

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Medicina e Chirurgia
Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

DIPARTIMENTO DI MEDICINA - DIMED

Direttore: Ch.mo Prof. Roberto Vettor

UOC DI REUMATOLOGIA

Direttore: Ch.mo Prof. Andrea Doria

TESI DI LAUREA

VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ DI MALATTIA E DEL
DANNO IN UNA COORTE MONOCENTRICA
PROSPETTICA DI PAZIENTI AFFETTI DA SCLEROSI
SISTEMICA

Relatore: Dott.ssa Elisabetta Zanatta

Correlatore: Dott. Andrea Martini

Laureando: Salvatore Prete

Anno accademico 2021-2022

INDICE

RIASSUNTO	1
Scopo dello studio	1
Materiali e metodi	1
Risultati	1
Conclusioni	2
ABSTRACT	3
Objective	3
Materials and Methods	3
Results	3
Conclusions	4
INTRODUZIONE: LA SCLEROSI SISTEMICA	5
1 Definizione	
2 Epidemiologia	6
2.1 Dati italiani	6
2.2 Dati mondiali	6
3 Fattori di rischio	7
3.1 Genetica	7
3.2 Epigenetica	8
3.3 Fattori ambientali	9
4 Patogenesi	11
4.1 Generalità	11
4.2 Ruolo dell'interferone (IFN) e dei suoi regolatori	12
4.3 Ruolo dei macrofagi	14
4.4 Ruolo dei linfociti T	14
4.5 Ruolo dei linfociti B	15
4.6 Vasculopatia	16
4.7 Fibrosi	19
5 Manifestazioni cliniche e diagnosi	22
5.1 Interessamento cutaneo	22
5.2 Interessamento vascolare	23
5.3 Interessamento muscoloscheletrico	27
5.4 Interessamento gastrointestinale	33
5.5 Interessamento polmonare: pneumopatia interstiziale (ILD)	43

5.6 Interessamento polmonare: ipertensione polmonare (PAH)	47
5.7 Interessamento cardiaco	51
5.8 Interessamento renale	54
6 Trattamento	55
7 Score di attività e di danno	58
7.1 EScSG disease activity index	59
7.2 Eustar activity index	59
7.3 Medsger Severity scale	60
7.4 Scleroderma Clinical Trials Consortium Damage Index	61
SCOPO DELLO STUDIO	63
MATERIALI E METODI	64
Disegno dello studio e descrizione della popolazione	64
Descrizione delle variabili	64
Impegno polmonare	68
Impegno gastroenterico	68
Impegno articolare e tendineo	69
Impegno cardiaco	69
Follow-up	69
Metodi statistici	71
RISULTATI	72
Descrizione popolazione arruolata in studio e correlazione tra gli score di attività	72
Differenze tra pazienti in fase attiva e pazienti in fase inattiva al baseline	74
Predittori di persistenza dell'attività di malattia nel follow-up	78
Predittori di persistenza o sviluppo di danno moderato-grave Secondo SCTC damage-index alla fine del follow up	83
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	90
BIBLIOGRAFIA	96

RIASSUNTO

Presupposti dello studio

In Reumatologia negli ultimi anni vi è stato crescente interesse nella definizione e applicazione dei concetti di “attività” di malattia e di “danno”. L’attività include gli aspetti della malattia reversibili spontaneamente o mediante trattamento farmacologico, mentre il danno riflette le lesioni irreversibili indotte dalla malattia stessa o dal trattamento. L’applicazione di tali concetti risulta particolarmente intrigante nella sclerosi sistemica (SSc).

Scopo dello studio

L’obiettivo primario del nostro studio è stato ricercare i predittori di persistenza di attività di malattia, definita tramite score validati, in un’ampia coorte monocentrica di pazienti con SSc. L’obiettivo secondario è stato ricercare i predittori di persistenza/sviluppo di danno moderato-grave alla fine del follow-up.

Materiali e metodi

Sono stati inclusi nello studio 173 pazienti seguiti presso l’U.O.C. di Reumatologia dell’Azienda Ospedale Università di Padova. Sono stati valutati parametri clinici, sierologici e relativi all’impegno d’organo (polmonare, cardiaco, gastrointestinale) al baseline e ad ogni visita di follow up. Sono stati calcolati, per ogni paziente, dal baseline fino all’ultima visita, gli score di attività di malattia (EUSTAR AI ed EScSG AI), e gli score di danno (Medsger Severity Scale ed SCTC damage index). L’attività di malattia è stata definita come un punteggio $\geq 2,5$ all’EUSTAR AI; un punteggio $< 2,5$ indicava la remissione. La persistenza di attività è stata definita come un punteggio $\geq 2,5$ per più del 50% delle visite, mentre la persistenza di remissione come un punteggio $< 2,5$ per più del 50% delle visite. In accordo con la letteratura, il danno è stato definito come “lieve” per punteggi dell’SCTC < 6 e come “moderato-grave” per punteggi ≥ 6 .

Risultati

Tra i 173 pazienti arruolati, 152 (87,9 %) erano donne con durata mediana di malattia di 9 anni (4-18,7) ed età mediana alla diagnosi di SSc 45 anni (36-48). Cinquanta (34,6%) pazienti avevano la forma cutanea diffusa di malattia. La durata

mediana del follow-up era 3,5 anni (3-4). I pazienti che rimanevano persistentemente attivi durante il follow up (23, 13,2%) avevano più frequentemente la forma cutanea diffusa (54% vs 17%, $p<0,0001$) e coinvolgimento cardiaco (43,4% vs 20,7%, $p=0,036$) rispetto a coloro che rimanevano inattivi (150, 86,7%). La percentuale di pazienti che rimanevano inattivi ed erano positivi agli anticorpi anticentromero era maggiore rispetto a quella dei pazienti che rimanevano attivi (39,3% vs 17,4%, $p=0,042$). I pazienti che rimanevano attivi avevano valori medi di VES più alti: 26,7 ($\pm 21,8$) vs 11,5 ($\pm 14,8$), $p=0,002$; e valori medi di TLC più bassi: 79,7 ($\pm 21,4$) vs 97,5 ($\pm 15,4$), $p=0,034$. Inoltre, i pazienti persistentemente attivi avevano un valore più elevato sia della scala di Medsger [6,3 (± 3) vs 3,5 ($\pm 1,7$)], che dell'SCTC-DI [3,7 (± 4) vs 1,3 ($\pm 1,9$)] ($p<0,0001$ in entrambi i casi). All'analisi multivariata la VES e la scala di Medsger erano predittori indipendenti di persistenza di attività con OR 1,04 (95% IC 1,01-1,07, $p=0,009$) per la VES e 1,75 (95% IC 1,29-2,37), $p<0,001$ per la scala di Medsger.

I pazienti con danno moderato-grave alla fine del follow up (16, 9%) avevano più frequentemente al basale teleangectasie (81,3% vs. 38,6%, $p=0,001$) ed ILD (62,5% vs. 31,6%, $p=0,013$) rispetto ai pazienti con danno lieve. Considerando i dati al basale, alla spirometria il valore medio di DLCO era più basso nei pazienti con danno moderato severo: 47,7 ($\pm 25,4$) vs 75,1 ($\pm 18,8$), $p=0,047$ così come il valore medio di TLC 75,9 ($\pm 23,9$) vs 97,4 ($\pm 14,8$), $p<0,0001$. I valori medi di PAPs all'ecocardiogramma erano significativamente più alti nei pazienti con danno moderato-grave alla fine del follow-up (43,7 vs 27,7; $p<0,0001$). Questi ultimi rimanevano inoltre più spesso attivi durante il follow up secondo l'EUSTAR AI (37,5% vs 10,8%, $p=0,003$). All'analisi multivariata risultavano predittori indipendenti la TLC (OR 0,95, 95% IC 0,92-0,98) e le teleangectasie (4,7, 95% IC 1,18-18,54, $p=0,028$).

Conclusioni

In conclusione, il nostro studio ha individuato i predittori di persistenza di attività di malattia ed i predittori di persistenza/progressione del danno. Questi predittori possono guidare il clinico nell'individuare i pazienti che richiedono un follow-up più stretto e un trattamento più aggressivo e precoce.

ABSTRACT

Background

In SSc, the concepts of “disease activity” and “damage” have recently been defined to help clinicians understand which patients require a more aggressive and earlier treatment. Activity should include all the reversible aspects of the disease that can regress spontaneously or by pharmacological treatment. Damage reflects irreversible injury induced by disease or treatment. The application of these concepts in SSc is particularly interesting.

Objective

The first aim of our study was to investigate predictors of persistence and remission of disease activity. The second aim was to find predictors of persistence/new onset of moderate-severe damage at the end of follow-up, according to the SCTC damage index.

Materials and Methods

One-hundred and seventythree patients with SSc (ACR/EULAR criteria) from the Rheumatology Unit of the University Hospital of Padua were enrolled. Clinical findings, serological indices and organ involvement (pulmonary, cardiac, gastrointestinal and articular) were evaluated at baseline and at each visit during follow-up. EUSTAR AI, EScSG AI, Medsger severity scale and SCTC damage index were calculated for each patient, from baseline until the last visit. Follow-up period was defined as the time between baseline and the last available visit. Activity persistence was defined as an EUSTAR AI $\geq 2,5$ for more than 50% of follow-up, while remission persistence was defined as an EUSTAR AI $< 2,5$ for more than 50% of follow-up. If the SCTC Damage Index was < 6 the damage was defined as “mild”, whereas if the index was ≥ 6 the damage was defined as “moderate-severe”.

Results

One-hundred and fifty-two (87,9%) patients were women with 9 years (4-18,7) of median disease duration while the median age at diagnosis was 45 years old (36-48). Fifty (34,6%) patients were affected by diffuse cutaneous subset. The median

duration of follow up was 3,5 years (3-4). Twenty-three (13,2%) patients were more frequently active during follow up, these patients had more frequently cutaneous diffuse subset (54% vs 17%, $p<0,0001$) and cardiac involvement (43,4% vs 20,7%, $p=0,036$) than persistently inactive ones. The proportion of persistently inactive patients with ACA positivity during follow-up was higher than that of persistently active ones (39,3% vs 17,4%, $p=0,042$). Patients who remained active had higher VES values: 26,7 ($\pm 21,8$) vs 11,5 ($\pm 14,8$), $p=0,002$; and lower TLC values: 79,7 ($\pm 21,4$) vs 97,5 ($\pm 15,4$), $p=0,034$. Persistently active patients had a higher score at Medsger severity scale [6,3 (± 3) vs 3,5 ($\pm 1,7$)], $p<0,0001$ and at SCTC-DI [3,7 (± 4) vs 1,3 ($\pm 1,9$), $p<0,0001$] than persistently inactive patients. Multivariate analysis showed that VES values (OR 1,04 95% CI 1,01-1,07, $p=0,009$) and Medsger severity scale values (OR 1,75, 95% CI 1,29-2,37, $p<0,001$) were independent predictors of activity persistence. Patients with persistent/new onset of moderate-severe SCTC at the end of the follow up 16 (9%) had more frequently telangiectasia (81,3% vs. 38,6%, $p=0,001$) and ILD (62,5% vs. 31,6%, $p=0,013$) than patients with mild damage. At baseline, patients with moderate-severe damage at the end of follow up had lower DLCO values [47,7 ($\pm 25,4$) vs 75,1 ($\pm 18,8$), $p=0,047$] as well as lower TLC values [75,9 ($\pm 23,9$) vs 97,4 ($\pm 14,8$), $p<0,0001$]. At baseline, transthoracic echocardiography showed significantly higher PAPs values in patients with moderate-severe damage at the end of follow up (43,7 vs 27,7; $p<0,0001$). These patients were more often active according to EUSTAR AI (37,5% vs 10,8%, $p=0,003$) during follow-up than patients with mild damage. Multivariate analysis showed that TLC values (OR 0,95, 95% CI 0,92-0,98) and telangiectasia (4,7, 95% CI 1,18-18,54, $p=0,028$) were independent predictors.

Conclusions

Our study highlighted predictors of disease activity persistence and damage persistence/progression. This could help identify patients with an increased risk of persistence of activity and moderate/severe damage who require more aggressive and prompt treatment.

INTRODUZIONE: LA SCLEROSI SISTEMICA

1. Definizione

La sclerosi sistemica (SSc) è una malattia autoimmune che presenta una peculiare triade patogenetica: danno microvascolare, disregolazione dell'immunità adattativa ed umorale e fibrosi generalizzata a livello di diversi organi. La fibrosi cutanea è la caratteristica principale, tuttavia l'interessamento polmonare, gastrointestinale, renale e cardiaco sono quelli che determinano l'andamento clinico della malattia. L'estensione dell'interessamento cutaneo e la sua velocità di progressione riflettono la severità del quadro clinico viscerale (1).

La classificazione dei pazienti affetti da SSc si basa soprattutto sull'estensione dell'interessamento cutaneo: coloro con interessamento del tronco e delle porzioni prossimali degli arti, ovvero al di sopra di ginocchio e gomito, sono classificati come affetti da sclerosi sistemica cutanea diffusa (dcSSc) mentre se l'ispessimento fibroso è distale rispetto a gomito e ginocchio, vengono classificati come affetti da sclerosi sistemica cutanea limitata (lcSSc) (2).

La lcSSc era precedentemente conosciuta come sindrome CREST per le sue manifestazioni cliniche: calcinosi, fenomeno di Raynaud, dismotilità esofagea, sclerodattilia e teleangectasia. Nella fase iniziale di malattia, il fenomeno di Raynaud può essere l'unica manifestazione obiettivabile; con il progredire della malattia, la manifestazione dominante è l'ipertensione polmonare. La dcSSc ha una prognosi più severa e quindi una più alta mortalità rispetto alla forma cutanea limitata, inoltre il quadro cutaneo peggiora più rapidamente e l'interessamento degli organi interni è molto maggiore. Il quadro polmonare predominante nella dcSSc è l'interstiziopatia polmonare (ILD) (3,4).

2. Epidemiologia

2.1 Dati italiani

Nel 2011 Lo Monaco et al. hanno stimato la prevalenza di SSc nel nord-est italiano utilizzando i criteri di classificazione stilati dall'ACR nel 1980 e i criteri di Leroy e Medsger rivisitati del 2001. I risultati ottenuti utilizzando i criteri ACR 1980 mostravano una prevalenza tra il 22,2 e 28,6 casi per 100 000 abitanti e un'incidenza annuale tra i 2 e 4,4 per 100000 abitanti. Utilizzando invece i criteri di Leroy e Medsger, si otteneva una prevalenza tra i 30,4 e i 37,8 casi per 100 000 abitanti e un'incidenza annuale di 3-5,6 ogni 100 000 abitanti. Secondo questi criteri, inoltre, il 62,1% dei pazienti affetti da SSc aveva una forma lcSSc, il 18,7% aveva una forma dcSSc e il 19,2% una forma senza interessamento cutaneo (sine scleroderma). Il rapporto femmine/maschi stimato era di 9.7:1 e l'età media alla diagnosi era di 59.7 anni (5).

2.2 Dati mondiali

Confrontando i dati epidemiologici di Lo Monaco con quelli di altri studi effettuati in Argentina, Taiwan ed India è possibile concludere che incidenza e prevalenza variano in base alla regione geografica e in particolare si hanno valori maggiori in Europa, Stati Uniti e Argentina rispetto ad altri paesi come il Taiwan e l'India. I valori sono più alti negli Stati Uniti ed in Australia rispetto all'Europa e in quest'ultima è possibile riscontrare un gradiente nord-sud con un numero di casi minore nel Nord Europa. In tutti gli studi esaminati la SSc è più comune nelle donne che negli uomini. Gli afroamericani e i pazienti con esordio in età avanzata hanno una malattia più severa (6,7).

La revisione sistematica di Bergamasco et al. del 2019 ha preso in considerazione 50 studi di qualità medio-alta di cui 29 condotti in Europa e 21 in Nord America che confermano sostanzialmente i dati esposti sopra. Nella stragrande maggioranza di questi studi sono stati utilizzati gli stessi criteri dello studio di Lo Monaco. Secondo questa review, inoltre, le cause cardiorespiratorie sono la causa principale di morte di questi pazienti, in particolare il 35% delle morti sono dovute alla fibrosi polmonare o all'ipertensione polmonare mentre il 29% sono dovute ad una compromissione del quadro cardiaco. I ricercatori suggeriscono la necessità di una

quantità maggiore di dati specifici riguardo alla forma di sclerodermia con interessamento polmonare interstiziale (SSc-ILD), in quanto questa forma è quella associata a maggiore morbilità e mortalità (8).

3. Fattori di rischio

3.1 Genetica

Secondo la Review del 2014 di Jasper C.A. Broen et al. la SSc non viene ereditata con un'eredità di tipo Mendeliana, tuttavia la malattia è più frequente nelle famiglie in cui almeno 1 componente è già stato diagnosticato come affetto da SSc o un'altra malattia autoimmune. Il rischio di SSc è dello 0,026% nella popolazione generale mentre chi ha un fratello o un altro parente di primo grado affetto ha un rischio dell'1,6% (9).

Carol Feghali-Bostwick et al. nel 2003 riportavano come non ci fosse una differenza statisticamente significativa nel tasso di concordanza tra i gemelli monozigoti (4.2%) e dizigoti (5.6%), tuttavia un gran numero di gemelli presi in esame erano sotto il picco dell'età di esordio della SSc, pertanto alcuni di questi gemelli sani avrebbero potuto sviluppare SSc più avanti con l'età. Se invece si prende in considerazione la presenza di anticorpi antinucleo (ANA), è possibile vedere come vi sia una maggiore concordanza nei gemelli monozigoti (90%) rispetto ai gemelli eterozigoti (40%), suggerendo quindi che la componente genetica possa contribuire in maniera determinante al processo di autoimmunità (10).

Tre studi di GWAS sulla SSc hanno dimostrato il ruolo chiave dei geni per l'HLA di classe I e, in particolare, di quello di classe II nella suscettibilità alla SSc. HLA-DRB1*01, HLA-DRB1*11, HLA-A*30, e HLA-A*32 predispongono alla SSc, mentre HLA-DRB1*07, HLA-B*57, e HLA-Cw*14 sono protettivi verso SSc (11). Altri studi invece hanno messo a confronto degli specifici alplotipi con il profilo anticorpale ed è stato visto che HLA-DRB1*01-DQB1*0501 è più comune in pazienti positivi per gli anticorpi anticentromero (ACA) mentre HLA-DRB1*11-DQB1*0301 è maggiormente associato agli anti-topoisomerasi I (12).

Il polimorfismo che predispone maggiormente alla SSc riguarda STAT4, un fattore di trascrizione implicato nello sviluppo di una risposta Th1 mediata e che favorisce

la produzione di IL-12 che a sua volta induce la produzione IFN- γ , citochina fondamentale nella patogenesi della SSc (13,14).

Un altro fattore che sembra avere un certo ruolo predisponente è IRF5: il polimorfismo rs2004640 non solo è associato all'insorgenza di SSc (15) ma anche alle forme di SSc con anticorpi anti-topoisomerasi I (16).

Per quanto riguarda la disregolazione della risposta immunitaria cellule B-mediate, sono state rilevate associazioni con polimorfismi riguardanti principalmente 2 geni: FAM167A-BLK e BANK1, entrambi codificanti per proteine necessarie per il signalling delle cellule B (9).

3.2 Epigenetica

I fibroblasti attivati sono dei mediatori centrali nella patogenesi della fibrosi, in particolare nei pazienti affetti da SSc si differenziano in miofibroblasti, che sono caratterizzati non solo dall'espressione di proteine contrattili ma anche da un'aumentata secrezione di collagene e altre componenti della matrice extracellulare (17).

Il trigger delle modificazioni epigenetiche nei fibroblasti è dato dalla prolungata esposizione a citochine proinfiammatorie e profibrotiche rilasciate da leucociti e dalle cellule endoteliali apoptotiche: una volta instauratesi, le modifiche epigenetiche rendono l'attività fibrogenica dei fibroblasti indipendente da stimoli esterni (18).

Altork et al. hanno messo a confronto la metilazione delle isole CpG dei promotori di geni implicati nel turnover e nella secrezione dei componenti della matrice extracellulare in fibroblasti di pazienti con dcSSc e lcSSc: quello che hanno potuto dimostrare è che vi sono 2710 isole CpG disregolate nella dcSSc, di cui il 61% ipometilate e 1021 isole CpG disregolate nella lcSSc, di cui il 90% ipometilate. L'ipometilazione dei promotori di questi geni causa un aumento del signalling fibrogenico (19).

Altri studi come quello di Clara Dees et al. hanno dimostrato invece che l'ipermetilazione dei promotori di alcuni geni come DKK e SFRP1 favorisce un'alterazione del signalling di Wnt, quest'ultimo se viene iperattivato stimola i

fibroblasti tissutali a differenziarsi in miofibroblasti ed a rilasciare alte quantità di collagene (20).

Oltre all'epigenetica dei fibroblasti, sono stati fatti anche molti studi sull'epigenetica dei linfociti T CD4 e CD8 come quello di Ding et al. che dimostra un'ipometilazione di geni implicati nel signalling dell'IFN con un conseguente aumento dei livelli di IFN circolanti (21).

Lei et al. invece riportano una ridotta espressione del gene DNMT1 nei CD4 di pazienti con SSc, questo gene codifica per una DNA metil-transferasi, per cui una sua ridotta funzione porta ad un difetto globale di metilazione del DNA all'interno di queste cellule. L'ipometilazione del promotore di CD40 sul cromosoma X porta ad una sua aumentata espressione e all'instaurazione di un processo autoimmune (22).

3.3 Fattori ambientali

3.3.1 Silicio

Nel 1957 Erasmus riportò per la prima volta un'incidenza maggiore di SSc nei minatori d'oro rispetto alla popolazione generale (2/1000 vs 0,35/1000), ed è proprio da chi notò per primo questa associazione che prende il nome la cosiddetta sindrome di Erasmus. Essa viene definita come l'associazione tra esposizione a silicio, che può o meno causare silicosi, ed insorgenza di SSc (23).

Successivamente Rodnan et al. riportarono che in una serie di 150 casi di SSc, il 43% delle persone di sesso maschile affette (60 pazienti) avevano una lunga storia di esposizione professionale alla polvere di silicio (24).

Nel 2010 Z.D. McCormic et al. pubblicarono una metanalisi in cui vennero confrontati 16 diversi studi sull'associazione tra SSc ed esposizione professionale al silicio: il risultato fu quello di dimostrare che l'esposizione professionale al silicio è associata ad un aumento del rischio di insorgenza di SSc, soprattutto nei maschi, e soprattutto in forma cutanea diffusa (25).

3.3.2 Solventi organici

Un altro fattore di rischio che è stato ampiamente investigato e che è ritenuto essere associato all'insorgenza di SSc è l'esposizione a solventi organici. Reinl fu il primo

che descrisse questa associazione (26), successivamente vennero eseguiti una serie di studi casi controllo che sono stati poi presi in esame da una metanalisi pubblicata nel 2007 da Adrien Kettaneh et al. la quale ha permesso di concludere che nonostante la SSc colpisca principalmente le donne, tra i soggetti con esposizione professionale ai solventi, vi è un rischio di sviluppare SSc maggiore per gli uomini rispetto alle donne (27).

I solventi organici possono essere classificati in idrocarburi alifatici, aromatici e clorinati, tra questi ultimi ve ne è uno il cui ruolo nello sviluppo di SSc è particolarmente dibattuto, ovvero il tricloroetilene (28). Nietert et al. hanno osservato una correlazione tra l'esposizione a tricloroetilene e SSc (OR 4.4, 95% CI 1.3-15) (29), mentre Garabrant et al. non sono riusciti a dimostrare una significativa associazione tra l'esposizione a tricloroetilene e l'insorgenza di SSc (OR 2.29, 95% CI 0.95-5.71) (30).

Per quanto riguarda invece le altre classi di solventi, uno studio caso-controllo di I. Marie et al. ha mostrato una forte associazione tra l'esposizione a idrocarburi alifatici e aromatici e l'insorgenza di SSc, con rispettivamente 7.69 e 8.1 di OR (31). Un altro studio sempre di I. Marie et al. sostiene inoltre come l'esposizione a solventi organici si associ più frequentemente a forme diffuse di SSc rispetto ai pazienti non esposti (32).

3.3.3 Protesi mammarie

Più recentemente, Rubio Rivas et al. hanno pubblicato una metanalisi in cui per la prima volta si è riusciti a dimostrare un'associazione tra l'impianto di protesi mammarie in silicone e l'insorgenza di SSc: gli studi caso controllo presi in esame mostravano un overall OR di 1,68 (95%CI 1.65–1.71; $p < 0.001$) (33). Questo dato va però in contrasto con le 4 metanalisi precedenti che hanno provato a dimostrare un'associazione tra questi 2 fattori, inoltre va tenuto in considerazione il fatto che la chirurgia protesica mammaria è in continuo cambiamento, pertanto i materiali protesici odierni sono diversi da quelli utilizzati in passato (33).

3.3.4 Virus

Nel 4% dei pazienti con SSc sono stati ritrovati marker virali di parvovirus B19 nel sangue mentre solo nello 0,6% dei pazienti sani sono stati ritrovati tali marker (34).

Inoltre, in un'altissima percentuale (57%) di pazienti con SSc si ha la presenza di parvovirus B19 nel midollo osseo, in assenza di viremia positiva. Pertanto, il midollo osseo è il reservoir dal quale il virus può partire verso i tessuti target (35) (36) e infettare i fibroblasti, che in seguito all'infezione subiscono un cambiamento fenotipico che li porta a produrre tessuto fibroso (37).

Un altro agente virale che è stato recentemente associato all'insorgenza di SSc è EBV: nel 2017 A. Farina et al. hanno pubblicato uno studio che mostra come l'infezione da EBV induca un'aumentata espressione di TLR8 nei macrofagi di pazienti affetti da SSc e un aumento della produzione di IFN da parte dei linfociti Th1, lo squilibrio di queste due pathway porta ad un'iperattivazione macrofagica che è uno dei cardini della patogenesi della SSc (38).

Infine, sono riportati dei casi in letteratura di comparsa di SSc dopo un'infezione acuta da CMV che potrebbe quindi essere un possibile trigger di questa malattia. (39). Il CMV è in grado, infatti, di indurre la formazione di autoanticorpi anti-centromero (ACA), anti Scl-70 e anti RNA pol III (40).

4. Patogenesi

4.1 Generalità

I fattori che innescano il processo patogenetico non sono ancora stati ben identificati, tuttavia l'ipotesi più accreditata è che in un soggetto geneticamente predisposto vi sia un trigger di tipo infettivo o ambientale, come quelli citati sopra, che causi l'attivazione delle cellule del sistema immunitario, dell'endotelio e delle cellule fibrogeniche; queste cellule attivate causeranno poi infiammazione, fibrosi e danno endoteliale che non possono essere disinnescati dai fisiologici meccanismi di risoluzione (41).

Nella cute di pazienti con SSc sono presenti macrofagi, linfociti T e cellule dendritiche (42). Queste cellule producono citochine e chemochine con attività proinfiammatoria e profibrotica, inoltre avviano le cellule endoteliali ed epiteliali rispettivamente verso il processo di transizione endotelio-mesenchimale ed epitelio-mesenchimale, processi per mezzo dei quali le cellule epiteliali ed endoteliali acquisiscono un fenotipo simile a quello dei miofibroblasti (38).

4.2 Ruolo dell'interferone (IFN) e dei suoi regolatori

4.2.1 Interferon signature

Il siero di pazienti con SSc, quando combinato con estratti di antigeni nucleari in vitro, favorisce la produzione di IFN α IgG-mediata in cellule dendritiche plasmacitoidi. Questo effetto viene amplificato se si usa il siero di pazienti con anticorpi anti-Scl70 e quello di pazienti con dcSSc e fibrosi polmonare. Quindi Kim et al. con questo studio hanno dimostrato che l'aumento di IFN correla con il danno tissutale (43). Bos et al. invece hanno dimostrato come gli anticorpi anticentromero si associno ad un minore IFN signature, suggerendo quindi un probabile ruolo regolatorio in senso negativo sulla produzione di IFN da parte degli ACA (44).

L'attivazione delle cellule dendritiche tramite i TLR, in particolare TLR3, porta alla produzione di IFN (45). Nelle cellule dei pazienti affetti da SSc si ha un'up-regolazione dei geni IFN-sensibili detta "interferon signature" (46). L'interferon signature si ha in più del 50% dei pazienti, inoltre è presente soprattutto nelle early SSc, suggerendo quindi un ruolo dell'IFN nelle prime fasi della malattia (47). La presenza di IFN signature si associa con gli anticorpi anti Scl70 e con gli anti U1-RNP mentre non è associata alla presenza di anti RNA pol III (46). I geni up-regolati dal signalling dell'IFN di tipo 1 codificano per mediatori dell'infiammazione e della fibrosi come BAFF (B cell activating factor) e il protocollagene di tipo 3 (47).

A livello delle cellule endoteliali L'IFN di tipo I favorisce un'aumentata espressione di MxA, marker dell'attività dell'IFN di tipo I che correla con la presenza di ulcere digitali e che favorisce un aumento della permeabilità del microcircolo (44).

Nonostante la maggior parte degli autori suggeriscano un ruolo patogenetico dell'IFN, esistono in letteratura alcuni casi che mostrano come l'IFN β abbia un ruolo antifibrotico in pazienti affetti da fibrosi polmonare da bleomicina e in fibroblasti in vitro (48).

4.2.2 IRF

L'espressione dell'IFN I e il suo effetto sulle cellule target sono regolati dalle proteine IRFs (interferon regulator factors) mentre il signalling intracellulare

dipende dalle proteine della famiglia STAT, pertanto come detto anche precedentemente, mutazioni che agiscono a questo livello possono rendere il soggetto maggiormente predisposto allo sviluppo di SSc (49).

Tra le proteine della famiglia IRF, IRF5 è quella che sembra maggiormente associata allo sviluppo di SSc: è stato visto infatti come topi IRF5 knockout sviluppino una fibrosi bleomicina-mediata più attenuata rispetto ai topi WT, questo accade perchè l'effetto di IRF5 è quello di regolare l'espressione di diversi geni del collagene e delle metalloproteasi (MMP) (50). Nei topi IRF5 knockout si ha un aumento di citochine Th1 come IFN γ e una riduzione di IL-4 e IL-6, citochine Th2 (50). Saigusa et. al hanno mostrato come vi sia una disfunzione dei linfociti B e delle cellule endoteliali nei topi IRF5 KO, concludendo quindi che questa proteina agisce sulle 3 componenti principali della patogenesi della SSc: disregolazione del sistema immunitario, vasculopatia e fibrosi (50).

4.2.3 STAT4

Come per IRF5, allo stesso modo topi STAT4 KO erano protetti dalla fibrosi bleomicina-indotta, inoltre mostravano una minore induzione di citochine proinfiammatorie (51). STAT4 regola inoltre i livelli dell'IFN di tipo I e quelli dell'IL-12 e dell'IL-23, suggerendo un ruolo nella polarizzazione Th1/Th2 (52).

4.2.4 TLR4

TLR4 è upregolato nella cute e nei tessuti di pazienti affetti da SSc, inoltre la sua attivazione in fibroblasti in vitro causa un aumento della produzione di geni del collagene e un'augmentata risposta al signalling di TGF β (53). Topi TLR4 KO, allo stesso modo di coloro con IRF5 e STAT4 knockout, hanno una minore probabilità di sviluppare fibrosi polmonare bleomicina-indotta (54). L'iperattivazione di TLR4 causa un aumento di IFN, tuttavia non è detto che sia questo il meccanismo con cui l'iperattivazione di TLR4 causi la fibrosi: bisogna tenere conto che l'attivazione di TLR4 attiva a valle diversi fattori di trascrizione (NF- κ B su tutti, e di 'adattatori' come MyD88, TRIF o TRAM, pertanto il ruolo degli adattatori specifici e dei mediatori a valle, rimane ancora da determinare (55).

4.3 Ruolo dei macrofagi

I macrofagi sono altre cellule che hanno un ruolo importante nella patogenesi della SSc: si possono ritrovare infatti infiltrati di cellule CD68+ (marker dei macrofagi) sottotipo M2 nelle regioni perivascolari e tra le fibre di collagene in pazienti con SSc (56). I macrofagi possono essere stimolati tramite i TLR e la loro attivazione, in particolare verso il sottotipo funzionale M2, che può favorire la produzione di sostanze profibrotiche come IL-13, TGF β e PDGF oltre che chemochine come CCL19 che stimolano l'attivazione dei macrofagi (41).

4.4 Ruolo dei linfociti T

4.4.1 linfociti T CD4+ Th2, Th17 e Treg

Mavilia et al. hanno analizzato il pattern citochinico dei linfociti T infiltranti la cute di pazienti con SSc, ed hanno scoperto che i linfociti T hanno un pattern di tipo Th2, ovvero producono IL-4- IL-5 ed IL-13. Inoltre, la grande maggioranza dei pazienti aveva nel siero elevati livelli di CD30, un membro della superfamiglia dei TNF receptors (57).

Boin et al. confrontando il numero di recettori delle chemochine associati alla risposta di tipo Th1 con quelli associati alla risposta di tipo Th2 trovarono anche loro un maggior numero di linfociti T Th2-polarizzati, inoltre questa polarizzazione era più pronunciata in pazienti con ILD e con una ridotta FVC (58). A favorire la polarizzazione verso il fenotipo Th2 sembra essere il fattore di trascrizione GATA3 (45).

Un aumento dei livelli di IL-13 nel siero correla clinicamente con diversi tipi di quadri capillaroscopici (59) ; l' IL-13 è inoltre in grado di indurre i macrofagi a produrre TGF- β ma può favorire la fibrosi anche con meccanismi TGF- β indipendenti (60).

L'IL-4 viene invece considerata una potente citochina profibrotica per la sua capacità di promuovere la proliferazione dei fibroblasti e la sintesi di proteine della matrice extracellulare come il collagene e la tenascina, è inoltre in grado di stimolare la produzione di TGF- β e di contribuire all'infiltrazione di cellule

mononucleari up-regolando l'espressione delle molecole di adesione delle cellule endoteliali (61).

Il ruolo specifico di altri subset di linfociti T rimane indefinito, tuttavia si pensa che i linfociti Th17 abbiano un ruolo importante in diverse malattie autoimmuni come l'AR, la psoriasi e la sclerosi multipla. Studi su sangue periferico e broncolavaggio alveolare rivelano la presenza di diversi linfociti T CD4⁺ produttori IL-17 e livelli maggiori di IL-17 correlano con gli stadi della malattia più precoci (62).

Radstake et al. notarono invece come nonostante vi fosse un aumento del numero di cellule T regolatorie nel sangue periferico di pazienti con SSc, queste cellule avevano un ridotto profilo di attivazione e quindi una minore attività immunosoppressiva (63).

4.4.2 Linfociti T CD8⁺

Anche i linfociti T CD8⁺ hanno un incremento della produzione di IL-13 che è correlato a livello clinico con un aumento del grado di fibrosi e che è più pronunciato nei pazienti con dcSSc. La presenza di questi linfociti T CD8⁺ produttori elevate quantità di citochine di tipo Th2 correla inoltre con un maggiore declino della funzione polmonare (64).

4.5 Ruolo dei linfociti B

In alcuni pazienti con SSc si ha un'ipergammaglobulinemia, e un aumento delle catene leggere di immunoglobuline, questo dimostra come i linfociti B siano iperattivi (65). Inoltre, si ha un aumento del 54% dell'espressione di CD19 (recettore di stimolo per i linfociti B) in pazienti con forme early di SSc mentre solo nel 28% dei pazienti con una malattia in fase avanzata (66). BAFF, un fattore di sopravvivenza per i linfociti B, è iperespresso nei linfociti B di pazienti con SSc (67).

4.5.1 Autoanticorpi

L'iperattività dei linfociti B è messa in evidenza anche dalla presenza di diversi tipi di autoanticorpi associati alla malattia. I linfociti B possono indurre fibrosi sia in maniera diretta producendo TGFβ che in maniera indiretta tramite la produzione di IL-6: l'IL-6 favorisce poi la produzione di collagene (68).

L'anticorpo anti-topoisomerasi I e gli anti-centromero sono anticorpi malattia specifici e sono associati rispettivamente alle forme dcSSc e lcSSc. Gli anticorpi anti RNA pol III sono anch'essi associati a dcSSc (69). Gli anti-topoisomerasi I riconoscono il loro target che viene rilasciato dalle cellule endoteliali apoptotiche, a questo punto gli immunocomplessi topoisomerasi I-anti-topoisomerasi permettono non solo l'adesione e l'attivazione dei monociti ma si legano anche sulla membrana dei fibroblasti attivando in maniera duplice la cascata fibrogenica. (70).

Altri anticorpi che si pensa abbiano un ruolo nella patogenesi ma che non vengono indagati nella pratica clinica sono gli anti PDGFR, i quali stimolano l'attivazione e la produzione di collagene da parte di fibroblasti umani in vitro (71).

I linfociti B inoltre possono lavorare come APC e, insieme alle cellule dendritiche, fornire uno specifico segnale di co-stimolo ai linfociti T al fine di innescare la produzione di IL-12 che permette di avviare la differenziazione verso il fenotipo Th2. Possono inoltre produrre citochine come IL-2 e IL-10 che non solo favoriscono il differenziamento in senso TH2 ma impediscono anche le vie alternative di differenziamento per i linfociti T (72).

4.5.2 Breg

Recentemente Mizoguchi et al. hanno coniato il termine B-reg per descrivere linfociti B che producono IL-10, citochina che in questo primo studio sembrava inibire l'attività di malattia in pazienti con IBD (73). Il primo a studiare il ruolo dei Breg nella SSc è stato il gruppo di Mavrapoulos che ha presentato uno studio al congresso EULAR 2015 in cui mostrava come i Breg, nei pazienti con SSc, fossero fenotipicamente e funzionalmente alterati, inoltre erano anche diminuiti di numero (74).

4.6 Vasculopatia

La disregolazione del tono vascolare e le anomalie del microcircolo sono le manifestazioni più precoci della SSc e si manifestano clinicamente con il fenomeno di Raynaud, ovvero il vasospasmo, che può precedere la fibrosi di mesi o anni (75).

4.6.1 Fase iniziale della vasculopatia

Nelle fasi iniziali, la permeabilità e la funzione antitrombotica dell'endotelio sono alterate: questo porta ad edema, adesione dei leucociti e delle piastrine e ad infiltrati infiammatori perivascolari che sono rappresentati clinicamente dall'edema delle dita (puffy hands); le cellule endoteliali sono rigonfie e retratte, vi è la perdita delle giunzioni intercellulari e molte cellule endoteliali vanno incontro a necrosi o ad apoptosi. (76). L'attivazione delle cellule endoteliali altera il rapporto tra vasocostrittori e vasodilatatori a favore dei primi, in particolare si è visto un aumento dei livelli di ET-1 che favorisce la proliferazione delle cellule muscolari lisce della tonaca media vasale e l'attivazione dei fibroblasti (77).

4.6.2 Fase atrofica

È importante sottolineare che tutte queste anomalie sono dimostrabili solo nella fase early edematosa (puffy hands) della SSc e spesso non sono presenti nella fase cronica (fase atrofica) (76). Il coinvolgimento del microcircolo causa episodi ricorrenti di danno da ischemia-riperfusion, che a lungo andare determinano una perdita di elasticità dei vasi, inoltre la media e l'avventizia diventano fibrotiche e questo causa l'occlusione delle piccole arterie, dovuta anche all'attivazione piastrinica, che facilita eventi trombotici (75). Il duplice meccanismo di occlusione descritto sopra è alla base delle manifestazioni d'organo severe come le ulcere o la gangrena digitale, l'ipertensione polmonare e la crisi renale sclerodermica, che aumentano significativamente la morbilità e la mortalità (75).

4.6.3 Reperti capillaroscopici

In caso di Raynaud primario la capillaroscopia mostra una disposizione regolare dei loops capillari, nessuna ectasia capillare anomala e neanche perdita quantitativa di capillari. Se ci si trova davanti ad un Raynaud secondario invece la capillaroscopia è in grado di mostrare anomalie di diverso tipo che sono indice di danno microvascolare, ad esempio microemorragie, capillari giganti, perdita di capillari e presenza di area avascolari accompagnate da neoangiogenesi (78).

4.6.4 Ruolo del CMV e degli anticorpi anti-cellule endoteliali (AECA)

È stato anche suggerito da Lunardi C et al. che alcuni epitopi di CMV possano cross- reagire contro le cellule endoteliali ed indurre la loro apoptosi (79).

Dal 22 all'86% dei pazienti con SSc presenta anticorpi anti-cellule endoteliali, tuttavia non è ancora stato chiarito se siano parte del meccanismo patogenetico primario che porta al danno endoteliale o se siano la conseguenza del danno endoteliale (80).

4.6.5 Signalling del VEGF

Sorprendentemente, Il vascular endothelial growth factor (VEGF) è fortemente overespresso nella cute di pazienti con SSc, inoltre i suoi livelli sierici variano nelle diverse fasi della malattia. I livelli sierici sono aumentati sia in pazienti con ulcere digitali che in quelli senza ulcere digitali, tuttavia questi ultimi sembrano avere livelli più bassi di VEGF suggerendo quindi un effetto protettivo da parte del VEGF nei confronti delle ulcere digitali (81). Oltre ai livelli di VEGF, quello che conta è anche la cinetica di espressione del VEGF: se l'up-regolazione è troppo breve o troppo prolungata i vasi neoformati sono instabili, ad esempio si può avere la fusione di vasi in maniera incontrollata che esita poi in un network vascolare caotico fatto di capillari giganti (82).

4.6.6 Progenitori delle cellule endoteliali (EPC)

L'angiogenesi è definita come la creazione di nuovi vasi a partire dallo sprouting delle cellule endoteliali mature pre-esistenti mentre la vasculogenesi è la formazione di vasi a partire dai progenitori delle cellule endoteliali circolanti (EPC). Questi progenitori vennero inizialmente identificati da Asahara et al. in campioni di sangue umano nel 1997, i biomarker di queste cellule sono CD34⁺/VEGFR⁺, tuttavia successivamente si notò come anche le cellule endoteliali danneggiate potessero presentare questi marker e quindi venne inclusa anche la positività a CD133 come marker caratterizzante delle EPC, nonostante il suo utilizzo sia molto controverso (83).

Hur et al. scoprirono a questo punto che in vitro crescevano due sottotipi di EPC in base al picco di crescita, le early EPC e le late EPC: le prime avevano un picco di

crescita a 2-3 settimane, le seconde invece a 4-8 settimane. Entrambi i sottotipi di EPC sembravano avere capacità vasculogenica in vivo (84). Tuttavia, studi successivi come quello di Hirschi K. et al. hanno messo in evidenza come solo le late EPC potessero prendere parte al processo di vasculogenesi in vivo, pertanto questo sottogruppo venne chiamato endotely colony forming cells (ECFCs) (85).

Il ruolo delle EPCs nella SSc è ancora dibattuto, infatti alcuni studi hanno dimostrato che le EPC siano significativamente diminuite in pazienti con SSc mentre altri studi hanno riscontrato un loro aumento nelle prime fasi della malattia. Una conta più bassa di EPC è associata a ad una maggiore durata di malattia, un più alto Medsger score e ad ulcere digitali (83).

4.7 Fibrosi

La fibrosi è il terzo elemento cardine della patogenesi della SSc e colpisce non solo la pelle ma anche i polmoni, il tratto gastrointestinale, il cuore, i tendini ed i legamenti. LeRoy fu il primo nel 1970 a dimostrare che fibroblasti espianati dalla cute di soggetti con SSc producessero collagene in eccesso rispetto ai fibroblasti di pazienti sani (86).

4.7.1 Analogia con il meccanismo di riparazione delle ferite

Il meccanismo responsabile della fibrosi è lo stesso della riparazione delle ferite, che fisiologicamente è strettamente regolato ed autolimitante. Nei pazienti con SSc si ha la perdita dei meccanismi regolatori di questo processo causata da una serie di citochine, antagonisti recettoriali, recettori intracellulari e miRNAs. Una volta iniziata, la fibrosi è amplificata da meccanismi di feedforward che sono generati come conseguenza del danno tissutale, di un'aumentata stiffness della matrice, dell'ipossia, dello stress ossidativo e dell'accumulo di DAMPs che promuovono l'attivazione e la differenziazione dei fibroblasti tramite le vie di segnale dell'immunità innata (87).

4.7.2 Ruolo dei miofibroblasti

Studi successivi mostrarono come, in coltura, i fibroblasti di pazienti con SSc secernessero diverse citochine e chemochine ed esprimessero i recettori per TGF- β , PDGF e CCL2.

Si differenziano poi in miofibroblasti che mostrano una maggiore adesione alla matrice extracellulare e proprietà contrattili (87). I miofibroblasti sintetizzano collagene ed altre componenti della matrice extracellulare e sono anche la maggiore fonte di TGF- β durante la risposta fibrotica. Nella riparazione delle ferite possono essere rilevati in maniera transiente nel tessuto di granulazione. La loro rimozione mediante apoptosi è uno step cruciale affinché si abbia la risoluzione del processo di guarigione. Nel caso in cui i fibroblasti rimangano in sede, si avrà una fibrogenesi patologica che esiterà in una cicatrice cronica (88).

4.7.3 miRNA e fibroblasti

Britta Maureer et al. hanno dimostrato come anche i microRNA abbiano un ruolo nel favorire l'iperproduzione di collagene, in particolare è stato visto che miR-29 è fortemente down-regolato nei fibroblasti di pazienti con SSc. La trasfezione di miR-29a è associata ad una riduzione significativa dell'attività della luciferasi, enzima importante per la produzione di collagene, inoltre gli stimoli visti precedentemente che attivano i fibroblasti (TGF- β , PDGF) riducono i livelli di miR-29a (89).

4.7.4 Contributo del sistema immunitario allo sviluppo della fibrosi

Il sistema immunitario innato ha un ruolo non solo nella componente di disregolazione immunitaria ma anche nella fibrogenesi: l'IFN di tipo 1 stimola l'espressione di TLR3 e le vie di segnale a valle di questo recettore nei fibroblasti di pazienti con e senza SSc (90). Utilizzando un ligando sintetico per il recettore TLR3 è possibile indurre l'espressione di diversi geni della matrice extracellulare in fibroblasti in vitro, inoltre la somministrazione cronica di questo ligando induce fibrosi del derma nei topi (91).

4.7.5 Ruolo del TGF- β

Una citochina fondamentale nel processo patogenetico della SSc è il TGF- β . Il signalling di questa proteina è mediato da un complesso di proteine chiamate Smad, in particolare Smad2 e Smad3 si legano al recettore del TGF- β , vengono fosforilate e formano poi un complesso con Smad4 che permette all'intero agglomerato proteico di traslocare nel nucleo ed attivare l'espressione di specifici geni come quelli delle catene $\alpha 1$ e $\alpha 2$ del collagene o di proteine regolatrici della matrice (92).

TGF- β è importante non solo nel processo di transizione epitelio mesenchimale che si ha nella fisiologica guarigione delle ferite come detto sopra, ma anche nella patogenesi delle patologie caratterizzate da una fibrosi patologica. I livelli di TGF- β sono aumentati nei pazienti con SSc, tuttavia questo dato non significa necessariamente che sia aumentata anche l'attività di questa proteina. L'attività del TGF- β è difficilmente misurabile perché durante l'estrazione, il TGF- β latente si attiva falsando i dati (93). Un aumento della quantità di TGF- β circolante si associa ad un'aumentata espressione dei geni TGF β -regolati come CTGF e SERPINE1, che codificano rispettivamente per il connective tissue growth factor (CTGF) e PAI (plasminogen activator inhibitor 1): il primo favorisce la transizione epitelio-mesenchimale mentre il secondo la fibrosi polmonare TGF- β indotta (93).

I livelli di TGF- β sono difficilmente correlabili alla clinica, ad esempio in un uno studio si è trovata una correlazione inversa tra i livelli di TGF- β e il modified Rodnan skin score (mRSS), nonostante studi precedenti mostrassero il contrario (94). Ciò che sembra essere maggiormente correlabile alla clinica, ed in particolare ai valori di mRSS e alla comparsa di ILD, sembrano essere l'estensione dell'infiltrazione miofibroblastica e l'espressione dei geni responsivi a TGF- β (95,96).

Guofei Zhou et al. hanno dimostrato che a livello delle cellule epiteliali alveolari polmonari l'ipossia causa un aumento dei livelli di TGF- β 1, questa citochina è quella che media poi la transizione epitelio mesenchimale delle cellule epiteliali alveolari che assumono i marker tipici dei miofibroblasti (α -SMA e vimentina) e perdono invece i marker delle cellule epiteliali come le E-caderine (97).

4.7.6 Ruolo dei recettori per il TGF- β e delle integrine TGF- β attivanti

Livelli elevati dei recettori di tipo 1 e tipo 2 per il TGF- β e di integrine TGF- β attivanti, nonostante l'assenza di stimoli esterni, suggeriscono che vi sia una stimolazione autocrina che permette il mantenimento di un fenotipo attivato (87). La sola inibizione del recettore di tipo 1 riduce ma non normalizza del tutto l'attivazione fibroblastica, pertanto, si pensa che la stimolazione autocrina è sostenuta da vie non canoniche di attivazione di TGF- β , ovvero da vie Smad2/3 indipendenti. In base a quanto visto quindi, bersagliare TGF- β potrebbe essere

un'opzione farmacologica per trattare la SSc, tuttavia TGF- β è implicato anche in diversi processi fisiologici quindi per evitare degli effetti tossici conviene agire sugli effettori a valle in modo da avere una maggiore selettività (87).

5. Manifestazioni cliniche e diagnosi

5.1 Interessamento cutaneo

Nella forma cutanea diffusa, un coinvolgimento cutaneo maggiore coincide con delle manifestazioni d'organo più severe, una prognosi peggiore e un aumento della disabilità. Obiettivamente, a causa dell'ispessimento cutaneo causato dalla deposizione del collagene, diventa impossibile plicare la cute in maniera tale da ottenere una piega cutanea. Dopo la fase dell'ispessimento cutaneo vi è quella dell'indurimento, infine, nella fase finale della malattia, la cute diventa atrofica e adesa al tessuto sottocutaneo (98).

5.1.1 Modified Rodnan skin score (mRSS)

Al momento il gold standard per misurare l'ispessimento cutaneo è il modified Rodnan skin score (mRSS) che si basa sulla palpazione e plicazione cutanea. La sua efficacia è stata dimostrata da un trial multicentrico. Il mRSS va stimato all'inizio e ad ogni visita di follow up in modo da valutare l'andamento della malattia. Questo metodo, seppur semplice, richiede esperienza e un attento processo di insegnamento in modo da rendere le misurazioni tra i diversi operatori concordi. Un'altra criticità del mRSS è il fatto che non permette di differenziare la fase di ispessimento da quella di indurimento e adesione della cute al sottocute (99).

Il mRSS può essere utilizzato anche come un indicatore di risposta al trattamento nelle forme cutanee diffuse, nonostante possa migliorare anche nel gruppo placebo, indicando quindi che nel corso della storia naturale della malattia vi può essere un miglioramento spontaneo dello skin score. Recentemente è stato scoperto che non c'è una relazione semplice e lineare tra l'evoluzione della malattia e lo skin score: pazienti che mostravano un mRSS ≥ 35 nel primo anno senza mostrare alcun tipo di miglioramento nel corso della malattia hanno un aumento della mortalità, se comparati ai casi di dcSSc con un basso mRSS durante il primo anno ma che cresceva poi con l'evolvere della malattia. Inoltre, a complicare il quadro vi è il

fatto che alcuni pazienti con skin score elevato ($mRSS \geq 35$) non sviluppano complicanze d'organo severe (100).

5.2 Interessamento vascolare

5.2.1 Fenomeno di Raynaud

Il fenomeno di Raynaud è definito come un cambiamento nel colore delle estremità episodico in risposta al freddo o a stress emotivi. Di solito si manifesta con la classica sequenza trifasica in cui si osservano le dita bianche (ischemia), blu (cianosi) e rosse (iperemia) (101).

Il fenomeno di Raynaud si manifesta nel 90% dei pazienti con SSc e può precedere la diagnosi di lcSSc anche di anni mentre si manifesta entro un anno dall'esordio dell'interessamento cutaneo in pazienti con dcSSc (102).

Il fenomeno di Raynaud viene classificato in primario e secondario: il termine "primario" viene usato per indicare un Raynaud che non è causato da una precisa patologia sottostante, ma piuttosto da stimoli ambientali come il freddo o stress emozionali, i quali determinano a loro volta la vasocostrizione delle arterie digitali, responsabile del tipico pallore e della cianosi della porzione distale delle dita (103). Il Raynaud secondario può essere causato invece da malattie reumatiche autoimmuni (connettiviti o vasculiti), farmaci quali i beta bloccanti o la clonidina e condizioni associate ad un aumento della viscosità plasmatica e ridotta perfusione digitale, ad esempio crioglobulinemie o fenomeni paraneoplastici (104).

Il management dei pazienti che si presentano con fenomeno di Raynaud di nuova insorgenza prevede innanzitutto un'anamnesi farmacologica e lavorativa accurata, poi bisogna fare un esame obiettivo scrupoloso volto a ricercare possibili altri segni di sclerodermia come l'indurimento cutaneo o le lesioni digitali ischemiche.

Le indagini laboratoristiche che vanno richieste sono VES, PCR, ANA e test volti ad indagare la funzionalità renale, epatica e tiroidea. Bisogna anche eseguire un'elettroforesi nel sospetto di una paraproteinemia, il dosaggio del complemento e una RX torace per escludere una sindrome della costa cervicale. A volte può essere necessario eseguire una termografia per fare diagnosi differenziale tra acrocianosi e fenomeno di Raynaud (102).

5.2.2 Puffy hands

Una delle prime manifestazioni della SSc sono le puffy hands, dovute all'edema sottocutaneo delle mani, detto anche scleredema (105).

Il rigonfiamento delle mani e delle dita contribuisce notevolmente a ridurre la qualità di vita e a compromettere le attività quotidiane. Si pensa in realtà che nelle forme very early della SSc vi sia una fase in cui la cute è edematosa e che questa fase preceda la fase della fibrosi conclamata. La fase edematosa inizia a livello del volto e successivamente si diffonde alle estremità e al tronco (106).

Le puffy hands insieme al fenomeno di Raynaud e alla positività agli ANA permettono di avanzare il sospetto di una very early SSc, la diagnosi verrà poi confermata dagli autoanticorpi SSc specifici e da un pattern capillaroscopico anormale (107).

Dopo la fase edematosa insorge la fase di sclerosi (sclerodattilia), tuttavia in alcuni pazienti con lcSSc si continuano ad avere delle puffy hands senza progressione verso una sclerodattilia franca. In stadi più tardivi della malattia, di solito dopo 5 anni, i pazienti con SSc iniziano ad avere un riassottigliamento cutaneo conosciuto come fase atrofica (108).

5.2.3 Ulcere digitali

Uno studio prospettico multicentrico come quello di Luc Mouthon et al. che ha coinvolto 53 centri e 190 pazienti, ha mostrato come la percentuale di pazienti che manifestano UD sia di circa il 55%, inoltre le UD sono spesso il primo sintomo non Raynaud della SSc (109).

I. Silva et al. in una review sistematica pubblicata nel 2015 riportano che la variante diffusa di SSc e un esordio precoce del FR siano i due fattori di rischio maggiormente associati alla presenza di ulcere digitali nella maggior parte delle coorti prese in esame. Anche la comparsa precoce di sintomi non correlati al FR e un'estensione importante della fibrosi cutanea sono dei forti predittori di ulcere digitali. Gli autoanticorpi maggiormente associati alle ulcere digitali sono gli anti-topoisomerasi I, il pattern capillaroscopico maggiormente associato invece è il "late scleroderma pattern" (110).

Anche le ulcere digitali, come le puffy hands, causano un aumento della mortalità e della disabilità, oltre che una compromissione delle attività quotidiane (111).

Nonostante nella review sistematica di I. Silva il fumo non venisse considerato come un fattore di rischio nella maggior parte degli studi presi in esame (110), vi sono comunque molti altri studi che invece dimostrano il contrario, ovvero che il fumo di sigaretta è un fattore di rischio importantissimo. Ad esempio, in uno studio caso-controllo di Beverly J Harrison et al. viene riportato che i pazienti “current smoker” avevano una maggiore probabilità di dover effettuare un debridement chirurgico (OR 4.5, 95% CI 1.1–18.3) o di dover ricevere un trattamento con vasodilatatori (OR 3.8, 95% CI 1.1–12.9) rispetto ai pazienti “never smoker” (112).

In casi più gravi, l’impegno vascolare può esitare nella gangrena digitale. Allanore Y. et al. hanno studiato questa manifestazione clinica nei pazienti con SSc e storia di ulcere digitali o con ulcere digitali attive. Quello che hanno scoperto è che la gangrena si manifesta in circa il 18% della popolazione studiata e che i fattori di rischio maggiormente associati sono “presenza di 3 o più ulcere digitali”, fumo, precedenti episodi di gangrena (113).

5.2.4 acro-osteolisi

Con acro-osteolisi si intende un lieve ma progressivo riassorbimento osseo (osteolisi) della falange distali di mani e piedi che porta ad una riduzione della lunghezza delle dita. Il gold standard per la diagnosi di acro-osteolisi è l’RX, nonostante l’ecografia abbia dei valori di sensibilità simili. La patogenesi dell’acro-osteolisi non è chiara, tuttavia l’ischemia digitale sembra avere un ruolo centrale. Anche un aumento della formazione degli osteoclasti e livelli elevati di VEGF sembrano essere fattori associati allo sviluppo di SSc in pazienti con SSc (114).

5.2.5 Calcinosi

La calcinosi consiste nella deposizione di idrossiapatite nel tessuto sottocutaneo o intracutaneo. Circa il 20-40 % di pazienti con SSc presentano questa manifestazione clinica, i depositi si trovano in zone sottoposte a pressione, ad esempio a livello delle dita, dei gomiti, delle ginocchia e delle tuberosità ischiatiche. La calcinosi compare soprattutto in pazienti con lcSSc e con anticorpo anticentromero, tuttavia anche pazienti con la forma cutanea diffusa possono sviluppare calcinosi

importanti. La patogenesi della calcinosi è sconosciuta, tuttavia si sa che non è correlata ad ipercalcemia o iperfosfatemia (115).

Le principali ipotesi patogenetiche avanzate attribuiscono un ruolo preponderante all'infiammazione e all'ischemia vascolare. Nei pazienti con dermatomiosite giovanile e calcinosi si hanno livelli più elevati di IL-1, IL-6 e TNF- α , pertanto si è ipotizzato che queste interleuchine avessero un ruolo anche nei pazienti con SSc. Inoltre, è stata riscontrata una forte associazione tra calcinosi e vasculopatia, infatti la calcinosi si presenta più frequentemente in pazienti con ulcere digitali. L'ischemia e l'infiammazione causano quindi un imbalance tra i fattori favorenti ed inibenti la deposizione di questi sali (115,116).

In alcuni casi le calcinosi, soprattutto quelle più superficiali, possono ulcerare la cute e causare delle infezioni secondarie. Bartoli F. et al. riportano come nel loro studio di coorte retrospettivo che ha preso in esame pazienti con e senza calcinosi, coloro che presentavano calcinosi erano il 46% e circa il 50% di questi aveva ulcere secondarie alla calcinosi. Questo dato è importante perché queste ulcere non solo sono dolorose per i pazienti, ma possono anche infettarsi e ritardare il processo di guarigione (117).

Bartoli et al propongono inoltre di suddividere le calcinosi in 4 subset specifici: "mousse" per indicare le calcinosi visibili; "net" per indicare le calcinosi palpabili ma non visibili; "plate" per indicare calcinosi visibili o palpabili che non richiedono necessariamente un RX di conferma; "stone" per indicare tutte quelle calcinosi che possono essere visibili o palpabili ma che richiedono un RX di conferma (117).

La radiografia aiuta molto per diagnosticare la presenza di calcinosi non clinicamente visibili e per confermare la presenza di calcinosi sospette. Nel 2014 Chung L. et al hanno proposto uno score radiografico per le calcinosi delle mani che prende in considerazione 22 localizzazioni anatomiche, in entrambe le mani, nelle quali si possono avere le calcinosi. Lo score tiene conto anche della percentuale di area che è ricoperta di calcio e la densità della calcificazione in una scala che va da 1 a 3. Secondo gli autori questo score, nonostante richieda ulteriori test di validazione, è uno strumento sufficientemente affidabile che permette di stabilire la severità della calcinosi (118).

5.2.6 Teleangectasie

Le teleangectasie sono vasi sanguigni superficiali dilatati, che collassano alla pressione e si riempiono lentamente quando la pressione viene rilasciata. Nei pazienti con SSc si possono trovare sulle mani, sulle labbra o all'interno della bocca. Si distinguono dagli spider nevi per il fatto che questi ultimi presentano un riempimento rapido quando la pressione viene rilasciata (119).

Il meccanismo che porta a sviluppare le teleangectasie è sconosciuto, tuttavia si pensa che la presenza di teleangectasie debba essere considerata come un marker di lesioni vascolari sistemiche e di un anomalo rimodellamento vascolare (120).

Hurabielle C. et al. in uno studio cross-sectional volto a valutare l'associazione tra la presenza di teleangectasie, pattern capillaroscopici e altre manifestazioni cliniche della malattia, hanno creato dei subset per identificare la gravità delle teleangectasie: pazienti con meno di 10 teleangectasie rientravano all'interno del fenotipo "minor or moderate C" pazienti con più di 10 teleangectasie rientravano all'interno del fenotipo "profuse CT" mentre teleangectasie > 5 mm di diametro erano definite come "teleangectasie pseudotumorali". Quello che è stato scoperto da questo gruppo è che i fenotipi profuse CT e teleangectasie pseudotumorali si associano alla perdita di capillari e ad un'angiogenesi severa, entrambi marker del pattern "scleroderma late". Inoltre, il fenotipo profuse CT si associa alla presenza di ulcere digitali (OR 2.95, [95% CI 1.09–19.63]) mentre le teleangectasie pseudotumorali si associano alla presenza di ipertensione polmonare pre-capillare (OR 12.60 [95% CI 1.68–94.53]) (121).

Più o meno nello stesso periodo Zhang S. et al. riportavano gli stessi risultati del gruppo francese, ovvero che le teleangectasie si associano alla presenza di ulcere digitali, fenomeno di Raynaud e ipertensione polmonare pre-capillare (120).

5.3 Interessamento muscoloscheletrico

5.3.1 coinvolgimento non articolare

L'interessamento scheletrico nella SSc può essere di tipo articolare o non articolare, il principale tipo di interessamento non articolare è dato dall'osteoporosi. I Pazienti con SSc hanno un aumentato rischio di osteoporosi a causa dello stato

infiammatorio cronico, della menopausa precoce, del malassorbimento e della malnutrizione occulta (122).

In una coorte di pazienti francesi l'insorgenza di osteoporosi e fratture era aumentata rispetto ai controlli sani ed era paragonabile all'elevata prevalenza che si riscontra in pazienti con artrite reumatoide. A favorire l'insorgenza di fratture inoltre erano principalmente l'età e la carenza di vitamina D, pertanto è fondamentale assicurare un adeguato apporto di vitamina D alle donne affette da SSc (123).

5.3.2 coinvolgimento articolare

Il coinvolgimento muscoscheletrico è una delle cause maggiori di disabilità. Le forme early SSc si presentano spesso con un'artropatia simmetrica e con uno spettro di manifestazioni cliniche che varia da una minima artralgia fino ad una poliartrite clinicamente indistinguibile dall'artrite reumatoide.

I sintomi articolari sono presenti nel 12-66% dei pazienti all'esordio della malattia e circa nel 24-97% dei pazienti durante lo sviluppo della malattia. La manifestazione clinica predominante è l'artralgia; meno frequentemente si può avere lo sviluppo di artrite, contratture in flessione, aumento della stiffness e coinvolgimento delle guaine tendinee (124).

Alcuni pazienti mostrano l'interessamento dell'articolazione temporomandibolare che causa poi delle difficoltà nel nutrirsi (125).

Baron M. et al. nel 1982 presero in esame 38 pazienti con SSc che presentavano coinvolgimento articolare e constatarono che il 60% avesse un esordio insidioso piuttosto che acuto. Circa il 60 % aveva segni di infiammazione articolare mentre il 45% aveva delle limitazioni nei movimenti articolari. Il dolore era intermittente o cronico remittente, ovvero con sintomi persistenti ma con brevi periodi di remissione, in circa il 60% dei casi. Il pattern più frequente era di tipo simmetrico e poliarticolare mentre il 22% dei pazienti aveva un pattern oligoarticolare. Le articolazioni più colpite erano le metacarpofalangee, le interfalangee distali e prossimali, il polso e il ginocchio; in quest'ultimo caso spesso vi era anche un piccolo versamento articolare, che era assente nel coinvolgimento delle altre articolazioni (126).

Ancora Avouac J. et al. hanno valutato i tipi di interessamento articolare che interessano i pazienti con SSc sulla base di dati presi da EUSTAR: quello che hanno scoperto è che circa il 70% dei pazienti reclutati manifestavano un interessamento di tipo articolare, il 16% aveva delle franche sinoviti, l'11 % dei tendon friction rubs e il 31% delle contratture. Queste 3 manifestazioni cliniche erano inoltre presenti in maggior misura nei pazienti con la forma cutanea diffusa ed erano anche associate ad interessamento d'organo più severo. La sinovite può presentarsi in qualsiasi momento della malattia ma è più frequente nelle fasi iniziali, è inoltre maggiormente associata alla forma cutanea diffusa piuttosto che alla forma cutanea limitata (127).

5.3.3 Esami di laboratori per il coinvolgimento articolare

Vi sono inoltre studi in letteratura che riportano un'associazione tra sinovite ed elevati valori delle proteine di fase acuta ($VES \geq 28$ mm/h e $PCR \geq 10$ mg/l), questo suggerisce che il coinvolgimento articolare potrebbe essere associato all'infiammazione sistemica (128).

5.3.4 Imaging articolare

La Montagna G. et al. hanno suddiviso l'aspetto radiologico dei pazienti con coinvolgimento articolare in 3 pattern: infiammatorio, degenerativo e fibrotico. Il pattern infiammatorio si presenta con osteoporosi iuxtarticolare, riduzione dello spazio articolare dell'interfalangea prossimale e/o delle articolazioni carpali, con o senza contrattura in flessione digitale. Il pattern degenerativo può coinvolgere sia le interfalangee distali che le prossimali oltre che le ossa del tarso e si manifesta con le caratteristiche radiologiche dell'artrosi. Il pattern fibrotico periarticolare invece si manifesta con contrattura in flessione digitale e riduzione della rima articolare, con o senza sclerosi subcondrale. È stata inoltre riscontrata un'associazione tra la gravità del pattern fibrotico, ed in particolare della contrattura digitale in flessione, e la severità dello skin score (129).

Avouac J. et al. in uno studio il cui obiettivo era esaminare le manifestazioni radiologiche delle mani di pazienti con SSc stimavano una prevalenza del 21%. Solo 2 pazienti su 25 con erosioni articolari soddisfacevano i criteri per un'artrite reumatoide classica, i restanti 20 pazienti avevano un'artrite erosiva primaria che

non era spiegata dall'overlap con l'artrite reumatoide, come suggerito da La Montagna et al. Tuttavia, 18 di questi 25 pazienti con erosioni avevano cambiamenti di tipo erosivo a livello dell'articolazione interfalangea distale, compatibili con artrite erosiva; inoltre, la maggior parte di queste donne erano in post menopausa e quindi maggiormente predisposte all'artrite erosiva. Dunque, nonostante fosse stata esclusa la possibilità di overlap con l'artrite reumatoide, non sono riusciti ad escludere la possibilità di un'artropatia non correlata alla SSc (130).

5.3.5 Coinvolgimento tendineo

L'interessamento tendineo è descritto come un crepitio alla palpazione del ginocchio, del polso, delle dita o delle caviglie, correlato al deposito di fibrina sulla superficie delle guaine tendinee e sulla fascia sovrastante (131).

Nella gamba lo sfregamento tendineo è localizzato di solito ai tendini del tibiale anteriore e del tendine di Achille, oppure meno frequentemente a livello dei tendini dei muscoli peronieri. Nell'avambraccio la fonte di questi sfregamenti sono di solito i tendini dei flessori o degli estensori che sono immediatamente prossimali al polso.

Si può avere la compressione del nervo mediano con conseguente sindrome del tunnel carpale, presumibilmente a causa dei cambiamenti delle guaine tendinee e del legamento trasverso del carpo. Siccome la sindrome del tunnel carpale è spesso il sintomo che porta il paziente dal medico, tutti i medici dovrebbero tenere presente questa associazione. In particolare, la coesistenza di fenomeno di Raynaud, puffy fingers e sindrome del tunnel carpale, deve porre il sospetto per la presenza di una connettivite (128).

Le contratture in flessione sono causate dai cambiamenti di tipo fibrotico che colpiscono la cute. Questa manifestazione è associata in maniera significativa ai pazienti con la forma cutanea diffusa ed è il motivo principale per cui nella forma diffusa si ha una forte compromissione del funzionamento delle mani (130).

5.3.6 Coinvolgimento muscolare

La prevalenza della miopatia nella SSc varia dal 5 al 96% a causa della mancanza di criteri diagnostici. Negli studi che sono stati pubblicati, l'interessamento muscolare è stato valutato considerando la clinica, l'EMG, la MRI e l'evidenza

istologica di anomalie muscolari. Non è ben chiaro, inoltre, se un paziente che ha la SSc e sviluppa una miopatia infiammatoria, debba essere considerato come un paziente con una manifestazione clinica della SSc o come un paziente con overlap scleroderma-miosite (122).

In uno studio di Medgser et al. viene riportato come le manifestazioni cliniche più frequenti siano dolore muscolare e debolezza. Solo il 20% dei pazienti riportavano sintomi muscolari, di questi circa il 60% riportava un quadro moderato o lieve, inoltre la sede di debolezza più frequente era quella prossimale. La debolezza distale può essere presente ma a volte è difficilmente distinguibile dalla limitazione nei movimenti dovuta alla fibrosi (132).

Follansbee W. et al. riportano un'associazione tra manifestazioni muscolari e cardiache in pazienti con SSc. La fibrosi miocardica era l'anomalia predominante all'autopsia, tuttavia un paziente morto con una miocardite acuta mostrava miocitolisi severa con bande di contrazione e necrosi ma senza infiammazione o fibrosi, suggerendo una patogenesi ischemica. Pazienti con miopatia hanno un aumentato rischio di scompenso cardiaco, aritmie sintomatiche e morte improvvisa (133).

5.3.7 Obiettività, indagini strumentali e reperti istologici per il coinvolgimento muscolare

Il manual muscle testing (MMT) di 24 muscoli, prossimali distali e assiali viene spesso utilizzato nella valutazione del quadro muscolare di pazienti affetti da malattie reumatologiche, tuttavia questo test come anche lo skin score, ha un'alta variabilità interindividuale che può essere migliorata mediante uno specifico training dell'esaminatore (134). L'MMT non è stato studiato in pazienti con miopatia SSc associata e non è chiaro se la fibrosi cutanea possa inficiare i risultati del MMT (135).

Altri autori riportano invece come gli autoanticorpi non abbiano alcun valore nel predire il coinvolgimento muscoloscheletrico. Anche i livelli di enzimi muscolari come la CPK sembrano correlare negativamente con la forza muscolare nei pazienti con SSc: un gran numero di pazienti con debolezza muscolare all'esame obiettivo presenta normali livelli di CPK (136).

Alcuni autori suggeriscono che la combinazione di CPK e aldolasi possa aumentare lievemente la sensibilità rispetto al solo dosaggio della CPK, inoltre nei casi di miopatia associata a coinvolgimento miocardico, gli enzimi muscolari erano molto più elevati che negli altri casi.

L'EMG è alterato nella maggior parte dei pazienti con coinvolgimento muscolare e mostra anch'esso le stesse anomalie presenti in pazienti con miopatie infiammatorie idiopatiche, ovvero una durata media del potenziale d'azione più corta, un aumento dei potenziali polifasici, fibrillazioni e onde positive e strette con delle scariche ripetitive (137).

I reperti istologici che si rilevano alle biopsie muscolari di pazienti con SSc miopatia-associata sono eterogenei e includono caratteristiche tipiche delle miopatie infiammatorie insieme a caratteristiche SSc specifiche, in proporzioni diverse. I tipi di danno muscolare in pazienti con SSc possono essere la microangiopatia dei vasi endomuscolari, la fibrosi interstiziale e l'infiammazione. Nella maggior parte dei pazienti con SSc la biopsia muscolare mostra fibrosi del perimisio con o senza infiammazione, microangiopatia e atrofia delle fibre di tipo due ma con poca necrosi. In una proporzione minore di pazienti invece il coinvolgimento muscolare mostra anche segni di necrosi e danno delle fibre muscolari oltre all'atrofia, ricalcando quindi maggiormente le caratteristiche della polimiosite o della dermatomiosite (137).

5.3.8 Overlap PM/Scl

I pazienti con PM/Scl mostrano cambiamenti di tipo infiammatorio alla biopsia nella maggior parte dei casi. Gli anti-Ku possono essere utili per identificare il rischio di coinvolgimento muscolare, in questi pazienti infatti sono stati riscontrati debolezza muscolare, elevazione della CK e caratteristiche miopatiche all'EMG rispetto ai pazienti anti-Ku negativi. Sia pazienti con PM/Scl che anti-Ku hanno più spesso lcSSc. La presenza di anticorpi anticentromero sembra essere protettiva verso la miosite, al contrario invece i pazienti anti Scl70 positivi hanno più spesso un coinvolgimento muscolare (122).

Aggarwal R. et al. riportano invece che gli Afro-americani e gli uomini hanno un rischio maggiore di avere anti U3 RNP, inoltre questa specificità anticorpale si

associa più frequentemente al coinvolgimento muscoloscheletrico e alla presenza di ipertensione polmonare (138). Non ci sono dati riguardo al coinvolgimento dei muscoli respiratori in pazienti con SSc, tuttavia in pazienti con overlap SSc-polimiosite/dermatomiosite, i muscoli respiratori possono essere interessati (139).

5.4 Interessamento Gastrointestinale

Il tratto gastrointestinale è l'organo maggiormente affetto dopo la cute e rappresenta una delle cause maggiori di morbidità della malattia perché impatta maggiormente sulla qualità di vita e sulla sopravvivenza (140).

5.4.1 Patogenesi

Il meccanismo patogenetico che è stato proposto è quello di un danno primitivo nervoso, indotto da ischemia vascolare o compressione nervosa da deposizione di collagene (fase neuropatica) seguita poi dalla deplezione di cellule muscolari lisce dovuta alla fibrosi (fase miopatica).

L'evidenza più recente a favore dell'ipotesi neuropatica è stata ottenuta somministrando a pazienti affetti da SSc la metacolina, un agonista muscarinico diretto, capace di innescare la risposta contrattile delle cellule muscolari lisce esofagee e successivamente somministrando edrofonio, che agisce in maniera indiretta favorendo il rilascio di Ach. Alcuni studi come quello di Kumar S. et al. mostrano come nelle fasi precoci della manifestazione clinica intestinale, gli autoanticorpi M₃-R bloccano la neurotrasmissione colinergica inibendo il rilascio di acetilcolina dalle fibre nervose del plesso mienterico e che a lungo andare il deficit di acetilcolina sia anche la causa della miopatia (141).

Nella fase di neuropatia la disfunzione sarebbe ancora reversibile se si togliessero gli autoanticorpi M₃-R dal plasma o se venissero neutralizzati. Successivamente, la perdita della funzione contrattile può essere il risultato dell'atrofia muscolare da disuso e della fibrosi tissutale; una volta che quest'ultima si è instaurata, la cellula muscolare liscia non riesce a rispondere ad alcun tipo di stimolo esterno, pertanto qualsiasi tipo di trattamento è inefficace. Un tratto gastrointestinale fibrotico è il meccanismo patologico che porta al reflusso gastroesofageo, alla dilatazione dello stomaco, all'overgrowth batterico dell'intestino tenue, alla dilatazione del colon e

ad uno sfintere anale non funzionale; Queste alterazioni si manifestano clinicamente con l'esofago di Barret, la gastroparesi, un severo malassorbimento ed incontinenza fecale (142).

5.4.2 Associazione tra autoanticorpi e interessamento GI

Vi sono dati controversi riguardo all'espressione di autoanticorpi e alla loro relazione con le manifestazioni gastrointestinali nei diversi tratti affetti dalla malattia: studi precedenti mostravano un'associazione tra la presenza di GAVE (ectasia vascolare dell'antro gastrico) ed anti RNA pol III mentre gli anti-topo I sembravano essere assenti in questi pazienti (143). Studi più recenti hanno smentito l'associazione con gli anti RNA pol III mentre hanno confermato che i pazienti con anti-topoisomerasi I non presentano generalmente GAVE (144).

5.4.3 Cavo orale

A livello del cavo orale si può avere una restrizione dell'apertura buccale (microstomia) ed una riduzione della produzione della saliva (xerostomia) che rende difficoltosa l'alimentazione. Fino al 20% dei pazienti può sviluppare sindrome secca, inoltre la mucosa diventa atrofica causando una perdita del gusto e anomalie sensitive.

Molti pazienti inoltre hanno problemi a livello del legamento parodontale e delle gengive a causa dell'eccessiva fibrosi (145). White et al. notarono che in pazienti adulti con SSc vi fossero delle lievi ma significative osteolisi a livello dell'angolo mandibolare posteriore e del processo coronoideo. Questi reperti sembravano essere correlati all'ispessimento della cute in faccia, all'atrofia del massetere e dei muscoli pterigoidei oltre che alla microstomia (146).

5.4.4 Interessamento esofageo

L'interessamento esofageo ha un'alta prevalenza nei pazienti con SSc, coinvolgendo il 90% dei pazienti. Le 3 manifestazioni cliniche più frequenti sono l'esofagite da reflusso, la presenza di stenosi, l'esofago di Barret e l'adenocarcinoma. L'interessamento esofageo correla con la severità dell'interessamento polmonare, in particolare il reflusso correla positivamente con

la fibrosi polmonare, mentre le manifestazioni cliniche del tratto gastrointestinale inferiore non correlano con la fibrosi polmonare (147).

Lo studio di Hamel-Roy J et al. mostra come la pressione media a livello dello sfintere esofageo inferiore dei pazienti con SSc sia molto più bassa rispetto a quella dei pazienti sani, rispettivamente 6 mmHg e 25 mmHg (148).

Anche a livello esofageo la patogenesi prevede una fase neuropatica e una miopatica, tuttavia è bene specificare che si ha prevalentemente un interessamento della porzione medio-distale dell'esofago, ovvero la porzione in cui prevale la muscolatura liscia, mentre il terzo prossimale che è costituito da muscolatura striata, viene risparmiato (149).

Clinica

La sintomatologia è costituita principalmente da disfagia, odinofagia, pirosi retrosternale e rigurgito, altri pazienti presentano anche i sintomi "non esofagei" ma che sono ugualmente dovuti al reflusso, ovvero tosse cronica, faringite, laringospasmo ed asma. Nonostante l'interessamento esofageo sia presente sia nella forma limitata che in quella diffusa, dati recenti mostrano che in realtà la dismotilità esofagea è più frequente in pazienti con la forma diffusa e che è più probabile che peggiori con il passare del tempo rispetto ai pazienti con la forma limitata (150).

Tipicamente la disfagia è sia per i solidi che per i liquidi, eccetto che in caso di stenosi, in cui prevale la difficoltà nell'ingestione dei solidi. L'esofagite da candida avviene a causa della diminuita clearance esofagea, dei trattamenti immunosoppressivi e a causa del trattamento cronico con inibitori di pompa (145).

Esofagite erosiva

Studi diversi riportano prevalenze diverse per quanto riguarda le esofagiti erosive, ad esempio Zamost B. et al riportano una prevalenza del 60%, una delle più alte tra gli studi che sono andati a misurare questo dato (151). Altri studi come quello di Aubert A. riportano invece una prevalenza più contenuta, di circa il 30% (152).

Nel primo studio inoltre veniva sottolineato il ruolo dei test di motilità esofagea nel predire la presenza o l'assenza di esofagite erosiva. In pazienti con una peristalsi anomala, l'esofagite era presente nel 70% dei casi. La clinica invece si presenta

molto meno affidabile perché solo la metà dei pazienti con esofagite erosiva aveva pirosi retrosternale almeno 1 volta a settimana mentre un quinto dei pazienti aveva pirosi sporadicamente. La pressione dello sfintere esofageo inferiore invece era grosso modo simile a quella dei pazienti con esofagite non erosiva, così come la sovrainfezione da candida (151).

Complicanze

Le esofagiti severe, non solo si associano alla formazione di stenosi ma anche all'esofago di Barret con conseguente rischio di adenocarcinoma. L'esofago di Barret si ha in circa il 12% dei pazienti con SSc ed è molto simile a quello che hanno i pazienti con malattia da reflusso gastroesofageo (GERD) ma senza SSc. Tuttavia, uno studio recente ha dimostrato che il rischio di sviluppo di adenocarcinoma esofageo in pazienti con SSc è più alto rispetto ai pazienti con Barret senza SSc (153).

5.4.5 Associazione tra interessamento esofageo e polmonare

È stata dimostrata un'importante associazione tra l'interessamento esofageo e quello polmonare, in particolare a bassi valori della pressione dello sfintere esofageo inferiore si associano bassi valori di FVC e TLC. Probabilmente il reflusso gastroesofageo causa tante microaspirazioni acide che danneggiano progressivamente la funzionalità polmonare. Non bisogna inoltre escludere anche il ruolo della SSc che agisce contemporaneamente a livello polmonare ed esofageo. Inoltre, i pazienti con anticorpi anticentromero sembrano avere valori più alti di TLC, VC ed FVC se comparati ai valori dei pazienti con anticorpi anti Scl70 (154).

Uno studio recente di Savarino et al. mostra invece che pazienti con SSc e fibrosi polmonare abbiano sia un'estensione dell'interessamento esofageo maggiore che un aumentato numero di episodi di reflusso, se comparati con quelli dei pazienti senza fibrosi polmonare (155).

5.4.6 Ritardato svuotamento gastrico

Il ritardato svuotamento gastrico è una manifestazione clinica comune nei pazienti con SSc e si associa ad una motilità esofagea anomala, infatti circa 2/3 dei pazienti

con tale manifestazione clinica presentano anche un ritardato svuotamento gastrico che tra l'altro peggiora anche il reflusso stesso (156).

I sintomi principali manifestati dai pazienti affetti da un ritardato svuotamento gastrico sono: sazietà precoce, vomito, senso di peso epigastrico e di gonfiore fino ad arrivare a casi di completa intolleranza verso il cibo che possono portare ad un eccessivo calo ponderale e alla malnutrizione del paziente (157).

Recentemente è stata valutata la possibilità di utilizzare l'elettrogastrografia (EGG) per determinare chi è affetto da disturbi della motilità gastrica tra i pazienti con SSc. Le tecniche precedenti erano poco sensibili (pasto baritato), scarsamente tollerate (manometria) o causavano l'esposizione a delle radiazioni (scintigrafia). A livello antrale vi è un pacemaker che si occupa di far variare l'attività elettrica da un ritmo basale, caratteristico dei periodi di digiuno, ad un ritmo di risposta maggiore, che caratterizza le fasi postprandiali. Dunque, la misurazione dell'attività elettrica gastrica sembra fornire uno strumento non invasivo che permette di fare diagnosi di disfunzione gastrica (158).

5.4.7 Gastric antral vascular ectasia (GAVE)

La gastric antral vascular ectasia è una rara causa di emorragia del tratto gastrointestinale superiore e spesso è clinicamente silente, a meno che il paziente non sviluppi una forte anemia che lo porta a manifestare astenia, dispnea e debolezza muscolare. Jabbar M. et al. descrissero per la prima volta che la GAVE si manifesta endoscopicamente con delle strisce eritematose date da vasi dilatati, i quali si dipartono dal piloro e convergono a livello dell'antro gastrico.

Questa condizione è anche chiamata "watermelon stomach" perché le strisce somigliano a quelle della buccia dei cocomeri (159).

La causa specifica della GAVE è sconosciuta, nonostante alcuni autori proponano che è causata da un allentamento della connessione tra la mucosa gastrica distale e la muscolare esterna adiacente. Questo allentamento può provocare un prolasso della mucosa antrale nel piloro e lo sviluppo di GAVE (160).

Prevalenza e fattori predisponenti

Marie I. et al. in uno studio retrospettivo del 2008 descrivono una prevalenza del 5,7%, riportano inoltre che in tutti i pazienti con GAVE vi è anemia con l'emoglobina che oscilla in un range che va da 4.7 g/dl a 10.9 g/dl. Nell'87% dei casi l'anemia viene attribuita a sanguinamenti occulti cronici; nei pazienti che manifestano un sanguinamento acuto, la modalità di presentazione più frequente è data dall'ematemesi, solo in pochi manifestano invece melena (161).

Nella maggior parte dei casi lo "stomaco a cocomero" si manifesta in pazienti che avevano già una diagnosi di SSc. L'intervallo medio tra la diagnosi di SSc e l'insorgenza del watermelon stomach è variabile: nella maggior parte dei casi (80%) viene riscontrato in pazienti in cui era già stata fatta diagnosi di SSc; nel 10% dei casi l'insorgenza di watermelon stomach è la prima manifestazione clinica della malattia e precede la manifestazione cutanea. Questi dati suggeriscono quindi che se all'endoscopia si riscontra un quadro di watermelon stomach, bisogna avviare gli esami strumentali volti ad identificare la presenza di SSc (161).

Watson M. invece descrisse 5 casi di pazienti con SSc che avevano sviluppato dei sanguinamenti del tratto gastrointestinale superiore a causa della GAVE, in 4 di questi pazienti vi erano delle teleangectasie, che sono un marker di danno vascolare e che si pensa abbiano una patogenesi simile a quella della GAVE. Grazie a questo studio si è capito come la GAVE debba essere considerata all'interno dello spettro delle alterazioni vascolari nei pazienti con SSc (162).

Diagnosi

Nella diagnosi di GAVE l'indagine strumentale che viene maggiormente utilizzata è l'EGDS. Basta la sola presenza di anemia per indicare la necessità di eseguire una gastroscopia; l'obiettivo della EGDS è di quantificare l'estensione del danno mucosale a livello dello stomaco e dell'esofago, di ricercare H.pylori e di valutare la presenza di GAVE (163).

L'aspetto endoscopico entra in diagnosi differenziale con quello della gastropatia ipertensiva o della gastrite antrale, pertanto è utile sapere che nella diagnosi differenziale la GAVE è più comunemente limitata all'antro mentre la gastropatia ipertensiva antrale coinvolge tipicamente il fondo e il corpo dello stomaco (160).

In una grande percentuale di pazienti con GAVE (dal 17 al 57%) il problema non è confinato all'antro ma si estende fino all'intestino causando inoltre una riduzione della peristalsi che si manifesta clinicamente con un overgrowth batterico (164).

5.4.8 Associazione tra cirrosi biliare primitiva e SSc

In letteratura viene riportata anche un'associazione tra SSc e cirrosi biliare primitiva (PBC). Questa associazione è stata descritta per la prima volta da Milbradt nel 1934 e poi successivamente da diversi case-report (165).

Recentemente Rigamonti et al. hanno riportato una prevalenza del 2,5% in uno studio che ha preso in esame 580 pazienti con PBC, mentre altri studi riportano una prevalenza dell'8% (166).

Nonostante la scarsità di case reports e studi su larga scala, l'associazione tra PBC e sclerodermia sembra essere qualcosa di più che una semplice correlazione e suggerisce che queste due malattie possano avere un base comune. Il meccanismo autoimmune che c'è dietro l'associazione PBC-SSc non è stato ancora compreso, tuttavia questi pazienti hanno un'espansione clonale dei CD8, i quali esprimono TCRBV3, che potrebbe essere coinvolto nella patogenesi della malattia (167).

L'associazione tra PBC e SSc viene stabilita sulla base della presenza degli autoanticorpi correlati alla SSc in pazienti con PBC e viceversa. In particolare, viene preso in considerazione l'anticorpo antimitocondrio (AMA), tuttavia il 25% dei pazienti con SSc sono AMA positivi, ma l'alto tasso di prevalenza degli AMA è probabilmente secondario al referral bias e sovrastima la frequenza degli AMA nei pazienti con SSc (165).

Relazione tra positività all'anticorpo anti-centromero (ACA) e PBC

Shoji I. et al. hanno scoperto che alcuni pazienti con PBC con positività all'ACA, in particolare coloro con ACA sottotipo CENP-A, presentavano 1 o più caratteristiche della lcSSc; i pazienti PBC-ACA positivi avevano un'incidenza più alta di fenomeno di Raynaud rispetto ai pazienti con PBC ma senza ACA. Lo studio termina comunque con la proposta di suddividere questi pazienti in 3 sottotipi: il primo è composto da pazienti PBC-ACA positivi e sclerodermici, il secondo da

pazienti PBC-ACA negativi ma con sclerodermia e il terzo da pazienti PBC- ACA negativi e non sclerodermici (168).

Screenare i pazienti con PBC per gli ACA non è obbligatorio ma può essere preso in considerazione: in pazienti con PBC, la positività agli ACA può associarsi in maniera significativa ad una patologia dutturale più severa a livello istologico e ad un rischio maggiore di ipertensione portale (169).

Prognosi

I pazienti con overlap sembrano necessitare meno frequentemente del trapianto epatico e sembrano anche avere un numero più basso di morti epato-relate rispetto ai pazienti con PBC ma senza SSc. Nonostante questo miglioramento delle morti epato-relate, a causa della SSc aumenta la mortalità non epato-relata e quindi non viene riscontrata una sostanziale differenza tra la mortalità dei pazienti con PBC-SSc e quella dei pazienti con solo PBC. Altri studi invece sostengono come la prognosi di questi pazienti sia peggiore rispetto a quella dei pazienti con PBC ma senza sclerodermia (170).

In circa il 60% dei casi le manifestazioni cliniche della SSc precedono quelle della PBC, inoltre non è stato ancora chiarito se i pazienti con overlap PBC-SSc sviluppano PBC quando sono più giovani rispetto ai pazienti con PBC senza overlap (171). I pazienti con PBC-SSc hanno un'incidenza più alta di peritonite batterica spontanea e setticemia durante il follow rispetto ai pazienti con solo PBC, si pensa che questo sia dovuto alla disregolazione immunitaria che si ha nella SSc e alle manifestazioni d'organo associate (172).

5.4.9 Interessamento del tratto gastrointestinale inferiore

In EUSTAR l'interessamento intestinale viene riportato nel 23% dei casi, senza alcuna differenza tra i pazienti con la forma cutanea diffusa e la forma cutanea limitata, inoltre manifestazioni intestinali severe si associano ad una prognosi molto scarsa. La parte di tratto gastrointestinale inferiore più frequentemente coinvolta è quella ano-rettale. I pazienti con anti RNA pol III hanno un rischio minore di avere

sintomi intestinali mentre quelli con anti Scl70 e ACA hanno un rischio pressochè simile (173).

L'intestino tenue viene interessato in circa il 17-57% dei pazienti affetti da SSc e la manifestazione clinica principale è data dalla SIBO. Questi pazienti lamentano sensazione di gonfiore, sazietà precoce, diarrea intermittente e l'insorgenza di nuove intolleranze ad alcuni alimenti, in particolare al lattosio. La prevalenza della disfunzione dell'intestino tenue in pazienti con SSc è sconosciuta, tuttavia in circa l'8% dei pazienti vi sono segni di malnutrizione o altri reperti radiografici (174,175).

SIBO

L'intestino prossimale ha un ridotto numero di batteri, stimato come al massimo 10^3 CFU/ml (colony forming units) mentre nel grosso intestino il numero di batteri arriva a 10^4 CFU/ml; la SIBO è definita come un aumento del numero di batteri che superano i 10^5 CFU/ml o dalla presenza di flora atipica. Vi sono diversi meccanismi che prevengono un'eccessiva crescita batterica, questi sono la secrezione gastrica acida, le proprietà batteriostatiche del succo pancreatico e della bile, la presenza di IgA mucosali e la peristalsi intestinale. Uno squilibrio di uno di questi meccanismi può portare alla SIBO (176).

In caso di SSc il disturbo principale del tratto inferiore è quello che coinvolge la motilità intestinale: a livello fisiologico, durante il digiuno, il complesso motorio migrante si ha ogni 90 o 100 minuti, finchè non viene interrotto da un pasto. Il complesso motorio migrante ha 3 fasi: la prima fase è detta di quiescenza, la fase 2 corrisponde a delle contrazioni regolari ritmiche che progrediscono bruscamente verso la fase 3. La terza fase inizia con la contrazione antrale che è poi seguita da onde di contrazione del piccolo intestino, questa fase ha una funzione housekeeping, cioè permette di pulire stomaco e intestino tenue da cibo, batteri e secrezioni. In circa l'88% dei pazienti con SSc vi sono dei complessi motori migranti anomali e nella maggior parte dei pazienti sintomatici vi è un'ipomotilità dell'antro e dell'intestino tenue che è appunto responsabile della SIBO (174).

Diagnosi

L'aspirazione e la coltura del contenuto dell'intestino tenue è stata proposta come uno dei metodi per fare diagnosi di SIBO, tuttavia non c'è un consenso generale sui valori di CFU/ml necessari per fare diagnosi: secondo la definizione di SIBO pazienti con 10^5 CFU/ml hanno la malattia, tuttavia anche pazienti con valori tra 10^3 CFU/ml e 10^5 CFU/ml potrebbero avere la SIBO pur non rientrando nei valori della sua definizione (177).

Erdogan et al. hanno messo a confronto la coltura dell'aspirato duodenale e il breath test al glucosio (GHBT) scoprendo che l'esame microbiologico rilevava la presenza di SIBO nel 45% dei pazienti mentre il breath test era positivo nel 27% dei casi. Questo dato mostra come la sensibilità del GHBT sia minore rispetto a quella della coltura dell'aspirato duodenale, tuttavia questo test costa poco, non è invasivo e ha comunque una buona specificità, pertanto dovrebbe essere utilizzato in prima linea nella diagnosi (178).

Per quanto riguarda l'alterazione della motilità intestinale, la manometria intestinale fornisce delle informazioni dettagliate riguardo ai pattern contrattili e ai meccanismi di dismotilità, ma questo test è invasivo, clinicamente non validato e disponibile in pochi centri, pertanto, nella maggior parte dei casi si ricorre ad un'RX per il transito intestinale. L'RX mostra un transito ritardato, dilatazione del piccolo intestino e inspessimento delle valvole conniventi (174).

5.4.10 Interessamento del colon

La frequenza di coinvolgimento del colon varia dal 10% al 50% in base alla metodologia diagnostica che viene utilizzata. La maggior parte dei pazienti con interessamento del colon è asintomatica, tuttavia da studi autoptici viene riportata la presenza di atrofia delle cellule muscolari lisce nel 39% dei casi. Da valutazioni endoscopiche invece risulta che il 35% dei pazienti mostra delle anomalie, in particolare diverticoli a collo largo, aspetto patognomonico della SSc (179).

Leighton J. et al. hanno provato a fornire uno spettro di manifestazioni cliniche causate dalla disfunzione anorettale in pazienti con SSc che avevano già interessamento di un altro tratto del sistema GI. La maggior parte dei pazienti con interessamento ano-rettale si presentava con incontinenza fecale, alcuni di questi

avevano anche un prolasso rettale di secondo grado. Tutti i pazienti presentavano un'anomala resting pressure dello sfintere anale esterno, inoltre la resting pressure era minore in coloro che avevano prolasso rettale. In quest'ultimo gruppo di pazienti il trattamento del prolasso risolveva l'incontinenza fecale, a dimostrazione del fatto che la funzione dello sfintere anale era peggiorata dal prolasso e che quindi quest'ultimo andrebbe ricercato e trattato in tutti i pazienti con incontinenza (180).

5.5 Interessamento polmonare: pneumopatia interstiziale (ILD)

Il coinvolgimento polmonare è comune nei pazienti con SSc e le due manifestazioni cliniche principali sono la pneumopatia interstiziale (ILD) e l'ipertensione polmonare (PAH). Queste due manifestazioni cliniche sono le cause principali di morbilità e mortalità nei pazienti con SSc, inoltre un report recente mostra come la mortalità dovuta all'interessamento polmonare nei pazienti con SSc, sia in assenza che in presenza di un interessamento cardiaco, sia del 33% (181).

5.5.1 Epidemiologia e fattori di rischio

Bergamasco et al. riportano come laILD colpisca il 35% dei pazienti con SSc in Europa e il 52% in Nord America, questo dato però può dipendere dal fatto che vengano utilizzate metodiche di valutazione diverse: ad esempio quando diagnosticata tramite HRCT, l'ILD colpisce dal 32 al 47% dei pazienti con SSc in Europa mentre solo il 18,8 % vengono riportati come affetti quando la diagnosi si basa sui dati spirometrici (8).

I fattori che predispongono all'insorgenza diILD sono: età alla diagnosi di SSc, etnia afro-americana, ipotiroidismo, malattie cardiovascolari, FVC < 65% e DLCO < 55% teorico (182).

Fattori di rischio per l'insorgenza di ipertensione polmonare sono invece: età avanzata alla diagnosi di SSc, reflusso gastroesofageo, disfagia, DLCO < 55% teorico. Alti livelli di creatinina e alcuni autoanticorpi specifici (anti-RNA polimerasi III e anti Scl70) (182,183).

5.5.2 Patogenesi

La patogenesi dellaILD associata alla sclerosi sistemica coinvolge diverse componenti, alcune genetiche ed altre ambientali. Ad esempio, il polimorfismo di

MUC5B porta ad un'alterata risposta al danno epiteliale ed a processi riparativi inefficaci, favorendo la fibrosi polmonare. In condizioni normali i macrofagi vengono richiamati in questo distretto per favorire la clearance di sostanze tossiche ed infettive in modo da ottenere la risoluzione di un danno causato da una noxa esterna. Nel caso della SSc vi è una disregolazione di questo meccanismo ed i macrofagi infiltrano il parenchima polmonare favorendo l'accumulo di cellule infiammatorie nello spazio alveolare, tra cui anche linfociti B e T, che producono citochine profibrotiche come TGF- β (184).

Anche il danno delle cellule epiteliali alveolari ad opera di stimoli ambientali o a causa dell'infiammazione locale è un elemento importante della patogenesi: quando si ha un danno a livello delle cellule di tipo I, piuttosto che riparare il danno mediante la proliferazione delle cellule di tipo II, il danno viene riparato mediante l'infiltrazione di fibroblasti (185).

Vi sono diverse citochine implicate in questo meccanismo, tuttavia vale la pena menzionare il ruolo dell'IL-6: il suo signalling converge con quello di TGF- β a livello intracellulare perchè sono entrambi attivatori di STAT3, inoltre l'IL-6 favorisce il dialogo tra macrofagi e fibroblasti (184).

Alla luce di questo, i trial con il Tocilizumab suggeriscono che questo farmaco possa essere efficace nella fase iniziale infiammatoria in modo da prevenire l'evoluzione verso la fase successiva, ovvero quella fibrotica (186).

Nella fase fibrotica si ha il reclutamento di cellule profibrotiche dal circolo e la trasformazione delle cellule residenti in miofibroblasti, che, stimolati da citochine pro-survival, non vanno in apoptosi. A questo punto alcuni pazienti rimangono con un livello di fibrosi stabile mentre altri pazienti sviluppano una malattia più estesa che comporta una cattivissima prognosi (184).

Recentemente il trial INBUILD ha dimostrato che l'efficacia del nintedanib sia maggiore nelle forme più severe e progressive di ILD rispetto che in tutti i pazienti con SSc-ILD in maniera indiscriminata (187).

5.5.3 Sierologia

Negli ultimi anni sono stati studiati diversi marker sierologici che potessero indicare il coinvolgimento polmonare nei pazienti con SSc. Gli autoanticorpi sono il solo marker disponibile nella pratica clinica, ed in particolare la presenza degli anti Scl70 suggerisce un aumento della probabilità di ILD (188).

In Giappone è disponibile KL-6: alti livelli di questo marcatore sembrano essere predittivi di un coinvolgimento interstiziale, altri marcatori che invece non vengono utilizzati in nessun paese ma sembrano avere un valore predittivo di interstiziopatia sono MMP7, MMP12, CXCL2 e BAFF. Livelli elevati di IL-6 sembrano essere predittivi per la progressione delle forme early, tuttavia questo marcatore ha una bassa specificità visto che aumenta in tutte le malattie infiammatorie (189).

5.5.4 Sintomatologia

Molti dei pazienti con SSc-ILD sono asintomatici, specialmente negli stadi iniziali della malattia. La dispnea da sforzo è il sintomo che viene maggiormente riportato da questi pazienti e che nelle fasi finali della malattia diventa dispnea a riposo; altri due sintomi molto comuni sono la tosse secca e l'astenia. L'esame obiettivo può essere normale oppure è possibile auscultare dei crepitii a velcro soprattutto nei campi inferiori (190).

5.5.6 Spirometria

La spirometria con misurazione del DLCO dovrebbe rappresentare la metodica di screening di routine per le early ILD. La spirometria non solo è un esame che aiuta nella diagnosi, ma permette anche di determinare la severità dell'interstiziopatia (191). Circa il 50% dei pazienti con ILD mostrano un deterioramento precoce (durante i primi 3 anni) dei valori spirometrici, anche se sono asintomatici. Nonostante questo, però, solo il 16% dei pazienti sviluppa una pneumopatia restrittiva severa con FVC <55% (192).

5.5.7 Imaging

Il pattern che si riscontra più frequentemente all'HRCT è lo NSIP, ovvero il non specific interstitial pneumonia. Questo pattern è caratterizzato da ground glass periferico con localizzazione prevalentemente basale e risparmio delle porzioni

subpleuriche. Nello NSIP il ground glass periferico si può associare a cavità con aspetto ad honeycombing nelle zone centrali. Altri reperti che si associano all' NSIP sono le reticolazioni, le bronchiectasie da trazione e le bronchioloectasie in una distribuzione simile.

Il pattern UIP è presente in meno del 10% dei pazienti con SSc-ILD ed in questo caso l'honeycombing è predominante rispetto al ground glass (193,194).

Goh et al. nel 2007 hanno sviluppato uno score che permette di valutare la prognosi dei pazienti in base all'entità del coinvolgimento polmonare all'HRCT. In particolare, hanno diviso il coinvolgimento polmonare in due subset in base all'estensione della fibrosi: coloro che erano nel subset "limited disease" avevano un'estensione della fibrosi minore del 20% all'HRCT mentre coloro con un'estensione maggiore del 20% rientravano all'interno del subset "extensive disease". Non in tutti i pazienti era possibile stabilire l'entità della fibrosi e per questo motivo venne creato un terzo sottogruppo classificato come "indeterminate". Per la stratificazione di questo sottogruppo venne proposto di considerare i livelli di FVC: pazienti con $FVC \geq 70\%$ rientravano all'interno del subset limited disease mentre coloro con $FVC < 70\%$ rientravano nel subset extensive disease (195).

L'HRCT non va ripetuta in maniera sistematica ma solo in caso di peggioramento dei valori della spirometria. Infatti, l'85% dei pazienti con SSc senza anomalie alla prima HRCT, non presenterà nuove anomalie nei successivi 5 anni. Per questo motivo, in pazienti che non presentano un peggioramento dei valori spirometrici si può scegliere di ripetere la TC dopo 5 anni (196).

5.5.8 Istologia

Anche a livello istopatologico il pattern più comune è lo NSIP, caratterizzato da un coinvolgimento omogeneo dell'interstizio alveolare e da un grado variabile di infiltrato linfoplasmocitico e fibrosi. La variante fibrotica dello NSIP, ovvero quella in cui la fibrosi predomina, è più comune rispetto alla variante infiammatoria, nella quale invece predomina l'infiltrazione delle cellule del sistema immunitario.

La UIP si presenta invece come un pattern a chiazze con una fibrosi temporalmente eterogenea, in particolare con zone di fibrosi alternate a zone di honeycombing e foci fibroblastici (197).

La prognosi dei pazienti con SSc-ILD è migliore rispetto a quella dei pazienti con fibrosi polmonare idiopatica. Le etnie asiatiche ed africane, il sesso maschile ed il coinvolgimento cardiaco rappresentano dei fattori di rischio per lo sviluppo di interstiziopatia severa. La stratificazione prognostica si basa su criteri clinici, radiografici e spirometrici (197).

La sopravvivenza a 5 anni è più del 90% mentre la sopravvivenza a 9 anni di pazienti con dcSSc e ILD è del 38% (191).

5.6 Interessamento polmonare: ipertensione polmonare (PAH)

L'ipertensione arteriosa polmonare è definita come una pressione misurata mediante cateterismo del cuore destro (mPAP) > 25 mmHg a riposo oppure una mPAP > 30 mmHg da sforzo, con una wedge pressure minore di 15 mmHg, che permette di escludere l'eziologia cardiogena dell'ipertensione polmonare. La pressione polmonare misurata mediante ecocardiografia transtoracica è in realtà una stima (PAPs) della pressione polmonare e non permette di fare diagnosi con certezza, tuttavia valori di PAPs > 35 mmHg indicano un rischio aumentato di ipertensione polmonare da confermare con cateterismo cardiaco (198). Secondo la classificazione di Venezia l'ipertensione polmonare che si verifica nei pazienti affetti da SSc è definita come "ipertensione polmonare che si associa ad altre patologie", questo termine ha sostituito il termine "ipertensione polmonare secondaria", che veniva usato precedentemente (199).

5.6.1 Prevalenza

La prevalenza dell'ipertensione polmonare (PAH) è circa del 10% e nonostante l'introduzione di nuovi trattamenti, la sopravvivenza rimane ancora scarsa con una mediana di sopravvivenza di 3 anni. Inoltre, i pazienti con SSc-PAH sono spesso meno responsivi rispetto ai pazienti con ipertensione polmonare idiopatica ed hanno una prognosi peggiore. Studi recenti però hanno dimostrato che se vengono

utilizzate delle terapie aggressive si ha una riduzione simile nel tasso di eventi sia nei pazienti con SSc che in coloro con ipertensione polmonare idiopatica (200).

5.6.2 Fisiopatologia

Fisiologicamente il circolo polmonare è a bassa resistenza in modo da riuscire a dilatarsi e ad accogliere una notevole quantità di sangue in caso di aumento della pressione polmonare. Questa capacità però viene progressivamente persa nelle condizioni patologiche che causano ipertensione polmonare, con iniziale dispnea da sforzo e poi, negli stadi finali, anche a riposo. L'ipertrofia ventricolare destra si sviluppa in modo da mantenere un'adeguata gittata cardiaca, tuttavia a lungo andare l'ipertrofia diventa disadattativa e causa sintomi anginosi. Con il perdurare della malattia il cuore va in insufficienza destra (201).

Lo sviluppo di ipertensione polmonare in pazienti con SSc dipende dall'interazione tra le cellule endoteliali vascolari, le cellule muscolari lisce e le cellule circolanti, che, mediante un fitto scambio di segnali citochinici, determinano il rimodellamento vascolare, la vasocostrizione e la trombosi con il risultato di avere infine un'occlusione del lume.

Il danno endoteliale causato dalla patologia autoimmune è il primus movens che avvia una serie di processi il cui risultato finale sarà l'obliterazione del lume. Tra questi meccanismi un ruolo rilevante è svolto dallo squilibrio tra fattori vasocostrittori e vasodilatatori a favore dei primi, con aumento di ET-1, un piccolo peptide con un potente effetto vasocostrittore ma anche pro-proliferativo a livello delle cellule muscolari lisce dei vasi. All'aumento dei fattori vasocostrittori corrisponde però anche una consensuale diminuzione dei fattori vasodilatatori, antiproliferativi e pro-apoptotici come NO e PGI (201).

5.6.3 Fattori di rischio e Sintomatologia

Il tipico paziente con ipertensione polmonare ha la forma cutanea limitata e sviluppa ipertensione polmonare dopo 10-15 anni. Al contrario, pazienti con dcSSc hanno un rischio maggiore di sviluppare ILD piuttosto che PAH, tuttavia bisogna tenere presente che tutti i pazienti affetti da SSc, a prescindere dalla forma da cui sono affetti, possono sviluppare da un momento all'altro ILD o PAH.

A livello clinico i sintomi sono aspecifici e vanno ricercati chiedendo al paziente se avverte dispnea da sforzo, astenia, dolore toracico, palpitazioni e se ha avuto sincope.

Obiettivamente in alcuni pazienti si può avere lo sdoppiamento del secondo tono e un soffio pansistolico a livello del focolaio tricuspide. Nelle fasi finali si hanno i sintomi dello scompenso destro come turgore giugulare, edemi periferici, epatomegalia e un riflesso epatogiugulare positivo (202).

5.6.4 Diagnosi

Vandecasteele E. et al. hanno pubblicato una review sistematica il cui scopo era definire l'utilità del 6 minute walking test (6MWT) nei pazienti affetti da SSc. Secondo gli autori nonostante non vi siano dati disponibili al baseline e sull'evoluzione della malattia nel tempo, questi pazienti dovrebbero comunque eseguire questo test al momento della diagnosi e almeno un'altra volta durante il follow up in modo tale da ottenere un range di valori individuali che possa essere usato come obiettivo del trattamento in tutti i pazienti con SSc che sviluppano ipertensione polmonare (203).

Il target del trattamento in caso di PAH è stato recentemente modificato da 380 m a 440, tuttavia gli autori hanno trovato una media di 430 m nei pazienti con SSc senza ipertensione polmonare; quindi, se per esempio un paziente con un valore di 288 m dovesse raggiungere dei valori di 430 m, il target suggerito dalle linee guida non sarebbe raggiunto, tuttavia si raggiungerebbe il valore medio raggiunto dai pazienti con SSc ma senza ipertensione polmonare, che è un valore accettabile. È utile ribadire che il target da raggiungere debba essere individualizzato e possibilmente basato sui valori del 6MWT al baseline (204).

Il cateterismo del cuore destro rimane il test definitivo per la diagnosi di ipertensione polmonare, tuttavia non è applicabile nella pratica clinica come test di screening a causa della sua invasività, pertanto sono state proposte diverse metodiche più semplici: ecocolor-doppler, risonanza magnetica del cuore e spirometria (205).

Hsu V. et al. confrontando le tre diverse metodiche hanno potuto concludere che l'ecografia sia la metodica di screening più affidabile, infatti pazienti con una PAPs

> 47 mmHg avevano un VPP del 93%. Abbassando il cutoff a 40 mmHg però si raggiunge un più alto livello di sensibilità (83%), pertanto questo valore è quello che dovrebbe essere utilizzato per lo screening della PAH.

L'ecografia è anche in grado di valutare le dimensioni dell'atrio e del ventricolo destro e di fare diagnosi differenziale con le cause di ipertensione polmonare dovute a malattie del cuore sinistro. La valutazione pressoria ecocardiografica si affida alla misura del rigurgito tricuspide che fornisce una misura indiretta della pressione sistolica del ventricolo destro. L'assenza di rigurgito non esclude l'ipertensione polmonare e vi è un'ampia variabilità operatore-dipendente nella tecnica di interpretazione dei risultati (205).

Mukerjee D. et al. scoprirono che gli strumenti maggiormente utilizzati per fare screening di ipertensione polmonare, ovvero l'ecocardiografia e la spirometria con DLCO, permettessero di fare meglio diagnosi di forme di ipertensione polmonare avanzate piuttosto che di forme di ipertensione polmonare precoci. Inoltre, utilizzando dei cut off conservativi (PAPs > 40 mmHg e DLCO < 55%) quasi la metà dei pazienti con ipertensione polmonare sintomatica non venivano diagnosticati con sicurezza, mentre utilizzare dei cutoff < di 40 mmHg rendeva il numero di falsi positivi troppo alto. Un'altra osservazione che andava a mettere in dubbio le evidenze di Steen e Medsger, era il fatto che una riduzione della DLCO non rappresentasse un marker precoce di vasculopatia polmonare, piuttosto questa tecnica sembrava identificare meglio i pazienti con PAH avanzata (206).

Schreiber B. et al invece hanno cercato di migliorare l'efficacia diagnostica della spirometria creando una formula che permette di fare una stima della pressione polmonare media (mPAP), la formula è la seguente:

$$\text{mPAP} = 136 - \text{SpO}_2 - 0.25 \text{ DLCO } \% \text{ predetta.}$$

Valori di mPAP minori di 25 mmHg non si associano ad ipertensione polmonare, valori tra 25 e 35 mmHg indicano un aumentato rischio di ipertensione polmonare mentre valori > 35 mmHg arrivano ad avere un rischio aumentato del 63%. Gli autori consigliano di utilizzare questa formula soprattutto in quei pazienti con ecocardiografia dubbia (207).

5.7 Interessamento cardiaco

Segni di un coinvolgimento cardiaco sono stati rilevati con una prevalenza del 15% in una coorte di 953 pazienti con dcSSc basandosi su reperti clinici, ecocardiografici, elettrocardiografici e monitoraggio Holter. Non sono stati presi in esame casi di diminuzione della frazione di eiezione asintomatici, pazienti con versamenti pericardici o con aritmie asintomatiche (208). In una coorte di 1012 pazienti con SSc, la prevalenza di aritmie cardiache era del 35% (209).

Le anomalie ecocardiografiche che vengono riscontrate più frequentemente sono: disfunzione diastolica, rigurgiti valvolari e anomalie del ventricolo destro. Solo pochi pazienti si presentano con una ridotta frazione di eiezione del ventricolo sinistro (209).

Alcuni studi sostengono che le manifestazioni cardiache scleroderma related si verificano sia nella forma cutanea diffusa che nella forma cutanea limitata in ugual misura, mentre altri studi ancora sostengono invece una maggiore frequenza nella forma cutanea diffusa. È stata inoltre rilevata un'associazione tra coinvolgimento cardiaco e presenza di anti-topoisomerasi, anti U3RNP, forme rapidamente evolutive di malattia cutanea e coinvolgimento muscolare (210).

5.7.1 Fisiopatologia

Il meccanismo patogenetico è sempre il solito e prevede alterazioni del microcircolo causate da episodi di vasospasmo, accumulo di collagene da parte di fibroblasti attivati e disregolazione del sistema immunitario. Le lesioni ischemiche, fibrotiche ed infiammatorie che si vengono a creare possono colpire il sistema di conduzione, il pericardio e l'endocardio. Una distribuzione "patchy" della fibrosi miocardica è una caratteristica patognomonica della malattia, inoltre le aree necrotiche si trovano in tutte le parti del miocardio, anche quelle zone che solitamente vengono risparmiate dalla cardiopatia ischemica (210).

5.7.2 Miocardite

Pieroni M. et al. riportano che, nel loro studio, tutti i pazienti con recente insorgenza di segni e sintomi di coinvolgimento cardiaco vennero ritrovati come affetti da miocardite alla biopsia. Questi pazienti mostravano un lieve ma persistente aumento

dei livelli plasmatici di CK-MB e troponina T, all'RMN mostravano invece enhancement diffuso a livello subepicardico o mediomurale, entrambi suggestivi di miocardite (211).

La presenza di versamento pericardico è stata invece identificata come un utile criterio per fare diagnosi non invasiva di miocardite in pazienti con recente insorgenza di sintomi cardiaci. Altri fattori di rischio sono invece i battiti ventricolari ectopici, le anomalie della cinetica segmentale all'ecocardiografia, la presenza di miositi e la positività per gli ANCA. In particolare, la positività ai p-ANCA, se presente, va considerata anch'essa come una red flag di miocardite (211).

5.7.3 Aritmie e difetti di conduzione

Ferri et al. riportano che facendo un ECG a riposo la prevalenza di aritmie si attesta al 30% dei pazienti con SSc. Eseguendo un holter delle 24 ore vengono documentate aritmie sopraventricolari nel 66% dei pazienti con SSc, le aritmie ventricolari vengono invece riscontrate nel 90% dei pazienti; le principali aritmie ventricolari sono i battiti prematuri ventricolari (40% dei casi) e la tachicardia ventricolare (31% dei casi). Nonostante questi dati riguardo alle aritmie ventricolari, la morte cardiaca improvvisa non è molto comune nei pazienti affetti da SSc. La prevalenza e la severità delle aritmie ventricolari non correlano con la variante clinica della malattia e con altri segni e sintomi della malattia (212).

In uno studio prospettico di Roberts N. et al. il 32% dei pazienti con SSc aveva anomalie di conduzione a riposo. L'alterazione più comune era il blocco di branca sinistro (16%), seguita dal blocco atrioventricolare di primo grado (8%), il blocco di secondo e terzo grado erano poco frequenti (<2%) (213).

Ferri et al. invece trovarono difetti di conduzione in un ECG a riposo nel 19% dei casi ed un cambiamento del tratto ST-T nel 5%. Questi valori salivano rispettivamente al 33% per i difetti di conduzione e al 34 % per le anomalie del tratto ST-T se si eseguiva un ECG-holter delle 24 ore (212).

Vista l'alta prevalenza ed il significato prognostico delle aritmie e dei difetti di conduzione, un holter delle 24 ore dovrebbe essere considerato come un test di routine da fare nei pazienti con SSc, anche se asintomatici, ogni 1 o 2 anni.

I pazienti vanno inoltre interrogati sulla presenza di altre condizioni sistemiche che possano favorire le aritmie come l'ipertiroidismo, la BPCO, la pericardite e lo scompenso cardiaco. Anche altre condizioni associate alla sclerodermia possono innescare una complicanza aritmica acuta: ad esempio, una severa infezione del tratto GI dovuta a disordini della motilità intestinale, oppure semplicemente anche solo le anomalie elettrolitiche dovute all'alterazione dell'alvo (214).

5.7.4 Coinvolgimento pericardico

Alcune serie autoptiche riportano che il coinvolgimento pericardico si ha in una percentuale di pazienti che va dal 33% al 72% ed include pericardite fibrinosa, pericardite fibrosa cronica, adesioni pericardiche e versamenti pericardici (215).

Il coinvolgimento pericardico nella SSc è di solito clinicamente silente e benigno. Nella maggior parte dei casi la presenza di piccoli versamenti pericardici non produce alcun sintomo e non ha valore prognostico. In caso di versamenti pericardici massivi che si associano ad insufficienza cardiaca, si può avere una cattiva prognosi oltre che insufficienza renale pre-renale. In alcuni casi anche piccole quantità che si accumulano rapidamente possono causare tamponamento perché il pericardio diventa fibrotico e quindi è incapace di distendersi (216).

La pericardite acuta sintomatica è una manifestazione poco comune della SSc, inoltre pazienti con SSc e interessamento renale possono presentarsi con pericardite uremica o versamento pericardico, questo dimostra un primo collegamento tra la SSc e l'interessamento pericardico. La pericardite acuta si presenta con dolore retrosternale che cambia al variare della posizione, a livello elettrocardiografico si può apprezzare un diffuso sopraslivellamento del tratto ST che risponde bene al trattamento con i FANS. La durata della terapia deve essere da 1 a 3 mesi, in base all'intensità della malattia (217).

In caso di pericardite cronica invece vi possono essere sintomi intermittenti oppure una malattia incessante che si riattiva ogni volta che la terapia viene sospesa. Le forme di pericardite recidivante hanno dei periodi asintomatici ampiamente variabili, inoltre bisogna ogni volta escludere un'infezione batterica o virale che possa essere la vera causa della recidiva della pericardite e quindi bisogna eseguire

la coltura del liquido pericardico e altre indagini volte alla ricerca del genoma virale. (217).

5.8 Interessamento renale

L'interessamento renale nella sclerosi sistemica si manifesta principalmente mediante la crisi renale sclerodermica (SRC). La crisi renale sclerodermica è definita come un'ipertensione arteriosa di nuova insorgenza o come un'insufficienza renale di nuova insorgenza che si manifesta con un aumento acuto della creatinina.

La crisi renale si verifica approssimativamente nel 10% dell'intera popolazione sclerodermica, tuttavia negli ultimi anni l'incidenza si è ridotta grazie all'utilizzo degli ACE inibitori per ogni aumento pressorio nel corso della malattia, in modo da evitare un'esplosione completa crisi renale. L'ipotensione può essere una delle cause che porta allo sviluppo di questa manifestazione clinica, quindi l'utilizzo di farmaci ipotensivi in pazienti normotesi deve essere usato con cautela (218).

5.8.1 Fattori di rischio

La crisi renale sclerodermica si manifesta soprattutto nei pazienti con forma cutanea diffusa ed è una manifestazione precoce, infatti circa il 75% dei casi di crisi renale sclerodermica insorgono entro i primi 4 anni dall'esordio della malattia. I maggiori fattori di rischio che si associano allo sviluppo di SRC sono l'etnia negroide, il sesso maschile e la positività all'anti RNA polimerasi III.

Una caratteristica clinica che sembra invece essere un buon predittore di crisi renale sclerodermica è la rapida progressione dell'ispessimento cutaneo. I pazienti con questi fattori di rischio dovrebbero essere accuratamente informati dell'importanza del monitoraggio pressorio a casa. I pazienti che sviluppano SRC solitamente avevano valori pressori normali prima della SRC, anche fino a 3 giorni prima; nella maggioranza dei casi si raggiungono livelli come 220/120 o più alti (218).

5.8.2 Fisiopatologia

A livello fisiopatologico la causa è la vasculopatia dell'endotelio renale che determina una ridotta perfusione renale. Il danno endoteliale si associa all'ispessimento dell'intima con aspetto a bulbo di cipolla delle arterie interlobulari

e arcuate. L'ipoperfusione renale latente causa, inoltre, in alcuni pazienti, un'ipertrofia delle cellule juxtaglomerulari che porta ad un aumento dei livelli di renina, altro fattore importante nella patogenesi della SRC (219).

5.8.3 Sintomatologia e diagnosi

Il paziente con SRC può riferire mal di testa, avere una retinopatia ipertensiva al fundus, encefalopatia, crisi epilettica, febbre e malessere generale. Anche l'edema polmonare è una manifestazione comune, a causa della ritenzione idrosalina e all'oliguria. A livello laboratoristico è possibile rilevare un aumento dei valori di creatinina, anemia emolitica microangiopatica dovuta ad un danno glomerulare severo e un aumento dei livelli di renina. L'esame delle urine mostra una lieve proteinuria ed ematuria con cilindri granulari visibili al microscopio (98).

5.8.4 Forme di crisi renale sclerodermica a pressione normale

In alcuni pazienti con una bassa pressione al baseline (es. 95/60) anche un semplice aumento di 20 mmHg dovrebbe porre il sospetto di SRC, esistono infatti dei casi di SRC a pressione normale nei pazienti che al baseline hanno delle pressioni basse ma che improvvisamente aumentano di 20/30 mmHg pur senza raggiungere però valori > di 140 mmHg per la sistolica o > di 90 mmHg per la diastolica (98).

6. Trattamento

6.1 Fenomeno di Raynaud

Per il trattamento del fenomeno di Raynaud le linee guida suggeriscono l'assunzione di 10/20 mg di nifedipina per 3 volte al giorno, soprattutto nei periodi dell'anno più freddi. In caso di intolleranza o di inefficacia, si possono utilizzare i PDE-5 inibitori. Nei casi più severi che non rispondono né ai calcio antagonisti diidropiridinici né ai PDE-5 inibitori va considerato l'utilizzo di iloprost endovenoso (220).

6.2 Ulcere digitali

Le ulcere digitali possono essere trattate con una terapia endovenosa o una terapia orale. Per quest'ultima si utilizzano sildenafil 50 mg bid, sildenafil a rilascio prolungato 100 mg o tadalafil 20 mg a giorni alterni (classe di raccomandazione A).

Il bosentan, un antagonista di entrambi i recettori per l'endotelina, è raccomandato invece per ridurre l'insorgenza di nuove ulcere digitali in pazienti con ulcere multiple che stanno assumendo anche altri vasodilatatori.

L'iloprost per via endovenosa alla dose di 0,5-2 ng/kg/min per 3/5 giorni consecutivi favorisce la guarigione delle ulcere digitali. La terapia infusiva va considerata soprattutto per quei pazienti che non rispondono alla terapia orale e, nei casi più severi, va utilizzata in combinazione alla terapia orale (220).

6.3 Ipertensione polmonare

Gli antagonisti del recettore dell'endotelina (ambrisentan, bosentan e macitentan), i PDE-5 inibitori (sildenafil e tadalafil) e il riociguat sono approvati per il trattamento dell'ipertensione polmonare con una classe di raccomandazione B. Questi farmaci migliorano la dispnea da sforzo ed aumentano il tempo necessario affinché si verifichi un peggioramento delle condizioni cliniche.

Nonostante non vi siano trial che mettano a confronto terapie di combinazione con farmaci specifici per l'ipertensione polmonare versus le monoterapie, questo approccio è in linea con quanto espresso dalle linee guida dell'ESC (European Society of Cardiology) per il trattamento dell'ipertensione polmonare in generale.

Per i pazienti con ipertensione polmonare severa, ovvero in classe III e IV, viene suggerito il trattamento con epoprostenolo intravenoso, il quale migliora la capacità di esercizio fisico e più in generale il quadro emodinamico; questo trattamento viene suggerito soprattutto per pazienti resistenti alla terapia per via orale (220).

6.4 Ispessimento cutaneo

Le linee guida EULAR indicano il methotrexate come trattamento di prima linea per le manifestazioni cutanee nelle forme early di dcSSc alla dose di 15 mg per 24 settimane e 10 mg per 1 anno. (classe di raccomandazione A).

Gli algoritmi più recenti, invece, suggeriscono di suddividere il paziente in 3 classi in base alla gravità del quadro cutaneo misurato con lo skin score: in pazienti con skin score da 10 a 24 vanno usati in prima linea il methotrexate e in seconda linea il micofenolato mofetile. In pazienti con skin score da 24 a 32 si può aggiungere in terza linea la ciclofosfamide mentre in coloro con skin score > 32 si può aggiungere

in quarta linea il trapianto di cellule staminali ematopoietiche oppure far partecipare un paziente ad un trial clinico per i farmaci biologici (221).

6.5 Interstiziopatia polmonare

Le linee guida BSR e BHPR consigliano di trattare il paziente con ILD solo in caso di malattia estesa o rapidamente progressiva. La prima linea di trattamento è rappresentata da una dose di ciclofosfamide personalizzata da paziente a paziente. Il micofenolato si può utilizzare dopo la ciclofosfamide o come alternativa alla ciclofosfamide (222).

La terapia di induzione è però cambiata in maniera considerevole dopo gli studi SLS1 ed SLS2, in cui viene suggerito di avviare la terapia di induzione con il micofenolato e non con la ciclofosfamide.

Inoltre, viene sottolineato anche il ruolo del Rituximab come “rescue therapy” nei pazienti che non rispondono agli altri farmaci e viene suggerito anche un possibile ruolo del Tocilizumab (221).

6.5 Crisi renale sclerodermica

Nonostante una classe di raccomandazione C, gli esperti raccomandano l'utilizzo immediato degli ACE inibitori per il trattamento della crisi renale sclerodermica. Questa discrepanza è dovuta al fatto che non vi sono degli RCT che valutino l'efficacia degli ACE inibitori nel trattamento della SRC, tuttavia si trovano in letteratura numerosi case-report che ne mostrano l'efficacia (220).

Gli algoritmi più recenti suggeriscono inoltre l'utilizzo dei calcio antagonisti in seconda linea, degli ARBs in terza linea e degli alfa bloccanti in quarta linea (221).

6.5 Reflusso gastroesofageo

Anche per il trattamento del reflusso gastroesofageo mancano dei trial specifici in pazienti con SSc, tuttavia, sulla base dei dati presenti per la popolazione non affetta da SSc, gli esperti raccomandano l'utilizzo dei PPI con una classe di raccomandazione B.

Allo stesso modo viene raccomandato l'utilizzo di uno qualsiasi dei procinetici disponibili per il management dei disturbi della motilità (sensazione di distensione

addominale, sazietà precoce, disfagia e sintomi di pseudo-ostruzione) con classe di raccomandazione C.

In caso di SIBO invece viene raccomandato l'utilizzo di antibiotici ad ampio spettro con attività contro aerobi ed anaerobi come chinoloni, amoxicillina-acido clavulanico e metronidazolo (220).

6.6 Artrite

Il management per le manifestazioni articolari simil-artrite reumatoide prevede come trattamento di prima linea il methotrexate o in alternative l'idrossiclorochina. Anche i glucocorticoidi vengono utilizzati dalla maggior parte degli esperti, con un dosaggio < 7,5 mg/die per un breve periodo di 3 mesi, i farmaci biologici come Rituximab e Tocilizumab vengono utilizzati solo in seconda linea (221).

In caso di manifestazioni cardiache simil-scompenso cardiaco, il trattamento è quello standard per lo scompenso cardiaco.

Per le pericarditi si utilizzano in prima linea basse dosi di glucocorticoidi, FANS o colchicina mentre in seconda linea micofenolato o methotrexate; in caso di lieve versamento pericardico non si effettua alcun trattamento.

Le miocarditi vengono trattate utilizzando alte dosi di glucocorticoidi o il micofenolato in prima linea, in seconda linea invece si passa all'utilizzo della ciclofosfamide e del Rituximab. Per le aritmie il trattamento cambia da caso a caso in base alla specifica aritmia da cui è affetto il paziente (221).

7. Score di attività e di danno

Lo stato della malattia può essere valutato in qualsiasi momento misurando l'attività di malattia, il danno e la severità. L'attività è quell'aspetto della malattia che varia nel corso del tempo ed è reversibile o spontaneamente o mediante trattamento farmacologico. Il danno, invece, riflette le lesioni irreversibili indotte dalla malattia stessa o dal trattamento e si manifesta con la perdita delle strutture anatomiche o della funzione fisiologica (223,224). La severità di malattia non ha una definizione accettata, ma recentemente è stata suggerita l'idea che si debba intendere come un concetto comprendente sia l'attività che il danno, quindi sia effetti reversibili che irreversibili (225).

7.1 EScSG disease activity index

Nel 2001 lo European Scleroderma Study Group (EScSG) ha sviluppato tre diversi indici di attività di malattia da utilizzare nei pazienti con SSc. Hanno partecipato dei clinici provenienti da 19 centri europei in 11 paesi diversi e per la raccolta dati è stato utilizzato un modulo standardizzato contenente 88 item diversi. È stato creato un gold standard, ovvero una valutazione fornita da 3 esperti che hanno esaminato ogni modulo ed hanno assegnato una valutazione di attività di malattia sia quantitativa (da 1 a 10) che qualitativa (inattiva o moderatamente attiva e attiva o molto attiva). Ciascuno dei 3 esaminatori ha assegnato una prima valutazione quantitativa indipendente, dopodiché i 3 esaminatori si sono riuniti per scegliere un valore univoco, creando così il gold standard per quel paziente, chiamato "consensus disease activity score". La valutazione qualitativa è stata fatta per separare quei pazienti che necessitavano di un trattamento puramente sintomatico da uno più aggressivo. Andando a confrontare i valori calcolati mediante lo score di attività di malattia con quelli dati dal consensus disease activity score, si è trovata una correlazione. Inoltre, venne definito come cut-off per indicare l'attività di malattia un punteggio ≥ 3 con buona sensibilità (da 62 a 81%) e ottima specificità (da 86 a 93%) (224).

Come detto prima, sono stati sviluppati 3 score diversi, uno per la forma cutanea limitata, uno per quella cutanea diffusa e un terzo per entrambe le forme. Le correlazioni ottenute utilizzando lo score per la sola forma cutanea diffusa e quello per la sola forma cutanea limitata avevano bassi valori di correlazione ($<0,5$), pertanto si è giudicato valido solo il terzo score, ovvero quello applicabile indistintamente sia alle forme dcSSc che alle forme lcSSc (226).

7.2 Eustar activity index

Nel 2016 il gruppo EUSTAR (European Scleroderma Trials and Research group) ha sviluppato uno nuovo score che permette di valutare l'attività di malattia. In questo caso 3 esaminatori hanno fornito una valutazione di attività quantitativa da 1 a 10 per una coorte di derivazione di 97 pazienti e la media tra queste 3 misurazioni è stata definita come gold standard. Due altri esaminatori, invece, etichettavano la malattia come inattiva/moderatamente attiva o attiva/molto attiva.

La malattia inattiva/moderatamente attiva non richiedeva modifiche alla terapia mentre una malattia attiva/molto attiva richiedeva modifiche alla terapia e nell'ultimo caso poteva richiedere anche l'ospedalizzazione. Grazie a delle analisi univariate-multivariate di regressione lineare vennero definite le variabili che meglio predicessero il gold standard e ad ognuna di esse venne attribuito uno specifico peso, ottenendo così un indice di attività della malattia (227).

Venne inoltre scelto un cut-off di 2,5 per indicare l'attività di malattia con sensibilità dell'80% (95% CI 64.4 - 90.9%) e specificità del 91% (95% CI 80.7 - 97.1%).

L'indice venne poi validato da un secondo gruppo di 60 pazienti valutati da 3 diversi esaminatori in maniera quantitativa (sempre da 1 a 10) e 2 diversi esaminatori in maniera qualitativa (inattiva/moderatamente attiva e attiva/molto attiva). Su 60 pazienti 37 erano considerati dai 2 esperti come inattivi/moderatamente attivi mentre 23 erano considerati come attivi/molto attivi. Un valore ≥ 2.5 identificava gli attivi con una sensibilità del 73,9% (95% CI 51.6 to 89.8) e una specificità del 78,3% (95% CI 61.8 to 90.2). Nella stessa coorte un valore di EScSG ≥ 3 identificava l'attività di malattia con un 52.2 % di sensibilità e 89.1 % di specificità.

Per ottenere un'ulteriore validazione, sono stati confrontati i cambiamenti dell'indice di attività sia della coorte di derivazione che della coorte di validazione con i cambiamenti nel Medsger severity score (MSS), che è una misura della severità della malattia validata da studi osservazionali. L'indice non cambiava in 36 pazienti, diminuiva in 59 e aumentava in 28. I cambiamenti dell'indice di attività erano correlati in maniera significativa a quelli del MSS, mettendo in evidenza una significativa relazione tra l'indice e la severità di malattia (227).

7.3 Medsger Disease Severity Scale

Lo score sviluppato da Medsger, chiamato "scala di Medsger", va a valutare l'interessamento di 9 diversi sistemi e apparati, ognuno di essi è valutato separatamente da 0 a 4, in base alla gravità dell'interessamento di quell'organo. Nonostante l'obiettivo iniziale della scala di Medsger fosse includere sia componenti dell'attività che componenti del danno, alla fine vennero escluse componenti importanti che sono correlate all'attività di malattia (es. VES, TFR, CK

e pressione diastolica). Inoltre, la scala è composta da 9 diversi score di severità, uno per ogni organo considerato, piuttosto che avere uno score generale; questo rende l'utilizzo del Medsger score difficile nella pratica clinica (220).

Lo score è stato sviluppato utilizzando una coorte prospettica di 579 pazienti che facevano parte di uno specifico data-set e validato utilizzando un altro gruppo di 680 pazienti indipendenti dai primi ma facenti parte dello stesso data-set. (228) I primi ad utilizzare la scala di Medsger furono gli svedesi: in una coorte di 100 pazienti seguiti per 14 anni, uno score più alto era predittivo di una sopravvivenza ridotta. I determinanti primari di una scarsa sopravvivenza erano: l'entità dell'ispessimento cutaneo, i cambiamenti elettrocardiografici e la riduzione della funzione polmonare e renale. Inoltre, l'obiettivo originario della scala di Medsger era anche quello di includere il concetto di "miglioramento". Al contrario della scala di danno per il lupus, in cui il danno continua ad accumularsi senza alcun tipo di reversibilità, la severità della SSc può migliorare: questo è stato mostrato per l'ispessimento cutaneo, la funzione polmonare e la malattia renale. Tuttavia, nello studio svedese la disfunzione d'organo si accumulava durante i primi 5 anni di malattia e rimaneva stabile nel tempo.

7.4 Scleroderma Clinical Trials Consortium Damage Index (SCTC-DI)

Nel 2018 Lo Scleroderma Clinical Trials Consortium ha sviluppato un indice di danno della malattia. I membri più esperti dell'SCTC sono stati invitati a valutare l'appropriatezza di ogni item da includere mediante una web-survey. Vennero inclusi 58/83 items, ovvero solo quelli in cui il consenso era > 60%. Usando una coorte prospettica australiana di 1568 pazienti si sono messi in relazione gli items selezionati con gli endpoint di mortalità e morbilità.

L'analisi univariata ha mostrato un'associazione statisticamente significativa per 22 items, mentre un altro item venne incluso lo stesso, anche se non statisticamente significativo, a causa della sua importanza clinica. In questo modo si è ottenuto un indice di danno composto da 23 items, suddiviso in base all'impegno d'organo. considerato (225).

La performance dell'SCTC-DI è stata misurata in una coorte di derivazione ricavata dall'Australian Scleroderma Cohort study(ASCS) mentre la validazione esterna è stata eseguita sul Canadian Scleroderma Research Group (CSRG). I valori di media, mediana, valore minimo e valore massimo di DI misurati in entrambe le coorti erano assolutamente sovrapponibili, così come la capacità di discriminare pazienti con un rischio maggiore di mortalità e morbidità (225).

Vennero infine stratificati i pazienti in 3 classi di rischio: danno lieve (<5), danno moderato (6-12) e danno grave (≥ 13). Le stime di sopravvivenza stratificate in base alla classe di rischio mostravano una mortalità e morbidità più alta per il sottogruppo " danno grave rispetto al sottogruppo "danno moderato" e "danno lieve" dimostrando così la capacità dello score di discriminare tra i pazienti con un rischio più alto di mortalità e morbidità.

SCOPO DELLO STUDIO

In Reumatologia negli ultimi anni sono emersi i concetti di “attività” della malattia e di “danno” causato dalla malattia, per indicare rispettivamente quegli aspetti della patologia che sono reversibili e quelli che non lo sono.

La definizione di tali concetti e la loro applicazione clinica risulta particolarmente intrigante nella sclerodermia, essendo una patologia poco infiammatoria e in cui non vi sono dei veri “flare” di malattia.

Il primo obiettivo del nostro studio è stato quello di esaminare, su una coorte monocentrica prospettica di 173 pazienti, gli score di attività di malattia e danno al basale ed indagare se vi fosse o meno una correlazione tra gli score stessi.

Un ulteriore scopo è stato indagare se vi fossero delle caratteristiche al basale che si associano maggiormente ai pazienti definiti come “attivi” secondo i criteri dell’EUSTAR AI, ma che non vengono prese in considerazione da quest’ultimo.

Lo scopo principale del nostro studio è stato valutare, sempre tramite l’EUSTAR activity index, quali caratteristiche cliniche o biumorali valutate al baseline fossero predittive di persistenza dell’attività di malattia nel follow-up, intesa come un punteggio $\geq 2,5$ per più del 50% delle visite registrate durante il follow-up.

Abbiamo voluto infine ricercare dei predittori al basale di persistenza/sviluppo di danno moderato grave secondo l’SCTC-DI al termine del follow-up.

MATERIALI E METODI

Disegno dello studio e descrizione della popolazione

Sono stati inclusi nello studio 173 pazienti seguiti ambulatorialmente presso l'U.O.C di Reumatologia dell'Azienda Ospedale Università di Padova, classificati come affetti da forma cutanea limitata, forma cutanea diffusa e sine scleroderma.

Il criterio di inclusione era una diagnosi di sclerosi sistemica secondo i criteri ACR/EULAR del 2013. Il principale criterio di esclusione erano le sindromi overlap e la distanza tra una visita ed un'altra maggiore di 24 mesi.

I dati demografici e clinici sono stati ricavati dalle cartelle cliniche cartacee ed informatizzate (piattaforma "Galileo"), dalle valutazioni cliniche ambulatoriali rilasciate dal medico ad ogni visita di follow up e dal database europeo dei pazienti sclerodermici EUSTAR.

Descrizione delle variabili

Per ogni paziente sono stati raccolti i seguenti dati anagrafici e clinici al basale

- Data di nascita;
- Sesso;
- Anno di esordio del fenomeno di Raynaud;
- Anno diagnosi;
- Durata di malattia, ovvero il tempo intercorso tra il momento della diagnosi; e quello della visita al baseline misurato in mesi;
- Specificità anticorpale: anti-centromero (ACA), anti-topoisomerasi I (anti Scl-70), anti RNA polimerasi III (anti-RNAP III) o ANA aspecifici;
- Forma cutanea (sine scleroderma, limitata, diffusa) (2);
- Modified Rodnan Skin Score (mRSS);
- Presenza di impegno viscerale (polmonare, cardiaco, gastrointestinale, renale) e articolare;
- Ipertensione arteriosa polmonare;
- Pattern capillaroscopico:
 - 1) Microangiopatia aspecifica

- 2) Scleroderma early
 - 3) Scleroderma active
 - 4) Scleroderma late
- EUSTAR activity index (227), ovvero un indice di attività di malattia calcolato assegnando i seguenti punti per la presenza di ognuna delle seguenti caratteristiche:
 - Δ -mRSS: 1,5 punti (peggioramento cutaneo nell'ultimo mese);
 - mRSS > 18: 1,5 punti;
 - Presenza di ulcere digitali: 1,5;
 - Presenza di tendon friction rubs: 2,25;
 - PCR > 1 mg/dl: 2,25 punti;
 - DLCO < 70% del predetto: 1 punto;

 - EScSG activity index (224), altro score di attività di malattia calcolato assegnando i seguenti punti per la presenza di ognuna delle seguenti caratteristiche:
 - mRSS > 14: 1 punto;
 - Scleredema: 0,5 punti;
 - Δ -Skin: 2 punti (peggioramento soggettivo del quadro cutaneo nell'ultimo mese);
 - Necrosi digitale: 0,5 punti;
 - Δ -Vascular: 0,5 punti (peggioramento soggettivo del quadro vascolare nell'ultimo mese);
 - Artrite: 0,5 punti;
 - DLCO < 80%: 0,5 punti;
 - Δ -Lung/heart: 2 punti (cambiamento soggettivo del quadro cardiopolmonare);
 - VES > 30 mm/h: 1,5 punti;
 - Ipocomplementemia: 1 punto;

- Medsger disease severity scale, score che valuta il danno assegnando i seguenti punti per la presenza di ognuna delle seguenti caratteristiche:

Organ system	0 (normal)	1 (mild)	2 (moderate)	3 (severe)	4 (endstage)
1. General	Wt loss < 5%; PCV 37.0%+; Hb 12.3+ Gm/dl	Wt loss 5.0-9.9%; PCV 33.0-36.9% Hb 11.0-12.2 Gm/dl	Wt loss 10.0-14.9%; PCV 29.0-32.9% Hb 9.7-10.9 Gm/dl	Wt loss 15.0-19.9%; PCV 25.0-28.9% Hb 8.3-9.6 Gm/dl	Wt loss 20+ %; PCV < 25.0% Hb < 8.3 Gm/dl
2. Peripheral vascular	No Raynaud's; Raynaud's not requiring vasodilators	Raynaud's requiring vasodilators	Digital pitting scars	Digital tip ulcerations	Digital gangrene
3. Skin	TSS 0	TSS 1-14	TSS 15-29	TSS 30-39	TSS 40+
4. Joint/tendon	FTP 0-0.09 cm	FTP 1.0-1.9 cm	FTP 2.0-3.9 cm	FTP 4.0-4.9 cm	FTP 5.0+ cm
5. Muscle	Normal proximal muscle strength	Proximal weakness, mild	Proximal weakness, moderate	Proximal weakness, severe	Ambulation aids required
6. GI tract	Normal esophagram; normal small bowel series	Distal esophageal hypoperistalsis; small bowel series abnormal	Antibiotics required for bacterial overgrowth	Malabsorption syndrome; episodes of pseudo-obstruction	Hyperalimentation required
7. Lung	DLCO 80+%; FVC 80+%; No fibrosis on radiograph; sPAP < 35 mmHg	DLCO 70-79%; FVC 70-79%; basilar rales; Fibrosis on radiograph sPAP 35-49 mmHg	DLCO 50-69%; FVC 50-69%; sPAP 50-64 mmHg	DLCO < 50%; FVC < 50%; sPAP 65+ mmHg	Oxygen required
8. Heart	EKG normal; LVEF 50+%	EKG conduction defect; LVEF 45-49%	EKG arrhythmia; LVEF 40-44%	EKG arrhythmia requiring Rx; LVEF 30-40%	CHF; LVEF < 30%
9. Kidney	No Hx SRC with serum creatinine < 1.3 mg/dl	Hx SRC with serum creatinine < 1.5 mg/dl	Hx SRC with serum creatinine 1.5-2.4 mg/dl	Hx SRC with serum creatinine 2.5-5.0 mg/dl	Hx SRC with serum creatinine > 5.0 mg/dl or dialysis required

Wt: weight; PCV: packed cell volume (hematocrit); Hb: hemoglobin; TSS: total skin thickness score; FTP: fingertip-to-palm distance in flexion; DLCO: diffusing capacity for carbon monoxide, % predicted; FVC: forced vital capacity, % predicted; sPAP: estimated pulmonary artery systolic pressure by Doppler echo; EKG: electrocardiogram; LVEF: left ventricular ejection fraction; Rx: treatment; CHF: congestive heart failure; Hx: history of; SRC: scleroderma renal crisis.

N.B. If two items are included for a severity grade, only one is required for the patient to be scored as having that severity level.

- Scleroderma Clinical Trials Consortium Damage Index (SCTC-DI), score composto dai seguenti items:
 - Contrattura articolare delle piccole articolazioni di ogni grado che causa l'impossibilità di riportare l'articolazione alla posizione anatomica naturale: 2 punti;
 - Contrattura articolare delle grandi articolazioni di ogni grado che causa l'impossibilità di riportare l'articolazione alla posizione anatomica naturale: 2 punti;
 - Sintomi di sindrome secca intesi come la presenza di occhi secchi e/o di bocca secca che richiede un trattamento quotidiano, per esempio, lacrime artificiali o sostituti salivari: 3 punti;
 - Debolezza muscolare prossimale alla valutazione clinica, definita come abduzione della spalla e/o flessione dell'anca minore di 5/5: 3 punti;
 - Calcinosi complicata da infezione o richiedente terapia chirurgica: 4 punti;

- Ulcere digitali definite come una perdita dell'epitelizzazione di ogni grado dell'epidermide, del derma e/o del tessuto sottocutaneo distalmente all'articolazione interfalangea prossimale delle mani e dei piedi che non è causata da un trauma ed è refrattaria alla terapia: 2 punti
- Amputazione digitale: 1 punto;
- Estensione dell'interstiziopatia da moderata a severa (>20% all'HRCT): 2 punti;
- FVC < 70% ai test di funzione polmonare (non dovuta a debolezza dei muscoli respiratori): 4 punti;
- Necessità di ossigeno a casa: 5 punti;
- Ipertensione polmonare definita come una pressione arteriosa polmonare media ≥ 25 mmHg e una pressione di occlusione dell'arteria polmonare ≤ 15 mmHg al cateterismo del cuore destro: 2 punti;
- Disfunzione del ventricolo destro da moderata a severa valutabile mediante ecocardiografia e basata sul giudizio di un cardiologo esperto: 5 punti;
- Patologia miocardica attribuibile alla SSc e basata su una costellazione di manifestazioni cliniche che vengono adeguatamente studiate: per esempio, sincope secondaria a difetti di conduzione, aritmia richiedente defibrillazione, blocchi cardiaci richiedenti pacemaker permanenti o ablazione, disfunzione sistolica o diastolica dimostrata mediante ecografia transtoracica: 3 punti;
- Versamento pericardico moderato o massivo equivalente a più di 1 cm
- Dismotilità esofagea definita come disfagia distale refrattaria al trattamento, con altre diagnosi differenziali escluse mediante endoscopia: 1 punto;
- Stenosi esofagee confermate mediante endoscopia o pasto baritato: 1 punto;
- Sintomi di reflusso gastroesofageo (pirosi retrosternale) refrattari al trattamento (PPI) e confermati mediante endoscopia: 1 punto;
- GAVE confermata da un'endoscopia : 2 punti;
- Pseudo-ostruzione con sintomi come vomito, costipazione e dilatazione dell'intestino tenue o dell'intestino crasso all'imaging: 3 punti;

- Basso BMI $< 18,5 \text{ Kg/m}^2$ o perdita di peso $> 10 \%$ negli ultimi 12 mesi: 2 punti;
- Storia di crisi renale sclerodermica, sia ipertesa che normotesa, come definito dall'International Scleroderma Renal Crisis Study Investigators (ISRCSI): 3 punti;
- 1 punto in più se la crisi renale sclerodermica ha determinato una GFR $< 45 \text{ ml}(\text{min}/1,73 \text{ m}^2)$;
- 2 punti in più se la crisi renale sclerodermica ha determinato un'insufficienza renale di stadio 5 con successiva necessità di trattamento sostitutivo.

Impegno polmonare

La presenza di interstiziopatia è stata definita dal riscontro di alterazioni suggestive alla TC ad alta risoluzione. È stato poi definito il pattern di interstiziopatia, ovvero NSIP, UIP, LIP. Anche la durata dell'interstiziopatia è stata presa in considerazione.

Tutte le TC polmonari erano ad alta risoluzione (HRCT), eseguite secondo una procedura ampiamente validata, sia con tecnica tradizionale che con acquisizione volumetrica. Ogni esame è stato condotto dalle basi agli apici polmonari, in decubito supino o in apnea respiratoria, senza somministrazione di mezzo di contrasto; le immagini sono state ottenute sia con finestra per parenchima che per mediastino.

Per quanto riguarda le prove spirometriche, sono state considerate le seguenti variabili, espresse come percentuale osservata rispetto al teorico.

- FVC: capacità vitale forzata
- TLC: capacità polmonare totale
- DLCO: diffusione del monossido di carbonio

Impegno gastroenterico

L'impegno gastroenterico è stato definito attraverso il riscontro di almeno una tra le seguenti alterazioni:

- Reflusso gastroesofageo;

- Disfagia;
- Dismotilità esofagea, documentata radiologicamente;
- Ernia iatale, esofagite e gastrite;
- Ostruzione al transito intestinale e sub-occlusione;
- Stipsi;
- Alvo alterno;
- Diarrea.

Impegno articolare e tendineo

Per la definizione dell'impegno articolare e tendineo è stata considerata la presenza di artrite, artralgie e/o scrosci tendinei ("tendon friction rubs") all'obiettività clinica.

Impegno cardiaco

La definizione dell'impegno cardiaco è stata basata sul riscontro di almeno una delle seguenti alterazioni:

- Aritmie ventricolari e difetti di conduzione all'esecuzione di ECG e, qualora disponibile, di ECG-Holter;
- Disfunzione sistolica (FE < 55%) o diastolica (secondo i criteri ASE) all'ecocardiogramma color-Doppler;
- Versamento pericardico lieve, moderato o grave (> 20 mm) all'ecocardiogramma.

Follow up

Il periodo di follow-up è stato definito come il tempo intercorso tra il baseline e l'ultima visita disponibile, con un periodo di follow up mediano di 3,6 anni.

Per ogni paziente sono stati considerati i seguenti dati:

- mRSS;
- Δ -Skin: peggioramento soggettivo nella percezione del quadro cutaneo;
- Scleredema: edema delle mani, anche definito puffy hands;
- Presenza di ulcere digitali;
- Δ -Vascular: peggioramento soggettivo nella percezione del quadro cutaneo;

- Δ -Lung/heart: cambiamento soggettivo del quadro cardio-polmonare;
- Valori di DLCO, FVC e TLC rilevati ad una prova spirometrica rispondente;
- Presenza di “ tendon friction rubs”;
- Presenza di segni e sintomi di artrite;
- Quadro capillaroscopico;
- Esami di laboratorio: VES, PCR ed ipocomplementemia;
- Presenza di interstiziopatia (ILD);
- Presenza di ipertensione polmonare (PAH);
- Presenza di qualsiasi tipo di interessamento gastrointestinale (GI);
- Presenza di qualsiasi tipo di interessamento muscoloscheletrico (MSK);
- Presenza di crisi renale sclerodermica (SRC);
- Terapia con glucocorticoidi e immunosoppressori;

Grazie a questi dati è stato possibile calcolare gli score di attività di malattia, ovvero l'EUSTAR AI e l'EScSG AI.

Sono stati definiti “attivi” i pazienti con:

- EUSTAR AI $\geq 2,5$
- EScSG AI ≥ 3

Tutti i pazienti con un punteggio inferiore rispetto a quello definente l'attività venivano definiti come “inattivi”.

Per valutare la persistenza di malattia è stato confrontato il valore degli score di attività per ogni visita dal baseline all' ultima visita disponibile ed è stato definito come “persistentemente attivo” un paziente con EUSTAR AI $\geq 2,5$ per più del 50% delle visite.

Metodi statistici

La distribuzione normale delle variabili continue è stata valutata con il test di Shapiro-Wilk sia nella popolazione generale che nei differenti sottogruppi analizzati

Le variabili dicotomiche sono state espresse come frequenze, in valore assoluto e in percentuale. Le variabili quantitative continue con distribuzione normale sono state espresse come media più o meno deviazione standard, mentre per le variabili non distribuite normalmente sono stati considerati mediana e range interquartile.

Nel confronto tra variabili continue con distribuzione normale è stato utilizzato il t-test, mentre per le variabili non distribuite normalmente è stato utilizzato il test Mann-Whitney. Il confronto tra variabili qualitative è stato eseguito con test Chi-quadrato. La significatività statistica è stata considerata per valori di $p < 0,05$.

La correlazione tra variabili continue (indici di danno e attività di malattia) è stata analizzata mediante il test per ranghi di Spearman.

Le variabili che sono risultate associate con una $p < 0,05$ all'analisi univariata, sono state poi incluse come covariate nell'analisi multivariata, eseguita utilizzando il modello di Regressione Logistica Bivariata. In caso di collinearità tra due o più variabili, nell'analisi multivariata sono state inserite le variabili clinicamente più rilevanti. I risultati sono stati riportati in forma di Odds Ratio (OR), con intervallo di confidenza al 95%.

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il software SPSS, versione 22 statistical software (SPSS Inc. and Microsoft Corp., Chicago, IL, USA).

RISULTATI

Descrizione popolazione arruolata in studio e correlazione tra gli score di attività e di danno

Tra i 173 pazienti inclusi nello studio, centocinquantadue (87,9 %) erano donne e 21 (12,1 %) uomini di età compresa tra i 22 e i 92 anni. L'età mediana alla diagnosi era di 45 anni (36-48). L'età mediana al baseline era di 9 anni (4-18,7). Tredici (7,5 %) pazienti presentavano una forma sine scleroderma, 110 (63,5%) quella cutanea limitata e 50 (34,6%) quella cutanea diffusa. Quattordici pazienti (8,1%) non erano positivi agli ANA mentre 159 (91,9%) lo erano; tra questi ultimi, 63 (36,4%) avevano specificità per anti-centromero (ACA), 69 (39,9%) per anti-topoisomerasi I (Scl70) e 14 (8,1%) per anti RNA polimerasi III. Ventisette (15,6%) pazienti presentavano positività degli ANA in assenza di specificità.

Tra gli interessamenti d'organo il più frequente era quello gastrointestinale con 120 pazienti affetti (69%), al secondo posto invece vi era l'interessamento muscoloscheletrico con 96 pazienti (55,5%), la terza manifestazione clinica più frequente era la presenza di teleangectasie, presenti in 74 pazienti (42,5%).

I pazienti affetti da ILD erano 60 (34,5%) con una durata mediana dell'ILD stessa di 4 anni (2-9), mentre quelli con ipertensione polmonare erano 15 (8,6%). Quaranta pazienti (23,3%) presentavano interessamento cardiaco, che poteva essere di tipo aritmico (ventricolare o sopraventricolare), meccanico (disfunzione sistolica o diastolica), o pericardico (versamento pericardico).

Le caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti arruolati nello studio sono riportate in *Tabella 1*.

Tabella I. Caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione in studio.

Caratteristiche dei pazienti SSc (n=173)	N
Età diagnosi (anni)	45 (34-56)
Sesso maschile	21 (12,1)
Durata malattia al baseline (anni)	9 (4-18,7)
Forma cutanea limitata	110 (67,9)
Durata Follow-up (anni)	3,5 (3-4)
<i>Specificità anticorpale</i>	
ANA	159 (91,9)
ACA	63 (36,4)
Anti-Scl70	69 (39,9)
Anti-RNA pol III	14 (8,1)
Anti-SSA	5 (2,9)
<i>Score di attività e di danno</i>	
Pazienti attivi al baseline secondo l'EUSTAR AI	25 (14,4)
Pazienti attivi al baseline secondo l'EScSG AI	11 (6,3)
Pazienti persistentemente attivi secondo l'EUSTAR AI	23 (13,2)
Pazienti persistentemente attivi secondo l'EScSG AI	8 (4,6)
Pazienti con persistenza o sviluppo di danno moderato severo secondo l'SCTC DI	16 (10,1)
<i>Interessamenti d'organo</i>	
Interessamento cardiaco	40 (23,3)
Artrite	6 (3,5)
ILD	60 (34,5)
Durata ILD (anni)	4 (2-9)
Tendon friction rubs	0
Crisi renale sclerodermica	1 (0,6)
Teleangectasie	74 (42,5)
Calcinosi	20 (11,5)
Acrosteolisi	8 (5,9)
Interessamento MSK (muscoloscheletrico)	96 (55,5)
Ipertensione polmonare	15 (8,6)
CKD (insufficienza renale cronica)	3 (1,7)
Interessamento GI (gastrointestinale)	120 (69)

I dati sono riportati come mediana (range interquartile) o numero (percentuale).

L'analisi di correlazione tra i due score di attività e tra i due score di danno valutati al baseline ha evidenziato una buona correlazione sia tra lo score EUSTAR ed EScSG ($r=0,581$, $p < 0,0001$), che tra la scala di Medsger e l'SCTC damage index ($r=0,447$, $p < 0,0001$).

Differenze tra pazienti in fase attiva e in fase inattiva al baseline

Al baseline 25 pazienti (14,4%) avevano un punteggio \geq a 2,5 all'EUSTAR AI ed erano quindi definibili come attivi mentre 148 pazienti (85,6%) erano in fase di remissione. Andando a valutare le caratteristiche cliniche e biumorali dei pazienti con EUSTAR AI \geq a 2,5 e di quelli con EUSTAR AI $<$ 2,5 è stato possibile rilevare alcune differenze statisticamente significative tra i due gruppi per quanto riguarda variabili che non venivano prese in considerazione dall'EUSTAR AI (*Tabella II*).

Tra i pazienti in fase attiva, quindici avevano la forma diffusa di malattia (60,9%) mentre solo il 18% di quelli in fase di remissione (25 pazienti) aveva lo stesso subset di malattia, con una differenza statisticamente significativa ($p < 0,0001$). Tra gli attivi al baseline, inoltre, il 24% dei pazienti era di sesso maschile mentre solo il 10% dei pazienti inattivi lo era ($p = 0,048$).

In merito agli autoanticorpi, tra gli attivi la percentuale di pazienti con anti RNA polimerasi III (24%) era maggiore rispetto a quella riscontrata tra i pazienti inattivi (5,4%), con $p = 0,002$.

Per quanto riguarda l'impegno d'organo, invece, tra i pazienti attivi la frequenza diILD ed interessamento cardiaco era significativamente maggiore rispetto a quella riportata negli inattivi (52% vs. 31,5% per l'ILD e 40% vs. 20,3% per l'interessamento cardiaco) con una differenza statisticamente significativa in entrambi i casi ($p=0,046$ e $p=0,021$, rispettivamente).

Come atteso, l'aumento della VES, era fortemente associato all'attività di malattia ($p < 0,0001$); infatti, tra i pazienti attivi al basale, il valore medio della VES era 22,2 ($\pm 22,8$) mm/h mentre i pazienti inattivi avevano un valore medio di 12 (± 15) mm/h.

Considerando i parametri spirometrici, l'unico dato che risultava statisticamente associato ai pazienti in fase attiva era la TLC ($p= 0,011$), con valore medio di 79,1 ($\pm 22,6$) contro un valore medio di 97,5 ($\pm 15,1$) nei pazienti in fase inattiva.

Infine, tra i pazienti in fase attiva il 56% era in terapia con glucocorticoidi e il 36% con micofenolato mofetile mentre vi era una minor frequenza di trattamento con tali farmaci tra i non attivi: 30,2% per i glucocorticoidi e 14,1% per micofenolato mofetile ($p=0,012$ e $p=0,026$, rispettivamente).

Tabella II. Caratteristiche demografiche, cliniche e bioumorali nei pazienti con malattia attiva vs. inattiva secondo EUSTAR AI al baseline.

Variabile	EUSTAR AI \geq 2,5 (n=25)	EUSTAR AI $<$ 2,5 (n=148)	p-value
Forma cutanea diffusa	15 (60,9)	25 (18)	< 0,0001
Età diagnosi (anni)	46 (\pm 17,6)	45,4 (\pm 15)	0,256
Durata malattia al basale (anni)	10,4 (\pm 8,8)	11,9 (\pm 10,05)	0,386
Sesso maschile	6 (24)	15 (10,1)	0,048
mRSS	16,6 (\pm 10,3)	5,6 (\pm 5,6)	<0,001
PCR (mg/dl)	0,6 (\pm 0,7)	0,2 (\pm 1,3)	0,263
VES (mm/h)	22,2 (\pm 22,8)	12 (\pm 15)	<0,0001
ANA	22 (88,0)	137 (92,6)	0,439
ACA	6 (24)	57 (38,5)	0,163
Anti-Sc170	10 (40)	59 (39,9)	0,990
Anti-RNA pol III	6 (24)	8 (5,4)	0,002
Anti-SSA	0	5 (3,4)	0,349
DLCO (%)	62,8 (\pm 23,6)	74 (\pm 20,2)	0,150
FVC (%)	79,6 (\pm 24,6)	102,6 (\pm 19,3)	0,116
TLC (%)	79,1 (\pm 22,6)	97,5 (\pm 15,1)	0,011
PAPs (mmHg)	33 (\pm 11,2)	28,5 (\pm 9,4)	0,146
ILD	13 (52)	47 (31,5)	0,046
Interessamento cardiaco	10 (40)	30 (20,3)	0,021
CKD	2 (8)	1 (0,7)	0,009
Interessamento GI	19 (76)	101 (67,8)	0,411
Teleangectasie	13 (52)	61 (40,9)	0,301
Calcinosi	3 (12)	17 (11,4)	0,932
Acro-osteolisi	2 (9,5)	6 (5,3)	0,447
Interessamento MSK	16 (64)	80 (54,1)	0,355
Ulcere digitali	11 (44)	3 (2)	< 0,0001
Artrite	1 (4,2)	5 (3,4)	0,840
Scleredema	2 (8)	22 (14,8)	0,364
Glucocorticoidi	14 (56)	45 (30,2)	0,012
Micofenolato	9 (36)	21 (14,1)	0,026
Methotrexate	3 (12)	9 (6,1)	0,281
Rituximab	1 (4)	3 (2)	0,548

I dati sono riportati come numero (percentuale) e media (\pm deviazione standard)

Figura 1. Positività degli autoanticorpi nei pazienti con malattia attiva vs inattiva al baseline secondo l'EUSTAR AI

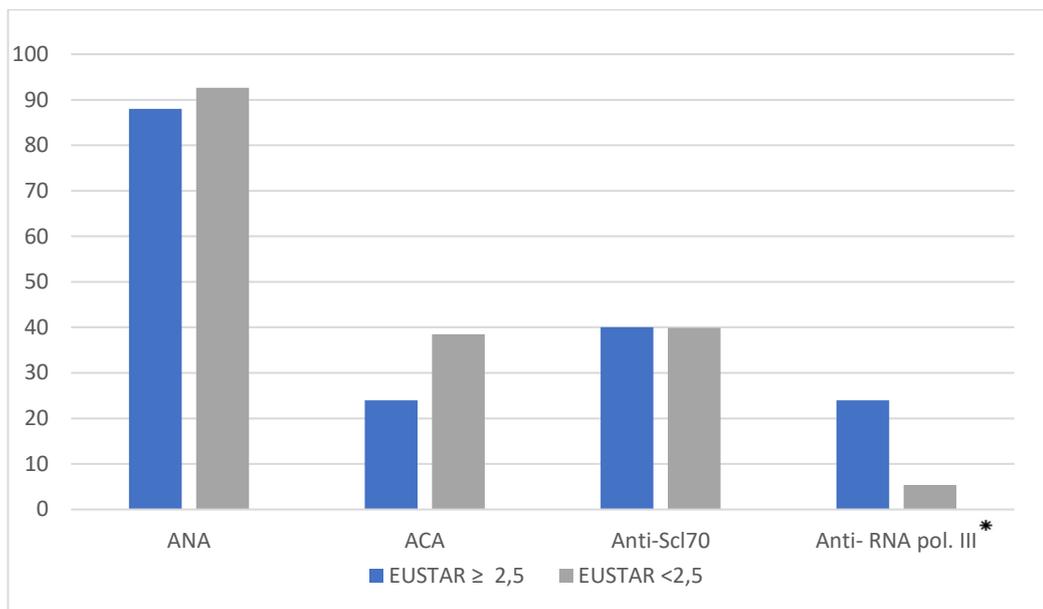
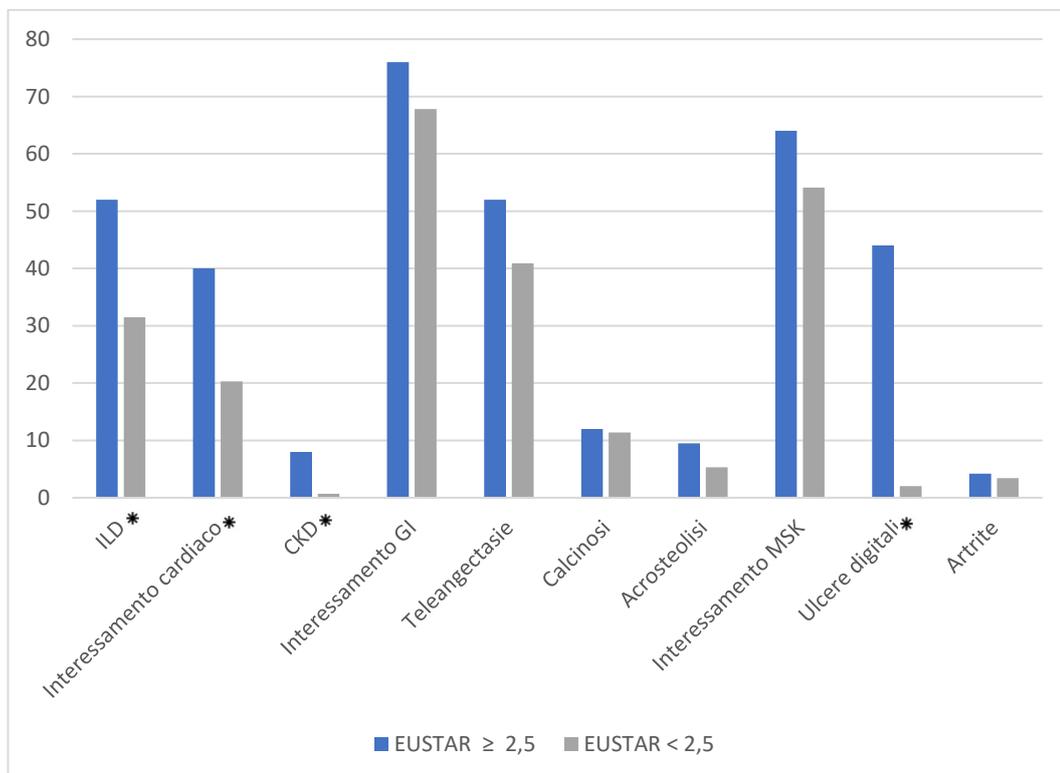


Figura 2. Impegni d'organo e caratteristiche cliniche nei pazienti con malattia attiva vs inattiva al baseline secondo l' EUSTAR AI



* = statisticamente significativo ($p < 0,05$)

Predittori di persistenza dell'attività di malattia nel follow up

Successivamente è stata svolta l'analisi univariata per identificare i predittori di persistenza di attività o di remissione nel follow-up (*Tabella III*).

Tra i pazienti che rimanevano attivi per più del 50% delle visite nel corso del follow up, 13 avevano la forma cutanea diffusa (56%) mentre tra coloro che rimanevano inattivi per più del 50% delle visite la forma cutanea diffusa era meno frequente (17%), con una differenza statisticamente significativa ($p < 0,0001$).

Allo stesso modo, tra coloro che rimanevano persistentemente attivi vi erano 10 pazienti con interessamento cardiaco (43,4%) mentre tra coloro che rimanevano persistentemente inattivi, la percentuale di pazienti con interessamento cardiaco era circa la metà (20,7%); anche tra questi due gruppi è stato possibile dimostrare una differenza statisticamente significativa ($p = 0,036$).

Sia la positività agli anti RNA polimerasi III che la presenza di ILD, nonostante fossero maggiormente associate ai pazienti in fase attiva al baseline, non sono risultate dei predittori statisticamente significativi di persistenza di attività di malattia ($p = 0,079$ e $p = 0,055$, rispettivamente). È interessante notare che la positività agli ACA sembra essere predittiva per la persistenza di remissione, infatti tra i pazienti che rimanevano inattivi nel corso del follow up, cinquantanove (39,3%) erano positivi per gli ACA mentre solo 4 (17,4%) lo erano tra coloro che rimanevano attivi, con una differenza statisticamente significativa ($p = 0,042$).

Valori più elevati di VES, non solo si associavano maggiormente ai pazienti in fase attiva al baseline, ma si sono dimostrati anche degli ottimi predittori di persistenza di attività della malattia ($p = 0,002$); infatti, i pazienti che rimanevano maggiormente in fase attiva avevano valori medi di VES pari a 26,7 ($\pm 21,8$) mm/h al basale mentre i pazienti inattivi avevano valori medi di 11,5 ($\pm 14,8$).

Gli indici spirometrici erano tendenzialmente più bassi nei pazienti in fase attiva, sebbene l'unico indice che raggiungesse la significatività statistica era la TLC: il valore medio dei pazienti persistentemente attivi era di 79,7 ($\pm 21,4$) mentre il valore medio dei pazienti maggiormente inattivi era di 97,5 ($\pm 15,4$) ($p = 0,034$).

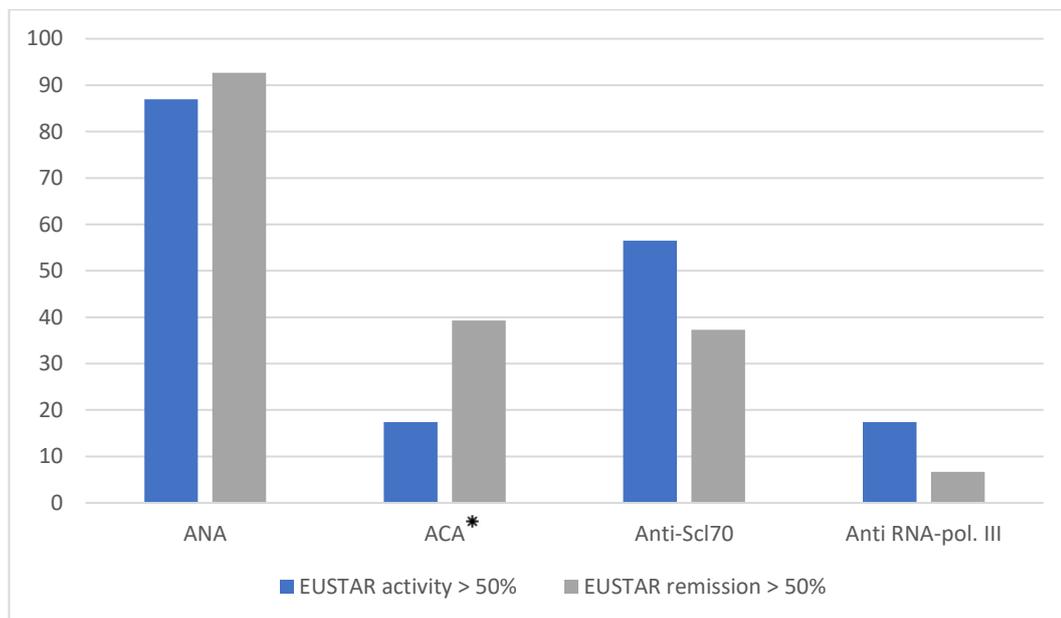
Un dato che è emerso dal confronto con gli score di danno, è che i pazienti persistentemente attivi avevano valori medi agli score di danno al basale più alti rispetto ai pazienti inattivi: in particolare, i primi avevano un valore medio alla scala di Medsger di 6,3 (± 3) e un valore medio all'SCTC-DI di 3,7 (± 4) mentre i secondi avevano un valore medio di 3,5 ($\pm 1,7$) alla scala di Medsger e di 1,3 ($\pm 1,9$) all'SCTC DI ($p < 0,0001$ per entrambi gli indici). Per quanto riguarda la terapia, i pazienti persistentemente attivi durante il follow-up, come atteso, erano stati trattati più di frequente con glucocorticoidi (69,6% vs. 28,5%) e micofenolato (39,1% vs. 13,9%) rispetto ai pazienti persistentemente inattivi ($p < 0,0001$ e $p = 0,011$, rispettivamente).

Tabella III. Analisi univariata dei predittori di persistenza di attività o remissione della malattia durante il follow-up.

Variabile	EUSTAR AI activity > 50% (n=23)	EUSTAR AI remission > 50% (n=150)	p-value
Forma cutanea diffusa	13 (56,5)	27 (18)	< 0,0001
Età diagnosi (anni)	46 (± 15)	45,5 (± 15,5)	0,992
Durata malattia al baseline (anni)	11,3 (± 8,81)	11,7 (± 10,04)	0,356
Sesso maschile	6 (24)	15 (10,1)	0,048
mRSS	16,8 (± 10)	5,7 (± 6)	< 0,0001
PCR (mg/dl)	0,46 (± 0,70)	0,25 (± 1,32)	0,504
VES (mm/h)	26,7 (± 21,8)	11,5 (± 14,8)	0,002
ANA	20 (87)	139 (92,7)	0,350
ACA	4 (17,4)	59 (39,3)	0,042
Anti-Scl70	13 (56,5)	56 (37,3)	0,080
Anti-RNA-pol III	4 (17,4)	10 (6,7)	0,079
Anti-SSA	0	5 (3,4)	0,373
DLCO (%)	65,7 (± 22,6)	73,5 (± 20,7)	0,154
FVC (%)	82,7 (± 25,1)	102,1 (± 19,8)	0,071
TLC (%)	79,7 (± 21,4)	97,5 (± 15,4)	0,034
PAPs (mmHg)	32,8 (± 9,8)	28,6 (± 9,7)	0,735
ILD	12 (52,2)	48 (31,8)	0,055
Durata ILD	6,1 (± 4,1)	5,6 (± 4,9)	0,552
Interessamento cardiaco	10 (43,4)	31 (20,7)	0,036
CKD	1 (4,3)	2 (1,3)	0,299
Interessamento GI	19 (82,6)	101 (66,9)	0,129
Teleangectasie	13 (56,5)	61 (40,4)	0,145
Calcinosi	5 (21,7)	15 (9,9)	0,098
Acro-osteolisi	2 (11,1)	6 (5,1)	0,317
Interessamento MSK	13 (56,5)	83 (55,3)	0,915
Scleredema	1 (4,3)	23 (15,2)	0,158
Ulcere digitali	9 (39,1)	5 (3,3)	< 0,0001
Artrite	2 (8,7)	4 (2,7)	0,141
EUSTAR AI	2,9 (± 1,4)	0,9 (± 0,8)	0,001
EScSG AI	2,3 (± 1,4)	0,8 (± 0,9)	0,001
Medsger severity scale	6,3 (± 3)	3,5 (± 1,7)	< 0,0001
SCTC-Danage index	3,7 (± 4)	1,3 (± 1,9)	< 0,0001
Glucocorticoidi	16 (69,6)	43 (28,5)	< 0,0001
Methotrexate	3 (13)	9 (5)	0,216
Rituximab	1 (4,3)	3 (2)	0,489
Micofenolato	9 (39,1)	21 (13,9)	0,011

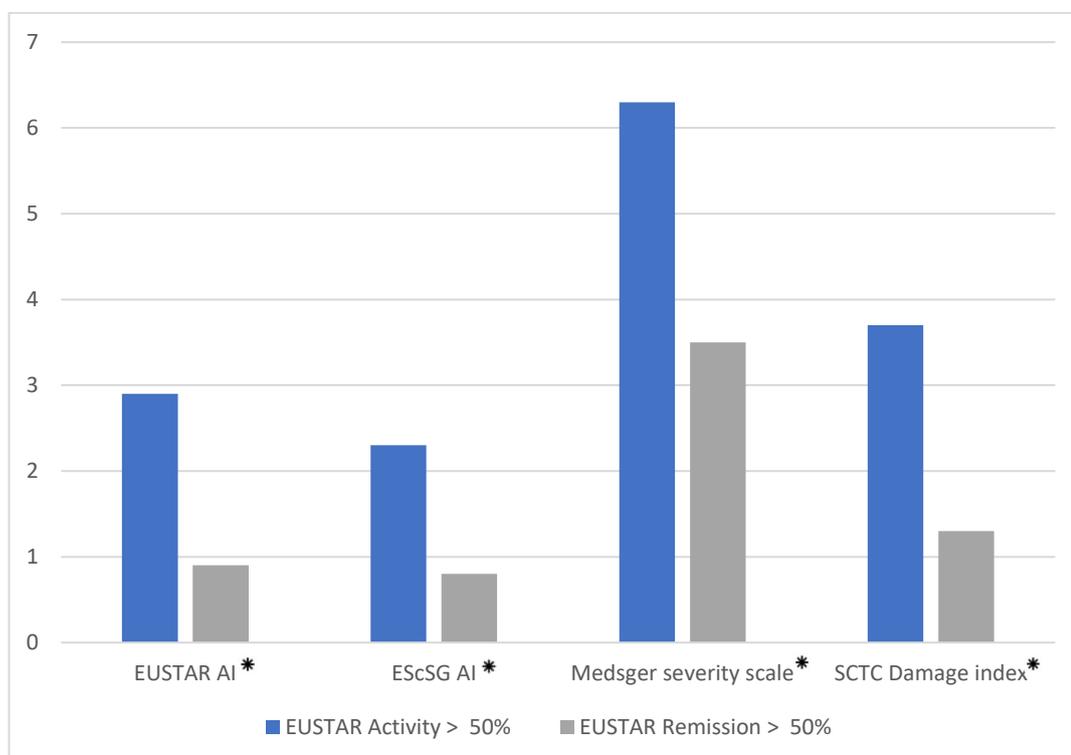
I dati sono riportati come numero (percentuale) e media (deviazione standard).

Figura 3. Positività degli autoanticorpi nei pazienti persistentemente attivi vs in remissione durante il follow-up



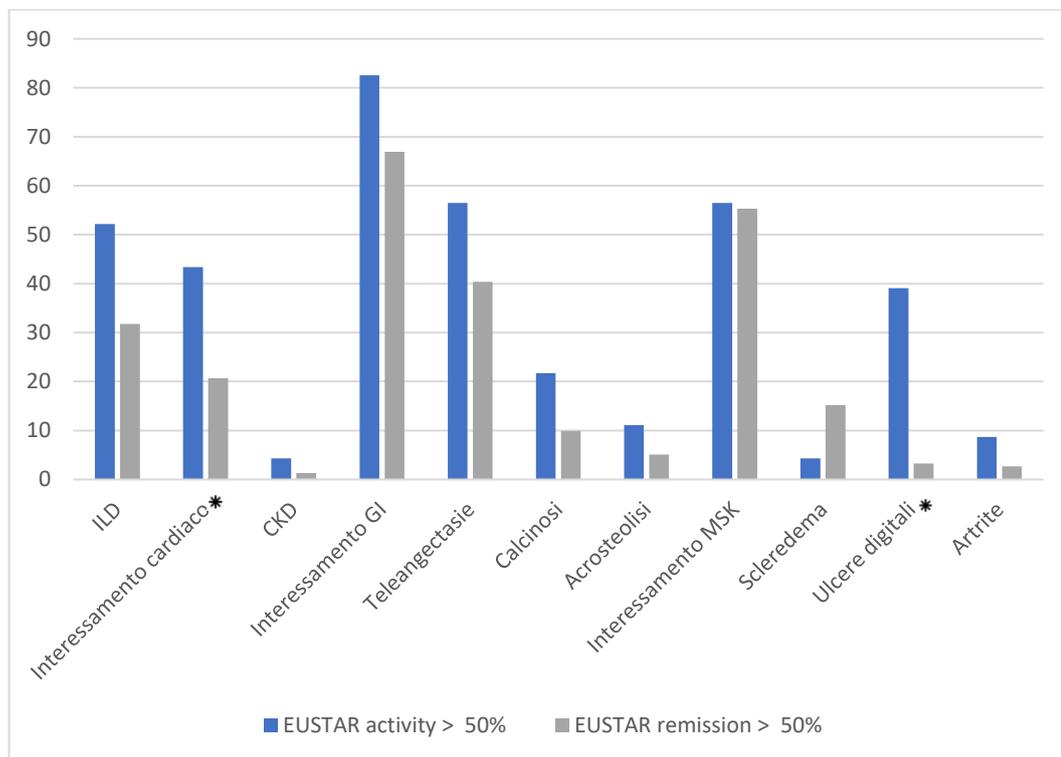
* = statisticamente significativo ($p < 0,05$)

Figura 4. Indici di attività e di danno al basale nei pazienti persistentemente attivi vs in remissione durante il follow-up



* = statisticamente significativo ($p < 0,05$)

Figura 5. Impegni d'organo e caratteristiche cliniche al basale nei pazienti persistentemente attivi vs in remissione durante il follow-up



* = statisticamente significativo ($p < 0,05$)

All'analisi multivariata, sono stati presi in considerazione due modelli, riportati nella *Tabella IV*.

Nel primo modello, per ogni aumento di 1 punto di SCTC-DI, c'era una maggiore tendenza a rimanere attivi per la maggior parte del follow up con un OR 1,28 (IC 95% 0,98-1,67), nonostante la significatività statistica non venisse raggiunta ($p=0.067$).

Sia nel primo che nel secondo modello la VES risultava un predittore indipendente di persistenza di attività di malattia.

Nel secondo modello, invece, è il punteggio totale della scala di Medsger (MDS total) ad essere risultato un predittore indipendente di persistenza dell'attività malattia con un OR di 1,75 (IC 95% 1,29-2,37, $p<0,001$).

Tabella IV. Analisi multivariata dei predittori indipendenti di persistenza di attività o remissione della malattia.

MODELLO 1

Variabile	OR	IC (95%)	P-value
ACA	0,91	(0,18-4,37)	0,905
Forma cutanea	2,57	(0,63-10,40)	0,184
FVC	0,98	(0,95-1,01)	0,329
VES	1,04	(1,01-1,07)	0,009
PAPs	1,01	(0,95-1,07)	0,573
Interessamento cardiaco	1,38	(0,34-5,52)	0,646
SCTC-DI	1,28	(0,98-1,67)	0,067

MODELLO 2

Variabile	OR	IC (95%)	P-value
ACA	0,43	(0,07-2,51)	0,356
Forma cutanea	1,33	(0,29-6,00)	0,778
FVC	0,98	(0,95-1,01)	0,306
VES mm/h	1,04	(1,01-1,07)	0,009
PAPs	1,01	(0,96-1,07)	0,513
Interessamento cardiaco	0,60	(0,12-3,01)	0,537
MDS total	1,75	(1,29-2,37)	< 0,001

IC, intervallo di confidenza; OR, odds ratio.

Predittori di persistenza o sviluppo di danno moderato-grave secondo SCTC damage-index alla fine del follow-up

Al baseline, i pazienti con SCTC moderato-grave erano 14 (8%); tra questi, 3 pazienti (20%) presentavano una regressione del danno durante il follow-up. Al termine del follow-up, i pazienti con danno moderato-grave sono risultati essere 16 (9%). Di questi, 5 pazienti (31%) avevano sviluppato un danno moderato-grave nel corso del follow-up a partire da un danno lieve.

È stata eseguita l'analisi univariata delle caratteristiche al baseline che si associavano alla presenza di danno moderato-grave secondo l'SCTC damage-index all'ultima visita di follow up.

I pazienti con SCTC moderato-grave erano più frequentemente di sesso maschile (25%) e con forma cutanea diffusa (43,7%) rispetto ai pazienti con SCTC lieve (sesso maschile nel 10,8%, forma cutanea diffusa nel 20,2%), anche se tale

differenza non raggiungeva la significatività statistica ($p= 0,098$ e $0,096$, rispettivamente).

Al basale, la presenza di teleangectasie è risultata più frequente nei pazienti con SCTC moderato-grave vs. lieve ($81,3\%$ vs. $38,6\%$, $p=0,001$). Inoltre, la frequenza di ILD al basale nei pazienti con SCTC moderato-grave alla fine del follow-up era il doppio rispetto a quella riscontrata in coloro che presentavano un danno lieve ($62,5\%$ vs. $31,6\%$, $p=0,013$).

Un altro dato emerso dall'analisi univariata è che i pazienti che rimanevano attivi per più del 50% del follow up avevano una maggiore probabilità di presentare persistenza/sviluppo di danno moderato-grave all'ultima visita di follow up ($p=0,003$). Nello specifico, il 37,5 % dei pazienti con danno moderato-grave all'ultima visita di follow up era stato attivo secondo l'EUSTAR AI per la maggior parte del follow up, mentre solo il 10,8% dei pazienti con danno lieve alla fine del follow up era rimasto persistentemente attivo utilizzando il medesimo score di attività. Risultati simili ($p=0,005$) si potevano ottenere se al posto dell'EUSTAR AI si considerava l'EScSG AI per stimare la persistenza di attività di malattia, intesa in questo caso come un punteggio ≥ 3 per più del 50% delle visite: il 18,8% dei pazienti con SCTC moderato-grave era stato persistentemente attivo nel corso del follow up mentre tra coloro con SCTC lieve solo il 3,2% era rimasto persistentemente attivo.

I pazienti con SCTC moderato-grave avevano valori spirometrici al basale mediamente più bassi rispetto ai pazienti con SCTC lieve, in particolare i valori medi di DLCO, FVC e TLC nei pazienti con danno moderato-grave erano rispettivamente $47,7 (\pm 25,4)$, $72 (\pm 25,2)$ e $75,9 (\pm 23,9)$ mentre per gli stessi parametri, i valori medi dei pazienti con danno lieve erano rispettivamente di $75,1 (\pm 18,8)$, $102,3 (\pm 19)$ e $97,4 (\pm 14,8)$. Per la TLC e la DLCO la differenza è risultata statisticamente significativa ($p<0,0001$ e $p=0,047$, rispettivamente), mentre vi era una tendenza alla significatività per FVC ($p=0,053$).

All'ecocardiografia transtoracica, inoltre, i pazienti con danno moderato-grave avevano al basale valori di PAPs significativamente più alti rispetto ai pazienti con danno lieve ($43,7$ vs $27,7$; $p< 0,0001$).

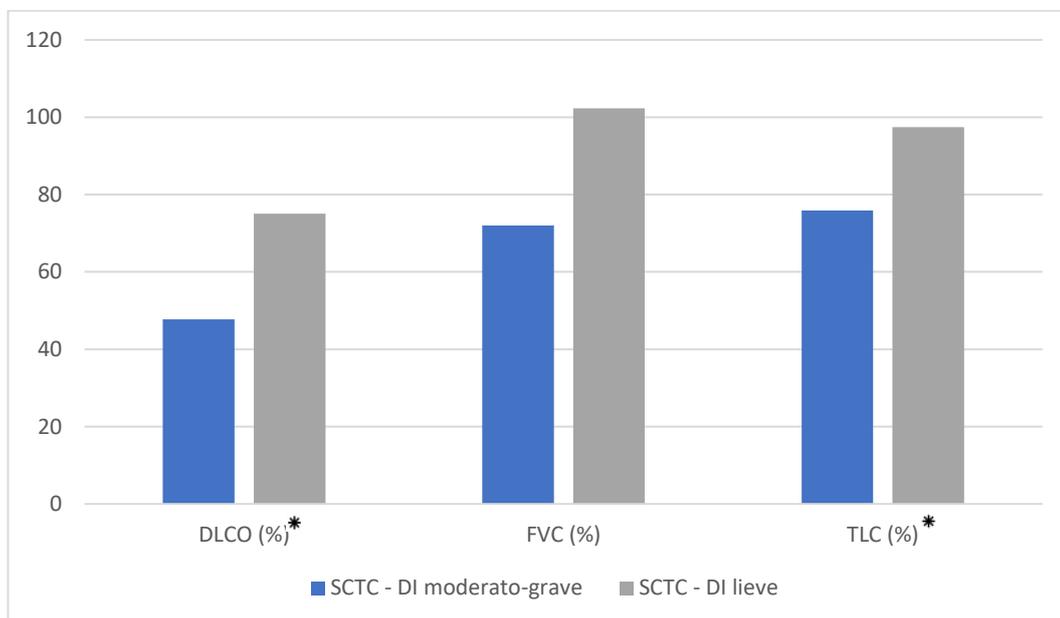
Infine, per quanto riguarda la terapia, nei pazienti con SCTC moderato-grave all'ultima visita di follow up, è stata rilevata un'associazione statisticamente significativa per la terapia con micofenolato mofetile ($p < 0,0001$) ma non per quella con i glucocorticoidi ($p = 0,154$), nonostante la percentuale di pazienti che assumeva glucocorticoidi al baseline tra i pazienti con SCTC moderato-grave (50%) fosse maggiore rispetto alla percentuale di coloro che li assumevano tra i pazienti con SCTC lieve (32,3%).

Tabella V. Analisi univariata dei predittori di persistenza/sviluppo di danno moderato-grave secondo l'SCTC Damage Index.

Variabile	SCTC moderato-grave (n=16)	SCTC lieve (n=157)	p-value
Forma cutanea diffusa	7 (43,7)	32 (20,2)	0,098
Età diagnosi (anni)	40,8 (±17,7)	46 (± 15,2)	0,611
Durata malattia al baseline (anni)	9,9 (± 6,82)	11,9 (± 10,12)	0,053
Sesso maschile	4 (25)	17 (10,8)	0,096
mRSS	11,1 (± 8,2)	6,76 (± 7,4)	0,460
PCR (mg/dl)	0,39 (± 0,71)	0,27 (± 1,30)	0,612
VES (mm/h)	13,4 (± 18,5)	13,5 (± 16,5)	0,928
ANA	16 (100)	0	0,229
ACA	4 (25)	59 (37,3)	0,412
Anti-Scl70	6 (37,5)	63 (39,9)	0,992
Anti-RNA pol III	1 (6,3)	13 (8,2)	0,832
Anti-SSA	1 (6,3)	4 (2,5)	0,364
DLCO (%)	47,7 (± 25,4)	75,1 (± 18,8)	0,047
FVC (%)	72 (± 25,2)	102,3 (± 19)	0,053
TLC (%)	75,9 (± 23,9)	97,4 (± 14,8)	0,001
PAPs (mmHg)	43,7 (± 19,5)	27,7 (± 7)	< 0,0001
ILD	10 (62,5)	50 (31,6)	0,013
EUSTAR disease activity persistence	6 (37,5)	17 (10,8)	0,003
EScSG disease activity persistence	3 (18,8)	5 (3,2)	0,005
Interessamento cardiaco	4 (25)	36 (23,1)	0,862
Ipertensione polmonare	3 (18,8)	12 (7,6)	0,130
CKD	0	3 (1,9)	0,578
Interessamento GI	14 (87,5)	106 (67,1)	0,093
Teleangectasie	13 (81,3)	61 (38,6)	0,001
Calcinosi	2 (12,5)	18 (11,4)	0,895
Acro-osteolisi	2 (14,3)	6 (5)	0,162
Interessamento MSK	9 (56,3)	87 (55,4)	0,949
Scleredema	0	24 (15,2)	0,093
Ulcere digitali	6 (37,5)	8 (5,1)	< 0,0001
Artrite	1 (6,3)	5 (3,2)	0,523
EUSTAR AI	2,52 (± 1,77)	1,01 (± 0,96)	< 0,0001
EScSG	1,85 (± 1,29)	0,92 (± 1,02)	0,199
MDS total	6,37 (± 2,6)	3,62 (± 1,93)	0,066
SCTC-DI	6,43 (± 3,83)	1,15 (± 1,51)	< 0,0001
Glucocorticoidi	8 (50)	51 (32,3)	0,154
Micofenolato mofetile	7 (43,8)	24 (15,2)	< 0,0001
Methotrexate	0	12 (7,6)	0,252

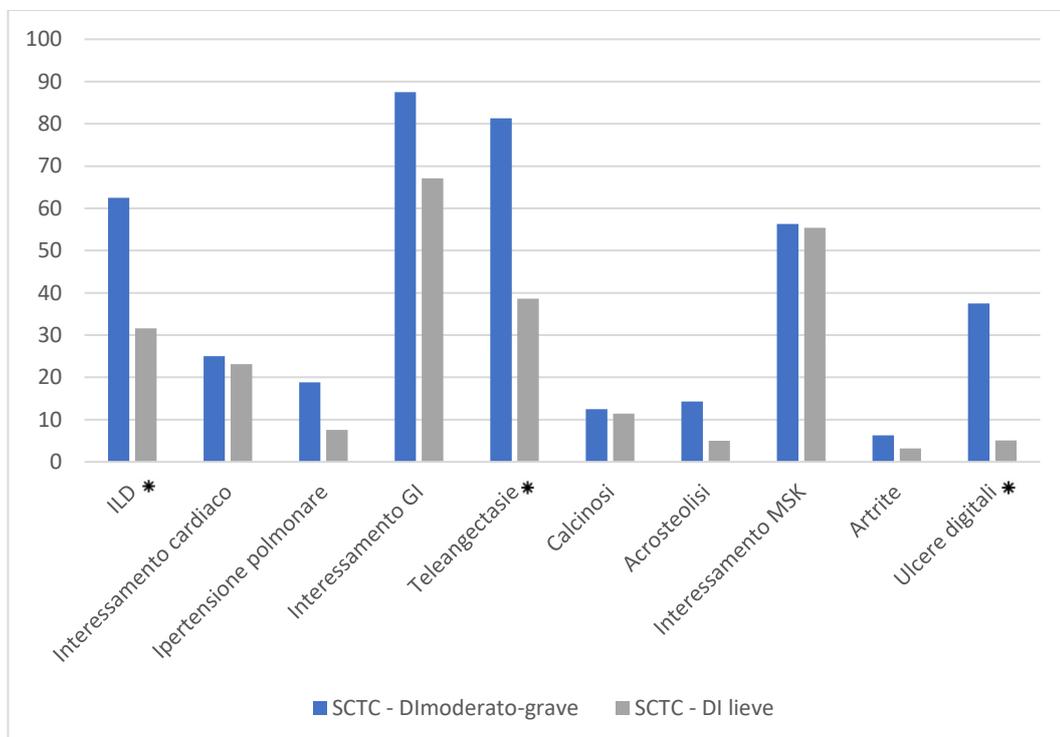
I dati sono riportati come numero (percentuale) e media (deviazione standard).

Figura 6. Indici spirometrici al basale nei pazienti con danno moderato-grave vs lieve alla fine del follow-up



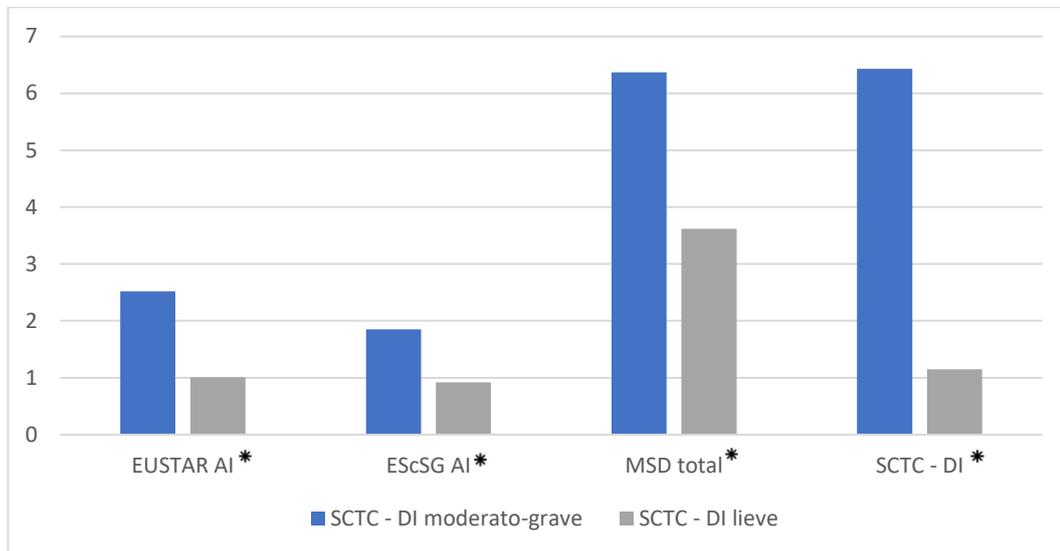
* = statisticamente significativo ($p < 0,05$)

Figura 7. Impegni d'organo al basale nei pazienti con danno moderato-grave vs lieve alla fine del follow-up



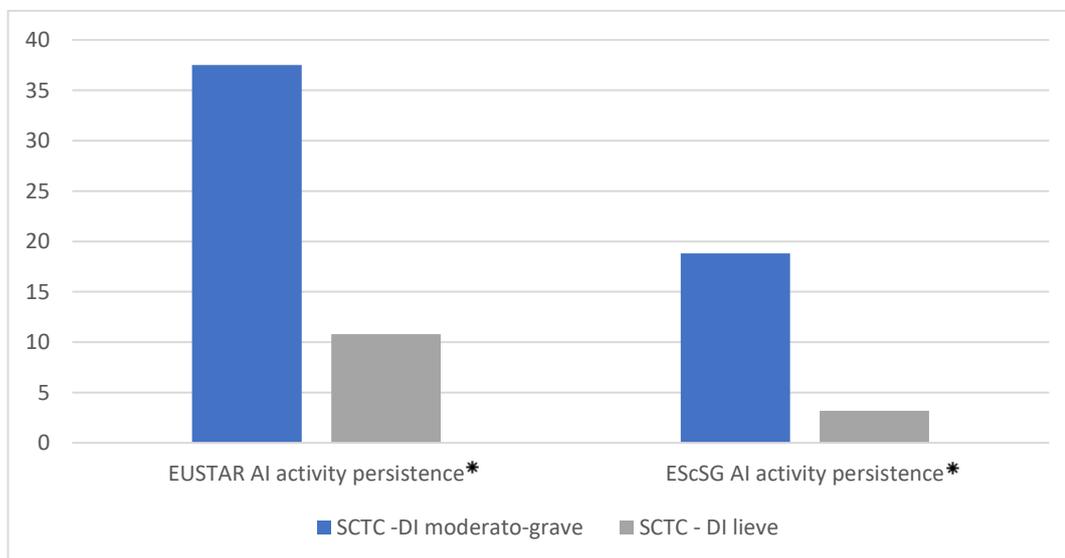
* = statisticamente significativo ($p < 0,05$)

Figura 8. Valori degli indici di attività e di danno al basale nei pazienti con danno moderato-grave vs lieve alla fine del follow-up



* = statisticamente significativo ($p < 0,05$)

Figura 9 Persistenza di attività della malattia nei pazienti con danno moderato-grave vs lieve alla fine del follow-up



* = statisticamente significativo ($p < 0,05$)

All'analisi multivariata (*Tabella VI*) sono risultati essere predittori indipendenti di persistenza/sviluppo di danno moderato-grave secondo l'SCTC DI alla fine del follow up la riduzione della TLC e la presenza di teleangectasie.

Tabella VI. Analisi multivariata dei predittori di persistenza/sviluppo di danno moderato-grave secondo l'SCTC-DI

Variabile	OR	IC (95%)	P-value
Persistenza di attività secondo l'EUSTAR AI	2	(0,48-8,38)	0,340
TLC	0,95	(0,92-0,98)	0,005
Teleangectasie	4,7	(1,18-18,54)	0,028

IC, intervallo di confidenza; OR, odds ratio.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Nel 1995 Symmons propose 3 diverse definizioni per il danno, l'attività e la severità in riferimento all'artrite reumatoide e al lupus, ma in seguito questi 3 termini vennero applicati in tutte le malattie reumatiche autoimmuni, compresa la sclerosi sistemica. (229) L'attività rappresenta l'insieme di quegli aspetti della malattia che variano nel tempo e che sono reversibili o spontaneamente o grazie al trattamento. Definire l'attività di malattia di un paziente è di fondamentale importanza perché aiuta il clinico a capire meglio quali pazienti richiedano un trattamento più aggressivo, in maniera tale da agire sulla componente reversibile, ridurre la progressione della malattia e migliorare la qualità di vita e la sopravvivenza (224). Inoltre, definire una bassa attività di malattia o la remissione permette anche al clinico identificare il "target" da raggiungere con il trattamento.

Nel nostro studio è stato utilizzato prevalentemente l'EUSTAR AI perché, in più studi, tra cui quello di Fasano et al., ha dimostrato di essere uno strumento maggiormente predittivo di progressione della malattia e sviluppo di manifestazioni d'organo severe (230).

Nonostante ciò, l'EUSTAR AI non prende in considerazione alcuni aspetti legati all'attività di malattia come la presenza e l'estensione dell'interstiziopatia, che nel nostro studio sono risultate associate ai pazienti in fase attiva al baseline.

Anche la presenza di interessamento cardiaco è risultata maggiormente associata ai pazienti in fase attiva al baseline, suggerendo la necessità di eseguire una valutazione cardiologica completa nei pazienti in fase attiva, al fine di escludere complicanze aritmiche o emodinamiche severe che, se non trattate, possono peggiorare la prognosi del paziente. Nella nostra analisi, l'interessamento cardiaco è stato considerato complessivamente; sono necessari ulteriori studi che valutino quale specifica manifestazione cardiaca si associa di più ai pazienti in fase attiva.

Nonostante diversi studi abbiano sancito il ruolo dell' EUSTAR AI nella valutazione dei pazienti sclerodermici, nella pratica clinica quest'indice spesso non viene calcolato, pertanto può essere utile individuare le caratteristiche dei pazienti

con maggior rischio di malattia attiva, nei quali il calcolo dello score di attività può essere maggiormente raccomandato. Dai risultati del nostro studio è emerso che i pazienti di sesso maschile, con positività per anti RNA polimerasi III e con forma cutanea diffusa avessero una maggiore probabilità di risultare attivi al baseline, pertanto l'utilizzo dell'EUSTAR AI andrebbe calcolato prioritariamente nei pazienti con almeno una di queste caratteristiche alla prima visita.

In letteratura non vi sono studi che valutino quali fattori predicano la persistenza di attività di malattia nel corso del tempo nella sclerodermia, aspetto ampiamente investigato dal nostro studio. I pazienti che tendono a rimanere in fase attiva sono più frequentemente di sesso maschile e con forma cutanea diffusa; inoltre, anche se non è stata raggiunta la significatività statistica, questi pazienti sono più spesso positivi per gli anti RNA pol. III o per gli anti Scl70. Al contrario, il nostro studio ha evidenziato come i pazienti con positività per gli ACA abbiano una maggiore probabilità di rimanere persistentemente inattivi, suggerendo quindi una minore necessità di continuare a calcolare lo score di attività ad ogni visita di follow up per questo specifico sottotipo di pazienti.

Per quanto riguarda l'impegno d'organo, i pazienti con interessamento cardiaco e con interstiziopatia tendevano a rimanere persistentemente attivi. Questo dato può essere spiegato tenendo conto che questi pazienti hanno di solito forme di SSc più severe rispetto ai pazienti che non presentano queste manifestazioni cliniche, per cui gli score di attività di malattia risultano mediamente più alti. Inoltre, le manifestazioni cardiopolmonari sono quelle che incidono maggiormente sulla prognosi dei pazienti affetti da SSc; pertanto, l'associazione tra queste e la persistenza di attività di malattia avvalora ulteriormente lo studio di Fasano et al. secondo cui l'EUSTAR AI è in grado di predire la prognosi dei pazienti (230).

Entrambi gli score di danno risultavano dei forti predittori di persistenza di attività di malattia nel nostro studio, suggerendo quindi che chi ha un danno maggiore al basale ha anche un rischio maggiore di rimanere attivo nel corso del tempo. Tale dato fa presupporre che, una volta instauratosi un certo quantitativo di danno, questo possa attivare dei meccanismi che non permettono di mandare la malattia in remissione, favorendo invece il mantenimento di una malattia attiva con successivo accumulo di nuovo danno. Il meccanismo patogenetico alla base di questo

fenomeno potrebbe essere mediato dall'interferone (IFN): studi come quello di Kim et al. hanno dimostrato infatti una correlazione tra i livelli di IFN e l'accumulo di danno (43). Inoltre, la persistenza di attività potrebbe essere dovuta "all'interferon signature", ovvero all'up-regolazione dei geni IFN-regolati (47,49).

Ad avvalorare quanto detto sopra, all'analisi multivariata il valore totale della scala di Medsger al basale risultava un predittore indipendente di persistenza della malattia mentre per SCTC - DI al basale non si raggiungeva la significatività statistica, nonostante vi fosse una tendenza.

La VES risultava un predittore indipendente in entrambi i modelli, a dimostrazione del fatto che è un parametro fondamentale da considerare nelle malattie reumatiche per valutare il rischio di persistenza di attività di malattia, nonostante non venga preso in considerazione dall'EUSTAR AI. Al contrario, la PCR, che fa parte dell'EUSTAR AI, nel nostro studio non si associa né ai pazienti in fase attiva al baseline, né risulta essere un predittore di persistenza di attività nel follow-up.

I pazienti che rimanevano attivi per la maggior parte delle visite di follow up, venivano trattati più spesso con glucocorticoidi e micofenolato mofetile già al basale. Questo dato, non solo evidenzia la scarsa efficacia dei farmaci immunosoppressori nel mandare in remissione questi pazienti, ma anche la necessità di valutare quali tra i nuovi farmaci biologici potrebbero agire in questo senso. Negli ultimi due anni sono stati condotti diversi trial come il focuSSced (231) e il DesiReS (232) che hanno dimostrato l'efficacia rispettivamente del Tocilizumab e del Rituximab nelle fasi iniziali della SSc. In particolare, il primo ha dimostrato l'efficacia del Tocilizumab nel trattamento dell'ILD progressiva, nel secondo studio la terapia con Rituximab conduceva ad una significativa riduzione del punteggio dell'mRSS; pertanto, essendo l'interstiziopatia progressiva e l'mRSS due componenti fondamentali dell'attività di malattia, è ragionevole pensare che questi due farmaci potrebbero favorire l'induzione della remissione in questi pazienti, soprattutto se utilizzati precocemente.

L'SCTC damage index è un indice di danno pubblicato per la prima volta nel 2019, il cui utilizzo è consigliato per gli studi osservazionali e per i trial randomizzati, mentre la sua complessità e ricchezza di items ne rendono indaginoso l'utilizzo

nella pratica clinica (225). Nel nostro studio questo indice è stato calcolato per tutte le visite di follow up, ed abbiamo analizzato quali fossero i predittori al basale di persistenza o sviluppo di danno moderato-grave (punteggio ≥ 6) all'ultima visita di follow up.

I pazienti con persistenza/sviluppo di SCTC moderato-grave all'ultima visita di follow up tendevano ad avere una maggior durata della malattia al basale e ad essere più di frequente di sesso maschile e affetti dalla forma diffusa di malattia, nonostante nessuna di queste tre caratteristiche raggiungesse la significatività statistica. Nessun autoanticorpo correlava con il danno, al contrario di quanto osservato per l'attività di malattia.

Gli indici spirometrici, invece, erano mediamente più bassi al baseline nei pazienti in classe di danno moderato-grave; è interessante notare che lo score non prende in considerazione la riduzione della DLCO come una delle componenti del danno, mentre nel nostro studio la riduzione della DLCO al baseline è l'indice spirometrico maggiormente associato con lo sviluppo o la persistenza di danno all'ultima visita di follow up. Lo stesso discorso si può fare per la TLC al basale, che non viene presa in considerazione dallo score, ma è significativamente più bassa nei pazienti con danno moderato-grave alla fine del follow-up, risultandone un predittore indipendente all'analisi multivariata.

Al contrario, lo score tiene conto della FVC, che nel nostro studio non è risultata statisticamente associata ai pazienti con danno moderato-grave all'ultima visita di follow up. Ciò sottolinea l'importanza di una valutazione multiparametrica degli indici spirometrici nella sclerodermia, che non consideri solo la FVC (outcome dei principali trial randomizzati controllati), ma anche la TLC (indice di restrizione per eccellenza) e la DLCO.

Nella nostra popolazione in studio è interessante notare come i valori di PAPs al baseline siano risultati predittori di danno moderato-grave al follow-up; tuttavia, la PAPs stimata all'ecocardiogramma non costituisce uno degli items dell'SCTC-DI, che considera solamente l'ipertensione polmonare valutata mediante cateterismo del cuore destro, indagine invasiva e non applicabile a tutti i pazienti affetti da SSc.

Per quanto riguarda gli indici di attività, il nostro studio dimostra per la prima volta che l'EUSTAR AI e l'EScSG AI sono entrambi predittori di danno moderato-grave valutato tramite l'SCTC-DI. Un risultato analogo era stato ottenuto dallo studio di Fasano et al. in cui però gli indici di attività erano stati confrontati con la scala di Medsger e non con il più recente SCTC-DI; in questo studio, inoltre, il follow up medio dei pazienti era di 2 anni mentre nel nostro studio il follow up medio è stato di 3,5 anni, permettendo così l'accumulo di una maggiore quantità di danno (230).

All'analisi multivariata, la presenza di teleangectasie al basale è risultata predittore indipendente di persistenza o sviluppo di danno moderato-grave all'ultima visita di follow up. Questo dato è inaspettato in quanto né la scala di Medsger né l'SCTC-DI considerano la presenza di teleangectasie come indicatore di danno. Le teleangectasie sono state più volte riconosciute come un marker importante di vasculopatia, che si associa in particolar modo alla presenza di ulcere digitali ed ipertensione polmonare pre-capillare (121), entrambi componenti importanti del danno, pertanto la presenza di teleangectasie deve essere intesa non come un semplice predittore di danno moderato severo, ma probabilmente come un predittore di danno moderato-grave di tipo vasculopatico. Per questo motivo, la presenza di teleangectasie andrebbe attentamente valutata in ogni paziente alla prima visita ma anche durante quelle successive, perché è un dato facilmente obiettivabile ma con un grande significato clinico e prognostico.

Infine, similmente a quanto riscontrato per l'attività di malattia, la maggior parte dei pazienti che aveva un danno moderato-grave all'ultima visita di follow up assumeva micofenolato mofetile al basale, evidenziando anche in questo caso la limitata efficacia degli immunosoppressori tradizionali nella SSc, in particolare sulla persistenza o progressione del danno. Ciò suggerisce da un lato la necessità di eseguire trattamenti più aggressivi nelle fasi precoci, quando ancora il danno non si è instaurato, e dall'altro la necessità di sperimentare nuove molecole nel trattamento di questa malattia. A differenza di quanto riportato nel lupus eritematoso sistemico, in cui la terapia con glucocorticoidi contribuisce in modo significativo all'accumulo di danno, non abbiamo riscontrato un'associazione tra il loro utilizzo e il danno moderato-grave nella SSc. Questo può essere spiegato con il fatto che il dosaggio di glucocorticoidi utilizzato nella SSc è generalmente basso (<10-15 mg/die di

prednisolone), sia perché si tratta di una connettivite meno infiammatoria rispetto al lupus, sia per il rischio di indurre una crisi renale sclerodermica.

Il nostro studio presenta diversi punti di forza: in primis i pazienti sono stati seguiti in un centro di terzo livello da un team di esperti nel campo della SSc, di conseguenza i pazienti risultano seguiti in maniera omogenea sia alla diagnosi di SSc che durante il follow-up. L'uniformità della gestione riguarda anche l'approccio alla terapia, che è sovrapponibile nei pazienti con manifestazioni cliniche simili. Considerando che si tratta di una malattia rara, la numerosità campionaria è discreta, ciò ha permesso di condurre un'analisi dei dati più accurata. Il nostro studio inoltre è il primo in cui si mettono a confronto i 2 score più utilizzati per stabilire l'attività di malattia con i 2 score più utilizzati per stabilire il danno di malattia, uno dei quali, l'SCTC-DI, pubblicato in anni recenti.

Tra i limiti del nostro studio bisogna sottolineare il disegno retrospettivo, pertanto, non è stato possibile reperire tutti i valori da considerare per ogni paziente con alcuni missing data. Inoltre, non vi è stato un follow-up con cadenza delle visite prestabilita per tutti i pazienti ma il tempo tra una visita ed un'altra variava da soggetto a soggetto, secondo la pratica clinica. Infine, un ultimo limite è la mancata stratificazione dei pazienti con interessamento cardiaco, che avrebbe potuto fornire dati più precisi a riguardo e che potrà essere oggetto di ulteriori studi.

In conclusione, il nostro studio ha permesso di individuare i predittori di persistenza di attività di malattia nella SSc, in primis la VES, e i predittori di persistenza o progressione del danno, in particolare i valori di TLC basali e le teleangectasie. Grazie ai nostri risultati, è possibile identificare i pazienti in cui si rende maggiormente necessario calcolare regolarmente gli score di attività e di danno, ma soprattutto identificare coloro in cui avviare un early treatment più aggressivo, anche alla luce delle nuove possibilità terapeutiche, al fine di contrastare precocemente l'instaurazione e l'automantenimento del danno.

BIBLIOGRAFIA

1. Allanore Y, Simms R, Distler O, Trojanowska M, Pope J, Denton CP, et al. Systemic sclerosis. *Nature Reviews Disease Primers* 2015 1:1 [Internet]. 2015 Apr 23 [cited 2022 Mar 14];1(1):1–21. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrdp20152>
2. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet* [Internet]. 2017 Oct 7 [cited 2022 Mar 14];390(10103):1685–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28413064/>
3. Adigun R, Goyal A, Hariz A. Systemic Sclerosis. 2022.
4. Ingegnoli F, Ughi N, Mihai C. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic sclerosis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2018 Apr 1;32(2):223–40.
5. lo Monaco A, Bruschi M, la Corte R, Volpinari S, Trotta F. Epidemiology of systemic sclerosis in a district of northern Italy. *Clin Exp Rheumatol*. 29(2 Suppl 65):S10-4.
6. Barnes J, Mayes MD. Epidemiology of systemic sclerosis: Incidence, prevalence, survival, risk factors, malignancy, and environmental triggers. *Current Opinion in Rheumatology* [Internet]. 2012 Mar [cited 2022 Mar 16];24(2):165–70. Available from: https://journals.lww.com/co-rheumatology/Fulltext/2012/03000/Epidemiology_of_systemic_sclerosis_incidence,.8.aspx
7. Nikpour M, Stevens WM, Herrick AL, Proudman SM. Epidemiology of systemic sclerosis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2010 Dec 1;24(6):857–69.
8. Bergamasco A, Hartmann N, Wallace L, Verpillat P. Epidemiology of systemic sclerosis and systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Clinical Epidemiology* [Internet]. 2019 [cited 2022 Mar 16];11:257. Available from: </pmc/articles/PMC6497473/>
9. Broen JCA, Radstake TRDJ, Rossato M. The role of genetics and epigenetics in the pathogenesis of systemic sclerosis. Vol. 10, *Nature Reviews Rheumatology*. Nature Publishing Group; 2014. p. 671–81.
10. Feghali-Bostwick C, Medsger TA, Wright TM. Analysis of systemic sclerosis in twins reveals low concordance for disease and high concordance for the presence of antinuclear antibodies. *Arthritis and Rheumatism*. 2003 Jul 1;48(7):1956–63.
11. Murdaca G, Contatore M, Gulli R, Mandich P, Puppo F. Genetic factors and systemic sclerosis. *Autoimmunity Reviews*. 2016 May 1;15(5):427–32.
12. Arnett FC, Gourh P, Shete S, Ahn CW, Honey RE, Agarwal SK, et al. Extended report: Major histocompatibility complex (MHC) class II alleles, haplotypes and epitopes which confer susceptibility or protection in systemic sclerosis: analyses in 1300 Caucasian, African-American and Hispanic cases

- and 1000 controls. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 2010 [cited 2022 Mar 19];69(5):822. Available from: [/pmc/articles/PMC2916702/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19286670/)
13. Rueda B, Broen J, Simeon C, Hesselstrand R, Diaz B, Suárez H, et al. The STAT4 gene influences the genetic predisposition to systemic sclerosis phenotype. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2009 [cited 2022 Mar 19];18(11):2071–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19286670/>
 14. Trinchieri G. Function and clinical use of interleukin-12. *Curr Opin Hematol* [Internet]. 1997 [cited 2022 Mar 19];4(1):59–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9050381/>
 15. Dieudé P, Guedj M, Wipff J, Avouac J, Fajardy I, Diot E, et al. Association between the IRF5 rs2004640 functional polymorphism and systemic sclerosis: a new perspective for pulmonary fibrosis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2009 [cited 2022 Mar 19];60(1):225–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19116937/>
 16. Ito I, Kawaguchi Y, Kawasaki A, Hasegawa M, Ohashi J, Hikami K, et al. Association of a functional polymorphism in the IRF5 region with systemic sclerosis in a Japanese population. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2009 Jun [cited 2022 Mar 19];60(6):1845–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19479858/>
 17. Abraham DJ, Eckes B, Rajkumar V, Krieg T. New developments in fibroblast and myofibroblast biology: implications for fibrosis and scleroderma. *Curr Rheumatol Rep* [Internet]. 2007 May [cited 2022 Mar 22];9(2):136–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17502044/>
 18. Bergmann C, Distler JHW. Epigenetic factors as drivers of fibrosis in systemic sclerosis. Vol. 9, *Epigenomics*. Future Medicine Ltd.; 2017. p. 463–77.
 19. Altorok N, Tsou PS, Coit P, Khanna D, Sawalha AH. Genome-wide DNA methylation analysis in dermal fibroblasts from patients with diffuse and limited systemic sclerosis reveals common and subset-specific DNA methylation aberrancies. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2015 Aug 1 [cited 2022 Mar 22];74(8):1612–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24812288/>
 20. Dees C, Schlottmann I, Funke R, Distler A, Palumbo-Zerr K, Zerr P, et al. The Wnt antagonists DKK1 and SFRP1 are downregulated by promoter hypermethylation in systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2014;73(6):1232–9.
 21. Ding W, Pu W, Wang L, Jiang S, Zhou X, Tu W, et al. Genome-Wide DNA Methylation Analysis in Systemic Sclerosis Reveals Hypomethylation of IFN-Associated Genes in CD4 + and CD8 + T Cells. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2022 Mar 22];138(5):1069–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29248544/>

22. Lei W, Luo Y, Yan K, Zhao S, Li Y, Qiu X, et al. Abnormal DNA methylation in CD4⁺ T cells from patients with systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, and dermatomyositis. <http://dx.doi.org/10.1080/03009740902758875> [Internet]. 2009 [cited 2022 Mar 22];38(5):369–74. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03009740902758875>
23. ERASMUS LD. Scleroderma in goldminers on the Witwatersrand with particular reference to pulmonary manifestations. *S Afr J Lab Clin Med*. 1957 Sep;3(3):209–31.
24. Rodnan GP, Benedek TG, Medsger TA, Cammarata RJ. The association of progressive systemic sclerosis (scleroderma) with coal miners' pneumoconiosis and other forms of silicosis. *Ann Intern Med* [Internet]. 1967 [cited 2022 Apr 8];66(2):323–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4224922/>
25. Mc Cormic ZD, Khuder SS, Aryal BK, Ames AL, Khuder SA. Occupational silica exposure as a risk factor for scleroderma: a meta-analysis. *Int Arch Occup Environ Health* [Internet]. 2010 Oct [cited 2022 Apr 8];83(7):763–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20047060/>
26. REINL W. [Scleroderma caused by trichloroethylene effects]. *Zentralblatt für Arbeitsmedizin und Arbeitsschutz*. 1957 Mar;7(3):58–60.
27. Kettaneh A, al Moufti O, Tiev KP, Chayet C, Tolédano C, Fabre B, et al. Occupational exposure to solvents and gender-related risk of systemic sclerosis: a metaanalysis of case-control studies. *The Journal of Rheumatology*. 2007;34(1).
28. Marie I, Gehanno JF. Environmental risk factors of systemic sclerosis. Vol. 37, *Seminars in Immunopathology*. Springer Verlag; 2015. p. 463–73.
29. Nietert PJ, Sutherland SE, Silver RM, Pandey JP, Knapp RG, Ci HOEL D, et al. IS OCCUPATIONAL ORGANIC SOLVENT EXPOSURE A RISK FACTOR FOR SCLERODERMA? 1998;41(6):1111–8.
30. Garabrant DH, Lacey J v., Laing TJ, Gillespie BW, Mayes MD, Cooper BC, et al. Scleroderma and solvent exposure among women. *Am J Epidemiol* [Internet]. 2003 Mar 15 [cited 2022 Apr 8];157(6):493–500. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12631538/>
31. Marie I, Gehanno JF, Bubenheim M, Duval-Modeste AB, Joly P, Dominique S, et al. Prospective study to evaluate the association between systemic sclerosis and occupational exposure and review of the literature. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2014 [cited 2022 Mar 22];13(2):151–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24129037/>
32. Marie I, Menard JF, Duval-Modeste AB, Joly P, Dominique S, Bravard P, et al. Association of occupational exposure with features of systemic sclerosis. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2022 Apr 9];72(3):456–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25582539/>

33. Rubio-Rivas M, Moreno R, Corbella X. Occupational and environmental scleroderma. Systematic review and meta-analysis. *Clinical Rheumatology*. 2017 Mar 1;36(3):569–82.
34. Ferri C, Azzi A, Longombardo G, Zakrzewska K. Parvovirus B19 and systemic sclerosis. *Clinical and Experimental Rheumatology* [Internet]. 1999 Mar 1 [cited 2022 Apr 11];17(2):267–8. Available from: <https://europepmc.org/article/med/10342065>
35. Ferri C, Zakrzewska K, Longombardo G, Giuggioli D, Storino FAA, Pasero G, et al. Parvovirus B19 infection of bone marrow in systemic sclerosis patients. *clinexprheumatol.org* [Internet]. 1999 [cited 2022 Apr 11];17:718–20. Available from: <https://www.clinexprheumatol.org/article.asp?a=1961>
36. Foley B, O’Mahony J, Hill C, Morgan JG. Evidence for persistence of parvovirus B19 DNA in livers of adults. *Journal of Medical Virology*. 2001;65(2):395–401.
37. Ferri C, Giuggioli D, Sebastiani M, Panfilo S, Abatangelo G, Zakrzewska K, et al. Parvovirus B19 infection of cultured skin fibroblasts from systemic sclerosis patients: comment on the article by Ray et al. *Arthritis Rheum*. 2002 Aug;46(8):2262–3; author reply 2263-4.
38. Farina A, Peruzzi G, Lacconi V, Lenna S, Quarta S, Rosato E, et al. Epstein-Barr virus lytic infection promotes activation of Toll-like receptor 8 innate immune response in systemic sclerosis monocytes. *Arthritis Research and Therapy* [Internet]. 2017 Feb 28 [cited 2022 Apr 11];19(1):1–14. Available from: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-017-1237-9>
39. Ferri C, Cazzato M, Giuggioli D, Sebastiani M, Magro C. Systemic sclerosis following human cytomegalovirus infection. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 2002 Oct 1 [cited 2022 Apr 11];61(10):937–8. Available from: <https://ard.bmj.com/content/61/10/937>
40. Pandey JP, Carwile Leroy E. HUMAN CYTOMEGALOVIRUS AND THE VASCULOPATHIES OF AUTOIMMUNE DISEASES (ESPECIALLY SCLERODERMA), ALLOGRAFT REJECTION, AND CORONARY RESTENOSIS. *ARTHRITIS & RHEUMATISM*. 1998;41(1):10–5.
41. Sierra-Sepúlveda A, Esquinca-González A, Benavides-Suárez SA, Sordo-Lima DE, Caballero-Islas AE, Cabral-Castañeda AR, et al. Systemic sclerosis pathogenesis and emerging therapies, beyond the fibroblast. Vol. 2019, BioMed Research International. Hindawi Limited; 2019.
42. Roumm AD, Whiteside TL, Medsger TA, Rodnan GP. Lymphocytes in the skin of patients with progressive systemic sclerosis. Quantification, subtyping, and clinical correlations. *Arthritis Rheum* [Internet]. 1984 [cited 2022 Apr 12];27(6):645–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6375682/>
43. Kim D, Peck A, Santer D, Patole P, Schwartz SM, Molitor JA, et al. Induction of interferon- α by scleroderma sera containing autoantibodies to

- topoisomerase I: Association of higher interferon- α activity with lung fibrosis. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2008 Jul 1 [cited 2022 Apr 26];58(7):2163–73. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.23486>
44. Bos CL, van Baarsen LGM, Timmer TCG, Overbeek MJ, Basoski NM, Rustenburg F, et al. Molecular subtypes of systemic sclerosis in association with anti-centromere antibodies and digital ulcers. *Genes Immun* [Internet]. 2009 [cited 2022 Apr 26];10(3):210–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19129850/>
 45. Tan FK, Zhou X, Mayes MD, Gourh P, Guo X, Marcum C, et al. Signatures of differentially regulated interferon gene expression and vasculotrophism in the peripheral blood cells of systemic sclerosis patients. *Rheumatology (Oxford)* [Internet]. 2006 Jun [cited 2022 Apr 12];45(6):694–702. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16418202/>
 46. Assassi S, Mayes MD, Arnett FC, Gourh P, Agarwal SK, McNearney TA, et al. Systemic sclerosis and lupus: points in an interferon-mediated continuum. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2010 Feb [cited 2022 Apr 12];62(2):589–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20112391/>
 47. Brkic Z, van Bon L, Cossu M, van Helden-Meeuwsen CG, Vonk MC, Knaapen H, et al. The interferon type I signature is present in systemic sclerosis before overt fibrosis and might contribute to its pathogenesis through high BAFF gene expression and high collagen synthesis. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2022 Apr 12];75(8):1567–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26371289/>
 48. Type I interferon dysregulation in Systemic Sclerosis. *Cytokine*. 2020 Aug 1;132:154635.
 49. Skaug B, Assassi S. Type I interferon dysregulation in Systemic Sclerosis. *Cytokine*. 2020 Aug 1;132:154635.
 50. Saigusa R, Asano Y, Taniguchi T, Yamashita T, Ichimura Y, Takahashi T, et al. Multifaceted contribution of the TLR4-activated IRF5 transcription factor in systemic sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2015 Dec 8 [cited 2022 Apr 26];112(49):15136–41. Available from: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1520997112
 51. Avouac J, Fürnrohr BG, Tomcik M, Palumbo K, Zerr P, Horn A, et al. Inactivation of the transcription factor STAT-4 prevents inflammation-driven fibrosis in animal models of systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2011 Mar 1 [cited 2022 Apr 26];63(3):800–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.30171>
 52. Kaplan MH. STAT4. *Immunologic Research* 2005 31:3 [Internet]. 2005 [cited 2022 Apr 26];31(3):231–41. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1385/IR:31:3:231>
 53. Bhattacharyya S, Kelley K, Melichian DS, Tamaki Z, Fang F, Su Y, et al. Toll-Like Receptor 4 Signaling Augments Transforming Growth Factor- β

- Responses: A Novel Mechanism for Maintaining and Amplifying Fibrosis in Scleroderma. *The American Journal of Pathology*. 2013 Jan 1;182(1):192–205.
54. Takahashi T, Asano Y, Ichimura Y, Toyama T, Taniguchi T, Noda S, et al. Amelioration of tissue fibrosis by toll-like receptor 4 knockout in murine models of systemic sclerosis. *Arthritis and Rheumatology*. 2015 Jan 1;67(1):254–65.
 55. Uematsu S, Akira S. Toll-like Receptors and Type I Interferons *. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 2007 May 25 [cited 2022 Apr 26];282(21):15319–23. Available from: <http://www.jbc.org/article/S0021925820874043/fulltext>
 56. Farina G, Lafyatis D, Lemaire R, Lafyatis G Farina R. A FOUR-GENE BIOMARKER PREDICTS SKIN DISEASE IN PATIENTS WITH DIFFUSE CUTANEOUS SYSTEMIC SCLEROSIS. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2010 Feb [cited 2022 Apr 26];62(2):580. Available from: </pmc/articles/PMC3018285/>
 57. Mavilia C, Scaletti C, Romagnani P, Carossino AM, Pignone A, Emmi L, et al. Type 2 helper T-cell predominance and high CD30 expression in systemic sclerosis. *The American Journal of Pathology* [Internet]. 1997 Dec [cited 2022 Apr 27];151(6):1751. Available from: </pmc/articles/PMC1858349/?report=abstract>
 58. Boin F, de Fanis U, Bartlett SJ, Wigley FM, Rosen A, Casolaro V. T Cell Polarization Identifies Distinct Clinical Phenotypes in Scleroderma Lung Disease. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2008 Apr [cited 2022 Apr 27];58(4):1165. Available from: </pmc/articles/PMC2662772/>
 59. Ricciari V, Rinaldi T, Spadaro A, Scrivo R, Ceccarelli F, di Franco M, et al. Interleukin-13 in systemic sclerosis: relationship to nailfold capillaroscopy abnormalities. *Clinical Rheumatology* 2003 22:2 [Internet]. 2003 May [cited 2022 Apr 27];22(2):102–6. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10067-002-0684-z>
 60. Abraham DJ, Varga J. Scleroderma: from cell and molecular mechanisms to disease models. *Trends Immunol* [Internet]. 2005 Nov [cited 2022 Apr 27];26(11):587–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16168711/>
 61. Katsumoto TR, Whitfield ML, Connolly MK. The pathogenesis of systemic sclerosis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2011 Feb 28;6:509–37.
 62. Meloni F, Solari N, Cavagna L, Morosini M, Montecucco CM, Fietta AM. Frequency of Th1, Th2 and Th17 producing T lymphocytes in bronchoalveolar lavage of patients with systemic sclerosis. Vol. 27, *Clinical and Experimental Rheumatology*. 2009.
 63. Radstake TRDJ, van Bon L, Broen J, Wenink M, Santegoets K, Deng Y, et al. Increased frequency and compromised function of T regulatory cells in

- systemic sclerosis (SSc) is related to a diminished CD69 and TGFbeta expression. *PLoS One* [Internet]. 2009 Jun 22 [cited 2022 Apr 27];4(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19543397/>
64. Atamas SP, Yurovsky V v, Wise R, Wigley FM, Goter Robinson CJ, Henry P, et al. PRODUCTION OF TYPE 2 CYTOKINES BY CD8 LUNG CELLS IS ASSOCIATED WITH GREATER DECLINE IN PULMONARY FUNCTION IN PATIENTS WITH SYSTEMIC SCLEROSIS. *ARTHRITIS & RHEUMATISM*. 1999;42(6):1168–78.
 65. Lanteri A, Sobanski V, Langlois C, Lefèvre G, Hauspie C, Sanges S, et al. Serum free light chains of immunoglobulins as biomarkers for systemic sclerosis characteristics, activity and severity. *Autoimmunity Reviews*. 2014 Sep 1;13(9):974–80.
 66. Mavropoulos A, Simopoulou T, Varna A, Liaskos C, Katsiari CG, Bogdanos DP, et al. Breg Cells Are Numerically Decreased and Functionally Impaired in Patients With Systemic Sclerosis. *Arthritis & Rheumatology* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2022 Apr 27];68(2):494–504. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.39437>
 67. Matsushita T, Hasegawa M, Yanaba K, Kodera M, Takehara K, Sato S. Elevated serum BAFF levels in patients with systemic sclerosis: Enhanced BAFF signaling in systemic sclerosis B lymphocytes. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2006 Jan 1 [cited 2022 Apr 27];54(1):192–201. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.21526>
 68. Duncan MR, Berman B. Stimulation of Collagen and Glycosaminoglycan Production in Cultured Human Adult Dermal Fibroblasts by Recombinant Human Interleukin 6. *Journal of Investigative Dermatology*. 1991 Oct 1;97(4):686–92.
 69. Sakkas LI, Bogdanos DP. Systemic sclerosis: New evidence re-enforces the role of B cells. *Autoimmunity Reviews*. 2016 Feb 1;15(2):155–61.
 70. Hénault J, Robitaille G, Sénécal JL, Raymond Y. DNA topoisomerase I binding to fibroblasts induces monocyte adhesion and activation in the presence of anti-topoisomerase I autoantibodies from systemic sclerosis patients. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2006 Mar 1 [cited 2022 Apr 29];54(3):963–73. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.21646>
 71. Svegliati Baroni S, Santillo M, Bevilacqua F, Luchetti M, Spadoni T, Mancini M, et al. Stimulatory Autoantibodies to the PDGF Receptor in Systemic Sclerosis. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2006 Jun 22 [cited 2022 Apr 29];354(25):2667–76. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa052955>
 72. León B, Ballesteros-Tato A, Lund FE. Dendritic Cells and B Cells: Unexpected Partners in Th2 Development. *The Journal of Immunology* [Internet]. 2014 Aug 15 [cited 2022 Apr 29];193(4):1531–7. Available from: <https://www.jimmunol.org/content/193/4/1531>

73. Mizoguchi E, Mizoguchi A, Preffer FI, Bhan AK. Regulatory role of mature B cells in a murine model of inflammatory bowel disease. *Int Immunol* [Internet]. 2000 [cited 2022 Apr 29];12(5):597–605. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10784605/>
74. Mavropoulos A, Simopoulou T, Varna A, Liaskos C, Katsiari CG, Bogdanos DP, et al. Breg Cells Are Numerically Decreased and Functionally Impaired in Patients With Systemic Sclerosis. *Arthritis & Rheumatology* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2022 Apr 29];68(2):494–504. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.39437>
75. Manetti M, Guiducci S, Ibbá-Manneschi L, Matucci-Cerinic M. Mechanisms in the loss of capillaries in systemic sclerosis: angiogenesis versus vasculogenesis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* [Internet]. 2010 Jun [cited 2022 Apr 30];14(6a):1241. Available from: </pmc/articles/PMC3828842/>
76. LeRoy EC. Systemic sclerosis. A vascular perspective. *Rheum Dis Clin North Am* [Internet]. 1996 [cited 2022 Apr 30];22(4):675–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8923590/>
77. Abraham D, Distler O. How does endothelial cell injury start? The role of endothelin in systemic sclerosis. *Arthritis Research and Therapy* [Internet]. 2007 Aug 15 [cited 2022 Apr 30];9(SUPPL. 2):1–8. Available from: <https://link.springer.com/articles/10.1186/ar2186>
78. Cutolo M, Sulli A, Smith V. Assessing microvascular changes in systemic sclerosis diagnosis and management. *Nature Reviews Rheumatology* 2010 6:10 [Internet]. 2010 Aug 10 [cited 2022 Apr 30];6(10):578–87. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrrheum.2010.104>
79. Lunardi C, Dolcino M, Peterlana D, Bason C, Navone R, Tamassia N, et al. Antibodies against Human Cytomegalovirus in the Pathogenesis of Systemic Sclerosis: A Gene Array Approach. *PLOS Medicine* [Internet]. 2005 Jan [cited 2022 Apr 30];3(1):e2. Available from: <https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.0030002>
80. Mihai C, Tervaert JWC. Anti-endothelial cell antibodies in systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 2010 Feb 1 [cited 2022 Apr 30];69(2):319–24. Available from: <https://ard.bmj.com/content/69/2/319>
81. Distler JHW, Gay S, Distler O. Angiogenesis and vasculogenesis in systemic sclerosis. *Rheumatology* [Internet]. 2006 Oct 1 [cited 2022 Apr 30];45(suppl_3):iii26–7. Available from: https://academic.oup.com/rheumatology/article/45/suppl_3/iii26/2255758
82. Dor Y, Djonov V, Abramovitch R, Itin A, Fishman GI, Carmeliet P, et al. Conditional switching of VEGF provides new insights into adult neovascularization and pro-angiogenic therapy. *The EMBO Journal* [Internet]. 2002 Apr 15 [cited 2022 Apr 30];21(8):1939. Available from: </pmc/articles/PMC125962/>

83. del Papa N, Pignataro F. The Role of endothelial progenitors in the repair of vascular damage in systemic sclerosis. *Frontiers in Immunology*. 2018 Jun 18;9(JUN):1383.
84. Hur J, Yoon CH, Kim HS, Choi JH, Kang HJ, Hwang KK, et al. Characterization of Two Types of Endothelial Progenitor Cells and Their Different Contributions to Neovasculogenesis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* [Internet]. 2004 Feb 1 [cited 2022 Apr 30];24(2):288–93. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.ATV.0000114236.77009.06>
85. Hirschi KK, Ingram DA, Yoder MC. Assessing identity, phenotype, and fate of endothelial progenitor cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* [Internet]. 2008 Sep 1 [cited 2022 Apr 30];28(9):1584–95. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/ATVBAHA.107.155960>
86. E. Carwile LeRoy. Increased Collagen Synthesis by Scleroderma Skin Fibroblasts In Vitro A POSSIBLE DEFECT IN THE REGULATION OR ACTIVATION OF THE SCLERODERMA FIBROBLAST. *Journal of Clinical Investigation* [Internet]. 1974 [cited 2022 Apr 30];54(4):880. Available from: </pmc/articles/PMC301627/?report=abstract>
87. Bhattacharyya S, Wei J, Varga J. Understanding fibrosis in systemic sclerosis: shifting paradigms, emerging opportunities. *Nature Reviews Rheumatology* 2011 8:1 [Internet]. 2011 Oct 25 [cited 2022 Apr 30];8(1):42–54. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrrheum.2011.149>
88. Varga J, Abraham D. Systemic sclerosis: a prototypic multisystem fibrotic disorder. *The Journal of Clinical Investigation* [Internet]. 2007 Mar 1 [cited 2022 May 1];117(3):557–67. Available from: <http://www.jci.org>
89. Maurer B, Stanczyk J, Jüngel A, Akhmetshina A, Trenkmann M, Brock M, et al. MicroRNA-29, a key regulator of collagen expression in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2010 Jun [cited 2022 May 1];62(6):1733–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20201077/>
90. Agarwal SK, Wu M, Livingston CK, Parks DH, Mayes MD, Arnett FC, et al. Toll-like receptor 3 upregulation by type I interferon in healthy and scleroderma dermal fibroblasts. *Arthritis Research and Therapy* [Internet]. 2011 Jan 11 [cited 2022 May 1];13(1):1–10. Available from: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar3221>
91. Farina GA, York MR, di Marzio M, Collins CA, Meller S, Homey B, et al. Poly(I:C) drives type I IFN- and TGFβ-mediated inflammation and dermal fibrosis simulating altered gene expression in systemic sclerosis. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2010 [cited 2022 May 1];130(11):2583–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20613770/>

92. Rosenbloom J. Narrative Review: Fibrotic Diseases: Cellular and Molecular Mechanisms and Novel Therapies. *Annals of Internal Medicine*. 2010 Feb 2;152(3):159.
93. Lafyatis R. Transforming growth factor β --at the centre of systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2014 Dec 11 [cited 2022 May 1];10(12):706–19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25136781/>
94. Kemal Ozbilgin M, Inan S. The roles of transforming growth factor type beta3 (TGF-beta3) and mast cells in the pathogenesis of scleroderma. *Clin Rheumatol* [Internet]. 2003 Sep [cited 2022 May 1];22(3):189–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14505209/>
95. Christmann RB, Sampaio-Barros P, Stifano G, Borges CL, de Carvalho CR, Kairalla R, et al. Association of Interferon- and transforming growth factor β -regulated genes and macrophage activation with systemic sclerosis-related progressive lung fibrosis. *Arthritis Rheumatol* [Internet]. 2014 [cited 2022 May 1];66(3):714–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24574232/>
96. Farina G, Lafyatis D, Lemaire R, Lafyatis G Farina R. A FOUR-GENE BIOMARKER PREDICTS SKIN DISEASE IN PATIENTS WITH DIFFUSE CUTANEOUS SYSTEMIC SCLEROSIS. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2010 Feb [cited 2022 May 1];62(2):580. Available from: </pmc/articles/PMC3018285/>
97. Zhou G, Dada LA, Wu M, Kelly A, Trejo H, Zhou Q, et al. Hypoxia-induced alveolar epithelial-mesenchymal transition requires mitochondrial ROS and hypoxia-inducible factor 1. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology* [Internet]. 2009 Dec [cited 2022 May 1];297(6). Available from: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajplung.00007.2009>
98. Chrabaszcz M, Małyszko J, Sikora M, Alda-Malicka R, Stochmal A, Matuszkiewicz-Rowinska J, et al. Renal Involvement in Systemic Sclerosis: An Update. Vol. 45, *Kidney and Blood Pressure Research*. S. Karger AG; 2020. p. 532–48.
99. Czirjak L, Foeldvari I, Muller-Ladner U. Skin involvement in systemic sclerosis. *Rheumatology* [Internet]. 2008 Oct 1 [cited 2022 May 21];47(Supplement 5):v44–5. Available from: <https://academic.oup.com/rheumatology/article-lookup/doi/10.1093/rheumatology/ken309>
100. Shand L, Lunt M, Nihtyanova S, Hoseini M, Silman A, Black CM, et al. Relationship between change in skin score and disease outcome in diffuse cutaneous systemic sclerosis: Application of a latent linear trajectory model. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2007 Jul 1 [cited 2022 May 21];56(7):2422–31. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.22721>
101. Block JA, Sequeira W. Raynaud's phenomenon. *The Lancet*. 2001 Jun 23;357(9273):2042–8.

102. Hughes M, Ong VH, Anderson ME, Hall F, Moinzadeh P, Griffiths B, et al. Consensus best practice pathway of the UK Scleroderma Study Group: digital vasculopathy in systemic sclerosis. *Rheumatology* [Internet]. 2015 Nov 1 [cited 2022 May 2];54(11):2015–24. Available from: <https://academic.oup.com/rheumatology/article/54/11/2015/1773082>
103. Pauling JD, Hughes M, Pope JE. Raynaud’s phenomenon-an update on diagnosis, classification and management. *Clin Rheumatol* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2022 May 1];38(12):3317–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31420815/>
104. Devgire V, Hughes M. Raynaud’s phenomenon. *Br J Hosp Med (Lond)* [Internet]. 2019 Nov 2 [cited 2022 May 1];80(11):658–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31707892/>
105. LeRoy EC. SYSTEMIC SCLEROSIS: A Vascular Perspective. *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 1996 Nov 1;22(4):675–94.
106. Bongi SM, del Rosso A, Passalacqua M, Miccio S, Cerinic MM. Manual lymph drainage improving upper extremity edema and hand function in patients with systemic sclerosis in edematous phase. *Arthritis Care and Research*. 2011 Aug;63(8):1134–41.
107. Avouac J, Fransen J, Walker UA, Riccieri V, Smith V, Muller C, et al. Preliminary criteria for the very early diagnosis of systemic sclerosis: results of a Delphi Consensus Study from EULAR Scleroderma Trials and Research Group. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 2011 Mar 1 [cited 2022 May 3];70(3):476–81. Available from: <https://ard.bmj.com/content/70/3/476>
108. Young A, Namas R, Dodge C, Khanna D. Hand Impairment in Systemic Sclerosis: Various Manifestations and Currently Available Treatment. *Current Treatment Options in Rheumatology* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2022 May 3];2(3):252–69. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40674-016-0052-9>
109. Mouthon L, Carpentier PH, Lok C, Clerson P, Gressin V, Hachulla E, et al. Ischemic Digital Ulcers Affect Hand Disability and Pain in Systemic Sclerosis. *The Journal of Rheumatology* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2022 May 3];41(7):1317–23. Available from: <https://www.jrheum.org/content/41/7/1317>
110. Silva I, Almeida J, Vasconcelos C. A PRISMA-driven systematic review for predictive risk factors of digital ulcers in systemic sclerosis patients. *Autoimmunity Reviews*. 2015 Feb 1;14(2):140–52.
111. Matucci-Cerinic M, Krieg T, Guillevin L, Schwierin B, Rosenberg D, Cornelisse P, et al. Elucidating the burden of recurrent and chronic digital ulcers in systemic sclerosis: Long-term results from the DUO Registry. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2022 May 3];75(10):1770–6. Available from: <https://ard.bmj.com/content/75/10/1770>
112. Harrison BJ, Silman AJ, Hider SL, Herrick AL. Cigarette smoking as a significant risk factor for digital vascular disease in patients with systemic

- sclerosis. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2002 Dec 1 [cited 2022 May 3];46(12):3312–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.10685>
113. Allanore Y, Denton CP, Krieg T, Cornelisse P, Rosenberg D, Schwierin B, et al. Clinical characteristics and predictors of gangrene in patients with systemic sclerosis and digital ulcers in the Digital Ulcer Outcome Registry: a prospective, observational cohort. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2022 May 3];75(9):1736–40. Available from: <https://ard.bmj.com/content/75/9/1736>
 114. Botou A, Bangeas A, Alexiou I, Sakkas LI. Acro-osteolysis. *Clinical Rheumatology* 2016 36:1 [Internet]. 2016 Oct 29 [cited 2022 May 3];36(1):9–14. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10067-016-3459-7>
 115. Herrick AL, Gallas A. Systemic sclerosis-related calcinosis: <https://doi.org/10.5301/jsrd5000211> [Internet]. 2016 Jul 20 [cited 2022 May 3];1(2):194–203. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.5301/jsrd.5000211>
 116. Valenzuela A, Chung L. Calcinosis: Pathophysiology and management. *Current Opinion in Rheumatology*. 2015 Nov 1;27(6):542–8.
 117. Bartoli F, Fiori G, Braschi F, Amanzi L, Bruni C, Blagojevic J, et al. Calcinosis in systemic sclerosis: subsets, distribution and complications. *Rheumatology* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2022 May 4];55(9):1610–4. Available from: <https://academic.oup.com/rheumatology/article/55/9/1610/1744616>
 118. Chung L, Valenzuela A, Fiorentino D, Stevens K, Li S, Harris J, et al. Validation of a Novel Radiographic Scoring System for Calcinosis Affecting the Hands of Patients With Systemic Sclerosis. *Arthritis Care & Research* [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2022 May 4];67(3):425–30. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/acr.22434>
 119. Guiducci S. La sclerosi sistemica. . *La Rivista Italiana delle Malattie Rare*, 9.
 120. Zhang SZ, XD, LMT, HY, WQ, TZ, . . . & ZXF. Telangiectasia as a potential clinical marker of microvascular lesions in systemic sclerosis patients from EUSTAR data in China. . *Clin Exp Rheumatol*, 33(4 Suppl 91), S106. 2015;
 121. Hurabielle C, Avouac J, Lepri G, de Risi T, Kahan A, Allanore Y. Skin Telangiectasia and the Identification of a Subset of Systemic Sclerosis Patients With Severe Vascular Disease. *Arthritis Care & Research* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2022 May 4];68(7):1021–7. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/acr.22766>
 122. Lóránd V, Czirják L, Minier T. Musculoskeletal involvement in systemic sclerosis. *La Presse Médicale*. 2014 Oct 1;43(10):e315–28.
 123. Avouac J, Koumakis E, Toth E, Meunier M, Maury E, Kahan A, et al. Increased risk of osteoporosis and fracture in women with systemic sclerosis:

- A comparative study with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care & Research* [Internet]. 2012 Dec 1 [cited 2022 May 6];64(12):1871–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/acr.21761>
124. Randone SB, Guiducci S, Cerinic MM. Musculoskeletal involvement in systemic sclerosis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2008 Apr 1;22(2):339–50.
 125. Casale R, Buonocore M, Matucci-Cerinic M. Systemic sclerosis (scleroderma): An integrated challenge in rehabilitation. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 1997 Jul 1;78(7):767–73.
 126. Baron M, Lee P, Keystone EC. The articular manifestations of progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Ann Rheum Dis* [Internet]. 1982 [cited 2022 May 6];41(2):147–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7073343/>
 127. Avouac J, Walker U, Tyndall A, Kahan A, Matucci-Cerinic M, Allanore Y, et al. Characteristics of Joint Involvement and Relationships with Systemic Inflammation in Systemic Sclerosis: Results from the EULAR Scleroderma Trial and Research Group (EUSTAR) Database. *The Journal of Rheumatology* [Internet]. 2010 Jul 1 [cited 2022 May 6];37(7):1488–501. Available from: <https://www.jrheum.org/content/37/7/1488>
 128. Avouac J, Clements PJ, Khanna D, Furst DE, Allanore Y. Articular involvement in systemic sclerosis. *Rheumatology* [Internet]. 2012 Aug 1 [cited 2022 May 7];51(8):1347–56. Available from: <https://academic.oup.com/rheumatology/article/51/8/1347/1841964>
 129. la Montagna G, Sodano A, Capurro V, Malesci D, Valentini G. The arthropathy of systemic sclerosis: a 12 month prospective clinical and imaging study. *Skeletal Radiology* 2004 34:1 [Internet]. 2004 Sep 17 [cited 2022 May 5];34(1):35–41. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00256-004-0830-6>
 130. Avouac J, Guerini H, Wipff J, Assous N, Chevrot A, Kahan A, et al. Radiological hand involvement in systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 2006 Aug [cited 2022 May 7];65(8):1088. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1798258/>
 131. RODNAN GPMD; MTAJRM. The Rheumatic Manifestations of Progressive Systemic Sclerosis. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 1968;57:81–94.
 132. Medsger TA, Rodnan GP, Moosy J, Vester JW. Skeletal muscle involvement in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 1968 Aug 1 [cited 2022 May 5];11(4):554–68. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.1780110405>
 133. Follansbee WP, Zerbe TR, Medsger TA. Cardiac and skeletal muscle disease in systemic sclerosis (scleroderma): A high risk association. *American Heart Journal*. 1993 Jan 1;125(1):194–203.

134. Walker UA, Clements PJ, Allanore Y, Distler O, Oddis C v., Khanna D, et al. Muscle involvement in systemic sclerosis: points to consider in clinical trials. *Rheumatology* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2022 May 6];56(suppl_5):v38–44. Available from: https://academic.oup.com/rheumatology/article/56/suppl_5/v38/4345750
135. Medsger TA, Silman AJ, Steen VD, Black CM, Akesson A, Bacon PA, et al. A disease severity scale for systemic sclerosis: development and testing. *The Journal of Rheumatology* [Internet]. 1999 Oct 1 [cited 2022 May 6];26(10):2159–67. Available from: <https://europepmc.org/article/med/10529133>
136. Walker UA, Clements PJ, Allanore Y, Distler O, Oddis C v., Khanna D, et al. Muscle involvement in systemic sclerosis: points to consider in clinical trials. *Rheumatology* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2022 May 6];56(suppl_5):v38–44. Available from: https://academic.oup.com/rheumatology/article/56/suppl_5/v38/4345750
137. Ranque B, Authier FJ, Berezne A, Guillevin L, Mouthon L. Systemic Sclerosis-Associated Myopathy. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2007 Jun 1 [cited 2022 May 6];1108(1):268–82. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1196/annals.1422.029>
138. Aggarwal R, Lucas M, Fertig N, Oddis C v., Medsger TA. Anti-U3 RNP autoantibodies in systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2009 Apr 1 [cited 2022 May 6];60(4):1112–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.24409>
139. Marie I, Lahaxe L, Benveniste O, Delavigne K, Adoue D, Mouthon L, et al. Long-term outcome of patients with polymyositis/ dermatomyositis and anti-PM-Scl antibody. *Br J Dermatol* [Internet]. 2010 Feb [cited 2022 May 5];162(2):337–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19845665/>
140. Steen VD, Medsger TA. SEVERE ORGAN INVOLVEMENT IN SYSTEMIC SCLEROSIS WITH DIFFUSE SCLERODERMA. *ARTHRITIS & RHEUMATISM*. 2000;43(11):2437–44.
141. Kumar S, Singh J, Kedika R, Mendoza F, Jimenez SA, Blomain ES, et al. Role of muscarinic-3 receptor antibody in systemic sclerosis: correlation with disease duration and effects of IVIG. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2022 May 8];310(11):G1052–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27173508/>
142. Kumar S, Singh J, Rattan S, DiMarino AJ, Cohen S, Jimenez SA. Review article: pathogenesis and clinical manifestations of gastrointestinal involvement in systemic sclerosis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* [Internet]. 2017 Apr 1 [cited 2022 May 8];45(7):883–98. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/apt.13963>
143. Ingraham KM, O'Brien MS, Shenin MAX, Derk CT, Steen VD. Gastric Antral Vascular Ectasia in Systemic Sclerosis: Demographics and Disease Predictors. *The Journal of Rheumatology* [Internet]. 2010 Mar 1 [cited 2022

- May 7];37(3):603–7. Available from: <https://www.jrheum.org/content/37/3/603>
144. Hung EW, Mayes MD, Sharif R, Assassi S, Machicao VI, Hosing C, et al. Gastric Antral Vascular Ectasia and Its Clinical Correlates in Patients with Early Diffuse Systemic Sclerosis in the SCOT Trial. *The Journal of Rheumatology* [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2022 May 7];40(4):455–60. Available from: <https://www.jrheum.org/content/40/4/455>
 145. Savarino E, Furnari M, de Bortoli N, Martinucci I, Bodini G, Ghio M, et al. Gastrointestinal involvement in systemic sclerosis. *La Presse Médicale*. 2014 Oct 1;43(10):e279–91.
 146. White SC, Frey NW, Blaschke DD, Ross MD, Clements PJ, Furst DE, et al. Oral radiographic changes in patients with progressive systemic sclerosis (scleroderma). *The Journal of the American Dental Association*. 1977 Jun 1;94(6):1178–82.
 147. Miller JB, Gandhi N, Clarke J, McMahan Z. Gastrointestinal Involvement in Systemic Sclerosis: An Update. *Journal of Clinical Rheumatology* [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2022 May 8];24(6):328. Available from: </pmc/articles/PMC6110377/>
 148. Hamel-Roy J, Devroede G, Arhan P, Tétreault L, Duranceau A, Ménard HA. Comparative Esophageal and Anorectal Motility in Scleroderma. *Gastroenterology*. 1985 Jan 1;88(1):1–7.
 149. Brindley G v., Texter EC. Scleroderma of the esophagus. *Texas Medicine*. 1972 Nov;68(11):74–80.
 150. Vischio J, Saeed F, Karimedдини M, Mubashir A, Feinn R, Caldito G, et al. Progression of Esophageal Dysmotility in Systemic Sclerosis. *The Journal of Rheumatology* [Internet]. 2012 May 1 [cited 2022 May 8];39(5):986–91. Available from: <https://www.jrheum.org/content/39/5/986>
 151. Zamost BJ, Hirschberg J, Ippoliti AF, Furst DE, Clements PJ, Weinstein WM. Esophagitis in scleroderma: Prevalence and risk factors. *Gastroenterology*. 1987 Feb 1;92(2):421–8.
 152. Aubert A, Lazareth I, Vayssairat M, Fiessinger JN, Petite JP. [Esophagitis in progressive systemic scleroderma. Prevalence and risk factors in forty-six patients]. *Gastroenterologie Clinique et Biologique* [Internet]. 1991 Jan 1 [cited 2022 May 8];15(12):945–9. Available from: <https://europepmc.org/article/med/1783250>
 153. Wipff J, Coriat R, Masciocchi M, Caramaschi P, Derk CT, Hachulla E, et al. Outcomes of Barrett’s oesophagus related to systemic sclerosis: a 3-year EULAR Scleroderma Trials and Research prospective follow-up study. *Rheumatology* [Internet]. 2011 Aug 1 [cited 2022 May 8];50(8):1440–4. Available from: <https://academic.oup.com/rheumatology/article/50/8/1440/1789807>
 154. Lock G, Pfeifer M, Straub RH, Zeuner M, Lang B, Schtilmerich J, et al. Association of Esophageal Dysfunction and Pulmonary Function

- Impairment in Systemic Sclerosis. *The American Journal of Gastroenterology*. 1998 Mar;93(3):341–5.
155. Savarino E, Bazzica M, Zentilin P, Pohl D, Parodi A, Cittadini G, et al. Gastroesophageal Reflux and Pulmonary Fibrosis in Scleroderma. <https://doi.org/10.1164/rccm.200808-1359OC> [Internet]. 2012 Dec 20 [cited 2022 May 9];179(5):408–13. Available from: www.atsjournals.org
 156. Sridhar KR, Lange RC, Magyar L, Soykan I, McCallum RW. Prevalence of impaired gastric emptying of solids in systemic sclerosis: Diagnostic and therapeutic implications. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1998 Dec 1;132(6):541–6.
 157. Marie I, Gourcerol G, Leroi AM, Ménard JF, Levesque H, Ducrotté P. Delayed gastric emptying determined using the ¹³C–octanoic acid breath test in patients with systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2012 Jul 1 [cited 2022 May 9];64(7):2346–55. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.34374>
 158. Marie I, Levesque H, Ducrotté P, Denis P, Hellot MF, Benichou J, et al. Gastric involvement in systemic sclerosis: a prospective study. *The American Journal of Gastroenterology*. 2001 Jan 1;96(1):77–83.
 159. Jabbari M, Cherry R, Lough JO, Daly DS, Kinnear DG, Goresky CA. Gastric antral vascular ectasia: the watermelon stomach. *Gastroenterology*. 1984 Nov;87(5):1165–70.
 160. Parrado RH, Lemus HN, Coral-Alvarado PX, Quintana López G. Gastric Antral Vascular Ectasia in Systemic Sclerosis: Current Concepts. *International Journal of Rheumatology* [Internet]. 2015 [cited 2022 May 10];2015. Available from: [/pmc/articles/PMC4655054/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/264655054/)
 161. Marie I, Ducrotte P, Antonietti M, Herve S, Levesque H. Watermelon stomach in systemic sclerosis: its incidence and management. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* [Internet]. 2008 Aug 1 [cited 2022 May 10];28(4):412–21. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2036.2008.03739.x>
 162. Watson M, Hally RJ, Mccue PA, Varga J, Jiménez SA. Gastric antral vascular ectasia (watermelon stomach) in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 1996 Feb [cited 2022 May 10];39(2):341–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8849390/>
 163. Thonhofer R, Siegel C, Trummer M, Graninger W. Early endoscopy in systemic sclerosis without gastrointestinal symptoms. *Rheumatology International* 2010 32:1 [Internet]. 2010 Aug 14 [cited 2022 May 10];32(1):165–8. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00296-010-1595-y>
 164. Ebert EC. Gastric and enteric involvement in progressive systemic sclerosis. *Journal of Clinical Gastroenterology* [Internet]. 2008 Jan [cited 2022 May 10];42(1):5–12. Available from:

https://journals.lww.com/jcge/Fulltext/2008/01000/Gastric_and_Enteric_Involvement_in_Progressive.3.aspx

165. Rigamonti C, Bogdanos DP, Mytilinaiou MG, Smyk DS, Rigopoulou EI, Burroughs AK. Primary Biliary Cirrhosis Associated with Systemic Sclerosis: Diagnostic and Clinical Challenges. *International Journal of Rheumatology* [Internet]. 2011 [cited 2022 May 10];2011:12. Available from: [/pmc/articles/PMC3236477/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23236477/)
166. Rigamonti C, Shand LM, Feudjo M, Bunn CC, Black CM, Denton CP, et al. Clinical features and prognosis of primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis. *Gut* [Internet]. 2006 Mar 1 [cited 2022 May 10];55(3):388–94. Available from: <https://gut.bmj.com/content/55/3/388>
167. Mayo MJ, Jenkins RN, Combes B, Lipsky PE. Association of clonally expanded T cells with the syndrome of primary biliary cirrhosis and limited scleroderma. *Hepatology* [Internet]. 1999 Jun 1 [cited 2022 May 10];29(6):1635–42. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hep.510290637>
168. Shoji I, Takagi T, Kasukawa R. Anti-Centromere Antibody and CREST Syndrome in Patients with Primary Biliary Cirrhosis. *Internal Medicine*. 1992;31(12):1348–55.
169. Nakamura M, Kondo H, Mori T, Komori A, Matsuyama M, Ito M, et al. Anti-gp210 and anti-centromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2022 May 17];45(1):118–27. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.21472>
170. Rigamonti C, Bogdanos DP, Mytilinaiou MG, Smyk DS, Rigopoulou EI, Burroughs AK. Primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis: Diagnostic and clinical challenges. Vol. 2011, *International Journal of Rheumatology*. 2011.
171. Rigamonti C, Shand LM, Feudjo M, Bunn CC, Black CM, Denton CP, et al. Clinical features and prognosis of primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis. *Gut*. 2006 Mar 1;55(3):388–94.
172. Juárez M, Mischia R, Alarcón GS. Infections in systemic connective tissue diseases: Systemic lupus erythematosus, scleroderma, and polymyositis/dermatomyositis. Vol. 29, *Rheumatic Disease Clinics of North America*. Elsevier; 2003. p. 163–84.
173. Sakkas LI, Simopoulou T, Daoussis D, Lioussis SN, Potamianos S. Intestinal Involvement in Systemic Sclerosis: A Clinical Review. Vol. 63, *Digestive Diseases and Sciences*. Springer New York LLC; 2018. p. 834–44.
174. Domsic R, Fasanella K, Bielefeldt K. Gastrointestinal manifestations of systemic sclerosis. Vol. 53, *Digestive Diseases and Sciences*. Springer; 2008. p. 1163–74.
175. Ebert EC. Gastric and Enteric Involvement in Progressive Systemic Sclerosis. *Journal of Clinical Gastroenterology* [Internet]. 2008 Jan [cited

- 2022 May 17];42(1):5–12. Available from: <https://journals.lww.com/00004836-200801000-00003>
176. Polkowska-Pruszyńska B, Gerkowicz A, Szczepanik-Kuśak P, Krasowska D. Small intestinal bacterial overgrowth in systemic sclerosis: a review of the literature. Vol. 311, *Archives of Dermatological Research*. Springer Verlag; 2019. p. 1–8.
 177. Rezaie A, Pimentel M, Rao SS. How to Test and Treat Small Intestinal Bacterial Overgrowth: an Evidence-Based Approach. Vol. 18, *Current Gastroenterology Reports*. Current Medicine Group LLC 1; 2016. p. 1–11.
 178. Erdogan A, Rao SSC, Gulley D, Jacobs C, Lee YY, Badger C. Small intestinal bacterial overgrowth: duodenal aspiration vs glucose breath test. *Neurogastroenterology & Motility* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2022 May 18];27(4):481–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nmo.12516>
 179. Abu-Shakra M, Guillemin F, Lee P. Gastrointestinal manifestations of systemic sclerosis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 1994 Aug 1;24(1):29–39.
 180. Leighton JA, Valdovinos MA, Pemberton JH, Rath DM, Camilleri M. Anorectal dysfunction and rectal prolapse in progressive systemic sclerosis. *Diseases of the Colon & Rectum*. 1993 Feb;36(2):182–5.
 181. Wells AU, Steen V, Valentini G. Pulmonary complications: one of the most challenging complications of systemic sclerosis. *Rheumatology* [Internet]. 2006 Jun 1 [cited 2022 May 18];48(suppl_3):iii40–4. Available from: <https://academic.oup.com/rheumatology/article-lookup/doi/10.1093/rheumatology/kep109>
 182. Nihtyanova SI, Schreiber BE, Ong VH, Rosenberg D, Moinzadeh P, Coghlan JG, et al. Prediction of Pulmonary Complications and Long-Term Survival in Systemic Sclerosis. *Arthritis & Rheumatology* [Internet]. 2014 Jun 1 [cited 2022 May 18];66(6):1625–35. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.38390>
 183. Coral-Alvarado P, Rojas-Villarraga A, Latorre MC, Mantilla RD, Restrepo JF, Pardo AL, et al. Risk factors associated with pulmonary arterial hypertension in Colombian patients with systemic sclerosis: Review of the literature. *Journal of Rheumatology*. 2008 Feb 1;35(2):244–50.
 184. Nihtyanova SI, Denton CP. Pathogenesis of systemic sclerosis associated interstitial lung disease. *Journal of Scleroderma and Related Disorders* [Internet]. 2020 Mar 5 [cited 2022 May 18];5(2_suppl):6–16. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2397198320903867>
 185. Bagnato G, Harari S. Cellular interactions in the pathogenesis of interstitial lung diseases. Vol. 24, *European Respiratory Review*. European Respiratory Society; 2015. p. 102–14.
 186. Khanna D, Lin CJF, Furst DE, Goldin J, Kim G, Kuwana M, et al. Tocilizumab in systemic sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-

- controlled, phase 3 trial. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020 Oct 1;8(10):963–74.
187. Flaherty KR, Wells AU, Cottin V, Devaraj A, Walsh SLF, Inoue Y, et al. Nintedanib in Progressive Fibrosing Interstitial Lung Diseases. *New England Journal of Medicine*. 2019 Oct 31;381(18):1718–27.
 188. Ho KT, Reveille JD. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. *Arthritis Research & Therapy* [Internet]. 2003 [cited 2022 May 19];5(2):80. Available from: <http://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar628>
 189. Khanna D, Tashkin DP, Denton CP, Renzoni EA, Desai SR, Varga J. Etiology, risk factors, and biomarkers in systemic sclerosis with interstitial lung disease [Internet]. Vol. 201, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. American Thoracic Society; 2020 [cited 2022 May 19]. p. 650–60. Available from: <https://www.atsjournals.org/doi/10.1164/rccm.201903-0563CI>
 190. Perelas A, Silver RM, Arrossi A v., Highland KB. Systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. Vol. 8, *The Lancet Respiratory Medicine*. Lancet Publishing Group; 2020. p. 304–20.
 191. Steen VD, Conte C, Owens GR, Medsger TA. Severe restrictive lung disease in systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 1994 Aug 1 [cited 2022 May 19];37(9):1283–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.1780370903>
 192. Steen VD, Medsger TA. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2000 Nov 1 [cited 2022 May 19];43(11):2437–44. Available from: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1529-0131\(200011\)43:11<2437::AID-ANR10>3.0.CO;2-U](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1529-0131(200011)43:11<2437::AID-ANR10>3.0.CO;2-U)
 193. Desai SR, Veeraraghavan S, Hansell DM, Nikolakopoulou A, Goh NSL, Nicholson AG, et al. CT features of lung disease in patients with systemic sclerosis: Comparison with idiopathic pulmonary fibrosis and nonspecific interstitial pneumonia. *Radiology*. 2004 Aug 1;232(2):560–7.
 194. Daimon T, Johkoh T, Honda O, Sumikawa H, Ichikado K, Kondoh Y, et al. Nonspecific Interstitial Pneumonia Associated with Collagen Vascular Disease: Analysis of CT Features to Distinguish the Various Types. *Internal Medicine* [Internet]. 2009 [cited 2022 May 19];48(10):753–61. Available from: http://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/48/10/48_10_753/_article
 195. Goh NSL, Desai SR, Veeraraghavan S, Hansell DM, Copley SJ, Maher TM, et al. Interstitial Lung Disease in Systemic Sclerosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2008 Jun;177(11):1248–54.
 196. Launay D, Remy-Jardin M, Michon-Pasturel U, Mastora I, Hachulla E, Lambert M, et al. High resolution computed tomography in fibrosing

- alveolitis associated with systemic sclerosis. *Journal of Rheumatology*. 2006 Sep 1;33(9):1789–801.
197. Fischer A, Swigris JJ, Groshong SD, Cool CD, Sahin H, Lynch DA, et al. Clinically significant interstitial lung disease in limited scleroderma: Histopathology, clinical features, and survival. *Chest*. 2008 Sep 1;134(3):601–5.
 198. Barst RJ, McGoon M, Torbicki A, Sitbon O, Krowka MJ, Olschewski H, et al. Diagnosis and differential assessment of pulmonary arterial hypertension. In: *Journal of the American College of Cardiology*. Elsevier USA; 2004. p. S40–7.
 199. Simonneau G, Galiè N, Rubin LJ, Langleben D, Seeger W, Domenighetti G, et al. Clinical classification of pulmonary hypertension. In: *Journal of the American College of Cardiology*. Elsevier USA; 2004. p. S5–12.
 200. Launay D, Sobanski V, Hachulla E, Humbert M. Pulmonary hypertension in systemic sclerosis: Different phenotypes [Internet]. Vol. 26, *European Respiratory Review*. European Respiratory Society; 2017 [cited 2022 May 20]. p. 170056. Available from: <http://err.ersjournals.com/lookup/doi/10.1183/16000617.0056-2017>
 201. Ramirez A, Varga J. Pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: Clinical manifestations, pathophysiology, evaluation, and management. Vol. 3, *Treatments in Respiratory Medicine*. Springer; 2004. p. 339–52.
 202. Proudman SM, Stevens WM, Sahhar J, Celermajer D. Pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: The need for early detection and treatment. Vol. 37, *Internal Medicine Journal*. *Intern Med J*; 2007. p. 485–94.
 203. Vandecasteele E, de Pauw M, de Keyser F, Decuman S, Deschepper E, Piette Y, et al. Six-minute walk test in systemic sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Cardiology*. 2016 Jun 1;212:265–73.
 204. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *European Heart Journal*. 2016 Jan 1;37(1):67–119.
 205. Hsu VM, Moreyra AE, Wilson AC, Shinnar M, Shindler DM, Wilson JE, et al. Assessment of pulmonary arterial hypertension in patients with systemic sclerosis: Comparison of noninvasive tests with results of right-heart catheterization. *Journal of Rheumatology*. 2008 Mar 1;35(3):458–65.
 206. Mukerjee D. Echocardiography and pulmonary function as screening tests for pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Rheumatology* [Internet]. 2004 Jan 6 [cited 2022 May 20];43(4):461–6. Available from: <https://academic.oup.com/rheumatology/article-lookup/doi/10.1093/rheumatology/keh067>
 207. Schreiber BE, Valerio CJ, Keir GJ, Handler C, Wells AU, Denton CP, et al. Improving the detection of pulmonary hypertension in systemic sclerosis using pulmonary function tests. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2011

- Nov 1 [cited 2022 May 20];63(11):3531–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.30535>
208. Steen VD, Medsger TA. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 2000 Nov 1 [cited 2022 May 21];43(11):2437–44. Available from: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1529-0131\(200011\)43:11<2437::AID-ANR10>3.0.CO;2-U](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1529-0131(200011)43:11<2437::AID-ANR10>3.0.CO;2-U)
 209. Allanore Y, Avouac J, Kahan A. Systemic sclerosis: an update in 2008. Vol. 75, *Joint Bone Spine*. Elsevier Masson; 2008. p. 650–5.
 210. Lambova S. Cardiac manifestations in systemic sclerosis. *World Journal of Cardiology*. 2014 Sep 9;6(9):993.
 211. Pieroni M, de Santis M, Zizzo G, Bosello S, Smaldone C, Campioni M, et al. Recognizing and treating myocarditis in recent-onset systemic sclerosis heart disease: Potential utility of immunosuppressive therapy in cardiac damage progression. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2014 Feb 1;43(4):526–35.
 212. Ferri C, Bernini L, Bongiorno MG, Levorato D, Viegi G, Bravi P, et al. Noninvasive evaluation of cardiac dysrhythmias, and their relationship with multisystemic symptoms, in progressive systemic sclerosis patients. *Arthritis & Rheumatism*. 1985;28(11):1259–66.
 213. Roberts NK, Cabeen WR, Moss J, Clements PJ, Furst DE. The prevalence of conduction defects and cardiac arrhythmias in progressive systemic sclerosis. *Annals of Internal Medicine*. 1981;94(1):38–40.
 214. Gyger G, Baron M. Gastrointestinal manifestations of scleroderma: Recent progress in evaluation, pathogenesis, and management. *Current Rheumatology Reports*. 2012 Feb 22;14(1):22–9.
 215. Byers RJ, Marshall DAS, Freemont AJ. Pericardial involvement in systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1997 Jun 1;56(6):393–4.
 216. Gowda RM, Khan IA, Sacchi TJ, Vasavada BC. Scleroderma pericardial disease presented with a large pericardial effusion - a case report. *Angiology* [Internet]. 2001 Jan 2 [cited 2022 May 21];52(1):59–62. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/000331970105200108>
 217. Parks JL, Taylor MH, Parks LP, Silver RM. Systemic Sclerosis and the Heart. Vol. 40, *Rheumatic Disease Clinics of North America*. Elsevier; 2014. p. 87–102.
 218. Steen VD. Renal involvement in systemic sclerosis. *Clinics in Dermatology*. 1994 Apr 1;12(2):253–8.
 219. Woodworth TG, Suliman YA, Furst DE, Clements P. Scleroderma renal crisis and renal involvement in systemic sclerosis. Vol. 12, *Nature Reviews Nephrology*. Nature Publishing Group; 2016. p. 678–91.

220. Kowal-Bielecka O, Fransen J, Avouac J, Becker M, Kulak A, Allanore Y, et al. Update of EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2017 Aug 1;76(8):1327–39.
221. Fernández-Codina A, Walker KM, Pope JE. Treatment Algorithms for Systemic Sclerosis According to Experts. *Arthritis & Rheumatology* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2022 Jun 5];70(11):1820–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.40560>
222. Denton CP, Hughes M, Gak N, Vila J, Buch MH, Chakravarty K, et al. BSR and BHRP guideline for the treatment of systemic sclerosis. *Rheumatology* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2022 Jun 5];55(10):1906–10. Available from: <https://academic.oup.com/rheumatology/article-lookup/doi/10.1093/rheumatology/kew224>
223. Melsens K, de Keyser F, Decuman S, Piette Y, Vandecasteele E, Smith V. Disease activity indices in systemic sclerosis: a systematic literature review. *Clin Exp Rheumatol*. 34 Suppl 100(5):186–92.
224. Valentini G, della Rossa A, Bombardieri S, Bencivelli W, Silman AJ, D'Angelo S, et al. European multicentre study to define disease activity criteria for systemic sclerosis. II. Identification of disease activity variables and development of preliminary activity indexes. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2001;60(6):592–8.
225. Ferdowsi N, Huq M, Stevens W, Hudson M, Wang M, Tay T, et al. Development and validation of the Scleroderma Clinical Trials Consortium Damage Index (SCTC-DI): A novel instrument to quantify organ damage in systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2019 Jun 1;78(6):807–16.
226. Hudson M, Steele R, Baron M. Update on Indices of Disease Activity in Systemic Sclerosis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2007 Oct;37(2):93–8.
227. Valentini G, Iudici M, Walker UA, Jaeger VK, Baron M, Carreira P, et al. The European Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR) task force for the development of revised activity criteria for systemic sclerosis: Derivation and validation of a preliminarily revised EUSTAR activity index. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2017;76(1):270–6.
228. Medsger TA, Silman AJ, Steen VD, Black CM, Akesson A, Bacon PA, et al. A disease severity scale for systemic sclerosis: Development and testing. *Journal of Rheumatology*. 1999 Oct 1;26(10):2159–67.
229. Symmons DPM. Disease assessment indices: activity, damage and severity. *Bailliere's Clinical Rheumatology*. 1995 May 1;9(2):267–85.
230. Fasano S, Riccardi A, Messiniti V, Caramaschi P, Rosato E, Maurer B, et al. Revised European Scleroderma Trials and Research Group Activity Index is the best predictor of short-term severity accrual. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2019 Dec 1;78(12):1681–5.

231. Khanna D, Lin CJF, Furst DE, Goldin J, Kim G, Kuwana M, et al. Tocilizumab in systemic sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020 Oct 1;8(10):963–74.
232. Ebata S, Yoshizaki A, Oba K, Kashiwabara K, Ueda K, Uemura Y, et al. Safety and efficacy of rituximab in systemic sclerosis (DESIREs): a double-blind, investigator-initiated, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet Rheumatology*. 2021 Jul 1;3(7):e489–97.