160 HOMOGENEO	1/2560 MOTEADO	1/5120 MOTEADO
9	NEGATIVO	1/80 PERIFERICO	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	3 / 6	7 / 2	5 / 4	7 / 2

* Síndrome CREST.

Tanto las células Hep-2 como el esófago de rata aparecen las mayores proporciones de positividades (77.7%), pero los títulos más elevados aparecen con el esófago de rata y de mono. Los patrones que aparecen con mayor frecuencia son el moteado y el homogéneo.

**TABLA V: PENFIGOIDE AMPOLLOSO.
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.**

	HIGADO DE RATA	HEP-2	ESOFAGO DE MONO	ESOFAGO DE RATA
1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
2	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO*	NEGATIVO*
5	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO
6	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	0 / 7	0 / 7	0 / 7	1 / 6

* Anticuerpo antimembrana basal.

El PA no presenta ANA en ninguno de los substratos utilizados para su determinación.

**TABLA VI: GRUPO MISCELANEA.
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.**

	HIGADO DE RATA	HEP-2	ESOFAGO DE MONO	ESOFAGO DE RATA
U.VASCUL.	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO
PENFIGO V.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
ART.EROS.	NEGATIVO	1/160 PERIFERICO	NEGATIVO	NEGATIVO
LIQUEN E-A	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
ERIT.NOD.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
U.VASCUL.	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO
U.VASCUL.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
U.VASCUL.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
ERIT.POL.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
U.VASCUL.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
HERPES G.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
D.HERPET.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
A.AREATA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
A.AREATA	1/40 MOTEADO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
PENFIGO V.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
U.CRONICA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
AFTOSIS	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO
TOTAL + / -	1 / 16	2 / 15	2 / 15	1 / 16

U.VASCUL.: Urticaria Vasculitis; PENFIGO V.: Pénfigo Vulgar;

ART.EROS.: Artritis Erosiva; ERIT.NOD.: Eritema nodoso;
ERIT.POL.: Eritema Polimorfo; A.AREATA: Alopecia Areata;
HERPES G.: Herpes Gestationis; U.CRONICA: Urticaria crónica;

D.HERPET.: Dermatitis Herpetiforme.

LIQUEN E-A: Liquen Escleroatrófico.

Son bajos los porcentajes de positivities encontrados y no difieren de los observados en el grupo control.

**TABLA VII: GRUPO CONTROL.
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.**

	HIGADO DE RATA	HEP-2	ESOFAGO DE MONO	ESOFAGO DE RATA
FIBROHIST.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS.PIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
FIBROMAS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE M.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
FIBROMAS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS PIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS PIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
LIPOMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS PIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
LIPOMA	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
CUERNO C.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
BASALIOMA	1/80 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO	1/40 HOMOGENEO	NEGATIVO
LENTIGO S.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS PIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS PIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	1/40 PERIFERICO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS PIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS PIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
FIBROMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

**TABLA VII (CONTINUACION): GRUPO CONTROL.
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.**

	HIGADO DE RATA	HEP-2	ESOFAGO DE MONO	ESOFAGO DE RATA
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
FIBROMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS FIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
HIDROCIST.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	2 / 31	2 / 31	1 / 32	0 / 33

FIBROHIST.: Fibrohistiocitoma; **CUERNO C.:** Cuerno cutáneo;

NEVUS FIG.: Nevus pigmentario; **LENTIGO S.:** Léntigo senil;

QUISTE E.: Quiste Epidérmico; **QUISTE M.:** Quiste Mixoide;
HIDROCIST.: Hidrocistoma.

En los escasos controles positivos los títulos encontrados son bajos y los patrones homogéneo.

II.- ANTICUERPOS ORGANOESPECÍFICOS.

**TABLA VIII: LUPUS DISCOIDE.
ANTICUERPOS ORGANOESPECIFICOS.**

	ANTI-MITOCOND.	ANTI-TIROIDEOS.	ANTI-M.LISO.	ANTI-C.PARIET.
1 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
2 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3 (G-SG)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4 (L-SG)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80
5 (G)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
6 (G-SG)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
8 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
9 (L)	1/20	NEGATIVO	NEGATIVO	1/20
10 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
11 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
12 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
13 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
14 (G-SG)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
15 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
16 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40	NEGATIVO
17 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
18 (L-SG)	1/10	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
19 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
20 (G-SG)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
21 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
22 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
23 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
24 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
25 (L)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
26 (G)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
27 (G)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO

**TABLA VIII (CONTINUACION): LUPUS DISCOIDE.
ANTICUERPOS ORGANOESPECIFICOS.**

	ANTI-MITOCOND.	ANTI-TIROIDEOS.	ANTI-M.LISO.	ANTI-C.PARIET.
28 (L)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
29 (G-SG)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
30 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
31 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
32 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
33 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80	NEGATIVO
34 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
35 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	2 / 33	5 / 30	2 / 33	2 / 33

Los anticuerpos organoespecificos obtenidos con mayor asiduidad en pacientes con lupus discoide son los anticuerpos antitiroideos antimicrosomales con una proporción del 14.28%, si bien no se registran antecedentes personales o familiares de enfermedad tiroidea. El resto de los anticuerpos los encontramos con una proporción similar del 5.71%, todos ellos obtenidos a bajo título.

**TABLA IX: LIQUEN PLANO.
ANTICUERPOS ORGANOESPECIFICOS.**

	ANTI-MITOCOND.	ANTI-TIROIDEOS.	ANTI-M.LISO.	ANTI-C.PARIET.
1 (LA)	1/10	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
2 (LE)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	1/20
3 (LP)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
4 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
5 (LP)	1/10	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
6 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7 (LP)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
8 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
9 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
10 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
11 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
12 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
13 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
14 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
15 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
16 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
17 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
18 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
19 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
20 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/20	NEGATIVO
21 (LE)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
22 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
23 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40	NEGATIVO
24 (LE)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	1/80
25 (LE)	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	1/40

LP: Liquen plano; LE: Liquen erosivo; LA: Liquen ampoloso.

**TABLA IX (CONTINUACION): LIQUEN PLANO.
ANTICUERPOS ORGANOESPECIFICOS.**

	ANTI-MITOCOND.	ANTI-TIROIDEOS.	ANTI-M.LISO.	ANTI-C.PARIET.
26 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80
27 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
28 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
29 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
30 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/20
31 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/160
32 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/20
33 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
34 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
35 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
36 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
37 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80
38 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40
39 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
40 (LA)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
41 (LL)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
42 (LP)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
43 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
44 (LE)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
45 (LP)	1/10	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
46 (LP)	NEGATIVO	1/40	NEGATIVO	NEGATIVO
47 (LA)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	3 / 44	7 / 40	2 / 45	9 / 38

LP: Liquen plano; LE: Liquen erosivo; LA: Liquen ampolloso; LL: Liquen-lupus.

La mayor proporción de AC organoespecíficos son los AC anticélulas parietales (19.14%), siendo superior en pacientes con LP erosivo que en las formas no erosivas. Le siguen en proporción los anticuerpos antitiroideos (14.89%). Los antimitocondriales (6.3%) y los antimúsculo liso (4.2%) no son estadísticamente significativos.

**TABLA X: MORFEA.
ANTICUERPOS ORGANOESPECIFICOS.**

	ANTI-MITOCOND.	ANTI-TIROIDEOS.	ANTI-M.LISO.	ANTI-C.PARIET.
1 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80
2 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4 (L)	NEGATIVO	1/40	NEGATIVO	NEGATIVO
5 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
6 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
8 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
9 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
10 (G)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
11 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
12 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
13 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
14 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
15 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
16 (B)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
17 (L)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
18 (L)	NEGATIVO	1/40	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	0 / 18	2 / 16	0 / 18	1 / 17

L: Localizada; B: En banda; G: Generalizada.

En pacientes con morfea no encontramos anticuerpos organoespecificos estadisticamente significativos.

**TABLA XI: ESCLERODERMIA SISTEMICA.
ANTICUERPOS ORGANOESPECIFICOS.**

	ANTI-MITOCOND.	ANTI-TIROIDEOS.	ANTI-M.LISO.	ANTI-C.PARIET.
1 *	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
2	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
5	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
6	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
8	NEGATIVO	1/40 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
9	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	0 / 9	2 / 7	0 / 9	0 / 9

* Síndrome CREST.

Entre los anticuerpos organoespecificos hay que destacar la existencia de anticuerpos antitiroideos en un 22.22% de los pacientes con esclerodermia sistémica.

**TABLA XII: PENFIGOIDE AMPOLLOSO.
ANTICUERPOS ORGANOESPECIFICOS.**

	ANTI- MITOCOND.	ANTI- TIROIDEOS.	ANTI- M.LISO.	ANTI- C.PARIET.
1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
2	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
5	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
6	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	0 / 7	0 / 7	0 / 7	0 / 7

Ninguno de los casos presenta anticuerpos organoespecificos.

**TABLA XIII: GRUPO MISCELANEA.
ANTICUERPOS ORGANOESPECIFICOS.**

	ANTI-MITOCOND.	ANTI-TIROIDEOS.	ANTI-M.LISO.	ANTI-C.PARIET.
U.VASCUL.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
PENFIGO V.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
ART.EROS.	1/20	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
LIQUEN E-A	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40
ERIT.NOD.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
U.VASCUL.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
U.VASCUL.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
U.VASCUL.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
ERIT.POL.	1/40	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
U.VASCUL.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
HERPES G.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
D.HERPET.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/80
A.AREATA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
A.AREATA	NEGATIVO	1/20 MICROSOMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
PENFIGO V.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
U.CRONICA	NEGATIVO	NEGATIVO	1/20	1/40
AFTOSIS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	2 / 15	1 / 16	1 / 16	3 / 14

U.VASCUL.: Urticaria Vasculitis; PENFIGO V.: Pénfigo Vulgar;

ART.EROS.: Artritis Erosiva; ERIT.NOD.: Eritema Nodoso;
ERIT.POL.: Eritema Polimorfo; A.AREATA: Alopecia Areata;
HERPES G.: Herpes Gestationis; U.CRONICA: Urticaria Crónica;

D.HERPET.: Dermatitis Herpetiforme;
LIQUEN E-A: Liquen escleroatrófico.

Limitados casos a bajos títulos sin ser estadísticamente significativos.

**TABLA XIV: GRUPO CONTROL.
ANTICUERPOS ORGANOESPECIFICOS.**

	ANTI- MITOCOND.	ANTI- TIROIDEOS.	ANTI- M. LISO.	ANTI- C. PARIET.
FIBROHIST.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS FIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
FIBROMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE M.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
FIBROMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS FIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS FIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
LIPOMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS FIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
LIPOMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
CUERNO C.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	1/40
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
BASALIOMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
LENTIGO S.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS FIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS FIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS FIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS FIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
FIBROMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

**TABLA XIV (CONTINUACION): GRUPO CONTROL.
ANTICUERPOS ORGANOESPECIFICOS.**

	ANTI- MITOCOND.	ANTI- TIROIDEOS.	ANTI- M.LISO.	ANTI- C.PARIET.
FIBROMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEVUS FIG.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUISTE E.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
HIDROCIST.	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
TOTAL + / -	0 / 33	0 / 33	0 / 33	1 / 32

FIBROHIST.: Fibrohistiocitoma; **CUERNO C.:** Cuerno Cutáneo; **NEVUS FIG.:** Nevus Pigmentario; **LENTIGO S.:** Léntigo Senil; **QUISTE E.:** Quiste Epidérmico; **QUISTE M.:** Quiste Mixoide; **HIDROCIST.:** Hidrocistoma.

Sólo hemos detectado un caso de anticuerpos anticélulas parietales en un paciente sin antecedentes personales ni familiares de anemia perniciosa.

III.- ANTI-DNA Y ANTICUERPOS ANTICITOPLASMÁTICOS.

TABLA XV: LUPUS DISCOIDE.
ANTICUERPOS ANTI-DNA Y ANTICITOPLASMATICOS.

	ANTI-DNA	ANTI-CITOPL.
1 (L)	1/80	NEG.
2 (G)	1/40	NEG.
3 (G-SG)	1/40	NEG.
4 (L-SG)	1/40	NEG.
5 (G)	NEG.	NEG.
6 (G-SG)	1/40	NEG.
7 (L)	1/40	NEG.
8 (L)	1/40	NEG.
9 (L)	NEG.	NEG.
10 (G)	NEG.	NEG.
11 (L)	1/80	NEG.
12 (G)	1/40	NEG.
13 (L)	1/40	NEG.
14 (G-SG)	1/40	NEG.
15 (L)	1/80	1/80
16 (G)	1/40	NEG.
17 (L)	1/40	NEG.
18 (L-SG)	NEG.	1/80
19 (G)	1/40	1/80
20 (G-SG)	NEG.	NEG.
21 (L)	NEG.	NEG.
22 (L)	NEG.	1/80
23 (L)	NEG.	NEG.
24 (G)	NEG.	NEG.
25 (L)	NEG.	NEG.
26 (G)	NEG.	NEG.
27 (G)	NEG.	NEG.
28 (L)	1/40	1/80
29 (G-SG)	NEG.	NEG.

**TABLA XV (CONTINUACIÓN): LUPUS DISCOIDE.
ANTICUERPOS ANTI-DNA Y ANTICITOPLASMATICOS.**

	ANTI-DNA.	ANTI-CITOPL.
30 (G)	1/40	1/80
31 (L)	1/40	NEG.
32 (G)	NEG.	1/80
33 (G)	NEG.	1/80
34 (L)	NEG.	NEG.
35 (G)	NEG.	NEG.
TOTAL + / -	18 / 17	8 / 27

El 51.4% de los pacientes con lupus discoide presentan anti-DNA positivo a bajos títulos. Los anticuerpos anticitoplasmáticos los encontramos en un 22% de los casos.

TABLA XVI: LIQUEN PLANO.
ANTICUERPOS ANTI-DNA Y ANTI-CITOPLASMATICOS.

	ANTI-DNA.	ANTI-CITOPL.
1 (LA)	NEG.	NEG.
2 (LE)	1/40	NEG.
3 (LP)	NEG.	NEG.
4 (LP)	1/40	NEG.
5 (LP)	1/40	NEG.
6 (LE)	NEG.	NEG.
7 (LP)	NEG.	NEG.
8 (LP)	NEG.	NEG.
9 (LE)	NEG.	1/80
10 (LP)	NEG.	1/80
11 (LP)	NEG.	NEG.
12 (LP)	NEG.	NEG.
13 (LP)	NEG.	NEG.
14 (LP)	NEG.	NEG.
15 (LP)	NEG.	NEG.
16 (LP)	NEG.	NEG.
17 (LP)	NEG.	NEG.
18 (LP)	1/40	NEG.
19 (LE)	NEG.	NEG.
20 (LE)	1/40	1/80
21 (LE)	1/40	1/80
22 (LE)	1/40	1/80
23 (LE)	1/40	NEG.
24 (LE)	1/40	1/80
25 (LE)	1/40	1/80
26 (LE)	NEG.	1/80
27 (LE)	NEG.	NEG.
28 (LE)	1/40	1/80
29 (LE)	NEG.	1/40

LP: Liquen plano; LE: Liquen erosivo; LA: Liquen ampolloso.

**TABLA XVI (CONTINUACION): LIQUEN PLANO.
ANTICUERPOS ANTI-DNA Y ANTICITOPLASMATICOS.**

	ANTI-DNA.	ANTI-CITOPL.
30 (LE)	NEG.	NEG.
31 (LE)	NEG.	NEG.
32 (LE)	NEG.	NEG.
33 (LE)	1/80	1/40
34 (LE)	NEG.	NEG.
35 (LE)	NEG.	1/80
36 (LE)	NEG.	1/40
37 (LP)	NEG.	NEG.
38 (LE)	NEG.	NEG.
39 (LE)	NEG.	1/80
40 (LA)	NEG.	1/80
41 (LL)	NEG.	1/80
42 (LP)	NEG.	1/40
43 (LE)	NEG.	NEG.
44 (LE)	NEG.	NEG.
45 (LP)	NEG.	NEG.
46 (LP)	NEG.	1/80
47 (LA)	NEG.	NEG.
TOTAL + / -	12 / 35	18 / 29

LP: Liquen plano; **LE:** Liquen erosivo; **LA:** Liquen ampolloso;

LL: Liquen-lupus.

Los anticuerpos anti-DNA los encontramos en un 25.5% de los casos (la mitad a lo comprobado en el lupus discoide), obteniéndose al igual que en el grupo anterior unos títulos bajos. Los encontramos con más frecuencia en pacientes con liquen erosivo (36%) que en pacientes con LP no erosivo (15%). Los anticuerpos anti-citoplasmas los encontramos en el 38.2% de los casos, siendo igualmente más frecuentes en pacientes con LP erosivo que en las formas no erosivas.

**TABLA XVII: MORFEA.
ANTICUERPOS ANTI-DNA Y ANTI-CITOPLASMATICOS.**

	ANTI-DNA.	ANTI-CITOPL.
1 (L)	1/40	NEG.
2 (B)	NEG.	NEG.
3 (L)	1/40	NEG.
4 (L)	NEG.	NEG.
5 (G)	NEG.	1/40
6 (L)	NEG.	1/40
7 (G)	NEG.	1/80
8 (B)	NEG.	NEG.
9 (L)	1/40	NEG.
10 (G)	1/40	1/80
11 (B)	1/40	NEG.
12 (B)	1/40	1/40
13 (B)	NEG.	1/40
14 (B)	NEG.	NEG.
15 (L)	NEG.	1/80
16 (B)	1/40	NEG.
17 (L)	NEG.	1/80
18 (L)	NEG.	1/80
TOTAL + / -	7 / 11	9 / 9

L: Localizada; **B:** En banda; **G:** Generalizada.

Al igual que en los dos grupos anteriores, hemos obtenido unos títulos bajos de 1/40 en los anticuerpos anti-DNA en una proporción del 38.8% de los pacientes con morfea, así como un 50% de anticuerpos anticitoplasmáticos. En ambos tipos de anticuerpos no existen diferencias respecto a los tipos clínicos en que aparecen.

**TABLA XVIII: ESCLERODERMIA SISTEMICA.
ANTICUERPOS ANTI-DNA Y ANTI-CITOPLASMATICOS.**

	ANTI-DNA.	ANTI-CITOPL.
1 *	1/40	NEG.
2	NEG.	NEG.
3	1/40	NEG.
4	1/40	NEG.
5	1/40	NEG.
6	1/40	NEG.
7	NEG.	NEG.
8	1/40	NEG.
9	NEG.	1/40
TOTAL + / -	6 / 3	1 / 8

*** Síndrome CREST.**

Los anticuerpos anti-DNA aparecen en un 66.6% de los pacientes con esclerodermia sistémica, porcentaje superior a lo observado en pacientes con lupus discoide. Por el contrario, los anticuerpos anticitoplasmático solo los hemos observado en un caso, que se corresponde con el 11.11%.

**TABLA XIX: PENFIGOIDE AMPOLLOSO.
ANTICUERPOS ANTI-DNA Y ANTICITOPLASMATICOS.**

	ANTI-DNA.	ANTI-CITOPL.
1	NEG.	NEG.
2	NEG.	NEG.
3	NEG.	NEG.
4	NEG.	NEG.
5	NEG.	NEG.
6	NEG.	NEG.
7	1/40	NEG.
TOTAL + / -	1 / 6	0 / 7

En nuestro reducido grupo de pacientes con penfigoide ampolloso solo hemos obtenido un solo caso de anticuerpos anti-DNA positivo que no es estadísticamente significativo respecto al grupo control. Ninguno de los pacientes presentó anticuerpos anticitoplasmáticos.

**TABLA XX: GRUPO MISCELÁNEA.
ANTICUERPOS ANTI-DNA Y ANTICITOPLASMATICOS.**

	ANTI-DNA.	ANTI-CITOPL.
U.VASCUL.	1/40	NEG.
PENFIGO V.	1/40	NEG.
ART.EROS.	1/40	NEG.
LIQUEN E-A	NEG.	NEG.
ERIT.NOD.	NEG.	NEG.
U.VASCUL.	NEG.	NEG.
U.VASCUL.	1/40	NEG.
U.VASCUL.	NEG.	NEG.
ERIT.POL.	1/80	NEG.
U.VASCUL.	NEG.	NEG.
HERPES G.	NEG.	NEG.
D.HERPET.	NEG.	NEG.
A.AREATA	NEG.	NEG.
A.AREATA	1/40	NEG.
PENFIGO V.	1/40	NEG.
U.CRONICA	1/40	NEG.
AFTOSIS	NEG.	1/80
TOTAL + / -	8 / 9	1 / 16

U.VASCUL.: Urticaria vasculitis; **PENFIGO V.:** Pénfigo vulgar; **ART.EROS.:** Artritis erosiva; **ERIT.NOD.:** Eritema nodoso; **ERIT.POL.:** Eritema polimorfo; **A.AREATA:** Alopecia areata; **HERPES G.:** Herpes gestationis; **U.CRONICA:** Urticaria crónica; **LIQUEN E-A:** Liquen esclero-atrófico; **D.HERPET.:** Dermatitis herpetiforme.

El el grupo miscelánea, el 47% de los pacientes presenta anticuerpos anti-DNA a bajos títulos, al igual que los restantes grupos de conectivopatias y el liquen plano. Por el contrario, solo un caso ha presentado anticuerpos anticitoplasmáticos.

**TABLA XXI: GRUPO CONTROL.
ANTICUERPOS ANTI-DNA Y ANTICITOPLASMATICOS.**

	ANTI-DNA.	ANTI-CITOPL.
FIBROHIST.	NEG.	NEG.
NEVUS.PIG.	NEG.	NEG.
FIBROMAS	NEG.	NEG.
QUISTE E.	NEG.	NEG.
QUISTE E.	NEG.	NEG.
QUISTE M.	NEG.	NEG.
FIBROMAS	NEG.	NEG.
NEVUS PIG.	NEG.	NEG.
QUISTE E.	NEG.	NEG.
QUISTE E.	NEG.	NEG.
NEVUS PIG.	NEG.	NEG.
QUISTE E.	NEG.	NEG.
LIPOMA	NEG.	NEG.
NEVUS PIG.	NEG.	NEG.
LIPOMA	NEG.	NEG.
CUERNO C.	NEG.	1/40
QUISTE E.	NEG.	NEG.
BASALIOMA	NEG.	1/40
LENTIGO S.	NEG.	NEG.
NEVUS PIG.	NEG.	NEG.
NEVUS PIG.	NEG.	NEG.
QUISTE E.	NEG.	NEG.
QUISTE E.	NEG.	NEG.
NEVUS PIG.	NEG.	NEG.
NEVUS PIG.	NEG.	NEG.
QUISTE F	NEG.	NEG.
QUISTE F.	NEG.	NEG.
FIBROMA	NEG.	NEG.
QUISTE E.	NEG.	NEG.

**TABLA XXI (CONTINUACION): GRUPO CONTROL.
ANTICUERPOS ANTI-DNA Y ANTICITOPLASMATICOS.**

	ANTI-DNA.	ANTI-CITOPL.
FIBROMAS	NEG.	NEG.
NEVUS PIG.	NEG.	NEG.
QUISTE E.	NEG.	NEG.
HIDROCIST.	NEG.	NEG.
TOTAL + / -	0 / 33	2 / 31

FIBROHIST.: Fibrohistiocitoma; **CUERNO C.:** Cuerno Cutáneo; **NEVUS PIG.:** Nevus Pigmentario; **LENTIGO S.:** Léntigo Senil; **QUISTE E.:** Quiste epidérmico; **QUISTE M.:** Quiste Mixoide; **HIDROCIST.:** Hidrocistoma.

Ninguno de nuestros pacientes del grupo control presentó anticuerpos anti-DNA. Solo en dos casos de pacientes con cancer de piel presentaron anticuerpos anticitoplasmas.

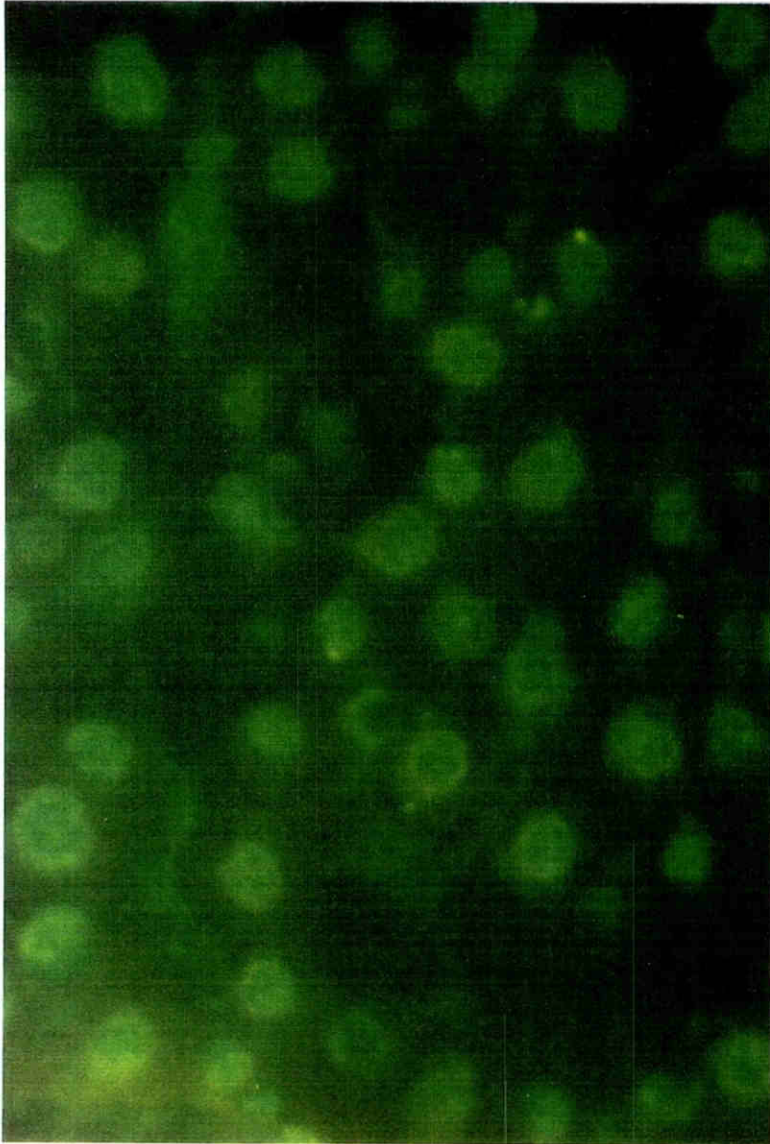
IV TABLA RESUMEN: DERMATOSIS AUTOINMUNES-AUTOANTICUEROS.

ANTICUERPOS ANTI...	LIQ	LUP	ESC	MOR	PAM	MIS
TIROIDEOS	S	S	S	N	N	N
MITOCONDRIA	N	N	N	N	N	N
MÚSCULO LISO	N	N	N	N	N	N
CEL. PARIETAL	S	N	N	N	N	N
DNA	S	S	S	S	N	S
HÍGADO RATA	N	S	N	S	N	N
ESÓFAGO MONO	S	S	S	S	N	N
ESÓFAGO RATA	S	S	S	S	N	N
HEP-2	N	S	S	N	N	N
CITOPLASMA	S	S	N	S	N	N

- ABREVIATURAS:**
- * LIQ: Liquen plano.
 - * LUP: Lupus discoide.
 - * ESC: Esclerodermia.
 - * MOR: Morfea.
 - * PAM: Penfigoide ampoloso.
 - * MIS: Miscelánea.
 - * N: Estadísticamente no significativo.
 - * S: Estadísticamente significativo.

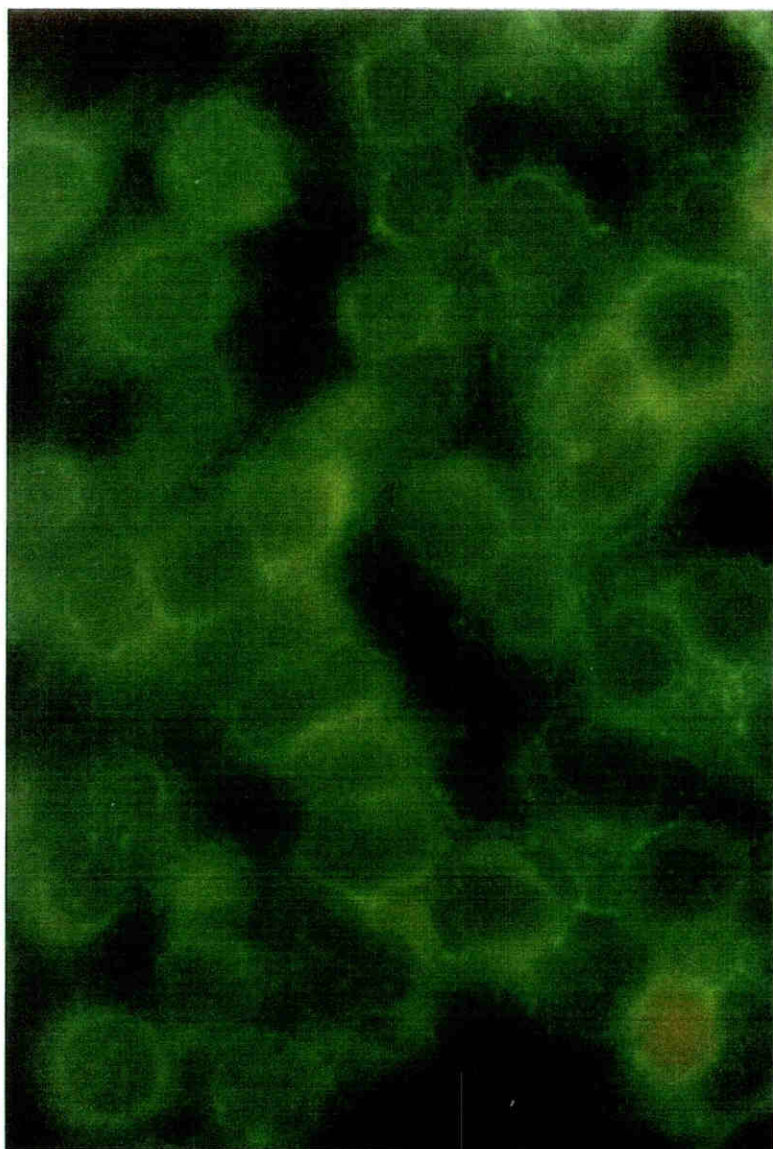
V.- ICONOGRAFIA

FIGURA 1



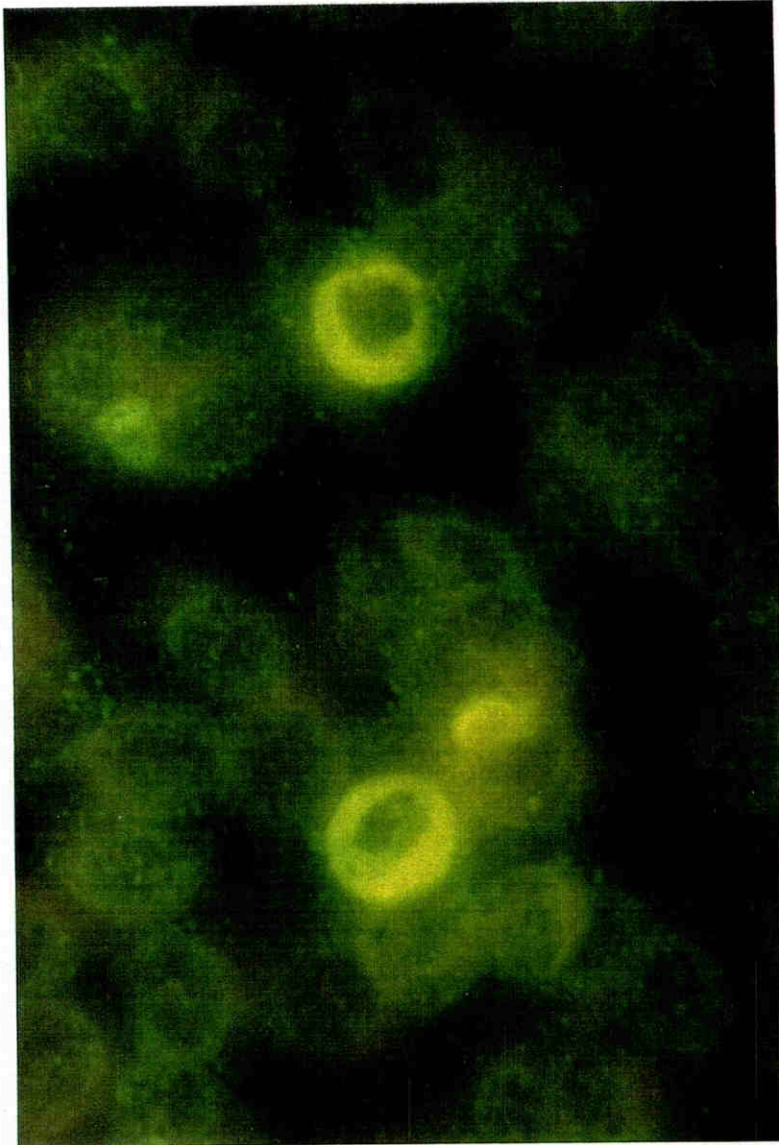
IFI empleando suero de paciente con lupus cutáneo y como substrato hígado de rata, mostrando patrón moteado.

FIGURA 2



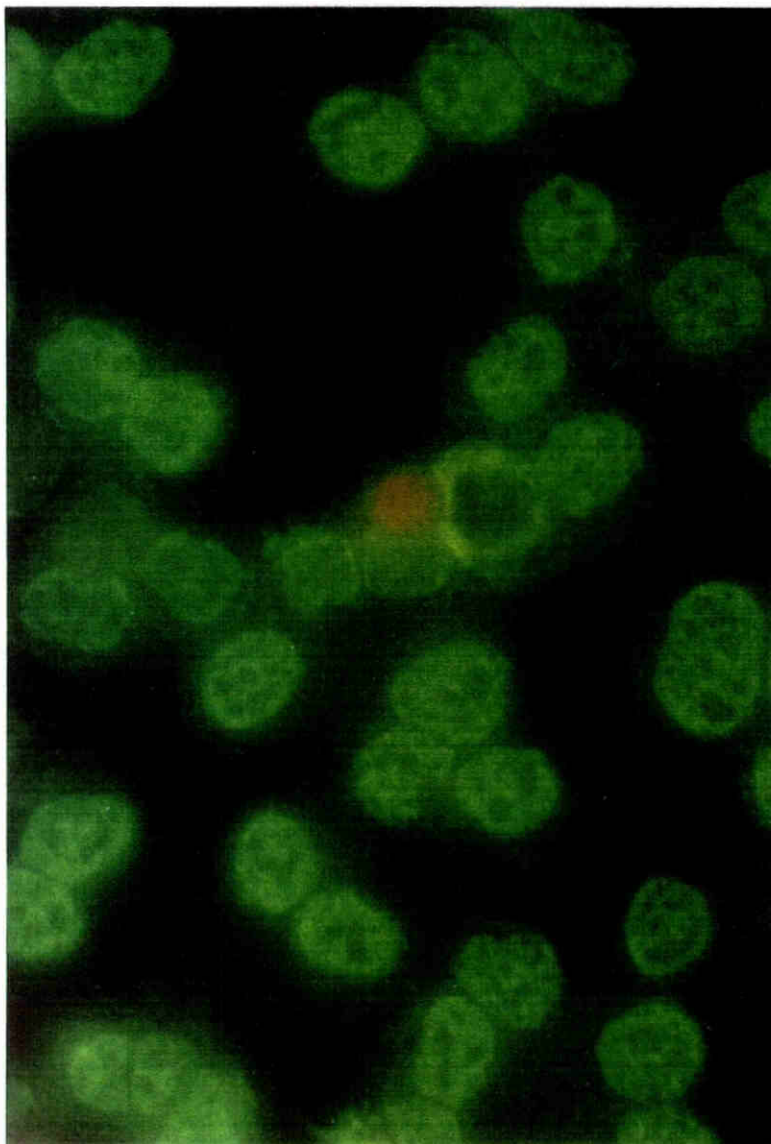
Suero de paciente con lupus cutáneo que muestra con las células HEP-2 el patrón homogéneo.

FIGURA 3



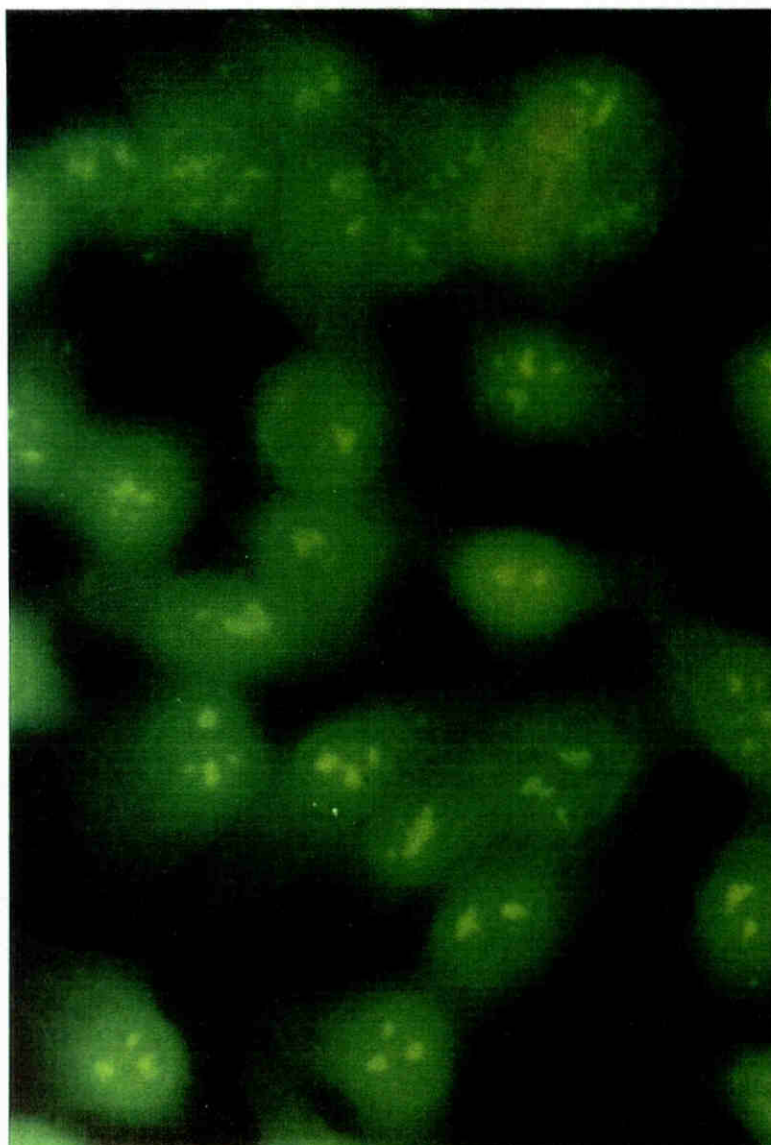
Patrón periférico en células HEP-2. Paciente con lupus cutáneo.

FIGURA 4.



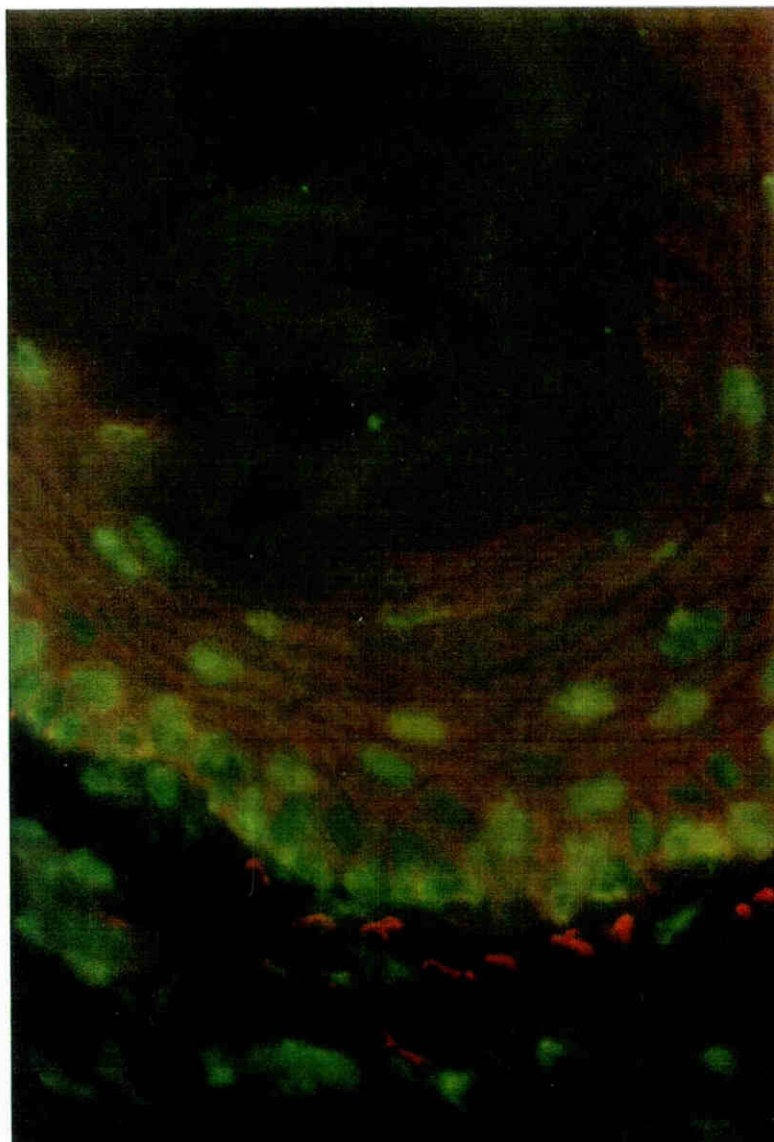
Patrón moteado característico de la esclerodermia sistémica. Substrato células HEP-2.

FIGURA 5



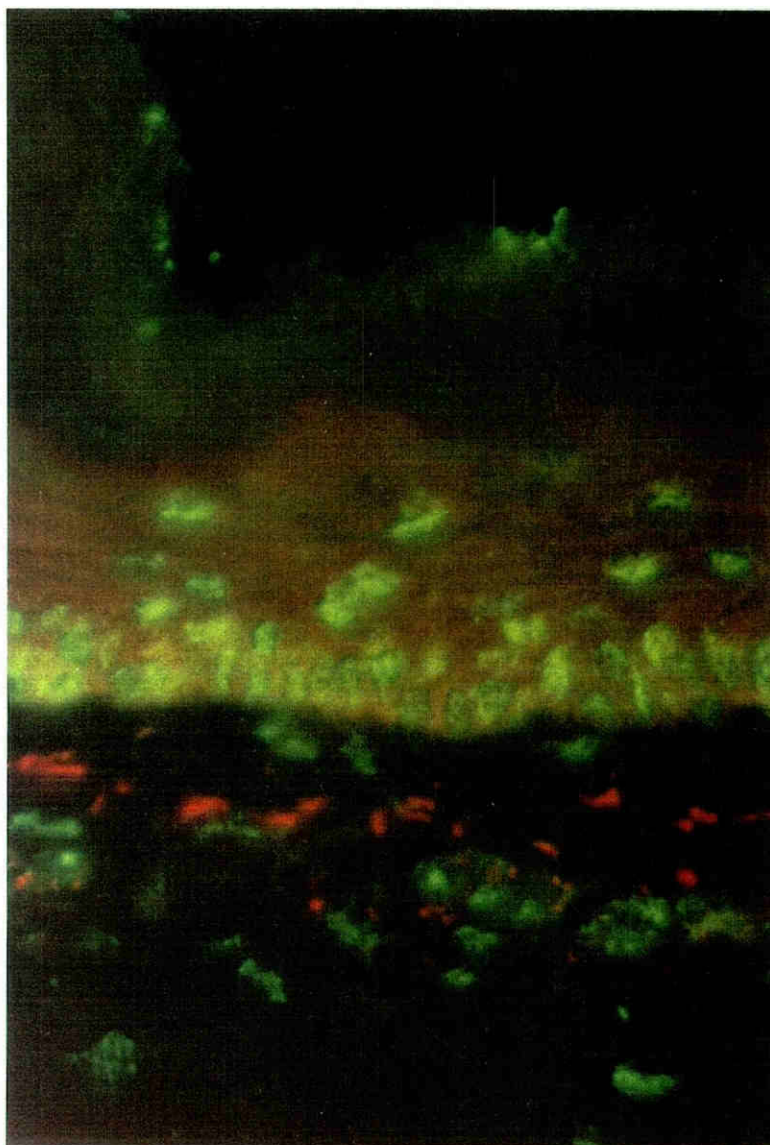
Suero de paciente con síndrome CREST. Patrón anticentrómero. Células HEP-2.

FIGURA 6



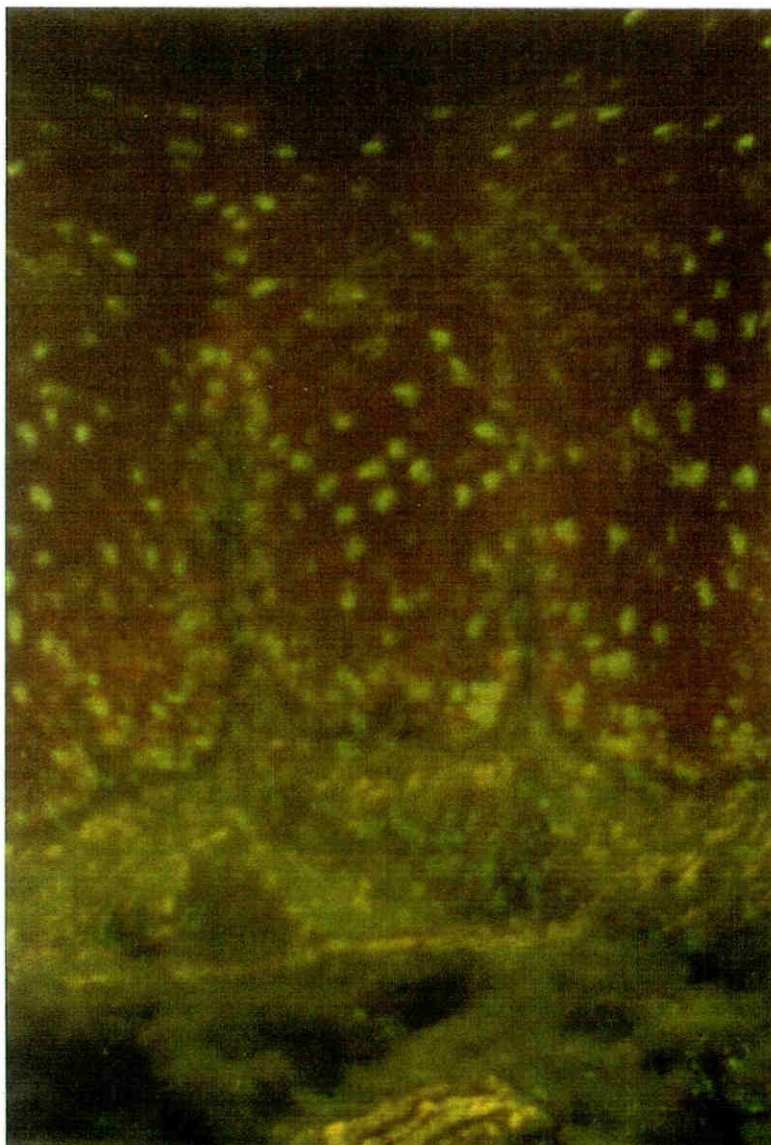
Suero de paciente con liquen plano. Observamos en el epitelio del esófago de rata una fluorescencia nuclear homogénea localizada en los núcleos de las células basales.

FIGURA 7



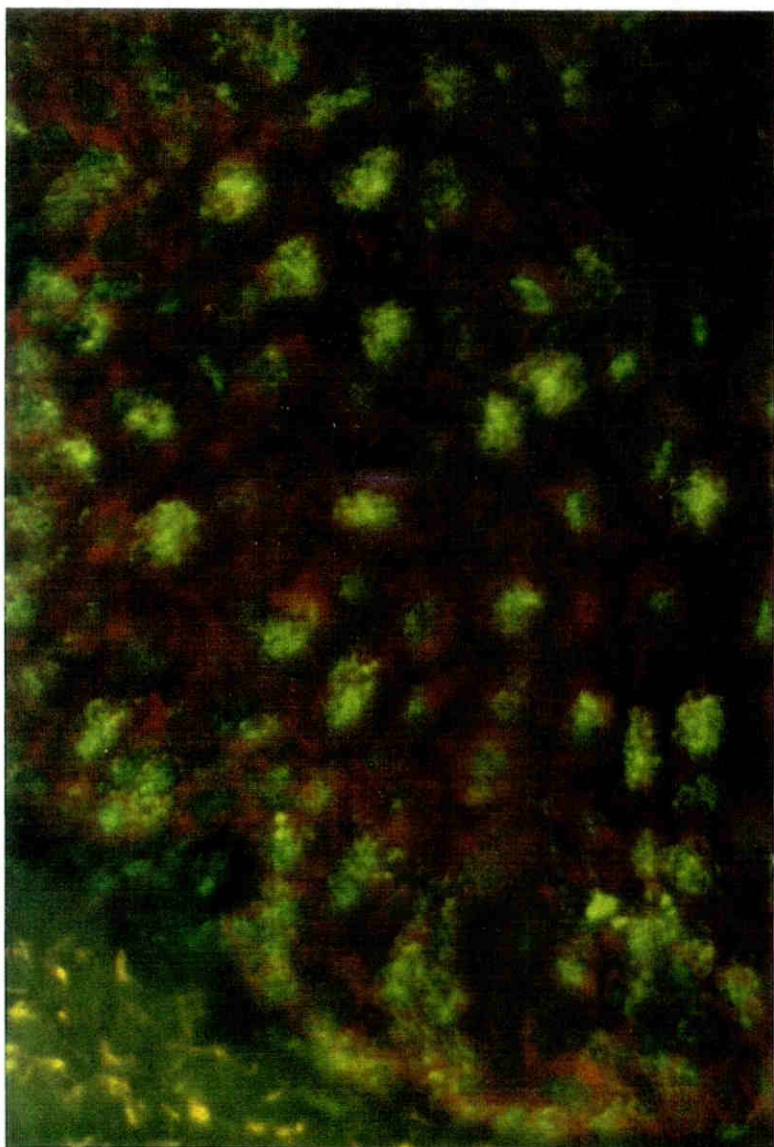
Patrón moteado observado en los núcleos de las células basales del epitelio de esófago de rata en paciente con liquen plano erosivo.

FIGURA 8



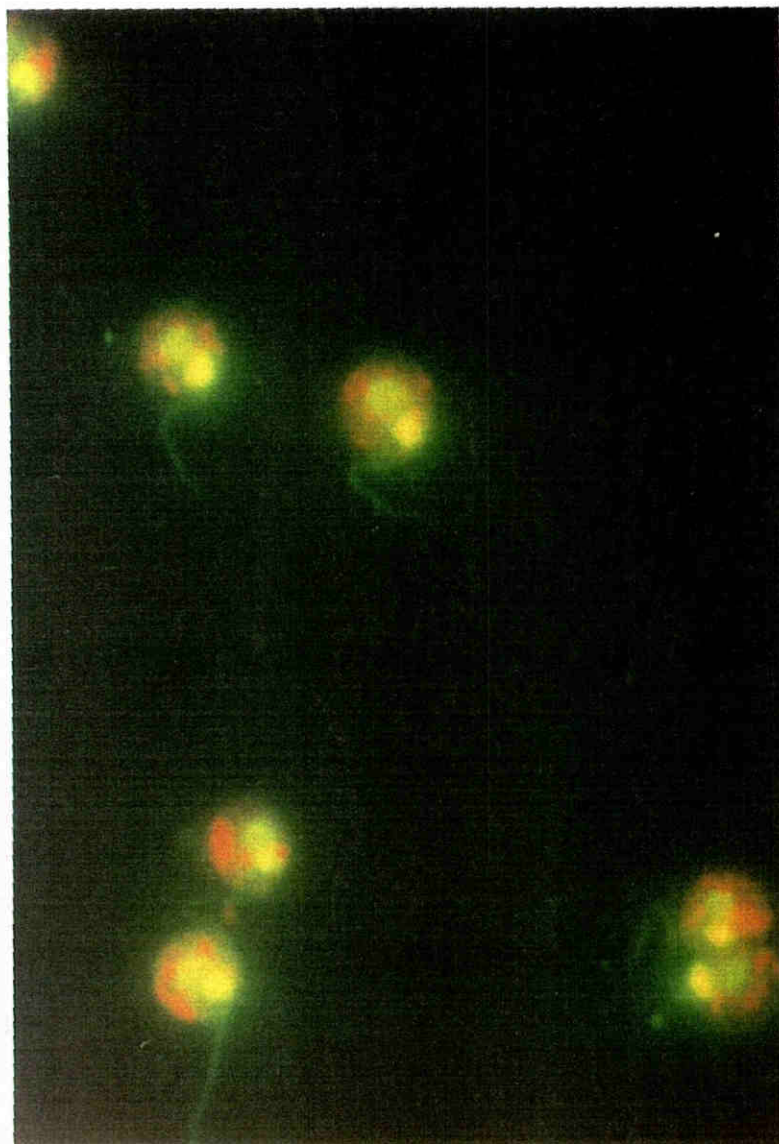
Suero de paciente con esclerodermia sistémica.
Observamos fluorescencia nuclear homogénea en todos los
estratos del epitelio de esófago de rata.

FIGURA 9



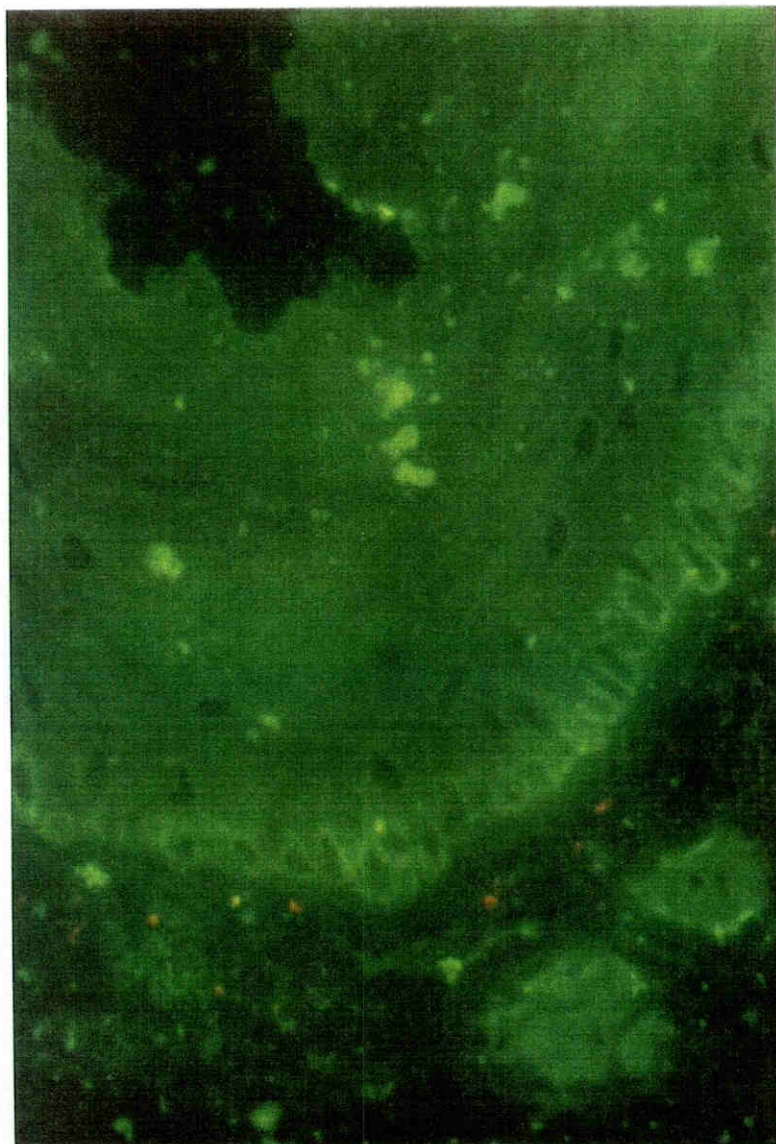
Patrón moteado con suero de paciente afecto de esclerodermia sistémica que reacciona a través de todo el epitelio del esófago de rata.

FIGURA 10



Anticuerpos anti n-DNA en paciente con lupus cutáneo.
Substrato *Crithidia Luciliae*.

FIGURA 11



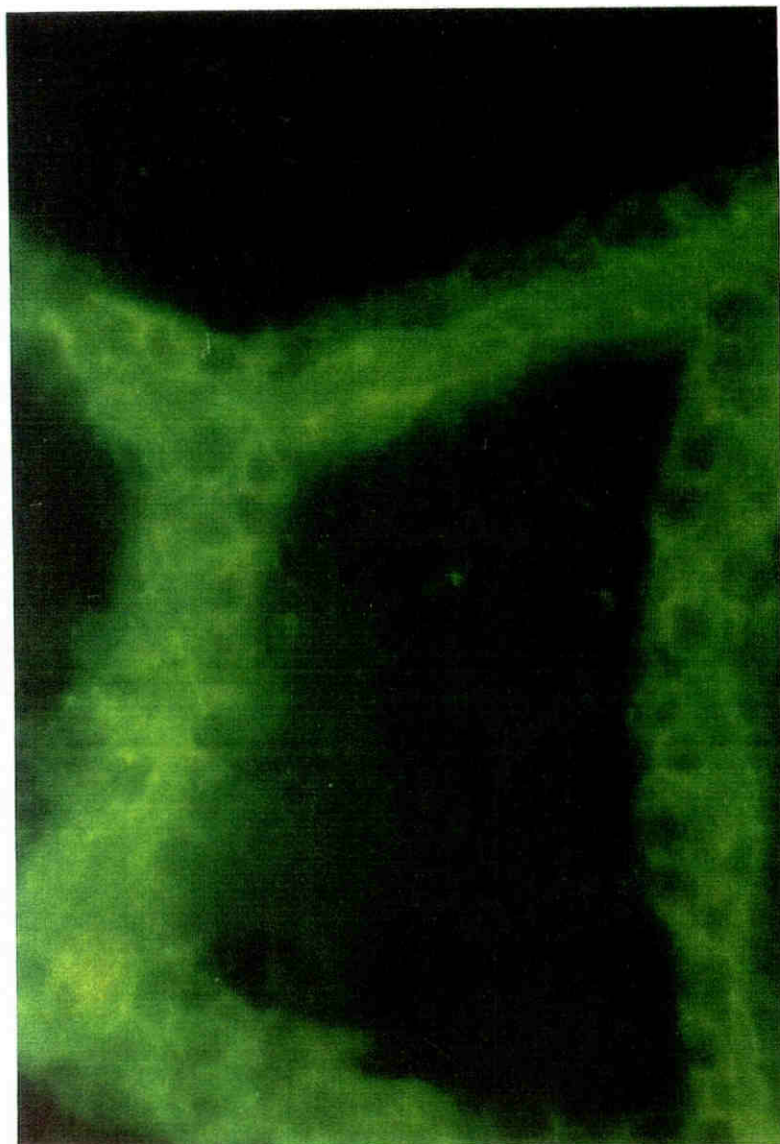
Fluorescencia citoplasmática localizada en la capa basal del epitelio de esófago de rata en paciente con liquen plano erosivo.

FIGURA 12



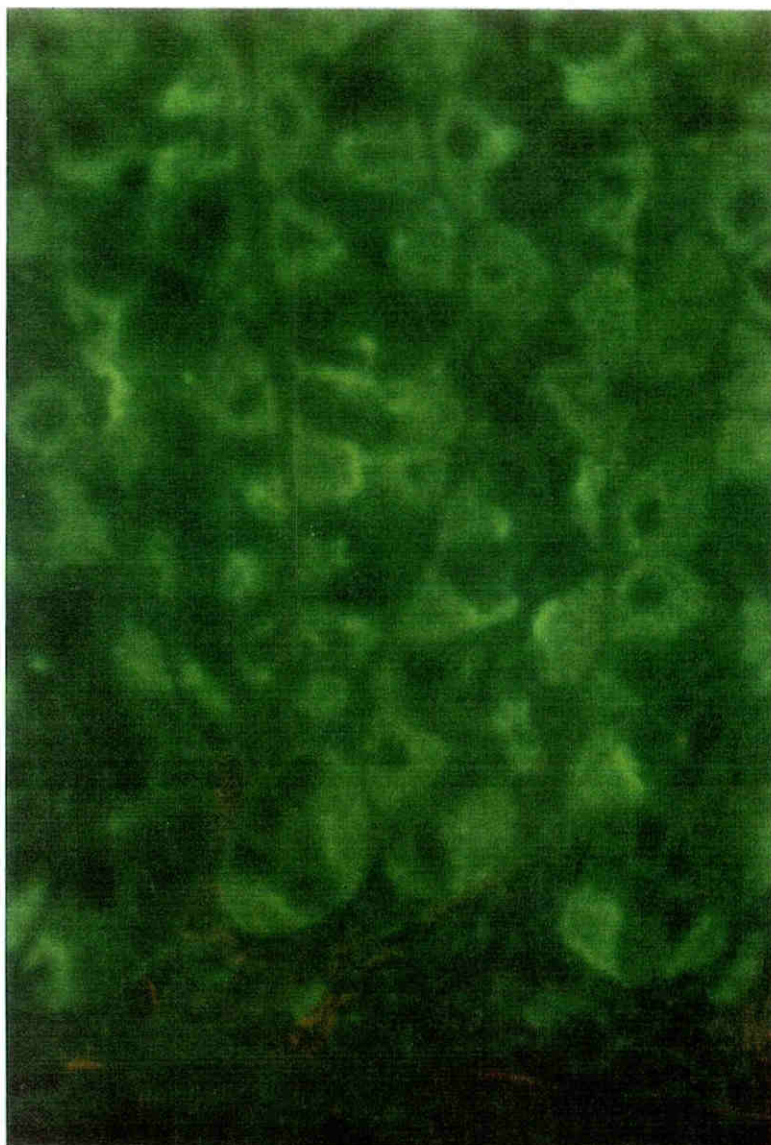
Anticuerpos antimitocondriales que originan fluorescencia granular en el citoplasma de las células de los túbulos renales. Paciente con liquen plano.

FIGURA 13



Anticuerpos antitiroideos antimicrosomales en paciente con lupus cutáneo. Observamos fluorescencia granular en el citoplasma de las células epiteliales de los folículos tiroideos.

FIGURA 14



Suero de paciente con liquen plano erosivo. Anticuerpos anti-células parietales que originan fluorescencia granular en el citoplasma de las células parietales del estómago de rata.

VI.- VALORACIÓN ESTADÍSTICA RESPECTO AL GRUPO CONTROL

PRUEBA EXACTA DE FISHER¹⁶⁵

La asociación de caracteres cualitativos por medio de la prueba exacta de FISHER se realiza en aquellas tablas de contingencia 2 x 2 que presentan una (o más) casillas con menos de cinco individuos en la distribución teórica. En estas condiciones se hace inaplicable la prueba X^2 , por lo que la prueba exacta de FISHER permite detectar la posible asociación en estos casos de tablas de escasa muestra.

Sea una tabla del tipo

a	b	F_1
c	d	F_2
C_1	C_2	n

en que n representa el tamaño de la muestra, y F_1 y F_2 los totales de filas, y C_1 y C_2 los de columnas. En estas condiciones, se demuestra que la probabilidad de que se presente la distribución a, b, c, d, de las casillas de la tabla viene dada por

$$p = \frac{F_1! F_2! C_1! C_2!}{n! a! b! c! d!}$$

Conocida esta forma de calcular la probabilidad de presentación de cada tabla, el problema se reduce a hallar la probabilidad total de que se presente la situación que se analiza, y todas las más desfavorables que ella, para ver si la hipótesis nula de proporciones iguales debe o no ser rechazada. Cuando $p < 0.05$ se rechaza la hipótesis nula y obtenemos la probabilidad con toda precisión ya que se calcula la probabilidad por medio de una prueba exacta.

I.- LUPUS DISCOIDE/GRUPO CONTROL.

1.- ANTICUERPOS ANTINUCLEARES:

HÍGADO DE RATA.	15	2	P= 0.00041
	20	31	
HEP-2.	18	2	P= 0.00003
	17	31	
E. MONO.	11	1	P= 0.0020
	24	32	
E. RATA	16	0	P= 2.763 x 10 ⁻⁶
	19	33	

2.- ANTICUERPOS ORGANOESPECÍFICOS.

ANTI-MITOCONDRIALES.	2	0	P= 0.26
	33	33	
ANTI-TIROIDEOS.	5	0	P= 0.031
	0	33	
ANTI-MÚSCULO LISO	2	0	P= 0.26
	33	33	

ANTI-CÉLULAS PARIETALES	2	1	P= 0.52
	33	32	
3.- ANTICUERPOS ANTI-DNA.	18	0	P= 3.55 x 10 ⁻⁷
	17	33	
4.- ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA.	8	2	P= 0.051
	27	31	

II.- LIQUEN PLANO.

1.- ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.

HÍGADO DE RATA.	7	2	P= 0.193
	40	31	
HEP-2	2	2	P= 0.811
	45	31	
E. MONO	13	1	P= 0.0033
	34	32	
E. RATA	19	0	P= 6.016 10 ⁻⁶
	28	33	

2.- ANTICUERPOS ORGANOESPECÍFICOS.

ANTI-MITOCONDRIALES.	3	0	P= 0.197
	44	33	
ANTI-TIROIDEOS.	7	0	P= 0.019
	40	33	
ANTI-MÚSCULO LISO.	2	0	P= 0.34
	45	33	

ANTI-CÉLULAS PARIETALES	9	1	P= 0.030
	38	32	
3.- ANTICUERPOS ANTI-DNA.	12	0	P= 0.0008
	35	33	
4.- ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA	18	2	P= 0.0007
	29	31	

III.- ESCLERODERMIA SISTÉMICA.

1.- ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.

HÍGADO DE RATA.	3	2	P= 0.057
	6	31	
HEP-2	7	2	P= 0.00004
	2	31	
E. MONO	5	1	P= 0.0008
	4	32	
E. RATA	7	0	P= 1.334 10 ⁻⁶
	2	33	

2.- ANTICUERPOS ORGANOESPECÍFICOS.

ANTI-MITOCONDRIALES	0	0	P=
	9	33	
ANTI-TIROIDEOS	2	0	P= 0.041
	7	33	
ANTI-MÚSCULO LISO	0	0	P=
	9	33	

ANTI-CÉLULAS PARIETALES	0	1	P= 0.78
	9	32	
3.- ANTICUERPOS ANTI-DNA.	6	0	P= 0.00001
	3	33	
4.- ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA	1	2	P= 0.88
	8	31	

IV. MORFEA.

1.- ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.

HÍGADO DE RATA.	6	2	P= 0.017
	12	31	

HEP-2.	2	2	P= 0.88
		16	31

E. MONO.	4	1	P= 0.04
	14	32	

E. RATA.	4	0	P= 0.012
	14	33	

2.- ANTICUERPOS ORGANOESPECÍFICO.

ANTI-MITOCONDRIALES.	0	0	P=
	18	33	

ANTI-TIROIDEOS.	2	0	P= 0.131
	16	33	

ANTI-MÚSCULO LISO.	0	0	P=
	18	33	

ANTI-CÉLULAS PARIETALES.	1	1	p= 0.88
	17	32	
3.- ANTICUERPOS ANTI-DNA.	7	0	P= 0.0002
	11	33	
4.- ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA	9	2	P= 0.0005
	9	31	

V. PENFIGOIDE AMPOLLOSO.

1.- ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.

HÍGADO DE RATA	0	2	P=
	7	31	
HEP-2	0	2	P=
	7	31	
E. MONO	0	1	P=
	7	32	
E. RATA	1	0	P= 0.17
	6	33	

2.- ANTICUERPOS ORGANOESPECÍFICO.

ANTI-MITOCONDRIALES.	0	0	P=
	7	33	
ANTI-TIROIDEOS.	0	0	P=
	7	33	
ANTI-MÚSCULO LISO.	0	0	P=
	7	33	

ANTI-CÉLULAS PARIETALES.	0	1	P=
	7	32	
3.- ANTICUERPOS ANTI-DNA.	1	0	P= 0.175
	6	33	
4.- ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA.	0	2	P=
	7	31	

VI. GRUPO MISCELÁNEA.

1.- ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.

HÍGADO DE RATA.	1	2	P= 0.73
	16	31	
HEP-2.	2	2	P= 0.89
	15	31	
E. MONO	2	1	P= 0.26
	15	32	
E. RATA.	1	0	P= 0.34
	16	33	

2.- ANTICUERPOS ORGANOESPECÍFICOS.

ANTI-MITOCONDRIALES.	2	0	P= 0.11
	15	33	
ANTI-TIROIDEOS.	1	0	P= 0.34
	16	33	
ANTI-MÚSCULO LISO.	1	0	P= 0.34
	16	33	

ANTI-CÉLULAS PARIETALES.	3	1	P= 0.10
	14	32	
3.- ANTICUERPOS ANTI-DNA.	8	0	P= 0.00004
	9	33	
4.- ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA.	1	2	P= 0.73
	16	31	

VII.- VALORACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE LOS DISTINTOS SUBGRUPOS.

I.- LUPUS DISCOIDE.

a) pacientes sin síntomas generales (29)/pacientes con síntomas generales (6).

Esófago de rata..	12	4	P= 0.24
	17	2	
Hep-2..	15	3	P= 0.5
	14	4	

b) pacientes con lupus discoide localizado (16)/pacientes con lupus discoide generalizado (13).

Esófago de rata	4	8	P= 0.053
	12	5	
Hep-2..	9	6	P= 0.43
	7	7	

c) Anticuerpos organoespecíficos. Pacientes con lupus discoide localizado sin síntomas generales/ pacientes con lupus discoide generalizado o con síntomas generales.

Antimitocondriales.	0	2	P= 0.28
	16	17	

Antitiroideos.	2	3	P= 0.58
	14	16	

Antimúsculo liso.	0	2	P= 0.27
	17	17	

Anti-parietales.	1	1	P= 0.79
	15	18	

Anticuerpos organoespecíficos (total)

	3	8	P= 0.131
	13	11	

d) Anticuerpos anti-DNA. Pacientes con lupus discoide localizado/ pacientes con lupus discoide generalizado o con síntomas generales.

	10	8	p= 0.19
	6	11	

e) Anticuerpos anticitoplasmáticos. Pacientes con lupus discoide localizado/ lupus discoide generalizado

	3	4	p= 0.6
	13	15	

II.- LIQUEN PLANO.

a) Pacientes con liquen plano no erosivo/ pacientes con liquen plano erosivo.

Esófago de rata (ANA)	4	14	P= 0.027
	14	11	

Esófago de rata (Anticitoplasma)	3	13	P= 0.018
	15	12	

b) Resultados ANA esófago de rata VS esófago de mono.

	19	13	P= 0.13
	28	34	

c) Resultados ANA esófago de rata VS Hep-2.

	19	2	P= 0.00001
	28	45	

d) Resultados ANA esófago de rata VS hígado de rata.

	19	4	p= 0.0005
	28	40	

e) Resultados ANA esófago de mono VS Hep-2.

	13	2	P= 0.0018
	34	45	

f) Resultados ANA hígado de rata Hep-2.

7	2	P= 0.07
40	45	

g) Anticuerpos organoespecíficos. Liquen plano no erosivo VS liquen plano erosivo.

Antimitocondriales	2	0	P= 0.16
	16	25	

Antitiroideos	3	4	P= 0.6
	15	21	

Antimúsculo liso	0	2	P= 0.3
	18	23	

Anticélulas parietales	1	8	P= 0.038
	17	17	

h) Anticuerpos anti-DNA. Liquen plano no erosivo/
liquen plano erosivo.

3	9	p= 0.14
15	16	

III.- MORFEA.

a) Resultados ANA pacientes con morfea en banda VS morfea localizada.

Esófago de rata	2	1	P= 0.2
	3	9	
Esófago de mono	3	0	P= 0.02
	2	10	
Hígado de rata	3	2	P= 0.16
	2	8	
Hep-2	1	0	P= 0.33
	4	10	

b) Resultados ANA pacientes con morfea localizada VS morfea generalizada.

Esófago de rata	1	1	P= 0.93
	9	3	
Esófago de mono	0	1	P= 0.23
	10	2	
Hígado de rata	2	1	P= 0.89
	8	2	
Hep-2	0	1	P= 0.23
	10	2	

c) Anticuerpos anti-DNA.

- Pacientes con morfea localizada/ morfea generalizada.

3	1	p= 0.7
---	---	--------

7	2	
---	---	--

- Pacientes con morfea localizada/ morfea en banda.

3	2	p= 0.8
---	---	--------

7	3	
---	---	--

d) Anticuerpos anticitoplasmáticos.

- Pacientes con morfea localizada/ morfea generalizada.

4	3	p= 0.2
---	---	--------

6	1	
---	---	--

- Pacientes con morfea localizada/ morfea en banda.

4	3	p= 0.4
---	---	--------

6	2	
---	---	--

DISCUSIÓN

I.- NECESIDAD DEL TRABAJO.

La afectación de la piel es un hallazgo frecuente en las distintas enfermedades en las que pueden detectarse autoanticuerpos circulantes contra antígenos nucleares y citoplasmáticos. Los dermatólogos, por lo tanto, a menudo debemos solicitar e interpretar los resultados de estos anticuerpos. Esto puede ser una tarea difícil debido al gran número de ANA que se han descrito y a la falta de estandarización de los resultados. Se obtienen diferentes resultados cuando el mismo suero es ensayado en distintos substratos. Mientras se sigan usando distintos substratos, el test no podrá ser estandarizado y los resultados obtenidos por los distintos laboratorios no podrán ser comparados.

Por este motivo, hemos considerado oportuno realizar en el Departamento de Dermatología del Hospital Virgen de la Macarena de Sevilla la determinación de los anticuerpos antinucleares en los distintos grupos de dermatosis autoinmunes más frecuentes, realizando la técnica de IFI con los diferentes substratos utilizados con mayor asiduidad en los diversos estudios, obteniendo así la frecuencia de aparición de ANA en estas dermatosis en cada substrato utilizado a fin de comparar nuestros resultados con los obtenidos por estos autores. Una vez puesta en

marcha la técnica de IFI, hemos estimado conveniente ampliar el estudio hacia la determinación de los anticuerpos organoespecífico en busca de posibles asociaciones con otras enfermedades autoinmunes.

II.- DISCUSIÓN RESPECTO A MATERIAL Y MÉTODOS.

I.- PACIENTES.

Hemos seleccionado aquellas dermatosis autoinmunes observadas con mayor frecuencia en las consultas de Dermatología del Hospital Virgen Macarena con el fin de obtener un número suficiente de pacientes que nos permita realizar una valoración estadística de los resultados. Estas dermatosis han sido:

a) Lupus eritematoso cutáneo.-

Debido al escaso número de pacientes con lupus intermedio y sistémico los hemos excluido de la valoración estadística final. El grupo LEC lo hemos subdividido según las manifestaciones clínicas en localizado, generalizado y con síntomas generales con el objeto de encontrar alguna manifestación serológica especial en algún subgrupo.

b) Liquen plano.-

Grupo muy numeroso en nuestras consultas y a su vez de muy interesante estudio ya que son muy recientes los hallazgos encontrados de ANA en substratos no comúnmente usados para esta

determinación (Esófago de mono y rata), así como su posible asociación a hepatopatías. Con el mismo fin anterior lo hemos subdividido también según el tipo clínico en tres grupos; liquen plano no erosivo, liquen plano ampolloso y liquen plano erosivo.

c) Esclerodermia sistémica.-

Grupo poco numeroso pero lo suficiente para realizar una valoración estadística de los resultados y comparar con:

d) Esclerodermia localizada o morfea.-

Subdividida también en sus tres formas clínicas en placas, en banda y generalizada con la misma intención de encontrar diferencias serológicas entre las distintas formas clínicas.

e) Penfigoide ampolloso.-

Hemos estimado conveniente incluir en el estudio algunas dermatosis ampollosas que a su vez se han relacionado con la existencia de ANA y otros anticuerpos organoespecíficos. El único grupo del que hemos conseguido reunir un número

suficiente de enfermos ha sido de penfigoide
ampollosa.

2.- SUBSTRATOS.

Para la determinación de los anticuerpos antinucleares hemos elegido cuatro substratos, dos de ellos utilizados frecuentemente para esta determinación, el hígado de rata y las células Hep-2²³, y los otros dos, el esófago de mono y rata, en base a que son los substratos donde se ha detectado la existencia de ANA en pacientes con liquen plano^{88,89,90}, por lo que lo hemos usado en todos los grupos a fin de investigar si son también buenos substratos para estas dermatosis, y poder así comparar también entre ellos.

Una vez montada la técnica y decidido ampliar el estudio a los anticuerpos organoespecíficos, hemos usado el tiroides de mono para la determinación de los anticuerpos antitiroideos, si bien pueden determinarse por otros métodos, como hemaglutinación pasiva¹⁶⁶, del que no disponemos en nuestro Departamento. Riñón de rata para la determinación de los anti-mitocondriales, aunque no lo hemos usado para la determinación de los ANA debido a su baja sensibilidad en estas dermatosis, al igual que el estómago de rata y, por último, el estómago de rata para la determinación de los anticuerpos anti-músculo liso y anticélulas parietales.

III.- ANTICUERPOS ANTINUCLEARES.

A.- LUPUS DISCOIDE.

Los resultados positivos en los pacientes con lupus eritematoso cutáneo han sido de 51.7% con las Hep-2, 45.1% con esófago de rata, 31.4% con esófago de mono y el 42% con hígado de rata. Suponen el mismo resultado que en otros trabajos, resumidos en el artículo de SONTHEIMER²³, donde se señala a las células Hep-2 como el mejor substrato para la determinación de los anticuerpos antinucleares. Sin embargo, no hemos encontrado otros trabajos que consideren el esófago de rata y de mono como substrato para la determinación de ANA en el lupus discoide.

Con las células Hep-2, encontramos una frecuencia del 51.7%, superior a la observada por SHANK y DONIACH en 1963⁶¹, que encontraron un 40% usando hígado de rata, porcentaje similar al nuestro en el hígado de rata (42%)

PRYTOWSKY²¹ usando como substrato células KB observó un porcentaje de ANA del 30%, aunque su grupo de enfermos estaba constituido por pacientes seleccionados sin ninguna evidencia clínica ni historia de artritis, artralgiás, pleuritis, pericarditis, psicosis, anemia, fiebre prolongada, enfermedad renal o Fenómeno de RAYNAUD. Para el autor, la prevalencia de anticuerpos antinucleares en los pacientes con LEC estaba influenciada por la selección

de los pacientes y la sensibilidad de test. Además, en un trabajo anterior del autor, usando como substrato riñón de rata, encontró solo un 4% de ANA en este grupo de pacientes.

En nuestro estudio, de los 35 pacientes con lupus discoide, 29 carecen de síntomas generales, y solo 6 tenían RAYNAUD, perniosis y otros. Por otra parte, 13 eran lupus cutáneo generalizados y 22 lupus cutáneo localizados. En los resultados, no observamos diferencia estadísticamente significativa entre el grupo con síntomas generales o sin ellos. Puede deberse a que hemos usado como substrato las células Hep-2, que son más sensibles que las BK, con lo que haya aumentado el porcentaje de los lupus discoide sin síntomas generales positivos, disminuyendo así la diferencia entre los dos grupos. Con el esófago de rata la diferencia casi es estadísticamente significativa ($p = 0.05$) entre el grupo con lupus discoide localizado y generalizado.

Respecto al título de ANA, el 17% presentaba un título superior o igual a 1/160. Suponen 6 pacientes de los cuales 5 presentan un título de 1/160 y uno solo 1/320. En el trabajo de PRYTOWSKY²¹, el 4% presentaban un título superior o igual a 1/160, diferencia que relacionamos igualmente con la sensibilidad del substrato ya que nuestros enfermos con síntomas generales han presentado unos títulos inferiores a 1/160 (dos de ellos 1/40 y uno

1/80), por lo que no debe atribuirse a la presencia de enfermos con afectación sistémica.

Los patrones encontrados son los siguientes: 22.85% con patrón periférico, 20% con patrón homogéneo y 8.57% con patrón moteado. En el estudio de PRYTOWSKY^{21,63} observaron el patrón moteado en 17 de 68 pacientes (20%) y el homogéneo en tres (4.41%). No observaron ni el periférico ni el nucleolar usando como substrato las células BK. CALLEN¹⁶⁷ no demostró un patrón o título específico, ni tampoco correlación entre los patrones y títulos con la presencia de otros anticuerpos (como el n-DNA), usando como substratos HeLA, Hep-2, hígado de rata y ratón, y *Crithidia Luciliae* para el n-DNA.

B.- LIQUEN PLANO.

La frecuencia observada de ANA en pacientes con LP se encuentra claramente en relación al substrato empleado. Las células Hep-2 y el hígado de rata presentaron una frecuencia del 4.25% y 14.89% respectivamente, no siendo estadísticamente significativo respecto a los controles sanos. Clásicamente se ha considerado al LP como una afección sin ANA. Los trabajos de SHUTTLEWORTH⁷⁹ y POTTS¹⁶⁸ refieren la ausencia de ANA y anticuerpos organoespecíficos en mayor proporción que el grupo control. Estos estudios de ANA fueron realizados usando como substrato hígado de rata; además, más de la mitad de los pacientes presentaban

LP con afectación exclusivamente cutánea. En nuestro estudio, sólo el 6.38% presentan afección cutánea, mientras el 93.61% tenían afectación de mucosas por lo que las muestras también son distintas. El mejor substrato encontrado, de acuerdo con otros autores^{87,88,89,90} es el esófago de rata seguido por el esófago de mono, con una frecuencia del 40.42% y el 27.65% respectivamente, siendo estadísticamente significativo comparado con los controles sanos. Entre estos autores destaca el trabajo de A. PARODI y cols.⁸⁸, donde se describió la existencia de ANA con patrón moteado en 2 pacientes con liquen erosivo de mucosas usando como substrato esófago de mono con títulos de 1/5120 y 1/10240. También los sueros fueron positivos para el esófago de ternero, piel humana normal, labio de rata y cultivo de queratinocitos humanos. Sin embargo, es negativo para las Hep-2, BK e hígado de rata, igual que en nuestro estudio. Concluye su trabajo comentando la presencia de estos anticuerpos contra antígenos que están presentes en células epiteliales de varias especies de mamíferos. Aunque su patrón sea moteado no es una RNP pues no se detectan por Contra-Inmuno-Electroforesis. Tampoco puede ser reconocido como una nucleoproteína soluble o una histona de acuerdo con TAN et al⁸⁸ ya que su patrón es moteado y no homogéneo. También las ribonucleoproteínas solubles (SNP) se encuentran en las células del hígado y esto no ocurre en estos casos.

Los trabajos de JAREMKO⁸⁹ y BEUTNER⁹⁰ hacen referencia a 4 y 10 casos respectivamente de estomatitis crónica ulcerosa, donde encontraron ANA usando como substrato esófago de mono (1/2560-1/5120) y de cobaya, encontrando en este último títulos superiores, concretamente 1/10240. Estos anticuerpos se disponen en los núcleos de las células basales del epitelio dispuestos en patrón moteado. Hemos encontrado esta disposición en nuestro estudio, pero no hallamos los títulos tan elevados. Estos autores tampoco encontraron positividad con las HEP-2 y con el hígado de rata (negativos o positividad insignificantes). Otros autores⁸⁷ han demostrado la existencia de anticuerpos anticélulas basales en el 54% de los pacientes con liquen plano oral usando como substrato esófago de rata después de demostrar su superioridad frente al esófago de mono y mucosa oral y piel humana normal. Todos los títulos encontrados eran menores de 1/80. En los 40 casos de liquen erosivo, el 40% presentó el patrón membranoso, el 10% citoplasmático y el 3% nuclear sin especificar con que patrón. En las formas no erosivas, el 35% de los casos presentaron el patrón membranoso, el 17% el patrón citoplasmático y ninguna de las formas no erosivas presentaron patrón nuclear. No hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos.

En nuestro estudio no hemos encontrado anticuerpos antimembrana citoplasmática, o no los hemos sabido diferenciar de los anticuerpo anti-citoplasmáticos. El

trabajo no muestra iconografía de los patrones. Refiere en el texto que los anticuerpos se disponen también en la capa basal de la epidermis.

El 56% de nuestros pacientes con liquen plano erosivo presentan ANA usando como substrato esófago de rata; por el contrario, sólo en el 21.05% de los pacientes con liquen planos se observa ANA positivo, encontrando una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos. También, respecto a los anticuerpos anticitoplasmáticos, encontramos diferencia significativa entre los dos grupos, con un 52% de casos positivos en el grupo de pacientes con liquen erosivos y un 15.78% de casos positivos en los pacientes con liquen plano no erosivo.

Todos los títulos de anticuerpos anticélulas basales estudiados por LIN⁸⁷ eran menores de 1/80. La mayoría de los títulos encontrados en nuestro trabajo son de 1/80 aunque en algunos casos aparecen también de 1/320, 1/160, 1/640, sin llegar a los títulos tan elevados de los otros autores. Nos preguntamos si estaremos ante enfermedades distintas con síntomas clínicos semejantes, o si estaban en fases más agudas las de estos autores, o bien si existía una mayor sensibilidad de su técnica debido a los distintos factores ya comentados anteriormente que pueden influir en la técnica de IFI.

En cuanto a los patrones, en el esófago de rata hemos encontrado el patrón moteado en el 47.3%, obteniendo la misma proporción para el homogéneo, y un sólo caso el periférico. Los trabajos de PARODI⁸⁸, JAREMKO⁸⁹, y BEUTNE⁹⁰ describieron el patrón moteado como el más característico en sus pacientes, si bien no indicaban con precisión que patrón aparece en cada paciente. El trabajo de LIN⁸⁸ no indicaba qué patrón de antinuclear aparece, por lo que entendemos que es homogéneo.

C.- MORFEA.

La frecuencia observada de ANA en pacientes con morfea es del 33.3% para el hígado de rata, que es el substrato donde hemos encontrado un mayor número de casos positivos. Le siguen en frecuencia el esófago de mono y rata con un 22.2% de casos positivos y, por último, las Hep-2 con un 11.11% de positividades. Sin embargo, comparando los resultados obtenidos en el hígado y esófago de rata mediante la prueba exacta de FISHER, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los dos substratos. Nuestros resultados contrastan con los obtenidos por FALANGA¹³² que encontró un 18% de positividades para el riñón de ratón y un 50% usando células Hep-2. Estas diferencias por una parte se explican por la mayor sensibilidad para la determinación de los ANA del hígado de rata que el riñón de ratón. Sin embargo, no encontramos explicación al escaso porcentaje de ANA

encontrado en las células Hep-2; puede ser debido al escaso número de la muestra (18 pacientes) y que nueve casos sean de la forma localizada. Ninguno de los casos estudiados por FALANGA presentaban fenómeno de Raynaud, esclerodactilia, ni hallazgos clínicos de lupus discoide o sistémico, que pudieran contribuir a la positividad de los ANA. También en otro trabajo realizado en nuestro Departamento¹⁶⁹. sólo se encuentra en un caso de 15 con ANA positivo para las células Hep-2. Según el tipo clínico, encontramos diferencia estadísticamente significativa para el esófago de mono entre los resultados obtenidos para las morfea en banda y localizada. Otros autores¹³⁷ han encontrado también una proporción superior al 40% de pacientes con morfea lineal y ANA positivos.

El patrón más frecuentemente encontrado, coincidiendo con FALANGA, es el homogéneo. También hemos encontrado un caso de nucleolar y uno de periférico. FALANGA describió también el nucleolar y el moteado, del que no tenemos ningún caso.

Títulos. Los títulos encontrados, al igual que el autor, son bajos, y sin relación con la actividad de la enfermedad.

D.- ESCLERODERMIA SISTÉMICA.

El porcentaje de ANA encontrados en nuestro estudio es algo inferior (77.7%) a lo obtenido por TAN¹⁸ (98%) usando como substrato células Hep-2, pero coincidimos con este autor en la influencia del substrato utilizado no sólo para la positividad y el patrón, sino también respecto al título hallado, ya que nos hemos sorprendido al determinar el mismo número de positividades para el esófago de rata pero con títulos muy superiores a los obtenidos con las células Hep-2. De la misma manera, hemos obtenido títulos muy elevados usando el esófago de mono, aunque en un porcentaje menor de positividades (55.5%). El substrato menos sensible encontrado es el hígado de rata donde hemos obtenido sólo un 22.2% de positividades. Hasta la actualidad, no hemos encontrado ningún trabajo en el que se use el esófago de rata y mono como substrato para la determinación de ANA en la esclerodermia, por lo que podemos afirmar que "es el primer estudio en este sentido y lo proponemos como substrato de elección" junto a las Hep-2, por los patrones obtenidos en este substrato, para la determinación de los ANA en la esclerodermia, mejor que el hígado o riñón de rata. Con el hígado de rata, no existe diferencia estadísticamente significativa respecto a los controles sanos ($p=0.057$). La proporción es similar a la obtenida por otros autores^{24,54} usando las Hep-2. También observamos el patrón moteado usando el esófago de rata. En el trabajo de TAN¹⁸, las máximas diluciones encontradas

fueron de 1/160. Con el esófago de rata, los mismos pacientes son positivos pero a mayores diluciones, excepto el paciente que presenta anticuerpos anticentrómero que es negativo tanto para el esófago de mono como para el de rata, por lo que coincidimos con TAN en que para el anticuerpo anticentrómero el mejor substrato para su determinación son las células Hep-2.

Con las Hep-2 encontramos otros patrones, dos periféricos, dos homogéneos y uno moteado. Con el esófago de mono se comprobaron cuatro moteados y uno homogéneo, también a títulos superiores aunque en un porcentaje menor (55.55%) siendo estadísticamente significativo. En el esófago de rata, hemos observado el patrón homogéneo en tres casos y el moteado en otros tres. El patrón anticentrómero positivo a 1/80 en las Hep-2 en nuestro único caso de síndrome CREST, no lo fue para el esófago de rata ni de mono, por lo que no podemos saber si dicho patrón se detecta en estos substratos, ya que no disponemos de más pacientes con CREST. Concluimos, igual que TAN, en la gran diversidad de ANA encontrados en la ESP respecto a la diversidad de patrones y títulos según el substrato empleado.

E.- PENFIGOIDE AMPOLLOSO.

De acuerdo con la literatura revisada¹⁵⁷, no hemos detectado una diferencia significativa respecto al grupo

control de ANA. De hecho, en nuestro reducido grupo de 7 casos, sólo uno ha presentado un título de 1/40 para el esófago de rata. En los restantes sutratos todos los casos han sido negativos.

IV.- ANTICUERPOS ANTI-n-DNA.

El 51.7% de los pacientes con lupus cutáneo presentan anticuerpos n-DNA positivos usando como substrato *Crithidia Luciliae*. Los títulos encontrados son de 1/40 en el 42.85% y de 1/80 en el 8.57%, no superando en ningún caso un título de 1/80. Todos los controles sanos han dado negativos para el n-DNA, por lo que la diferencia se considera estadísticamente significativa. Los tres casos que presentan 1/80 corresponden a lupus localizados por lo que no hemos encontrado correlación entre los títulos y la intensidad y extensión de la afección y/o la aparición de síntomas generales. Los porcentajes observados por otros autores varían desde el 0% encontrado por PRYTOWSKY, mediante el método de GINSBERG y KEISER¹⁷⁰ con millipore filter assay, al 27% de SYLVESTER⁶⁴ y DAVIS¹⁷¹ usando la técnica de FARR de radioinmunoanálisis. Nuestro porcentaje es claramente superior a los observados por estos autores, pudiendo deberse a las diferentes técnicas usadas para determinar los anti-DNA. En un trabajo realizado por BURDASH¹⁷², comparando la técnica de FARR y la IFI con *Crithidia Luciliae*, encontró al primero más sensible y a la *Crithidia* más específico y también más económico. En este trabajo cita a otros autores que cuestionan la absoluta especificidad del test de IFI^{173,166}. Examinando suero de 4431 pacientes para la determinación rutinaria de n-DNA, SWAAK¹⁷⁴ encontró 66 pacientes sin LES que eran positivos para *C. Luciliae*, de los que 42 eran negativos

para la técnica de FARR; sin embargo, en el mismo estudio comprobó un alto grado de especificidad en grupos seleccionados de pacientes con un diagnóstico conocido. Hallazgos similares encontraron NILSSON y BIBERFELD¹⁶⁹. Parece que la especificidad del test puede variar con el número de pacientes y con el criterio usado en su selección. Al ser la técnica más específica y seleccionados pacientes con lupus discoide, comprobamos un porcentaje mayor en nuestro grupo que los encontrados por DAVIS y SYLVESTER. La proporción demostrada es similar a la encontrada en otras conectivopatías como en la esclerodermia que aparece en el 66% de nuestros pacientes a bajos títulos, porcentaje similar a lo observado por otros autores²⁹.

En el grupo de pacientes con LP, los anti-n-DNA aparecen en el 25% de los pacientes, siendo positivos en el 36% de los pacientes con LP erosivo y en el 15% de los pacientes con LP no erosivo, por lo que la diferencia entre ellos no fue estadísticamente significativa.

No hemos encontrado referencias bibliográficas de series de pacientes con LP en los que se haya realizado la determinación de los anticuerpos anti-DNA, sólo en ocasiones casos aislados asociados a otras enfermedades autoinmunes como el lupus sistémico⁹⁷. Hemos encontrado una diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control, si bien los títulos encontrados son bajos, al

igual que los otros grupos estudiados. En los pacientes con Morfea hemos detectado una frecuencia de anti-DNA en el 38.8% de los pacientes a títulos de 1/40 al igual que los grupos anteriores. Otros autores¹³² han detectado un 50% para los ss-DNA, y con más frecuencia en aquellos con enfermedad activa y en los casos de morfea lineal y generalizada. Nosotros no hemos encontrado relación con el tipo clínico, ni con el grado de afección, si bien nuestra serie es muy limitada.

En nuestro grupo de pacientes con penfigoide ampuloso no hemos encontrado ninguna positividad para los anticuerpos anti-DNA, por el contrario, en el heterogéneo grupo de pacientes miscelánea encontramos a los anti-DNA en el 47% de los casos, siendo en este último grupo, estadísticamente significativo respecto al grupo control. Se deduce que en las enfermedades inflamatorias dermatológicas hay una base de autoinmunidad subyacente que se refleja en esta débil positividad para los anticuerpos anti-DNA, que no parece existir en las dermatosis ampollosas, si bien este último punto debiera ser demostrado con un grupo más amplio de pacientes con dermatosis ampollosas.

V.- ANTICUERPOS ORGANOESPECÍFICOS.

1.- ANTICUERPOS ANTITIROIDEOS. ANTIMICROSOMALES.

Lupus discoide. Encontramos valores positivos en 5 enfermos, tres varones y dos mujeres, de los 35 pacientes con Lupus discoide (14.28%), lo que comparado con los controles sanos (0%) presenta una diferencia estadísticamente significativa. Estos resultados están de acuerdo a los obtenidos por ANDERSON y cols.¹⁷⁴ y SHANK y DONIACH⁶¹ en pacientes con lupus discoide; sin embargo difiere de ANDERSON y cols.¹⁷⁴ en el estudio de la población normal, pues encontraron un 13% de positividades usando fijación de complemento y un 17% con hemaglutinación. La prevalencia de anticuerpos antitiroideos en la población sana aún no ha sido establecida en nuestro país, aunque estudios en otras poblaciones han mostrado la presencia de anticuerpos antitiroideos en un 5.3 a un 6.7 % de la población sana¹⁷⁵.

Respecto al sexo, SHANK y DONIACH⁶¹ los encontraron con más frecuencia en mujeres, hecho que no hemos podido constatar en nuestra casuística y que atribuimos a lo reducido de la muestra y al escaso número de pacientes positivos. Sin embargo, respecto al lupus sistémico (21%), VIANNA¹⁷⁶ encontró una proporción similar a los controles (16%) sin hallar diferencia estadísticamente significativa en los antimicrosomales. El método usado para determinarlos

fue hemaglutinación pasiva. Si encontró diferencia significativa en los anticuerpos antitiroglobulinas con 11% en los LES y 2% en los controles, anticuerpo que en nuestro estudio ha resultado negativo en todos los casos de lupus discoide. Puede ser un punto más para considerar los lupus discoides y los sistémicos como dos enfermedades distintas. Los relaciona también con la edad adulta, encontrando una media de 47.5 años en los pacientes con LES con ATA positivo y 37.5 años con ATA negativos. En nuestra casuística de lupus discoide no observamos esta diferencia, ya que en las dos poblaciones encontramos una media de 44.6 y 44 años respectivamente.

Liquen plano. La proporción de anticuerpos antimicrosomales obtenida en el LP es del 14.89% con una diferencia estadísticamente significativa respecto a controles. No hemos encontrado diferencia estadísticamente significativa respecto al porcentaje en pacientes con liquen plano no erosivo y pacientes con liquen plano erosivos. SHUTTLEWORTH⁷⁹ obtuvo un 12.96% sin comprobar diferencias estadísticamente significativa respecto a los controles. Utilizó un método distinto al realizado en nuestro estudio que, junto al hecho de recoger una muestra distinta con más LP de piel y menos de mucosa oral y erosivos, puede justificar la diferencia de resultados. GRANDE⁹⁷ describió un caso de Liquen ulceroso plantar con modificaciones serológicas específicos de cirrosis biliar primaria y tiroiditis autoinmune con altos títulos de

anticuerpos antimicrosomales, aunque no dice a que títulos. El carácter erosivo del liquen sería debido a una particular agresividad del proceso y podría significar un mayor riesgo de patología autoinmune.

Respecto a los anticuerpos antitiroglobulinas, no encontramos ningún caso positivo. SHUTTLEWORTH halló un 3.7% de casos positivos, sin diferencia significativa respecto a los controles, al igual que en nuestro estudio.

Esclerodermia sistémica. En el grupo de pacientes con esclerodermia sistémica hemos encontrado también una diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control. La literatura apoya nuestros datos, ya que se han encontrado asociaciones con enfermedades tiroideas autoinmunes en alrededor del 50% de los pacientes con esclerodermia sistémica^{122.123}.

Morfea. Solo hemos encontrado dos casos positivos de 18 pacientes, por lo que la diferencia no es estadísticamente significativa respecto al grupo control. Por el contrario, en un estudio de HARRINGTON¹³³ realizado en 50 pacientes con morfea y en 50 controles sanos demostraron anticuerpos antitiroideos en 7 pacientes con morfea y en un caso de los controles, por lo que la diferencia fue estadísticamente significativa. El trabajo no menciona que técnica usaron para su determinación, ni si eran antimicrosomales o antitiroglobulinas. La

diferencia entre los dos estudios puede ser debida a que nuestra muestra es más reducida o nuestra técnica menos sensible que la realizada por HARRINGTON.

Penfigoide ampolloso. En el grupo de pacientes con penfigoide ampolloso no hemos encontrado ningún caso con anticuerpos antitiroideos positivos. Sin embargo, algunos autores han encontrado casos aislados de penfigoide ampolloso asociado a tiroiditis de HASHIMOTO junto con otras alteraciones autoinmunes como neutropenia, alopecia areata y artritis reumatoide^{153,155}.

Grupo miscelánea. Sólo hemos detectado un caso de anticuerpos antitiroideos en un paciente con alopecia areata. El resto de los casos son negativos y no existe diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control.

2.- ANTICUERPOS ANTICÉLULAS PARIETALES.

Lupus Discoide. Aparecen en el 5.71% de los pacientes con lupus discoide no existiendo diferencia significativa respecto a lo observado en los controles (3%). Nuestro porcentaje, tanto en los controles como en los pacientes, es inferior al de SHANK y DONIACH⁶¹, que los observaron en el 13% en los pacientes y en el 11% en los controles, si bien coincidimos en no encontrar diferencia estadísticamente significativa. No observamos correlación

entre los pacientes que presentan ATA positivos y células parietales positiva al contrario a lo observado por ROITT³⁵. Lo relacionamos con lo reducido de la muestra y a que son pacientes con lupus discoide y no a pacientes con enfermedades tiroideas o con anemia perniciosa.

Liquen plano. En estos pacientes aparecen en el 19.14% de nuestra serie, que, comparado con el 3% encontrado en los controles sanos, demuestra una clara diferencia estadísticamente significativa. Por el contrario, SUTTELWORTH⁷⁹, usando nuestro mismo substrato, los encontró en un 11.11% de los pacientes y en un 9.25% de los controles sin que exista diferencia estadística entre ellos. Dos de los pacientes de su grupo control y dos pacientes con liquen plano presentaban anemia perniciosa; sin embargo, ninguno de nuestros casos y controles anticélulas parietales positivos presentaron este tipo de anemia. Por otra parte, de nuestros casos de LP anticélulas parietales positivo, ocho eran liquen erosivo y uno LP no erosivo existiendo diferencia estadísticamente significativa ($p= 0.038$) entre los dos grupos. La diferencia de resultados entre los enfermos con LP de nuestro estudio y los de SHUTTLEWORTH puede deberse también a la muestra, pues ya hemos comentado que en la de SHUTTELWORTH predomina el LP cutáneo mientras que en la nuestra el liquen oral erosivo.

Esclerodermia sistémica. En el grupo de pacientes con esclerodermia sistémica no hemos encontrado ningún caso de anticuerpos anticélulas parietales positivo. Tampoco hemos encontrado bibliografía referente a esta asociación.

Morfea. Hemos encontrado un sólo caso de anticuerpos anticélulas parietales positivo, que no es estadísticamente significativo respecto al grupo control. En el trabajo de HARRINGTON¹³³ encontraron positivos en 5 de los 50 pacientes, siendo la diferencia respecto al grupo control, en el que ningún caso fue positivo, estadísticamente significativo.

Penfigoide ampollosa. Ninguno de nuestros 7 pacientes han presentado anticuerpos anticélulas parietales, si bien en la literatura se han descrito positividades asociadas a anemia perniciosa o bien a anticuerpos anticélulas plasmáticas en el 2-3% de los casos^{151,152}.

3.- ANTICUERPOS ANTIMITOCONDRIALES Y ANTIMÚSCULO LISO.

Lupus discoide. La frecuencia observada es del 5.71% de los pacientes con lupus discoide, tanto de anticuerpos antimitocondriales como de antimúsculo liso, no presentando diferencia estadísticamente significativa respecto a los controles (0%). En la literatura revisada no encontramos trabajos que relacionen estos autoanticuerpos con el lupus discoide.

Liquen plano. Solo 3 (6.38%) pacientes, dos con LP no erosivo y otro con LP ampolloso, presentan anticuerpos antimitocondriales. Ninguno con Liquen erosivo. No existe diferencia significativa respecto a los controles sanos (0%) ni entre ellos (LP y LP ampolloso). Comparado con los datos bibliográficos, coincidimos con SHUTTLEWORTH⁷⁹ que tampoco encontró diferencia estadísticamente significativa respecto a los controles, ya que sólo un paciente y sólo un control fueron positivos. Ninguno de los pacientes con antimitocondriales positivos presentaron signos clínicos ni analíticos de cirrosis biliar primaria. En la literatura revisada encontramos un caso clínico estudiado por GRANDE⁹⁷ de un enfermo con liquen ulceroso plantar que no presentaba manifestaciones clínicas, ni enzimáticas hepáticas, en el que se demostraron anticuerpos antimitocondriales positivos. DONAGH¹⁷⁷, en una serie de 30 pacientes con LP, solo encontró un enfermo con AMA (IFI usando riñón de rata) sin evidencia clínica o bioquímica de alteración hepática. Estos estudios no estaban proyectados para demostrar un aumento en la incidencia de LP en grupos de pacientes con determinadas enfermedades autoinmunes, como la cirrosis biliar primaria, y puede ser que en estos casos las alteraciones específicas de la función inmune fueran importantes en el desarrollo de ambas afecciones como ocurre también en la enfermedad injerto contra huésped. GRAHAM-BROWN¹⁰¹ describió 5 pacientes con LP y cirrosis biliar primaria, con AMA a títulos de 1/649, apoyándose en estos hallazgos la teoría de una patogenia común con la

reacción injerto contra huésped y de la asociación entre las tres afecciones. Probablemente, la patogénesis del LP idiopático, que supone el tipo clínico en la gran mayoría de los pacientes de las consultas de Dermatología, sea distinta a estos casos.

Los anticuerpos antimúsculo liso aparecen en el 4.25% de los pacientes con LP y en ningún caso de los controles, no existiendo diferencia estadísticamente significativa. SHUTTLEWORTH⁷⁹ los encontró en el 11.11% de los pacientes y en el 9.25% de los controles sin que hallan detectado hepatitis crónica activa en ninguno de los grupos. Si bien los porcentajes observados son superiores a nuestros casos, usando el mismo substrato, coincidimos en la inexistencia de diferencia estadística respecto a los controles. No refieren con que títulos se considera positivo ni cuales fueron los títulos obtenidos.

La hepatitis crónica activa junto con la hepatitis relacionada con los virus B y C son causa frecuente de enfermedad hepática crónica asociada al LP. La hepatitis crónica activa¹⁰³ es una entidad heterogénea clínico-patológica, en la que se distinguen al menos cuatro subgrupos diferentes. En tres de ellos existen pruebas de autoinmunidad y los autoanticuerpos han ayudado a definir diferentes autoantígenos: histonas-DNA, Ag de membrana hepática y Ag músculo liso o actina [hepatitis crónica activa autoinmune tipo 1 o lupoide], LKM1 en la hepatitis

crónica activa autoinmune o tipo 2; y Ag protéico soluble hepático en el tipo 3. Además, se ha identificado una hepatitis crónica activa postviral, que puede seguir a muchas infecciones víricas.

La distinción, sin embargo, entre ellas, está lejos de ser absoluta. En realidad, los virus pueden iniciar enfermedades autoinmunes y la hepatitis crónica activa se ha sospechado que sea secundaria a anticuerpos dirigidos contra Ag del huésped, como en el caso del nuevo autoanticuerpo anti-GOR. La enfermedad hepática crónica asociada al LP podría ser una reacción autoinmune mediada por células frente a una gran variedad de antígenos, entre los cuales el virus de la hepatitis B podría desempeñar un papel importante, y la mayoría de los pacientes con LP la enfermedad hepática sería una hepatopatía crónica autoinmune postviral resultante fundamentalmente de la infección por el VHC.

Esclerodermia sistémica. Los anticuerpos antimúsculo liso no son estadísticamente significativos en los pacientes con esclerodermia sistémica. Respecto a los antimitocondriales, en ninguno de nuestros 9 casos hemos detectado títulos positivos. La literatura refleja una asociación de un 4% ¹¹⁸ de pacientes con síndrome CREST y cirrosis biliar primaria. Debido a lo reducido de la muestra, no podemos considerar nuestros resultados. Existen otros casos descritos de asociación de cirrosis biliar

primaria y esclerodermia sistémica^{119,120,121} siendo formas moderadas de esclerodermias rara vez progresivas. La similitud entre las hipótesis etiopatogénicas de la cirrosis biliar primaria y la enfermedad injerto contra huésped, en la que es frecuente la aparición de síndromes esclerodermiformes, pueden explicar esta asociación: EPSTEIN y cols.¹⁷⁸ establecieron una hipótesis etiopatogénica de la cirrosis biliar primaria basándose en la similitud clínica, histológica e inmunológica existente entre esta entidad y la enfermedad injerto contra el huésped crónica. En esta última, se produce una respuesta inmune frente a los antígenos tisulares del receptor, inicialmente dirigida contra los antígenos de histocompatibilidad, muy abundantes en las células epiteliales ductales del árbol biliar. En la cirrosis biliar primaria, la respuesta inmune se explicaría a partir de una alteración en la antigenicidad de esos elementos secundaria a una infección viral, por una respuesta cruzada a antígenos bacterianos o virales o por un fallo en su reconocimiento por los linfocitos T. Estos mismos autores indican que la cirrosis biliar primaria podría representar una verdadera enfermedad del injerto contra el huésped, resultado del paso trasplacentario de linfocitos maternos al feto. La persistencia de esos linfocitos se debería a la inducción de la tolerancia inmunológica intrauterina o a un fallo del reconocimiento de sus linfocitos maternos como extraños por parte de los mecanismos fetales inmaduros. La mediación de la lesión hepática por los

linfocitos citotóxicos sensibilizados, tanto en el rechazo crónico en el trasplante hepático como en la enfermedad injerto contra huésped crónica, está acorde con la hipótesis de que sean estas células las responsables de la lesión ductal en la cirrosis biliar primaria.

Morfea. Ningún paciente con morfea ha presentado títulos positivos para los anticuerpos antimitocondriales y antimúsculo liso. Algunos autores^{134,135} han descrito casos de asociaciones de morfea con la cirrosis biliar primaria, lo que argumenta, como hemos comentado en la esclerodermia, la similitud patogénica entre ambas afecciones. Por otra parte, FALANGA¹³³ en su trabajo anteriormente comentado, encontró tres casos de anticuerpos antimúsculo liso en los cincuenta pacientes estudiados, número que no es estadísticamente significativo respecto al grupo control.

Penfigoide Ampoloso. Respecto a nuestro reducido grupo de pacientes con Penfigoide ampoloso tampoco hemos detectado ninguna positividad para los antimitocondriales y los antimúsculo liso. Algunos autores han presentado casos de asociación del PA a la cirrosis biliar primaria^{153,156}; sin embargo, en un estudio realizado en 108 enfermos y 108 controles se detectaron enfermedades autoinmunes en 24 de los 108 pacientes (20%), no encontrando diferencias significativas entre ambos grupos ya que aparece un porcentaje similar de enfermedades autoinmunes en el grupo control, por otro lado similar en

edad y sexo¹⁵⁷. Tampoco encontraron un determinado haplotipo HLA, por lo que el PA no presenta las características típicas de una enfermedad autoinmune.

VI.- ANTICUERPOS ANTICITOPLASMÁTICOS.

El 38.29% de los pacientes con liquen plano presentan anticuerpos anticitoplasmáticos, con una diferencia estadísticamente significativa de los resultados obtenidos en pacientes con LP no erosivo (16%) y los pacientes con LP erosivo (52%). De los 3 pacientes con LP ampolloso, uno presenta anticuerpos anticitoplasmáticos, pero es una muestra muy reducida para valorarlo.

Los anticuerpos anticitoplasmáticos observados en el 6% en nuestro estudio, aparecen, según BYSTRYN⁹², en el 17% de las personas sanas, en el 21% de pacientes con varias dermatosis, aunque el autor no especifica cuales son estas dermatosis, y en el 32% de los pacientes con tumores malignos, de ellos 27% con MM. En este estudio, que usa como substrato piel humana normal, la iconografía muestra fluorescencia citoplasmática en varias hileras celulares del epitelio. En nuestros casos sólo fluoresce la capa basal. La especificidad por los antígenos citoplasmáticos distinguen estos anticuerpos de aquellos que reaccionan contra otros componentes de la epidermis humana, como en el pénfigo, penfigoide o anticuerpos antinucleares. La especificidad por las células epidérmicas diferencia los anticuerpos anticitoplas-máticos de los anticuerpos que reaccionan contra componentes citoplasmáticos de otros tejidos, como las células parietales de la mucosa gástrica,

y los anticuerpos antimitocondriales de riñón en la cirrosis biliar primaria.

También el estudio realizado por CASTELL⁹³, encontró fluorescencia citoplasmática en 3 de 9 enfermos con liquen plano, usando como substrato piel autóloga lesional y sana. Comentan la posible existencia a nivel de la epidermis de un complejo antígeno-anticuerpo que sólo aparece con el uso de determinados conjugados IgG e IgA, aunque podría tratarse simplemente de una impregnación de anticuerpos por parte de las células de la epidermis. El autor concluye el trabajo comentando los datos aportados por la inmunofluorescencia directa e indirecta en el LP, encontrándolos totalmente inespecíficos y limitan las posibilidades de utilización de esta técnica para el diagnóstico diferencial, conclusión con la que estamos totalmente en desacuerdo en lo que respecta a la IFI.

También se ha demostrado la existencia de anticuerpos anticitoplasmáticos en el 88% (15 de 17) de pacientes con la enfermedad injerto contra huésped⁹¹, que tiene muchas similitudes con el liquen plano, así como con la morfea en la que en nuestro trabajo encontramos el mayor porcentaje (50%) de los casos y en la esclerodermia sistémica en la que aparecen en el 11.11% de los casos. Ya hemos comentado, hablando de los anticuerpos antimitocondriales, las similitudes entre estas afecciones y su posible patogenia, similar a la enfermedad injerto contra huésped. El autor

realiza también la determinación de los anticuerpos anticitoplasmáticos en 16 pacientes con penfigoide ampuloso, 6 pacientes con lupus discoide y 13 pacientes con pénfigo vulgar, no encontrando ningún caso positivo. En nuestra casuística, los detectamos en ocho pacientes con lupus discoide, y, al igual que el autor, no encontramos ningún caso positivo en pacientes con pénfigo ni con penfigoide ampuloso. En la iconografía, puede apreciarse como reacciona con la capa de células basales usando como substrato esófago de conejo. Los títulos obtenidos en la EICH son de 1/10 a 1/1300. En el grupo de 23 pacientes con liquen plano solo 3 tenían un título de 1/10. La diferencia con respecto a la EICH fue estadísticamente significativa. No especifican si estos 23 pacientes con LP son LP de piel sin afectación de mucosa o LP no erosivos. En nuestro estudio, la mayoría de los enfermos presentan LP erosivo de mucosa y existe, como hemos comentado, diferencia estadísticamente significativa con los no erosivos. En este caso, los resultados pueden extrapolarse a los de nuestro estudio comparándolo solo con los pacientes con LP no erosivos. Los títulos obtenidos en todos nuestros grupos de pacientes son de 1/80 en la mayoría de los casos.

Otros autores¹⁰ consideran que la tinción citoplasmática de las células basales es un artefacto que aparece en sueros a bajas diluciones y ocurre con mayor frecuencia en reacciones alérgicas a drogas, después de quemaduras extensas y receptores de trasplantes de médula

ósea. Aquí hay que señalar que existe una clara contradicción al aparecer con mayor frecuencia en determinadas afecciones, precisamente por ello, otros autores indican que no puede ser considerado "tan artefacto". SAURAT⁹¹ opina que estos anticuerpos aparecen en relación con el daño crónico a la piel en sujetos con enfermedades del sistema inmune, lo cual estimularía la producción de numerosos anticuerpos. Su estudio no aporta ninguna evidencia del papel de los anticuerpos anticitoplasmáticos como los causantes del daño al epitelio, pues los títulos no se correlacionan con la extensión de las lesiones en la piel, pueden desaparecer aunque persistan los elementos y no se detectan por IFD. Por lo tanto, los anticuerpos anticitoplasmáticos son más una consecuencia del trasplante de médula ósea, que la causa del daño a la piel, pero no lo considera un artefacto.

Resumiendo, la amplia distribución de los anticuerpos citoplasmáticos epidérmicos sugiere que pueden resultar de la liberación de antígenos epidérmicos citoplasmáticos normales por diversos tipos de traumatismos a la piel. Como en la mayoría de los autoanticuerpos, el significado patogénico de los anticitoplasmáticos está aún por determinar, interpretándose más como un fenómeno secundario que como la causa inicial de la enfermedad.

CONCLUSIONES

- 1.- Usando como sustrato las líneas celulares HEP-2, se ha encontrado una frecuencia de ANA del 51.7% en pacientes con lupus cutáneo (lupus tipo I), lo que estadísticamente es significativo respecto al grupo control.
- 2.- Los restantes sustratos, esófago de rata (45.1%), hígado de rata (42.8%) y esófago de mono (31.3%), son también válidos para esta determinación, pues presentan diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control.
- 3.- La presencia de ANA en pacientes con liquen plano depende del sustrato empleado.
- 4.- Empleando como sustrato esófago de rata la frecuencia de ANA en pacientes con liquen plano es del 40.42%, resultado estadísticamente significativo respecto al grupo control.
- 5.- Cuando se utiliza esófago de mono, la frecuencia de ANA en liquen plano es del 27.65%, lo que también es significativo.
- 6.- Las células HEP-2 y el hígado de rata no son sustratos válidos para la determinación de ANA en

pacientes con liquen plano, pues los resultados no son estadísticamente significativos respecto al grupo control.

- 7.- Usando como substrato hígado de rata, la frecuencia de ANA en pacientes con morfea es del 33.3%, mientras que con esófago de rata y de mono es del 22.2%. Los tres substratos presentan resultados estadísticamente significativos respecto al grupo control.
- 8.- Con las líneas celulares HEP-2, el grupo de pacientes con morfea no ofrece una frecuencia de ANA estadísticamente diferente al grupo control.
- 9.- En la esclerodermia sistémica, con las células HEP-2 y el esófago de rata, el porcentaje de ANA es del 77.7% y con esófago de mono del 55.5%; los tres resultados son estadísticamente significativos.
- 10.- El hígado de rata no es un substrato adecuado para la determinación de ANA en la esclerodermia sistémica, pues los resultados no son estadísticamente significativos.
- 11.- Los títulos y patrones de ANA en pacientes con esclerodermia sistémica son dependientes del substrato empleado para su determinación.

- 12.- Los títulos más elevados de ANA en esclerodermia sistémica se obtienen con esófago de rata.
- 13.- Las líneas celulares HEP-2 son el mejor sustrato para identificar los distintos patrones de ANA en pacientes con esclerodermia sistémica.
- 14.- Los pacientes con penfigoide ampolloso no presentan ANA con ninguno de los cuatro sustratos utilizados para su determinación.
- 15.- El grupo de pacientes miscelánea tampoco presentan ANA con diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control.
- 16.- Los anticuerpos anti-DNA se presentan a bajos títulos en pacientes con lupus cutáneo (51.4%), liquen plano (25.5%), esclerodermia sistémica (66.6%), morfea (38.8%), y en el grupo miscelánea (47%); no obstante, son estadísticamente significativos respecto al grupo control.
- 17.- El penfigoide ampolloso no presenta anticuerpos anti-DNA.
- 18.- Los anticuerpos antitiroideos antimicrosomales son estadísticamente significativos en el lupus cutáneo

(14.28%), el liquen plano (14.89%) y en la esclerodermia sistémica (22.22%).

- 19.- Los pacientes con morfea, penfigoide ampolloso y los del grupo miscelánea no presentan anticuerpos antitiroideos antimicrosomales.
- 20.- Los anticuerpos antitiroideos antitiroglobulinas no se relacionan con ninguno de los grupos estudiados.
- 21.- Los anticuerpos anticélulas parietales se presentan de forma estadísticamente significativa en pacientes con liquen plano (19.14%).
- 22.- En el lupus cutáneo, esclerodermia sistémica, morfea y penfigoide ampolloso, no se detectan anticuerpos anticélulas parietales.
- 23.- De igual forma, en ninguno de los grupos estudiados se detectan anticuerpos antimitocondriales, ni antimúsculo liso.
- 24.- Los anticuerpos anticitoplasmáticos se comprueban de forma significativa en el lupus cutáneo (22%), liquen plano (38.2%) y morfea (50%).

- 25.- En la esclerodermia sistémica, penfigoide ampolloso y grupo miscelánea, no se observan anticuerpos anticitoplasmáticos.
- 26.- No hemos comprobado relación entre la presencia de ANA, anti-DNA, anticuerpos anticitoplasmáticos o anticuerpos organoespecíficos, y el tipo clínico de lupus cutáneo.
- 27.- Los pacientes con liquen plano erosivo tienen mayor frecuencia de ANA, anti-células parietales y anticitoplasmáticos que los pacientes con liquen plano no erosivo.
- 28.- Respecto a los restantes anticuerpos organoespecíficos y anti-DNA, no hay diferencia estadísticamente significativa entre los resultados obtenidos en el liquen erosivo y en las formas no erosivas.
- 29.- Cuando hemos usado como substrato esófago de mono, detectamos una mayor incidencia de ANA en pacientes con morfea en banda que en pacientes con morfea en placas, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

30.- En las morfeas, no hemos comprobado esta diferencia para los restantes ANA, anti-DNA, anticuerpos organoespecíficos y citoplasmáticos.

31.- Para finalizar, señalamos que los mejores substratos para la determinación de los ANA en Dermatología son el esófago de rata y las células HEP-2 y, que las enfermedades tiroideas autoinmunes y la anemia perniciosa, son las patologías cuyos marcadores aparecen con mayor frecuencia en los grupos de dermatosis estudiados.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- WICK, G., BAUDNER, S., HERZOG, F.: Fundamentals of immunofluorescence. In Immunofluorescence. Die Medizinische Verlagsgesellschaft mbH. Germany: 13-18; 1978
- 2.- HAITINGER, M.: Fluoreszenz Mikroskopie: Ihre Anwendung in der Histologie und Chemie. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft. 1:2 ;1938.
- 3.- LANGERON, M.: Précis de Microscopie. Masson Ed. Paris. p.1340; 1949.
- 4.- SAMS, W.M.: Pénfigo y penfigoide. Técnicas. En: FRY, L. y SEAH, P.P. Inmunología de las enfermedades de la piel. Ed.Jims: 1-8; 1977.
- 5.- COONS, A.H.: Fluorescent antibodies as Histochemical tools. Fed. Proc., 10:588; 1951.
- 6.- COONS, A.H., KAPLAN, M.H.: Localisation of antigen in tissue cells. J. Exp. M., 91: 1; 1950.
- 7.- RIGGS, J.L., SEIWALD, R.I., BURKHALTER, J.H. DOWNS, S.M. METCALF, T.G.: Isothiocyanate compounds as fluorescent labelig agents for immune serum. Am. J. Path., 34: 1081; 1958.
- 8.- WOOD, G.W., THOMPSON, S.H., GOLDSTEIN, G.: Fluorescent antibody staining: III. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. J. Immunol. 95: 225-227; 1965.
- 9.- BEUTNER, E.H., SEPULVEDA, M.R., BARNET, E.V.: Quantitative studies of immunofluorescent staining. Bull. Org. Mond. Sante, 39: 587-589; 1968.
- 10.- JENKINS, R.E., BHOGAL, B.S., WILLSTEED, E., BLACK, M.M.: Artefacts in immunofluorescence microscopy: a potential source of diagnostic confusion. J. Europ. Acad. Dermatol. Venereol. 1: 171-177; 1992.
- 11.- HARGRAVES, M.M., RICHMOND, H., MORTON, R.: Presentation of two bone marrow elements: The "tart" cell and the "LE" cell. Mayo Clin. Proc., 23: 25-28; 1948.
- 12.- HASERIC, J.R., SUNDBERG, R.D.: The bone marrow as a diagnostic aid in acute disseminate lupus erythematosus. J. Invest. Dermatol. 11: 209-213; 1948.
- 13.- HASERIC, J.R., BORTZ, D.W.: Normal bone marrow inclusion phenomena induced by lupus erythematosus plasma. J. Invest. Dermatol. 23: 47-49; 1949.

- 14.- FRIOU, G.J.: Clinical application of lupus serum nucleoprotein reaction using fluorescent antibody technique. *J. Clin. Invest.* 36: 890; 1957.
- 15.- BARDAWIL, W.A., TOY, B.L., GALINS, B.A., BAYLES, T.B.: Disseminate lupus erythematosus, scleroderma, and dermatomyositis as manifestations of sensitization to DNA-protein: An immunohistochemical approach. *Am. J. Pathol.* 34: 607-629; 1958.
- 16.- BECK, J.S.: Variations in the morphological patterns of autoimmune nuclear fluorescence. *Lancet.* 1: 1203-1205; 1961.
- 17.- BURHAM, T.K.: Antinuclear antibodies. A simplified classification of the nuclear immunofluorescence patterns. *Arch. Dermatol.* 114: 1343-1344; 1978.
- 18.- TAN, E.M., RODNAN, G.P., GARCIA, I., MORI, Y., FRITZLER, M.J., PEEBLES, C.: Diversity of nuclear antibodies in progressive systemic sclerosis. Anticentromere antibodies and its relationship to CREST Syndrome. *Arthritis Rheum.* 23: 617-625; 1980
- 19.- LORINK, L.L., SOLTANI, K., BERNSTEIN, J.E.: Antinuclear antibodies. *Int. J. Dermatol.* 20: 401-410; 1981.
- 20.- MADDISON, P.J., PROVAST, T.T., REICHLIN, M.: Serological findings in patients with ANA negative systemic lupus erythematosus. *Medicine.* 60: 87-94; 1984.
- 21.- PRYSTOWSKY, S.D., GILLIAM, N.J.: Antinuclear antibody studies in chronic cutaneous discoid lupus erythematosus. *Arch. Dermatol.* 113: 183-186; 1977.
- 22.- HAHON, N., ECKER, H.L., STEWART, J.: Evaluation of cellular substrates for antinuclear antibody determinations. *J. Clin. Microbiol.* 2:42-45; 1975.
- 23.- SONTHEIMER, R.D., DENG, J.S., GILLIAM J.N.: Antinuclear and anticytoplasmatic antibodies. *J. Am. Acad. Dermatol.* 9: 335-343; 1983.
- 24.- HARMON, C.E.: Antinuclear antibodies in autoimmune diseases. Significance and pathogenicity. *Medical Clinics of North America.* 69: 547-561; 1985.
- 25.- KOFFLER, D. MILLER, T.E., FAIFERMAN, I.: Antipolynucleotide antibodies: The rheumatic connection. *Hum. Pathol.* 14: 406-418; 1983.
- 26.- GOODWIN, J.S., SEARLES, R.P., TUNG, K.S.K.: Immunological responses of healthy elderly population. *Clin. Exp. Immunol.* 48: 403-410; 1982.

- 27.- HARMON, C.E., PORTANOVA, J.P.: Drug induced lupus: Clinical and serological studies. *Clin. Rheum. Dis.* 8: 121-135; 1982.
- 28.- GINSBERG, B., KEISER, H.: A millipore filter assay for antibodies to native DNA in sera of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 16: 199-207; 1973.
- 29.- KURATA, N., TAN, E.M.: Identification of antibodies to nuclear acidic antigens by counterimmuno-electrophoresis. *Arthritis Rheum.* 19: 574-580; 1983.
- 30.- SPARKS, K., BALLOU, M.: The indirect ELISA for quantitation of specific antibody: Analysis of antibody dilution curves. *Diagnostic Immunol.* 1: 269-275, 1983.
- 31.- TAN, E.M.: Relationship of nuclear staining patterns with precipitating antibodies in systemic lupus erythematosus. *J. Lab. Clin. Med.* 70: 800-812; 1967.
- 32.- HOWARD, J.G.: Immunological tolerance. In *Defense and Recognition. Vol 22- Cellular Aspects*. Lenox E.S. (eds.) Baltimore: University Park Press. 1979.
- 33.- NOSSAL, G.J.V.: Cellular mechanisms of immunological tolerance. *Annual Review of Immunology.* 1:33; 1983.
- 34.- HOWARD, J., MALE, D.: Tolerancia inmunológica. En: ROITT, I.M., BROSTOFF, J., MALE, D.K., (eds.), *Immunology*. London. Gower Medical Publishing. 12.11-12.12; 1991.
- 35.- ROITT, I.M.: Autoinmunidad y enfermedad autoinmune. En: ROITT, I.M., BROSTOFF, J., MALE, D.K. (eds.), *Immunology*. London. Gower Medical Publishing. 23.2-23.12; 1991
- 36.- MCGREGOR, A.M.: *Immunology of endocrine diseases*. Lancaster MTP Press. 1986.
- 37.- MORROW, J. and ISENBERG, H.H.: *Autoimmune Rheumatic Disease*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1987.
- 38.- NORRIS, D.A.: Pathomechanism of photosensitive Lupus Erythematosus. *J. Invest. Dermatol.* 100: 58s-68s; 1993.
- 39.- CANNON, E.F., CURTIS, A.C.: A survey of lupus erythematosus in the University of Michigan Hospital since 1948. *Arch. Dermatol.* 78: 196-199; 1948.
- 40.- SCOTT, A., REES, E.G.: The relationship of systemic lupus erythematosus and discoid lupus erythematosus. *Arch. Dermatol.* 79: 422-435; 1959.
- 41.- MILLARD, L.G., ROWELL, N.R.: Abnormal laboratory test results and their relationship to prognosis in discoid lupus erythematosus. *Arch. Dermatol.* 115: 1055-1058, 1979.

- 42.- ROWELL, N.R.: Laboratory abnormalities in the diagnosis and management of lupus erythematosus. *Br. J. Dermatol.* 84: 210-216; 1971.
- 43.- CALLEN J.P.: Chronic cutaneous lupus erythematosus. *Arch. Dermatol.* 118: 412-416; 1982.
- 44.- TUFFENALLI, D.L.: Cutaneous immunopathology: recent observations. *J. Invest. Dermatol.* 65: 143-153; 1975.
- 45.- BURCH, P.R.J., ROWEL, N.R.: Systemic lupus erythematosus. *Am. J. Med.* 38: 793-801; 1965.
- 46.- ROTHIELD, N., MARCH, C.H. MIESCHER, P. et al.: Chronic discoid lupus erythematosus: study of 65 patients and 65 controls. *New Engl. J. Med.* 269: 1155-1161; 1963.
- 47.- MILLARD, L.G., ROWELL, N.R., RAJALH, S.M.: Histocompatibility antigens in discoid and systemic lupus erythematosus. *Br. J. Dermatol.* 96: 139- 144;1977.
- 48.- BURCH, P.R.J., ROWELL, N.R.: Lupus erythematosus. Analysis of sex and age -distribution of the discoid and systemic forms of the disease in different countries. *Acta Dermatovener. (Stockh).* 50: 293-301; 1970.
- 49.- PRYTOWSKY,S.D., GILLIAM, J.N.: Discoid lupus erythematosus as part of a larger disease spectrum. *Arch. Dermatol.:* 111: 1448-1452; 1975.
- 50.- KNOPP, J.,BONSMANN, G. KIND, P.: Antigens of the mayor histocompatibility complex in patients with chronic discoid lupus erythematosus. *Br. J. Dermatol.* 122: 723-728; 1990.
- 51.- BAER, R.L., HARBER, L.C.,: Photobiology of lupus erythematosus. *Arch. Dermatol.* 92. 124-128; 1965.
- 52.- VELTHUIS, P.J., VAN WEELDEN, H., VAN WILCHEN.: Immunohistopathology of light-induced skin lesions in lupus erythematosus. *Acta Dermatovener. (Stockh)* 70: 93-98; 1990.
- 53.- LEVER, W.F., SCHAUMBURG-LEVER, G.: Lupus erythematosus. En: Lever WF, (ed). *Histopathology of the skin.* Filadelfia, JB Lippincott. 445-456; 1983.
- 54.- HERRERO, C. BIELSA, I., FONT, J.: Subacute cutaneous lupus erythematosus: Clinicopathologic findings in thirteen cases. *J. Am. Acad. Dermatol.* 19: 1057-1061; 1988.
- 55.- JERCLAN, M.S., HOOD, A.F. MOORE, G.N., CALLEU, J.P.: Histopathologic comparison of the subsets of lupus erythematosus. *Arch. Dermatol.* 126: 52-55; 1990.
- 56.- DAHL, M.V.: Immunoglobulin deposition in skin of patients with lupus erythematosus. Clinical correlates and

indications for direct immunofluorescence. *Adv. Dermatol.* 1: 347-266; 1986.

57.- NIEBOER, C., TAK-DIAMAND, Z., VAN LEEUWEN-WALLAU, H.E.: Dust-like particles: a specific direct immunofluorescence pattern in subacute cutaneous lupus erythematosus. *Br. J. Dermatol.* 118: 725-734; 1988.

58.- ROOK, G.A.W., WILKINSON, J.D., EBLING, F.J.G.: *Discoid Lupus erythematosus*. En: *Textbook of Dermatology*. Oxford. Blackwell Scientific Publications. 2180-2181; 1992.

59.- BECK, J.S., ROWELL, N.R.: *Discoid lupus erythematosus*. *Quart J. Med.* 35: 119-136; 1966.

60.- DOEGLA, H.M.G.: Follow up of patients with chronic discoid lupus erythematosus. *Dermatologica* 127: 211-215; 1963.

61.- SHANK, A.B., DONIACH, D.: *Discoid lupus erythematosus*. *Arch. Dermatol.* 87: 677-685. 1963.

62.- PETERSON, W.C., FUSARO, R.M.: Antinuclear factor in light sensitivity and lupus erythematosus. *Arch. Dermatol.* 87: 563-565; 1963.

63.- PRYSTOWSKY, S.D., HERNDON, J.H., GILLIAM, J.N.: *Chronic cutaneous lupus erythematosus*. A clinical and laboratory investigation of 80 patients. *Medicine.* 55: 183-191; 1975.

64.- SYLVESTER, R.A., ATTIAS, M., TALAL, N.: Antibodies to viral and syntetic double-stranded RNA in discoid lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 16: 383-392; 1973.

65.- BURGE, AS.M., FRITH, P.A., JUNIPER, R.P. WOJNAROWSKA, F.: Mucosal involvement in systemic and chronic cutaneous lupus erythematosus. *Br. J. Dermatol.* 121: 727-741; 1989.

66.- ROUNDTREE, J., WEIGAND, D., BURGDORF, W.: *Lupus erythematosus with oral and perianal mucous membrane involvement*. *Arch. Dermatol.* 118: 55-56; 1982.

67.- HALMI, B.H.: *Classification of lupus erythematosus*. *Int. J. Dermatol.* 32: 643-644; 1993.

68.- BIELSA, I., HERRERO, C., ERCILLA, G.: Immunogenetics findings in cutaneous lupus erythematosus. *J. Am. Acad. Dermatol.* 25: 251-257; 1991.

69.- TAN, E.M., COHEN, A.S., FRIES, J. F., MASI, A.T., McSHANE, D.J., ROTHFIELD, N.F., SCHALLER, J.G., TALAL, N. WINCHESTER, R. J.: The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 25: 1271-1277; 1982.

- 70.- CALLEN, J.P., KLEIN, J.: Subacute cutaneous lupus erythematosus. Clinical, serologic, immunogenetic and therapeutic considerations in 72 patients. *Arthritis Rheum.* 31: 1007-1013; 1988.
- 71.- DAVID, K.M.: Subacute cutaneous lupus erythematosus. *J. Invest. Dermatol.* 100: 2s-8s; 1993.
- 72.- GILLIAM, N.J., SONTHEIMER, R.D.: Clinically and immunologically defined subsets of lupus erythematosus. *Progress in diseases of the skin.* En: Fleischmajer R. (ed.) Nueva York, Grune L Straton. 2: 147-165; 1984.
- 73.- BIELSA, I., HERRERO, C., FONT, J., MASCARO, J.M.: Lupus erythematosus and toxic epidermal necrolysis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 16: 1265-1267; 1987.
- 74.- ROOK, G.A.W., WILKINSON, J.D., EBLING, F.J.G.: Lichen Planus and Lichenoid Disorders. En: *Textbook of Dermatology.* Oxford. Blackwell Scientific Publications. 1675-1697; 1992.
- 75.- COPEMAN, P.W.M., TAN, R.S..H., TIMLIN, D.: Familial lichen planus. *Br. J. Dermatol.* 98: 573-577; 1978.
- 76.- GRUNNET, N., SCHMIDT, H., Ocurrence of lichen planus in a family. Genetic susceptibility or coincidence ?. *Clin. Exp. Dermatol.* 8: 397-400; 1983.
- 77.- KOFOED, M.L., LANGE WANTZIN, G.: Familial lichen planus - more frequent than previously suggested?. *J. Am. Acad. Dermatol.* 13: 50-54; 1985.
- 78.- GIBSTINE, C.F., ESTERLY, N.B.: Lichen planus in homozygotic twins. *Arch. Dermatol.* 120: 580; 1984.
- 79.- SHUTTLEWORTH, D., GRAHAM-BROWN, R.A.C., CAMPELL, A.C.: The autoimmune background in lichen planus. *Br. J. Dermatol.* 115: 199-203; 1986.
- 80.- BLACK, M.M., NEWTON, J.A.. Lichen planus. En: Thiers B.H., Dobson R.C., (eds.) *The Pathogenesis of Skin Disease.* New York, Churchill Livingstone, Ed. 85-95; 1986.
- 81.- BARKER, J.N.W.N., NAVSAINA, H.A., LEIGH, I.M.: Gamma-interferon induced human queratinocyte HLA-DR synthesis: The role of dermal activated T-cells. *Br. J. Dermatol.* 119: 567-572; 1988.
- 82.- RAGAZ, A., ACKERMAN, A.B.,: Evolution, maturation and regression of lesions of lichen planus. *Am. J. Dermatopathol.* 3: 5-25; 1981.
- 83.- BERGFELD, W.F., VALENZUELA, R., BEUTNER, F.H.: Lichen planus. In: Beutner, E.H., Chorzieski, T.P., Kumar, V. (eds)

Immunopathology of the skin. 3rd. ed. New York. Churchill Livingstone Ed. 647-648. 1987.

84.- ROGERS III, R.S., HELANDER, SD.: The sensitivity and predictive value of direct immunofluorescence testing in disorders of mucous membranes. En: BURGDORF, W.H.C., KATZ, S.I. (eds.) Proceedings of the 18th World Congress of Dermatology. Dermatology. Progress & Perspectives. New York. The Parthenon Publishing Group Ed. 590-592; 1992.

85.- OLSEN, R.G., DU PLESSIS, D.P., SCHULTZ, E.J., CAMISA, C.: Indirect immunofluorescence microscopy of lichen planus. Br. J. Dermatol. 110: 9-15; 1984.

86.- CAMISA, C., NEFF, G.C., OLSEN, A.G.: Use of indirect immunofluorescence in lupus erythematosus/lichen planus overlap syndrome: an additional diagnostic clue. J. Am. Acad. Dermatol. 11: 1050-1059; 1984.

87.- LIN, S.C., SUN, A., WU, Y.C., CHIANG, C.P.: Presence of anti-basal cell antibodies in oral lichen planus. J. Am. Acad. Dermatol. 26: 943- 947; 1991.

88.- PARODI, A., CARDO, P.P.: Patients with erosive lichen planus may have antibodies directed to a nuclear antigen of epithelial cells: A study on the antigen nature. J Invest. Dermatol. 94: 689-693; 1990.

89.- JAREMKO, W.M., BEUTNER, E.H., KUMAR, V., KIPPING, H., CONDRY, P., ZEID, M.Y., KAUFFMAN, C.L., TATAKIS, D.N., CHORZELSKI, T.P.: Chronic ulcerative stomatitis associated with a specific immunologic marker. J. Am. Acad. Dermatol. 22: 215-220, 1990.

90.- BEUTNER, B.H., CHORZELSKI, T.P., PARODI, A., et al.: Ten cases of chronic ulcerative stomatitis with stratified epithelium-specific antinuclear antibody. J. Am. Acad. Dermatol. 24: 781-782, 1991.

91.- SAURAT, J.H., BONNETBLANC, J.M., GLUCKMAN, E., DIDIERJEAN, L., BUSSEL, A., PUISSANT, A.: Skin antibodies in bone marrow transplanted patients. Clin. exp. dermatol. 1: 377-384; 1976.

92.- BYSTRYN, J.C., ABEL, E., WEIDMAN, A.: Antibodies against the cytoplasm of human epidermal cells. Arch. Dermatol. 108: 241-244; 1973.

93.- CASTELLS, A., CASTEL, T., CAPDEVILA, J.M., FERRANDO, J., PEDRAGOSA, R., PIÑOL, J.: Inmunofluorescencia del liquen plano. Med. Cut. I.L.A. 1: 49-56; 1973.

94.- DUSEK, J.J., FRICK, W.G.: Lichen planus. Oral manifestations and suggested treatments. J. Oral. Maxillofac. Surg. 40: 240; 1982.

- 95.- ZAIAS, N.: The nail in lichen planus. Arch. Dermatol. 101: 246; 1970.
- 96.- BORREGO, L., VANACLOCHA, F., HERGUETA, J., ORTIZ, P., IGLESIAS, L.: Lichen planus penphigoid in a 10-year-old girl. J. Am. Acad. Dermatol. 26: 124-125; 1992.
- 97.- GRANDE, V., MAGNARELLI, S., BERENGGUST, G., SANGUINETTI, O., WOSCOF, A.: Liquen ulceroso plantar. ¿Marcador de enfermedad autoinmune? Med. Cut. I.L.A. 17: 307-309; 1989.
- 98.- EISEN, D.: Treatment of oral lichen planus. En: BURGENDORF, W.H.C., KATZ, S.I. (eds.) Proceedings of the 18th World Congress of Dermatology. Dermatology. Progress and Perspectives. New York. The Parthenon Publishing Group Ed. 581-582; 1992.
- 99.- CONKLIN, R.J., BLASBERG, B.: Oral lichen planus. Dermatologic Clinics. 5: 663-673, 1987.
- 100.- TAN, R.S.H.: Ulcerative colitis, myasthenia gravis, atypical lichen planus, alopecia areata, vitiligo. Proc. Roy.Soc. Med. 67: 195-196; 1974.
- 101.- GRAHAM-BROWN, R.A.C., SARKANY, I., SHERLOCK, S.: Lichen planus and primary biliary cirrhosis. Br. J. Dermatol. 106: 699-703; 1982.
- 102.- REBORA, A., RONGIOLETTI, F.: Lichen planus and chronic active hepatitis: a retrospective study. Acta Dermatovenereo.(Stockh) 64: 52- 56; 1984.
- 103.- DIVANO, M.C., PARODI, A., REBORA, A.: Lichen planus, liver kidney microsomal (LKM-1) antibodies and hepatitis C virus antibodies. Dermatology 185: 132-133; 1992.
- 104.- MOBACKEN, H., NILSSON, L.A., OLSSON, R.: Incidence of liver disease in chronic lichen planus of the mouth. Acta Dermatovener. (Stockh) 64: 70-73; 1984.
- 105.- HERSE, K., MOBACKEN, H., SLOBERG, K.: Severe oral lichen planus: treatment with an aromatic retinoid (etretinate). Br. J. Dermatol. 106: 77-80; 1982.
- 106.- PIGATTO, P.D., CHIAPPINO, G., BIGARDI, A.: Cyclosporin A for treatment of severe lichen planus. Br. J. Dermatol. 122: 121-123, 1990.
- 107.- EISEN, D.: Hydroxychloroquine sulfate (Plaquenil) improves oral lichen planus: An open trial. J. Am. Acad. Dermatol. 28: 609-612; 1993.
- 108.- LE ROY, E.C., BLACK, C., FLEISCHMAJER, R. et al.: Scleroderma (systemic sclerosis): Classification, subsets and pathogenesis. J. Rheumatol. 15: 202-205; 1988

- 109.- ROWELL, N.R.: The skin in systemic sclerosis. En: Jayson, MIV, Black, CM, (eds.) Systemic sclerosis: Scleroderma. Nueva York, John Wiley Ed. 1988.
- 110.- KAHALEH, M.B.: Vascular disease in scleroderma. Rheum. Dis. Clin. North. Am. 16: 53-73; 1990.
- 111.- VILARDELL-TARRES, M., FONOLLOSA-PLA, V.: Esclesosis sistémica (esclerodermia). Med. Clin. (Barc) 94: 736-739; 1990.
- 112.- MAUCH, C., ECKES, E., HUNZELMAN, N., OONO, T., KOZLOWSKA, E., KRIEG, T.: Control of fibrosis in sistemic scleroderma. J. Invest. Dermatol. 100: 92S-96S; 1993..
- 113.- MOROI, Y., PEEBLES, C., FRITZLER, M., STEIGERWALD, J., TAN, E.M.: Autoantibody to centromere (Kinetochore) in scleroderma sera. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77: 1627-1631; 1980.
- 114.- STEEN, V.D., POWELL, D.L., MEDSGER, T.A.: Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. Arthritis Rheum. 31: 196-203, 1988.
- 115.- TAKEHARA, K., SOMA, Y., IGARASHI, K., et al.: Longitudinal study of patients with anticentromer antibody. Dermatologica 181: 102-206; 1990.
- 116.- SHERO, J.H., BORDWELL, B., ROTHFIELD, N.F., EARNSHAW, W.C.: High titers of autoantibodies to topoisomerasa I (Scl-70) in sera from scleroderma patients. Science 231: 737-740; 1986.
- 117.- REIMER, G., STEEN, V.D., PENNING, C.A., MEDSGER, T.A., TAN, E.M.: Correlates between autoantibodies to nucleolar antigen and clinical features in patients with systemic sclerosis (scleroderma). Arthritis Rhem. 31: 525-532; 1988.
- 118.- POWELL, F.C., SCHROETER, A.L., DICKSON, R.: Primary biliary cirrhosis and the CREST syndrome: A report of 22 cases. Q. J. Med. 62: 75-82; 1987.
- 119.- MURRAY-LYON, I.M., THOMPSON, R.P.H., ANSELL, I.D., WILLIAMS, R.: Scleroderma and primary biliary cirrhosis. B.M.J. 3: 258-259; 1970.
- 120.- REYNOLDS, T.B., DENISSON, E.K., KRANKL, H.D., LIEBERMAN, F.L., PETERS, R.L.: Primary cirrhosis with scleroderma, Raynaud's phenomenon and telangiectasia. New syndrome. Am. J. Med. 50: 301-312; 1971.
- 121.- O'BRIEN, S.T., EDDY, W.M., KRAWITT, E.L.: Primary biliary cirrhosis associated with scleroderma. Gastroenterology. 62: 118-121; 1972.

- 122.- GORDON, M.B., KLEIN, I., DEKKER, A., RODNAN, G.P., MEDSGER, T.A.: Thyroid disease in progressive systemic sclerosis: Increased frequency of glandular fibrosis and hypothyroidism. *Ann Intern Med.* 95: 431-435; 1981.
- 123.- SERUP, J., HAGDRUP, H.: Thyroid hormones in generalized scleroderma. A controlled study. *Acta Dermatovener. (Stockh).* 66: 35-38; 1986.
- 124- STEEN, V.D., COSTANTINO, J.P., SHAPIRO, A.P., MEDSGER, T.A.: Outcome of renal crisis in systemic sclerosis : relation to availability of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors. *Ann. Intern. Med.* 113: 353-357; 1990.
- 125.- JABLONSKA, S., RODNAN, G.P.: Localized forms of scleroderma. *Clin. Rheum. Dis.* 5: 215; 1979.
- 126.- ABERER, E., NEUMANN, R., STANEK, G.: Is localised scleroderma a Borrelia infection? *Lancet* ii: 278; 1985.
- 127.- ABERER, E., KOLLEGGER, H., KRISTOFERITSCH, W.: Neuroborreliosis in morphea and lichen sclerosus et atrophicus. *J. Am. Acad. Dermatol.* 19: 820-825; 1988.
- 128.- ABERER, E., STANEK, G., ERTL, M.: Evidence for spirochetal origin of circumscribed scleroderma (morphea). *Acta. Dermatovener. (Stockh)* 67: 225-231; 1987.
- 129.- HOESLY, J.M., MERT, L.E., WINKELMAN, R.K.: Localized scleroderma (morphea) and antibody to Borrelia Burgdorferi. *J. Am. Acad. Dermatol.* 17: 455-458; 1987.
- 130.- WUTHRICH, R.C., ROENIGK, H.H., STECK, W.D.: Localized scleroderma. *Arch. Dermatol.* 111: 98-100; 1975.
- 131 - HASON, V., DREXLER, E., KORNREICH, H.: DNA antibodies in childhood scleroderma. *Arthritis Rheum.* 13: 789-801; 1970.
- 132.- FALANGA, V., MEDSGER, T.A., REICHLIN, M.: Antinuclear antibodies and anti-single-stranded DNA antibodies in morphoea and generalized morphoea. *Arch. Dermatol.* 123: 350-353; 1987.
- 133.- HARRINGTON, C.I., DUNSMORE, I.R.: An investigation into the incidence of auto-immune disorders in patients with localized morphoea. *Br. J. Dermatol.* 120: 645-648; 1989.
- 134.- McMAHON, R.F., BABBS, C., WARNES, T.W.: Nodular regenerative hyperplasia of the liver, CREST syndrome and primary biliary cirrhosis: an overlap syndrome?. *Gut.* 30: 1430-1433; 1989.
- 135.- SUYAMA, Y., MURAWAKI, Y., HIRAYAMA, C.H., KANBE, N., TAKENAKA, M. et al: A case of Primary biliary cirrhosis

associated with generalized morphea. Hepato-Gastroenterol. 33: 199-200; 1986.

136.- BIELSA, I., CID, M., HERRERO, C., CARDELLACH, F.: Morfea generalizada: aspectos sistémicos de una enfermedad cutánea. Descripción de 12 casos y revisión de la literatura. Med. Clin. 85: 171-174; 1985.

137.- FONTAN, I., TAIEB, A., GUILLET, G.: Immunologic abnormalities in juvenile linear scleroderma: retrospective study in 11 children. Ann. Dermatol. Venereol. 115: 135-141; 1988.

138.- MITCHELL, A.J., RUSIN, L.J., DIAZ, L.A.: Circumscribed scleroderma with immunologic evidence of systemic lupus erythematosus. Arch. Dermatol. 116: 69; 1980.

139.- ANSELL, B.M.: Scleroderma in childhood. En: Jayson M.I.V., Black, M.C., (eds.) Systemic sclerosis : Scleroderma. Nueva York, John Wiley. 319-322; 1988.

140.- WINKELMAN, R.K.: En: Kukita, A., Serji, M. (eds). Proc. XVI Int. Cong. Dermatol. Tokyo. University of Tokyo Press, 305; 1982.

141.- ROOK, G.A.W., WILKINSON, J.D., EBLING, F.J.G.: Localized Morphea. En: Textbook of Dermatology. Oxford. Blackwell Scientific Publications. 2232-2233; 1992.

142.- MUTASIM, D.F., TAKAHASHI, I., LABIB, R.S.: A pool of bullous pemphigoid antigen(s) is intracellular and associated with the basal cell cytoskeleton-hemidesmosome complex. J. Invest. Dermatol. 84: 47-53; 1985.

143.- WESTGATE, G.E., WEAVER, A.C., COUCHMAN, J.R.: Bullous pemphigoid antigen localization suggest an intracellular association with hemidesmosomes. J. Invest. Dermatol. 84: 218-224; 1985.

144.- IKEDA, S., YAGUCHI, H., OGAWA, H.: Expression of extracellular and intracellular bullous pemphigoid antigens at the dermis-epibolic junction in organ culture of human skin. J. Invest. Dermatol. 94: 336-346; 1990.

145.- DVORAK, A.M., MIHM, M.C., OSAJE, J.E.: Bullous pemphigoid, an ultrastructural study of the inflammatory response. J. Invest. Dermatol. 78: 91-101; 1982.

146.- DUBERTRET, L., BERTRAUX, B., FOSSE, M.: Cellular events leading to blister formation in bullous pemphigoid. Br. J. Dermatol. 103: 615-624, 1980.

147.- PROVOST, T.T., TOMASI, T.B.: Immunopathology of bullous pemphigoid. Clin. Exp. Immunol. 18: 193-200; 1974.

- 148.- GAMMON, W.R., BRIGGAMAN, R.A., : Abscense of specific histologic changes in the guinea pig skin treated with bullous pemphigoid antibodies. *J. Invest. Dermatol.* 90: 495-500; 1988.
- 149.- OBASI, O.E., SAVIN, J.A.: Pemphigoid and pernicious anemia. *Br. Med. J.* 2: 1458-1459; 1977.
- 150.- MULLER, H.A., SUTHERLAND, R.C., JAMIESON, W.J.: Autoantibodies in bullous pemphigoid. *Med. J. Aust.* 1: 429-431; 1971.
- 151.- SAVIN, J.A.: The events leading to the deaths of patients with pemphigus and pemphigoid. *Br. J. Dermatol.* 101: 521-534; 1979.
- 152.- CALLEN, J.P., McCALL, M.W.: Bullous pemphigoid and Hashimoto's thyroiditis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 5: 558-560; 1981.
- 153.- HAMILTON, D.V., MACKENZIE, A.W.: Bullous pemphigoid and primary biliary cirrhosis. *Br. J. Dermatol.* 99: 447-450; 1978.
- 154.- CLAYTON, C.A., BURNHAM, T.K.: Systemic lupus erythematosus and coexisting bullous pemphigoid: immunofluorescent investigations. *J. Am. Acad. Dermatol.* 7:236-245; 1982.
- 155.- LYNFIELD, Y.L., GREEN, K., GOPAL, R.: Bullous pemphigoid and multiple autoimmune diseases. *J. Am. Acad. Dermatol.* 9:257-261; 1983.
- 156.- CULP, K.S., FLEMING, C.R., DUFFY, J., BALDUS, W.P., DICKSON, E.R.: Autoimmune associations in primary biliary cirrhosis. *Mayo Clin Proc.* 57: 365-370; 1982.
- 157.- TAYLOR, G., VENNING, V., WOJNAROWSKA, F., WELCH, K.: Bullous pemphigoid and autoimmunity. *J. Am. Acad. Dermatol.* 29: 181-184; 1993.
- 158.- ULLMAN, S., HALBERG, P., NIELSEN, R.: Anti-basement membrane antibodies in sera from patients without bullous pemphigoid. *Acta. Dermatovener. (Stockh)* 55: 305-308, 1975.
- 159.- ABLIN, R.J.: Demostratoin of intercellular and basement membrane zone antibodies in benign prostatic hypertrophy. *Dermatologica* 146: 163-169; 1973.
- 160.- HEINE, K.G., KUMAR, A., JORDON, R.E.: Pemphigus-like antibodies in bullous pemphigoid. *Arch. Dermatol.* 113: 1693-1695; 1977.
- 161.- PERSON, J.R., ROGERS, R.S.: Bullous pemphigoid responding to sulfapyridine and the sulfones. *Arch. Dermatol.* 113: 610-615; 1977.

- 162.- KAPPLAN, M.: Primary biliary cirrhosis. *N. Engl. J. Med.* 316: 521-528; 1987.
- 163.- RULL, S., RODRIGUEZ-SAN ROMAN, J.L., VELILLA, J.P.: Aspectos actuales de la cirrosis biliar primaria. (Primera parte). *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.* 64: 353-359; 1983.
- 164.- CROWE, J., CHRISTENSEN, E., DONIACH, D., POPPER, H., TYGSTRUP, N., WILLIAMS, R.: Early features of primary biliary cirrhosis: An analysis of 85 patients. *Am. J. Gastroenterol.* 80: 466-468; 1985.
- 165.- JOSE L. CARRASCO: Prueba exacta de Fisher. en: *El método estadístico en la investigación médica.* Ed. Ciencia 3, S.A. 301-303; 1992.
- 166.- SWAAK, A.J.G., GROENWOLD, J., AARDEN, L.A., FELTKAMP, T.E.W.: Detection of anti-dsDNA as diagnostic tool. *Ann. Rheum. Dis.* 40: 145-149; 1981.
- 167.- CALLEN, J.P.: Systemic lupus erythematosus in patients with chronic cutaneous (discoid) lupus erythematosus. *J. Am. Acad. Dermatol.* 12: 278-288, 1985.
- 168.- POTTS, E.D.A., ROWELL, N.R.: Lichen planus: A distinct entity from lupus erythematosus. *Acta Dermatovener. (Stockholm).* 61: 413-416; 1981.
- 169.- PEREZ-BERNAL, A.M., MARCOS, A., CAMACHO, F.: Morfeas. Revisión casuística. *Actas Dermo-Sif.* 81: 805-808, 1990.
- 170.- GINSBERG, B., KEISER, H.: A millipore filter assay for antibodies to native DNA in sera of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 16: 199-202; 1973.
- 171.- DAVIS, P., ATKINS, B., HUGES, G.R.V.: Antibodies to native DNA in discoid lupus erythematosus. *Br. J. Dermatol.* 91: 175-181; 1974.
- 172.- BURDASH, N., TETI, G., PAPADOPOULOS, V.: The crithidia luciliae and Farr assay for the detection of systemic lupus erythematosus. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 13: 49-54; 1983.
- 173.- NILSSON, E., BIBERFELD, G.: Demonstration of antibodies to double-stranded DNA by the Crithidia luciliae immunofluorescence test. *J. Clin. Lab. Immunol.* 3: 197-201; 1980.
- 174.- ANDERSON, J.W., McCONAHEY, W.M., ALARCON-SEGOVIA, D., EMSLANDER, R.F., WAKIM, K.G.: Diagnostic value of thyroid antibodies. *J. Clin. Endocr.* 27: 937-944; 1967.

175.- HAWKINS, B.R., DAWSKIN, R.L., BURGER, H.G.: Diagnostic significance of thyroid microsomal antibodies in randomly selected population. *Lancet* ii: 1057-1059, 1980.

176.- VIANNA, J.L., HAGA, H.J., ASERSON, R.A., SWANA, G., HUGHES, G.R.V.: A prospective evaluation of antithyroid antibody prevalence in 100 patients with systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* 18: 1193-1195; 1991.

177.- McDONAGH, A.J., LEYVA-LEON, F., GAWKRODGER, D.J., WARD, A.M.: Lichen planus is not commonly a skin marker of primary biliary cirrhosis. *Dermatologica* 180: 11; 1990.

178.- EPSTEIN, O., THOMAS, H.C., SHERLOCK, S.: Primary biliary cirrhosis is a dry gland syndrome with features of chronic graft-versus-host disease. *Lancet* 1:1166-1168; 1980.

