

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**Διευθυντής: Καθηγητής Αθανάσιος Γ. Τζιούφας**



**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Προγνωστικοί Παράγοντες στο Συστηματικό Σκληρόδερμα**

**ΒΑΣΙΛΙΚΗ-ΚΑΛΛΙΟΠΗ ΜΠΟΥΡΝΙΑ**

**ΙΑΤΡΟΣ, ΡΕΥΜΑΤΟΛΟΓΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2019**



**Διδακτορική Διατριβή της Βασιλικής-Καλλιόπης Μπουρνιά στην Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών με Θέμα:**  
«Προγνωστικοί Παράγοντες στο Συστηματικό Σκληρόδερμα»

**Ημερομηνία ορισμού τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής:** 24/02/2009

**Ημερομηνία κατάθεσης πρωτοκόλλου της διδακτορικής διατριβής:** 29/02/2009  
(τροποποίηση τίτλου ΣΧ: 9395/11-07-2012)

**Ημερομηνία κατάθεσης 1<sup>ης</sup> έκθεσης προόδου:** 27/09/2010

**Ημερομηνία κατάθεσης 2<sup>ης</sup> έκθεσης προόδου:** 17/07/2013

**Ημερομηνία κατάθεσης 3<sup>ης</sup> έκθεσης προόδου:** 12/11/2018

**Τριμελής Συμβουλευτική επιτροπή:**

1. Επιβλέπον μέλος ΔΕΠ: καθηγητής κ. Παναγιώτης Γ Βλαχογιαννόπουλος
2. καθηγητής κ. Πέτρος Π Σφηκάκης
3. Αναπλ. καθηγήτρια κ. Κλειώ Π. Μαυραγάνη

**Ημερομηνία ορισμού επταμελούς εξεταστικής επιτροπής:** 04/07/2019

**Επταμελής εξεταστική επιτροπή:** καθηγητής κ. Παναγιώτης Γ. Βλαχογιαννόπουλος  
καθηγητής κ. Πέτρος Π. Σφηκάκης  
αναπ. καθηγήτρια κ. Κλειώ Π. Μαυραγάνη  
επίκ. καθηγήτρια κ. Ευσταθία Καψογεώργου  
καθηγητής κ. Μενέλαος Μανουσάκης  
καθηγητής κ. Δημήτριος Βασιλόπουλος  
επίκ. καθηγήτρια κ. Αικατερίνη Χατζηδιονυσίου





## ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ, ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΑΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΎΕ ΩΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ. ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ, Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΎΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ. ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

## ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ

(απόδοση στη Νεοελληνική)

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΣΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑ ΚΑΙ Σ' ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΕΠΙΚΑΛΟΥΜΕΝΟΣ ΤΗ ΜΑΡΤΥΡΙΑ ΤΟΥΣ, ΝΑ ΤΗΡΗΣΩ ΠΙΣΤΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ. ΝΑ ΘΕΩΡΩ ΑΥΤΟΝ ΠΟΥ ΜΟΥ ΔΙΔΑΞΕ ΑΥΤΗ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΙΣΟ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΝΑ ΜΟΙΡΑΣΤΩ ΜΑΖΙ ΤΟΥ ΤΑ ΥΠΑΡΧΟΝΤΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΑ ΧΡΗΜΑΤΑ ΜΟΥ ΑΝ ΕΧΕΙ ΑΝΑΓΚΗ ΦΡΟΝΤΙΔΑΣ. ΝΑ ΘΕΩΡΩ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΙΣΟΥΣ ΜΕ Τ' ΑΔΕΛΦΙΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΝΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΞΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ ΑΝ ΘΕΛΟΥΝ ΝΑ ΤΗ ΜΑΘΟΥΝ, ΧΩΡΙΣ ΑΜΟΙΒΗ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΚΑΙ ΝΑ ΜΕΤΑΔΩΣΩ ΜΕ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΕΣ, ΟΔΗΓΙΕΣ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΕΣ ΟΛΗ ΤΗΝ ΥΠΟΛΟΙΠΗ ΓΝΩΣΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΕΚΕΙΝΟΥ ΜΕ ΔΙΔΑΞΕ ΚΑΙ ΣΤΟΥΣ ΑΛΛΟΥΣ ΜΑΘΗΤΕΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΚΑΝΕΙ ΓΡΑΠΤΗ ΣΥΜΦΩΝΙΑ ΜΑΖΙ ΜΟΥ ΚΑΙ Σ' ΑΥΤΟΥΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΟΡΚΙΣΘΕΙ ΣΤΟΝ ΙΑΤΡΙΚΟ ΝΟΜΟ ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑΝ ΑΛΛΟ ΚΑΙ ΝΑ ΘΕΡΑΠΕΥΩ ΤΟΥΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ ΧΩΡΙΣ ΠΟΤΕ, ΕΚΟΥΣΙΩΣ, ΝΑ ΤΟΥΣ ΒΛΑΨΩ Ή ΝΑ ΤΟΥΣ ΑΔΙΚΗΣΩ. ΚΑΙ ΝΑ ΜΗ ΔΩΣΩ ΠΟΤΕ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ, ΕΣΤΩ ΚΙ ΑΝ ΜΟΥ ΤΟ ΖΗΤΗΣΕΙ, ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟ ΦΑΡΜΑΚΟ, ΟΥΤΕ ΝΑ ΔΩΣΩ ΠΟΤΕ ΤΕΤΟΙΑ ΣΥΜΒΟΥΛΗ. ΟΜΟΙΩΣ ΝΑ ΜΗ ΔΩΣΩ ΠΟΤΕ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΟ ΓΙΑ Ν' ΑΠΟΒΑΛΕΙ. ΝΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΔΕ ΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ ΚΑΘΑΡΗ ΚΑΙ ΑΓΝΗ. ΚΑΙ ΝΑ ΜΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΩ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ ΑΠΟ ΛΙΘΟΥΣ ΑΛΛΑ Ν' ΑΦΗΣΩ ΤΗΝ ΠΡΑΞΗ ΑΥΤΗ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΕΙΔΙΚΟΥΣ. ΚΑΙ Σ' ΟΠΟΙΑ ΣΠΙΤΙΑ ΚΙ ΑΝ ΜΠΩ, ΝΑ ΜΠΩ ΓΙΑ ΤΗΝ ΩΦΕΛΕΙΑ ΤΩΝ ΠΑΣΧΟΝΤΩΝ ΑΠΟΦΕΥΓΟΝΤΑΣ ΚΑΘΕ ΕΚΟΥΣΙΑ ΑΔΙΚΙΑ ΚΑΙ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΚΑΘΕ ΓΕΝΕΤΗΣΙΑ ΠΡΑΞΗ ΚΑΙ ΜΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΕ ΑΝΔΡΕΣ, ΕΛΕΥΘΕΡΟΥΣ ΚΑΙ ΔΟΥΛΟΥΣ. ΚΑΙ Ο,ΤΙ ΔΩ Ή ΑΚΟΥΣΩ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ ΤΟΥ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΟΣ ΜΟΥ, Ή ΚΙ ΕΚΤΟΣ, ΓΙΑ ΤΗ ΖΩΗ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΚΟΙΝΟΠΟΙΗΘΕΙ, ΝΑ ΣΙΩΠΗΣΩ ΚΑΙ ΝΑ ΤΟ ΤΗΡΗΣΩ ΜΥΣΤΙΚΟ. ΑΝ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΤΗΡΗΣΩ ΠΙΣΤΑ ΚΑΙ ΔΕΝ ΤΟΝ ΑΘΕΤΗΣΩ, ΕΙΘΕ Ν' ΑΠΟΛΑΥΣΩ ΓΙΑ ΠΑΝΤΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΟΛΩΝ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ, ΑΝ ΟΜΩΣ ΠΑΡΑΒΩ ΚΑΙ ΑΘΕΤΗΣΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΝΑ ΥΠΟΣΤΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΑΠΟ ΑΥΤΑ.

## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ ΒΑΣΙΛΙΚΗΣ-ΚΑΛΛΙΟΠΗΣ ΜΠΟΥΡΝΙΑ

<b>Προσωπικά Δεδομένα:</b>	
<b>Όνομα:</b>	Μπουρνιά Βασιλική-Καλλιόπη
<b>Όνομα Πατρός:</b>	Κωνσταντίνος
<b>Όνομα Μητρός:</b>	Ευαγγελία
<b>Ημ. Γεννήσεως:</b>	1 Αυγούστου 1979
<b>Τόπος Γεννήσεως:</b>	Χολαργός Αττικής
<b>Φύλο:</b>	Θήλυ
<b>Οικ. Κατάσταση:</b>	Έγγαμος, 2 παιδιά
<b>Email:</b>	lily bournia@hotmail.com
<b>Σπουδές:</b>	
<b>Απρ 2015:</b>	Λήψη τίτλου ειδικότητας Ρευματολογίας
<b>Ιούν 2009-σήμερα:</b>	Υποψηφία διδάκτωρ της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Θέμα διδακτορικής διατριβής: «Προγνωστικοί παράγοντες στο Συστηματικό Σκληρόδερμα». Εποπτεύων: καθηγητής κ. Π. Βλαχογιαννόπουλος.
<b>2003:</b>	Πτυχίο Ιατρικής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Βαθμός: «Λίαν Καλώς» 8,16
<b>1997:</b>	Απολυτήριο Λυκείου, Σχολή Μωραΐτη. Γενικός βαθμός «Αριστα» 19 <sup>8/11</sup>
<b>Ξένες Γλώσσες:</b>	
<b>Αγγλικά:</b>	GCE O level (A) Proficiency (A) Lower (B)
<b>Γαλλικά:</b>	DELFL, ενότητες A1-A6 DALFL, ενότητες B1-B2
<b>Γερμανικά:</b>	Grundstufe (sehr gut) Mittelstufe (sehr gut) Kleines Deutsches Sprachdiplom (βαθμός 2)
<b>Επαγγελματική Εμπειρία:</b>	
<b>Ιούν 2015-σήμερα:</b>	Πανεπιστημιακή Υπότροφος Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο Αθηνών.
<b>8/7/2011-16/2/2015:</b>	Ολοκλήρωση ειδικότητας Ρευματολογίας, Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο Αθηνών.
<b>1/2/2010-31/1/2011:</b>	Πρώτο έτος ειδικότητας (Ρευματολογία). Ρευματολογικό τμήμα Νοσοκομείου 417 ΝΙΜΤΣ. (παράταση παραμονής μέχρι 29/5/2011).

<b>15/5/2006-16/2/2008:</b>	Διετής ειδικευση στην Παθολογία, Γ' Παθολογική Κλινική 1 <sup>ο</sup> Νοσοκομείο ΙΚΑ «Η Πεντέλη», (παράταση παραμονής μέχρι 17/3/2008)
<b>4/10/2004- 3/10/2005:</b>	Υπηρεσία Υπαίθρου στο ΙΙΙ Γαλαξειδίου Φωκίδος (παράταση παραμονής μέχρι 26/11/2005)
<b>21/6/2004- 21/9/04:</b>	Τρίμηνη εκπαίδευση για την Υπηρεσία Υπαίθρου στο ΓΝ Άμφισσας.
<b>Κλινική και Εργαστηριακή Έρευνα:</b>	
<b>21-Σεπ 2018-σήμερα:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Συνερευνητρια στη μελέτη 1199.225 SENCIS®- ON (Extension)- Μία ανοιχτή μελέτη επέκτασης για να αξιολογηθεί η μακροπρόθεσμη ασφάλεια του nintendanib σε ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα σχετιζόμενο με διάμεση πνευμονοπάθεια.</li> </ul>
<b>Σεπ 2016-σήμερα:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Συνερευνητρια (unblinded pharmacist) σε μία διπλή τυφλή, πολυκεντρική μελέτη με δραστική ουσία ελέγχου για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας στην εβδομάδα 52 της υποδορίως χορηγούμενης μονοθεραπείας με σεκουκινουμάμπη συγκριτικά με την υποδορίως χορηγούμενη μονοθεραπεία με ανταλιμουμάμπη σε ασθενείς με ενεργό ψωριασική αρθρίτιδα. (κωδικός CAIN457F2366). Χορηγός Novartis. Κύριος ερευνητής: καθηγητής κ. Π. Σφηκάκης</li> </ul>
<b>Δεκ 2015-σήμερα:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Συνερευνητρια σε μία διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη αξιολόγησης της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας της θεραπείας με από του στόματος χορηγούμενο nintendanib για τουλάχιστον 52 εβδομάδες σε ασθενείς με διάμεση πνευμονοπάθεια σχετιζόμενη με συστηματική σκλήρυνση. (Μελέτη SENCIS, κωδικός BI 1199.214). Χορηγός Boehringer Ingelheim. Κύριος ερευνητής: καθηγητής κ. Π. Σφηκάκης</li> </ul>
<b>15/9/2011-31/8/2012:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Συνερευνητρια σε πολυκεντρική, προοπτική μελέτη κοορτής με τη χρήση βιντεο-τριχοειδοσκόπησης της κοίτης των νυχιών και άλλων παραγόντων για να καθοριστεί ο κίνδυνος ανάπτυξης δακτυλικής εξέλκωσης σε ασθενείς με συστηματική σκλήρυνση (Μελέτη CAP, κωδικός AC-052-521). Χορηγός Actelion pharmaceuticals. Κύριος ερευνητής: καθηγητής κ. Π. Βλαχογιαννόπουλος.</li> </ul>
<b>13/7/2009-31/12/2012:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Συντονίστρια του ερευνητικού κέντρου σε κλινική μελέτη παρακολούθησης για την καταγραφή της μακροχρόνιας εμπειρίας με την αβατασέπτη στη συνήθη κλινική πρακτική (Μελέτη ACTION, κωδικός IM10-151). Χορηγός Bristol Meiers Squibb. Κύριος ερευνητής: κ. Αλέξιος Ηλιόπουλος, διευθυντής ρευματολογικού τμήματος NIMTΣ.</li> </ul>

<p><b>1/1/2009-31/12/2009:</b></p> <p><b>Απρ 2008-Ιαν 2010:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Σύμβαση έργου με το Πανεπιστήμιο Αθηνών για τη διερεύνηση του ρόλου της ακτιβίνης στο συστηματικό σκληρόδερμα.</li> <li>• Συνερευνήτρια σε δύο κλινικές δοκιμές (μία φάσης 2B, τυχαιοποιημένη διπλή τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, πολυκεντρική μελέτη και μία προοπτική μελέτη) της φαρμακευτικής εταιρείας Pfizer, για την εκτίμηση της χρήσης του φαρμάκου CP-690.550 σε ασθενείς ρευματοειδή αρθρίτιδα. (κύριος ερευνητής: αναπληρωτής καθηγητής κ. Π. Βλαχογιαννόπουλος)</li> </ul>
<p><b>Δημοσιεύσεις:</b></p>	
<p><b>2019:</b></p> <p><b>2018:</b></p> <p><b>2017:</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Differential Performance of Nailfold Video Capillaroscopic Parameteres in the Diagnosis and Prognosis of Systemic Sclerosis. V. Bournia, K. Kottas, S. Panopoulos, G. Konstantonis, A. Iliopoulos, M. Tektonidou, A. Tzioufas, P. Sfikakis, P. Vlachoyiannopoulos. Clinical Experimental Rheumatology (υπό δημοσίευση)</li> <li>2. Mechanics of Early Biventricular Impairment in Systemic Sclerosis and the Effects of Peripheral Arterial Hemodynamics. C. Tountas, A. Protogerou, V. Bournia, S. Panopoulos, G. Konstantonis, M. Tektonidou, A. Gournizakis, D. Beldekos, P. Sfikakis. Clinical Experimental Rheumatology (υπό δημοσίευση)</li> <li>3. Cardiovascular magnetic resonance imaging pattern in patients with autoimmune rheumatic diseases and ventricular tachycardia with preserved ejection fraction. Mavrogeni SI, Sfikakis PP, Markousis-Mavrogenis G, Bournia VK, Poulos G, Koutsogeorgopoulou L, Karabela G, Stavropoulos E, Katsifis G, Boki K, Vartela V, Kolovou G, Theodorakis G, Kitas GD. Int J Cardiol. 2018 Oct 25. pii:S0167-5273(18)34895-2.</li> <li>4. Predictors of morbidity and mortality in early systemic sclerosis: Long-term follow-up data from a single-centre inception cohort. Panopoulos S, Bournia VK, Konstantonis G, Fragiadaki K, Sfikakis PP, Tektonidou MG. Autoimmun Rev. 2018 Aug;17(8):816-820.</li> <li>5. Severe oesophageal disease and its associations with systemic sclerosis. Karamanolis GP, Denaxas K, Panopoulos S, Bournia VK, Zorbala A, Kamberoglou D, Schizas D, Ladas SD, Sfikakis PP. Clin Exp Rheumatol. 2017 Sep-Oct;35 Suppl 106(4):82-85. Epub 2017 Aug 30.</li> <li>6. Biologic treatment for rheumatic disease: real-world big data analysis from the Greek country-wide prescription database. Sfikakis PP, Bournia VK, Sidiropoulos P, Boumpas DT, Drosos AA, Kitas GD, Konstantonis G, Liossis SN, Manoussakis MN, Sakkas L, Tektonidou M, Tzioufas AG, Vlachoyiannopoulos PG, Kani C, Paterakis P, Litsa P,</li> </ol>

	<p>Vassilopoulos D. Clin Exp Rheumatol. 2017 Jul-Aug;35(4):579-585. Epub 2017 Mar 3</p> <p><b>7.</b> Impact of non-steroidal anti-inflammatory drugs on cardiovascular risk: Is it the same in osteoarthritis and rheumatoid arthritis? Bournia VK, Kitas G, Protogerou AD, Sfikakis PP. Mod Rheumatol. 2017 Jul;27(4):559-569.</p> <p><b>2015:</b> <b>8.</b> Increased messenger RNA levels of the mesenchymal cadherin-11 in the peripheral blood of systemic sclerosis patients correlate with diffuse skin involvement. Christopoulos PF, Bournia VK, Panopoulos S, Vaiopoulos A, Koutsilieris M, Sfikakis PP. Clin Exp Rheumatol. 2015 Jul-Aug;33(4 Suppl 91):S36-9. Epub 2015 Jun 29.</p> <p><b>9.</b> Θεραπεία Συστηματικού Σκληροδέρματος Βασισμένη σε Ενδείξεις. Μπουρνιά ΒΚ, Σφηκάκης ΠΠ. MJRheum - Ελληνική Ρευματολογία (Περίοδος Β) 2015;1(1):56-63</p> <p><b>10.</b> Intertoe Squamous Cell Carcinoma Developed in a Patient with Rheumatoid Arthritis under Etanercept Therapy. Rallis E, Bournia VK, Verros C, Iliopoulos A. Case Rep Med. 2015; 2015:315490</p> <p><b>11.</b> Adverse events and infections in patients with rheumatoid arthritis treated with conventional drugs or biologic agents: a real world study. Lampropoulos CE, Orfanos P, Bournia VK, Karatsourkis T, Mavragani C, Pikazis D, Manoussakis MN, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM, Vlachoyiannopoulos PG. Clin Exp Rheumatol. 2015;33(2):216-24</p> <p><b>12.</b> Intact calibers of retinal vessels in patients with systemic sclerosis. Aissopou EK, Bournia VK, Protogerou AD, Panopoulos S, Papaioannou TG, Vlachoyiannopoulos PG, Matucci-Cerinic M, Sfikakis PP. JRheumatol. 2015 Apr;42(4):608-13</p> <p><b>13.</b> Bournia VK, Tektonidou M. 2015. Infections and Autoimmune Renal Diseases. In: Schoenfield Y, Agmon-Levin N, Rose N. eds. <i>Infection and Autoimmunity</i>. Elsevier</p> <p><b>2014:</b> <b>14.</b> Do non-steroidal anti-inflammatory drugs increase or decrease cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis? Sfikakis PP, Bournia VK, Kitas G. Clin Exp Rheumatol. 2014 Oct 20</p> <p><b>15.</b> Multiple cranial nerve palsies in giant cell arteritis and response to cyclophosphamide: a case report and review of the literature. Fytili C, Bournia VK, Korkou C, Pentazos G, Kokkinos A. Rheumatol Int. 2014 Sep 7</p> <p><b>16.</b> Atrial fibrillation following intravenous zoledronic acid for osteoporosis. Konsta M, Bournia VK, Dania V, Iliopoulos A. J Clin Rheumatol. 2014 Jun;20(4):239-40</p> <p><b>17.</b> Cardiovascular magnetic resonance imaging in asymptomatic patients with connective tissue disease and recent onset left bundle branch block. Mavrogeni S, Sfikakis PP, Karabela G, Stavropoulos E, Spiliotis G, Gialafos E,</p>
--	---

	<p>Panopoulos S, Bournia V, Manolopoulou D, Kolovou G, Kitas G. <i>Int J Cardiol.</i> 2014 Jan 15;171(1):82-7</p> <p><b>18.</b> Cardiac tissue characterization and the diagnostic value of cardiovascular magnetic resonance in systemic connective tissue diseases. Mavrogeni S, Sfikakis PP, Gialafos E, Bratis K, Karabela G, Stavropoulos E, Spiliotis G, Sfindouraki E, Panopoulos S, Bournia V, Kolovou G, Kitas GD. <i>Arthritis Care Res (Hoboken).</i> 2014 Jan;66(1):104-12.</p> <p><b>19.</b> Η Καντχερίνη-11 ως νέος Πιθανός Θεραπευτικός Στόχος στη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Βαϊόπουλος Α, Χριστόπουλος Π, Μπουρνιά ΒΚ, Σφηκάκης ΠΠ. <i>Ελληνική Ρευματολογία</i> 2014;25(1):52-5</p> <p><b>2013:</b></p> <p><b>20.</b> Mycophenolate versus cyclophosphamide for progressive interstitial lung disease associated with systemic sclerosis: a 2-year case control study. Panopoulos ST, Bournia VK, Trakada G, Giavri I, Kostopoulos C, Sfikakis PP. <i>Lung.</i> 2013 Oct;191(5):483-9</p> <p><b>21.</b> Therapeutic inhibition of tyrosine kinases in systemic sclerosis: a review of published experience on the first 108 patients treated with imatinib. Bournia VK, Evangelou K, Sfikakis PP. <i>Semin Arthritis Rheum.</i> 2013 Feb;42(4):377-90.</p> <p><b>22.</b> Is vasculopathy associated with systemic sclerosis more severe in men? Panopoulos ST, Bournia VK, Sfikakis PP. <i>J Rheumatol.</i> 2013 Jan;40(1):46-51</p> <p><b>23.</b> Absence of radiographic progression of hip arthritis during infliximab treatment for ankylosing spondylitis. Konsta M, Sfikakis PP, Bournia VK, Karras D, Iliopoulos A. <i>Clin Rheumatol.</i> 2013 Aug;32(8):1229-32.</p> <p><b>24.</b> Θεραπεία με Infliximab σε ασθενή με αγκυλωτική Σπονδυλίτιδα και Βαριάς μορφής Κυστική ακμή και Πρώδη ιδρωταδενίτιδα Περιγραφή Περίπτωσης και ανασκόπηση της Βιβλιογραφίας. Δανιά Β, Μπουρνιά Β, Ράλλης Ε, Ηλιόπουλος Α. <i>Ελληνική Ρευματολογία</i> 2013;24(2):91-5</p> <p><b>2012:</b></p> <p><b>25.</b> B<sub>12</sub> deficiency myelopathy in a patient with long-standing rheumatoid arthritis. Bournia VK, Dania V, Lachanis S, Konsta M, Iliopoulos A. <i>J Clin Rheumatol.</i> 2012 Oct;18(7):372-4</p> <p><b>26.</b> TGFβ receptor gene variants in systemic sclerosis-related pulmonary arterial hypertension: results from a multicentre EUSTAR study of European Caucasian patients. Koumakis E, Wipff J, Dieudé P, Ruiz B, Bouaziz M, Revillod L, Guedj M, Distler JH, Matucci-Cerinic M, Humbert M, Riemekasten G, Airo P, Melchers I, Hachulla E, Cusi D, Wichmann HE, Hunzelmann N, Tiev K, Caramaschi P, Diot E, Kowal-Bielecka O, Cuomo G, Walker U, Czirják L, Damjanov N, Lupoli S, Conti C, Müller-Nurasyid M, Müller-Ladner U, Riccieri V, Cracowski JL, Cozzi F, Bournia VK, Vlachoyiannopoulos P, Chiocchia G, Boileau C, Allanore Y. <i>Ann Rheum Dis.</i> 2012 Nov;71(11):1900-3.</p>
--	--

	<p>27. Subgroups of Sjögren syndrome patients according to serological profiles. Bournia VK, Vlachoyian-nopoulos PG. J Autoimmun. 2012 Aug;39(1-2):15-26</p> <p>28. H1N1 influenza outcome in rheumatic patients under biological therapy. Bournia VK, Sfontouris C, Konsta M, Iliopoulos A. Clin Exp Rheumatol. 2012 Mar-Apr;30(2):311-2.</p> <p><b>2011:</b> 29. Multiarticular chronic tophaceous gout with severe and multiple ulcerations: a case report. Falidas E, Rallis E, Bournia VK, Mathioulakis S, Pavlakis E, Villias C. J Med Case Reports. 2011 Aug 19;5:397</p> <p>30. Cryptogenic organizing pneumonia mimicking malignancy in a patient with rheumatoid arthritis. Konsta M, Bournia VK, Alexandrou P, Iliopoulos A. J Rheumatol. 2011 Sep;38(9):2007-8</p> <p>31. Χειρουργικό εύρημα μελαγχρωματικού χόνδρου και οστού- Παρουσίαση περίπτωσης και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. Β.Κ. Μπουρνιά, Α. Ηλιοπουλος, Α. Καραμερης, Σ. Ζακάς, Θ. Παπαπολυχρονίου. Οστών, (2011) 22 (4): 235-241</p> <p><b>2010:</b> 32. Anticentromere antibody positive Sjögren's Syndrome: a retrospective descriptive analysis. Bournia VK, Diamanti KD, Vlachoyiannopoulos PG, Moutsopoulos HM. Arthritis Res Ther. 2010;12(2):R47. Epub 2010 Mar 13</p> <p><b>2009:</b> 33. Detection of coronary artery lesions and myocardial necrosis by magnetic resonance in systemic necrotizing vasculitides. Mavrogeni S, Manoussakis MN, Karagiorga TC, Douskou M, Panagiotakos D, Bournia V, Cokkinos DV, Moutsopoulos HM. Arthritis Rheum. 2009 Aug 15;61(8):1121-9.</p> <p>34. Recent advances in the treatment of systemic sclerosis, Bournia VK, Vlachoyiannopoulos PG, Selmi C, Moutsopoulos HM, Gershwin ME. Clin Rev Allergy Immunol. 2009 Jun;36(2-3):176-200</p> <p><b>2001:</b> 35. Η αντιμετώπιση του πόνου δια μέσου των αιώνων. Μια ιστορική αναδρομή στην εξέλιξη της αναλγησίας. Μπουρνιά ΒΚ, Λασκαράτος Γ, Κατσίνης Σ, Κούση Θ, Κωστοπαναγιώτου Γ. Ελληνική αναισθησιολογία. Ιούλιος- Σεπτέμβριος 2001;35(3).</p>
<b>Ανακοινώσεις-Poster σε Συνέδρια:</b>	
<p>EULAR 2019, Μαδρίτη, Ισπανία:</p> <p>EULAR 2018, Άμστερνταμ, Ολλανδία:</p>	<p>1. (Poster) “Differential Performance of Nailfold Video Capillaroscopic Parameters in the Diagnosis and Prognosis of Systemic Sclerosis”. VK Bournia, K Kottas, S Panopoulos, G Konstantonis, A Iliopoulos, A Tzioufas, PP Sfikakis, P Vlachoyiannopoulos</p> <p>2. (Poster) “Nailfold Video Capillaroscopy and Deterioration of Skin Involvement and Lung Function Tests in Systemic Sclerosis: a 3-year prospective study”, VK Bournia, K</p>



<p>ACR 2017, San Diego, Καλιφόρνια:</p>	<p>Kottas, A Iliopoulos, PP Sfikakis, P Vlachoyiannopoulos</p> <p>3. (poster) “In Established Pulmonary Arterial Hypertension the Follow-up Cardiac Catheterization-Derived Pulmonary Artery Systolic Pressure and Vascular Resistance May be Predicted By Echocardiography- a Longitudinal Study in Two Connective Tissue Disease Cohorts”. VK Bournia, I Tsangaris, L Rallidis, A Anthi, S Orfanos, E Demerouti, P Karyofyllis, V Voudris, S Panopoulos, PP Sfikakis</p>
<p>EULAR 2017, Μαδρίτη, Ισπανία:</p>	<p>4. (poster) “Can echocardiography replace follow-up cardiac catheterization in re-evaluation of pulmonary arterial hypertension? A longitudinal single-center study of 30 connective tissue disease patients”, VK Bournia, I Tsangaris, L Rallidis, D Konstantonis, A Anthi, S Orfanos, S Panopoulos, PP Sfikakis</p> <p>5. (poster) “Chest computed tomography as an alternative to high resolution manometry for the diagnosis of scleroderma esophagus”, S Panopoulos, VK Bournia, G Karamanolis, K Denaxas, A Zorbala, PP Sfikakis</p> <p>6. (poster) “Predictors of morbidity and mortality in patients with early systemic sclerosis: long-term follow-up from a single centre inception cohort study”, S Panopoulos, VK Bournia, G Konstantonis, K Fragiadiaki, PP Sfikakis, MG Tektonidou</p> <p>7. (poster) “Type I interferon signature in the peripheral blood and CXCL4 plasma levels in patients with systemic sclerosis”, NI Vlachogiannis, VK Bournia, A Nezos, PF Christopoulos, M Patsouras, PG Vlachoyiannopoulos, CP Mavragani, PP Sfikakis</p>
<p>EULAR 2015, Ρώμη, Ιταλία:</p>	<p>8. (poster) “Increased messenger RNA levels of the mesenchymal cadherin-11 in the peripheral blood correlate with diffuse skin involvement in systemic sclerosis”, P Christopoulos, VK Bournia, S Panopoulos, A Vaiopoulos, M Koutsilieris, P Sfikakis</p>
<p>ACR 2014, Βοστώνη, Μασσαχουσέτη:</p>	<p>9. (poster) “Could a Fibroblast-Free Environment Protect the Microcirculation in Systemic Sclerosis? Evidence from Retinal Vascular Imaging Research” EK Aissopou, VK Bournia, AD Protogerou, S Panopoulos, TG Papaioannou, PG Vlachoyiannopoulos, M Matucci-Cerinic, PP Sfikakis</p>
<p>EULAR 2014, Παρίσι, Γαλλία:</p>	<p>10. (poster) “Biologic treatment is associated with more serious adverse reactions, serious infections and admissions in hospital than DMARDs in patients with rheumatoid arthritis: a real world study”, CE Lampropoulos, F Orfanos, VK Bournia, T Karatsourakis, K Mavragani, D Pikazis, M Manousakis, A Tzioufas, HM Moutsopoulos, PG Vlachoyiannopoulos</p>

<p>EULAR 2013, Μαδρίτη, Ισπανία:</p>	<p>11. (poster) “Good response after three months of treatment with biologic agents may predict long-term efficacy of biologic treatment in patients with rheumatoid arthritis”, CE Lampropoulos, F Orfanos, VK Bournia, T Karatsourakis, D Lekaditi, K Mavragani, D Pikazis, M Manousakis, A Tzioufas, HM Moutsopoulos, PG Vlachoyiannopoulos</p> <p>12. (poster) “Proper initiation of biologic treatment (treat-to-target strategy) favors better outcome in patients with rheumatoid arthritis”, CE Lampropoulos, F Orfanos, VK Bournia, T Karatsourakis, K Mavragani, D Pikazis, M Manousakis, A Tzioufas, HM Moutsopoulos, PG Vlachoyiannopoulos</p> <p>13. (poster) “Beneficial effect of buspirone, an orally available 5-HT1a receptor agonist, on lower esophageal sphincter function in patients with systemic sclerosis”, S Panopoulos, G Karamanolis, A Karlaftis, VK Bournia, PP Sfikakis</p>
<p>EULAR 2012 Βερολίνο, Γερμανία:</p>	<p>14. (poster) “Absence of radiographic progression of hip arthritis in patients with ankylosing spondylitis treated with infliximab for 6 years”, M Konsta, VK Bournia, PP Sfikakis, D Karras, A Iliopoulos</p> <p>15. (poster) “Long-term treatment with mycophenolate versus cyclophosphamide for systemic sclerosis-associated pulmonary fibrosis: a case control retrospective study”, I Giavri, S Panopoulos, VK Bournia, K Fragiadaki, G Trakada, C Kostopoulos, PP Sfikakis.</p> <p>16. (poster) “more severe expression of systemic sclerosis in men than women from an ethnic cohort followed at a single center”, S Panopoulos, VK Bournia, I Giavri, K Fragiadaki, P Vlachoyiannopoulos, PP Sfikakis.</p>
<p>23<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ρευματολογικό συνέδριο, Αθήνα, 2010:</p>	<p>17. (poster) «Ατυπα Κατάγματα της Διάφυσης του Μηριαίου σε Ασθενείς με Μακροχρόνια Λήψη Διφωσφονικών» Μπουρνιά ΒΚ, Ζαμπέλη Ε, Δανιά Β, Διαούρτα Β, Ηλιόπουλος Α.</p> <p>18. (poster) «Κρυσταλλογενής Οργανούμενη Πνευμονία (COP) Εκδηλούμενη σαν Μονήρης Πνευμονική Μάζα σε Ασθενείς με Ρευματοειδή Αρθρίτιδα» Ζαμπέλη Ε, Μπουρνιά ΒΚ, Κώνστα Μ, Καραμέρης Α, Διαούρτα Β, Ηλιόπουλος Α.</p> <p>19. (poster) «Αγωγή Με Abatacept Σε Πολυανθεκτική Ρευματοειδή Αρθρίτιδα» Μπουρνιά ΒΚ, Κώνστα Μ, Διαούρτα Β, Ηλιόπουλος Α.</p>
<p>ACR 2009, Φιλαδέλφεια, Πενσυλβάνια:</p>	<p>20. (poster) «Measurement of total serum Activin A in patients with Systemic Sclerosis» Bournia VK, Vlachoyiannopoulos PG, Moutsopoulos HM.</p>
<p>10<sup>ο</sup> συμπόσιο σ.Sjogren, Brest,</p>	<p>21. (poster) «ACA positive Sjogren Syndrome: A distinct clinical entity», Bournia VK, Diamanti KD,</p>

Γαλλία, 2009:	Vlachoyiannopoulos PG, Moutsopoulos HM.
11 <sup>η</sup> Συνάντηση Ρευματολόγων ΒΔ Ελλάδας, Μέτσοβο, 2009:	22. Προφορική ανακοίνωση με θέμα: «Πρόσφατες Εξελίξεις στη Θεραπεία του Συστηματικού Σκληροδέρματος».



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Λίγο πριν το θάνατό του το 1940, ο γνωστός Ελβετός ζωγράφος Paul Klee, προσβεβλημένος ήδη από το 1935 από μια βαριά εξελικτική μορφή διάχυτου συστηματικού σκληροδέρματος, δημιούργησε τον πίνακα «Dieses Stern lehrt beugen» («αυτό το αστέρι διδάσκει να υποκύπτεις»). Περίπου 80 χρόνια αργότερα οι οργανώσεις ασθενών με συστηματικό σκληρόδερμα εκφράζουν την πεποίθηση ότι το αστέρι του Paul Klee θα γίνει ο φωτεινός φάρος της ελπίδας για τους ασθενείς που πάσχουν από συστηματική σκληροδερμία και ίσως να μην έχουν άδικο! Τα τελευταία χρόνια το συστηματικό σκληρόδερμα άρχισε να μετατοπίζεται στο προσκήνιο του ενδιαφέροντος των ερευνητών. Νεότερα δεδομένα βελτίωσαν την κατανόηση της παθοφυσιολογίας του νοσήματος και οδήγησαν στην εισαγωγή νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων, όπως οι αναστολείς των υποδοχέων ενδοθηλίνης-1, οι αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης-5 και τα πρώτα αντινωτικά φάρμακα, όπως το nintedanib και η pirfenidone, που πολύ πρόσφατα δοκιμάστηκαν με καλά αποτελέσματα. Ταυτόχρονα, αναθεωρήθηκαν τα κριτήρια ταξινόμησης για το συστηματικό σκληρόδερμα, ώστε να επιτευχθεί πρωιμότερη διάγνωση του νοσήματος, δημιουργώντας ένα παράθυρο ευκαιρίας για πρώιμη θεραπευτική παρέμβαση στη νόσο. Επιπλέον, ξεκίνησε μια διεθνής προσπάθεια συγκρότησης μιας ενιαίας βάσης δεδομένων των ασθενών με συστηματικό σκληρόδερμα, προκειμένου να παρακαμφθούν οι περιορισμοί που δημιουργεί στην έρευνα η σπανιότητα του νοσήματος. Μέσα σε αυτό το εξελισσόμενο περιβάλλον, η διερεύνηση των προγνωστικών παραγόντων στο συστηματικό σκληρόδερμα, που μου ανέθεσε ως θέμα διδακτορικής διατριβής ο επιβλέπων καθηγητής μου κ. Παναγιώτης Βλαχογιαννόπουλος απετέλεσε για εμένα μια ιδιαίτερη πρόκληση. Όσο το θεραπευτικό μας οπλοστάσιο διευρύνεται, τόσο μεγαλύτερη σημασία έχει να μπορεί ο θεράπων να ξεχωρίσει ποιοι ασθενείς με σκληρόδερμα εμφανίζουν χειρότερους προγνωστικούς δείκτες, ώστε έγκαιρα να τους χορηγήσει την επιθετική θεραπεία που χρειάζονται. Προσεγγίζοντας το τέλος αυτής πολύχρονης προσπάθειας, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους συνετέλεσαν στην υλοποίηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στον ομότιμο καθηγητή Παθολογικής Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Χαράλαμπο Μουτσόπουλο, αφενός μεν γιατί η διδασκαλία του και η γενικότερη ακαδημαϊκή του παρουσία πυροδότησαν

το αρχικό μου ενδιαφέρον για τη ρευματολογία, αφετέρου δε γιατί συγκαταλέγοντάς με στους διδακτορικούς φοιτητές του Εργαστηρίου Παθολογικής Φυσιολογίας, μου έδωσε τη δυνατότητα να μαθητεύσω δίπλα σε καταξιωμένους δασκάλους, μέσα σε ένα περιβάλλον υψηλού ακαδημαϊκού επιπέδου.

Ιδιαίτερος θα πρέπει, επίσης, να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Αθανάσιο Τζιούφα, διευθυντή της Κλινικής και του Εργαστηρίου Παθολογικής Φυσιολογίας για το ενδιαφέρον του, την αμέριστη υποστήριξη του και την καθοριστική επιστημονική του καθοδήγησή σε όλη την πορεία μέχρι την ολοκλήρωση αυτής μου της προσπάθειας.

Την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη θα ήθελα να εκφράσω στον έχοντα την επιστημονική επίβλεψη της παρούσας διατριβής, καθηγητή κ. Παναγιώτη Γ. Βλαχογιαννόπουλο. Ο κ. Βλαχογιαννόπουλος με εμπιστεύθηκε αναθέτοντάς μου το θέμα αυτής της μελέτης και δεν έλειψε στιγμή από δίπλα μου, εκπαιδεύοντάς με, καθοδηγώντας με, εμπυχώνοντάς με και δίνοντας λύση στα προβλήματα που κατά καιρούς ανέκυπταν. Οφείλω να αναγνωρίσω ότι απετέλεσε για εμένα ένα λαμπρό παράδειγμα ερευνητή και ανθρώπου!

Ένα μεγάλο Ευχαριστώ χρωστώ στο Δάσκαλό μου, καθηγητή κ. Πέτρο Π. Σφηκάκη, διευθυντή της Α΄ Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής, για την ουσιαστική και αδιάλειπτη υποστήριξή του.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω, επίσης, στην αναπληρώτρια καθηγήτρια Πειραματικής Φυσιολογίας κ. Κλειώ Μαυραγάνη για την επιστημονική της επίβλεψη, στους συνεργάτες κ. Μάρκο Πατσούρα (εργαστήριο Παθολογικής Φυσιολογίας) και κ. Νίκο Βλαχογιάννη (ρευματολογική μονάδα Α΄ προπαιδευτικής παθολογικής κλινικής) για τη βοήθεια που μου παρείχαν, καθώς και σε όλα τα μέλη και το προσωπικό του εργαστηρίου Παθολογικής Φυσιολογίας για την υποστήριξή τους.

Ξεχωριστά θα ήθελα, τέλος, να ευχαριστήσω όλους τους ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα που δέχθηκαν να μου αφιερώσουν το χρόνο τους και να ενταχθούν στις διαδικασίες αυτού του ερευνητικού πρωτοκόλλου. Αναγνωρίζοντας ότι εκείνοι είναι

οι τελικοί αποδέκτες όλων μας των προσπαθειών ελπίζω να φανώ αντάξια της εμπιστοσύνης που μου έδειξαν.

Κλείνοντας αυτόν τον σύντομο πρόλογο θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, για την αγάπη τους, την υπομονή τους και την αμέριστη συμπαράστασή τους.





## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ιπποκράτειος Όρκος (στο πρωτότυπο).....	5
Ιπποκράτειος Όρκος (απόδοση κειμένου στη Νεοελληνική γλώσσα).....	6
Βιογραφικό σημείωμα.....	7
Πρόλογος.....	17
Περιεχόμενα.....	21
Συνομογραφίες στην Ελληνική γλώσσα.....	25
Συνομογραφίες στην Αγγλική γλώσσα.....	26
Περίληψη.....	31
Abstract (απόδοση της περίληψης στην Αγγλική γλώσσα).....	34
<b>1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>37</b>
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	39
1.2 ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟ ΣΚΛΗΡΟΔΕΡΜΑ.....	41
1.2.1 Επιδημιολογία.....	41
1.2.2 Κλινική Εικόνα.....	41
α. Ταξινόμηση.....	41
β. Γενικά συμπτώματα.....	43
γ. Κλινικά ευρήματα σχετιζόμενα με αγγειοπάθεια.....	43
δ. Κλινικά ευρήματα σχετιζόμενα με ίνωση.....	53
ε. Αυτοαντισώματα.....	69
1.2.3 Δείκτες Ενεργότητας και Βαρύτητας του Συστηματικού Σκληροδέρματος.....	70
1.2.4 Αιτιοπαθογένεια.....	71
1.2.5 Παθοφυσιολογία.....	73
1.2.6 Διάγνωση.....	81
1.2.7 Πρόγνωση.....	84
1.2.8 Θεραπεία.....	86
1.3 ΤΡΙΧΟΕΙΔΟΣΚΟΠΗΣΗ.....	94
1.3.1 Ιστορική Ανασκόπηση.....	94
1.3.2 Τεχνική της Τριχοειδοσκόπησης.....	95
1.3.3 Παράμετροι που Εκτιμώνται στην Τριχοειδοσκόπηση.....	96
α. Φυσιολογικό πρότυπο τριχοειδοσκόπησης.....	99

β. Παθολογικό πρότυπο τριχοειδοσκόπησης.....	99
γ. Ποσοτική και ημιποσοτική εκτίμηση των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης.....	101
1.3.4 Επαναληψιμότητα των Τριχοειδοσκοπικών Ευρημάτων.....	101
1.3.5 Αυτοματοποιημένη Εκτίμηση των Ευρημάτων της Τριχοειδοσκόπησης.....	103
1.3.6 Άλλες Τεχνικές για την Εκτίμηση της Μικροκυκλοφορίας.....	104
1.3.7 Ο Ρόλος της Τριχοειδοσκόπησης στη Διάκριση Μεταξύ του Ιδιοπαθούς και Δευτεροπαθούς Φαινομένου Raynaud.....	104
1.3.8 Ο Ρόλος της Τριχοειδοσκόπησης στην Παρακολούθηση Ασθενών με Συστηματικό Σκληρόδερμα.....	106
1.3.9 Η Προγνωστική Αξία της Τριχοειδοσκόπησης στο Συστηματικό Σκληρόδερμα.....	107
1.3.10 Ο Ρόλος της Τριχοειδοσκόπησης σε Άλλα πλην του Συστηματικού Σκληροδέρματος Συστηματικά Αυτοάνοσα Νοσήματα.....	110
1.4 ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟ ΣΚΛΗΡΟΔΕΡΜΑ.....	112
1.4.1 CXCL4.....	113
1.4.2 CXCL4-L1.....	117
1.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΓΕΝΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ.....	119
<b>2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	147
2.1 ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Α': "Διαφορική επίδοση των παραμέτρων της βίντεο- τριχοειδοσκόπησης της κοίτης των ονύχων στη διάγνωση και πρόγνωση του συστηματικού σκληροδέρματος" .....	149
2.1.1 Εισαγωγή.....	149
2.1.2 Ασθενείς και Μέθοδοι.....	149
α. Πληθυσμός της μελέτης.....	149
β. Τριχοειδοσκόπηση.....	150
γ. Κλινική και εργαστηρική εκτίμηση.....	153
δ. Στατιστική ανάλυση.....	153
2.1.3. Αποτελέσματα.....	154
α. Συγκριτική αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας των διαφόρων παραμέτρων της τριχοειδοσκόπησης.....	154

β. Μεταβλητότητα μεταξύ πολλαπλών μετρήσεων από τον ίδιο εκτιμητή και μεταξύ μετρήσεων διαφορετικών εκτιμητών (Intra- και inter-rater variability).....	155
γ. Κλινικές συσχετίσεις των παραμέτρων της τριχοειδοσκόπησης σε ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα, κατά την αρχική εκτίμηση.....	158
δ. Σταθερότητα με το χρόνο των κλινικών συσχετίσεων της τριχοειδοσκόπησης σε ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές.....	161
ε. Εκτίμηση της προγνωστικής αξίας της βίντεο-τριχοειδοσκόπησης της κοίτης των ονύχων σε ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα.....	165
2.1.4 Συζήτηση.....	167
2.1.5 Συμπεράσματα.....	172
2.1.6 Βιβλιογραφία ειδικού μέρους Α'.....	173
2.2 ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Β': "Τα Επίπεδα του CXCL4-L1 Είναι Αυξημένα σε Ασθενείς με Συστηματικό Σκληρόδερμα και Συσχετίζονται με Τριχοειδοσκοπικούς Δείκτες Αγγειακής Βλάβης." .....	177
2.2.1 Εισαγωγή.....	177
2.2.2 Ασθενείς και Μέθοδοι.....	178
2.2.3. Αποτελέσματα.....	181
2.2.4 Συζήτηση.....	188
2.2.5 Συμπεράσματα.....	191
2.2.6 Βιβλιογραφία ειδικού μέρους Β'.....	192
<b>3. ΓΕΝΙΚΗ ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b> .....	195
3.1 Βιβλιογραφία Γενικής Συζήτησης.....	204
<b>4. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ</b> .....	207



## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

ΠΑΥ	πνευμονική αρτηριακή υπέρταση
ΣΣκ	Συστηματικό Σκληρόδερμα
ΑΜΕΑ	Αναστολείς μετατρεπτικού ενζύμου αγγειοτενσίνης
ΓΟΠ	Γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση
ΗΠΑ	Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής
ΑΝΑ	Αντιπυρηνικά αντισώματα
ΤΚΕ	Ταχύτητα καθίζησης ερυθρών

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

6mWD	Απόσταση βάρδισης σε 6 λεπτά
ACR	Αμερικανικό Κολλέγιο Ρευματολογίας
ADMA	Ασύμμετρη διμεθύλαργινίνη-1
AECA	Αυτοαντισώματα κατά των ενδοθηλιακών κυττάρων
ANOVA	Ανάλυση διακύμανσης
anti-CCP	Αντισώματα έναντι κυκλικών κιτρουλινοποιημένων πεπτιδίων
anti-TOPO-1/anti-Scl70	Αντισώματα κατά Τοποϊσομεράσης-1
COL1A2	Αλυσίδα α2 του κολλαγόνου τύπου 1
COMP	Ολιγομερής πρωτεΐνη του στρώματος του χόνδρου
CPK	Κρεατινική φωσφοκινάση
CRP	C-αντιδρώσα πρωτεΐνη
CSURI	Capillaroscopic skin ulcer risk index
CTGF	Αυξητικός παράγοντας του συνδετικού ιστού
dcSSc	Διάχυτος υπότυπος συστηματικού σκληροδέρματος

DLCO	Διαχυτική ικανότητα των πνευμόνων
EGF	Επιδερμικός παράγων αύξησης
ERS	Ευρωπαϊκή πνευμονολογική εταιρεία
ESC	Ευρωπαϊκή εταιρεία καρδιολογίας
EULAR	Ευρωπαϊκή ένωση εναντίον των ρευματικών νοσημάτων
EUSTAR	Ομάδα της EULAR για τις κλινικές μελέτες και την έρευνα στο συστηματικό σκληρόδερμα
FLI1	Friend leukemia integration 1 transcription factor
FVC	Δυναμική ζωτική χωρητικότητα
GAVE	Αγγειεκτασία του στομάχου και του άντρου
GWAS	Μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος
HAQ-DI	Ερωτηματολόγιο αξιολόγησης της υγείας-δείκτης νόσου
HRCT	Αξονική τομογραφία θώρακος υψηλής ευκρίνειας
hs-cTn	Καρδιακές τροπονίνες υψηλής ευαισθησίας
ICAM-1	Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1
ICC	Συντελεστής ενδοταξικής συσχέτισης (intraclass correlation coefficient)
IFN-a	Ιντερφερόνη-α

IL	Ιντερλευκίνη
IRF	Παράγων ρύθμισης της ιντερφερόνης
KL-6	Krebs von den Lungen-6
KLF5	Kruppel like factor 5
LASCA	Laser speckle contrast analysis
lcSSc	Περιορισμένος υπότυπος συστηματικού σκληροδέρματος
LGE	Καθυστερημένη ενίσχυση του σήματος της μαγνητικής τομογραφίας μετά από χορήγηση γαδολινίου
MCP-1	Χημειοτακτική πρωτεΐνη των μακροφάγων-1
mPAP	Μέση πίεση πνευμονικής αρτηρίας
mRSS	Τροποποιημένο δερματικό score κατά Rodnan (modified Rodnan skin score)
NS	Μη στατικά σημαντικό
NSIP	Μη ειδική διάμεση πνευμονίτιδα
PASP	Συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία
PBMCs	Λεμφομονοπύρρηνα του περιφερικού αίματος
PCWP	Πίεση ενσφήνωσης των πνευμονικών τριχοειδών
PDGF	Αιμοπεταλιακής προέλευσης αυξητικός παράγων



PDGFR	Υποδοχέας του PDGF
POEMS	Σύνδρομο πολυνευροπάθειας, οργανομεγαλίας, ενδοκρινοπάθειας, μονοκλωνικής γαμμαπάθειας και δερματικών αλλοιώσεων
pRP	Ιδιοπαθές φαινόμενο Raynaud
PVR	Πνευμονικές αγγειακές αντιστάσεις
RP	Φαινόμενο Raynaud
RVSP	Συστολική πίεση δεξιάς κοιλίας
SF-36	Ερωτηματολόγιο short form-36
SMR	Προτυπωμένος λόγος θνητότητας
SPARC	Όξινη και πλούσια σε κυστεΐνη εκκρινόμενη πρωτεΐνη
sRP	Δευτεροπαθές φαινόμενο Raynaud
TGF-β	Μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας β
TLC-He	Ολική πνευμονική χωρητικότητα
TLR	Toll-like receptor
TSP-1	Θρομβοσπονδίνη-1
UIP	Κοινή διάμεση πνευμονίτιδα

uPAR	Διαλυτός υποδοχέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης
VEDOSS	Πολύ πρώιμη διάγνωση συστηματικού σκληροδέρματος
VEGF	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγων
WHO	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το συστηματικό σκληρόδερμα (ΣΣκ) είναι ένα σπάνιο, συστηματικό αυτοάνοσο νόσημα που χαρακτηρίζεται από αγγειοπάθεια, διαταραχή της ανοσολογικής απόκρισης και ίνωση του δέρματος και των εσωτερικών οργάνων. Η δυσμενής, συχνά, πρόγνωση του νοσήματος, σε συνδυασμό με τη σημαντική ποικιλομορφία του ως προς τη βαρύτητα των κλινικών εκδηλώσεων και η ανάγκη για εξατομικευμένη θεραπεία, επιβάλλει την εξεύρεση αξιόπιστων προγνωστικών δεικτών. Η αναζήτηση προγνωστικών παραγόντων στο ΣΣκ αποτέλεσε το αντικείμενο της παρούσας μελέτης, η οποία συναπαρτίζεται από 2 μέρη.

Στο **πρώτο μέρος** εξετάσθηκε συγκριτικά η διαγνωστική ακρίβεια των διαφόρων τριχοειδοσκοπικών παραμέτρων στην αναγνώριση του ΣΣκ μεταξύ ασθενών με φαινόμενο Raynaud. Επιπλέον εκτιμήθηκε η σταθερότητα σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές των κλινικών συσχετίσεων της τριχοειδοσκόπησης και αξιολογήθηκε η προγνωστική ικανότητα των διαφόρων τριχοειδοσκοπικών παραμέτρων σε ασθενείς με ΣΣκ.

**Ασθενείς και Μέθοδοι:** Κατά την αρχική εκτίμηση εξετάσαμε κλινικά και τριχοειδοσκοπικά 242 διαδοχικούς ασθενείς με φαινόμενο Raynaud που παραπέμφθηκαν στο τμήμα μας για τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων [138 με ΣΣκ, 12 ασθενείς με πολύ πρόωμη διάγνωση συστηματικού σκληροδέρματος (VEDOSS), 36 ασθενείς με ιδιοπαθές φαινόμενο Raynaud και 56 ασθενείς με δευτεροπαθές φαινόμενο Raynaud, μη σχετιζόμενο με το ΣΣκ.] Εκατόν εβδομήντα τρία άτομα επανεξετάσθηκαν μετά πάροδο  $3.38 \pm 1.47$  ετών. Εξήντα δύο υγιείς εθελοντές απετέλεσαν την ομάδα των υγιών μαρτύρων. Το πρότυπο της τριχοειδοσκόπησης (φυσιολογικό, πρόωμο, ενεργό, όψιμο) καθορίσθηκε ποιοτικά. Η απώλεια τριχοειδών, η παρουσία διατεταμένων, γιγαντιαίων, ή ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών και η παρουσία μικροαιμορραγιών προσδιορίσθηκαν ημι-ποσοτικά.

**Αποτελέσματα:** Όπως φάνηκε από την ανάλυση με τη χρήση των καμπυλών ROC το score απώλειας τριχοειδών είχε την υψηλότερη διαγνωστική ακρίβεια στη διάκριση των ασθενών με νόσημα του φάσματος του ΣΣκ, από τους ασθενείς με φαινόμενο Raynaud άλλης αιτιολογίας και από τους υγιείς μάρτυρες. [AUC (95% CI)=0.905 (0.869-0.942)], ακολουθούμενο από το score διατεταμένων τριχοειδών [0.863 (0.818-

0.907)] και από το score γιγαντιαίων τριχοειδών [0.835 (0.787-0.884)]. Αντιθέτως, το score μικροαιμορραγιών [0.720 (0.662-0.779)] και το score ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών [0.604 (0.539-0.670)] δεν είχαν αντίστοιχα καλή διαγνωστική απόδοση. Η σύγκριση των κλινικών συσχετίσεων των παραμέτρων της τριχοειδοσκόπησης σε 85 ασθενείς με ΣΣκ σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές έδειξε ότι οι περισσότερες εξ αυτών δε μένουν σταθερές με το χρόνο. Από την πολυπαραγοντική ανάλυση σε 94 ασθενείς με ΣΣκ φάνηκε ότι το ενεργό (OR=3.305, p=0.043) και όψιμο (OR=6.900, p=0.023) πρότυπο τριχοειδοσκόπησης κατά την αρχική εκτίμηση μπορούσε να προβλέψει την εμφάνιση ενός συνδυαστικού δυσμενούς κλινικού αποτελέσματος [επιδείνωση της FVC >10% και/ή επιδείνωση DLCO >15% και/ή επιδείνωση του mRSS >3.5 και/ή πρώτη εκδήλωση δακτυλικών ελκών, και/ή θάνατος)] μετά από 3 έτη παρακολούθησης.

**Συμπεράσματα:** Το score διατεταμένων τριχοειδών έχει μεγαλύτερη διαγνωστική χρησιμότητα σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες ημι-ποσοτικές τριχοειδοσκοπικές παραμέτρους στη διάκριση των νοσημάτων του φάσματος του ΣΣκ. Παρότι οι κλινικές συσχετίσεις των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης μεταβάλλονται με το χρόνο, η μελέτη μας επιβεβαίωσε προηγούμενες αναφορές ότι το χειρότερο πρότυπο τριχοειδοσκόπησης κατά την αρχική εκτίμηση συσχετίζεται με υψηλότερη πιθανότητα δυσμενούς έκβασης.

Στο **δεύτερο μέρος** της μελέτης μας θελήσαμε να εξετάσουμε κατά πόσον τα επίπεδα του CXCL4-L1, της μη αλληλόμορφης παραλλαγής του CXCL4, ενός μορίου που εγνωσμένα εμπλέκεται στην παθογένεια και έχει προγνωστικό ρόλο στο ΣΣκ, διαφέρουν μεταξύ ασθενών με ΣΣκ και υγιών μαρτύρων.

**Ασθενείς και Μέθοδοι:** Τα επίπεδα του CXCL4 μετρήθηκαν με ELISA στο πλάσμα 94 ασθενών με ΣΣκ, 5 ασθενών με VEDOSS και 74 υγιών μαρτύρων. Τα επίπεδα του CXCL4-L1, μετρήθηκαν με ELISA στο πλάσμα 68 εκ των 94 ασθενών με ΣΣκ, 9 ασθενών με VEDOSS και 58 εκ των 74 υγιών μαρτύρων. Σε όλους τους ασθενείς κατεγράφησαν τριχοειδοσκοπικά και κλινικοεργαστηριακά δεδομένα. Για τη σύγκριση της έκφρασης του CXCL4-L1 σε επίπεδο mRNA στα λεμφομονοκύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMCs), μεταξύ ασθενών με ΣΣκ με και χωρίς πνευμονική αρτηριακή υπέρταση (ΠΑΥ) και υγιών μαρτύρων χρησιμοποιήσαμε δεδομένα από το διαδικτυακό διαθέσιμο dataset μικροσυστοιχιών GSE33463. Η σύγκριση μεταξύ των

ομάδων έγινε με τη χρήση Mann-Whitney U-test και Kruskal-Wallis test κατά περίπτωση.

**Αποτελέσματα:** Τα επίπεδα του CXCL4 στο πλάσμα των ασθενών με ΣΣκ (mean±SD=62.84±82.32ng/ml) βρέθηκαν αυξημένα σε σχέση με τα επίπεδα των υγιών μαρτύρων (mean±SD=32.67±33.48ng/ml, p=0.0004) και συσχετιζόνταν κλινικά με το κάπνισμα (B=51.74, p=0.024) και την παρουσία διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στην αξονική τομογραφία θώρακα υψηλής ευκρίνειας (B=33.47, p=0.042), μετά από διόρθωση για ηλικία και φύλο. Αντίστοιχα, τα επίπεδα του CXCL4-L1 ήταν αυξημένα στο πλάσμα των ασθενών με ΣΣκ (mean±SD=205.54±199.39pg/ml), τόσο έναντι των ασθενών με VEDOSS (mean±SD=75.67±51.00 pg/ml, p=0.0158), όσο και έναντι των υγιών μαρτύρων (mean±SD=82.29±114.88pg/ml, p<0.0001). Στη μονοπαραγοντική ανάλυση, τα επίπεδα του CXCL4-L1 βρέθηκαν να συσχετίζονται με τις παραμέτρους της τριχοειδοσκόπησης [score διατεταμένων τριχοειδών, (B=116.3, p=0.007), score μικροαιμορραγιών, (B=185.87, p=0.012)], ενώ μετά από διόρθωση για ηλικία και φύλο παρέμεινε μόνο μια τάση συσχέτισης με το score μικροαιμορραγιών (B=146.26, p=0.063). Σε επίπεδο mRNA ο CXCL4-L1 υπερέχει στα PBMCs των ασθενών με ΣΣκ σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, καθώς και στα PBMCs των ασθενών με ΣΣκ και ΠΑΥ σε σχέση με τους ασθενείς με ΣΣκ χωρίς ΠΑΥ.

**Συμπεράσματα:** Ο CXCL4-L1, ένας ισχυρός αναστολέας της αγγειογένεσης, είναι αυξημένος στο περιφερικό αίμα ασθενών με ΣΣκ τόσο στο επίπεδο της πρωτεΐνης, όσο και στο επίπεδο του mRNA. Η συσχέτιση του CXCL4-L1 με τα ευρήματα της τριχοειδοσκόπησης και με την πνευμονική αρτηριακή υπέρταση σε αυτούς τους ασθενείς υποδεικνύει ότι απαιτούνται περαιτέρω προοπτικές μελέτες για να εξετάσουν τη χρησιμότητα αυτού του μορίου ως πιθανού βιοδείκτη αγγειακής βλάβης στο ΣΣκ.

## ABSTRACT

Systemic Sclerosis (SSc) is a rare, systemic, autoimmune disorder characterized by vasculopathy, dysregulation of the immune system and fibrosis of skin and internal organs. The severity and significant variability of clinical manifestations of SSc and the need for targeted treatment, renders the search for reliable prognostic markers imperative. The present study of prognostic factors in SSc is divided in two sections.

In the **first section** we comparatively assessed the performance of different nailfold-video-capillaroscopic (NVC) parameters in identifying SSc among patients with RP. In addition we compared consistency of various clinical correlations of NVC between two different timepoints and evaluated the prognostic capacity of NVC in SSc patients.

**Patients and Methods:** At baseline we clinically and capillaroscopically evaluated 242 consecutive patients referred to our department for NVC (138 with SSc, 12 with very early diagnosis of SSc, 36 with primary Raynaud phenomenon and 56 with non-SSc related secondary Raynaud phenomenon); 173 were reevaluated after  $3.38 \pm 1.47$  years. Sixty-two healthy volunteers served as controls. Capillaroscopy pattern (normal/early/active/late) was qualitatively defined. Capillary loss, dilated, giant or ramified capillaries and micro-hemorrhages were scored semi-quantitatively.

**Results:** Capillary loss score had the highest diagnostic accuracy at discriminating patients with an SSc-spectrum disorder from patients with RP of different etiology and controls, as defined by ROC curve analysis [AUC (95% CI)=0.905 (0.869-0.942)], followed by dilatation score [0.863 (0.818-0.907)] and giant score [0.835 (0.787-0.884)]. By contrast, micro-hemorrhages [0.720 (0.662-0.779)] and ramifications scores [0.604 (0.539-0.670)] performed worse. Comparison of clinical correlations of NVC between two sequential time points in 85 SSc patients, showed low levels of consistency over time. Multivariate analysis in 94 SSc patients indicated that active (OR=3.305, p=0.043) and late (OR=6.900, p=0.023) baseline capillaroscopy pattern predicted occurrence of a combined adverse disease outcome [forced vital capacity (FVC) deterioration>10% and/or DLCO deterioration>15% and/or mRSS deterioration>3.5 and/or first occurrence of digital ulcers and/or death] at 3 year follow-up.

**Conclusions:** Dilatation score performs best of all semi-quantitative NVC parameters in diagnosing SSc and although clinical correlations of capillaroscopic findings change over time, our study confirms earlier reports that worse capillaroscopy pattern at baseline correlates with higher likelihood for adverse prognosis

In the **second section** of our study we tried to examine whether plasma levels of CXCL4-L1, the non-allelic variant of CXCL4, a chemokine which has already been implicated in the pathogenesis of SSc and has an established predictive role in this disease, differ between SSc patients and healthy controls.

**Patients and Methods:** CXCL4 plasma levels were measured by ELISA in 94 SSc patients, 5 VEDOSS patients and 74 healthy controls. CXCL4-L1 plasma levels were measured by ELISA in 68 of 94 SSc patients, 9 VEDOSS patients and 58 of 74 healthy controls. NVC and clinical data were collected from all patients. To compare levels of expression of CXCL4-L1 mRNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) between SSc patients with and without pulmonary arterial hypertension (PAH) and healthy controls we used information from the publicly available online microarray dataset GSE33463. Comparisons were performed using Mann-Whitney U-test and Kruskal-Wallis test, as indicated.

**Results:** Plasma levels of CXCL4 were significantly higher in SSc patients (mean±SD=62.84±82.32ng/ml) compared to controls (mean±SD=32.67±33.48ng/ml, p=0.0004) and correlated significantly with smoking (B=51.74, p=0.024) and presence of interstitial lung disease on high resolution computed tomography of the chest (B=33.47, p=0.042), after adjustment for age and gender. CXCL4-L1 plasma levels were increased in SSc patients (mean±SD=205.54±199.39pg/ml), compared to both VEDOSS patients (mean±SD=75.67±51.00 pg/ml, p=0.0158) and controls (mean±SD=82.29±114.88pg/ml, p<0.0001) and correlated significantly with capillaroscopic parameters [dilatation score, (B=116.3, p=0.007) and microhemorrhages score, (B=185.87, p=0.012)]. After correcting for age and gender correlation with microhemorrhages score remained marginally significant (B=146.26, p=0.063). In terms of mRNA expression CXCL4-L1 was increased in PBMCs of SSc patients compared to controls, as well as in PBMCs of SSc patients with PAH compared to SSc patients without PAH.

**Conclusion:** CXCL4-L1, an angiogenesis inhibitor, is increased in the peripheral blood of SSc patients both at the mRNA and protein levels. Correlation of CXCL4-L1 levels with capillaroscopic indices and PAH in these patients suggest that further prospective studies should examine whether CXCL4-L1 may serve as biomarker for vascular damage in SSc.



## **1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## 1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το συστηματικό σκληρόδερμα (ΣΣκ) είναι ένα αυτοάνοσο συστηματικό νόσημα που χαρακτηρίζεται από αγγειοπάθεια και ίνωση του δέρματος και των εσωτερικών οργάνων. Πρόκειται για μια σπάνια πάθηση με πολυσχιδείς εκδηλώσεις από όλα τα συστήματα και αβέβαιη πρόγνωση, που επιβαρύνει σημαντικά το προσδόκιμο επιβίωσης και την ποιότητα ζωής των πασχόντων, αποτελώντας πηγή άγχους τόσο για τον ασθενή, όσο και για το περιβάλλον του. Η αντιμετώπιση του ΣΣκ αποτελεί πρόκληση για το θεράποντα, αφού αφενός μεν η σημαντική ποικιλομορφία του νοσήματος, ως προς τη βαρύτητα και τις κλινικές του εκδηλώσεις, επιβάλλει την εξατομίκευση της θεραπευτικής προσέγγισης, αφετέρου δε, παρά τη βελτίωση της επιβίωσης κατά την τελευταία δεκαετία, το νόσημα εξακολουθεί να χαρακτηρίζεται από υψηλή θνητότητα.

Βασική προϋπόθεση για την εξατομίκευση της θεραπείας στο ΣΣκ είναι η αναγνώριση πρώιμων προγνωστικών παραγόντων, που θα επιτρέψουν τη διάκριση ομάδων υψηλού κινδύνου για δυσμενή κλινική εξέλιξη. Έχει λοιπόν μεγάλη σημασία να βρεθούν απλά στη χρήση, οικονομικά και εύκολα προσβάσιμα κλινικά εργαλεία και αξιόπιστοι εργαστηριακοί δείκτες που θα μπορούν να προγνώσουν την πορεία του νοσήματος. Ιδεατά, η αξιοποίηση αυτών των δεικτών δυσμενούς εξέλιξης θα μπορεί να διακρίνει τους ασθενείς που έχουν ανάγκη από επιθετική θεραπευτική παρέμβαση και να τους κατευθύνει προς μία πιο στοχευμένη θεραπεία στα πρώιμα στάδια της νόσου, όσο ακόμα παραμένει ανοικτό ένα «παράθυρο ευκαιρίας» για τροποποίηση της φυσικής πορείας του ΣΣκ.

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η αναζήτηση προγνωστικών παραγόντων στο ΣΣκ. Σε αυτή την προσπάθεια, βασιζόμενοι σε βιβλιογραφικά στοιχεία που παρακάτω θα αναλυθούν διεξοδικά, επικεντρώσαμε το ενδιαφέρον μας σε δύο παραμέτρους, αφενός μεν στην τριχοειδοσκόπηση και αφετέρου στο CXCL4-L1, μία μη αλληλόμορφη παραλλαγή της χημειοκίνης CXCL4. Συγκεκριμένα, στον πληθυσμό των ασθενών με φαινόμενο Raynaud (RP) που παραπέμφθηκαν στο τμήμα μας για τριχοειδοσκοπικό έλεγχο εκτιμήσαμε συγκριτικά τη διαγνωστική αξία των διαφόρων προτύπων και score της τριχοειδοσκόπησης. Επιπλέον, στην ομάδα των ασθενών με ΣΣκ επιβεβαιώσαμε προοπτικά τον προγνωστικό ρόλο των διαφόρων τριχοειδοσκοπικών παραμέτρων. Τέλος, συγκρίναμε την έκφραση του CXCL4-L1

μεταξύ ασθενών με ΣΣκ και υγιών μαρτύρων και διερευνήσαμε τις κλινικοεργαστηριακές συσχετίσεις του CXCL4-L1 στο ΣΣκ.

## 1.2 ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟ ΣΚΛΗΡΟΔΕΡΜΑ

### 1.2.1 Επιδημιολογία

Το ΣΣκ είναι ένα σπάνιο νόσημα με επίπτωση 3.8-23 νέα περιστατικά/1.000.000 πληθυσμού κατ' έτος και επιπολασμό που κυμαίνεται από 38-443 περιστατικά/1.000.000 πληθυσμού(1). Υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην επίπτωση και στον επιπολασμό του νοσήματος μεταξύ των διαφόρων φυλετικών και εθνικών ομάδων, με ακραίο παράδειγμα την φυλή Ινδιάνων Choctaw στη Νοτιοανατολική Οκλαχόμα των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής (ΗΠΑ), όπου ο επιπολασμός του ΣΣκ για το διάστημα 1990-1994 ήταν παραδειγματικά υψηλός, αγγίζοντας τα 660 περιστατικά/1.000.000 πληθυσμού(2). Υψηλός επιπολασμός έχει επίσης περιγραφεί στις ΗΠΑ το 1990 (276 περιστατικά/1.000.000 πληθυσμού), στην Αυστραλία το 1992 (233/1.000.000 πληθυσμού)(3) και στο Quebec του Καναδά το 2003 (443/1.000.000) (4). Ο επιπολασμός του νοσήματος κατά τα τελευταία χρόνια εμφανίζει τάσεις αύξησης, πιθανώς λόγω της βελτίωσης στη διάγνωση. Χαρακτηριστικά σε μία Βρετανική μελέτη ο επιπολασμός του ΣΣκ αυξήθηκε από 173.1/1.000.000 πληθυσμού σε 253.8/1.000.000 πληθυσμού μέσα στο χρονικό διάστημα 2000-2012(5). Στην Ελλάδα, επιδημιολογικά δεδομένα έχουν δημοσιευθεί για την περιοχή της Ηπείρου και αφορούν στο διάστημα από 1/1/1981 μέχρι 31/12/2002, αναφέρουν δε επίπτωση 11 νέα περιστατικά/ 1.000.000 πληθυσμού κατ'έτος και επιπολασμό 154 περιπτώσεις/1.000.000 πληθυσμού(6). Οι γυναίκες προσβάλλονται συχνότερα από τους άνδρες σε αναλογία 6-8:1(7). Οι άνδρες όμως εμφανίζουν συχνότερα διάχυτη δερματική προσβολή, διάμεση πνευμονική ίνωση και βαρύτερες εκδηλώσεις αγγειοπάθειας(8) σε σχέση με τις γυναίκες, γεγονός που συνεπάγεται αυξημένη θνητότητα των ανδρών(7). Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν πρόσφατα σε μια μελέτη 1027 ασθενών με ΣΣκ από την κοορτή της ομάδας της EULAR για τις κλινικές μελέτες και την έρευνα στο συστηματικό σκληρόδερμα [EULAR Scleroderma Trial and Research Group (EUSTAR)], όπου σε πρώιμα στάδια οι άνδρες είχαν συχνότερα ενεργό νόσο, διάχυτη δερματική προσβολή, θετικά αντισώματα κατά Τοποϊσομεράσης-I (anti-TOPO-1/anti-Scl70), αυξημένους δείκτες φλεγμονής, καθώς και μυϊκή και πνευμονική συμμετοχή(9).

### 1.2.2 Κλινική Εικόνα

#### *α. ταξινόμηση*

Ανάλογα με την έκταση της δερματικής προσβολής διακρίνουμε δύο υπότυπους ΣΣκ, τον διάχυτο (dcSSc) και τον περιορισμένο (lcSSc). Στο διάχυτο υπότυπο η σκλήρυνση του δέρματος εκτείνεται σε ολόκληρο το σώμα, ενώ στον περιορισμένο η προσβολή του δέρματος περιορίζεται στις περιοχές περιφερικά των αγκώνων και των γονάτων, καθώς και στον τράχηλο και το πρόσωπο(10). Σε περιπτώσεις που παρατηρείται η χαρακτηριστική για το ΣΣκ προσβολή των εσωτερικών οργάνων, σε συνδυασμό με αγγειοπάθεια και τα τυπικά της νόσου αυτοαντισώματα, χωρίς όμως προσβολή του δέρματος, χρησιμοποιείται ο όρος scleroderma sine scleroderma. Ο διάχυτος και ο περιορισμένος υπότυπος νόσου εμφανίζουν διακριτές κλινικοεργαστηριακές συσχετίσεις και διαφέρουν ως προς τη βαρύτητα και την πρόγνυσή τους(11). Συγκεκριμένα, ο διάχυτος υπότυπος νόσου χαρακτηρίζεται από ταχεία, πρόωμη εξέλιξη της προσβολής του δέρματος και των εσωτερικών οργάνων και συσχετίζεται πιο συχνά με την παρουσία anti-TOPO-1/anti-Scl70 αυτοαντισωμάτων, καθώς και με προσβολή μυών, τενόντων, αρθρώσεων, νεφρού και γαστρεντερικού(11). Αντίθετα, ο περιορισμένος υπότυπος χαρακτηρίζεται, κατά το πλείστον, από αντισώματα κατά κεντρομεριδίου (ACA), έχει βραδύτερη εξέλιξη, αφού συχνά μεσολαβεί μεγάλο χρονικό διάστημα από την εμφάνιση του RP μέχρι την έναρξη των λοιπών κλινικών εκδηλώσεων και την τελική διάγνωση της νόσου και εμφανίζει όψιμη αύξηση της θνητότητας λόγω πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης(1). Θα πρέπει ωστόσο να τονισθεί ότι η διάκριση του νοσήματος σε διάχυτο και περιορισμένο υπότυπο σε καμία περίπτωση δε δημιουργεί στεγανά. Μια πρόσφατη ενδιαφέρουσα μελέτη από τον Καναδά που επικεντρώθηκε σε 551 ασθενείς με ΣΣκ έδειξε ότι στο 9.4% των περιπτώσεων, ασθενείς με περιορισμένο πρότυπο δερματικής προσβολής είχαν θετικά anti-Scl-70 αντισώματα, ενώ σε ποσοστό 16.5% ασθενείς με διάχυτη νόσο είχαν θετικά ACA αντισώματα. Φάνηκε μάλιστα ότι τα συμπτώματα από το γαστρεντερικό, η διάμεση πνευμονική ίνωση, η πνευμονική αρτηριακή υπέρταση και η νεφρική κρίση του σκληροδέρματος εξηρτώντο σε μεγαλύτερο βαθμό από το ορολογικό προφίλ του ασθενούς, παρά από την έκταση της δερματικής προσβολής. Αντίστροφα, οι ασβεστώσεις, η αρθρική προσβολή και οι εκδηλώσεις περιφερικής αγγειοπάθειας συσχετιζόνταν μάλλον με την έκταση της προσβολής του δέρματος, παρά με τα αυτοαντισώματα. Η επιβίωση των ασθενών φάνηκε να επηρεάζεται και από τις δύο αυτές παραμέτρους και ήταν χειρότερη στην ομάδα των ασθενών με διάχυτη νόσο και θετικά anti-Scl-70 αντισώματα, σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες ομάδες(12).

### *β. Γενικά συμπτώματα*

Ως συχνά γενικά συμπτώματα σε ασθενείς με ΣΣκ αναφέρονται η καταβολή, η κακουχία, οι αρθραλγίες και οι μυαλγίες, ο κνησμός, οι διαταραχές ύπνου, η απώλεια βάρους και η κατάθλιψη(13–15). Μεταξύ αυτών, ο πόνος, η καταβολή και η κακουχία φαίνεται ότι έχουν καθοριστική επίδραση στις καθημερινές δραστηριότητες των ασθενών και στην ποιότητα της ζωής τους(16). Σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις στη ζωή των ασθενών αναφέρεται ότι έχουν ακόμη η κατάθλιψη, η χαμηλή αυτοεκτίμηση, ο προβληματισμός σχετικά με την εξωτερική εμφάνιση και η αβεβαιότητα για την έκβαση της νόσου(16). Η επιβάρυνση που προκαλεί το ΣΣκ στην ποιότητα ζωής των ασθενών φαίνεται ότι είναι ανάλογη με την επιβάρυνση που προκαλεί η ρευματοειδής αρθρίτιδα. Εβδομήντα έξι διαδοχικοί ασθενείς με ΣΣκ συγκρίθηκαν ως προς τις επιπτώσεις της νόσου στην ποιότητα ζωής τους με 118 διαδοχικούς ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα, χρησιμοποιώντας το ερωτηματολόγιο Short Form 36 (SF-36). Σε σχέση με τους ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα οι ασθενείς με ΣΣκ έτειναν να εμφανίζουν ηπιότερο σωματικό πόνο και οριακά μικρότερη αναπηρία, είχαν όμως εντονότερα καταθλιπτικά συμπτώματα(17). Οι ασθενείς με dcSSc είχαν τη μεγαλύτερη επιβάρυνση στο ερωτηματολόγιο αξιολόγησης της υγείας [Health Assessment Questionnaire-Disability Index (HAQ-DI)](17) και δη στους τομείς που αφορούσαν στην ικανότητα λαβής, στο τέντωμα για να φθάσεις αντικείμενα και στις καθημερινές δραστηριότητες(18). Σε ασθενείς με πρώιμο dcSSc η επιδείνωση του HAQ-DI score σε διάστημα 12 μηνών συσχετίστηκε με την επιδείνωση στη σκληρυνση του δέρματος, όπως αξιολογείται από το τροποποιημένο δερματικό score κατά Rodnan [modified Rodnan Skin Score (mRSS)], την επιδείνωση της λειτουργικότητας των χεριών και την αύξηση της καταβολής(18).

### *γ. Κλινικά ευρήματα σχετιζόμενα με αγγειοπάθεια*

- Φαινόμενο Raynaud

Το RP χαρακτηρίζεται από υποτροπιάζοντα επεισόδια αγγειόσπασμου των αρτηριών, των αρτηριολίων και των αρτηριοφλεβωδών αναστομών των δακτύλων των χεριών και των ποδιών, ως απόκριση στο stress και στην έκθεση στο ψύχος. Στη διάρκεια ενός τυπικού επεισοδίου, που μπορεί να κρατήσει από λίγα λεπτά μέχρι και κάποιες ώρες, τα προσβαλλόμενα δάκτυλα γίνονται αρχικά λευκά, λόγω ισχαιμίας, στη συνέχεια κυανωτικά, στα πλαίσια της επακόλουθης αποξυγόνωσης και τέλος

ερυθρά, ως συνέπεια της επαναιμάτωσης, ενώ μπορεί να συνυπάρχει άλγος και αιμοδία(19). Το RP ενδέχεται να είναι ιδιοπαθές ή δευτεροπαθές, συνήθως προκαλούμενο στα πλαίσια κάποιου αυτοάνοσου νοσήματος(19). Στο ΣΣκ το RP αποτελεί συχνά την πρώτη εκδήλωση νόσου, σε ποσοστό ως και 90% των πασχόντων(20) και μπορεί να προηγείται της διάγνωσης του νοσήματος κατά πολλά έτη. Από την ανάλυση των δεδομένων 7655 ασθενών με ΣΣκ από τη βάση δεδομένων της ομάδας της EUSTAR προκύπτει ότι ιστορικό RP απαντάται σε περίπου 96% των περιπτώσεων ασθενών τόσο με διάχυτο όσο και με περιορισμένο υπότυπο νόσου(21). Ασθενείς με RP στα πλαίσια ΣΣκ εμφανίζουν δομικές βλάβες της μικροκυκλοφορίας, που μπορούν να γίνουν ορατές με την τριχοειδοσκόπηση, καθώς και μείωση της περιφερικής αιμάτωσης, που μπορεί να εκτιμηθεί με μεθόδους όπως η ροομετρία με laser Doppler (Laser Doppler Flowmetry), η απεικόνιση με laser Doppler (Laser Doppler Imaging), η απεικόνιση με Laser speckle contrast (Laser Speckle Contrast Imaging-LSCI), η θερμογραφία κ.α(22). Προοδευτικά στους ασθενείς αυτούς αναπτύσσονται λειτουργικά προβλήματα λόγω των διαταραχών της μικροκυκλοφορίας, που κορυφώνονται με την εμφάνιση ισχαιμίας των δακτύλων, δακτυλικών ελκών και γάγγραινας(23).

- έλκη δακτύλων

Παρότι τα έλκη δακτύλων αποτελούν μια συχνή επιπλοκή των ασθενών με ΣΣκ, μέχρι στιγμής δεν υπάρχει ένας κοινά αποδεκτός ορισμός τους. Πρόσφατα η Βρετανική ομάδα μελέτης του σκληροδέρματος όρισε τα έλκη δακτύλων ως αλλοιώσεις στα δάκτυλα ή περιφερικά των μετακάρπο-φαλλαγικών αρθρώσεων, με απώλεια της επιφανειακής επιθηλιοποίησης και με ορατό βάθος. Τα έλκη είναι συχνά υγρά με επιφανειακή κρούστα ή εσχάρα. Με τη χρήση αυτού του ορισμού η αξιοπιστία της αξιολόγησης από έναν μόνο βαθμολογητή ήταν υψηλή (kappa coefficient 0.71), ενώ αντίθετα η αξιοπιστία μεταξύ διαφορετικών βαθμολογητών ήταν πτωχή (kappa coefficient 0.15)(24).

Τα έλκη δακτύλων απαντώνται στους μισούς και πλέον ασθενείς με ΣΣκ και μπορεί να οδηγήσουν σε λοίμωξη (67%), γάγγραινα (16%) ή και ακρωτηριασμό (11.5%)(25). Τα δακτυλικά έλκη εμφανίζονται πιο συχνά στο δείκτη και στο μέσο. Στο 55% των περιπτώσεων αφορούν τις ρώγες των δακτύλων, οπότε θεωρούνται ισχαιμικής αιτιολογίας, ενώ στο 31% ανευρίσκονται στις εκτατικές επιφάνειες των



χειριών, συνήθως πάνω από οστικές προσεκβολές και τότε θεωρούνται αποτέλεσμα μικροτραυματισμών ή αυξημένης τάσης από τη σκλήρυνση του δέρματος(26). Τα έλκη δακτύλων είναι πιο συχνά στο διάχυτο υπότυπο νόσου (75% στη διάχυτη έναντι 29% στην περιορισμένη νόσο), ανευρίσκονται σημαντικά συχνότερα στα δάκτυλα των χειριών παρά των ποδιών και ο μέσος χρόνος μέχρι την επούλωσή τους φθάνει τους  $3.39 \pm 2.39$  μήνες(27). Η παρουσία τους έχει συσχετισθεί με μικρότερη ηλικία έναρξης νόσου, άρρεν φύλο, dcSSc, ασβεστώσεις, τηλεαγγεικτασίες, μελανοδερμία, αυξημένες τιμές πίεσης στην πνευμονική αρτηρία και αυξημένη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)(25). Η εμφάνιση νέων δακτυλικών ελκών σε ασθενείς με ΣΣκ έχει συνδεθεί επίσης με υψηλότερα επίπεδα ενδοστατίνης στον ορό(28) καθώς και με έλλειψη βιταμίνης D3(29). Επιπλέον, και τα χαμηλά επίπεδα αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) στον ορό έχουν συνδεθεί με μελλοντική εμφάνιση δακτυλικών ελκών μέσα στην επόμενη τριετία(30).

Το μητρώο καταγραφής της έκβασης των δακτυλικών ελκών στο ΣΣκ (DUO Registry- Digital Ulcers Outcome Registry) κατέδειξε ότι η παρουσία μεγαλύτερου αριθμού δακτυλικών ελκών συνεπάγεται μεγαλύτερη επιβάρυνση στην εργασία, μικρότερη ικανότητα πραγματοποίησης καθημερινών δραστηριοτήτων και μεγαλύτερη εξάρτηση από τη βοήθεια άλλων προσώπων(31). Μακροχρόνια δεδομένα καταγραφής από το DUO Registry επέτρεψαν την ταξινόμηση των αρρώστων σε 4 κατηγορίες, ως ακολούθως: από τους 1459 ασθενείς που συμπεριελήφθησαν στο διάστημα από 1 Απριλίου 2008 μέχρι 19 Νοεμβρίου 2013, 33.2% δεν είχαν δακτυλικά έλκη; 9.4% εμφάνιζαν μεμονωμένα επεισόδια εκδήλωσης ελκών, 46.2% είχαν υποτροπιάζοντα έλκη, ενώ 11.2% είχαν χρόνια έλκη δακτύλων. Η τελευταία αυτή κατηγορία είχε τις περισσότερες επιπλοκές, τα μεγαλύτερα προβλήματα στο χώρο εργασίας και τη μεγαλύτερη ανάγκη συνδρομής από τρίτα πρόσωπα(32). Στοιχεία από το ισπανικό αρχείο καταγραφής ασθενών με σκληρόδερμα (RESCLE) καταδεικνύουν ότι τα έλκη δακτύλων όχι μόνο συσχετίζονται με επιβάρυνση της ποιότητας ζωής και της λειτουργικότητας των χειριών των πασχόντων, αλλά ταυτόχρονα αποτελούν δείκτη προσβολής εσωτερικών οργάνων, όπως ο πνεύμονας και συνεπάγονται χειρότερη επιβίωση, τουλάχιστον στην ομάδα των ασθενών με περιορισμένη νόσο και σε ασθενείς με scleroderma sine scleroderma(33). Δεδομένα από 3196 ασθενείς καταχωρημένους στη βάση δεδομένων της EUSTAR έδειξαν ότι το ιστορικό δακτυλικών ελκών κατά την αρχική εκτίμηση αποτελεί παράγοντα

κινδύνου για επανεμφάνιση ελκών στις προσεχείς επισκέψεις, για αυξημένη συστολική πίεση της πνευμονικής αρτηρίας στο υπερηχογράφημα καρδιάς, για οποιοδήποτε καρδιαγγειακό σύμβαμα (νέα έλκη δακτύλων, αυξημένη συστολική πίεση πνευμονικής αρτηρίας στο υπερηχογράφημα καρδιάς ή ανεπάρκεια της αριστεράς κοιλίας) και για θάνατο(34). Ακόμη και σε ασθενείς με πολύ πρόωμη διάγνωση συστηματικού σκληροδέρματος (VEDOSS) διαπιστώθηκε ότι τα έλκη δακτύλων είναι ήδη παρόντα σε ποσοστό περίπου 23% και συσχετίζονται με προσβολή εσωτερικών οργάνων και κυρίως του γαστρεντερικού(35). Στα ίδια συμπεράσματα κατέληξε και μία πρόσφατη μετά-ανάλυση 10 μελετών, από την οποία φάνηκε ότι τα δακτυλικά έλκη συνδέονται με προσβολή εσωτερικών οργάνων και με αυξημένη θνητότητα(36).

- πνευμονική αρτηριακή υπέρταση

Η πνευμονική αρτηριακή υπέρταση (ΠΑΥ) ορίζεται από την παρουσία μέσης πίεσης στην πνευμονική αρτηρία (mPAP)  $\geq 25$  mmHg, με πίεση ενσφήνωσης πνευμονικών τριχοειδών (PCWP)  $\leq 15$  mmHg και πνευμονικές αγγειακές αντιστάσεις (PVR) $>3$  Wood Units, απουσία σημαντικής πνευμονικής νόσου ή χρόνιας θρομβοεμβολικής νόσου(37). Παθοφυσιολογικά, η ανάπτυξη ΠΑΥ συνδέεται με αύξηση των πνευμονικών αντιστάσεων λόγω υπερπλασίας και σύσπασης των λείων μυϊκών ινών των πνευμονικών αρτηριολίων [ομάδα 1 κατά την ταξινόμηση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO)]. Η διάγνωση επιτυγχάνεται μόνο με δεξιό καρδιακό καθετηριασμό, που επιτρέπει επίσης την εκτίμηση του βαθμού δυσλειτουργίας της δεξιάς κοιλίας. Άλλες μορφές πνευμονικής υπέρτασης μπορεί επίσης να αναπτυχθούν σε ασθενείς με ΣΣκ, όπως π.χ. πνευμονική υπέρταση λόγω αριστεράς καρδιακής νόσου (ομάδα 2 κατά WHO) ή λόγω υποξίας και εκτεταμένης διάμεσης πνευμονικής ίνωσης (ομάδα 3 κατά WHO). Η διάκριση μεταξύ των υποκείμενων παθοφυσιολογικών μηχανισμών πρόκλησης της νόσου μπορεί σε μερικές περιπτώσεις να είναι δυσχερής, έχει όμως ιδιαίτερη κλινική σημασία, καθώς επηρεάζει τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων(38).

Η ΠΑΥ αποτελεί μια αρκετά συχνή επιπλοκή του ΣΣκ. Δεδομένα από μια γαλλική κοορτή με προοπτική παρακολούθηση έδειξαν επιπολασμό της τάξης του 7.85%(39) και επίπτωση 0.61 περιστατικά ανά 100 ασθενείς-έτη(40). Μία άλλη πρόσφατη μελέτη υπολόγισε τον επιπολασμό της πνευμονικής υπέρτασης στο ΣΣκ σε

11.6%(41), με ποσοστό 2.9% να αφορά σε ΠΑΥ, 4.3% να συσχετίζεται με διάμεση πνευμονική ίνωση, 1.5% να συσχετίζεται με νόσο της αριστεράς κοιλίας και 2.9% να αφορά σε πνευμονική υπέρταση αγνώστου αιτιολογίας(41). Τέλος, σε μια προοπτική μελέτη 96 ασθενών με ΣΣκ και διαχυτική ικανότητα πνευμόνων (DLCO) <60% του προβλεπομένου, διαπιστώθηκε ότι από τους 71 ασθενείς που επανεκτιμήθηκαν με δεξιό καρδιακό καθετηριασμό μετά από ένα διάμεσο χρονικό διάστημα 3 ετών το 25.3% είχε αναπτύξει πνευμονική υπέρταση (ετήσια επίπτωση 6.1%) και το 7% είχε αναπτύξει ΠΑΥ(42). Οι ασθενείς με lcSSc πιστεύεται ότι βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης ΠΑΥ(43). Δεδομένου όμως ότι σε πολλές περιπτώσεις η διάγνωση της ΠΑΥ δεν επιβεβαιώνεται με καρδιακό καθετηριασμό, ενδέχεται αυτή η υπερδιάγνωση σε ασθενείς με περιορισμένο υπότυπο νόσου να οφείλεται σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα ή σε λανθασμένη διάγνωση πνευμονικής υπέρτασης άλλης αιτιολογίας. Μία ενδιαφέρουσα μελέτη των Nihtyanova et al. έδειξε ότι η επίπτωση της επιβεβαιωμένης με καρδιακό καθετηριασμό ΠΑΥ ήταν η ίδια μεταξύ ασθενών με διάχυτο και περιορισμένο υπότυπο νόσου, μέσα στα πρώτα 5 χρόνια από την εκδήλωση του ΣΣκ(44).

Παρά τη σημαντική βελτίωση των διαθέσιμων θεραπειών, η θνητότητα και η νοσηρότητα που συνοδεύει τη σχετιζόμενη με το ΣΣκ ΠΑΥ παραμένει πολύ υψηλή. Μακροχρόνια δεδομένα παρακολούθησης από το προοπτικό μητρώο καταγραφής ασθενών με ΣΣκ και ΠΑΥ [Pulmonary Hypertension Assessment and Recognition of Outcomes in Scleroderma (PHAROS)] έδειξαν ότι σε 160 ασθενείς με πρόσφατης έναρξης ΠΑΥ η επιβίωση στο 1, στα 3, στα 5 και στα 8 έτη παρακολούθησης ήταν 95%, 75%, 63% και 49%, αντιστοίχως(45). Το 52% των θανάτων σε αυτή την ομάδα ασθενών οφείλοντο στην ΠΑΥ, ενώ το 93% από αυτούς τους θανάτους έλαβε χώρα μέσα στην πρώτη τετραετία από τη διάγνωση. Ως παράγοντες κινδύνου για υψηλότερη θνητότητα από ΠΑΥ σχετιζόμενη με το ΣΣκ σε αυτή τη μελέτη, ανεδείχθησαν το άρρεν φύλο, ο διάχυτος υπότυπος νόσου, η αυξημένη συστολική πίεση της πνευμονικής αρτηρίας στο καρδιακό υπερηχογράφημα, η μέση πίεση της πνευμονικής αρτηρίας στον καρδιακό καθετηριασμό, η μειωμένη DLCO και η μειωμένη απόσταση βάρδισης σε 6 λεπτά (6mWD)(45). Αντίστοιχα, στοιχεία από το ίδιο μητρώο καταγραφής για 236 ασθενείς με ΣΣκ χωρίς τεκμηριωμένη διάγνωση αλλά με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης πνευμονικής υπέρτασης έδειξαν ότι παράγοντες κινδύνου για υψηλότερη θνητότητα μετά από 4 έτη παρακολούθησης ήταν το άρρεν

φύλο, η χαμηλή DLCO, ο αποκορεσμός στην άσκηση, η αναιμία, τα μη φυσιολογικά score δύσπνοιας και η περικαρδιακή συλλογή κατά την αρχική αξιολόγηση(46).

Η πρόγνωση των ασθενών με ΠΑΥ σχετιζόμενη με ΣΣκ είναι γενικά βαρύτερη από την πρόγνωση της ιδιοπαθούς ΠΑΥ(47). Από 57 ασθενείς με ΣΣκ και ΠΑΥ που παρακολούθηθηκαν προοπτικά για μέχρι και 3 χρόνια, το 44% επιδεινώθηκε (επιδείνωση λειτουργικού σταδίου κατά WHO, ανάγκη για συνδυαστική θεραπεία, νοσηλεία ή θάνατος). Παράγοντες κινδύνου για επιδείνωση σε αυτούς τους ασθενείς ήταν το άρρεν φύλο, οι υψηλές τιμές του λόγου δυναμικής ζωτικής χωρητικότητας (FVC) προς DLCO, οι υψηλές τιμές του δείκτη δύσπνοιας κατά Borg και η χαμηλή DLCO(48).

Η πρόωμη αναγνώριση της ΠΑΥ σε ασθενείς με ΣΣκ ενδεχομένως επιτρέπει μια πρωιμότερη θεραπευτική παρέμβαση που φαίνεται ότι καταλήγει σε καλύτερη επιβίωση σε σχέση με ασθενείς που διαγνώστηκαν όψιμα επί τη βάση των κλινικών τους συμπτωμάτων(49). Η ανάγκη για πρόωμη διάγνωση της ΠΑΥ στο ΣΣκ έχει οδηγήσει στην αναζήτηση πιθανών βιοδεικτών που θα διευκολύνουν την αναγνώριση ασθενών με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης αυτής της σοβαρής επιπλοκής. Σε αυτά τα πλαίσια έχουν προταθεί αρκετοί διαφορετικοί βιοδείκτες. Πολλά υποσχόμενη μεταξύ αυτών είναι η κυτταροκίνη CCL21, τα επίπεδα της οποίας βρέθηκαν αυξημένα σε ασθενείς με ΣΣκ σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Το CCL21 φάνηκε να αυξάνεται αρκετό χρονικό διάστημα πριν τη διάγνωση της ΠΑΥ και να έχει προγνωστική αξία, τόσο για την αναγνώριση της ΠΑΥ, όσο και για αυξημένη θνητότητα(50). Άλλα πρωτεϊνικά μόρια που έχουν προταθεί ως πιθανοί βιοδείκτες για τη διάγνωση της ΠΑΥ στο ΣΣκ συμπεριλαμβάνουν το N-αμινοτελικό άκρο της προορμόνης του Εγκεφαλικού Νατριουρητικού Πεπτιδίου (NT-proBNP), την ενδογλίνη, το διαλυτό VEGF, τον πλακουντιακό αυξητικό παράγοντα, τον παράγοντα αύξησης και διαφοροποίησης 15, το μόριο β προσομοιάζον στη ρεζιστίνη, τη διαλυτή θρομβομοδοουλίνη κα(51).

Ταυτόχρονα, έχουν προταθεί κάποιοι αλγόριθμοι για την πρόωμη διάγνωση της πνευμονικής υπέρτασης σε ασθενείς με ΣΣκ. Το 2014 μια πολυκεντρική μελέτη που διενεργήθηκε σε 62 κέντρα της Ευρώπης, της Ασίας και της Βορείου Αμερικής και συμπεριέλαβε 466 ασθενείς με ΣΣκ, με διάρκεια νόσου άνω της τριετίας και DLCO<60% του προβλεπομένου, επέτρεψε τη διαμόρφωση του διαγνωστικού

αλγορίθμου DETECT(52). Ο αλγόριθμός αυτός έχει δύο στάδια. Στο μεν πρώτο διακρίνει την ανάγκη παραπομπής του ασθενούς για υπερηχογράφημα καρδιάς βάσει του λόγου FVC/DLCO, της παρουσίας τηλεαγγειεκτασιών οποιαδήποτε στιγμή στην πορεία της νόσου, της παρουσίας θετικών ACA αντισωμάτων, των επιπέδων NT-pro BNP και ουρικού οξέος στον ορό και της παρουσίας δεξιού άξονα στο ηλεκτροκαρδιογράφημα. Στο δεύτερο στάδιο του αλγορίθμου κρίνεται αν όσοι ασθενείς παραπέμφθηκαν αρχικά για υπερηχογράφημα καρδιάς πρέπει να οδηγηθούν περαιτέρω σε δεξιό καρδιακό καθετηριασμό, βάσει του score που συγκέντρωσαν στο στάδιο 1, της επιφάνειας του δεξιού κόλπου και της ταχύτητας παλίνδρομης ροής στην τριγλώχινα (TR velocity) στο υπερηχοκαρδιογράφημα. Με τη χρήση αυτού του αλγορίθμου 62% των ασθενών παραπέμφθηκαν για δεξιό καρδιακό καθετηριασμό, ενώ μόνο σε 4% των περιπτώσεων χάθηκε η διάγνωση της ΠΑΥ (ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα)(52). Ο αλγόριθμος της DETECT έχει μεγαλύτερη ευαισθησία στην αναγνώριση ασθενών με ΠΑΥ σε σχέση με τη χρήση μόνο του καρδιακού υπερηχογραφήματος. Όμως η αξία του σε έναν μη επιλεγμένο βάσει της DLCO (<60%) πληθυσμό ασθενών με ΣΣκ μένει να αποδειχθεί(37). Μία πρόσφατη αναδρομική μελέτη από την Ισπανία που συμπεριέλαβε 83 ασθενείς με ΣΣκ μετά από δεξιό καρδιακό καθετηριασμό έδειξε ότι ο αλγόριθμος της DETECT είχε ευαισθησία 100%, ειδικότητα 42.9%, θετική προγνωστική αξία 68.6% και αρνητική προγνωστική αξία 100% για τη διάγνωση ασθενών με ΠΑΥ, ενώ η χρήση της κλασικής προσέγγισης, που προτείνουν στις κατευθυντήριες οδηγίες τους η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Καρδιολογίας και η Ευρωπαϊκή Πνευμονολογική Εταιρεία [European Society of Cardiology (ESC)/European Respiratory Society (ERS)] έδιναν αντίστοιχα ευαισθησία 91.4%, ειδικότητα 85.7%, θετική προγνωστική αξία 88.9% και αρνητική προγνωστική αξία 89.3%(53). Παρά την υψηλή ευαισθησία και αρνητική προγνωστική αξία του αλγορίθμου της DETECT δεν πρέπει να παραβλέπει κανείς ότι η χρήση του σχεδόν τριπλασιάζει τις παραπομπές ασθενών για καρδιακό καθετηριασμό σε σχέση με την αξιολόγηση των περιστατικών από μία ομάδα εμπειρογνομόνων από πολλές ειδικότητες(54). Άλλες δύο μελέτες προσπάθησαν να επικυρώσουν τα ευρήματα της DETECT σε έναν μη επιλεγμένο πληθυσμό ασθενών με ΣΣκ. Και στις δύο περιπτώσεις η εφαρμογή του αλγορίθμου της DETECT οδήγησε στην παραπομπή περισσότερων ασθενών για καθετηριασμό, σε σχέση με όσους θα παραπέμπονταν με τη χρήση της κλασικής προσέγγισης της ESC/ERS. Στην πρώτη περίπτωση η χρήση του αλγορίθμου της DETECT φάνηκε να είναι ισοδύναμη

με τις κατευθυντήριες οδηγίες της ESC/ERS, αφού δεν επέτρεψε τη διάγνωση περισσότερων περιστατικών με πνευμονική αρτηριακή υπέρταση(55). Στη δεύτερη περίπτωση, όμως, 6 περιστατικά που αρχικά δεν πληρούσαν κριτήρια για παραπομπή σε καθετηριασμό με βάση την κλασσική προσέγγιση, ανέπτυξαν πνευμονική αρτηριακή υπέρταση μετά από 2 χρόνια παρακολούθησης. Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις ο αλγόριθμος της DETECT είχε δώσει θετικό αποτέλεσμα ως προς την ανάγκη καθετηριασμού, τουλάχιστον 1 έτος πριν την τελική διάγνωση των ασθενών(56). Σε μια πρόσφατη μελέτη των Coghlan και συνεργατών, 71 ασθενείς με ΣΣκ και mPAP<25mmHg στον αρχικό καθετηριασμό, κατά κύριο λόγο προερχόμενοι από την αρχική κοορτή της DETECT, επανεκτιμήθηκαν προοπτικά μετά από 3 χρόνια. Ο επαναληπτικός καθετηριασμός έδειξε ότι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες ανάπτυξης πνευμονικής υπέρτασης στην επανεκτίμηση ήταν η μέση πίεση στην πνευμονική αρτηρία μεταξύ 21-24 mmHg, οι αυξημένες πνευμονικές αγγειακές αντιστάσεις, η μειωμένη DLCO και το μέγεθος της κάτω κοίλης φλέβας κατά την αρχική εκτίμηση(42).

Τα τελευταία χρόνια κερδίζει έδαφος η πρόωμη διάγνωση της ΠΑΥ σε ασθενείς με ΣΣκ μέσω της αναζήτησης αιμοδυναμικών διαταραχών κατά την άσκηση. Η πνευμονική υπέρταση κατά την άσκηση είχε οριστεί ως τιμή mPAP>30mmHg στην άσκηση. Το 2009 όμως ο ορισμός αυτός αφαιρέθηκε από τις κατευθυντήριες οδηγίες για τη διάγνωση της πνευμονικής υπέρτασης γιατί υπήρξαν ενδοιασμοί ως προς το ανώτερο όριο του φυσιολογικού, ενώ και το πρωτόκολλο της άσκησης δεν ήταν προτυπωμένο. Παρότι μέχρι σήμερα δεν υπάρχει συμφωνία ως προς τον ορισμό, θεωρείται ότι μία τιμή mPAP>30mmHg σε συνδυασμό με ολικές πνευμονικές αντιστάσεις >3WU στη μέγιστη άσκηση, είναι ενδεικτική πνευμονικής υπέρτασης κατά την άσκηση(57). Υπάρχουν μάλιστα ενδείξεις ότι η παρουσία πνευμονικής υπέρτασης κατά την άσκηση σε ασθενείς με ΣΣκ επηρεάζει την επιβίωση όσο και η παρουσία ΠΑΥ(58).

- νεφρική κρίση σκληροδέρματος

Η νεφρική κρίση είναι μια σπάνια, αλλά δυνητικά απειλητική για τη ζωή επιπλοκή του ΣΣκ, που χαρακτηρίζεται από αρτηριακή υπέρταση πρόσφατης έναρξης και οξεία, ταχέως εξελισσόμενη, ολιγουρική νεφρική ανεπάρκεια. Η τυπική εικόνα του ασθενούς με νεφρική κρίση εκτείνεται από γενικά συμπτώματα κακουχίας και

κόπωσης μέχρι έντονη κεφαλαλγία, θάμβος όρασης ή άλλα συμπτώματα υπερτασικής αμφιβληστροειδοπάθειας και εγκεφαλοπάθειας. Μπορεί επίσης να συνυπάρχουν σπασμοί, μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία, ή εικόνα συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας, κοιλιακές αρρυθμίες ή μεγάλη περικαρδιακή συλλογή(59). Η διάγνωση της νεφρικής κρίσης μπορεί να μην είναι πάντα εύκολη, καθώς σε ποσοστό μέχρι και 10% των πασχοντων ενδέχεται να μην παρατηρείται αύξηση της αρτηριακής πίεσης πάνω από τα φυσιολογικά όρια. Η νορμοτασική νεφρική κρίση συνδέεται με προηγούμενη χρήση αναστολέων μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (AMEA), προηγούμενη χρήση αναστολέων διαύλων ασβεστίου ή μυοκαρδιακή προσβολή από το ΣΣκ(60). Κριτήρια ταξινόμησης για τη νεφρική κρίση του ΣΣκ προτάθηκαν αρχικά το 2003(61) και αναθεωρήθηκαν το 2014 από τους ερευνητές της διεθνούς μελέτης για τη νεφρική κρίση στο σκληρόδερμα(62). Έχει, ωστόσο, ενδιαφέρον ότι μία πρόσφατη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας εντόπισε 40 διαφορετικούς ορισμούς της νεφρικής κρίσης του ΣΣκ σε 47 διαφορετικές δημοσιεύσεις, καταδεικνύοντας έτσι την ανάγκη παγίωσης ενός κοινά αποδεκτού ορισμού για αυτή τη σοβαρή επιπλοκή της νόσου(63).

Παθογενετικά η νεφρική κρίση έχει αποδοθεί σε βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων με συνακόλουθη υπερπλασία του έσω χιτώνα, εναπόθεση ινικής και στένωση των νεφρικών αρτηριολίων. Οι δομικές βλάβες των αγγείων και ο αγγειοσπασμος στα νεφρικά αγγεία οδηγούν σε μειωμένη ροή αίματος, υπερπλασία της παρασπειραματικής συσκευής, ενεργοποίηση του άξονα αγγειοτενσίνης-ρενίνης-αλδοστερόνης και τελικά υπερρενιναιμία και επιταχυνόμενη αρτηριακή υπέρταση(64). Από ιστολογικής απόψεως, βλάβη παρατηρείται στις μικρές μεσολοβίδιες και τοξοειδείς αρτηρίες του νεφρού και προσομοιάζει στις αλλοιώσεις που παρατηρούνται στην κακοήγη υπέρταση και σε άλλες θρομβωτικές μικροαγγειοπάθειες. Χαρακτηριστική είναι η μυξωματώδης αλλοίωση του έσω χιτώνα, οι θρόμβοι, οι αλλοιώσεις δίκην φλοιού κρεμμυδιού και η ινιδοειδής νέκρωση των αρτηριολίων(65). Καθώς η νόσος προχωράει, η νεφρική ισχαιμία οδηγεί σε σπειραματοσκλήρυνση και διαμεσοσωληναριακή ίνωση(66).

Νεφρική κρίση εμφανίζεται σε περίπου 10% των ασθενών με dcSSc και 2% των ασθενών με lcSSc(60,67). Στην κοορτή της EUSTAR αναφέρεται χαμηλότερος επιπολασμός της τάξης του 5% για το dcSSc και 2% για το lcSSc(68). Η επίπτωση

της νεφρικής κρίσης έχει μειωθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες, πιθανώς λόγω αύξησης της χρήσης αγγειοδιασταλτικών φαρμάκων. Νεφρική κρίση παρατηρείται συνήθως πρώιμα στην πορεία της νόσου, ενώ σε 20-25% των περιπτώσεων μπορεί να αποτελεί το πρώτο σύμπτωμα του ΣΣκ(69).

Παράγοντες κινδύνου για μελλοντική ανάπτυξη νεφρικής κρίσης είναι η παρουσία πρωτεϊνουρίας, αναιμίας, αρτηριακής υπέρτασης, χρόνιας νεφρικής νόσου, αυξημένης ταχύτητας καθίζησης ερυθρών, θρομβοπενίας, υποθυρεοειδισμού, θετικών anti-Ro αντισωμάτων και αντισωμάτων κατά της RNA polymerase III κατά τη διάγνωση του ΣΣκ(70). Άλλοι γνωστοί παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση νεφρικής κρίσης του ΣΣκ περιλαμβάνουν την ταχεία σκλήρυνση του δέρματος, τη χρήση συγκεκριμένων φαρμάκων όπως τα κορτικοειδή (σε δόση >15mg/ημέρα) ή η κυκλοσπορίνη, τη μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία, τις καρδιακές επιπλοκές όπως η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, η περικαρδιακή συλλογή ή οι αρρυθμίες, τις συγκάμψεις των μεγάλων αρθρώσεων και τον ήχο τριβής των τενόντων (62), καθώς και τα θετικά αντισώματα κατά RNA polymerase I και II(71). Ως προς το προφίλ αντισωμάτων των ασθενών με νεφρική κρίση ΣΣκ συχνότερα απαντώνται τα αντισώματα έναντι RNA polymerase III (52%), και ακολουθούν σε μικρότερο ποσοστό τα anti-TOPO-1 (11%) και τα anti-RNP (4%)(72). Μάλιστα, τα αντισώματα έναντι RNA polymerase III συσχετίζονται με μικρότερο χρονικό διάστημα από την έναρξη της νόσου μέχρι την εκδήλωση της νεφρικής κρίσης(72).

Με την εισαγωγή των AMEA στη θεραπεία της νεφρικής κρίσης του ΣΣκ το 1970 η επιβίωση των ασθενών βελτιώθηκε δραματικά, με τη θνητότητα στους 12 μήνες να μειώνεται από 76% σε λιγότερο από 10%(64). Πιο πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η επιβίωση των ασθενών με νεφρική κρίση σκληροδέρματος κυμαίνεται από 70-82% στο έτος, 67-74% στη διετία, 50-60% στην πενταετία και 40-47% στη δεκαετία (59,73-75). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι AMEA δεν έχουν ένδειξη ως προφυλακτική θεραπεία για τη νεφρική κρίση του ΣΣκ, καθώς πρόσφατα δεδομένα έδειξαν ότι οι ασθενείς με ΣΣκ που εκδηλώνουν νεφρική κρίση ενώ ήδη λαμβάνουν αγωγή με AMEA έχουν χειρότερη πρόγνωση και υψηλότερο κίνδυνο θανάτου στο ένα έτος(62). Μεταξύ των ασθενών με νεφρική κρίση ΣΣκ, ένα ποσοστό 40-62.5% καταλήγει σε νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου και απαιτεί αιμοκάθαρση σε χρόνια βάση, ενώ ένα μικρότερο ποσοστό 12-23% χρειάζεται αρχικά υποστήριξη με



τεχνητό νεφρό, καταφέρνει όμως στη συνέχεια να ανακτήσει επαρκή νεφρική λειτουργία ώστε να διακόψει την αιμοκάθαρση(59,73–76). Ως παράγοντες κινδύνου για μικρότερη επιβίωση ελεύθερη αιμοκάθαρσης έχουν αναγνωρισθεί η ηλικία > 53 ετών και η φυσιολογική αρτηριακή πίεση κατά την εκδήλωση της νεφρικής κρίσης του ΣΣκ(76). Έχει ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι το ΣΣκ αποτελεί μεν παράγοντα κινδύνου για αυξημένη θνητότητα στον πληθυσμό των αιμοκαθαιρόμενων ασθενών, αποτελεί όμως ταυτόχρονα και ανεξάρτητο παράγοντα ανάκαμψης της νεφρικής λειτουργίας(60).

*δ. Κλινικά ευρήματα σχετιζόμενα με ίνωση*

- προσβολή δέρματος

Η προσβολή του δέρματος αποτελεί μία από τις πιο χαρακτηριστικές εκδηλώσεις του συστηματικού ΣΣκ, που γίνεται άμεσα αντιληπτή με την επισκόπηση και μόνο των ασθενών. Η ίνωση του δέρματος συνεπικουρεί τη διάγνωση, καθώς η μορφή της νόσου χωρίς δερματική προσβολή (scleroderma sine scleroderma) αφορά μόλις το 1.5% των περιπτώσεων(77). Επιπλέον, η έκταση της δερματικής προσβολής καθορίζει την ταξινόμηση των ασθενών σε περιορισμένο και διάχυτο υπότυπο νόσου, με διαφορετική πρόγνωση ο καθένας.

Η σκλήρυνση του δέρματος ξεκινά, κατά κανόνα, από τα δάκτυλα και τα χέρια των ασθενών. Συνήθως, η εμφάνιση οιδηματώδων δακτύλων προηγείται της σκληροδακτυλίας. Το πρόσωπο προσβάλλεται επίσης, με την ανάπτυξη ενός χαρακτηριστικού, ανέκφραστου προσωπείου, προκαλούμενου από τη λέπτυνση των χειλέων, την παρουσία τηλεαγγειεκτασιών, τη ραμφοειδή παραμόρφωση της μύτης και την εμφάνιση περιστοματικών ρυτιδώσεων του δέρματος, δίκην καπνοσακούλας(78). Σημαντικό πρόβλημα για τους ασθενείς αποτελεί η μικροστομία, που εκτός από αισθητικές έχει και λειτουργικές επιπτώσεις στην πρόσληψη τροφής και στη στοματική υγιεινή. Άλλες δερματικές εκδηλώσεις του σκληροδέρματος συμπεριλαμβάνουν τις ασβεστώσεις, την εναλλαγή περιοχών υποχρωμίας με περιοχές υπέρχρωσης του δέρματος (salt and pepper), την απώλεια τριχοθυλάκων και σμηγματογόνων αδένων, την ξηροδερμία, το αίσθημα κνησμού και τις συγκάμψεις των άκρων(78).

Από ιστολογικής απόψεως, στο δέρμα των ασθενών με ΣΣκ παρατηρείται ατροφία, υπέρχρωση και απώλεια των θηλών της επιδερμίδας, αύξηση των μελανοφάγων, παρουσία περιαγγειακών διηθήσεων από μονοπύρρηνα και μυοινοβλάστες, στένωση του αυλού των αρτηριολίων στο εν τω βάθει αγγειακό πλέγμα, εξάλειψη των εξαρτημάτων του δέρματος και ασβεστώσεις(79). Επιπλέον παρατηρείται εναπόθεση βλεννίνης και σχηματισμός ινώδους ιστού(79).

Σε μία ενδιαφέρουσα μελέτη 695 ασθενών από την κοορτή της EUSTAR που πραγματοποίησαν την αρχική τους επίσκεψη μέσα στο πρώτο έτος από την έναρξη του RP, διαπιστώθηκε ότι το mRSS έφτασε τη μέγιστη τιμή του (mRSS=15) 1 χρόνο μετά την έναρξη του RP. Επίσης 25% των ασθενών ανέπτυξε διάχυτη δερματική προσβολή μέσα στον πρώτο χρόνο από την έναρξη του RP ενώ το ποσοστό αυτό ανέβηκε στο 36% μέσα στα επόμενα 2 χρόνια. Από εκεί και μετά μόνο ένα επιπλέον 6% των ασθενών ανέπτυξε διάχυτη δερματική προσβολή(80). Σε 278 ασθενείς με πρώιμο dcSSc, στους οποίους το mRSS εκτιμήθηκε στην αρχή της μελέτης και μετά από δύο χρόνια, διαπιστώθηκε βελτίωση της ίνωσης του δέρματος στο 63% και στασιμότητα ή επιδείνωση στο 36% των περιπτώσεων. Η ομάδα των ασθενών που βελτίωσε το mRSS στη διετία είχε σημαντικά καλύτερη 5-ετή και 10-ετή επιβίωση από την ομάδα που έμεινε στάσιμη ή επιδεινώθηκε (90% vs 77% 5-ετής επιβίωση και 80% vs 60%, 10-ετής επιβίωση, αντιστοίχως)(81).

Η πλέον καταξιωμένη μέθοδος για την ποσοτικοποίηση της δερματικής προσβολής στο ΣΣκ είναι το mRSS(82). Για τον υπολογισμό αυτού του score εξετάζονται ψηλαφητικά 17 διαφορετικές περιοχές του σώματος των ασθενών και κάθε μία λαμβάνει μία τιμή από 0 έως 3, ανάλογα με την κρίση του εξεταστή για το βαθμό σκλήρυνσης του δέρματος (0: καμία προσβολή, 3: μέγιστη προσβολή) (Εικόνα 1.1). Ως κλινικά σημαντική θεωρείται η μεταβολή του mRSS από 3.5 ως 5 μονάδες(82). Έχει φανεί από μελέτες ότι το mRSS συσχετίζεται ικανοποιητικά με την πάχυνση του δέρματος στη βιοψία(83).

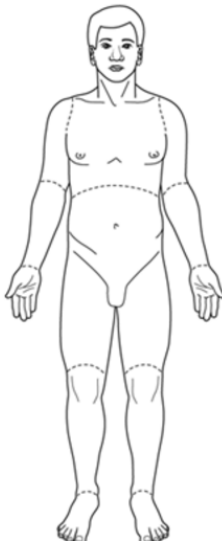
Μία άλλη τεχνική που έχει χρησιμοποιηθεί για την ποσοτικοποίηση της δερματικής προσβολής στο ΣΣκ είναι οι υπέρηχοι υψηλής συχνότητας, που φαίνεται ότι μπορούν να ανιχνεύσουν ακόμη και την υποκλινική δερματική βλάβη σε περιοχές του δέρματος ασθενών με περιορισμένη νόσο που φαίνονται μακροσκοπικά υγιείς(84).

Επιπλέον, έχει δειχθεί ότι οι υπέρηχοι υψηλής συχνότητας διαθέτουν επαρκή ευαισθησία για να ανιχνεύσουν μεταβολές της σκληρυνσης του δέρματος σε ασθενείς με πρώιμο ΣΣκ και ότι οι μεταβολές των υπερηχογραφικών μετρήσεων συσχετίζονται με τις μεταβολές του mRSS και της κινητικότητας των χεριών(85). Τέλος μία τεχνική χρήσιμη για τον ποσοτικό προσδιορισμό της προσβολής του δέρματος στο ΣΣκ, που πιθανώς είναι πιο ευαίσθητη από την εκτίμηση της ηχογένειας ή της πάχυνσης του δέρματος είναι η τεχνολογία Ωθησης της Δύναμης Ακουστικής Ακτινοβολίας [Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI)](86). Η τεχνική αυτή φαίνεται να δίνει αποτελέσματα που συσχετίζονται με το mRSS, αλλά ταυτόχρονα μπορεί να εντοπίσει και την υποκλινική βλάβη σε φαινομενικά υγιές δέρμα ασθενών(87).

Εικόνα 1.1 Φόρμα καταγραφής για τον υπολογισμό του τροποποιημένου score κατά Rodnan (mRSS), όπως μετράται σε 17 διαφορετικές περιοχές του σώματος των ασθενών με συστηματικό σκληρόδερμα.

Subject ID: \_\_\_\_\_

Date of Examination: \_\_\_\_\_

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

Examiner:

Printed Name: \_\_\_\_\_

Signature: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_

Μία εξαιρετικά δυσάρεστη για τους ασθενείς δερματική εκδήλωση του ΣΣκ είναι οι δερματικές ασβεστώσεις, δηλαδή η ανώμαλη εναπόθεση αδιάλυτου ασβεστίου στο δέρμα και τον υποδόριο ιστό, συνήθως πάνω από περιοχές άσκησης πίεσης. Συχνά οι ασβεστώσεις επιπλέκονται με την εμφάνιση δερματικών ελκών από τα οποία ρέει ασβεστώδες υλικό. Εκδηλώνονται συνήθως σε ασθενείς με μεγάλη διάρκεια νόσου, συχνά άνω της δεκαετίας και εμφανίζουν επιπολασμό 18-49%, ανάλογα με τα κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τη διάγνωσή τους(88). Παράγοντες που συσχετίζονται με την εμφάνιση δερματικών ασβεστώσεων είναι το άρρεν φύλο, τα δακτυλικά έλκη και βοθρία, η ακροοστεόλυση, οι τηλεαγγειεκτασίες, τα αντικεντρομεριδιακά αντισώματα και τα PM/Scl αντισώματα(88). Επίσης, οι ασβεστώσεις έχουν συσχετισθεί με καρδιακή νόσο, πνευμονική αρτηριακή υπέρταση, προσβολή γαστρεντερικού, αρθρίτιδα και οστεοπόρωση(89)(90). Η διάγνωση γίνεται κατ αρχήν κλινικά ή με απλή ακτινογραφία. Εναλλακτικά, το υπερηχογράφημα δε φαίνεται να υστερεί καθόλου στη διάγνωση των ασβεστώσεων σε σχέση με την απλή ακτινογραφία(91), ενώ η χρήση της τεχνικής power Doppler επιτρέπει την αναγνώριση φλεγμονής περίξ των εναποθέσεων ασβεστίου, που πιθανώς ανταποκρίνεται στη θεραπεία με αντιφλεγμονώδη(92). Ομοίως και η μαγνητική τομογραφία επιτρέπει τη διάγνωση και ακριβή εντόπιση των ασβεστώσεων, καθώς και την αναγνώριση του οιδήματος και της φλεγμονής των περιβαλλόντων ιστών(93). Από παθοφυσιολογικής σκοπιάς στην πρόκληση των ασβεστώσεων εμπλέκεται η ιστική υποξία, οι επαναλαμβανόμενοι μικροτραυματισμοί, η φλεγμονή και οι διαταραχές των πρωτεϊνών του στρώματος των οστών, όπως της οστεονεκτίνης και του γ-καρβοξυγλουταμικού οξέος(94). Μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι σε ασθενείς με ΣΣκ οι αντίχειρες και των δύο χεριών προσβάλλονται συχνότερα από τα υπόλοιπα δάκτυλα από ασβεστώσεις, ακολουθούμενοι από τους δείκτες. Οι συγγραφείς πιθανολογούν ότι αυτή η επιλεκτική εντόπιση των ασβεστώσεων στους αντίχειρες αντανακλά ενδεχομένως το σημαντικότερο ρόλο που παίζουν οι επαναλαμβανόμενοι μικροτραυματισμοί στην παθογένεσή τους, εν συγκρίσει προς την ισχαιμία(95).

- προσβολή γαστρεντερικού συστήματος

Σε ασθενείς με ΣΣκ η αγγειοπάθεια αλλοιώνει την εντερική διαπερατότητα και προκαλεί διαταραχή του εντερικού νευρικού συστήματος, ενώ ακολουθεί εναπόθεση κολλαγόνου και άλλων συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας στον ανώτερο και κατώτερο γαστρεντερικό σωλήνα. Αυτό έχει ως συνέπεια την εμφάνιση

διαταραχών της κινητικότητας, δυσαπορρόφησης, υποσιτισμού και διάτασης του εντέρου(96). Η προσβολή του γαστρεντερικού παρατηρείται εξίσου στο διάχυτο και στον περιορισμένο υπότυπο νόσου και αφορά ποσοστό άνω του 90% των ασθενών(97), σχετίζεται δε με υψηλότερη νοσηρότητα και χειρότερη έκβαση της νόσου(96). Είναι εντυπωσιακό ότι ακόμη και σε ασθενείς με VEDOSS, διαπιστώθηκαν μανομετρικά διαταραχές στον περισταλισμό του οισοφάγου και του ορθού(98).

Ο οισοφάγος προσβάλλεται συχνότερα σε ασθενείς με ΣΣκ. Μεταξύ 7655 ασθενών από την κοορτή της EUSTAR, προσβολή του οισοφάγου αναφέρθηκε σε ποσοστό 67%, έναντι 24% που είχε προσβολή του εντέρου(21). Στους πάσχοντες τα δύο κατώτερα τριτημόρια του οισοφάγου εμφανίζουν ατροφία των λείων μυϊκών ινών και ίνωση. Σε αυτούς τους ασθενείς η μανομετρία οισοφάγου δείχνει μείωση ή εξαφάνιση του φυσιολογικού περισταλισμού και ελάττωση του τόνου του κατώτερου οισοφαγικού σφιγκτήρα(99). Ωστόσο, από τους ασθενείς με ΣΣκ και συμπτωματολογία από το ανώτερο πεπτικό, συμβατά ευρήματα στη μανομετρία οισοφάγου βρέθηκαν μόνο στο 60% των περιπτώσεων, ενώ τα ευρήματα της μανομετρίας δε συσχετίστηκαν με κανένα κλινικό χαρακτηριστικό παρά μόνο με τη διάταση του οισοφάγου στην αξονική τομογραφία θώρακα(100). Η διαταραχή του περισταλισμού και του τόνου του κατώτερου οισοφαγικού σφιγκτήρα οδηγεί σε γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση (ΓΟΠ), διαβρωτική οισοφαγίτιδα και ενίοτε οισοφάγο Barret, με αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης αδενοκαρκινώματος(99). Η ΓΟΠ στους ασθενείς με ΣΣκ έχει συσχετισθεί με την ύπαρξη πνευμονικής ίνωσης και με την επιδείνωση της FVC(101,102) και θα πρέπει να αντιμετωπίζεται επιθετικά, καθώς ενδέχεται να προκαλεί ή να επιδεινώνει την ίνωση του πνεύμονα. Ένα άλλο σχετικά σπάνιο εύρημα των ασθενών με ΣΣκ από το ανώτερο πεπτικό είναι η αγγειακή εκτασία του στομάχου και του άντρου (gastric antral vascular ectasia- GAVE). Η αγγειακή αυτή δυσπλασία εμφανίζει αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας και μπορεί να εκδηλωθεί είτε ως χρόνια σιδηροπενική αναιμία, είτε ως κατακλυσμαία αιμορραγία(103,104). Αξίζει τέλος να αναφερθεί ότι υπάρχουν αρκετές αναφορές στη βιβλιογραφία για έναν πιθανό ρόλο της λοίμωξης από *Helicobacter pylori* στην αιτιοπαθογένεια του ΣΣκ, χωρίς ωστόσο να προκύπτουν πειστικά στοιχεία που να αποδεικνύουν μια τέτοια συσχέτιση(105).

Περίπου οι μισοί ασθενείς με ΣΣκ αναφέρουν συμπτώματα γαστροπάρεσης, όπως πρώιμο κορεσμό, εμέτους, ναυτία, φούσκωμα και κοιλιακή δυσφορία, ως απόρροια της ατροφίας των λείων μυϊκών ινών, της εναπόθεσης κολλαγόνου στο τοίχωμα του πεπτικού σωλήνα και της βλάβης των νευρικών ινών του υποβλεννογόνιου και μυεντερικού πλέγματος(99). Επιπλέον, η υποκινησία, η στάση του εντερικού περιεχομένου και η μειωμένη γαστρική οξύτητα λόγω της αγωγής με αναστολές αντλίας πρωτονίων, συντελούν στην υπερανάπτυξη βακτηρίων στο λεπτό έντερο, προκαλώντας δυσαπορρόφηση λιπών, πρωτεϊνών, υδατανθράκων και βιταμινών(99,106).

Ως επιπλοκή της προσβολής του γαστρεντερικού σε ασθενείς με ΣΣκ έχει αναφερθεί η σαρκοπενία σε ποσοστό 21% και ο υποσιτισμός σε ποσοστό 9%. Οι δύο αυτές παράμετροι φάνηκε μάλιστα να συσχετίζονται με βαρύτερη προσβολή του αναπνευστικού(107). Η μείωση του εύρους της στοματικής σχισμής, η δυσφαγία, η διαταραχή της κινητικότητας του εντέρου με συνακόλουθη υπερανάπτυξη βακτηρίων, η μείωση της όρεξης λόγω κατάθλιψης και οι κινητικές δυσκολίες που δυσχεραίνουν την προετοιμασία των γευμάτων συντελούν στη μειωμένη λήψη τροφής, τη δυσαπορρόφηση και την απώλεια βάρους(99).

Μία συχνή κλινική εκδήλωση του ΣΣκ από το πεπτικό είναι η εντερική ψευδοαπόφραξη, που συνήθως εμφανίζεται με κοιλιακό άλγος, διάταση, ναυτία, έμετο και αδυναμία αποβολής αερίων. Μία μελέτη 64 περιπτώσεων οξείας εντερικής ψευδοαπόφραξης σε 37 ασθενείς με ΣΣκ έδειξε ότι στο 70% η επιπλοκή αυτή υποχώρησε αυτόματα με συντηρητικά μέσα (ενδοφλέβια ενυδάτωση και ανάπαυση του εντέρου), ενώ στο 9% χρειάστηκε χειρουργική εκτομή και στο 25% παρατεταμένη ολική παρεντερική σίτιση. Η θνητότητα ήταν 16%, ενώ η μέση διάρκεια νοσηλείας ήταν  $12 \pm 12.5$  μέρες(108).

Σε 20-50% των ασθενών με ΣΣκ παρατηρείται προσβολή του παχέος εντέρου, που εκδηλώνεται κλινικά είτε ως δυσκοιλιότητα, λόγω μειωμένου περισταλτισμού, είτε ως διάρροια, λόγω υπερανάπτυξης βακτηρίων και ακράτειας κοπράνων από την προσβολή του ορθοπρωκτικού σωλήνα(106). Οι περιπτώσεις χρόνιας διάρροιας σε ασθενείς με ΣΣκ πρέπει να διερευνώνται συστηματικά, καθώς τα αίτια ενδέχεται να είναι πολυπαραγοντικά. Κατ' αρχήν πρέπει να αποκλεισθεί η διάρροια από

ψευδοαπόφραξη και ακολούθως να γίνει έλεγχος με γενική και παρασιτολογική εξέταση κοπράνων, τοξίνη A για *Clostridium difficile*, εξέταση υδρογόνου στην αναπνοή, καλλιέργεια περιεχομένου της νήστιδας και δοκιμασία D-ξυλόζης για την εκτίμηση της δυσασπορρόφησης και της υπερανάπτυξης βακτηρίων, ανίχνευση ελαστάσης κοπράνων για την εκτίμηση της ανεπάρκειας της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος, ορολογικός έλεγχος για την περίπτωση συνύπαρξης κοιλιοκάκης (αντισώματα κατά ιστικής τρανσγλουταμινάσης) καθώς και δοκιμασία δυσασπορρόφησης χολικών αλάτων με τη μέθοδο *SeHCAIT*(99).

Η δεύτερη συχνότερα προσβαλλομένη μοίρα του πεπτικού σωλήνα σε ασθενείς με συστηματικό σκληροδερμα είναι η περιοχή του ορθού και του πρωκτού. Ένα ποσοστό 22-77% των ασθενών υποφέρουν από ακράτεια κοπράνων, πιθανώς λόγω μειωμένης ενδοτικότητας του ορθού από την εναπόθεση κολλαγόνου(109). Η επιπλοκή αυτή έχει σημαντικές επιπτώσεις στην ποιότητα ζωής των ασθενών και συνδέεται με την εμφάνιση κατάθλιψης(110). Είναι δε συχνότερη όσο μεγαλύτερη είναι η διάρκεια της νόσου(109). Σε μία μελέτη από τον Καναδά, ανεξάρτητοι παράγοντες συσχετιζόμενοι με την ακράτεια κοπράνων ήταν η παρουσία υδαρών κοπράνων, η δυσκοιλιότητα, το ατομικό αναμνηστικό υπερανάπτυξης βακτηρίων και η ακράτεια ούρων(111). Εφόσον αποτύχουν τα αρχικά μέτρα αντιμετώπισης της ακράτειας κοπράνων, που περιλαμβάνουν εκπαίδευση και αλλαγή της δίαιτας των ασθενών, αντιδιαρροϊκή αγωγή και ανασκόπηση των φαρμάκων που πιθανώς επιτείνουν την ακράτεια, τότε απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση με ορθοπρωκτική μανομετρία, υπερηχογράφημα του ορθού ή μαγνητική τομογραφία πυέλου και εξειδικευμένη αντιμετώπιση(99).

- προσβολή μυοσκελετικού συστήματος

Οι εκδηλώσεις του ΣΣκ από το μυοσκελετικό μπορεί να κυμαίνονται από απλές αρθραλγίες μέχρι αρθρίτιδα, συγκάμψεις των άκρων, γαμψοχειρία, ήχο τριβής τενόντων, μυοπάθεια ή φλεγμονώδη μυοσίτιδα και ακροοστεόλυση. Στοιχεία από τη βάση δεδομένων της EUSTAR αποκαλύπτουν έναν επιπολασμό 16% για την αρθρίτιδα, 11% για τον ήχο τριβής τενόντων και 31% για τις συγκάμψεις των αρθρώσεων(112). Μεταξύ 89 ασθενών με *lcSSc* από τη Ν. Ζηλανδία, υμενίτιδα διαπιστώθηκε κλινικά στο 11%, ήχος τριβής τενόντων στο 6%, συγκάμψεις στο 35% και διαβρώσεις ακτινολογικά στο 10%. Τα αντίστοιχα ποσοστά μεταξύ 33 ασθενών

με dcSSc ήταν 15%, 15%, 82% και 3%. Η ταυτόχρονη παρουσία θετικού ρευματοειδούς παράγοντα και αντισωμάτων έναντι κυκλικών κιτρολινοποιημένων πεπτιδίων (anti-CCP) σε αυτούς τους ασθενείς συσχετιζόταν με αρθραλγίες και διαβρώσεις(113). Αντιθέτως ο θετικός ρευματοειδής παράγοντας από μόνος του, παρότι απαντάται σε περίπου 30% των ασθενών με ΣΣκ δεν έχει ειδικότητα και δε συσχετίζεται με προσβολή του μυοσκελετικού(114). Μία άλλη μελέτη έδειξε ότι από τους 103 ασθενείς με ΣΣκ που εξετάστηκαν, 17.5% είχε φλεγμονώδη υμενίτιδα στο Doppler υπερηχογράφημα και 18.4% είχε σκληρυντική τενοντοελυτρίτιδα(115). Συνηθέστερα η υμενίτιδα προσβάλλει τις μετακάρπο-φαλαγγικές και εγγύς μεσοφαλαγγικές αρθρώσεις των χεριών, ενώ και οι συγκάμψεις είναι πιο συχνές στις άκρες χείρες, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η ικανότητα των ασθενών να αυτοεξυπηρετούνται(114). Μάλιστα, η παρουσία υμενίτιδας έχει δείχθει ότι αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα μειωμένης παραγωγικότητας στην εργασία των ασθενών με ΣΣκ(116). Τόσο η υμενίτιδα όσο και οι συγκάμψεις των αρθρώσεων είναι πιο συχνές στο διάχυτο υπότυπο νόσου και συσχετίζονται με πιο βαριά αγγειακή νόσο, πιο βαριά μυϊκή προσβολή και στην περίπτωση των συγκάμψεων με διάμεση πνευμονική ίνωση(112). Μία πρόσφατη μελέτη σε 131 ασθενείς με ΣΣκ έδειξε ότι συγκάμψεις αναπτύσσονται πρώιμα μετά την έναρξη της νόσου, τόσο στο lcSSc όσο και στο dcSSc, συσχετίζονται με έντονη φλεγμονή και εκτενή δερματική προσβολή, αφορούν κυρίως το επικρατούν άκρο και όταν ο αριθμός τους είναι μεγάλος αποτελούν προγνωστικό παράγοντα δυσμενούς έκβασης(117). Ομοίως, ο ήχος τριβής τενόντων συσχετίζεται με ενεργό νόσο και αποτελεί προγνωστικό δείκτη για βαριά διάχυτη δερματική προσβολή, για προσβολή εσωτερικών οργάνων, όπως οι νεφροί και η καρδιά και για αυξημένη θνητότητα(118,119). Σε μία πρόσφατη μελέτη που εκπονήθηκε σε δείγμα 1301 ασθενών με ΣΣκ από την κοορτή της EUSTAR, με διάρκεια νόσου μικρότερη από 3 έτη και παρακολούθηση τουλάχιστον 2 ετών, διαπιστώθηκε ότι η αρθρίτιδα και ο ήχος τριβής τενόντων αποτελούσαν, επίσης, ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη για συνολική επιδείνωση της νόσου(120).

Ο επιπολασμός της μυϊκής προσβολής στο ΣΣκ ποικίλλει ευρέως, από 5-96%, ανάλογα με τον υπό εξέταση πληθυσμό και τα κριτήρια που κατά περίπτωση χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση(121). Η προσβολή των μυών στο ΣΣκ περιλαμβάνει ποικίλες βιολογικές διεργασίες από μία τυπική φλεγμονώδη μυοσίτιδα μέχρι μία μη φλεγμονώδη μυοπάθεια(114). Σε μια μελέτη από τις ΗΠΑ που



συμπεριέλαβε 1718 ασθενείς με ΣΣκ, προσβολή των μυών με μυϊκή αδυναμία παρατηρήθηκε στο 23% και συσχετίστηκε με διάχυτο υπότυπο νόσου, υψηλότερες τιμές του mRSS, βραχύτερη διάρκεια νόσου, αρθρίτιδα, τιμές FVC<70% και υψηλότερες τιμές κρεατινικής φωσφοκινάσης (CPK). Επίσης, η μυϊκή αδυναμία συσχετίστηκε με υψηλότερες τιμές του HAQ-DI score(122). Μία πρόσφατη μελέτη από την Ολλανδία συνέκρινε 25 ασθενείς με σύνδρομο αλληλοεπικάλυσης ΣΣκ και φλεγμονώδους μυοσίτιδας, με 397 ασθενείς με αμιγές ΣΣκ και με 40 ασθενείς με αμιγή πολυμυοσίτιδα και έδειξε ότι η ομάδα του συνδρόμου αλληλοεπικάλυσης είχε μεγαλύτερο επιπολασμό διάμεσης πνευμονικής ίνωσης και χαμηλότερα επίπεδα DLCO σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες, ενώ στη βιοψία μυός αυτών των ασθενών ήταν πιο συχνή η ανεύρεση νεκρωτικών μυϊκών ινών. Τέλος η ομάδα του συνδρόμου αλληλοεπικάλυσης είχε αυξημένη συχνότητα ανεύρεσης της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης και της καρδιακής νόσου ως αιτιών θανάτου, σε σχέση με τις ομάδες του σκληροδέρματος και της πολυμυοσίτιδας(123).

Μια σειρά από διαφορετικά αυτοαντισώματα, όπως τα anti-PM/Scl, anti-Ku, anti-U3 RNP και τα anti-RuvBL1/2, έχουν βρεθεί να συσχετίζονται με το σύνδρομο αλληλοεπικάλυσης σκληροδέρματος με πολυμυοσίτιδα. Το καθένα δε από αυτά χαρακτηρίζει ένα διαφορετικό φαινότυπο, π.χ. τα anti-PM/Scl απαντώνται σε Καυκάσιους ασθενείς με περιορισμένη νόσο και διάμεση πνευμονική ίνωση, ενώ τα anti-U3 RNP ανευρίσκονται συχνότερα σε Αφρο-αμερικανούς, άρρηνες ασθενείς με διάχυτη δερματική προσβολή και πνευμονική αρτηριακή υπέρταση(123).

Σε μία ενδιαφέρουσα μελέτη που συμπεριέλαβε 35 ασθενείς με ΣΣκ και ευρήματα μυοπάθειας, το 77% είχε μυϊκή αδυναμία και το 86% είχε μυαλγίες. Σε ποσοστό 82% και 76% υπήρχε αύξηση της CPK και της αλδολάσης, αντίστοιχα, ενώ από τους ασθενείς που είχαν διαθέσιμο ηλεκτρομυογράφημα το 93% είχε μυοπαθητικό πρότυπο και το 29% είχε πρότυπο μικτής περιφερικής νευροπάθειας. Τα κύρια ευρήματα στη βιοψία μυός ήταν η φλεγμονώδης διήθηση από μονοκύτταρα στο 63%, η μυϊκή ατροφία στο 60%, η νέκρωση των μυϊκών ινών στο 59%, η αναγέννηση των μυϊκών ινών στο 44%, η ίνωση στο 24% και η μικροαγγειοπάθεια στο 27%(124). Η ανεύρεση ίνωσης χωρίς φλεγμονώδη στοιχεία στη βιοψία μυός αποτελεί μία ξεχωριστή ιστολογικά οντότητα που απαντάται σε ασθενείς με ΣΣκ και συσχετίζεται με το διάχυτο υπότυπο νόσου, την Αφρο-αμερικανική φυλετική προέλευση, τις

χαμηλότερες τιμές FVC, τη μικρότερη αύξηση της CPK και της αλδολάσης, και με σημαντικά υψηλότερη θνητότητα(125).

Εκτός από τη βιοψία μυός, σημαντικό ρόλο στην αναγνώριση και το χαρακτηρισμό της μυϊκής προσβολής στο ΣΣκ παίζει επίσης και η μαγνητική τομογραφία. Στην T2 ακολουθία αναγνωρίζεται συμμετρικό αμφοτερόπλευρο σήμα υψηλής έντασης, ενδεικτικό μυϊκού οιδήματος. Η μυϊκή ατροφία και η λιπώδης διήθηση επίσης διακρίνονται στη μαγνητική τομογραφία σε περιπτώσεις χρόνιας μυϊκής προσβολής(114).

Η ακροοστεόλυση, τέλος, είναι μια βραδέως εξελισσόμενη οστική απορρόφηση των άκρων φαλάγγων των χεριών και των ποδιών που συσχετίζεται με βαριά ισχαιμία των άπω φαλάγγων, παρουσία ασβεστώσεων(126), αυξημένο σχηματισμό οστεοκλαστών και αυξημένα επίπεδα VEGF(127). Επίσης, σε ασθενείς με ΣΣκ η έλλειψη βιταμίνης-D και ο δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός έχουν συσχετισθεί με ακροοστεόλυση και ασβεστώσεις, ενώ σε ασθενείς με ημιπληγία και ΣΣκ, ακροοστεολύσεις δεν παρατηρήθηκαν στο παρετικό άκρο, υποδηλώνοντας έναν πιθανό ρόλο του νευρικού συστήματος στην εμφάνιση αυτών των βλαβών. Η διάγνωση γίνεται με απλή ακτινογραφία ή υπερηχογράφημα(127). Η παρουσία ακροοστεόλυσης στο ΣΣκ αποτελεί δείκτη μεγαλύτερης βαρύτητας του νοσήματος(128).

- προσβολή πνεύμονα

Η εισαγωγή των AMEA στη θεραπεία του ΣΣκ μείωσε τους θανάτους από νεφρική κρίση από το 42% στο 6% μέσα στην τελευταία τριακονταετία, αναδεικνύοντας ως πρωταρχικό αίτιο θανάτου από ΣΣκ την πνευμονική ίνωση, με μια συχνότητα που αυξήθηκε από το 6% στο 33%(129). Ο ακριβής επιπολασμός της σχετιζόμενης με το ΣΣκ διάμεσης πνευμονικής νόσου είναι πολύ δύσκολο να προσδιοριστεί με ακρίβεια, καθώς το νόσημα εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια ως προς τη βαρύτητα και την εξέλιξή του. Η κλινική εικόνα μπορεί να κυμαίνεται από μία ασυμπτωματική, ήπια, διάμεση πνευμονική ίνωση, συνήθως μη εξελισσόμενη, μέχρι μία βαριά, εκτεταμένη νόσο, που πολύ γρήγορα θα προχωρήσει σε αναπνευστική ανεπάρκεια και θάνατο(130). Σε παλαιότερες νεκροτομικές μελέτες ευρήματα διάμεσης πνευμονικής ίνωσης ανευρίσκοντο σχεδόν στο σύνολο των ασθενών με ΣΣκ(131). Κατ'αντιδιαστολή, πρόσφατα στοιχεία από τη βάση δεδομένων της EUSTAR σε ένα δείγμα συνολικά

11496 ασθενών που είχαν καταχωρηθεί μέχρι το Μάιο του 2014, ρίχνουν τον επιπολασμό της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στο 33%(132). Σε μια μεγάλη κοορτή ασθενών από τον Καναδά ο επιπολασμός της νόσου εκτιμήθηκε περίπου στο 52%(133), ενώ δεδομένα από 1374 ασθενείς που παρουσίασε η Ισπανική ομάδα για τη μελέτη του σκληροδέρματος έδειξαν επιπολασμό 43%(134).

Από ιστολογικής απόψεως, η σχετιζόμενη με το ΣΣκ διάμεση πνευμονική ίνωση εμφανίζει συχνότερα χαρακτήρες μη ειδικής διάμεσης πνευμονίτιδας (NSIP) ενώ η κοινή διάμεση πνευμονίτιδα (UIP) είναι πιο σπάνια. Η NSIP χαρακτηρίζεται από πυκνή, πτωχή σε κύτταρα διάμεση ίνωση, που διατηρεί την υποκείμενη αρχιτεκτονική των πνευμόνων και συνήθως φείδεται της άμεσης υποϋπεζωκοτικής περιοχής. Σε αντίθεση με την UIP που έχει έντονη ετερογενεια, η NSIP εμφανίζει διάχυτη ομοιομορφία(135). Η NSIP έχει καλύτερη πρόγνωση από την UIP (137).

Στην παρούσα φάση, η πλέον αξιόπιστη εξέταση για τη διάγνωση της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στο ΣΣκ είναι η αξονική τομογραφία θώρακος υψηλής ευκρίνειας (HRCT), η οποία ωστόσο έχει τον εγγενή περιορισμό της υψηλής έκθεσης των ασθενών σε ιοντίζουσα ακτινοβολία. Ευρήματα διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στη HRCT θώρακα διαπιστώνονται σε 57-84% των ασθενών(133,137,138). Αντίθετα, οι λειτουργικές δοκιμασίες των πνευμόνων υποεκτιμούν σε σημαντικό βαθμό τη διάμεση πνευμονική ίνωση και δεν είναι κατάλληλες για χρήση ως δοκιμασίες διαλογής (screening tests)(139,140). Συγκεκριμένα σε μια μελέτη 102 ασθενών με ΣΣκ, από τους 64 ασθενείς (63%) που είχαν ευρήματα συμβατά με ικανού βαθμού διάμεση πνευμονική ίνωση στη HRCT θώρακος, μόνο οι 24 (37.5%) είχαν FVC<80% στη σπιρομέτρηση(140). Μία ενδιαφέρουσα μελέτη συνέκρινε τρεις διαφορετικούς αλγόριθμους για τη διάγνωση της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στο ΣΣκ. Ο πρώτος αλγόριθμος συνδύαζε την ανίχνευση τριζόντων στην ακρόαση πνευμονων και/ή ευρημάτων στην απλή ακτινογραφία θώρακα, ο δεύτερος αλγόριθμος ελάμβανε υπόψιν εκτός από τα ανωτέρω στοιχεία και την παρουσία τιμών FVC<70% και λόγου FEV1/FVC>70%, ενώ ο τρίτος αλγόριθμος ήταν όμοιος με τον δεύτερο, εκτός του ότι ανέβαζε το όριο για το FVC από το 70% στο 80%. Τη μεγαλύτερη διαγνωστική αξία είχε ο πρώτος αλγόριθμος με έναν λόγο πιθανοφανειών (Likelihood Ratio) 3.9. Ο δεύτερος και ο τρίτος αλγόριθμος εμφάνιζαν Likelihood Ratio=3.2 και 2.2, αντιστοίχως (134). Ενθαρρυντικά ήταν, επίσης, τα αποτελέσματα κάποιων

προσφάτων προσπαθειών να αξιοποιηθεί το υπερηχογράφημα(141–143) και η μαγνητική τομογραφία των πνευμόνων(144) στην αξιολόγηση της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στο ΣΣκ, προκειμένου να μειωθεί η έκθεση των ασθενών σε ιοντίζουσα ακτινοβολία.

Η πνευμονική προσβολή στο ΣΣκ θεωρείται εκτενής όταν η προσβολή του πνεύμονα στη HRCT θώρακα υπερβαίνει εμφανώς το 20% και περιορισμένης έκτασης όταν είναι εμφανώς κάτω από 20%. Σε αμφίβολες περιπτώσεις (έκταση ίνωσης στη HRCT 10-30%, οπότε η οπτική εκτίμηση μπορεί να σφάλει) αξιολογείται η παρουσία  $FVC < 70\%$  για να καθοριστεί η εκτενής νόσος(138). Το σύστημα αυτό σταδιοποίησης είναι εύκολο στην εφαρμογή και προγιγνώσκει ικανοποιητικά τη θνητότητα καθώς και την ελεύθερη νόσου επιβίωση των ασθενών, καταδεικνύοντας ότι οι ασθενείς με εκτενή νόσο στον πνεύμονα διατρέχουν περίπου τριπλάσιο κίνδυνο θανάτου από τους ασθενείς με μικρή έκταση νόσου(138). Τουλάχιστον δύο μεταγενέστερες μελέτες έχουν επικυρώσει τα ευρήματα αυτά(137,145). Η έκταση της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στη HRCT θώρακα μπορεί να εκτιμηθεί όχι μόνο ημιποσοτικά αλλά και ποσοτικά με τη βοήθεια ενός ακριβούς και σχετικά πολύπλοκου λογισμικού, που έχει όμως μεγαλύτερη ευαισθησία και δίνει αναπαραγώγιμα αποτελέσματα(146). Τα αποτελέσματα της ποσοτικής αυτής εκτίμησης φαίνεται ότι συσχετίζονται καλύτερα με την DLCO παρά με την FVC, σε ασθενείς χωρίς πνευμονική υπέρταση(147). Πέραν της έκτασης της ίνωσης στη HRCT θώρακα, άλλοι προγνωστικοί παράγοντες εξέλιξης της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης ή θνητότητας που έχουν αναγνωρισθεί σε αρκετές μελέτες περιλαμβάνουν τη μεγαλύτερη ηλικία, τις χαμηλότερες τιμές FVC ( $< 70\%$ ) και DLCO ( $< 77\%$ )(148), το άρρεν φύλο, τα anti-Ro52/TRIM21 αντισώματα(149) και την εικόνα δίκην μελικηρύθρας στη HRCT θώρακα (150). Με την παρουσία αλλά και με χειρότερη έκβαση της διάμεσης πνευμονικής νόσου στο ΣΣκ, έχουν συσχετισθεί επίσης οι αυξημένες τιμές κάποιων βιοδεικτών στον ορό όπως ο Krebs von den Lungen-6 (KL-6), η επιφανειοδραστική πρωτεΐνη-D η IL-34(151) και οι χημειοκίνες CCL-18 και CX3CL1(152–156).

Σύμφωνα με μία ενδιαφέρουσα μελέτη η δεκαετής επιβίωση ασθενών με διάμεση πνευμονική ίνωση σχετιζόμενη με ΣΣκ ανέρχεται σε 53.8%(137). Στοιχεία από πρόσφατες μελέτες καταδεικνύουν ότι η πορεία της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στο ΣΣκ μπορεί να προβλεφθεί από την εξέλιξη της νόσου μέσα στα πρώτα 1-4 έτη.

Συγκεκριμένα φαίνεται ότι ασθενείς που δεν είχαν επιδείνωση στις λειτουργικές δοκιμασίες πνεύμονα μέσα στα πρώτα τέσσερα χρόνια είχαν καλύτερη έκβαση, ενώ αντίθετα πτώση στη  $DLCO \geq 15\%$  μέσα σε έναν χρόνο ήταν πτωχός προγνωστικός δείκτης(157). Προς επίρρωσιν αυτού του ευρήματος, μια άλλη μελέτη κατέδειξε ότι ασθενείς με ΣΣκ και διάμεση πνευμονική ίνωση εμφάνιζαν λίγο πολύ σταθερά πρότυπα εξέλιξης της νόσου τους στα πλαίσια μιας μακροχρόνιας παρακολούθησης, με την ομάδα που είχε μικρότερη επιβίωση να εμφανίζει υψηλότερους ρυθμούς ετήσιας επιδείνωσης της FVC σε σχέση με όσους είχαν ενδιάμεση ή μεγαλύτερη επιβίωση(158).

Ένα ποσοστό 30% των ασθενών με ΣΣκ και διάμεση πνευμονική ίνωση εμφανίζει επίσης πνευμονική υπέρταση επιβεβαιωμένη με δεξιό καρδιακό καθετηριασμό. Από τους ασθενείς αυτούς το 24% έχει ΠΑΥ (τάξη I κατά WHO), ενώ το 55% έχει πνευμονική υπέρταση σχετιζόμενη με αναπνευστικά νοσήματα ή χρόνια υποξαιμία (τάξη III κατά WHO). Η επιβίωση στην τριετία για τους ασθενείς με μεμονωμένη διάμεση πνευμονική ίνωση είναι 97%, ενώ για τους ασθενείς με διάμεση πνευμονική ίνωση σε συνδυασμό με πνευμονική υπέρταση είναι 91%(159). Σημαντική επιβάρυνση στην επιβίωση παρατηρείται επίσης σε ασθενείς με συνδυασμό διάμεσης πνευμονικής ίνωσης και ΠΑΥ σε σχέση με ασθενείς που εμφανίζουν μεμονωμένη ΠΑΥ (δεκαετής επιβίωση 54% έναντι 82%), χωρίς η συνύπαρξη αυτών των δύο καταστάσεων να επιβαρύνει τις αιμοδυναμικές παραμέτρους ή την ικανότητα των ασθενών για άσκηση(160).

Έχει προταθεί ότι οι μικροεισροφήσεις που προκαλούνται από τη γαστρο-οισοφαγική παλινδρόμηση στο ΣΣκ συμβάλλουν στην επιδείνωση της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης. Σε ασθενείς με ΣΣκ έχει δειχθεί ότι η αύξηση της διαμέτρου του οισοφάγου σχετίζεται με υψηλότερο score ίνωσης στη HRCT θώρακος και χαμηλότερες τιμές FVC, αλλά επίσης σχετίζεται και με αυξημένη θνητότητα(161). Μια άλλη μελέτη συσχετίζει την αύξηση του εύρους του οισοφάγου στη HRCT με συμπτώματα από το ανώτερο αναπνευστικό και πεπτικό, βαρύτερη διάμεση πνευμονική ίνωση και χαμηλότερες τιμές  $DLCO$ (162). Ωστόσο οι προαναφερθείσες μελέτες δεν αποδεικνύουν την αιτιολογική σχέση ανάμεσα στην οισοφαγική διάταση και την επιδείνωση της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης. Εξάλλου, μία εξ αυτών προτείνει ότι η παρατηρούμενη διάταση του οισοφάγου είναι επιφανόμενο των ισχυρών δυνάμεων

έλξεως που δέχεται ο οισοφάγος λόγω της συνυπάρχουσας πνευμονικής ίνωσης στους ασθενείς με ΣΣκ(161).

- προσβολή μυοκαρδίου

Η προσβολή της καρδιάς είναι συχνή στο συστηματικό σκληροδερμα και αφορά σε όλες τις καρδιακές δομές, όπως το περικάρδιο, το μυοκάρδιο, το ενδοκάρδιο, τις καρδιακές βαλβίδες και το ερεθισματογωγό σύστημα. Οι ασθενείς με θετικά anti-Sc170 αντισώματα έχουν πιο βαριά και πιο συχνή προσβολή της καρδιάς(163). Παρότι σε ασθενείς με ΣΣκ η καρδιακή συμμετοχή μπορεί να διαλάθει και σε μερικές περιπτώσεις να διαγιγνώσκεται μόνο κατά τη νεκροτομή(164), η κλινικά έκδηλη καρδιακή νόσος αποτελεί μείζονα αρνητικό προγνωστικό παράγοντα και συσχετίζεται με αυξημένη θνητότητα(165).

Ο επιπολασμός της προσβολής της καρδιάς στο ΣΣκ ποικίλει ανάλογα με την ευαισθησία των μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευσή της. Για παράδειγμα, με τη χρήση μαγνητικής τομογραφίας καρδιάς, μέχρι και 2/3 των ασθενών σε κάποιες σειρές εμφανίζουν καρδιακή συμμετοχή(166). Ο επιπολασμός της έκδηλης καρδιακής νόσου στο ΣΣκ κυμαίνεται από 10-44%, ενώ οι εκδηλώσεις από την καρδιά φέρονται να ευθύνονται για ένα 20-36% των θανάτων αυτών των ασθενών(165,167,168). Πρέπει να σημειωθεί ότι δεδομένα από το Ισπανικό αρχείο σκληροδέρματος δείχνουν ότι οι επιπλοκές από την καρδιά έχουν τριπλασιάσει τη σχετική τους συχνότητα ως αιτία θανάτου ασθενών με ΣΣκ από το 12.8% κατά τη δεκαετία 1990-1999, στο 30.6% κατά τη δεκαετία 2000-2009 (136). Αντίστοιχα, δεδομένα από τη βάση της EUSTAR αναφέρουν ότι το 27% των θανάτων που σημειώθηκαν σε ένα δείγμα 11193 ασθενών σε διάστημα 2.3 ετών οφείλοντο σε καρδιακά αίτια, ενώ από τα πιστοποιητικά θανάτου που εκδόθηκαν στη Γαλλία μεταξύ 2000-2011 και σχετίζοντο με ΣΣκ, στο 31% η άμεση αιτία θανάτου ήταν η καρδιακή νόσος (137). Σε μια πρόσφατη μελέτη που συμπεριέλαβε 1070 ασθενείς με ΣΣκ από την έναρξη της νόσου τους (inception cohort) τα καρδιακά αίτια ευθύνοντο για 14.9% των σχετιζομένων και 11.8% των μη σχετιζομένων με το ΣΣκ θανάτων(171). Τα αντίστοιχα ποσοστά σε μία κοορτή 3218 ασθενών με ΣΣκ που δε στρατολογήθηκαν από την αρχή της νόσου τους (prevalent cohort) ήταν 9% και 4.7% (9), ακριβώς γιατί πολλοί από τους ασθενείς με τη βαρύτερη συμπτωματολογία είχαν ήδη αποβιώσει πριν ενταχθούν σε αυτή την κοορτή.

Το αίσθημα παλμών αποτελεί ένα από τα συχνότερα ενοχλήματα των ασθενών με ΣΣκ. Από δεδομένα της EUSTAR 6% των σχετιζομένων και λιγότερο από 1% των μη σχετιζομένων με το ΣΣκ θανάτων οφείλοντο σε αρρυθμίες(172). Παθολογικά ευρήματα στο ΗΚΓ έχουν αναφερθεί στο 25-75% των ασθενών με ΣΣκ και συσχετίζονται με μεγαλύτερη ηλικία, ΠΑΥ και βαρύτερη καρδιακή και πνευμονική προσβολή(173–175). Συγκεκριμένα, ο πλήρης αποκλεισμός του δεξιού σκέλους του δεματίου του His και το μεγάλο εύρος της γωνίας QRS-T στο απλό ηλεκτροκαρδιογράφημα έχουν αναγνωρισθεί ως σημεία δυσμενούς προγνώσης στο ΣΣκ (173,176). Όσον αφορά στην 24ωρη καταγραφή του ρυθμού με Holter, οι ασθενείς με ΣΣκ έχουν παθολογικά ευρήματα σε ποσοστό 38% έναντι 17% στους μάρτυρες, με συχνότερα ευρήματα τις υπερκοιλιακές και κοιλιακές έκτακτες συστολές και την υπερκοιλιακή ταχυκαρδία(177). Καταγραφή >1190 κοιλιακών έκτοπων συστολών ανά 24ωρο στο Holter ρυθμού, επιτρέπει τη διάκριση ασθενών με ΣΣκ σε υψηλό κίνδυνο για θανατηφόρες αρρυθμίες και αιφνίδιο καρδιακό θάνατο με ευαισθησία 100% και ειδικότητα 83%(178).

Η περικαρδιακή νόσος είναι αρκετά συχνή στο ΣΣκ, αλλά συνήθως παραμένει ασυμπτωματική και μόνο σπάνια εξελίσσεται σε συμπιεστική περικαρδίτιδα ή καρδιακό επιπωματισμό. Ασθενείς με διάχυτο υπότυπο νόσου αναπτύσσουν συχνότερα περικαρδίτιδα σε σχέση με όσους έχουν περιορισμένη νόσο(165). Στη βάση δεδομένων της EUSTAR κλινικά έκδηλη περικαρδίτιδα ανευρέθη σε 8.4% των ασθενών με πρώιμο ΣΣκ (n=695) και σε 6.0% των υπόλοιπων ασθενών (n=9196)(179), ενώ σε άλλες μικρότερες μελέτες ο επιπολασμός κυμαίνεται μεταξύ 13-26%(165,171,180). Σε νεκροτομικά παρασκευάσματα περικαρδίτιδα απαντάται στο 33-78% των ασθενών με ΣΣκ(181). Η παρουσία περικαρδιακής συλλογής μπορεί να αποτελεί προάγγελο νεφρικής κρίσης σκληροδέρματος ή να υποδεικνύει την παρουσία πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης, με κακή πρόγνωση(182,183). Ο καρδιακός επιπωματισμός είναι εξαιρετικά σπάνιος αλλά σχετίζεται με πολύ κακή έκβαση καθώς έχει θνητότητα 55%(183). Η διάγνωση της περικαρδιακής νόσου στο ΣΣκ γίνεται κυρίως με υπερηχογράφημα και δευτερευόντως με αξονική ή μαγνητική τομογραφία καρδιάς, σε περιπτώσεις εντοπισμένου εξιδρώματος ή όταν απαιτείται ταυτόχρονη εκτίμηση και άλλων οργάνων όπως οι πνεύμονες(184).

Η πρωτοπαθής μυοκαρδιακή βλάβη στο ΣΣκ χαρακτηρίζεται από νέκρωση με ζώνες συστολής και ίνωση αντικατάστασης(185), καθώς και από φλεγμονώδη διήθηση. Παρατηρείται επίσης, αναδιαμόρφωση του τοιχώματος των μυοκαρδιακών αγγείων, με υπερπλασία των λείων μυϊκών ινών και ίνωση, που καταλήγει σε συγκεντρική στένωση του αυλού τους(186). Από παθοφυσιολογικής απόψεως, η μυοκαρδιακή βλάβη στο ΣΣκ θεωρείται ότι προκύπτει από μία διαταραχή της μικροκυκλοφορίας που οδηγεί σε επανειλημμένη βλάβη από ισχαιμία-επαναιμάτωση και καταλήγει σε ίνωση. Αυτό δε το καρδιακό φαινόμενο Raynaud έχει συσχετισθεί με δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας(187). Η συστολική δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας αποτελεί την κύρια εκδήλωση της πρωτοπαθούς μυοκαρδιακής προσβολής στο ΣΣκ. Ιδιαίτερα συχνή είναι επίσης η διαστολική δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας, η παρουσία της οποίας συσχετίζεται με χειρότερη επιβίωση(188). Η διάγνωση αυτών των διαταραχών γίνεται συνήθως με απλό υπερηχογράφημα, υποβοηθείται όμως σημαντικά από τις νεώτερες, πιο εκλεπτυσμένες υπερηχοκαρδιογραφικές προσεγγίσεις, όπως το tissue –Doppler imaging και το Speckle tracking strain analysis, που επιτρέπουν πιο πρόωμη αναγνώριση των βλαβών από τους κόλπους και τις κοιλίες, ακόμη και σε υποκλινικά στάδια (153–156). Σημαντικό ρόλο στη διαγνωστική προσέγγιση παίζουν ακόμη κάποιοι βιοχημικοί δείκτες όπως το NT-pro-BNP και οι καρδιακές τροπονίνες υψηλής ευαισθησίας (hs-cTn)(193,194). Εφόσον προκύπτουν ενδείξεις δυσλειτουργίας των κοιλιών ή περικαρδιακής συλλογής από το υπερηχογράφημα καρδιάς ή διαπιστώνεται αύξηση της τροπονίνης ή/και του NT-proBNP που δε μπορούν να αποδοθούν σε άλλη αιτία (167), έχει νόημα η περαιτέρω διερεύνηση της καρδιακής λειτουργίας με μαγνητική τομογραφία καρδιάς(195). Στη μαγνητική τομογραφία καρδιάς, η καθυστερημένη ενίσχυση του σήματος μετά από χορήγηση γαδολινίου (LGE) επιτρέπει την αναγνώριση εστιακής μυοκαρδιακής ίνωσης με τη μορφή φωτεινών περιοχών σε μαύρο υπόστρωμα, η T1-χαρτογράφηση παρέχει μια ποσοτική εκτίμηση της διάχυτης μυοκαρδιακής ίνωσης ενώ οι T2-ακολουθίες και η T2-χαρτογράφηση αναγνωρίζουν το μυοκαρδιακό οίδημα(196). Με την καθυστερημένη ενίσχυση του σήματος μετά από χορήγηση γαδολινίου αναγνωρίστηκε μυοκαρδιακή ίνωση στο 15-66% των ασθενών με ΣΣκ (159–161). Η χρήση T1 χαρτογράφησης επιτρέπει πιο λεπτομερή και πιο πρόωμο χαρακτηρισμό της ίνωσης σε αυτούς τους ασθενείς, ακόμη και αν το LGE είναι αρνητικό (162,163).



Ιδιαίτερη σημασία στο ΣΣκ έχει η προσβολή της δεξιάς κοιλίας που μπορεί να οφείλεται είτε σε πρωτοπαθή μυοκαρδιακή προσβολή, είτε να είναι δευτεροπαθής σε περιπτώσεις πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης, διάμεσης πνευμονικής ίνωσης, συστολικής ή διαστολικής βλάβης της αριστερής κοιλίας ή ανωμαλίας της μιτροειδούς ή αορτικής βαλβίδας (202). Η διερεύνηση της λειτουργίας της δεξιάς κοιλίας γίνεται αρχικά με απλό υπερηχογράφημα, ενώ για την περαιτέρω διερεύνηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί υπερηχογράφημα κοπώσεως ή τριών διαστάσεων ή μαγνητική τομογραφία καρδιάς(187).

#### *ε. Αυτοαντισώματα*

Περίπου 95% των ασθενών με ΣΣκ έχουν θετικά αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA) στον έμμεσο ανοσοφθορισμό σε υπόστρωμα HEp-2 κυττάρων. Έχουν παρατηρηθεί όλοι οι τύποι φθορισμού με πιο ειδικό τον πυρηνισκικό. Τα χαρακτηριστικά για το ΣΣκ αυτοαντισώματα περιλαμβάνουν τα αντισώματα έναντι τοποισομεράσης I (anti-TOPO-I/anti-Scl70), τα αντι-κεντρομεριδιακά αντισώματα (ACA), τα anti-RNA polymerase III, τα anti-U3-RNP (fibrillarin), τα Th/To RNP, τα U1-RNP και τα PM-Scl(71). Παρότι τα διάφορα αυτοαντισώματα σχετίζονται με διακριτές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου και έχουν τεκμηριωμένη διαγνωστική και προγνωστική αξία, δεν έχει μέχρι στιγμής αποδειχθεί ο ρόλος τους στην παθογένεση του νοσήματος. Τα ACA απαντώνται στους μισούς περίπου ασθενείς με περιορισμένη και σε μικρό μόνο ποσοστό (2-5%) ασθενών με διάχυτη νόσο, συσχετίζονται δε κλινικά με το σύνδρομο CREST (ασβεστώσεις, φαινόμενο Raynaud, προσβολή οισοφάγου, σκληροδακτυλία, τηλεαγγειεκτασίες), όψιμη εμφάνιση δακτυλικών ελκών και μεμονωμένη πνευμονική αρτηριακή υπέρταση. Τα ACA θεωρούνται σχετικά προστατευτικά για πνευμονική ίνωση και νεφρική κρίση σκληροδέρματος και έχουν συσχετισθεί με μεγαλύτερη συχνότητα πρωτοπαθούς χολικής κίρρωσης(203,204). Τα anti-Scl-70 απαντώνται στο 9-42% των ασθενών με ΣΣκ, χαρακτηρίζουν συχνότερα το διάχυτο υπότυπο νόσου και συσχετίζονται με διάμεση πνευμονική ίνωση, πρώιμη εμφάνιση δακτυλικών ελκών, νεφρική κρίση και σοβαρή προσβολή καρδιάς (203–205). Τα αντισώματα έναντι RNA-pol III ανευρίσκονται στο 10-25% των ασθενών, είναι και αυτά συχνότερα σε διάχυτο υπότυπο νόσου και συσχετίζονται με νεφρική κρίση σκληροδέρματος καθώς και με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης κακοήθειας(203–205). Στους ασθενείς αυτούς η διάμεση πνευμονική ίνωση και η πνευμονική αρτηριακή υπέρταση είναι συγκριτικά σπάνιες. Τα αντισώματα έναντι φιμπριλλαρίνης (U3-RNP)

απαντώνται στο 5-45% των ασθενών με ΣΣκ, είναι πιο τυπικά σε Αφρο-αμερικανούς άρρενες με διάχυτη νόσο και συσχετίζονται τόσο με πνευμονική αρτηριακή υπέρταση όσο και με πνευμονική ίνωση, καθώς και με σοβαρή καρδιακή νόσο, προσβολή γαστρεντερικού και μυοσίτιδα(204,205). Τα U1-RNP σχετίζονται με τη μικτή νόσο συνδετικού ιστού. Τα anti-Th/To RNP αντισώματα παρατηρούνται στο 5% των ασθενών και είναι ενδεικτικά περιορισμένου υποτύπου νόσου με προσβολή όμως του πνεύμονα και μυοσίτιδα, ενώ τα PM-Scl που είναι επίσης σπάνια (4-5%) συσχετίζονται με το συνδυασμό σκληροδέρματος με μυοσίτιδα(203,205). Έχει ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι κάποιες μελέτες συσχετίζουν τα PM-Scl αντισώματα στο ΣΣκ με την εμφάνιση κακοήθειας(206). Τέλος, τα anti-Ku αντισώματα συσχετίζονται με ένα σύνδρομο αλληλοκάλυψης που συνδυάζει το ΣΣκ με μυοσίτιδα και βαριά αρθρίτιδα και χαρακτηρίζεται συχνότερα από διάμεση πνευμονική ίνωση παρά από πνευμονική αρτηριακή υπέρταση(204). Περίπου 5% των ασθενών με ΣΣκ θα αναπτύξουν ANCA αντισώματα (συχνότερα pANCA) τα οποία σχετίζονται με την ανάπτυξη ανοσοπενικής σπειραματονεφρίτιδας. Σε ποσοστό 1-2% των ασθενών με ΣΣκ έχουν ανιχνευθεί τα προσφάτως περιγραφέντα Anti-RuvBL1/2 αντισώματα που χαρακτηρίζουν το συνδυασμό διάχυτου υπότυπου σκληροδέρματος και μυοσίτιδας, καθώς και τα Anti-eukaryotic initiation factor 2B (anti-eIF2B) αντισώματα που συσχετίζονται με διάχυτο υπότυπο νόσου και διάμεση πνευμονική ίνωση(204). Τέλος τα anti-Ro52/TRIM 21 αυτοαντισώματα έχουν εντοπισθεί σε 7% των ασθενών, μόνα τους και σε 21% των ασθενών, σε συνδυασμό με άλλα ειδικά για το ΣΣκ αυτοαντισώματα, συσχετίζονται δε με διάμεση πνευμονική ίνωση και χαμηλή επιβίωση(149).

### **1.2.3. Δείκτες Ενεργότητας και Βαρύτητας του Συστηματικού Σκληροδέρματος**

Ο προσδιορισμός της ενεργότητας του ΣΣκ παρουσιάζει σημαντικές δυσκολίες, καθώς το νόσημα εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια στις εκδηλώσεις του και στην κλινική του πορεία, από ήπιο μέχρι ταχέως εξελισσόμενο, ενώ οι εξάρσεις, συχνά, δύσκολα διακρίνονται από την ύφεση. Το 2001 διαμορφώθηκε ένας προκαταρκτικός δείκτης ενεργότητας του ΣΣκ που βασίστηκε σε 11 παραμέτρους, ομαδοποιημένες σε 5 διαφορετικά συστήματα οργάνων(207). Ο δείκτης αυτός εμφάνιζε καλή συσχέτιση με τη συνολική εκτίμηση της ενεργότητας του νοσήματος της Καναδικής ομάδας εργασίας για το ΣΣκ και με τους τίτλους του anti-Scl-70 αυτοαντισώματος, αλλά δέχθηκε κριτική γιατί αναπτύχθηκε με βάση τα δεδομένα μιας κοορτής ασθενών με

μεγάλη διάρκεια νόσου και από την οποία πολλά δεδομένα ήταν ελλιπή. Το 2017 ο δείκτης ενεργότητας του ΣΣκ αναθεωρήθηκε από την ομάδα της EUSTAR ώστε να περιλαμβάνει τις ακόλουθες έξι παραμέτρους σε κάθε μία από τις οποίες αποδίδεται ένα διαβαθμισμένο score με συνολικό άθροισμα 10: επιδείνωση της ίνωσης του δέρματος από τον προηγούμενο μήνα, όπως εκτιμάται από τον ασθενή (1.5), mRSS>18 (1.5), παρουσία δακτυλικών ελκών (1.5), παρουσία ήχου τριβής τενόντων (2.25), CRP>1 mg/dL (2.25) και DLCO<70% του προβλεπομένου (1.0). Το όριο για την αναγνώριση ασθενών με ενεργό νόσο ετέθη στο 2.5(208).

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται συνολικά 6 διαφορετικοί δείκτες βαρύτητας του ΣΣκ, που μετρούν ταυτόχρονα ενεργότητα και βλάβη από τη νόσο(209). Ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος είναι ο δείκτης βαρύτητας κατά Medsger που διαμορφώθηκε το 1999 επί τη βάσει ενός δείγματος 78 ασθενών από 14 διεθνή κέντρα(210). Ο δείκτης αυτός περιγράφει τη βαρύτητα της προσβολής από τη νόσο σε εννέα διαφορετικά συστήματα οργάνων (γενική κατάσταση υγείας, περιφερική αγγειακή νόσος, δέρμα, αρθρώσεις/τένοντες, μυς, γαστρεντερικό σύστημα, πνεύμονες, καρδιά, νεφροί). Κάθε ένα από αυτά τα συστήματα λαμβάνει ένα score από 0 (καμία προσβολή) μέχρι 4 (προσβολή τελικού σταδίου). Αυτός ο δείκτης αναθεωρήθηκε το 2003 ώστε να ενσωματώσει κάποιες βελτιώσεις όπως η προσθήκη της αιμοσφαιρίνης, ο ορισμός της ΠΑΥ με τη χρήση ενός ουδού συστολικής πνευμονικής αρτηριακής πίεσης και η αφαίρεση της πρωτεϊνουρίας(211).

#### **1.2.4 Αιτιοπαθογένεια**

Η αιτιοπαθογένεια του ΣΣκ παραμένει σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστη, καθώς το νόσημα είναι σχετικά σπάνιο και τα ζωικά μοντέλα που έχουμε διαθέσιμα δεν επιτρέπουν πάντα την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Στην αιτιοπαθογένεια του νοσήματος φαίνεται ότι συμμετέχουν τόσο γενετικοί όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία για πολλαπλά περιστατικά σκληροδέρματος μέσα στην ίδια οικογένεια. Ο σχετικός κίνδυνος για την ανάπτυξη σκληροδέρματος είναι 1.6% σε οικογένειες με ιστορικό της νόσου και 0.026% στο γενικό πληθυσμό(212). Παρότι σε πολλές περιπτώσεις τα προσβεβλημένα μέλη μιας οικογένειας εξέφραζαν κοινά αντιγόνα ιστοσυμβατότητας (213,214) σε κάποιες άλλες περιπτώσεις δεν ανευρέθησαν κοινοί γενετικοί δείκτες, ούτε κάποια κοινή περιβαλλοντική έκθεση που θα μπορούσε να δικαιολογήσει την εμφάνιση του νοσήματος(215). Αντιστοίχως, στις μελέτες διδύμων με ΣΣκ το ποσοστό σύμπτωσης

ήταν χαμηλό, τόσο μεταξύ μονοζυγωτικών διδύμων (4.2%), όσο και μεταξύ διζυγωτικών διδύμων (5.6%)(216). Ωστόσο, ινοβλάστες δέρματος από μη προσβεβλημένους μονοζυγωτικούς δίδυμους αδελφούς πασχόντων από ΣΣκ εμφάνιζαν το ίδιο παθολογικό προφίλ γονιδιακής έκφρασης με εκείνο των πασχόντων, ο δε ορός των ατόμων αυτών μπορούσε να επαγάγει την υπερέκφραση της αλυσίδας α2 του κολλαγόνου τύπου 1 (COL1A2), της όξινης και πλούσιας σε κυστεΐνη εκκρινόμενης πρωτεΐνης (SPARC), και του αυξητικού παράγοντα του συνδετικού ιστού (CTGF) σε φυσιολογικούς ινοβλάστες, ακριβώς όπως και ο ορός των πασχόντων(217). Άρα η γενετική προδιάθεση, αν και φαίνεται να παίζει κάποιο ρόλο, δεν αρκεί από μόνη της για να εξηγήσει την εκδήλωση του νοσήματος, υπονοώντας ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες ή επιγενετικές τροποποιήσεις επίσης πρέπει να έχουν τη σημασία τους. Μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος (GWAS) έδειξαν ότι η εμφάνιση ΣΣκ αλλά και ορισμένων ειδικών για το ΣΣκ αυτοαντισωμάτων συνδέεται με συγκεκριμένους γενετικούς τόπους στην περιοχή του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (π.χ. το HLA-DPB1\*130 συνδέεται με τα anti-Scl-70 αντισώματα και το HLA-DRB1\*1302 με τα αντισώματα έναντι φιμπριλαρίνης), αλλά και με γονίδια που εμπλέκονται στην αντιγονοπαρουσίαση (TNFSF4, AIF), στην ανοσολογική σηματοδότηση (Blank1, BLK, FAS, TNFAIP3, CD247), στη διαφοροποίηση και ενεργοποίηση των T-κυττάρων (STAT4, PJP22, IL12RB2, PAD14) και στη φυσική ανοσία (interferon type I, IRF5, IRF7, TLR2)(218).

Ως προς τους περιβαλλοντικούς παράγοντες έχει προταθεί συσχέτιση του ΣΣκ με λοιμώδεις παράγοντες, όπως το *Helicobacter pylori*, ο κυτταρομεγαλοϊός και ο Παρβοϊός B-19, με κάποια χημειοθεραπευτικά φάρμακα όπως η γεμισιταβίνη, η μπλεομυκίνη και οι ταξάνες, καθώς και με την επαγγελματική έκθεση σε σιλικόνη και οργανικούς διαλύτες (βινυλο-γλωρίδιο, τριγλωραιθυλένιο)(219,220). Επίσης, μεγάλη συζήτηση έχει γίνει σχετικά με το ρόλο των εμφυτευμάτων στήθους από σιλικόνη, αν και μια πρόσφατη μεταανάλυση έδειξε ότι δεν σχετίζονται με την εμφάνιση ΣΣκ ή άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων(221).

Οι επιγενετικές μεταβολές που πιθανώς εμπλέκονται στην αιτιοπαθογένεια του ΣΣκ αποτελούν αντικείμενο εντατικής έρευνας κατά τα τελευταία χρόνια. Οι τρεις επιγενετικοί μηχανισμοί που συμμετέχουν στη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων

είναι η μεθυλίωση του DNA, οι τροποποιήσεις των ιστονών και τα micro-RNA's(212). Τα μέχρι στιγμής δεδομένα δείχνουν ότι ο παθολογικός φαινότυπος των ινοβλαστών των ασθενών με ΣΣκ οφείλεται σε μια γενικευμένη υπομεθυλίωση του DNA τους, που αφορά σε μία πληθώρα ετερογενών γονιδίων, που όμως όλα κατατείνουν στο να ενισχύουν τις διεργασίες της ίνωσης. Έχει ενδιαφέρον ότι μόνο το 6% των γονιδίων των ινοβλαστών που εμφανίζουν υπομεθυλίωση είναι κοινά τόσο για τον διάχυτο όσο και για τον περιορισμένο υπότυπο της νόσου. Υπομεθυλίωση του DNA έχει επίσης διαπιστωθεί στο πλήρες αίμα και στα T-λεμφοκύτταρα των ασθενών με ΣΣκ. Σε ινοβλάστες ασθενών με ΣΣκ έχει διαπιστωθεί επίσης μειωμένη ακετυλίωση ιστονών π.χ. στην περιοχή του υποκινητή των γονιδίων των μεταγραφικών παραγόντων Kruppel like factor 5 (KLF5) και Friend leukemia integration 1 transcription factor (FLI1) που οδηγεί σε μειωμένη έκφραση των δύο αυτών παραγόντων, καθώς και μεθυλίωση των ιστονών που επηρεάζει την παραγωγή της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας μέσω των οδών σηματοδότησης του μετετρεπτικού αυξητικού παράγοντα-β/SMAD (TGFβ/SMAD)(212). Τέλος στους ινοβλάστες ή στο δέρμα ασθενών με ΣΣκ παρατηρείται υπερέκφραση ή υποέκφραση συγκεκριμένων microRNAs, που μεταξύ άλλων εμπλεκονται στη διαφοροποίηση των κυττάρων του ανοσοποιητικού, ρυθμίζουν την έκκριση ιντερφερόνης (miR-618), εμπλέκονται στους μηχανισμούς της ίνωσης και της απόπτωσης επιδρώντας στις οδούς σηματοδότησης του TGF-β/SMAD (miR-29, miR-21) ή επάγουν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων, πιθανώς συντελώντας έτσι στην αγγειοπάθεια του σκληροδέρματος (miR-193b)(212,222).

### **1.2.5 Παθοφυσιολογία**

Η κατανόηση της παθοφυσιολογίας του ΣΣκ έχει προχωρήσει σημαντικά τα τελευταία έτη. Η τρέχουσα άποψη είναι ότι η έκθεση ενός γενετικά προδιατεθειμένου ατόμου σε επιβαρυντικά περιβαλλοντικά ερεθίσματα κινητοποιεί τη μη φυσιολογική ανοσολογική διέγερση και τη διαταραχή της μικροκυκλοφορίας που συντελούν τελικά στην ίνωση και στην εκδήλωση του σκληροδέρματος, καθώς οι διεργασίες αυτές δε μπορούν να αντιρροπισθούν από τους φυσιολογικούς μηχανισμούς λύσης της φλεγμονής και της ίνωσης (223).

Η αγγειοπάθεια προσβάλλει κυρίως τα αρτηρίδια και τη μικροκυκλοφορία. Χαρακτηρίζεται από βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων και αυξημένο αγγειακό

τόνο και θεωρείται ένα από τα αρχικά γεγονότα στην παθογένεση του σκληροδέρματος. Είναι ενδεικτικό ότι το RP απαντάται σε όλους σχεδόν τους ασθενείς με ΣΣκ και συχνά ξεκινά πολλά χρόνια πριν από τις υπόλοιπες εκδηλώσεις της νόσου(224). Η απόπτωση και δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, που ενδεχομένως επάγεται από μια χρόνια ανοσολογική διέγερση και φλεγμονή, είναι η πρωιμότερη εκδήλωση βλάβης στο ΣΣκ. Στη βλάβη του ενδοθηλίου ίσως συντελεί και η παραγωγή κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων κατά των ενδοθηλιακών κυττάρων [anti-endothelial cell antibodies (AECA)] που απαντάται σε 22-86% των ασθενών με ΣΣκ και συσχετίζεται με την παρουσία δακτυλικών ελκών, ασβετώσεων και ακροοστεόλυσης(225). Ομοίως, στην αγγειοπάθεια του σκληροδέρματος πιθανώς συμμετέχει η διαταραχή των περικυττάρων που παίζουν στηρικτικό ρόλο για τα ενδοθηλιακά κύτταρα των μικρών αγγείων και τα οποία στο ΣΣκ έχει βρεθεί ότι εκφράζουν δείκτες διαφοροποίησης σε μυοινοβλάστες(226). Περιαγγειακές φλεγμονώδεις διηθήσεις αποτελούμενες από T-λεμφοκύτταρα και μακροφάγα έχουν περιγραφεί σε πρώιμα στάδια της νόσου. Φλεγμονώδη κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα και αιμοπετάλια ενεργοποιούνται και συμμετέχουν σε ένα φαύλο κύκλο παραγωγής προφλεγμονωδών κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων που αφενός μεν κινητοποιούν την αγγειακή βλάβη, αφετέρου δε ανατροφοδοτούν τη φλεγμονή. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση επεισοδίων αγγειόσπασμου, την ινώδη υπερπλασία του έσω χιτώνα με εξάλειψη του αυλού των αγγείων, την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων με σχηματισμό εκτεταμένων ανάγγειων περιοχών και την πρόκληση ισχαιμίας και βλάβης από επαναιμάτωση. Η επακόλουθη υποξία συμβάλλει ανεξάρτητα στην εξέλιξη της ίνωσης(227). Επιπλέον, οι αντισταθμιστικοί αγγειογενετικοί μηχανισμοί φαίνεται ότι δε λειτουργούν φυσιολογικά στο ΣΣκ, καθώς παρά την παρατηρούμενη αύξηση των επιπέδων του VEGF και άλλων αγγειογενετικών παραγόντων, δεν επιτυγχάνεται ικανοποιητικού βαθμού επαναγγείωση(228). Πέραν αυτού, στο ΣΣκ έχει παρατηρηθεί διαταραχή στην ισορροπία αγγειοσυσπαστικών και αγγειοδιασταλτικών παραγόντων, με αυξημένη παραγωγή ενδοθηλίνης(229) και μειωμένη παραγωγή προστακυκλίνης. Αντιφατικά είναι τα δεδομένα σχετικά με τα επίπεδα του νιτρικού οξειδίου στο ΣΣκ, καθώς το μόριο αυτό φαίνεται να έχει έναν διττό ρόλο. Αφενός μεν ρυθμίζει τον αγγειακό τόνο και την αρτηριακή πίεση και δρα κυτταροπροστατευτικά, αφετέρου όμως, η υπερβολική παραγωγή του από την επαγόμενη συνθετάση του NO στο ΣΣκ μπορεί να προκαλέσει κυτταρική και ιστική βλάβη(230). Σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει και

η ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης. Τέλος, υπάρχουν ενδείξεις ότι η βλάβη του ενδοθηλίου οδηγεί στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων που με τη σειρά τους απελευθερώνουν μια πληθώρα μορίων που ευοδώνουν την ίνωση, μεταξύ των οποίων κυρίαρχη θέση κατέχει η σεροτονίνη, ο TGF-β, και ο αιμοπεταλιακής προέλευσης αυξητικός παράγων [platelet derived growth factor (PDGF)](231).

Η ανοσολογική διέγερση στο ΣΣκ παρατηρείται σε πρώιμα στάδια, πολύ πριν την εμφάνιση της ίνωσης και αφορά τόσο στα T- όσο και στα B-λεμφοκύτταρα. Κατά την αρχική φάση της νόσου παρατηρείται δερματική φλεγμονώδης διήθηση από T-κύτταρα, μακροφάγα, σιτευτικά κύτταρα και σε μικρότερο βαθμό από B-λεμφοκύτταρα. Τα CD4+ T-λεμφοκύτταρα απαντώνται πολύ πιο συχνά από τα CD8+ T-λεμφοκύτταρα, ενώ η Th2 κυτταρική απόκριση, που κυρίως χαρακτηρίζεται από την παραγωγή ιντερλευκίνης-4 (IL-4) και ιντερλευκίνης-13 (IL-13), φαίνεται ότι παίζει καθοριστικότερο ρόλο στην παθογένεια του ΣΣκ(232). Η IL-4 κατευθύνει την ενεργοποίηση των B-λεμφοκυττάρων και την παραγωγή αντισωμάτων και διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και την παραγωγή εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Τα T-λεμφοκύτταρα μπορούν να επάγουν ίνωση είτε μέσω της παραγωγής κυτταροκινών, κυρίως IL4, ιντερλευκίνης-17 (IL-17), TGF-β, χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μακροφάγων-1 (MCP-1/macrophage chemoattractant protein-1) και CTGF, είτε μέσω άμεσης επαφής με τους ινοβλάστες.(233) Κυτταροκίνες που επάγουν την ίνωση παράγονται όχι μόνο από τα φλεγμονώδη κύτταρα, αλλά και από αυτόχθονα κύτταρα των ιστών όπως τα κερατινοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και οι ίδιοι οι ινοβλάστες. Έχει μάλιστα παρατηρηθεί ότι ακόμη και σε καλλιέργειες *in vitro*, οι ινοβλάστες τρόπον τινά αυτονομούνται και συνεχίζουν να παραμένουν ενεργοποιημένοι παρά την απόσυρση των εξωγενών ερεθισμάτων(234). Την ενεργοποίηση των B-λεμφοκυττάρων στους πάσχοντες από ΣΣκ αντικατοπτρίζει η υπεργαμμασφαιριναιμία, η παραγωγή αυτοαντισωμάτων και η υπερέκφραση του δείκτη επιφανείας CD19 των B λεμφοκυττάρων. τα B-κύτταρα ενδέχεται να συντηρούν την ενεργοποίηση των T-κυττάρων λειτουργώντας ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Η χρόνια διέγερση των B-λεμφοκυττάρων ευνοεί την παραγωγή κυτταροκινών της Th2 κυτταρικής απόκρισης, όπως η IL-4, η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και η ιντερλευκίνη-10 (IL-10) και τελικά οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας(235). Χαρακτηριστικό εύρημα που σχετίζεται με την ενεργοποίηση των B-κυττάρων στο ΣΣκ είναι η παραγωγή

αυτοαντισωμάτων, όπως τα anti-Scl70, τα ACA, τα αντισώματα έναντι RNA πολυμεράσης III κ.α που έχουν αναφερθεί ανωτέρω. Τα αυτοαντισώματα αυτά, παρότι σχετίζονται με συγκεκριμένους κλινικούς φαινότυπους νόσου δεν έχουν αποδεδειγμένο παθογενετικό ρόλο. Ωστόσο, κάποια άλλα, πρόσφατα περιγραφέντα αυτοαντισώματα σε ασθενείς με ΣΣκ είναι πιθανό να συντελούν άμεσα στην παθογένεια του νοσήματος, παρότι δεν είναι ειδικά για το ΣΣκ και ο ρόλος τους δεν είναι απόλυτα διευκρινισμένος. Μεταξύ αυτών κυρίαρχη θέση καταλαμβάνουν τα αντιενδοθηλιακά αυτοαντισώματα που ενδεχομένως επάγουν την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων, τα αυτοαντισώματα έναντι ινοβλαστών που φαίνεται να οδηγούν στην ενεργοποίηση των ινοβλαστών, τα διεγερτικά αυτοαντισώματα κατά του υποδοχέα του PDGF (PDGFR) που επάγουν την παραγωγή κολλαγόνου και ενεργοποιημένων ριζών οξυγόνου, καθώς επίσης και τα αντισώματα κατά του AT1 αδρενεργικού υποδοχέα και τα αντισώματα κατά του υποδοχέα τύπου A της ενδοθηλίνης-1(236).

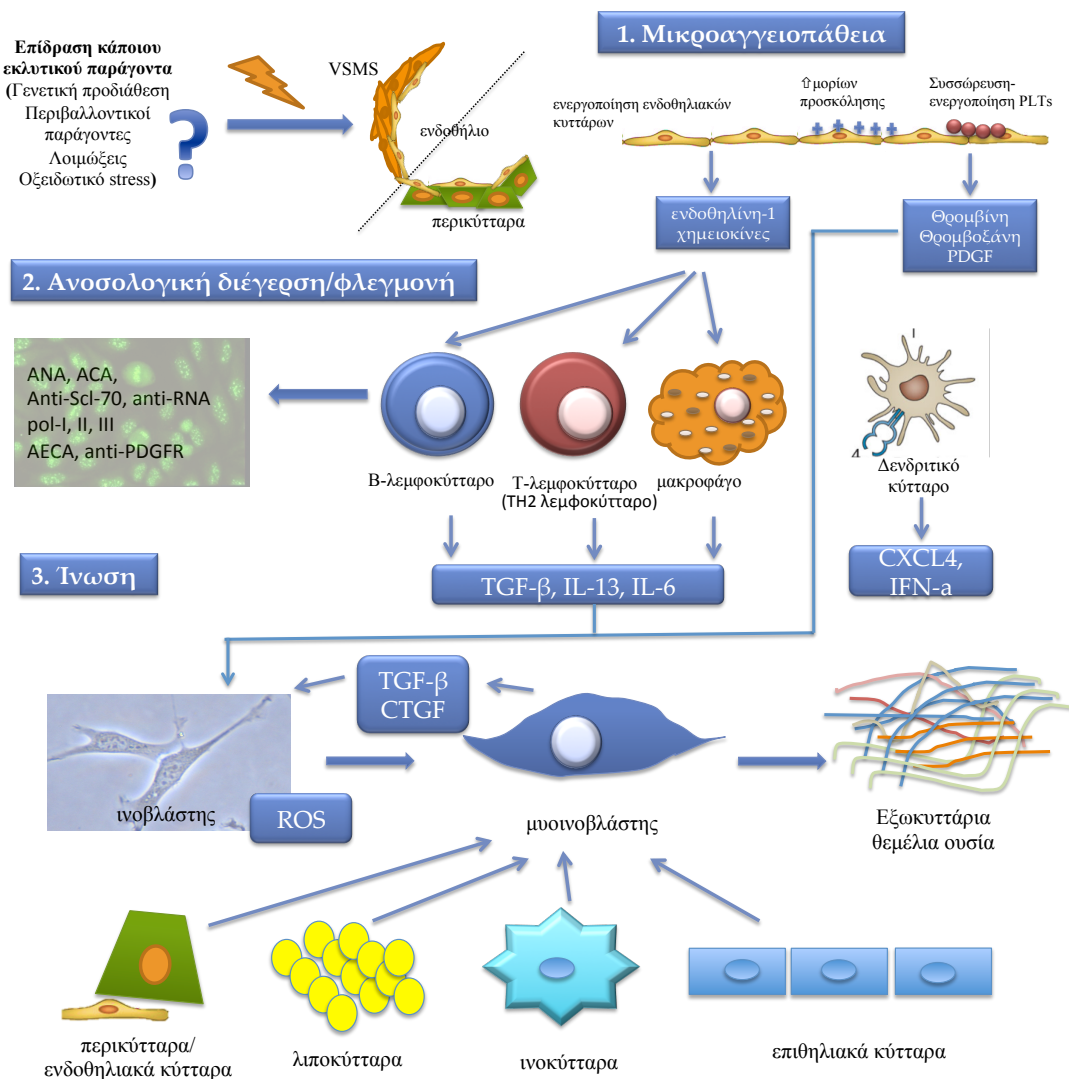
Εκτός από τη διέγερση των T- και B-λεμφοκυττάρων, καθοριστικό ρόλο στην παθογένεια του ΣΣκ φαίνεται ότι παίζουν και τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα. Τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα φυσιολογικά ανευρίσκονται στο περιφερικό αίμα και στα περιφερικά λεμφοειδή όργανα, παράγουν μεγάλες ποσότητες ιντερφερόνης τύπου-1 ως απόκριση σε ιογενείς λοιμώξεις και συνδέουν τη φυσική με την επίκτητη ανοσία. Ταυτόχρονα, έχει βρεθεί ότι διαμεσολαβούν την επαγόμενη από τους TLR υποδοχείς (Toll-Like-Receptor) φλεγμονή σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα όπως ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος, ενώ διηθούν το δέρμα των ασθενών με ΣΣκ, εμφανίζοντας χρόνια ενεργοποίηση και εκκρίνοντας ιντερφερόνη-α και CXCL4(237). Μία πρόσφατη μελέτη στην οποία χρησιμοποιήθηκε η τεχνολογία φασματοσκοπίας μάζας SELDI-TOF (surface-enhanced LASER desorption ionization time-of-flight) διαπίστωσε ότι η κύρια πρωτεΐνη που εφράζεται στο υπερκείμενο καλλιιεργειών πλασματοκυτταροειδών δενδριτικών κυττάρων από ασθενείς με ΣΣκ είναι ο CXCL4(238). Τα επίπεδα του CXCL4 στο περιφερικό αίμα βρέθηκαν ιδιαίτερα αυξημένα σε ασθενείς με πρώιμο διάχυτο ΣΣκ, σε σχέση με ασθενείς με περιορισμένο ΣΣκ και υγιείς μάρτυρες, ενώ συσχετιζόνταν με την έκταση της δερματικής προσβολής και με την παρουσία διάμεσης πνευμονικής ίνωσης και πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης. Σε 79 ασθενείς με ΣΣκ που παρακολούθηθηκαν για 18 μήνες, τα υψηλότερα αρχικά επίπεδα CXCL4 στο περιφερικό αίμα



συσχετίζονταν με ταχύτερη έκπτωση της DLCO, ταχύτερη επιδείνωση της διάμεσης ίνωσης στην αξονική τομογραφία θώρακος υψηλής ευκρίνειας και ταχύτερη επιδείνωση της δερματικής προσβολής(238). Επίσης σε ποντίκια, διαπιστώθηκε ότι η υποδόρια χορήγηση CXCL4 για 7 ημέρες οδήγησε σε έντονη φλεγμονώδη διήθηση της δερμίδας και της υποδερμίδας, καθώς και σε αύξηση του πάχους του δέρματος και των υποδερμικών στιβάδων(238). Σε μοριακό επίπεδο φαίνεται ότι ο CXCL4 δρα στο ΣΣκ καταστέλλοντας την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα FLI1. Ο FLI1 φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στο σχηματισμό, στην ωρίμανση και στη σταθεροποίηση νέων αγγείων, καθώς και στην καταστολή της παραγωγής κολλαγόνου από τους ινοβλάστες. Η παραγωγή CXCL4 από τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα διαμεσολαβείται, κατά πάσα πιθανότητα, από τον υποδοχέα TLR-8 που ανευρίσκεται στην επιφάνεια αυτών των κυττάρων στους ασθενείς με ΣΣκ, αλλά όχι και σε ασθενείς με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο ή σε υγιείς μάρτυρες. Ο δε CXCL4 δρα κατά κύριο τρόπο διευκολύνοντας την επαγόμενη από τον TLR-8 και TLR-9 παραγωγή ιντερφερόνης από τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα(237). Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν, επίσης, ότι ο CXCL4 στο ΣΣκ οργανώνει το κυτταρικό αλλά και το μικροβιακό DNA σε υγρά κρυσταλλικά ανοσοσυμπλέγματα που ενισχύουν τη διαμεσολαβούμενη από τον TLR-9 υποδοχέα ενεργοποίηση των πλασματοκυτταροειδών δενδριτικών κυττάρων και την παραγωγή ιντερφερόνης-α από τα κύτταρα αυτά(239).

Η ίνωση του δέρματος και των εσωτερικών οργάνων στο ΣΣκ, φαίνεται ότι προκαλείται από μία διαταραχή στην ισορροπία μεταξύ της παραγωγής εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας από τους ινοβλάστες και της αποδόμησής της κατά κύριο λόγο από τις ιστικές μεταλλοπρωτεϊνάσες. Πρωταρχικό ρόλο στο μηχανισμό αυτό φαίνεται ότι έχει η ενεργοποίηση των ινοβλαστών και η μετατροπή τους σε μυοινοβλάστες με την επίδραση μίας σειράς κυτταροκινών, χημειοκινών, της ενδοθηλίνης-1 και αυξητικών παραγόντων, όπως ο TGF-β, ο CTGF και ο PDGF (9,12). Οι μυοϊνοβλάστες εκφράζουν δείκτες μυϊκού κυττάρου (α-smooth muscle actin) και ταυτόχρονα παράγουν κολλαγόνο, υπό φυσιολογικές δε συνθήκες συμμετέχουν στη ουλοποίηση και τη συρρίκνωση των ουλών. Οι μυοϊνοβλάστες στο ΣΣκ μπορεί να προέλθουν και από άλλα κύτταρα, όπως τα περικύτταρα, τα ινοκύτταρα, τα

Εικόνα 1.2. Σχηματική απεικόνιση της παθοφυσιολογίας του συστηματικού σκληροδέρματος. Στα αρχικά στάδια της νόσου η επίδραση κάποιου άγνωστου μέχρι στιγμής εκλυτικού παράγοντα συνεπάγεται αγγειακή βλάβη με συνοδό ενεργοποίηση του ενδοθηλίου, παραγωγή ενδοθελίνης-1 και χημειοκινών. Ταυτόχρονα αυξάνεται η έκφραση των ενδοθηλιακών μορίων προσκόλλησης και ενεργοποιούνται τα αιμοπετάλια. Στο δεύτερο στάδιο ως απόκριση στις παραγόμενες χημειοκίνες ενεργοποιούνται τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Παράγονται αυτοαντισώματα από τα Β κύτταρα, TGF-β, IL-13 και IL-6 από τα T-λεμφοκύτταρα, τα Β-κύτταρα και τα μακροφάγα, καθώς και ιντερφερόνη-α και CXCL4 από τα δενδριτικά κύτταρα. Στο τρίτο στάδιο οι ινοβλάστες διεγείρονται υπό την επίδραση αυτών των κυτταροκινών, παράγουν ενεργές ρίζες οξυγόνου και διαφοροποιούνται σε μυοινοβλάστες που συνθέτουν την πλεονάζουσα εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Πλην των ινοβλαστών, δυνατότητα διαφοροποίησης σε μυοινοβλάστες εμφανίζουν επίσης τα περικύτταρα, τα λιποκύτταρα, τα ίνοκύτταρα και τα επιθηλιακά κύτταρα. (Τροποποιημένο από Allanore et al. Systemic sclerosis. Nat Rev Dis Primers 2015 Apr 23;1:15002 και Distler et al. Arthritis Rheumatol 2017;69(2):257-267)



λιποκύτταρα ή μέσω επιθήλιο-μεσεγχυματικής ή ενδοθήλιο-μεσεγχυματικής μετατροπής. Στους ασθενείς με ΣΣκ εκτός από αυξημένη παραγωγή μυοϊνοβλαστών παρατηρείται επίσης και μειωμένη απόπτωσή τους(240).

Ο βασικός ενορχηστρωτής της ίνωσης του ΣΣκ είναι ο TGF-β, ένας αυξητικός παράγοντας με πλειοτροπική δράση, που παράγεται από τους ινοβλάστες, τα αιμοπετάλια, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα λεμφοκύτταρα και διεκπεραιώνει τη δράση του μέσω ενός ενδοκυττάριου μηχανισμού διαβίβασης σήματος που περιλαμβάνει τα μόρια Smad, μια οικογένεια διατηρημένων ενδοκυττάριων σηματοδοτικών πρωτεϊνών. Ο TGF-β προσελκύει χημειοτακτικά τους ινοβλάστες, εμποδίζει την απόπτωσή τους και διεγείρει τη μετατροπή τους σε μυοϊνοβλάστες(241). Ακόμη φαίνεται ότι κάτω από ορισμένες συνθήκες ο αυξητικός αυτός παράγων μπορεί να ενισχύσει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, ανάλογα με την προέλευσή τους και το στάδιο του κυτταρικού κύκλου στο οποίο βρίσκονται(242). Επιπλέον, ο TGF-β αφενός μεν επάγει τη σύνθεση της εξοκυττάριας θεμέλιας ουσίας, αφετέρου δε, εμποδίζει την αποικοδόμησή της καταστέλλοντας την έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας και ενισχύοντας την έκφραση των αναστολέων τους (243). Επίσης ενισχύει την παραγωγή του CTGF και δρα σε συνεργασία μαζί του για την επαγωγή της ίνωσης (244).

Καθώς τα περισσότερα από τα χαρακτηριστικά των ινοβλαστών που προέρχονται από δέρμα ασθενών με ΣΣκ μπορούν να αναπαραχθούν σε υγιείς ινοβλάστες με την επίδραση σε αυτούς του TGF-β, προτάθηκε ότι ο σκληροδερματικός φαινότυπος ενδεχομένως οφείλεται σε αυτοκρινή διέγερση από τον TGF-β (245). Ο TGF-β έχει βρεθεί αυξημένος τόσο σε επίπεδο mRNA όσο και πρωτεΐνης στο δέρμα, στους πνεύμονες, αλλά και στην περιφερική κυκλοφορία ασθενών με ΣΣκ. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η αύξηση του TGF-β παρατηρείται σε πρώιμα, φλεγμονώδη στάδια νόσου, πριν εγκατασταθεί εκτεταμένη ίνωση. Ωστόσο, η αύξηση του TGF-β δεν υποστηρίζεται από το σύνολο των μελετών, ενώ αντιφατικά είναι τα αποτελέσματα και ως προς το ποιά από τις τρεις ισομορφές του μορίου είναι αυξημένη (242). Πρέπει να σημειωθεί ότι σε ασθενείς με dcSSc τα επίπεδα του κυκλοφορούντος TGF-β1 στον ορό, παραδόξως, βρέθηκαν μειωμένα και αντιστρόφως συσχετιζόμενα με τη βαρύτητα της ίνωσης του δέρματος. Το φαινόμενο

αυτό αποδόθηκε στον αποκλεισμό του TGF-β1 σε περιοχές δερματικών αλλοιώσεων, με συνεπακόλουθη μείωση της συγκέντρωσής του στον ορό(246). Το ρόλο του TGF-β στην ίνωση του ΣΣκ υποστηρίζουν μελέτες in vitro και in vivo που δείχνουν υπερέκφραση των υποδοχέων του σε ινοβλάστες ασθενών, πιθανώς ως απόρροια της έκθεσής τους σε κυτταροκίνες, όπως ο PDGF, ο επιδερμικός παράγοντας αύξησης (EGF) και ο ίδιος ο TGF-β(247). Σε μια ενδιαφέρουσα έρευνα, η αύξηση της παραγωγής κολλαγόνου σε ασθενείς με ΣΣκ αποδόθηκε στην αύξηση του λόγου των υποδοχέων τύπου I προς τους υποδοχείς τύπου II του TGF-β στην επιφάνεια ινοβλαστών, προερχομένων από βιοψίες δέρματος των πασχόντων(248). Υπάρχουν δε ενδείξεις από πειράματα σε ποντίκια, ότι η επαγόμενη μετά τη γέννηση σταθερή ενεργοποίηση του υποδοχέα τύπου I του TGF-β των ινοβλαστών αναπαράγει τους κλινικούς, ιστολογικούς και βιοχημικούς χαρακτήρες του σκληροδέρματος(249). Επιπλέον, σε ινοβλάστες ασθενών με ΣΣκ έχει περιγραφεί αύξηση του Smad 3, καθώς και αυξημένη φωσφορυλίωση των Smad 2 και 3, που παριστούν ενδοκυττάρια μόρια μεταγωγής σήματος από τον TGF-β(250). Τέλος, η αναστολή του TGF-β π.χ. με μονοκλωνικά αντισώματα, διαλυτούς υποδοχείς, αναστολείς των υποδοχέων του κ.α. σε ποικίλα πειραματικά μοντέλα οδήγησε σε ύφεση της ίνωσης (251,252). Δυστυχώς, στον άνθρωπο η χορήγησή του CAT-192, ενός ανασυνδυασμένου ανθρώπινου αντισώματος κατά του TGF-β δεν έδειξε κάποιο όφελος από το δέρμα ή τα εσωτερικά όργανα, αντίθετα συνδυάστηκε με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα(253).

Κατ'αντιστοιχία προς τον TGF-β και ο CTGF επάγει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και την παραγωγή συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και λειτουργεί χημειοτακτικά για τα μεσεγχυματικά κύτταρα. Δρα συνεργικά με τον TGF-β για την επαγωγή γονιδίων που ευνοούν την ίνωση. Μάλιστα, ενώ από μόνοι τους ο TGF-β και ο CTGF παράγουν μόνο μία παροδική ινωτική απόκριση, όταν δρουν συνεργικά διαπιστώνεται εμμένουσα ίνωση(254). Τα επίπεδα του CTGF είναι αυξημένα στο δέρμα ασθενών με ΣΣκ, ενώ έχει διαπιστωθεί ότι υπερεκφράζεται και από ινοβλάστες ασθενών με τη νόσο. Η αδρανοποίηση του CTGF με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων μείωσε την ίνωση σε ζωικά μοντέλα σκληροδέρματος σε ποντίκια (255,256).

Ο PDGF, τέλος, είναι ένας ισχυρός μιτογόνος και χημειοτακτικός παράγοντας για

κύτταρα μεσεγχυματικής προέλευσης και παίζει σημαντικό ρόλο σε μια σειρά από φυσιολογικές διεργασίες όπως η εμβρυογένεση και η επούλωση των πληγών, αλλά εμπλέκεται και σε παθολογικές καταστάσεις όπως η πνευμονική αρτηριακή υπέρταση και η πνευμονική ίνωση. Παράγεται κυρίως από τα μακροφάγα και τα αιμοπετάλια, αλλά και από τους ινοβλάστες(257). Ο PDGF και ο υποδοχέας του έχουν βρεθεί να εκφράζονται στο δέρμα ασθενών με ΣΣκ, αλλά όχι στο δέρμα υγιών μαρτύρων. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα PDGF-Ra σε ποντίκια οδηγεί σε ίνωση του δέρματος και των εσωτερικών οργάνων(258). Η αναστολή των υποδοχέων του PDGF με τη χρήση crenolanib, ενός αναστολέα τυροσινικής κινάσης, μείωσε τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση ινοβλαστών από υγιείς μάρτυρες και από ασθενείς με ΣΣκ και περιόρισε την ίνωση της καρδιάς και του δέρματος σε ζωικά μοντέλα ποντικών που εμφάνιζαν ίνωση επαγόμενη από την αγγειοτενσίνη II(259).

### **1.2.6 Διάγνωση**

Η διάγνωση του ΣΣκ, όπως εξάλλου και της πλειονότητας των ρευματικών νοσημάτων, είναι κλινική, υποβοηθείται όμως σημαντικά από την ανίχνευση των χαρακτηριστικών για το νόσημα αυτοαντισωμάτων και από τα ευρήματα της τριχοειδοσκόπησης. Τα κριτήρια ταξινόμησης για το ΣΣκ που προτάθηκαν το 1980 από την Αμερικανική Εταιρεία Ρευματολογίας (ARA: American Rheumatism Association τώρα πλέον Αμερικανικό Κολλέγιο Ρευματολογίας-ACR: American College of Rheumatology)(260) εξυπηρετούσαν την ένταξη ασθενών σε μελέτες, είχαν όμως μικρή διαγνωστική αξία, καθώς η ευαισθησία τους για τις πρώιμες φάσεις του νοσήματος ήταν ελάχιστη(261). Το 2001, οι Leroy και Medsger (253) πρότειναν τη διάκριση μιας πρώιμης μορφής σκληροδέρματος (limited Systemic Sclerosis) επί τη βάση της παρουσίας RP, που τεκμηριώνεται είτε υποκειμενικά είτε αντικειμενικά, σε συνδυασμό με τα χαρακτηριστικά για το ΣΣκ αυτοαντισώματα και/ή τα τυπικά ευρήματα στην τριχοειδοσκόπηση. Η πρώιμη αυτή μορφή δυνητικά θα μπορούσε να εξελιχθεί είτε σε περιορισμένο (lcSSc) είτε σε διάχυτο συστηματικό σκληρόδερμα (dcSSc). Τα κριτήρια αυτά παρότι είχαν σαφώς μεγαλύτερη ευαισθησία για την αναγνώριση της πρώιμης νόσου δεν έτυχαν ευρείας αποδοχής από την επιστημονική κοινότητα(261). Ακολούθησαν αρκετές διαφορετικές προτάσεις για τη θέσπιση νέων κριτηρίων(262), μέχρι το 2013, οπότε δημοσιεύτηκαν τα κριτήρια ταξινόμησης για το ΣΣκ που υιοθέτησαν από κοινού η Ευρωπαϊκή Ένωση Εναντίον των Ρευματικών Νοσημάτων (European League Against Rheumatism/EULAR) και το ACR(263). Τα

κριτήρια αυτά αξιολογούν 7 διαφορετικές ενότητες κλινικών και εργαστηριακών εκδηλώσεων του νοσήματος, κάθε μία εκ των οποίων λαμβάνει διαφορετική βαθμολογία, όπως φαίνεται στον πίνακα 1.1 (προσβολή δέρματος/σκληροδερμία, αλλοιώσεις των άκρων των δακτύλων, τηλεαγγειεκτασίες, παθολογικά ευρήματα στην τριχοειδοσκόπηση, πνευμονική αρτηριακή υπέρταση/διάμεση πνευμονική ίνωση, φαινόμενο Raynaud, τυπικά για το ΣΣκ αυτοαντισώματα). Για την ταξινόμηση ως ΣΣκ απαιτούνται τουλάχιστον 9 βαθμοί.

Η διαφορική διάγνωση του νοσήματος περιλαμβάνει μια πληθώρα καταστάσεων που προσβάλλουν το δέρμα, τα αγγεία και ενίοτε και τα εσωτερικά όργανα, όπως η γενικευμένη μορφέα, η ηωσινοφιλική περιτονίτιδα, η αμυλοείδωση, η επαγόμενη από το γαδολίνιο νεφρογενής συστηματική ίνωση, το σκληρομυξοίδημα, το σκληροίδημα, ο σακχαρώδης διαβήτης (διαβητική χειραρθροπάθεια), το σύνδρομο πολυνευροπάθειας, οργανομεγαλίας, ενδοκρινοπάθειας, μονοκλωνικής γαμμαπάθειας, και δερματικών αλλοιώσεων (POEMS), η χρόνια νόσος μοσχεύματος κατά ξενιστού, τα προγηροειδή σύνδρομα (π.χ. το σύνδρομο Werner) κα(264,265). Στη διαφορική διάγνωση θα πρέπει οπωσδήποτε να συμπεριληφθούν άλλα αίτια του RP (π.χ. φάρμακα, χρήση κρουστικών μηχανημάτων, σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα, ενδοκρινικές διαταραχές, κρυσφαιριναιμία, νόσος εκ ψυχοσυγκολλητινών κα.)(19) καθώς και άλλα αυτοάνοσα συστηματικά νοσήματα.

Η πρόωμη διάγνωση του ΣΣκ είναι συχνά δύσκολη. Αποτελεί ωστόσο τον ακρογωνιαίο λίθο για την αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση αυτού του νοσήματος, καθώς η καλύτερη κατανόηση της παθοφυσιολογίας του σκληροδέρματος δημιούργησε την έννοια ενός παραθύρου ευκαιρίας κατά την πρόωμη φάση της νόσου, οπότε η θεραπευτική παρέμβαση πιθανώς να αναστέλλει ή να επιβραδύνει την εγκατάσταση των μη αναστρέψιμων επιπλοκών της ίνωσης(266). Πρόσφατα υιοθετήθηκε ο όρος πολύ πρόωμη διάγνωση του συστηματικού σκληροδέρματος (VEDOSS). Τα κριτήρια που προτάθηκαν και επικυρώθηκαν από την ομάδα της EUSTAR για την πολύ πρόωμη διάγνωση του συστηματικού σκληροδέρματος περιλαμβάνουν το RP, τα οίδηματώδη δάκτυλα, την παθολογική τριχοειδοσκόπηση, τα θετικά ACA και τα θετικά anti-Scl-70 αντισώματα(267). Η EUSTAR πρότεινε ότι η παρουσία RP, θετικών αντιπυρηνικών αντισωμάτων και οίδηματώδων δακτύλων αποτελεί κόκκινη σημαία που θα πρέπει να κινητοποιεί τους θεράποντες για πρόωμη

παραπομπή των ασθενών σε εξειδικευμένο διαγνωστικό κέντρο. Μεταξύ των ασθενών που παραπέμπονται η ανίχνευση παθολογικής τριχοειδοσκόπησης ή/και θετικών των ειδικών για το ΣΣκ αυτοαντισωμάτων θέτει τη διάγνωση του VEDOSS(267).

**Πίνακας 1.1** Τα κριτήρια του Αμερικανικού κολλεγίου Ρευματολογίας/Ευρωπαϊκής Ένωσης εναντίον των ρευματικών νοσημάτων για την ταξινόμηση του συστηματικού σκληροδέρματος\* (προσαρμοσμένο στα Ελληνικά από van den Hoogen et al. Ann Rheum Dis. 2013;72:1747-1755)

<b>Κλινικό/Εργαστηριακό Εύρημα</b>	<b>Υποπερίπτωση</b>	<b>Score</b>
Πάχυνση του δέρματος των δακτύλων αμφοτέρων των χεριών που εκτείνεται εγγύς των ΜΚΦ αρθρώσεων (επαρκές κριτήριο)	-	9
Πάχυνση του δέρματος των δακτύλων (υπολογίζεται μόνο το υψηλότερο score)	οιδηματώδη δάκτυλα	2
	σκληροδακτυλία των δακτύλων άπω των ΜΚΦ αρθρώσεων αλλά εγγύς των ΕΜΦ αρθρώσεων	4
Αλλοιώσεις στα ακροδάκτυλα (υπολογίζεται μόνο το υψηλότερο score)	έλκη στα ακροδάκτυλα	2
	pitting scars στα ακροδάκτυλα	3
Τηλαγγειεκτασίες	-	2
Παθολογική τριχοειδοσκόπηση	-	2
Πνευμονική αρτηριακή υπέρταση και/ή Διάμεση πνευμονική ίνωση (το μέγιστο score είναι 2)	Πνευμονική αρτηριακή υπέρταση	2
	Διάμεση πνευμονική ίνωση	2
Φαινόμενο Raynaud	-	3
Σχετιζόμενα με το συστηματικό σκληρόδερμα αυτοαντισώματα (αντικεντρομεριδιακά, έναντι τοποϊσομεράσης I (anti-Scl-70), anti-RNA polymerase III (το μέγιστο score είναι 3)	αντικεντρομεριδιακά	3
	έναντι τοποϊσομεράσης I (anti-Scl-70)	3
	anti-RNA polymerase III	3
* Αυτά τα κριτήρια εφαρμόζονται σε οποιονδήποτε ασθενή είναι υποψήφιος για ένταξη σε μελέτη για το συστηματικό σκληρόδερμα. Τα κριτήρια δεν εφαρμόζονται σε ασθενείς με πάχυνση του δέρματος που φείδεται των δακτύλων ή σε ασθενείς που έχουν κάποιο νόσημα προσομοιάζον στο συστηματικό σκληρόδερμα το οποίο εξηγεί καλύτερα τις κλινικές τους εκδηλώσεις (πχ. νεφρογενής σκληρυντική ίνωση, γενικευμένη μορφέα, ηωσινοφιλική περιτονίτιδα, διαβητικό σκληροίδημα, σκληρομυξοίδημα, ερυθρομυαλγία, πορφυρία, σκληρυντιό λειχήνα, νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστού, διαβητική χειραρθροπάθεια. # Το ολικό score υπολογίζεται από το άθροισμα των επιμέρους score σε κάθε κατηγορία. Ασθενείς με ολικό score ≥9 ταξινομούνται ως έχοντες συστηματικό σκληρόδερμα.		

### 1.2.7 Πρόγνωση

Η ανάπτυξη προγνωστικών δεικτών στο ΣΣκ έχει ιδιαίτερη σημασία για την έγκαιρη αναγνώριση ασθενών στους οποίους αναμένεται μεγαλύτερη κλινική επιβάρυνση και δυσμενέστερη εξέλιξη και οι οποίοι θα ωφεληθούν περισσότερο από μία επιθετικότερη πρώιμη παρέμβαση. Το ΣΣκ είναι μια νόσος που επιβαρύνει σημαντικά την επιβίωση και την ποιότητα ζωής των πασχόντων. Μία μεταανάλυση 2691 ασθενών με ΣΣκ, που παρακολούθηθηκαν για μια περίοδο 40 ετών, έδειξε ότι ο προτυπωμένος λόγος θνητότητας των πασχόντων ήταν σχεδόν τετραπλάσιος σε σχέση με σταθμισμένους ως προς την ηλικία και το φύλο μάρτυρες από το γενικό πληθυσμό (SMR 3.5, 95% CI 3.03-4.11). Έχει ενδιαφέρον ότι ο προτυπωμένος λόγος θνησιμότητας δε φάνηκε να αλλάζει με το χρόνο. Ανάμεσα σε 732 θανάτους που καταγράφησαν σε αυτή τη μεταανάλυση συχνότερη αιτία (29%) ήταν η προσβολή της καρδιάς και ακολουθούσε η προσβολή του πνεύμονα(268). Κάτ' αντιδιαστολή προς αυτά τα ευρήματα που δείχνουν ότι οι θάνατοι από ΣΣκ παραμένουν σταθεροί στο χρόνο, μια Ιταλική μελέτη που συνέκρινε διαχρονικά τα δεδομένα επιβίωσης των ασθενών από το 1935 μέχρι το 2011, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η δεκαετής επιβίωση από 54% που ήταν στις παλαιότερες μελέτες (1935-1974), ανέβηκε στο 74% στο διάστημα 1976-1999 και στο 83.5% στις πιο πρόσφατες μελέτες (2000-2011)(167). Μία άλλη μεταανάλυση δεδομένων από μελέτες παρατήρησης που είχαν δημοσιευθεί μέχρι το 2013, υπολόγισε τον προτυπωμένο λόγο θνησιμότητας σε 2.72 (95% CI: 1.93–3.83) βάσει των δεδομένων 9239 ασθενών από 17 μελέτες. Η ίδια μεταανάλυση προσδιόρισε την 5-ετή και 10-ετή επιβίωση των ασθενών από την έναρξη της νόσου σε 84.1% και 75.5%, αντιστοίχως, ενώ ως κύρια αιτία θανάτου περιέγραψε την πνευμονική προσβολή(269). Σε μια παλαιότερη μεταανάλυση των δεδομένων επιβίωσης ασθενών με ΣΣκ πρόσφατης έναρξης (incident cases) από 7 διαφορετικά κέντρα στην Ευρώπη, τις ΗΠΑ και την Ιαπωνία, καταγράφηκαν 578 θάνατοι μεταξύ 1645 ασθενών, σε βάθος 11,521 ανθρωπο-ετών παρακολούθησης. Οι προτυπωμένοι λόγοι θνησιμότητας σε αυτή τη μελέτη διέφεραν από κέντρο σε κέντρο και κυμαίνοντο από 1.5 μέχρι 7.2(168). Σε μία άλλη πολυεθνική κοορτή ασθενών με ΣΣκ που συμπεριέλαβε 1070 ασθενείς από την έναρξη της νόσου τους (inception cohort), ο προτυπωμένος λόγος θνησιμότητας εκτιμήθηκε στο 4.06 (95% διάστημα αξιοπιστίας [95% CI] 3.39-4.85). Υπολογίσθηκε ακόμη ότι η νόσος στοιχίζει μέχρι και 22.4 χαμένα χρόνια ζωής σε γυναίκες και μέχρι και 26.0 χαμένα χρόνια ζωής σε άνδρες, ενώ εκτιμήθηκε ότι για το διάχυτο υπότυπο της νόσου η θνητότητα ανέρχεται



στο 24.2% στην οκταετία(171). Όσον αφορά στον ελληνικό χώρο, σε μια κοορτή 115 ασθενών με ΣΣκ πρόσφατης έναρξης (inception cohort), διαπιστώθηκε θνητότητα 20% σε διάρκεια παρακολούθησης  $8.48 \pm 4.04$  ετών(270). Τα κυριότερα αίτια θανάτου, όπως αυτά προέκυψαν από ανάλυση των δεδομένων της κοορτής της EUSTAR που το 2010 περιελάμβανε 5860 ασθενείς, ήταν η διάμεση πνευμονική ίνωση σε ποσοστό 35%, η πνευμονική αρτηριακή υπέρταση σε ποσοστό 26%, η προσβολή της καρδιάς ομοίως σε ποσοστό 26% και η νεφρική κρίση του σκληροδέρματος σε ποσοστό 4%. Από τις μη σχετιζόμενες με το ΣΣκ αιτίες θανάτου συχνότερες ήταν οι λοιμώξεις (33%), οι νεοπλασίες (31%) και τα νοσήματα του καρδιαγγειακού (29%)(172).

Με βάση τα δεδομένα της EUSTAR από 695 ασθενείς με ΣΣκ που πραγματοποίησαν την αρχική τους επίσκεψη εντός 1 έτους από την έναρξη του RP, ο κύριος παράγοντας κινδύνου για την έκπτωση των τιμών της FVC ήταν η διάχυτη δερματική προσβολή. Αντιστοίχως, για την εκδήλωση υψηλών τιμών συστολικής πίεσης της πνευμονικής αρτηρίας (PASP>40mmHg) στο καρδιακό υπερηχογράφημα παράγων κινδύνου ήταν η αυξημένη ηλικία των ασθενών. Τέλος, παράγοντες κινδύνου για εκδηλώσεις από την καρδιά ήταν τα θετικά αντι-Sc170 αντισώματα και η μεγάλη ηλικία, ενώ για τη νεφρική κρίση του σκληροδέρματος ήταν η μεγάλη ηλικία, το άρρεν φύλλο και τα anti-RNA-polymerase-III αντισώματα(179)

Η πρόγνωση του ΣΣκ διαφοροποιείται ανάλογα με τον υπότυπο της νόσου, καθώς ασθενείς με περιορισμένη νόσο συχνά παραμένουν σταθεροί για πολλά χρόνια, ενώ αντίθετα, ασθενείς με διάχυτο υπότυπο νόσου ενδέχεται να εμφανίσουν ταχεία επιδείνωση που μπορεί να οδηγήσει και στο θάνατο. Αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει ως σημαντικούς προγνωστικούς παράγοντες για αυξημένη θνητότητα στο ΣΣκ τη μεγάλη ηλικία κατά την έναρξη της νόσου(171,270,271), το άρρεν φύλλο(171,270,271), το διάχυτο υπότυπο νόσου (171,270–272), την πνευμονική ίνωση(270,272), την ΠΑΥ(171,270), τη DLCO <60% του προβλεπομένου(270), καθώς και τη νεφρική(171,271) και καρδιακή προσβολή(271,272). Το 2011 προτάθηκε ένα προγνωστικό μοντέλο για την πρόβλεψη της πενταετούς επιβίωσης στο ΣΣκ που περιελάμβανε την ηλικία, το άρρεν φύλλο, την παρουσία λευκώματος στα ούρα, την ταχύτητα καθίζησης ερυθρών και την DLCO. Στη ROC ανάλυση το μοντέλο αυτό είχε επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (AUC) 0.78(273).

### 1.2.8 Θεραπεία

Η θεραπεία του ΣΣκ παρουσιάζει σημαντικές προκλήσεις και ιδιαιτερότητες, καθώς, μέχρι στιγμής, δεν υπάρχει κάποιο φάρμακο που να τροποποιεί συνολικά τη φυσική πορεία της νόσου και να οδηγεί σε ίαση. Αντίθετα, η θεραπευτική προσέγγιση είναι συμπτωματική και διαφοροποιείται κατά περίπτωση. Κάποιες από τις εφαρμοζόμενες θεραπείες, όπως η κυκλοφωσφαμίδη, εμφανίζουν σημαντική τοξικότητα και ενίοτε παρέχουν οριακό μόνο όφελος. Ωστόσο, κατά τα τελευταία έτη έχει σημειωθεί αισθητή πρόοδος στη διάγνωση και θεραπεία του ΣΣκ, που αντανακλάται στη βελτίωση της επιβίωσης των ασθενών συγκριτικά με το παρελθόν(167). Το 2009 δημοσιεύθηκαν για πρώτη φορά κατευθυντήριες οδηγίες για τη θεραπεία του ΣΣκ από τη EUSTAR(274), οι οποίες πρόσφατα αναθεωρήθηκαν(275). Πρωταρχική σημασία στην επιλογή της θεραπείας έχει αφενός μεν ο καθορισμός της έκτασης της νόσου και της προσβολής ή μη εσωτερικών οργάνων και αφετέρου η εκτίμηση του ιατρού για το κατά πόσον οι ήδη υπάρχουσες βλάβες είναι αναστρέψιμες. Ασθενείς με διάχυτη δερματική προσβολή ή βαριά προσβολή εσωτερικών οργάνων συνήθως αντιμετωπίζονται πιο επιθετικά με ανοσοκατασταλτική αγωγή, ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης μειζόνων επιπλοκών.

Όσον αφορά στη θεραπεία της σκλήρυνσης του δέρματος σε ασθενείς χωρίς προσβολή εσωτερικών οργάνων συνήθως χρησιμοποιείται η μεθοτρεξάτη ή το μυκοφαινολικό οξύ. Η επιλογή του ενός ή του άλλου φαρμάκου συχνά καθοδηγείται από την παρουσία λοιπών εκδηλώσεων της νόσου, όπως η αρθρίτιδα και η μυοσίτιδα στην περίπτωση της μεθοτρεξάτης, ή η διάμεση πνευμονική ίνωση στην περίπτωση του μυκοφαινολικού. Σε ασθενείς με ταχέως εξελισσόμενη δερματική ίνωση ή ανθεκτικούς στη θεραπεία μπορεί να χορηγηθεί κυκλοφωσφαμίδη. Δύο διπλά τυφλές, ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο μελέτες που συμπεριέλαβαν 29 και 71 ασθενείς με ΣΣκ, αντίστοιχα, έδειξαν ότι η ομάδα που έλαβε μεθοτρεξάτη είχε βελτίωση της ίνωσης του δέρματος αν και η μεταβολή του mRSS δεν ήταν στατιστικά σημαντική(276,277). Η χρήση του μυκοφαινολικού οξέος για τη θεραπεία της ίνωσης του δέρματος υποστηρίζεται από μικρές μελέτες παρατήρησης(278–280) αλλά και από την post hoc ανάλυση των αποτελεσμάτων της Scleroderma Lung Study I και II(281), δύο διπλά τυφλών τυχαιοποιημένων μελετών που έδειξαν την υπεροχή της κυκλοφωσφαμίδης σε σχέση με το εικονικό φάρμακο και την αποτελεσματικότητα του μυκοφαινολικού οξέος στη θεραπεία της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης του

σκληροδέρματος. Αντιστοίχως, η δράση της κυκλοφωσφαμίδης στην ίνωση του δέρματος αποτέλεσε το δευτερογενές καταληκτικό σημείο σε μία διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, τυχαιοποιημένη μελέτη, που εξέτασε το ρόλο του φαρμάκου στην επαγόμενη από το ΣΣκ διάμεση πνευμονική ίνωση(282). Νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι εκτός από τις θεραπευτικές προσεγγίσεις που περιεγράφησαν ανωτέρω αποτελεσματικότητα στη μείωση του mRSS σε ασθενείς με ΣΣκ εμφανίζει επίσης το rituximab(283–285), καθώς και το tocilizumab(286).

Αναφορικά με τη θεραπεία του RP και των ελκών δακτύλων εκτός από τη φαρμακευτική παρέμβαση ιδιαίτερη σημασία έχουν τα γενικά μέτρα πρόληψης των επεισοδίων αγγειόσπασμου. Συγκεκριμένα στους ασθενείς συνιστάται η αποφυγή έκθεσης σε ψύχος τόσο των χεριών όσο και ολόκληρου του σώματος, η αποφυγή του καπνίσματος, η αποφυγή συμπαθομιμητικών φαρμάκων (π.χ. αποσυμφορητικά ρινός, χάπια διαίτης κα.), ή φαρμάκων για την αντιμετώπιση της ημικρανίας (π.χ. σουματριπάνη) και ο έλεγχος του στρες(19). Η αγωγή πρώτης γραμμής για την αντιμετώπιση του RP περιλαμβάνει αναστολείς διαύλων ασβεστίου της ομάδας των διυδροπυρινών (π.χ. νιφεδιπίνη 30-180mg/d ή αμλοδιπίνη 5-20mg/d -συνήθως προτιμώνται σκευάσματα βραδείας αποδέσμευσης). Μία πρόσφατη μεταανάλυση έδειξε ότι τα φάρμακα αυτά μειώνουν τη συχνότητα των κρίσεων κατά 6 περίπου κρίσεις την εβδομάδα σε σχέση με το placebo, αλλά ταυτόχρονα μειώνουν και τη βαρύτητά τους(287). Εναλλακτικά σε ασθενείς με βαριές εκδηλώσεις RP ή σε όσους δεν ανταποκρίνονται στους αναστολείς διαύλων ασβεστίου μπορούν να χορηγηθούν αναστολείς φωσφοδιεστεράσης-5 (π.χ. σιλденаφίλη ή τανταλαφίλη) που ομοίως φάνηκε από μια μεταανάλυση ότι μειώνουν τη συχνότητα, τη διάρκεια και τη βαρύτητα των κρίσεων(288). Σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στην αγωγή πρώτης γραμμής μπορεί επίσης να χορηγηθεί συνδυασμός αναστολέων διαύλων ασβεστίου με άλλα σκευάσματα, όπως οι αναστολείς φωσφοδιεστεράσης-5, τα τοπικά νιτρώδη, η λοσαρτάνη, η φλουοξετίνη, καθώς και μικρές δόσεις ακετυλοσαλικυλικού οξέος. Τέλος ως αγωγή τρίτης γραμμής σε βαριές περιπτώσεις, όπου έχει αποτύχει η από του στόματος θεραπεία, μπορεί να εξετασθεί η χορήγηση ενδοφλέβιων αναλόγων προστακυκλίνης (π.χ. ιλοπρόστη σε δόση 0.5–3 ng/kg/min για 3–5 συνεχόμενες ημέρες)(289) και ως αγωγή τέταρτης γραμμής η χειρουργική συμπαθεκτομή σε συνδυασμό με φαρμακοθεραπεία(19).

Παράλληλα, δεδομένα από μία μεταανάλυση(290) και από κάποιες τυχαιοποιημένες μελέτες δείχνουν ότι στην αντιμετώπιση των ελκών δακτύλων έχουν θέση οι αναστολείς φωσφοδιεστεράσης-5(291,292) και τα ενδοφλέβια ανάλογα προστακυκλίνης(293,294) τόσο για την επούλωση όσο και για την πρόληψη των ελκών, καθώς και οι ανταγωνιστές των υποδοχέων ενδοθηλίνης-1 (Bosentan)(295,296) για τη μείωση της εμφάνισης νέων ελκών δακτύλων.

Στις αναθεωρημένες οδηγίες της EUSTAR για τη θεραπεία της ΠΑΥ στο ΣΣκ αναφέρεται ότι με βάση τα δεδομένα καλά σχεδιασμένων, διπλά τυφλών τυχαιοποιημένων μελετών σε μεγάλους πληθυσμούς ασθενών, που περιελάμβαναν και πάσχοντες από συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα, προτείνεται, επαγωγικά, η χρήση των αναστολέων ενδοθηλίνης-1, (ambrisentan, bosentan and macitentan), των αναστολέων φωσφοδιεστεράσης-5 (σιλδεναφίλης, τανταλαφίλης) και του riociguat και στη σχετιζόμενη με το ΣΣκ ΠΑΥ(275). Η θεραπεία αυτών των ασθενών συνιστάται να ακολουθεί τις πρόσφατα δημοσιευμένες διεθνείς οδηγίες για την αντιμετώπιση της ΠΑΥ(297). Σε ασθενείς με βαριά προοδευτικά εξελισσόμενη ΠΑΥ πρέπει να εξετάζεται η πιθανότητα πρώιμης χορήγησης συνδυασμού φαρμάκων από διαφορετικές κατηγορίες.

Αναφορικά με τη θεραπεία της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στο ΣΣκ, ιδιαίτερη σημασία έχει η απόφαση για έναρξη της αγωγής, καθώς το όφελος από τα διαθέσιμα σήμερα φάρμακα είναι μικρό και η τοξικότητά τους σημαντική. Αρκετοί ασθενείς με διάμεση πνευμονική ίνωση σχετιζόμενη με το ΣΣκ έχουν σταθερή ή βραδέως εξελισσόμενη νόσο και είναι αμφίβολο εάν θα ωφεληθούν από την έναρξη μιας δύναμει τοξικής θεραπείας. Αντιθέτως, ασθενείς που εμφανίζουν ταχεία επιδείνωση των λειτουργικών δεικτών της αναπνοής (FVC και DLCO) χρήζουν άμεσης θεραπευτικής παρέμβασης. Ομοίως, χειρότερη πρόγνωση και ανάγκη επιθετικής θεραπευτικής αντιμετώπισης έχουν και ασθενείς που στην HRCT θώρακος εμφανίζουν έκταση πνευμονικής προσβολής >20%(298). Στην παρούσα φάση ως θεραπεία πρώτης γραμμής για την επαγωγή ύφεσης προτιμάται το μυκοφαινολικό οξύ έναντι της κυκλοφωσφαμίδης, λόγω του ευνοϊκότερου προφίλ ασφαλείας του και της συγκρίσιμης αποτελεσματικότητάς του, όπως αυτή αναδεικνύεται μέσα από τη Scleroderma Lung Study II, μια διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη(299). Η κυκλοφωσφαμίδη έχει, επίσης, τεκμηριωμένο ρόλο στην αρχική αντιμετώπιση της

διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στο ΣΣκ. Χρησιμοποιείται, όμως, ως αγωγή δεύτερης γραμμής, κυρίως λόγω προβληματισμών σχετικά με την ασφάλειά της. Μία καλά σχεδιασμένη διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη έδειξε ότι η δράση της από του στόματος κυκλοφωσφαμίδης στη βελτίωση της FVC και της ολικής πνευμονικής χωρητικότητας είναι μικρή αλλά στατιστικά σημαντική. Επίσης το φάρμακο μείωσε την εξέλιξη της ακτινολογικής βλάβης στη HRCT θώρακος, ενώ βελτίωσε και το δέρμα(282). Ωστόσο, τα ευεργετικά αποτελέσματα της κυκλοφωσφαμίδης στην FVC είναι βραχυπρόθεσμα και δε φάνηκε να διατηρούνται στους 24 μήνες μετά τη διακοπή της αγωγής. Ως θεραπεία συντήρησης για τη διάμεση πνευμονική ίνωση στο ΣΣκ έχει χρησιμοποιηθεί το μυκοφαινολικό οξύ και η αζαθειοπρίνη.

Μία ενδιαφέρουσα θεραπευτική δυνατότητα σε ασθενείς με ανθεκτική νόσο που έχουν αποτύχει στη θεραπεία με μυκοφαινολικό οξύ ή κυκλοφωσφαμίδη αποτελεί το rituximab, καθώς νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι είναι αποτελεσματικό στη βελτίωση των λειτουργικών δοκιμασιών του πνεύμονα αλλά και στη βελτίωση της ίνωσης του δέρματος(283–285). Η αποτελεσματικότητα του rituximab αναδείχθηκε από κάποιες ανοικτές μελέτες παρατήρησης(283,284,300,301) και από μία μικρή τυχαιοποιημένη μελέτη που συμπεριέλαβε 8 ασθενείς που έλαβαν rituximab σε συνδυασμό με την κλασική θεραπεία (πρεδνιζολόνη, κυκλοφωσφαμίδη, μυκοφαινολικό) και 6 ασθενείς στην ομάδα ελέγχου που έλαβαν μόνο την κλασική θεραπεία. Στους ασθενείς της ομάδας του rituximab διαπιστώθηκε βελτίωση της FVC και του DLCO(285). Η επανεκτίμηση των ασθενών αυτών στα δύο χρόνια μετά από χορήγηση δύο ακόμη κύκλων rituximab στους 12 και στους 18 μήνες έδειξε ομοίως σημαντική βελτίωση της FVC και της DLCO(302). Επίσης, σε ασθενείς με διάμεση πνευμονική ίνωση από ΣΣκ έχει δοκιμαστεί με κάποια ενθαρρυντικά αποτελέσματα το Tocilizumab(303), αν και στη διπλά τυφλή, τυχαιοποιημένη μελέτη faSScinate η βελτίωση του mRSS και η συγκριτικά μικρότερη επιδείνωση της FVC που παρατηρήθηκε στους ασθενείς που ελάμβαναν υποδόριο Tocilizumab σε σχέση με την ομάδα ελέγχου δεν ήταν στατιστικά σημαντική(286). Επιπλέον, σε βαριές, ταχέως εξελισσόμενες περιπτώσεις ΣΣκ με πρόωμη νόσο και ραγδαία επιδείνωση της αναπνευστικής λειτουργίας είναι σκόπιμο να εξετασθεί η δυνατότητα υποβολής του ασθενούς σε αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Η αποτελεσματικότητα της αυτόλογης μεταμόσχευσης αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων στην αναστολή της

εξέλιξης της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης αλλά και στη βελτίωση της δερματικής προσβολής έχει τεκμηριωθεί από δύο τυχαιοποιημένες μελέτες την ASTIS στην Ευρώπη(304) και την SCOT στις ΗΠΑ(305). Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι η μέθοδος αυτή συνοδεύεται από υψηλά σχετικά ποσοστά θνητότητας και γι αυτό απαιτείται πολύ προσεκτική επιλογή των ασθενών που θα υποβληθούν σε αυτή τη θεραπεία. Μία άλλη θεραπευτική δυνατότητα σε προσεκτικά επιλεγμένους ασθενείς με διάμεση πνευμονική ίνωση σχετιζόμενη με το ΣΣκ είναι η μεταμόσχευση πνευμόνων. Στους ασθενείς αυτούς χρειάζεται ενδελεχής έλεγχος για τον αποκλεισμό βαριάς καρδιακής ή νεφρικής προσβολής και για διαταραχή της κινητικότητας του οισοφάγου που θα μπορούσε να οδηγήσει σε μικροεισροφήσεις και να επηρεάσει αρνητικά την έκβαση της μεταμόσχευσης. Είναι σημαντικό ότι η επιβίωση των ασθενών με ΣΣκ που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση πνευμόνων δεν υπολείπεται αυτής των ασθενών που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση πνευμόνων για άλλη αιτία(306–308).

Τέλος, εκτός από τις προαναφερθείσες θεραπευτικές προσεγγίσεις, ιδιαίτερα ελπιδοφόρα είναι τα μηνύματα από κάποια φάρμακα που επί του παρόντος βρίσκονται ή μόλις ολοκλήρωσαν τα στάδια των κλινικών δοκιμών, ενδέχεται όμως μελλοντικά να διαδραματίσουν καθοριστικό ρόλο στην θεραπεία της σχετιζόμενης με το ΣΣκ διάμεσης πνευμονικής ίνωσης. Μεταξύ αυτών αξίζει να αναφερθεί η πιρφενιδόνη και το nintedanib(309,310).

Στη θεραπεία της νεφρικής κρίσης του σκληροδέρματος, πρωταρχική θέση κατέχουν οι αναστολείς μετατρεπτικού ενζύμου αγγειοτενσίνης (AMEA). Αν και δεν υπάρχουν τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες που να αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητα αυτών των φαρμάκων, υπάρχουν, ωστόσο, πολλά δεδομένα από αναφορές περιστατικών και από μη τυχαιοποιημένες μελέτες. Σε μία προοπτική ανάλυση των δεδομένων από 108 ασθενείς με νεφρική κρίση σκληροδέρματος, όσοι έλαβαν AMEA είχαν επιβίωση 76% στον ένα χρόνο και 66% στην πενταετία σε σχέση με 15% και 10%, αντίστοιχα, για ασθενείς που δεν έλαβαν αυτή την αγωγή(311). Μια άλλη προοπτική μελέτη αναφέρει 90% και 85% επιβίωση των ασθενών με νεφρική κρίση σκληροδέρματος που έλαβαν AMEA στα 5 και στα 8 χρόνια, αντίστοιχα(312). Οι αναθεωρημένες οδηγίες της EUSTAR αναφέρουν ότι ιδιαίτερη σημασία στην αντιμετώπιση της νεφρικής κρίσης του σκληροδέρματος έχει η άμεση έναρξη της

αγωγής με AMEA. Οι υπάρχουσες μελέτες δεν έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητα της προληπτικής αγωγής με AMEA σε ασθενείς με ΣΣκ(62,74). Τέλος, ιδιαίτερη προσοχή στον πληθυσμό αυτών των ασθενών χρειάζεται η χορήγηση κορτιζόνης που σε δόσεις άνω των 15mg πρεδνιζολόνης/ ημέρα έχει συσχετισθεί με την επαγωγή νεφρικής κρίσης σκληροδέρματος(313). Σε περίπτωση μη ανταπόκρισης των ασθενών στη μονοθεραπεία με AMEA, μπορεί να προστεθεί ένας αναστολέας διαύλων ασβεστίου, αναστολέας υποδοχέων αγγειοτενσίνης II, αναστολέας υποδοχέων ενδοθηλίνης I ή ενδοφλέβιο ανάλογο προστακυκλίνης(314). Σε ασθενείς που καταλήγουν σε νεφρική βλάβη τελικού σταδίου θα απαιτηθεί αιμοκάθαρση ή περιτοναϊκή διάλυση. Σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών η ανάγκη για αιμοκάθαρση ή περιτοναϊκή διάλυση μπορεί να είναι προσωρινή, καθώς η νεφρική λειτουργία μπορεί να επανέλθει μετά από κάποιο χρονικό διάστημα(59,73,74). Η μεταμόσχευση νεφρού αποτελεί την έσχατη λύση σε ασθενείς με νεφρική κρίση σκληροδέρματος και νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου και εμφανίζει πενταετή επιβίωση 82.5%(315).

Ως προς την αντιμετώπιση των εκδηλώσεων του σκληροδέρματος από το μυοσκελετικό, έχουν χρησιμοποιηθεί με καλά αποτελέσματα μικρές δόσεις πρεδνιζολόνης, υδροξυχλωροκίνη, μεθοτρεξάτη, λεφλουνομίδη, αζαθειοπρίνη, μυκοφαινολικό και σε ανθεκτικές περιπτώσεις βιολογικοί παράγοντες όπως το rituximab, το abatacept και το tocilizumab. Οι anti-TNF-a παράγοντες επίσης έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικοί για την αρθρίτιδα, ενέχουν όμως τον κίνδυνο επιδείνωσης της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης και γι'αυτό πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή και μόνο στα πλαίσια κλινικών μελετών(316). Για τη μυϊκή προσβολή που ενίοτε συνοδεύει το ΣΣκ χρησιμοποιούνται κορτικοειδή, μεθοτρεξάτη και αζαθειοπρίνη, ενώ αποτελεσματικότητα έχει δείξει επίσης το rituximab και η ενδοφλέβια γ-σφαιρίνη(316).

Σχετικά με τις καρδιακές επιπλοκές του σκληροδέρματος, η θεραπεία προσαρμόζεται ανάλογα με τις κλινικές εκδηλώσεις. Σε ασθενείς με μυοκαρδιακή ίνωση χωρίς καρδιακή ανεπάρκεια χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο αγγειοδιασταλτικά φάρμακα, όπως αναστολείς διαύλων ασβεστίου και AMEA(317). Εφόσον υπάρχουν ενδείξεις μυοκαρδίτιδος και καρδιακής ανεπάρκειας επιλέγεται ανοσοκατασταλτική αγωγή, κατά κύριο λόγο κυκλοφωσφαμίδη, μυκοφαινολικό οξύ, αζαθειοπρίνη ή

κορτικοειδή. Η συστολική δυσλειτουργία της αριστεράς καρδιάς αντιμετωπίζεται όπως προβλέπουν οι οδηγίες για το γενικό πληθυσμό με β-αδρενεργικούς ανταγωνιστές, ΑΜΕΑ και αναστολείς αλδοστερόνης, ενώ στην αντιμετώπιση της διαστολικής δυσλειτουργίας της αριστεράς κοιλίας με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης έχουν θέση τα διουρητικά και οι ανταγωνιστές διαύλων ασβεστίου (187,317). Η περικαρδιακή νόσος ανταποκρίνεται ικανοποιητικά στα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη και στην κολχικίνη με ή χωρίς ασπιρίνη. Εναλλακτικά χορηγούνται κορτικοστεροειδή, αλλά με προσοχή στον κίνδυνο επαγωγής νεφρικής κρίσης σκληροδέρματος. Σε ανθεκτικές περιπτώσεις έχουν δοκιμαστεί ανοσοκατασταλτικά όπως η αζαθειοπρίνη, η κυκλοφωσφαμίδη ή το μυκοφαινολικό οξύ (185). Στην αντιμετώπιση των αρρυθμιών στο ΣΣκ, η αγωγή πρέπει να προσαρμόζεται στις ανάγκες του εκάστοτε ασθενούς, ωστόσο χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή στις πιθανές παρενέργειες των αντιαρρυθμικών φαρμάκων, καθώς η αμιωδαρόνη για παράδειγμα μπορεί να επιδεινώσει την πνευμονική ίνωση και τα αντιαρρυθμικά τάξης I (πχ. μεξιλετίνη, λιδοκαΐνη κα.) ενδέχεται να επαγάγουν επεισόδια ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Η εμφύτευση βηματοδότη ή απινιδιστή γίνεται με βάση τις ενδείξεις που ισχύουν και για το γενικό πληθυσμό(179,318). Αντιστοίχως και οι βαλβιδοπάθειες στο ΣΣκ αντιμετωπίζονται όπως και στο γενικό πληθυσμό. Η θεραπεία τους είναι κατά κύριο λόγο χειρουργική. Σε ασυμπτωματικούς ασθενείς προτείνεται στενή παρακολούθηση μέχρις ότου αναπτύξουν ενδείξεις για χειρουργική παρέμβαση. Δεν υπάρχει αποτελεσματική φαρμακευτική αγωγή, αν και κάποια φάρμακα όπως οι ΑΜΕΑ, η νιφεδιπίνη μακράς διάρκειας δράσης ή οι β-αδρενεργικοί αναστολείς έχουν χρησιμοποιηθεί ως γέφυρα για το χειρουργείο ή και σε κάποιους σε ασθενείς με ιδιαίτερα βαριά κλινική εικόνα(187).

Τέλος, σε ότι αφορά τις επιπλοκές από το γαστρεντερικό σύστημα, παρά την απουσία μεγάλων τυχαιοποιημένων μελετών, χρησιμοποιούνται ευρέως οι αναστολείς αντλίας πρωτονίων για την αντιμετώπιση της γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης και την προστασία από έλκη και στενώσεις του οισοφάγου. Η αποτελεσματικότητα αυτών των φαρμάκων έχει αναδειχθεί από μία μικρή τυχαιοποιημένη μελέτη σε ασθενείς με ΣΣκ(319), η χρήση τους ωστόσο χρειάζεται προσοχή καθώς έχουν συσχετισθεί με διατροφικές ελλείψεις και αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων. Επίσης, σε ασθενείς με ΣΣκ και πρώιμο κορεσμό, δυσφαγία, μετεωρισμό ή εντερική ψευδοαπόφραξη οι αναθεωρημένες οδηγίες της EUSTAR προτείνουν τη χρήση προκινητικών φαρμάκων



όπως η σισαπρίδη και η δομπεριδόνη, σταθμίζοντας τη σχέση οφέλους-πιθανού κινδύνου, ενώ σε ασθενείς με συμπτωματολογία από υπερανάπτυξη βακτηρίων ή δυσαπορρόφηση προτείνεται η κυκλική χρήση αντιβιοτικών όπως π.χ. κινολονών, αμοξικιλίνης-κλαβουλανικού, μετρονιδαζόλης, νεομυκίνης ή δοξυκυκλίνης(275).

## 1.3 ΤΡΙΧΟΕΙΔΟΣΚΟΠΗΣΗ

### 1.3.1 Ιστορική Ανασκόπηση

Η τριχοειδοσκόπηση είναι μια ασφαλής, οικονομική, μη παρεμβατική μέθοδος για τη μορφολογική εκτίμηση της μικροκυκλοφορίας στην κοίτη των ονύχων. Οι βάσεις για την τριχοειδοσκόπηση τέθηκαν το 1663 όταν ο Johan Christophorus Kohlhaus για πρώτη φορά χρησιμοποίησε ένα πρωτόγονο μικροσκόπιο για να παρατηρήσει τα μικρά αιμοφόρα αγγεία που περιβάλλουν τα νύχια(320). Το 1823 ο Τσέχος ανατόμος και φυσιολόγος Johann Evangelist Purkinje περιέγραψε τα τριχοειδή αγγεία του δέρματος χρησιμοποιώντας ένα μεγεθυντικό φακό για να παρατηρήσει την περιοχή της κοίτης των ονύχων. Στα μέσα του 19<sup>ου</sup> αιώνα, ο Ιταλός Giovanni Rasori, χρησιμοποιώντας ένα μεγεθυντικό φακό, πρώτος περιέγραψε τη συσχέτιση ανάμεσα στην επιπεφυκίτιδα και την παρουσία ενός περιπεπλεγμένου δικτύου τριχοειδών(321), ενώ το 1879 ο Γερμανός χειρουργός Carl Hueter περιέγραψε μια ανάλογη μικροσκοπική εκτίμηση των αγγείων στο κάτω χείλος, στο έργο του Cheilo-Angioskopie(322). Το 1911 ο Lombard διαπίστωσε ότι τοποθετώντας μια σταγόνα κεδρελαίου στο παρωνύχιο μπορούσε να βελτιώσει την απεικόνιση των τριχοειδών. Αυτό επέτρεψε στον Weiss, το 1916, να προτυπώσει την τεχνική της τριχοειδοσκόπησης και να παραγάγει τις πρώτες εικόνες με μια πρωτόγονη κάμερα(323). Το 1925 οι Brown και O'Leary χρησιμοποίησαν τη μέθοδο του Lombard για να αναδείξουν με λεπτομέρεια τις ανωμαλίες της μικροκυκλοφορίας που χαρακτηρίζουν το RP στα πλαίσια του ΣΣκ(324), ενώ το 1973 η Hildegard Maricq και ο Carwile LeRoy πρώτοι περιέγραψαν και δημοσίευσαν στο Arthritis & Rheumatism δύο χαρακτηριστικά τριχοειδοσκοπικά πρότυπα στο ΣΣκ, το βραδύ (slow) πρότυπο, που χαρακτηρίζεται από την παρουσία 2 τουλάχιστον μεγατριχοειδών και από μικρή μείωση του αριθμού των τριχοειδών σε 2 τουλάχιστον από τα 10 δάκτυλα του χεριού και το ενεργό πρότυπο που εμφανίζει μέτρια έως βαριά μείωση των τριχοειδών(325). Μεταξύ του 1980 και του 1990 έγιναν διάφορες ερευνητικές προσπάθειες αναφορικά με τις δυνατότητες της τριχοειδοσκόπησης. Μεταξύ άλλων προτάθηκε η χρήση φλουοροσκεΐνης(326) και η πραγματοποίηση της τριχοειδοσκόπησης σε άλλες ανατομικές περιοχές πλην της κοίτης των ονύχων(327). Τέλος, το 2000 οι Cutolo et al χρησιμοποιώντας ένα σύγχρονο βίντεο-τριχοειδοσκόπιο επανακαθόρισαν τρία πρότυπα βλάβης στα τριχοειδή των ασθενών με ΣΣκ, το πρώιμο, το ενεργό και το όψιμο(328)

### 1.3.2 Η τεχνική της τριχοειδοσκόπησης

Η τριχοειδοσκόπηση πραγματοποιείται σε χώρο με σταθερή θερμοκρασία 20-22°C, με τον ασθενή σε καθιστή θέση και το χέρι του προτεταμένο στο ύψος του στήθους. Συνιστάται προ της εξέτασης ο ασθενής να παραμείνει για τουλάχιστον 15 λεπτά σε ηρεμία για να προσαρμοσθεί στη θερμοκρασία του δωματίου. Εξετάζεται η κοίτη των ονύχων στο 2<sup>ο</sup>, 3<sup>ο</sup>, 4<sup>ο</sup> και 5<sup>ο</sup> δάκτυλο κάθε χεριού(329). Εξαιρούνται τα δάκτυλα με ενεργό λοίμωξη ή πρόσφατο τραυματισμό που θα μπορούσαν να αλλοιώσουν το φυσιολογικό πρότυπο της τριχοειδοσκόπησης(320). Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι την εικόνα της τριχοειδοσκόπησης ενδέχεται να αλλοιώσουν το manicure και η χειρωνακτική εργασία λόγω πρόκλησης μικροτραυματισμών. Από τεχνικής πλευράς, το τέταρτο και πέμπτο δάκτυλο παρέχουν καλύτερη εικόνα, καθώς το δέρμα τους έχει μεγαλύτερη διαφάνεια. Στο παρωνύχιο του υπό εξέταση δακτύλου τοποθετείται 1 σταγόνα φυτικού ελαίου (κεδρελαίου ή αμυγδαλελαίου) που βελτιώνει την ποιότητα της λαμβανόμενης εικόνας(330). Η τριχοειδοσκόπηση πραγματοποιείται με τη χρήση του κατάλληλου εξοπλισμού για τη μεγέθυνση της εικόνας. Στο παρελθόν είχε χρησιμοποιηθεί το στερεομικροσκόπιο που είχε ένα ενδιάμεσο κόστος, παρείχε ένα μεγάλο εύρος μεγεθύνσεων της εικόνας, από x10 έως x100 και επέτρεπε την πανοραμική εκτίμηση των αγγείων σε ολόκληρη την κοίτη των ονύχων. Εναλλακτικά για την πανοραμική απεικόνιση του δικτύου των τριχοειδών στην κοίτη των ονύχων έχουν χρησιμοποιηθεί οφθαλμοσκόπια ή δερματοσκόπια που έχουν το πλεονέκτημα του μικρού κόστους και της φορητότητας, γεγονός που τα καθιστά χρήσιμα για μια πρώτη εξέταση του ασθενούς ακόμη και επί κλινής. Το μειονέκτημά τους όμως είναι η μικρή, σταθερή μεγέθυνση και η αδυναμία αποθήκευσης και ανάλυσης της εικόνας μέσω υπολογιστή. Το πρόβλημα αυτό ήρθε να λύσει η βίντεο-τριχοειδοσκόπηση η οποία διενεργείται με τη χρήση ενός ψηφιακού αισθητήρα με οπτική ίνα και φακό μεγάλης μεγέθυνσης (x100, x200, x600) που συνδέεται με έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή, στον οποίο αποθηκεύονται οι εικόνες για να τύχουν επεξεργασίας στη συνέχεια με τη χρήση του κατάλληλου λογισμικού. Παρά το συγκριτικά υψηλότερο κόστος και την ανάγκη για εκπαίδευση του χειριστή, η βίντεο-τριχοειδοσκόπηση επιτρέπει τη χρήση διαφόρων μεγεθύνσεων με εναλλαγή των φακών (x100, x200, x600) και κυρίως την αποθήκευση και ανάλυση των εικόνων, γεγονός που διευκολύνει την παρακολούθηση της εξέλιξης του ασθενή στο χρόνο. Επιπλέον, η εύκαμπτη κεφαλή του βίντεο-μικροσκοπίου προσαρμόζεται ακόμη και στα δάκτυλα

ασθενών με συγκάμψεις ή παραμορφώσεις, κάτι που δε συνέβαινε με το στερεομικροσκόπιο(323).

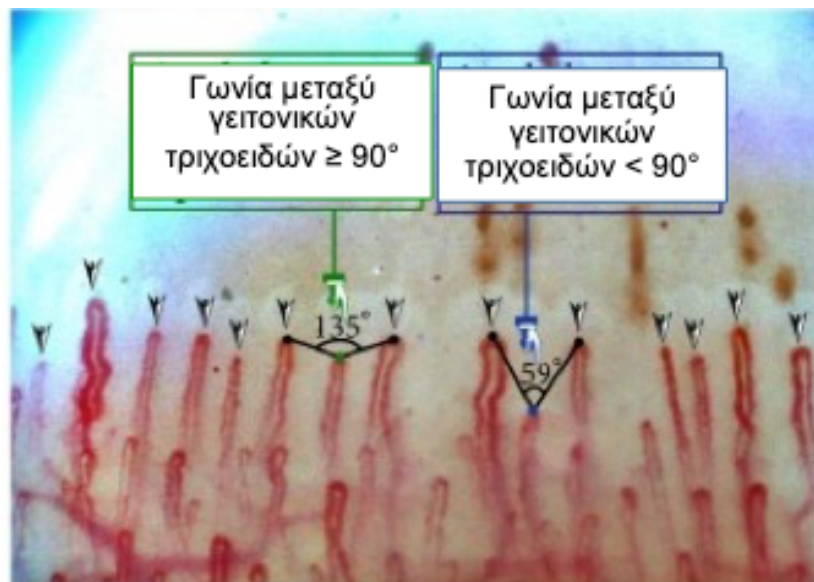
### **1.3.3 Παράμετροι που Εκτιμώνται στην Τριχοειδοσκόπηση**

Η τριχοειδοσκόπηση επιτρέπει την εκτίμηση του αριθμού, της αρχιτεκτονικής και της μορφολογίας των τριχοειδών αγγείων της μικροκυκλοφορίας στην περιοχή της κοίτης των ονύχων. Αυτό που φαίνεται στην πράξη είναι η ροή του αίματος μέσα στα τριχοειδή, σε πραγματικό χρόνο. Απεικονίζεται, δηλαδή, η στήλη των ερυθρών αιμοσφαιρίων μέσα στα τριχοειδή, γιατί τα τοιχώματα των ίδιων των αγγείων δεν είναι ορατά. Στην περιοχή της κοίτης των ονύχων τα τριχοειδή των δερματικών θηλών πορεύονται παράλληλα προς την επιφάνεια του νυχιού και έτσι καθίστανται ορατά στο σύνολο σχεδόν του μήκους τους. Συνήθως σε κάθε δερματική θηλή αντιστοιχούν από ένα έως τρία τριχοειδή(330). Κατά κανόνα εκτιμάται ο αριθμός των τριχοειδικών αγκυλών/mm, ο αριθμός των διατεταμένων τριχοειδών (με εκτασία ή ομοιογενή διάταση), ο αριθμός των γιγαντιαίων τριχοειδών, η παρουσία ανάγγειων περιοχών, η παρουσία μικροαιμορραγιών, το μήκος και η ανώμαλη μορφολογία των τριχοειδών που κατά κανόνα υποδηλώνει νεοαγγειογένεση(331). Για να θεωρηθούν παθολογικά τα ευρήματα της τριχοειδοσκόπησης πρέπει η παρουσία τους να επιβεβαιωθεί σε δύο τουλάχιστον δάκτυλα(332).

Είναι σημαντικό να τονισθεί ότι υπάρχει μεγάλη ετερογένεια των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης ακόμη και μεταξύ υγιών ατόμων, με αποτέλεσμα να παρατηρείται ευρεία διακύμανση του φυσιολογικού αριθμού των τριχοειδών/mm από μελέτη σε μελέτη. Κατά κανόνα μετράται ο αριθμός των τριχοειδών στον άπω στοίχο. Το αν τα τριχοειδή ανήκουν στον άπω στοίχο ή όχι προσδιορίζεται είτε με άμεση παρατήρηση(330), είτε με τη μέθοδο των 90° που περιέγραψαν οι Hofstee et al., βάσει της οποίας το τριχοειδές θεωρείται ότι ανήκει στον άπω στοίχο αν το εύρος της γωνίας που σχηματίζει η κορυφή του με τις κορυφές των δύο γειτονικών του τριχοειδών είναι ευρύτερη από 90 μοίρες (Εικόνα 1.2)(333). Ο αριθμός των τριχοειδών συσχετίζεται με την ηλικία ( $8.45 \pm 1.32$  τριχοειδή/mm σε άτομα <40 ετών και  $9.15 \pm 1.42$  τριχοειδή/mm σε άτομα >40 ετών)(334), ενώ έχει βρεθεί μικρότερος σε υγιή παιδιά ( $6.9 \pm 0.9$  τριχοειδή/mm) σε σχέση με υγιείς ενήλικες ( $8.6 \pm 1.6$  τριχοειδή/mm) (335). Ως ανάγγειες ορίζονται οι περιοχές της κοίτης των ονύχων από όπου απουσιάζουν τουλάχιστον 2 τριχοειδή, σε σύγκριση με τη χαμηλή πυκνότητα

τριχοειδών που παρατηρείται στον υπόλοιπο στοίχο(330). Εναλλακτικά οι ανάγγειες περιοχές ορίζονται ως απόσταση  $>500$   $\mu\text{m}$  μεταξύ δύο γειτονικών τριχοειδών του άπω στοίχου, ή ως απόσταση  $>300$   $\mu\text{m}$  μεταξύ δύο γειτονικών τριχοειδών του εγγύς στοίχου(336). Ισχυρή ένδειξη για την παρουσία αγγειακής ερήμωσης αποτελεί η μείωση του αριθμού των τριχοειδών κάτω από 30/ 5mm στον άπω στοίχο των τριχοειδικών αγκυλών(320).

**Εικόνα 1.3** Σύμφωνα με τη μέθοδο των Hofstee et al. ένα τριχοειδές προσμετράται στον άπω στοίχο τριχοειδών εφόσον η γωνία που σχηματίζει η κορυφή του με τις κορυφές των δύο γειτονικών του τριχοειδών είναι αμβλεία ( $\geq 90^\circ$ ). (Εικόνα προσαρμοσμένη από Tavakol et al. Biomed Res Int. 2015; 2015: 974530.)



Η εκτίμηση του εύρους των τριχοειδών έχει, ομοίως, αποτελέσει αντικείμενο σύγκρισης στη βιβλιογραφία, καθώς κάποιοι συγγραφείς μετρούν τη μέγιστη διάμετρο του αρτηριακού σκέλους, άλλοι του φλεβικού σκέλους και άλλοι του κορυφαίου τμήματος του τριχοειδούς, ενώ σε ορισμένες μελέτες αξιολογείται το συνολικό εύρος της τριχοειδικής αγκύλης(330). Τα παιδιά έχουν μεγαλύτερο εύρος τριχοειδών από τους ενήλικες(335) και γενικά η διάμετρος του αρτηριακού σκέλους των τριχοειδών είναι μικρότερη από τη διάμετρο του φλεβικού σκέλους. Η πλειονότητα των ερευνητών θεωρεί ως φυσιολογικό όριο για το εύρος του αρτηριακού σκέλους τα 15  $\mu\text{m}$  και για το εύρος του φλεβικού σκέλους τα 20  $\mu\text{m}$ (330). Ως γιγαντιαία περιγράφονται τα διατεταμένα τριχοειδή με εύρος αγκύλης 90-150  $\mu\text{m}$  και διάμετρο

του κορυφαίου τμήματος του αγγείου >50 μm, εφόσον για την εκτίμηση χρησιμοποιείται το στερεομικροσκόπιο ή τα τριχοειδή με ομοιογενή διάταση και διάμετρο του κορυφαίου τμήματος >50 μm, εφόσον για την εκτίμηση χρησιμοποιείται το βιντεο-τριχοειδοσκόπιο(321).

Ως μικροαιμορραγίες, ορίζονται οι εναποθέσεις αιμοσιδηρίνης, που οφείλονται στην εξαγγείωση ερυθρών αιμοσφαιρίων και συνήθως παρατηρούνται σε συνάφεια με κάποιο διατεταμένο ή γιγαντιαίο τριχοειδές που βρίσκεται στα πρόθυρα κατάρρευσης. Σημειωτέον ότι μικροαιμορραγίες μπορεί να παρατηρηθούν και σε άλλα νοσήματα του συνδετικού ιστού και είναι ένα μη ειδικό εύρημα. Επιπλέον πιθανόν να συσχετίζονται με θρόμβωση των τριχοειδών, όπως στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο(329). Σε υγιή πληθυσμό παρατηρήθηκαν στικτές μικροαιμορραγίες σε ποσοστό 46% και συρρέουσες μικροαιμορραγίες σε ποσοστό μέχρι και 10% των εξετασθέντων(334).

Το υποθηλώδες φλεβικό πλέγμα είναι φυσιολογικά ορατό σε περίπου 30% του πληθυσμού. Σε μεγαλύτερα ποσοστά καθίσταται ορατό σε παιδιά και σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα(329), συστηματικό ερυθματώδη λύκο ή ΣΣκ(337).

Φυσιολογικά τα τριχοειδή έχουν σχήμα φουρκέτας ή ανεστραμμένου ύψιλον. Αρκετές παραλλαγές του φυσιολογικού σχήματος των τριχοειδών έχουν περιγραφεί ακόμη και σε υγιή πληθυσμό. Συχνά στους υγιείς παρατηρούνται τριχοειδή με μία ή δύο διασταυρώσεις των σκελών τους ενώ ως παραλλαγή του φυσιολογικού μπορούν να θεωρηθούν και τα σκολιά τριχοειδή εφόσον αποτελούν μέχρι 5% του συνόλου(336). Στη μελέτη του Hoerth και συνεργατών διακλαδισμένα (ramified), θυσανοειδή (bushy) και σκολιά (tortuous) τριχοειδή ανευρέθησαν σε ποσοστά 1.13%, 0.75% και 1.90% του συνόλου των τριχοειδών σε φυσιολογικά άτομα(334). Σε ασθενείς με ΣΣκ ανευρίσκονται αλλοιώσεις της μορφολογίας των τριχοειδών ενδεικτικές νεοαγγειογένεσης με πιο χαρακτηριστικά τα θυσανοειδή, τα διακλαδισμένα ή τα σε σχήμα μαιάνδρου (meandering) τριχοειδή. Το 2016 δημοσιεύθηκε από την ομάδα μελέτης της EULAR για τη μικροκυκλοφορία μια πιλοτική έρευνα που πρότεινε απλούς ορισμούς για την περιγραφή της μορφολογίας των τριχοειδών. Ο στόχος ήταν να προτυπωθεί μία κοινή ορολογία μεταξύ των διαφόρων επιστημονικών ομάδων και να βελτιωθεί η επαναληψιμότητα των

ευρημάτων. Οι απλοί ορισμοί που προτάθηκαν ήταν φυσιολογικό τριχοειδές [σα φουρκέτα, σκολιό ή με διασταύρωση των σκελών του (crossing)], μη φυσιολογικό τριχοειδές (όχι σα φουρκέτα, όχι σκολιό, όχι με διασταύρωση των σκελών του) και τριχοειδές με μορφολογία που είναι αδύνατον να εκτιμηθεί. Το ποσοστό ομοφωνίας μεταξύ των ερευνητών ήταν περίπου 67% [kappa coefficient 0.47, (95% CI: 0.39, 0.54) για έμπειρους στην τριχοειδοσκόπηση εκτιμητές και 0.46 (95% CI: 0.41, 0.52) για τους αρχάριους](338). Το 2018 στον ορισμό της φυσιολογικής μορφολογίας των τριχοειδών προστέθηκε η καμπυλότητα του κορυφαίου τμήματος. Αυτή η βελτιωμένη εκδοχή των απλοποιημένων ορισμών για τη μορφολογία των τριχοειδών εκτιμήθηκε ως προς την επαναληψιμότητά της στο 7<sup>ο</sup> σεμινάριο τριχοειδοσκόπησης της EULAR που έλαβε χώρα στη Γένοβα της Ιταλίας και διαπιστώθηκε ότι έχει εξαιρετική επαναληψιμότητα (Cohen's kappa coefficient 0.83, (95% CI: 0.78, 0.88) για τους έμπειρους εκτιμητές και 0.80 (95% CI: 0.77, 0.83) για τους αρχάριους](339)

#### α. Φυσιολογικό πρότυπο τριχοειδοσκόπησης

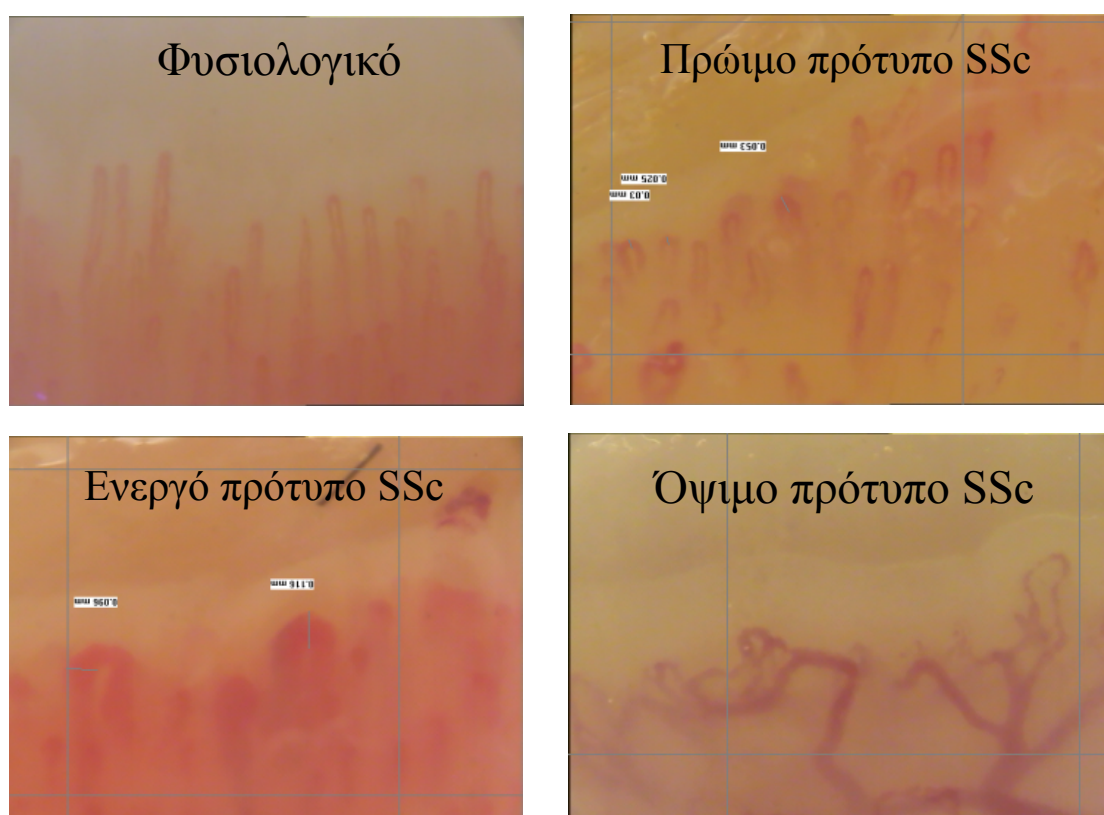
Η φυσιολογική μορφολογία των τριχοειδών χαρακτηρίζεται από ομοιογενή κατανομή τριχοειδών σχήματος φουρκέτας, με διάμετρο <20 μm στο φλεβικό και <15 μm στο αρτηριακό τους σκέλος και πυκνότητα μεταξύ 9 και 14 τριχοειδών ανά mm. Η εικόνα έχει παρομοιασθεί σαν τα «δόντια μιας χτένας»(329).

#### β. Παθολογικά πρότυπα τριχοειδοσκόπησης

Ποσοστό άνω του 90% των ασθενών με κλινικά έκδηλο ΣΣκ εμφανίζουν παθολογικό πρότυπο στην τριχοειδοσκόπηση, που αναγνωρίζεται ποιοτικά με επισκόπηση. Το 2000 οι Cutolo et al. διέκριναν τρία πρότυπα τριχοειδοσκόπησης στο ΣΣκ το πρώιμο, το ενεργό και το όψιμο. Το πρώιμο πρότυπο του ΣΣκ χαρακτηρίζεται από σχετικά καλή διατήρηση της κατανομής και της αρχιτεκτονικής των τριχοειδών, λίγα διατεταμένα ή γιγαντιαία τριχοειδή, λίγες μικροαιμορραγίες και μικρή έως καμία απώλεια τριχοειδών. Το ενεργό πρότυπο εμφανίζει μεγάλη συχνότητα διατεταμένων και γιγαντιαίων τριχοειδών, πολλές μικροαιμορραγίες, ενδιάμεση απώλεια τριχοειδών, λίγα έως καθόλου ανώμαλα διακλαδισμένα τριχοειδή και μικρή αποδιοργάνωση της αρχιτεκτονικής των τριχοειδών. Το όψιμο τέλος πρότυπο βλάβης που χαρακτηρίζει το ΣΣκ εμφανίζει ανώμαλη διάταξη των τριχοειδών, λίγα ή καθόλου γιγαντιαία τριχοειδή και μικροαιμορραγίες, σημαντικού βαθμού απώλεια τριχοειδών με εκτεταμένες ανάγγειες περιοχές, διακλαδισμένα ή θυσανοειδή

τριχοειδή και σημαντική αποδιοργάνωση της φυσιολογικής αρχιτεκτονικής των τριχοειδών. Η εμφάνιση αυτών των προτύπων έχει βρεθεί να συσχετίζεται με τη διάρκεια της νόσου και φαίνεται ότι εφόσον δε διαταραχθεί η φυσική πορεία του νοσήματος ακολουθείται εξελικτική μετάβαση από το πρώιμο στο όψιμο πρότυπο(328) (Εικόνα 1.3).

**Εικόνα 1.4** Το φυσιολογικό και το πρώιμο, ενεργό και όψιμο πρότυπο σκληροδέρματος στη βιντεο-τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων, όπως περιεγράφησαν από τους Cutolo et al. (*J Rheumatol* 2000;27:155–60.)



Το σκληροδερματικό πρότυπο βλάβης στην τριχοειδοσκόπηση μπορεί να παρατηρηθεί εκτός από τους ασθενείς με ΣΣκ και σε ασθενείς με μικτή νόσο συνδετικού ιστού(340), δερματομυοσίτιδα ή πολυμυοσίτιδα(341), σπανιότερα δε και σε ασθενείς με αδιαφοροποίητο νόσημα συνδετικού ιστού ή συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο(342)



Εκτός από το φυσιολογικό πρότυπο και τα τρία τριχοειδοσκοπικά πρότυπα που χαρακτηρίζουν το ΣΣκ (πρώιμο, ενεργό, όψιμο), οι Pavlov-Dolijanovic et al. στη μελέτη τους πρότειναν τη χρήση ενός ακόμη προτύπου στην τριχοειδοσκόπηση για την ταξινόμηση των ασθενών με RP, που περιγράφεται ως μη ειδικό. Το μη ειδικό αυτό πρότυπο χαρακτηρίζεται από την παρουσία τριχοειδών σε σχήμα μαιάνδρου ή με διασταυρώσεις των σκελών τους, λέπτυνση και επιμήκυνση των τριχοειδικών αγκυλών, εστιακή κατανομή μικροαιμορραγιών, έντονα ορατό υποθηλώδες πλέγμα, σπασμό των τριχοειδών, ανομοιογένεια στην κατανομή ή στο μέγεθος των αγκυλών και διεύρυνση των αγκυλών(343).

γ. Ποσοτική και ημιποσοτική εκτίμηση των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης.

Για την ποσοτικοποίηση των μικροαγγειακών αλλοιώσεων αξιολογείται ο αριθμός των τριχοειδών, ο αριθμός των ανώμαλα διατεταμένων τριχοειδών, ο αριθμός των γιγαντιαίων τριχοειδών, ο αριθμός των μικροαιμορραγιών, η αποδιοργάνωση της αρχιτεκτονικής της μικροκυκλοφορίας και ο αριθμός των ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών ανά γραμμικό mm. Οι Cutolo και συνεργάτες πρότειναν μία ημιποσοτική κλίμακα βαθμολόγησης στα πλαίσια της οποίας κάθε μία από τις εκτιμώμενες παραμέτρους παίρνει τιμή 0 εφόσον δεν παρατηρούνται αλλοιώσεις, τιμή 1 εφόσον οι αλλοιώσεις αντιστοιχούν σε ποσοστό <33% του συνόλου των τριχοειδών, τιμή 2 εφόσον οι αλλοιώσεις αντιστοιχούν στο 33-66% και τιμή 3 εάν οι αλλοιώσεις είναι >66% του συνόλου των τριχοειδών. Η μέση τιμή του score για κάθε τριχοειδοσκοπική παράμετρο υπολογίζεται για κάθε δάκτυλο από την ανάλυση τεσσάρων διαδοχικών πεδίων στο κέντρο της κοίτης των ονύχων μήκους 1mm έκαστο. Οι μέσες τιμές των score από τα 8 δάκτυλα προστίθενται και η τιμή που προκύπτει διαιρείται δια του οκτώ(332). Ενενήντα ασθενείς με ΣΣκ εκτιμήθηκαν τριχοειδοσκοπικά με την ημιποσοτική αυτή μέθοδο για ένα διάστημα 72 μηνών. Το ημιποσοτικό score αποδείχθηκε ένα ευαίσθητο εργαλείο για την παρακολούθηση των ασθενών με ΣΣκ, καθώς με την πάροδο του χρόνου η απώλεια τριχοειδών, η αποδιοργάνωση του τριχοειδικού δικτύου και τα ανώμαλα διακλαδισμένα τριχοειδή φάνηκαν να αυξάνονται, ενώ τα γιγαντιαία τριχοειδή και οι μικροαιμορραγίες, αντιθέτως, μειώθηκαν με την εξέλιξη της νόσου(332).

#### **1.3.4 Επαναληψιμότητα των Τριχοειδοσκοπικών Ευρημάτων**

Μία από τις πρώτες μελέτες για την αξιοπιστία και επαναληψιμότητα των τριχοειδοσκοπικών ευρημάτων με τη μέθοδο της βίντεο-τριχοειδοσκόπησης έδειξε ποσοστό συμφωνίας 90% μεταξύ δύο διαφορετικών ερευνητών και 96% μεταξύ δύο αξιολογήσεων από τον ίδιο ερευνητή, ως προς την ταξινόμηση των εικόνων στο φυσιολογικό ή στο σκληροδερματικό πρότυπο. Η ταξινόμηση των εικόνων σε πρώιμο, ενεργό και όψιμο πρότυπο σκληροδέρματος είχε αξιοπιστία 62% μεταξύ δύο διαφορετικών ερευνητών και 81% μεταξύ δύο διαφορετικών μετρήσεων από τον ίδιο ερευνητή. Ο συντελεστής ενδοταξικής συσχέτισης (intraclass correlation coefficient-ICC) για τα ημιποσοτικά score ήταν 0.96 και 0.95 για την απώλεια τριχοειδών, 0.84 και 0.95 για τα γιγαντιαία τριχοειδή, 0.90 και 0.95 για τις μικροαιμορραγίες και 0.64 και 0.95 για τα ανώμαλα διακλαδισμένα τριχοειδή(344). Η επαναληψιμότητα των μετρήσεων ήταν πολύ καλύτερη όταν αξιολογείτο ολόκληρη η εικόνα της κοίτης των ονύχων, που συναπαρτιζέτο από ένα μωσαϊκό διαφορετικών, μεμονωμένων εικόνων της βίντεο-τριχοειδοσκόπησης(345). Σε μία πιο πρόσφατη μελέτη η συμφωνία μεταξύ δύο διαφορετικών ερευνητών ήταν ενδιάμεση για την ταξινόμηση 100 ασθενών με ΣΣκ στα δύο πρότυπα τριχοειδοσκόπησης της Maricq et al. και στα τρία πρότυπα τριχοειδοσκόπησης του Cutolo et al. (k coefficient 0.47 και 0.49, αντίστοιχα) και βελτιώθηκε μετά από συνδιασκέψεις συναίνεσης. Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ δύο μετρήσεων του ίδιου βαθμολογητή ήταν μέτριος έως καλός. Ο βαθμός συμφωνίας ήταν καλός για τα θυσανοειδή τριχοειδή, τα γιγαντιαία και τις μικροαιμορραγίες, μέτριος για την πυκνότητα των τριχοειδών και χαμηλός για το οίδημα, την αποδιοργάνωση της αρχιτεκτονικής και τις ανάγγειες περιοχές(346). Στη μελέτη του Dinsdale et al. η αξιοπιστία της εκτίμησης του κατά πόσον μία παράμετρος της τριχοειδοσκόπησης ήταν αξιολογήσιμη ήταν καλή για τη σύγκριση δύο μετρήσεων από τον ίδιο βαθμολογητή (intra-rater ICC π.χ. για την πυκνότητα των τριχοειδών 0.71), αλλά πολύ χαμηλή για τη σύγκριση των μετρήσεων δύο διαφορετικών βαθμολογητών (inter-rater ICC για την πυκνότητα των τριχοειδών 0.14). Υπό την προϋπόθεση ότι οι εικόνες ήταν αξιολογήσιμες, η αξιοπιστία των μετρήσεων τόσο του ιδίου όσο και μεταξύ δύο διαφορετικών παρατηρητών ήταν υψηλή για ταξινόμηση σε πρότυπα, (φυσιολογικό, πρώιμο, ενεργό, όψιμο, μη ειδικό-ICC 0.93 και 0.78, αντιστοίχως), για την πυκνότητα (ICC 0.91 και 0.64, αντιστοίχως) και για το εύρος των τριχοειδών (ICC 0.91 και 0.85, αντιστοίχως)(347). Έχει ενδιαφέρον ότι μετά από μια βραχυχρόνια αλλά εντατική εκπαίδευση μίας εβδομάδας ακόμη και αρχάριοι βαθμολογητές μπορούσαν να πετύχουν καλά επίπεδα αξιοπιστίας στην

ανάλυση των βασικών ανωμαλιών και προτύπων της τριχοειδοσκόπησης(348). Για την περίπτωση της στερεομικροσκοπίας, η αξιοπιστία του προσδιορισμού του αριθμού των τριχοειδών ήταν καλή όταν οι βαθμολογητές εκτιμούσαν την ίδια φωτογραφία ή φωτογραφίες που ελήφθησαν την ίδια στιγμή της ημέρας (ICC 0.72 για τη σύγκριση δύο μετρήσεων από τον ίδιο βαθμολογητή, ICC 0.84 για τη σύγκριση δύο μετρήσεων από διαφορετικούς βαθμολογητές), όχι όμως και όταν εκτιμούσαν φωτογραφίες που ελήφθησαν διαφορετικές ώρες(349). Στη μελέτη των Sekiyama και συνεργατών φάνηκε ότι τα ευρήματα της στερεομικροσκοπίας συσχετίζονταν και συμφωνούσαν σε μεγάλο βαθμό με εκείνα της βίντεο-τριχοειδοσκόπησης. Επιπλέον, όλες οι παράμετροι που εκτιμήθηκαν και με τις δύο μεθόδους είχαν εξαιρετική επαναληψιμότητα τόσο μεταξύ δύο διαφορετικών ερευνητών όσο και σε διαφορετικές μετρήσεις από τον ίδιο ερευνητή(350).

### **1.3.5 Αυτοματοποιημένη Εκτίμηση των Ευρημάτων της Τριχοειδοσκόπησης.**

Η αξιολόγηση των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης απαιτεί εκπαίδευση, μπορεί να είναι σχετικά κοπιώδης και χρονοβόρος και επιπλέον χαρακτηρίζεται από μικρή επαναληψιμότητα για κάποιες από τις εκτιμώμενες παραμέτρους, όπως είναι τα ανώμαλα διακλαδισμένα τριχοειδή. Η ανάπτυξη ενός λογισμικού που αυτοματοποιημένα θα αξιολογεί και θα ποσοτικοποιεί τις διάφορες τριχοειδοσκοπικές παραμέτρους και θα κατατάσει τις εικόνες σε συγκεκριμένα πρότυπα αποτελεί το επόμενο βήμα στην εξέλιξη της τριχοειδοσκόπησης. Ήδη οι πρώτες προσπάθειες προς αυτή την κατεύθυνση έχουν πραγματοποιηθεί με θετικά αποτελέσματα. Στη μελέτη των Murray και συνεργατών χρησιμοποιήθηκε ένα λογισμικό για την ημι-αυτοματοποιημένη μέτρηση της απόστασης μεταξύ των τριχοειδών, του εύρους των τριχοειδών, του βαθμού σκολιότητας και της αποδιοργάνωσης της αρχιτεκτονικής τους. Η σύγκριση ανάμεσα στις αυτοματοποιημένες και μη μετρήσεις έδειξε μέτρια, αλλά στατιστικά σημαντική συσχέτιση για την απόσταση, το εύρος και το βαθμό σκολιότητας. Η δε αυτόματη κατάταξη των ασθενών σε κατηγορίες ήταν εξίσου αποτελεσματική με εκείνη που διενήργησαν οι ερευνητές (75% των εικόνων κατετάγησαν σωστά με την ημιαυτόματη μέθοδο, έναντι 71% με τη χειροκίνητη μέθοδο)(351). Πολύ πρόσφατα και η ομάδα του Cutolo et al. ανέπτυξε και προτύπωσε μία αυτοματοποιημένη μέθοδο για την καταμέτρηση του αριθμού των τριχοειδών στις εικόνες της τριχοειδοσκόπησης που έδειξε πολύ καλή επαναληψιμότητα σε σχέση με την

αντίστοιχη καταμέτρηση τεσσάρων έμπειρων στην τριχοειδοσκόπηση ερευνητών, τόσο σε πληθυσμό ασθενών με ΣΣκ, όσο και σε ασθενείς με φαινόμενο Raynaud και σε υγιείς μάρτυρες(352).

### **1.3.6 Άλλες Τεχνικές για την Εκτίμηση της Μικροκυκλοφορίας.**

Εκτός από την τριχοειδοσκόπηση, η μικροκυκλοφορία των άκρων χειρών σε νοσήματα όπως το ΣΣκ μπορεί να εκτιμηθεί και με άλλες μεθόδους, όπως είναι το laser Doppler, το laser speckle contrast analysis (LASCA) και η θερμογραφία. Η θερμογραφία είναι μια τεχνική που επιτρέπει την καταγραφή της επιφανειακής θερμοκρασίας του σώματος που αποτελεί έναν έμμεσο δείκτη της αιμάτωσης. Το laser Doppler είναι μια σχετικά καινούργια μέθοδος που εκτιμά την αιμάτωση των ιστών σε μια ευρεία περιοχή του δέρματος, είναι μη επεμβατική και έχει καλή επαναληψιμότητα. Σε ασθενείς με ΣΣκ έχει χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση των λειτουργικών ανωμαλιών της μικροκυκλοφορίας και για τη μέτρηση της αιματικής ροής στα δάκτυλα(353). Σε σχέση με τη θερμογραφία, το Laser Doppler έχει μεγαλύτερη ευαισθησία για τη διαχρονική παρακολούθηση των αλλαγών στη μικροκυκλοφορία όπως αυτές εκφράζονται κατά την εμφάνιση και επούλωση των ελκών(354). Το LASCA είναι μία νέα αντικειμενική, μη παρεμβατική μέθοδος για τη δυναμική εκτίμηση της περιφερικής αγγειακής αιμάτωσης. Σε ασθενείς με ΣΣκ η τεχνική αυτή εμφανίζει καλή έως άριστη αξιοπιστία τόσο μεταξύ διαφορετικών βαθμολογητών όσο και σε επανειλημμένες μετρήσεις από τον ίδιο βαθμολογητή(355).

### **1.3.7 Ο ρόλος της Τριχοειδοσκόπησης στη Διάκριση Μεταξύ του Ιδιοπαθούς και Δευτεροπαθούς Φαινομένου Raynaud.**

Μια από τις σημαντικότερες εφαρμογές της τριχοειδοσκόπησης στην κλινική πράξη είναι η δυνατότητά της να διακρίνει το ιδιοπαθές από το δευτεροπαθές RP. Το RP αναγνωρίζεται ως ιδιοπαθές στις περιπτώσεις εκείνες που δεν αναδεικνύεται κάποιο υποκείμενο νόσημα στο οποίο να μπορούν να αποδοθούν τα υποτροπιάζοντα επεισόδια αγγειόσπασμου. Οι γυναίκες είναι 4-20 φορές πιθανότερο να αναπτύξουν ιδιοπαθές RP σε σχέση με τους άνδρες. Η νόσος ξεκινάει συνήθως στην εφηβεία και κατά κανόνα υπάρχει οικογενής προδιάθεση. Τα επεισόδια αγγειόσπασμου είναι συμμετρικά και δε διαπιστώνονται έλκη ή τροφικές αλλοιώσεις των δακτύλων. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να συνυπάρχουν ημικρανίες ή στηθάγχη prinzmetal,

υποδεικνύοντας ότι ο μηχανισμός του αγγειόσπασμου είναι γενικευμένος και δεν αφορά μόνο στα δάκτυλα(356). Σύμφωνα με τον ορισμό των LeRoy και Medsger τα κριτήρια για το ιδιοπαθές RP περιλαμβάνουν τα συμμετρικά επεισόδια και στα δύο χέρια, την απουσία ελκών δακτύλων ή γάγγραινας, την απουσία υψηλών τιμών ΤΚΕ, την απουσία θετικών ANA σε υψηλό τίτλο και την απουσία παθολογικού προτύπου τριχοειδοσκόπησης(357). Έχει ενδιαφέρον ότι σε μια μεταγενέστερη άσκηση Delphi που έγινε με τη συμμετοχή 12 ειδικών από όλο τον κόσμο, στα κριτήρια για τη διάγνωση του ιδιοπαθούς RP συμπεριελήφθησαν η φυσιολογική τριχοειδοσκόπηση, η αρνητική φυσική εξέταση (π.χ. απουσία ελκών δακτύλων, γάγγραινας, σκληροδακτυλίας, ασβεστώσεων κλπ), η απουσία ιστορικού συνυπάρχοντος αυτοάνοσου συστηματικού νοσήματος και τα αρνητικά ή θετικά σε χαμηλό τίτλο (π.χ. 1:40) ANA(358).

Σε μια μεγάλη μελέτη που συμπεριέλαβε 3029 διαδοχικούς ασθενείς με ιδιοπαθές RP με παρακολούθηση ανά 6μηνο για ένα μέσο χρονικό διάστημα 4.8 ετών φάνηκε ότι στο τέλος της πενταετίας 37,1% των ασθενών ανέπτυξε κάποιο συστηματικό αυτοάνοσο νόσημα, ενώ το 8.1% είχε υποψία δευτεροπαθούς RP. Το σκληροδεματικό πρότυπο στην τριχοειδοσκόπηση προέβλεπε την ανάπτυξη ΣΣκ με ευαισθησία 94%, ειδικότητα 92%, θετική προγνωστική αξία 52%, αρνητική προγνωστική αξία 99% και λόγο πιθανοτήτων (odds ratio) 163 (95% CI, 97.9-271.5), καθώς επίσης και την ανάπτυξη δερματομυοσίτιδας, μικτής νόσου συνδετικού ιστού και συνδρόμων αλληλοεπικάλυψης με ΣΣκ(343). Σε μια άλλη μικρότερη μελέτη, οι Blockmans et al. διαπίστωσαν ότι η θετική προγνωστική αξία της παρουσίας μεγατριχοειδών στην τριχοειδοσκόπηση ήταν 63.5% και η αρνητική προγνωστική αξία της φυσιολογικής τριχοειδοσκόπησης ήταν 96.7% για τη διάγνωση κάποιου νοσήματος του φάσματος του σκληροδέρματος(359). Αντιστοίχως σε μία προοπτική μελέτη 250 παιδιών και εφήβων με RP διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχε τριχοειδοσκοπικό πρότυπο με προγνωστική αξία για την ανάπτυξη συστηματικού ερυθρηματώδους λύκου, ρευματοειδούς αρθρίτιδας ή αδιαφοροποίητου νοσήματος συνδετικού ιστού. Αντιθέτως το σκληροδερματικό πρότυπο στην τριχοειδοσκόπηση συσχετιζόταν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με την ανάπτυξη νοσημάτων του φάσματος του σκληροδέρματος σε αυτόν τον πληθυσμό(360). Στην πολύ ενδιαφέρουσα μελέτη της Koenig et al. 586 διαδοχικοί ασθενείς με φαινομενο Raynaud εκτιμήθηκαν προοπτικά για μια 20ετία. Συστηματικό σκληρόδερμα

ανέπτυξαν οι 74 εξ αυτών (12.6%). Η ανάπτυξη ΣΣκ συσχετίστηκε με την παρουσία χαρακτηριστικών αλλοιώσεων στην τριχοειδοσκόπηση και ειδικών αυτοαντισωμάτων για το ΣΣκ. Το ποσοστό εξέλιξης σε ΣΣκ στην 20ετία για ασθενείς με αρνητική τριχοειδοειδοσκόπηση και αρνητικά αυτοαντισώματα στην αρχική εκτίμηση ήταν 1.8%, για ασθενείς με θετική τριχοειδοσκόπηση και αρνητικά αυτοαντισώματα 25.8%, για ασθενείς με αρνητική τριχοειδοσκόπηση και θετικά αυτοαντισώματα 35.4% και για ασθενείς με θετική και την τριχοειδοσκόπηση και τα αυτοαντισώματα στην αρχική εκτίμηση ήταν 79.5%(361). Μία πιο πρόσφατη, εξίσου ενδιαφέρουσα μελέτη έδειξε ότι σε 2958 διαδοχικούς ασθενείς με RP, μετά από ένα διάμεσο χρόνο παρακολούθησης 9.3 ετών, η παρουσία μη φυσιολογικών τριχοειδών στην τριχοειδοσκόπηση, θετικών ANA και θετικών anti-Sc170 αντισωμάτων συσχετιζόταν με αύξηση στη θνητότητα από όλα τα αίτια στις γυναίκες, αλλά όχι και στους άνδρες(362).

### **1.3.8 Ο ρόλος της Τριχοειδοσκόπησης στην Παρακολούθηση των Ασθενών με Συστηματικό Σκληρόδερμα.**

Πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη διερεύνηση της συσχέτισης ανάμεσα στα ευρήματα της τριχοειδοσκόπησης και στις κλινικές εκδηλώσεις του σκληροδέρματος, όπως είναι η διάμεση πνευμονική ίνωση, η πνευμονική αρτηριακή υπέρταση και η δυσλειτουργία του μυοκαρδίου, υποδεικνύοντας ότι η τριχοειδοσκόπηση θα μπορούσε να λειτουργήσει προγνωστικά στο ΣΣκ(363). Στη μελέτη των Ohtsuka et al(364) που εκτίμησε 44 ασθενείς με ΣΣκ και 40 υγιείς μάρτυρες, οι ασθενείς με τις υψηλότερες πιέσεις στην πνευμονική αρτηρία ήταν αυτοί που είχαν τα πιο έντονα παθολογικά ευρήματα στην τριχοειδοσκόπηση. Επίσης η μελέτη των Hofstee et al(365) έδειξε ότι η μείωση της πυκνότητας των τριχοειδών συσχετιζόταν σημαντικά όχι μόνον με την παρουσία αλλά και με τη βαρύτητα της πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης. Εξάλλου, οι Castellvi et al έδειξαν ότι η μειωμένη πυκνότητα τριχοειδών στην τριχοειδοσκόπηση συσχετιζόταν με χειρότερες τιμές FVC και DLCO(366). Στη μελέτη των Caramaschi et al. σε 103 ασθενείς με ΣΣκ διαπιστώθηκε συσχέτιση ανάμεσα στη βαρύτητα της προσβολής του δέρματος, του πνεύμονα, της καρδιάς και των περιφερικών αγγείων και στην επιδείνωση των προτύπων της τριχοειδοσκόπησης, από το πρώιμο μέχρι το όψιμο. Οι ασθενείς με όψιμο πρότυπο είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν ενεργό νόσο, δακτυλικά έλκη και ενδιάμεση έως σοβαρή προσβολή δέρματος, καρδιάς και πνευμόνων(367). Αντιστοίχως στη

μελέτη των Sato et al(368) η μειωμένη πυκνότητα τριχοειδών συσχετιζόταν με εκτενέστερη προσβολή δέρματος, έλκη δακτύλων και θετικό anti-Sc170 αντίσωμα, ενώ οι Herrick et al. συσχέτισαν τη μειωμένη τριχοειδική πυκνότητα με ισχαιμία των δακτύλων και θετικά ACA(369). Στη μελέτη των Bredemeier et al σε 91 ασθενείς με ΣΣκ, η μειωμένη πυκνότητα τριχοειδών στην τριχοειδοσκόπηση συσχετιζόταν με αυξημένο δερματικό score, εντονότερα ευρήματα περιφερικής ισχαιμίας, θετικό anti-Sc170 και μεγαλύτερη έκταση βλαβών δίκην θαμβής υάλου στην HRCT θώρακος(370). Οι De Santis et al(371) διαπίστωσαν ότι η πυκνότητα των τριχοειδών συσχετιζόταν θετικά με μειωμένο DLCO και με τον αριθμό των δακτυλικών ελκών και αρνητικά με το δείκτη βαρύτητας της νόσου και τα δερματικά score. Τέλος, η Smith et al. έδειξε ότι ο λόγος πιθανοτήτων (Odds Ratio) για πνευμονική προσβολή ήταν 2.33 σε ασθενείς με πρώιμο πρότυπο, 5.44 σε ασθενείς με ενεργό πρότυπο και 12.68 σε ασθενείς με όψιμο πρότυπο(372). Κάποιες άλλες μελέτες συσχέτισαν το όψιμο πρότυπο και τη μειωμένη πυκνότητα τριχοειδών στην τριχοειδοσκόπηση με δυσκινησία του οισοφάγου(373), την παρουσία τηλεαγγειεκτασιών(374), μυϊκή αδυναμία, συγκάμψεις, αρθρίτιδα (375), ακροστεόλυση και ασβεστώσεις στις ακτινογραφίες των άκρων χειρών(376).

### **1.3.9 Η Προγνωστική Αξία της Τριχοειδοσκόπησης στο Συστηματικό**

#### **Σκληρόδερμα**

Σε σχέση με τις διατμητικές μελέτες, οι προοπτικές μελέτες που εξετάζουν την προγνωστική αξία της τριχοειδοσκόπησης στο ΣΣκ είναι πολύ λιγότερες. Οι περισσότερες από αυτές ερευνούν προοπτικά την ικανότητα της τριχοειδοσκόπησης να προγινώσκει την εμφάνιση νέων δακτυλικών ελκών σε ασθενείς με ΣΣκ. Η μελέτη των Sebastiani et al. που πραγματοποιήθηκε σε 120 σκληροδερματικούς ασθενείς πρότεινε ένα score (Capillaroscopic Skin Ulcer Risk Index-CSURI) που λαμβάνει υπόψιν τον αριθμό των τριχοειδών (N), τον αριθμό των μέγα-τριχοειδών (M) και τη μέγιστη διάμετρο (D) του πλέον διατεταμένου μέγα-τριχοειδούς σε ένα πεδίο, για την πρόγνωση της εμφάνισης νέων δακτυλικών ελκών μέσα στο επόμενο τρίμηνο, σύμφωνα με τον τύπο  $D \cdot M : N^2$ . Οι συγγραφείς αναφέρουν ότι θέτοντας ως όριο για το CSURI την τιμή 2.94, το score αυτό μπορούσε να προγνώσει τα νέα έλκη με ευαισθησία 85.9% και ειδικότητα 94.3%(377). Η αξία αυτού του προγνωστικού δείκτη πρόσφατα επικυρώθηκε σε μια μεγάλη πολυκεντρική μελέτη(378). Δυστυχώς, σε μία άλλη ανεξάρτητη κοορτή επικύρωσης ο δείκτης CSURI φάνηκε ότι μπορεί να

υπολογισθεί μόνο σε 60% των ασθενών λόγω της απουσίας μεγα-τριχοειδών στους υπόλοιπους, ενώ η θετική και αρνητική προγνωστική αξία της μεθόδου σε αυτή την περίπτωση ήταν μόνο 38% και 50%, αντιστοίχως(379). Η υψηλότερη πυκνότητα τριχοειδών κατά την αρχική εκτίμηση, έχει επίσης συσχετισθεί με μεγαλύτερη πιθανότητα επούλωσης των δακτυλικών ελκών των ασθενών με ΣΣκ μετά από 20 μήνες παρακολούθησης (380). Οι Smith et al. μελέτησαν 71 διαδοχικούς ασθενείς με ΣΣκ για μια περίοδο 6-12 μηνών και έδειξαν ότι ακόμη και όταν ο αριθμός των πεδίων που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του μέσου score απώλειας τριχοειδών μειώθηκε σε 8 από τα 32 που είχαν αρχικά προταθεί, η αξιοπιστία αυτού του score για την πρόβλεψη της μελλοντικής εμφάνισης τροφικών αλλοιώσεων των δακτύλων δεν επηρεάστηκε(381). Μία πολυκεντρική, προοπτική μελέτη παρατήρησης σε 623 ασθενείς με ΣΣκ αναγνώρισε το μέσο αριθμό τριχοειδών ανά mm στο μέσο δάκτυλο του επικρατούς χεριού, καθώς και τον αριθμό των δακτυλικών ελκών και την παρουσία σοβαρού βαθμού ισχαιμίας των δακτύλων κατά την ένταξη στη μελέτη ως παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη νέων δακτυλικών ελκών, μετά από μία μέση παρακολούθηση 6 μηνών(382). Τέλος, σε μία άλλη προοπτική μελέτη των Silva et al. το όψιμο πρότυπο τριχοειδοσκόπησης κατά την αρχική εκτίμηση αναγνωρίστηκε ως προγνωστικός παράγοντας για την επανεμφάνιση δακτυλικών ελκών σε 38 ασθενείς με ΣΣκ και ενεργά έλκη δακτύλων στον αρχικό έλεγχο και ως προγνωστικός παράγοντας για την πρώτη εμφάνιση δακτυλικών ελκών σε 39 ασθενείς με ΣΣκ, χωρίς προηγούμενο ιστορικό ελκών δακτύλων, μετά από μια παρακολούθηση 3 ετών(383).

Μικρότερος είναι ο αριθμός των προοπτικών μελετών που εξέτασαν την προγνωστική σημασία της τριχοειδοσκόπησης στην εξέλιξη άλλων, πλην των δακτυλικών ελκών, εκδηλώσεων του νοσήματος. Ο Smith et al μελέτησαν έναν πληθυσμό 66 ατόμων με ΣΣκ και ανέφεραν ότι όσο πιο επιδεινωμένο ήταν το αρχικό πρότυπο τριχοειδοσκόπησης, τόσο μεγαλύτερη η πιθανότητα να εμφανίσει ο ασθενής σοβαρού βαθμού (τάξεως 2-4 στην κλίμακα βαρύτητας του νοσήματος κατά Medsger) περιφερική αγγειακή προσβολή και προσβολή πνεύμονα μετά από 18-24 μήνες παρακολούθησης. Σε μία δεύτερη μελέτη ανάλογου σχεδιασμού από την ίδια ομάδα, που πραγματοποιήθηκε σε μία κοορτή 66 ασθενών με ΣΣκ από το Βέλγιο και επιβεβαιώθηκε σε μια δεύτερη κοορτή 82 ασθενών με ΣΣκ από την Ιταλία, διαπιστώθηκε ότι ο λόγος πιθανοτήτων (Odds Ratio) για τη μελλοντική ανάπτυξη



σοβαρού βαθμού προσβολής σε ένα από εννέα διαφορετικά συστήματα οργάνων αύξανε όσο πιο επιδεινωμένο ήταν το αρχικό πρότυπο τριχοειδοσκόπησης (2.99 και 1.88 για το πρώιμο πρότυπο, 8.93 και 3.54 για το ενεργό πρότυπο, και 26.69 και 6.66 για το όψιμο, έναντι του φυσιολογικού προτύπου στη Βελγική και στην Ιταλική κοορτή, αντιστοίχως)(384). Οι Violliot et al. περιέγραψαν τη συσχέτιση ανάμεσα σε μια σειρά από καρδιαγγειακά συμβάντα (συμπεριλαμβανομένου του θανάτου ή της νοσηλείας από αριστερή/δεξιά καρδιακή ανεπάρκεια, της κοιλιακής ή κοιλιακής αρρυθμίας, της πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης στον καρδιακό καθετηριασμό, του αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου ή του περιφερικού έλκους που απαιτεί νοσηλεία) και του ενεργού ή όψιμου προτύπου στην αρχική τριχοειδοσκόπηση, σε μια ομάδα 50 ασθενών με ΣΣκ(385). Τέλος, η μελέτη των Anouac et al ενέταξε 146 ασθενείς με ΣΣκ και εξέτασε την συνολική εξέλιξη του νοσήματος στη διάρκεια μιας τριετούς παρακολούθησης, συνεκτιμώντας την αύξηση του mRSS, την εμφάνιση δακτυλικού έλκους, νέας έναρξης πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης στον καθετηριασμό καρδιάς, προσβολής μυοκαρδίου ή νεφρικής κρίσης σκληροδέρματος, την επιδείνωση της διάμεσης πνευμονικής νόσου ή την επιδείνωση της κλίμακας βαρύτητας της νόσου (Disease severity scale). Η παρουσία νεοαγγειογένεσης κατά την αρχική εκτίμηση συσχετιζόταν σημαντικά με την πνευμονική αγγειακή νόσο, ακόμη και μετά από διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες. Επιπλέον η αύξηση της απώλειας τριχοειδών ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης για τη συνολική εξέλιξη της νόσου, την εμφάνιση νέων δακτυλικών ελκών, την επιδείνωση της πνευμονικής αγγειακής νόσου, την επιδείνωση του δέρματος και της κλίμακας βαρύτητας του νοσήματος. Ομοίως η μετάβαση σε όψιμο πρότυπο τριχοειδοσκόπησης συσχετιζόταν ανεξάρτητα με την εμφάνιση νέων δακτυλικών ελκών, την ανάπτυξη πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης, την επιδείνωση του δέρματος και την επιδείνωση της κλίμακας βαρύτητας του νοσήματος(386).

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν επίσης οι προοπτικές ή αναδρομικές μελέτες που εξετάζουν την πιθανή συσχέτιση των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης με τη σχετιζόμενη με το ΣΣκ θνητότητα. Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 135 ασθενών με ΣΣκ, το άρρεν φύλο, η τιμή FVC<75%, το score ανάγγειων περιοχών >1.5 και ο υψηλότερος αριθμός γιγαντιαίων τριχοειδών συσχετιζόνταν με αυξημένο κίνδυνο θανάτου στη μονοπαραγοντική ανάλυση. Ωστόσο, στην πολυπαραγοντική ανάλυση, μετά από διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες μόνο το score

ανάγγειων περιοχών >1.5 παρέμεινε ως ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης θανάτου(387). Δεδομένα από το αρχείο καταγραφής σκληροδέρματος της Νοτίου Αυστραλίας, που περιελάμβανε 786 άτομα κατά τη στιγμή της ανάλυσης, έδειξαν μία τάση συσχέτισης της υψηλότερης θνητότητας με αυξημένη απώλεια τριχοειδών στην τριχοειδοσκόπηση(388). Σε μια Ισπανική μελέτη 79 ασθενών με ΣΣκ το ενεργό πρότυπο τριχοειδοσκόπησης στη διάγνωση (σε αντίθεση προς το βραδύ πρότυπο της κατηγοριοποίησης κατά MAGIC) συχετίσθηκε με βραχύτερη επιβίωση στη μονοπαραγοντική ανάλυση. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση η συσχέτιση αυτή δε διατηρήθηκε, καθώς μόνο η ηλικία >60 ετών, η FVC<70% και η νεφρική κρίση σκληροδέρματος φάνηκε να επηρεάζουν την επιβίωση(389). Τέλος σε μια αναδρομική μελέτη από τον Καναδά που συμπεριέλαβε 309 ασθενείς με ΣΣκ και στην οποία σημειώθηκαν 66 θάνατοι στη διάρκεια της παρακολούθησης, η απώλεια και η διάταση των τριχοειδών κατά την αρχική εκτίμηση αναγνωρίστηκαν ως μη ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου θνητότητας(390).

### **1.3.10 Ο Ρόλος της Τριχοειδοσκόπησης σε Άλλα Πλην του Σκληροδέρματος Αυτοάνοσα Συστηματικά Νοσήματα.**

Τα ευρήματα της τριχοειδοσκόπησης στα υπόλοιπα αυτοάνοσα συστηματικά νοσήματα πέραν του φάσματος του σκληροδέρματος (συστηματικό σκληρόδερμα, δερματομυοσίτιδα, μικτή νόσος συνδετικού ιστού), είναι μη ειδικά. Στην περίπτωση του συστηματικού ερυθματώδους λύκου μορφολογικές αλλοιώσεις στην τριχοειδοσκόπηση ανευρέθησαν σε 102 (94%) από τους συνολικά 108 ασθενείς που εκτιμήθηκαν. Σε 33 (31%) ασθενείς διαπιστώθηκαν ελάχιστονες αλλοιώσεις και σε 69 (64%) ασθενείς μείζονες αλλοιώσεις στην τριχοειδοσκόπηση. Οι εντονότερες βλάβες στην τριχοειδοσκόπηση σχετίζονταν με μεγαλύτερη ενεργότητα νόσου και πιο ενεργό δερματική προσβολή(391). Στους ασθενείς αυτούς συχνά αναγνωρίζονται σκολιά ή σε σχήμα μαιάνδρου τριχοειδή, επιμηκυσμένα τριχοειδή, τριχοειδή παράξενου σχήματος και ένα πολύ ορατό υποθηλώδες πλέγμα. Ωστόσο, σε ποσοστό μέχρι 50% οι ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο έχουν φυσιολογική τριχοειδοσκόπηση(392), ενώ σε ποσοστό μέχρι 9% μπορεί να εμφανίζουν πρότυπο σκληροδέρματος(393). Αυτή η υποκατηγορία ασθενών πιο συχνά από τους υπόλοιπους εμφανίζει αγγειίτιδα των δακτύλων και αντισώματα έναντι U1-RNP(394).

Στο πρωτοπαθές σύνδρομο Sjögren χωρίς φαινόμενο Raynaud η τριχοειδοσκόπηση είναι φυσιολογική σε πάνω από τους μισούς ασθενείς. Στους υπόλοιπους ανευρίσκονται μη ειδικά ευρήματα, όπως σκολιά ή ανώμαλα τριχοειδή και πιο ορατό υποθηλώδες πλέγμα. Στη μελέτη των Tektonidou et al. πρότυπο σκληροδέρματος αναγνωρίστηκε σε 12.5% των ασθενών με πρωτοπαθές σύνδρομο Sjögren, ποσοστό που αύξανε στο 80% σε όσους ήταν θετικοί για αντικεντρομεριδιακά αντισώματα(395).

Αλλοιώσεις της μικροκυκλοφορίας παρατηρούνται επίσης στο πρωτοπαθές ή δευτεροπαθές αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο, πιθανώς λόγω άμεσης βλάβης του αγγειακού ενδοθηλίου από τα αντιφωσfolιπιδικά αντισώματα. Πιο συχνά στο νόσημα αυτό απαντώνται συμμετρικές μικροαιμορραγίες στο παρωνύχιο με έκδηλη εικόνα μικροθρομβώσεων(392).

Σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα παρατηρούνται μη ειδικές αλλοιώσεις στην τριχοειδοσκόπηση σε ποσοστό 46-69%. Στους ασθενείς αυτούς έχει διαπιστωθεί αυξημένη συχνότητα σκολιών, διατεταμένων και θυσανοειδών τριχοειδών σε σχέση με τους μάρτυρες, που όμως δε συσχετίζεται με τα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου τους(396). Σε ποσοστό 57% οι ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα είχαν εκτασία των τριχοειδών, σε ποσοστό 30% μείωση του αριθμού των τριχοειδών, σε 17% μικροαιμορραγίες και σε 66% σκολιό σχήμα, ενώ μέγα-τριχοειδή ή νέο-αγγειογένεση δεν ανευρέθησαν(397).

#### 1.4 ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟ ΣΚΛΗΡΟΔΕΡΜΑ

Η πορεία από την ανακάλυψη ενός πιθανού βιοδείκτη μέχρι την επικύρωση και ευρεία χρησιμοποίησή του στην κλινική πράξη για την διάγνωση, την πρόγνωση ή την πρόβλεψη της ανταπόκρισης ενός νοσήματος στη θεραπεία είναι μεγάλη. Η ύπαρξη συσχέτισης ανάμεσα στα επίπεδα ενός μορίου και στις κλινικές εκφάνσεις ενός νοσήματος δεν εγγυάται ότι το μόριο αυτό είναι καλός βιοδείκτης για μια συγκεκριμένη κλινική εκδήλωση, καθώς ενδέχεται να υπάρχουν πολλαπλοί άλλοι μηχανισμοί που επηρεάζουν την υπό μελέτη κλινική εκδήλωση. Οι διπλά τυφλές τυχαιοποιημένες μελέτες είναι ίσως ο καταλληλότερος τρόπος για να αξιολογηθεί η ευαισθησία και η ειδικότητα ενός πιθανού βιοδείκτη. Οι δύο απαραίτητες προϋποθέσεις για την επικύρωση ενός βιοδείκτη είναι τα επίπεδά του να συσχετίζονται με το υπό εξέταση κλινικό καταληκτικό σημείο και οι μεταβολές στα επίπεδα του βιοδείκτη να αντανακλούν πλήρως τις μεταβολές στο κλινικό καταληκτικό σημείο(398).

Όσον αφορά στο ρόλο των βιολογικών δεικτών στο ΣΣκ, η μεγάλη ετερογένεια στη φυσική πορεία και τις κλινικές εκδηλώσεις του νοσήματος επιβάλλει την εξεύρεση βιοδεικτών που θα μπορούσαν να βελτιώσουν την πρόγνωση και να καθορίσουν την πρόγνωση και ανταπόκρισή στη θεραπεία. Μέχρι στιγμής, με τη χρήση παραδοσιακών αλλά και νεότερων τεχνικών (μεταγραφωμική, επιγενωμική, πρωτεωμική), έχει περιγραφεί πληθώρα διαφορετικών μορίων που μετρώνται στον ορό ή στο πλάσμα, χωρίς όμως η χρήση τους να έχει παγιωθεί στην κλινική πράξη, με την εξαίρεση ίσως κάποιων διαγνωστικών δεικτών ή δεικτών ταξινόμησης όπως είναι τα anti-Scl-70 αντισώματα, τα ACA αντισώματα, τα αντισώματα κατά RNA polymerase I και III, τα anti-PM-Scl κ.α. Μεταξύ των πολυάριθμων δυνητικών βιοδεικτών που έχουν περιγραφεί στο ΣΣκ αναφέρονται, ενδεικτικά, βιοδείκτες που σχετίζονται με την ενεργότητα της νόσου, όπως ο παράγοντας von Willebrand, η γλυκοπρωτεΐνη KL-6, η IL-6, η ολιγομερής πρωτεΐνη του στρώματος του χόνδρου (COMP) και η αγγειοποιητίνη-2(399). Αρκετοί πιθανοί βιοδείκτες έχουν σχετισθεί με την ίνωση του δέρματος. Μεταξύ αυτών συγκαταλέγεται η πρωτεΐνη COMP οι ιντερλευκίνες IL-6 και IL-10, ο CXCL4, οι μεταλλοπρωτεϊνάσες του στρώματος 9 και 12 κα(399). Ως πιθανοί βιοδείκτες για την ανάπτυξη πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης στο ΣΣκ έχει αναγνωρισθεί το NT-pro BNP, ο διαλυτός υποδοχέας-1 του

Flt-1/VEGF, ο VEGF, ο παράγοντας von Willebrand, η ενδοθηλίνη-1, ο CXCL4 και ο πλακουντιακός αυξητικός παράγων(399,400). Αντιστοίχως, ως πολλά υποσχόμενοι βιοδείκτες ενδεικτικοί διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στο ΣΣκ έχουν προταθεί η γλυκοπρωτεΐνη KL-6, η επιφανειοδραστική πρωτεΐνη-D, ο CCL18, ο CXCL4, ο CXCL8 και η πρωτεΐνη COMP(399). Θα πρέπει, επίσης, να αναφερθούν τα μέλη της οικογένειας της σεμαφορίνης-3 και οι υποδοχείς τους, που παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και ακεραιότητα των αγγείων, καθώς και η ενδοθηλίνη-1, η ασύμμετρη διμεθύλαργινίνη-1 (ADMA), ο διαλυτός υποδοχέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (uPAR) και ο VEGF, που αποτελούν ισχυρό προγνωστικό δείκτη για την ανάπτυξη δακτυλικών ελκών(400). Τέλος, ως πιθανοί βιοδείκτες τόσο για την αγγειακή βλάβη, όσο και για την ίνωση στο ΣΣκ έχουν αναδειχθεί μόρια όπως ο αυξητικός παράγοντας του συνδετικού ιστού, η ιντερλευκίνη-6, ο CCL2, και ο CXCL4, το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης (ICAM)-1, η P-σελεκτίνη, η ενδοστατίνη και η ενδογλίνη(401).

#### 1.4.1 CXCL4

Οι χημειοκίνες αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη οικογένεια μικρών πεπτιδίων που μεταφέρουν σήμα μέσω υποδοχέων συζευγμένων με τις G-πρωτεΐνες. Κύριος ρόλος τους είναι η ενεργοποίηση και επιστράτευση των λευκοκυττάρων σε περιοχές φλεγμονής και σε λεμφοειδή μικροπεριβάλλοντα. Εκτός αυτού εμπλέκονται σε πολλές άλλες φυσιολογικές λειτουργίες όπως η εμβρυογένεση και η αιμοποίηση. Διακρίνουμε τέσσερες τάξεις χημειοκινών, ανάλογα με τη διάταξη των πρώτων δύο από τέσσερα διατηρημένα κατάλοιπα κυστεΐνης (C, CC, CXC, CX<sub>3</sub>C). Οι δύο μεγαλύτερες τάξεις χημειοκινών είναι η CC που περιλαμβάνει δύο κατάλοιπα κυστεΐνης το ένα δίπλα στο άλλο και η CXC που περιλαμβάνει δύο κατάλοιπα κυστεΐνης μεταξύ τους διαχωριζόμενα από ένα άλλο αμινοξύ. Αντίστοιχα με την ταξινόμηση των χημειοκινών ταξινομούνται και οι υποδοχείς τους (XCR, CCR, CXCR ή CX<sub>3</sub>CR), χωρίς αυτό να αποκλείει τη σύνδεση μιας χημειοκίνης σε πολλαπλούς υποδοχείς διαφορετικών τάξεων, ή τη σύνδεση ενός υποδοχέα με πολλές διαφορετικές χημειοκίνες(402).

Ο CXCL4 ή αιμοπεταλιακός παράγων 4 (Platelet Factor 4) είναι μια πρωτεΐνη 70 αμινοξέων, με μοριακό βάρος 7.8KDa, που απελευθερώνεται από τα κοκκία-α των

ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων κατά τη συσσώρευσή τους. Στα κοκκία αυτά ο CXCL4 αποθηκεύεται ως τετραμερές, ενωμένος με δύο μόρια θειϊκής χονδροϊτίνης. Το μόριο εκτός από τα αιμοπετάλια του αίματος εκφράζεται επίσης στα ιστιοκύτταρα, στα μονοκύτταρα και στα ενεργοποιημένα T- λεμφοκύτταρα, σε κάποιες καρκινικές σειρές από καρκίνο του προστάτη και του παχέος εντέρου, στα πλασματοκυτταροειδή δένδριτικά κύτταρα ασθενών με ΣΣκ και στα δένδριτικά κύτταρα ατόμων μετά από τραυματισμό(403). Ο CXCL4 έχει υψηλή συγγένεια με τις γλυκοζαμινογλυκάνες και για μεγάλο χρονικό διάστημα θεωρείτο ότι η σύνδεσή του με αυτά τα μόρια διαμεσολαβεί τις περισσότερες από τις δράσεις του. Στη συνέχεια όμως, αναγνωρίστηκε ότι η δράση του CXCL4 στα ενδοθηλιακά και τα T-κύτταρα διαμεσολαβείται μέσω των υποδοχέων CXCR3-A και CXCR3-B, ενώ φαίνεται ότι ο κύριος υποδοχέας του στα ανθρώπινα μονοκύτταρα είναι ο CCR1(404).

Η πρώτη και κύρια βιολογική δράση του CXCL4 είναι η προαγωγή της πήξης, μέσω ενός μηχανισμού μείωσης της δράσης μορίων που προσομοιάζουν στην ηπαρίνη και επομένως μέσω αναστολής της τοπικής δράσης της αντιθρομβίνης III. Παραδόξως, έχει βρεθεί ότι ο CXCL4 έχει και αντιπηκτικές ιδιότητες, μέσω αναστολής της ενεργοποίησης του παράγοντα πήξης XII καθώς και μέσω της παραγωγής ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C(405). Το μόριο δρα χημειοτακτικά για τα ουδετερόφιλα, τους ινοβλάστες και τα μονοκύτταρα, συμβάλλοντας πιθανώς στους μηχανισμούς της φλεγμονής και της ίνωσης. Επάγει την επιβίωση των μονοκυττάρων και την ενεργοποίηση των μακροφάγων, αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των CD4+, CD25- T-λεμφοκυττάρων, αλλά επάγει τον πολλαπλασιασμό των CD4+, CD25+ T-ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων. Επιπλέον επάγει την παραγωγή κυτταροκινών από τα ανθρώπινα Th1 και Th2 κύτταρα(403).

Εκτός από τις φυσιολογικές του δράσεις το μόριο αυτό εμπλέκεται σε μια σειρά από παθολογικούς μηχανισμούς, σε ένα ευρύ φάσμα νοσημάτων. Καταρχήν εμπλέκεται στη βιολογία των όγκων μέσω της ικανότητάς του να εμποδίζει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων και να αναστέλλει την αγγειογένεση. Σε ασθενείς με πολλαπλούν μυέλωμα έχει διαπιστωθεί μία απαλοιφή στη χρωμοσωμική περιοχή 4q13.3 που οδηγεί σε σίγαση του υποκινητή του γονιδίου του CXCL4. Αντιστοίχως, σε ασθενείς με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο τα χαμηλά επίπεδα CXCL4 είναι δείκτης προχωρημένης νόσου με κίνδυνο εξέλιξης σε οξεία

μυελοειδή λευχαιμία. Επίσης, ο CXCL4 ανευρίσκεται σε αφθονία στις αθηροσκληρωτικές πλάκες, όπου τα επίπεδά του συσχετίζονται με την βαρύτητα της βλάβης. Επιπλέον στην επαγόμενη από την ηπαρίνη θρομβοπενία φαίνεται ότι αναπτύσσονται αντισώματα, συνήθως του IgG1 ισότυπου, έναντι των κυκλοφορούντων συμπλεγμάτων CXCL4-ηπαρίνης, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ανοσοσυμπλεγμάτων, που αφενός μεν ενεργοποιούν τον FcγRIII υποδοχέα των αιμοπεταλίων, αφετέρου δε προκαλούν άμεση βλάβη στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αντιστοίχως, στο σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων, η τετραμερής μορφή του CXCL4 δημιουργεί σύμπλοκα με τη β2 γλυκοπρωτεΐνη I που αναγνωρίζονται από τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την κλινική εκδήλωση θρομβώσεων(406). Τέλος, έχει διαπιστωθεί ότι ο CXCL4 έχει μικροβιοκτόνο δράση έναντι παθογόνων όπως ο *Staphylococcus aureus*, η *Salmonella typhimurium*, η *Escherichia coli* και η *Candida albicans*(405).

Πρόσφατα δημοσιεύθηκε στο *New England Journal of Medicine*, μια μελέτη από τους van Bon et al που κατέδειξε τη σημασία του CXCL4, ως βιολογικού δείκτη στο ΣΣκ. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν μεθόδους πρωτεομικής για να διαπιστώσουν ότι ο CXCL4 είναι η κύρια εκκρινόμενη κυτταροκίνη από τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα ασθενών με ΣΣκ, τόσο στο δέρμα όσο και στην κυκλοφορία. Τα επίπεδα του CXCL4 στο πλάσμα των ασθενών με ΣΣκ και ειδικά των ασθενών με πρώιμη διάχυτη νόσο ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με αντίστοιχα επίπεδα των υγιών μαρτύρων, αλλά και σε σχέση με τα επίπεδα των ασθενών με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο, αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα ή ίνωση του ήπατος. Προοδευτικά οι τιμές του CXCL4 στο πλάσμα αυξάνονταν ξεκινώντας από την ομάδα του ιδιοπαθούς RP, προχωρώντας στην ομάδα του RP με θετικά ANA και καταλήγοντας στην ομάδα του VEDOSS. Στους ασθενείς με ΣΣκ τα επίπεδα του CXCL4 φάνηκαν να συσχετίζονται με την παρουσία πνευμονικής ίνωσης και ΠΑΥ, ενώ αύξαναν προοδευτικά με τη έκταση της δερματικής προσβολής, με χαμηλότερες τιμές να ανιχνεύονται στους ασθενείς με lcSSc, ενδιάμεσες στο dcSSc και ακόμη πιο υψηλές στη διάχυτη πρώιμη νόσο(238). Οι ερευνητές εκτίμησαν την αξία του CXCL4 ως βιοδείκτη σε μια ομάδα 79 ασθενών με ΣΣκ που παρακολούθηθηκαν για 18 μήνες. Μεταξύ αυτών των ασθενών, όσοι είχαν υψηλότερες αρχικές τιμές CXCL4 εμφάνισαν ταχύτερη έκπτωση της DLCO, μεγαλύτερη επίπτωση ακτινολογικά

επιβεβαιωμένης διάμεσης πνευμονικής ίνωσης και ταχύτερη επιδείνωση της δερματικής προσβολής (393).

Τα υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντος CXCL4 πιθανώς τροποποιούν τη διαφοροποίηση των δενδριτικών κυττάρων σε ασθενείς με ΣΣκ, καθιστώντας τα προερχόμενα από μονοκύτταρα δενδριτικά κύτταρα πιο ευαίσθητα στη διέγερση των TLR-υποδοχέων. Επιπλέον φαίνεται ότι τα προερχόμενα από μονοκύτταρα δενδριτικά κύτταρα που διαφοροποιήθηκαν παρουσία υψηλών επιπέδων CXCL4 επαγουν ισχυρά τον πολλαπλασιασμό CD4<sup>+</sup> και CD8<sup>+</sup> T-λεμφοκυττάρων και την παραγωγή ιντερφερόνης-γ (IFN-γ) και παράγοντα νέκρωσης των όγκων-α (TNF-α), ανεξάρτητα από την παρουσία αντιγόνου(407).

Μία ενδιαφέρουσα μελέτη επιβεβαίωσε τα ευρήματα των van Bon et al δείχνοντας ότι το δέρμα ασθενών με ΣΣκ είναι διηθημένο από πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα που εμφανίζουν χρόνια ενεργοποίηση και εκκρίνουν ιντερφερόνη-α και CXCL4. Ο CXCL4 δρα κυρίως ευοδώνοντας την εξαρτώμενη από τους υποδοχείς TLR-8 και TLR-9 παραγωγή ιντερφερόνης από τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα. Η εξάλειψη των πλασματοκυτταροειδών δενδριτικών κυττάρων προλάμβανε τη νόσο σε ζωικά μοντέλα σκληροδέρματος σε ποντίκια και μπορούσε να αναστρέψει την ίνωση σε ζώα με εγκατεστημένη νόσο(237). Σε μια πολύ πρόσφατη μελέτη οι Lande et al. έδειξαν ότι ο CXCL4 ενισχύει την ανοσολογική απόκριση σε ασθενείς με ΣΣκ οργανώνοντας το DNA των ίδιων των κυττάρων, αλλά και το μικροβιακό DNA σε υγρά κρυσταλλικά ανοσοσυμπλέγματα που επάγουν την διαμεσολαβούμενη από τον TLR-9 υπερδιέγερση των πλασματοκυτταροειδών δενδριτικών κυττάρων και την παραγωγή ιντερφερόνης-α. Μάλιστα αυτή η διαδικασία δεν απαιτεί την πρόσδεση του CXCL4 στον υποδοχέα του CXCR3. Έχει δε ιδιαίτερο ενδιαφέρον ότι τα ανοσοσυμπλέγματα CXCL4-DNA βρέθηκαν in vivo σε ασθενείς με ΣΣκ και τα επίπεδά τους συσχετίζονται με τα επίπεδα ιντερφερόνης-I στο αίμα των ασθενών(239). Το ρόλο του CXCL4 στην παθογένεση του ΣΣκ επιβεβαιώνει και η παρατήρηση των Valentini et al οι οποίοι σε 45 ασθενείς με VEDOSS διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα του CXCL4 στον ορό ήταν σημαντικά υψηλότερα συγκριτικά με εκείνα των υγιών μαρτύρων(408). Έχει επίσης ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι σε μια μελέτη ασθενών με διάχυτο ΣΣκ που έλαβαν imatinib διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα του CXCL4, του CD40-Ligand και του anti-PM/Sc1-100



ήταν σημαντικά υψηλότερα σε όσους εμφάνισαν ανταπόκριση στη θεραπεία, σε σχέση με όσους δεν ανταποκρίθηκαν(409). Στα πλαίσια της scleroderma lung study II, οι Volkman et al εξέτασαν σε διαδοχικές χρονικές στιγμές τα επίπεδα του CXCL4 στο πλάσμα 142 ασθενών με ΣΣκ και διάμεση πνευμονική ίνωση που έλαβαν αγωγή είτε με μυκοφαινολικό ή με από του στόματος κυκλοφωσφαμίδη. Τα αρχικά επίπεδα του CXCL4 ήταν αυξημένα στους ασθενείς σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, όμως δε συσχετιζόνταν με τις τιμές του FVC, του DLCO ή με την έκταση της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης, όπως αντανακλάται στα ακτινολογικά ευρήματα της αξονικής τομογραφίας θώρακα υψηλής ευκρίνειας. Ωστόσο τα επίπεδα του CXCL4 μειώθηκαν σε όλους τους ασθενείς που έλαβαν ανοσοκατασταλτική θεραπεία και η μεταβολή τους στους 12 μήνες μπορούσε να προβλέψει τη μελλοντική εξέλιξη της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης από τους 12 στους 24 μήνες(410).

#### **1.4.2 CXCL4-L1**

Το γονίδιο του CXCL4-L1 της μη αλληλόμορφης παραλλαγής του CXCL4 ανακαλύφθηκε το 1989 από τον Green et al. Ωστόσο, η πρωτεΐνη της CXCL4-L1 ισομορφής απομονώθηκε από αιμοπετάλια διεγερμένα με θρομβίνη μόλις το 2004. Ο CXCL4-L1 παράγεται και απελευθερώνεται συνεχόμενα από τα αιμοπετάλια, χωρίς να αποθηκεύεται σε κοκκία όπως ο CXCL4. Κύρια πηγή προέλευσης του CXCL4-L1 φαίνεται να είναι τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων, ενώ μετά από επαγωγή από μεσολαβητές της φλεγμονής μπορεί να παραχθεί και από τα μονοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα κύτταρα του οστεοσαρκώματος(403). Ο CXCL4-L1 διαφέρει από τον CXCL4 σε 3 μόνο αμινοξέα που εντοπίζονται στο καρβόξυ-τελικό άκρο του πεπτιδίου. Η αντικατάσταση αυτών των αμινοξέων οδηγεί σε ένα λιγότερο θετικά φορτισμένο μόριο με μικρότερη ικανότητα πρόσδεσης της ηπαρίνης και πιθανώς με διαφορετική δευτεροταγή δομή. Σε σχέση με τον CXCL4, ο CXCL4-L1 εμφανίζει μικρότερη συγγένεια με τις γλυκοζαμινογλυκάνες και ισχυρότερη αγγειοστατική δράση. Λόγω της ισχυρής αγγειοστατικής του δράσης ο CXCL4-L1 μπορεί να αναστέλλει την ανάπτυξη αλλά και τη μετάσταση ορισμένων όγκων όταν εγχέεται εντός του όγκου σε ζωικά μοντέλλα ποντικών(405). Τόσο ο CXCL4 όσο και ο CXCL4-L1 λειτουργούν χημειοτακτικά για τα κύτταρα φυσικούς φονείς (NK cells), τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα και τα άωρα δενδριτικά κύτταρα(403). Επίσης, τόσο ο CXCL4, όσο και ο CXCL4-L1 φαίνεται ότι επιδρούν άμεσα στα μονοκύτταρα, επάγοντας όμως διαφορετική απόκριση. Συγκεκριμένα, ο CXCL4-L1

δε φαίνεται να είναι παράγοντας επιβίωσης για τα μονοκύτταρα όπως ο CXCL4, ενώ παρατηρείται υψηλότερη έκφραση των υποδοχέων χημειοκινών CCR2, CCR5 and CXCR3 και των χημειοκινών CCL2 and CXCL8 από τα μονοκύτταρα μετά από διέγερση με τον CXCL4-L1(411). Πρόσφατα καταδείχθηκε ότι οι αγγειοστατικές και χημειοτακτικές δράσεις του CXCL4-L1 διαμεσολαβούνται από τον υποδοχέα CXCR3 (393). Πέραν του φυσιολογικού του ρόλου, ο CXCL4-L1 φαίνεται να εμπλέκεται και αυτός σε κάποιες παθολογικές διεργασίες, χωρίς, ωστόσο, η δράση του να έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Πιο συγκεκριμένα σε ασθενείς με αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο τα υψηλότερα επίπεδα του CXCL4-L1 βρέθηκαν να συσχετίζονται με βαρύτερη κλινική εκδήλωση του νοσήματος(406). Αντίθετα, σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο και διατηρημένη αριστερή καρδιακή λειτουργία τα χαμηλότερα επίπεδα CXCL4L1 κατά την αρχική εκτίμηση ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης χειρότερης έκβασης (καρδιακής αιτιολογίας θάνατος, οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ή νοσηλεία για καρδιακή ανεπάρκεια) μετά από ένα μέσο χρονικό διάστημα παρακολούθησης 2.5 ετών(412).

## 1.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΓΕΝΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

1. Nikpour M, Stevens WM, Herrick AL, Proudman SM. Epidemiology of systemic sclerosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2010 Dec 1;24(6):857–69.
2. Arnett FC, Howard RF, Tan F, Moulds JM, Bias WB, Durban E, et al. Increased prevalence of systemic sclerosis in a Native American tribe in Oklahoma. Association with an Amerindian HLA haplotype. *Arthritis Rheum*. 1996 Aug;39(8):1362–70.
3. Morrisroe K, Stevens W, Proudman S, Nikpour M. A systematic review of the epidemiology, disease characteristics and management of systemic sclerosis in Australian adults. *Int J Rheum Dis*. 2017 Nov 1;20(11):1728–50.
4. Bernatsky S, Joseph L, Pineau CA, Belisle P, Hudson M, Clarke AE. Scleroderma prevalence: Demographic variations in a population-based sample. *Arthritis Rheum*. 2009 Mar 15;61(3):400–4.
5. García Rodríguez LA, González-Pérez A, Michel A, Sáez ME. Contemporary epidemiology of systemic sclerosis: A population-based cohort study in the United Kingdom. *Semin Arthritis Rheum*. 2018 Nov 10;pii: S0049(18):30510–9.
6. Alamanos Y, Tsifetaki N, Voulgari P V., Siozos C, Tsamandouraki K, Alexiou GA, et al. Epidemiology of systemic sclerosis in northwest Greece 1981 to 2002. *Semin Arthritis Rheum*. 2005;34(5):714–20.
7. Freire M, Rivera A, Sopeña B, Tolosa Vilella C, Guillén-Del Castillo A, Colunga Argüelles D, et al. Clinical and epidemiological differences between men and women with systemic sclerosis: a study in a Spanish systemic sclerosis cohort and literature review. *Clin Exp Rheumatol*. 2017;35 Suppl 1(4):89–97.
8. Panopoulos ST, Bournia VK, Sfikakis PP. Is vasculopathy associated with systemic sclerosis more severe in men? *J Rheumatol*. 2013;40(1):46–51.
9. Carreira PE, Carmona L, Joven BE, Loza E, Andreu JL, Riemekasten G, et al. Gender differences in early systemic sclerosis patients: a report from the EULAR scleroderma trials and research group (EUSTAR) database. *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36 Suppl 1(4):68–75.
10. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, et al. Scleroderma (Systemic Sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol*. 1988 Feb;15(2):202–5.
11. Vanthuyne M, Smith V, De Langhe E, Van Praet J, Arat S, Deprsseux G, et al. The Belgian Systemic Sclerosis Cohort: Correlations Between Disease Severity Scores, Cutaneous Subsets, and Autoantibody Profile. *J Rheumatol*. 2012 Nov 1;39(11):2127–33.
12. Srivastava N, Hudson M, Tatibouet S, Wang M, Baron M, Fritzler MJ, et al. Thinking outside the box—The associations with cutaneous involvement and autoantibody status in systemic sclerosis are not always what we expect. *Semin Arthritis Rheum*. 2015 Oct;45(2):184–9.
13. Codullo V, Cereda E, Crepaldi G, Cappello S, Montecucco C, Caccialanza R, et al. Disease-related malnutrition in systemic sclerosis: evidences and implications. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33(4 Suppl 91):S190-4.
14. Rosato E, Gigante A, Gasperini ML, Molinaro I, Di Lazzaro Giralardi G, Afeltra A, et al. Nutritional status measured by BMI is impaired and correlates with left ventricular mass in patients with systemic sclerosis. *Nutrition*. 2014 Feb;30(2):204–9.

15. Racine M, Hudson M, Baron M, Nielson WR, Pope J, Markland J, et al. The Impact of Pain and Itch on Functioning and Health-Related Quality of Life in Systemic Sclerosis: An Exploratory Study. *J Pain Symptom Manage*. 2016 Jul;52(1):43–53.
16. Suarez-Almazor ME, Kallen MA, Roundtree AK, Mayes M. Disease and symptom burden in systemic sclerosis: a patient perspective. *J Rheumatol*. 2007 Aug;34(8):1718–26.
17. Danieli E, Airò P, Bettoni L, Cinquini M, Antonioli CM, Cavazzana I, et al. Health-related quality of life measured by the Short Form 36 (SF-36) in systemic sclerosis: correlations with indexes of disease activity and severity, disability, and depressive symptoms. *Clin Rheumatol*. 2005 Feb 6;24(1):48–54.
18. Peytrignet S, Denton CP, Lunt M, Hesselstrand R, Mouthon L, Silman A, et al. Disability, fatigue, pain and their associates in early diffuse cutaneous systemic sclerosis: the European Scleroderma Observational Study. *Rheumatology*. 2018 Feb 1;57(2):370–81.
19. Wigley FM, Flavahan NA. Raynaud's Phenomenon. *Campion EW, editor. N Engl J Med*. 2016 Aug 11;375(6):556–65.
20. Gualtierotti R, Ingegnoli F, Griffini S, Grovetti E, Borghi MO, Bucciarelli P, et al. Detection of early endothelial damage in patients with Raynaud's phenomenon. *Microvasc Res*. 2017 Sep 1;113:22–8.
21. Meier FMP, Frommer KW, Dinser R, Walker UA, Czirjak L, Denton CP, et al. Update on the profile of the EUSTAR cohort: an analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research group database. *Ann Rheum Dis*. 2012 Aug 1;71(8):1355–60.
22. Pizzorni C, Sulli A, Smith V, Lladó A, Paolino S, Cutolo M, et al. Capillaroscopy 2016: new perspectives in systemic sclerosis. *Acta Reumatol Port*. 2016;41(1):8–14.
23. Amanzi L, Braschi F, Fiori G, Galluccio F, Miniati I, Guiducci S, et al. Digital ulcers in scleroderma: staging, characteristics and sub-setting through observation of 1614 digital lesions. *Rheumatology*. 2010 Jul 1;49(7):1374–82.
24. Hughes M, Tracey A, Bhushan M, Chakravarty K, Denton CP, Dubey S, et al. Reliability of digital ulcer definitions as proposed by the UK Scleroderma Study Group: A challenge for clinical trial design. *J Scleroderma Relat Disord*. 2018 Jun 27;3(2):170–4.
25. Giuggioli D, Manfredi A, Lumetti F, Colaci M, Ferri C. Scleroderma skin ulcers definition, classification and treatment strategies our experience and review of the literature. *Autoimmun Rev*. 2018 Feb 1;17(2):155–64.
26. Hughes M, Pauling JD. Exploring the patient experience of digital ulcers in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum*. 2019 Aug 11;48(5):888–94.
27. Lambova S, Batalov A, Sapundzhiev L, Müller-Ladner U. Digital Ulcers in Systemic Sclerosis - Frequency, Subtype Distribution and Clinical Outcome. *Curr Rheumatol Rev*. 2013;9(4):268–73.
28. Gigante A, Margiotta D, Navarini L, Barbano B, Gasperini ML, D'Agostino C, et al. Serum level of endostatin and digital ulcers in systemic sclerosis patients. *Int Wound J*. 2018 Jun 1;15(3):424–8.
29. Park E-K, Park J-H, Kweon S-M, Kim G-T, Lee S-G. Vitamin D deficiency is associated with digital ulcer but not with atherosclerosis or arterial stiffness in patients with systemic sclerosis: a pilot study. *Clin Rheumatol*. 2017 Jun 1;36(6):1325–33.
30. Silva I, Almeida C, Teixeira A, Oliveira J, Vasconcelos C. Impaired

- angiogenesis as a feature of digital ulcers in systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*. 2016 Jul 26;35(7):1743–51.
31. Guillevin L, Hunsche E, Denton CP, Krieg T, Schwierin B, Rosenberg D, et al. Functional impairment of systemic scleroderma patients with digital ulcerations: results from the DUO Registry. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(2 Suppl 76):71–80.
  32. 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. *Ann Rheum Dis*. 2016 Oct;75(10):1770–6.
  33. Tolosa-Vilella C, Morera-Morales ML, Simeón-Aznar CP, Marí-Alfonso B, Colunga-Arguelles D, Callejas\_Rubio JL, et al. Digital ulcers and cutaneous subsets of systemic sclerosis: Clinical, immunological, nailfold capillaroscopy, and survival differences in the Spanish RESCLE Registry. *Semin Arthritis Rheum*. 2016 Oct;46(2):200–8.
  34. Mihai C, Landewé R, van der Heijde D, Walker UA, Constantin PI, Gherghe AM, et al. Digital ulcers predict a worse disease course in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2016 Apr;75(4):681–6.
  35. Bruni C, Guiducci S, Bellando-randone S, Lepri G, Braschi F, Fiori G, et al. Digital ulcers as a sentinel sign for early internal organ involvement in very early systemic sclerosis. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2015;54(1):72–6.
  36. Meunier P, Dequidt L, Barnetche T, Lazaro E, Duffau P, Richez C, et al. Increased risk of mortality in systemic sclerosis-associated digital ulcers: a systematic review and meta-analysis. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2019 Feb;33(2):405–9.
  37. Condliffe R, Kovacs G. Identifying early pulmonary arterial hypertension in patients with systemic sclerosis. *Eur Respir J*. 2018 Apr 4;51(4):1800495.
  38. Launay D, Sobanski V, Hachulla E, Humbert M. Pulmonary hypertension in systemic sclerosis: different phenotypes. *Eur Respir Rev*. 2017 Sep 30;26(145):170056.
  39. Hachulla E, Gressin V, Guillevin L, Carpentier P, Diot E, Sibilia J, et al. Early detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: A French nationwide prospective multicenter study. *Arthritis Rheum*. 2005 Dec;52(12):3792–800.
  40. Hachulla E, de Groote P, Gressin V, Sibilia J, Diot E, Carpentier P, et al. The three-year incidence of pulmonary arterial hypertension associated with systemic sclerosis in a multicenter nationwide longitudinal study in France. *Arthritis Rheum*. 2009 Jun;60(6):1831–9.
  41. Niklas K, Niklas A, Mularek-Kubzdela T, Puszczewicz M. Prevalence of pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and mixed connective tissue disease. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Jul;97(28):e11437.
  42. Coghlan JG, Wolf M, Distler O, Denton CP, Doelberg M, Harutyunova S, et al. Incidence of pulmonary hypertension and determining factors in patients with systemic sclerosis. *Eur Respir J*. 2018 Apr;51(4):1701197.
  43. Chang B, Schachna L, White B, Wigley FM, Wise RA. Natural history of mild-moderate pulmonary hypertension and the risk factors for severe pulmonary hypertension in scleroderma. *J Rheumatol*. 2006 Feb;33(2):269–74.
  44. Nihtyanova SI, Tang EC, Coghlan JG, Wells AU, Black CM, Denton CP. Improved survival in systemic sclerosis is associated with better ascertainment of internal organ disease: a retrospective cohort study. *QJM*. 2010 Feb

- 1;103(2):109–15.
45. Kolstad KD, Li S, Steen V, Chung L, Bolster MB, Csuka ME, et al. Long-Term Outcomes in Systemic Sclerosis-Associated Pulmonary Arterial Hypertension From the Pulmonary Hypertension Assessment and Recognition of Outcomes in Scleroderma Registry (PHAROS). *Chest*. 2018 Oct;154(4):862–71.
  46. Hsu VM, Chung L, Hummers LK, Shah A, Simms R, Bolster M, et al. Risk Factors for Mortality and Cardiopulmonary Hospitalization in Systemic Sclerosis Patients At Risk for Pulmonary Hypertension, in the PHAROS Registry. *J Rheumatol*. 2019 Oct 1;46(2):176–83.
  47. Ramjug S, Hussain N, Hurdman J, Billings C, Charalampopoulos A, Elliot CA, et al. Idiopathic and Systemic Sclerosis-Associated Pulmonary Arterial Hypertension. *Chest*. 2017 Jul;152(1):92–102.
  48. Mihai C, Antic M, Dobrota R, Bonderman D, Chadha-Boreham H, Coghlan JG, et al. Factors associated with disease progression in early-diagnosed pulmonary arterial hypertension associated with systemic sclerosis: longitudinal data from the DETECT cohort. *Ann Rheum Dis*. 2018 Jan;77(1):128–32.
  49. Humbert M, Yaici A, de Groote P, Montani D, Sitbon O, Launay D, et al. Screening for pulmonary arterial hypertension in patients with systemic sclerosis: Clinical characteristics at diagnosis and long-term survival. *Arthritis Rheum*. 2011 Nov;63(11):3522–30.
  50. Hoffmann-Vold A-M, Hesselstrand R, Fretheim H, Ueland T, Andreassen AK, Brunborg C, et al. CCL21 as a Potential Serum Biomarker for Pulmonary Arterial Hypertension in Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheumatol*. 2018 Oct;70(10):1644–53.
  51. Hickey PM, Lawrie A, Condliffe R. Circulating Protein Biomarkers in Systemic Sclerosis Related Pulmonary Arterial Hypertension: A Review of Published Data. *Front Med*. 2018 Jun 6;5:175.
  52. Coghlan JG, Denton CP, Grünig E, Bonderman D, Distler O, Khanna D, et al. Evidence-based detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: the DETECT study. *Ann Rheum Dis*. 2014 Jul;73(7):1340–9.
  53. Guillén-Del Castillo A, Callejas-Moraga EL, García G, Rodríguez-Palomares JF, Román A, Berastegui C, et al. High sensitivity and negative predictive value of the DETECT algorithm for an early diagnosis of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: application in a single center. *Arthritis Res Ther*. 2017 Dec 14;19(1):135.
  54. Coirier V, Lescoat A, Fournet M, Cazalets C, Coiffier G, Jouneau S, et al. Dépistage de l'hypertension artérielle pulmonaire au cours de la sclérodémie systémique : comparaison de l'algorithme DETECT à une discussion pluridisciplinaire en centre de compétence. *La Rev Médecine Interne*. 2017 Aug;38(8):502–7.
  55. Vandecasteele E, Drieghe B, Melsens K, Thevissen K, De Pauw M, Deschepper E, et al. Screening for pulmonary arterial hypertension in an unselected prospective systemic sclerosis cohort. *Eur Respir J*. 2017 May 11;49(5):1602275.
  56. Kristensen LE, Karlsson J a., Englund M, Petersson IF, Saxne T, Geborek P. Presence of peripheral arthritis and male sex predicting continuation of anti-tumor necrosis factor therapy in ankylosing spondylitis: An observational prospective cohort study from the South Swedish Arthritis Treatment Group

- register. *Arthritis Care Res.* 2010;62(10):1362–9.
57. Mullin CJ, Mathai SC. New insights into the recognition, classification and management of systemic sclerosis-associated pulmonary hypertension. *Curr Opin Rheumatol.* 2017 Aug;29(6):1.
  58. Stamm A, Saxer S, Lichtblau M, Hasler ED, Jordan S, Huber LC, et al. Exercise pulmonary haemodynamics predict outcome in patients with systemic sclerosis. *Eur Respir J.* 2016 Dec;48(6):1658–67.
  59. Penn H, Howie AJ, Kingdon EJ, Bunn CC, Stratton RJ, Black CM, et al. Scleroderma renal crisis: patient characteristics and long-term outcomes. *QJM.* 2007 Jun 2;100(8):485–94.
  60. Shanmugam VK, Steen VD. Renal disease in scleroderma: an update on evaluation, risk stratification, pathogenesis and management. *Curr Opin Rheumatol.* 2012 Nov;24(6):669–76.
  61. Steen VD, Mayes MD, Merkel PA. Assessment of kidney involvement. Vol. 21(suppl.29), *Clin Exp Rheumatol.* 2003.
  62. Hudson M, Baron M, Tatibouet S, Furst DE, Khanna D, International Scleroderma Renal Crisis Study Investigators. Exposure to ACE inhibitors prior to the onset of scleroderma renal crisis—Results from the International Scleroderma Renal Crisis Survey. *Semin Arthritis Rheum.* 2014 Apr;43(5):666–72.
  63. Hoa S, Stern EP, Denton CP, Hudson M, Baron M, Frech T, et al. Towards developing criteria for scleroderma renal crisis: A scoping review. *Autoimmun Rev.* 2017 Apr;16(4):407–15.
  64. Bose N, Chiesa-Vottero A, Chatterjee S. Scleroderma renal crisis. *Semin Arthritis Rheum.* 2015 Jun;44(6):687–94.
  65. Batal I, Domsic RT, Medsger TA, Bastacky S. Scleroderma renal crisis: a pathology perspective. *Int J Rheumatol.* 2010 Jul 28;2010:543704.
  66. Ghossein C, Varga J, Fenves AZ. Recent Developments in the Classification, Evaluation, Pathophysiology, and Management of Scleroderma Renal Crisis. *Curr Rheumatol Rep.* 2016 Jan 29;18(1):5.
  67. Rosato E, Gigante A, Barbano B, Gasperini ML, Cianci R, Muscaritoli M. Prognostic Factors of Renal Involvement in Systemic Sclerosis. *Kidney Blood Press Res.* 2018;43(3):682–9.
  68. Walker UA, Tyndall A, Czirjak L, Denton C, Farge-Bancel D, Kowal-Bielecka O, et al. Clinical risk assessment of organ manifestations in systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials And Research group database. *Ann Rheum Dis.* 2007 Jan 12;66(6):754–63.
  69. Vaidya PN, Finnigan NA. Scleroderma And Renal Crisis. *StatPearls.* 2018.
  70. Gordon SM, Stitt RS, Nee R, Bailey WT, Little DJ, Knight KR, et al. Risk Factors for Future Scleroderma Renal Crisis at Systemic Sclerosis Diagnosis. *J Rheumatol.* 2019 Jul 15;46(1):85–92.
  71. Hamaguchi Y, Kodera M, Matsushita T, Hasegawa M, Inaba Y, Usuda T, et al. Clinical and immunologic predictors of scleroderma renal crisis in Japanese systemic sclerosis patients with anti-RNA polymerase III autoantibodies. *Arthritis Rheumatol.* 2015 Apr;67(4):1045–52.
  72. Nguyen B, Assassi S, Arnett FC, Mayes MD. Association of RNA polymerase III antibodies with scleroderma renal crisis. Vol. 37, *Journal of Rheumatology.* 2010. p. 1068.
  73. Hesselstrand R, Scheja A, Wuttge D. Scleroderma renal crisis in a Swedish systemic sclerosis cohort: survival, renal outcome, and RNA polymerase III

- antibodies as a risk factor. *Scand J Rheumatol*. 2012 Feb;41(1):39–43.
74. Guillevin L, Berezne A, Seror R, Teixeira L, Pourrat J, Mahr A, et al. Scleroderma renal crisis: a retrospective multicentre study on 91 patients and 427 controls. *Rheumatology*. 2012 Mar 1;51(3):460–7.
  75. Cozzi F, Marson P, Cardarelli S, Favaro M, Tison T, Tonello M, et al. Prognosis of scleroderma renal crisis: a long-term observational study. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Dec 1;27(12):4398–403.
  76. Teixeira L, Mouthon L, Mahr A, Berezne A, Agard C, Mehrenberger M, et al. Mortality and risk factors of scleroderma renal crisis: A French retrospective study of 50 patients. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(1):110–6.
  77. Hunzelmann N, Genth E, Krieg T, Lehmacher W, Melchers I, Meurer M, et al. The registry of the German Network for Systemic Scleroderma: frequency of disease subsets and patterns of organ involvement. *Rheumatology*. 2008 Apr 29;47(8):1185–92.
  78. Krieg T, Takehara K. Skin disease: a cardinal feature of systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2006 Jun 1;48(suppl\_3):iii14–8.
  79. Van Praet JT, Smith V, Haspelslagh M, Degryse N, Elewaut D, De Keyser F. Histopathological cutaneous alterations in systemic sclerosis: A clinicopathological study. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(1):R35.
  80. Wirz EG, Jaeger VK, Allanore Y, Riemekasten G, Hachulla E, Distler O, et al. Incidence and predictors of cutaneous manifestations during the early course of systemic sclerosis: a 10-year longitudinal study from the EUSTAR database. *Ann Rheum Dis*. 2016 Jul;75(7):1285–92.
  81. Steen VD, Medsger TA. Improvement in skin thickening in systemic sclerosis associated with improved survival. *Arthritis Rheum*. 2001 Dec;44(12):2828–35.
  82. Khanna D, Furst DE, Clements PJ, Allanore Y, Baron M, Czirjak L, et al. Standardization of the Modified Rodnan Skin Score for Use in Clinical Trials of Systemic Sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord*. 2017 Jan 23;2(1):11–8.
  83. Furst DE, Clements PJ, Steen VD, Medsger TA, Masi AT, D'Angelo WA, et al. The modified Rodnan skin score is an accurate reflection of skin biopsy thickness in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 1998 Jan;25(1):84–8.
  84. Sulli A, Ruaro B, Smith V, Paolino S, Pizzorni C, Pesce G, et al. Subclinical dermal involvement is detectable by high frequency ultrasound even in patients with limited cutaneous systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther*. 2017 Dec 20;19(1):61.
  85. Hesselstrand R, Carlestam J, Wildt M, Sandqvist G, Andréasson K. High frequency ultrasound of skin involvement in systemic sclerosis – a follow-up study. *Arthritis Res Ther*. 2015 Dec 19;17(1):329.
  86. Liu H, Hou Y, Zhu Q, Xu D, Wang L, Li J, et al. A preliminary study of skin ultrasound in diffuse cutaneous systemic sclerosis: Does skin echogenicity matter? Kuwana M, editor. *PLoS One*. 2017 Mar 24;12(3):e0174481.
  87. Hou Y, Zhu Q, Liu H, Jiang Y, Wang L, Xu D, et al. A Preliminary Study of Acoustic Radiation Force Impulse Quantification for the Assessment of Skin in Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis. *J Rheumatol*. 2015 Mar;42(3):449–55.
  88. Valenzuela A, Song P, Chung L. Calcinosis in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol*. 2018 Aug;30(6):1.
  89. Valenzuela A, Baron M, Herrick AL, Proudman S, Stevens W, Rodriguez-Reyna TS, et al. Calcinosis is associated with digital ulcers and osteoporosis in patients with systemic sclerosis: A Scleroderma Clinical Trials Consortium



- study. *Semin Arthritis Rheum*. 2016 Dec;46(3):344–9.
90. Pai S, Hsu V. Are there risk factors for scleroderma-related calcinosis? *Mod Rheumatol*. 2018 May 4;28(3):518–22.
  91. Elhai M, Guerini H, Bazeli R, Avouac J, Freire V, Drapé J-L, et al. Ultrasonographic hand features in systemic sclerosis and correlates with clinical, biologic, and radiographic findings. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012 Aug;64(8):1244–9.
  92. Suliman YA, Kafaja S, Fitzgerald J, Wortsman X, Grotts J, Matucci-Cerrinic M, et al. Ultrasound characterization of cutaneous ulcers in systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*. 2018 Jun 10;37(6):1555–61.
  93. Kimball AB, Summers RM, Turner M, Dugan EM, Hicks J, Miller FW, et al. Magnetic resonance imaging detection of occult skin and subcutaneous abnormalities in juvenile dermatomyositis. Implications for diagnosis and therapy. *Arthritis Rheum*. 2000 Aug;43(8):1866–73.
  94. Valenzuela A, Chung L. Calcinosis: pathophysiology and management. *Curr Opin Rheumatol*. 2015 Nov;27(6):542–8.
  95. Gauhar R, Wilkinson J, Harris J, Manning J, Herrick A. Calcinosis preferentially affects the thumb compared to other fingers in patients with systemic sclerosis. *Scand J Rheumatol*. 2016 Jul 3;45(4):317–20.
  96. Khanna D, Nagaraja V, Gladue H, Chey W, Pimentel M, Frech T. Measuring response in the gastrointestinal tract in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2013 Nov;25(6):700–6.
  97. Butt S, Emmanuel A. Systemic sclerosis and the gut. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013 May 10;7(4):331–9.
  98. Lepri G, Guiducci S, Bellando-Randone S, Giani I, Bruni C, Blagojevic J, et al. Evidence for oesophageal and anorectal involvement in very early systemic sclerosis (VEDOSS): report from a single VEDOSS/EUSTAR centre. *Ann Rheum Dis*. 2015 Jan;74(1):124–8.
  99. Hansi N, Thoua N, Carulli M, Chakravarty K, Lal S, Smyth A, et al. Consensus best practice pathway of the UK scleroderma study group: gastrointestinal manifestations of systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 32(6 Suppl 86):S-214-21.
  100. Karamanolis GP, Denaxas K, Panopoulos S, Bournia VK, Zorbala A, Kamberoglou D, Schizas D, Ladas SD SP. Severe oesophageal disease and its associations with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2017;35:82–5.
  101. Hershcovici T, Jha LK, Johnson T, Gerson L, Stave C, Malo J, et al. Systematic review: the relationship between interstitial lung diseases and gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011 Dec;34(11–12):1295–305.
  102. Zhang XJ, Bonner A, Hudson M, Baron M, Pope J, Pope J. Association of Gastroesophageal Factors and Worsening of Forced Vital Capacity in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol*. 2013 Jun;40(6):850–8.
  103. Parrado RH, Lemus HN, Coral-Alvarado PX, Quintana López G. Gastric Antral Vascular Ectasia in Systemic Sclerosis: Current Concepts. *Int J Rheumatol*. 2015;2015:1–6.
  104. 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. *J Rheumatol*. 2013 Apr;40(4):455–60.
  105. Radić M, Kaliterna DM, Radić J. *Helicobacter pylori* infection and systemic

- sclerosis—is there a link? *Jt Bone Spine*. 2011 Jul;78(4):337–40.
106. Khanna D, Melikterminas E. Gastrointestinal involvement in systemic sclerosis. *Indian J Rheumatol*. 2008 Mar;3(1):13–20.
  107. Caimmi C, Caramaschi P, Venturini A, Bertoldo E, Vantaggiato E, Viapiana O, et al. Malnutrition and sarcopenia in a large cohort of patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*. 2018 Apr 1;37(4):987–97.
  108. Mecoli C, Purohit S, Sandorfi N, Derk CT. Mortality, Recurrence, and Hospital Course of Patients with Systemic Sclerosis-related Acute Intestinal Pseudo-obstruction. *J Rheumatol*. 2014 Oct;41(10):2049–54.
  109. Garros A, Marjoux S, Khouatra C, Coppere B, Grange C, Hot A, et al. Prevalence of fecal incontinence in a cohort of systemic sclerosis patients within a regional referral network. *United Eur Gastroenterol J*. 2017 Nov 11;5(7):1046–50.
  110. Umar SB, Griffing L, Garcia H, Foxx-Orenstein AE, DiBaise JK, Crowell MD. The Impact of Pelvic Floor and Lower Gastrointestinal Symptoms on Quality of Life in Women With Systemic Sclerosis. *J Clin Gastroenterol*. 2016 Jul;50(6):e55–9.
  111. Richard N, Hudson M, Gyger G, Baron M, Sutton E, Khalidi N, et al. Clinical correlates of faecal incontinence in systemic sclerosis: identifying therapeutic avenues. *Rheumatology*. 2016 Dec 24;kew441.
  112. 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. *J Rheumatol*. 2010 Jul;37(7):1488–501.
  113. Kamalaksha S, White DHN, Solanki KK. Significance of combined anti-CCP antibodies and rheumatoid factor in a New Zealand cohort of patients with systemic sclerosis. *Int J Rheum Dis*. 2018 Jul;21(7):1430–5.
  114. Morrisroe KB, Nikpour M, Proudman SM. Musculoskeletal Manifestations of Systemic Sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2015 Aug;41(3):507–18.
  115. Lescoat A, Ballerie A, Belhomme N, Cazalets C, de Carlan M, Droitcourt C, et al. Synovial involvement assessed by power Doppler ultra-sonography in systemic sclerosis: results of a cross-sectional study. *Rheumatology*. 2018 Nov 1;57(11):2012–21.
  116. Morrisroe K, Sudararajan V, Stevens W, Sahhar J, Zochling J, Roddy J, et al. Work productivity in systemic sclerosis, its economic burden and association with health-related quality of life. *Rheumatology*. 2018 Jan 1;57(1):73–83.
  117. Bálint Z, Farkas H, Farkas N, Minier T, Kumánovics G, Horváth K, et al. A three-year follow-up study of the development of joint contractures in 131 patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 32(6 Suppl 86):S-68-74.
  118. Steen VD, Medsger TA. The palpable tendon friction rub: an important physical examination finding in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 1997 Jun;40(6):1146–51.
  119. Randone SB, Guiducci S, Cerinic MM. Musculoskeletal involvement in systemic sclerosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2008 Apr;22(2):339–50.
  120. Avouac J, Walker UA, Hachulla E, Riemekasten G, Cuomo G, Carreira PE, et al. Joint and tendon involvement predict disease progression in systemic sclerosis: a EUSTAR prospective study. *Ann Rheum Dis*. 2016 Jan;75(1):103–9.
  121. 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 (Oxford)*. 2017;56(suppl\_5):v38–44.
122. Paik JJ, Wigley FM, Mejia AF, Hummers LK. Independent Association of Severity of Muscle Weakness With Disability as Measured by the Health Assessment Questionnaire Disability Index in Scleroderma. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2016 Nov;68(11):1695–703.
  123. Bhansing KJ, Lammens M, Knaapen HKA, van Riel PLCM, van Engelen BGM, Vonk MC. Scleroderma-polymyositis overlap syndrome versus idiopathic polymyositis and systemic sclerosis: a descriptive study on clinical features and myopathology. *Arthritis Res Ther*. 2014 May 13;16(3):R111.
  124. Ranque B, Authier F-J, Le-Guern V, Pagnoux C, Berezne A, Allanore Y, et al. A descriptive and prognostic study of systemic sclerosis-associated myopathies. *Ann Rheum Dis*. 2009 Sep 1;68(9):1474–7.
  125. Paik JJ, Wigley FM, Shah AA, Corse AM, Casciola-Rosen L, Hummers LK, et al. Association of Fibrosing Myopathy in Systemic Sclerosis and Higher Mortality. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2017 Nov;69(11):1764–70.
  126. Johnstone EM, Hutchinson CE, Vail A, Chevance A, Herrick AL. Acro-osteolysis in systemic sclerosis is associated with digital ischaemia and severe calcinosis. *Rheumatology*. 2012 Dec 1;51(12):2234–8.
  127. Botou A, Bangeas A, Alexiou I, Sakkas LI. Acro-osteolysis. *Clin Rheumatol*. 2017 Jan 29;36(1):9–14.
  128. Arana-Ruiz JC, Amezcua-Guerra LM. La acrosteólisis como indicador de gravedad en los pacientes con esclerosis sistémica. *Reumatol Clínica*. 2016 Sep;12(5):263–6.
  129. Steen VD, Medsger TA. Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972-2002. *Ann Rheum Dis*. 2007 Feb 2;66(7):940–4.
  130. Wells AU. Interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Presse Med*. 2014 Oct;43(10 Pt 2):e329-43.
  131. D'Angelo WA, Fries JF, Masi AT, Shulman LE. Pathologic observations in systemic sclerosis (scleroderma). A study of fifty-eight autopsy cases and fifty-eight matched controls. *Am J Med*. 1969 Dec 13;46(3):428–40.
  132. Adler S, Huscher D, Siegert E, Allanore Y, Czirjak L, DelGaldo F, et al. Systemic sclerosis associated interstitial lung disease - individualized immunosuppressive therapy and course of lung function: results of the EUSTAR group. *Arthritis Res Ther*. 2018 Jan;20(1):17.
  133. Steele R, Hudson M, Lo E, Baron M, Canadian Scleroderma Research Group. Clinical decision rule to predict the presence of interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012 Apr;64(4):519–24.
  134. Sanchez-Cano D, Ortego-Centeno N, Callejas JL, Fonollosa Pla V, Rios-Fernandez R, Tolosa-Vilella C, et al. Interstitial lung disease in systemic sclerosis: data from the spanish scleroderma study group. *Rheumatol Int*. 2018 Mar;38(3):363–74.
  135. Vivero M, Padera RF. Histopathology of lung disease in the connective tissue diseases. *Rheum Dis Clin North Am*. 2015 May;41(2):197–211.
  136. Kim DS, Yoo B, Lee JS, Kim EK, Lim CM, Lee S Do, et al. The major histopathologic pattern of pulmonary fibrosis in scleroderma is nonspecific interstitial pneumonia. *Sarcoidosis, Vasc Diffus lung Dis Off J WASOG*. 2002 Jun;19(2):121–7.
  137. Hax V, Bredemeier M, Didonet Moro AL, Pavan TR, Vieira MV, Pitrez EH, et al. Clinical algorithms for the diagnosis and prognosis of interstitial lung

- disease in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum*. 2017 Oct;47(2):228–34.
138. Goh NSL, Desai SR, Veeraraghavan S, Hansell DM, Copley SJ, Maher TM, et al. Interstitial Lung Disease in Systemic Sclerosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Jun 20;177(11):1248–54.
  139. Molberg O, Hoffmann-Vold A-M. Interstitial lung disease in systemic sclerosis: progress in screening and early diagnosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2016 Nov;28(6):613–8.
  140. Suliman YA, Dobrota R, Huscher D, Nguyen-Kim TDL, Maurer B, Jordan S, et al. Brief Report: Pulmonary Function Tests: High Rate of False-Negative Results in the Early Detection and Screening of Scleroderma-Related Interstitial Lung Disease. *Arthritis Rheumatol*. 2015 Dec;67(12):3256–61.
  141. Buda N, Piskunowicz M, Porzezinska M, Kosiak W, Zdrojewski Z. Lung Ultrasonography in the Evaluation of Interstitial Lung Disease in Systemic Connective Tissue Diseases: Criteria and Severity of Pulmonary Fibrosis - Analysis of 52 Patients. *Ultraschall Med*. 2016 Aug;37(4):379–85.
  142. Wang Y, Gargani L, Barskova T, Furst DE, Cerinic MM. Usefulness of lung ultrasound B-lines in connective tissue disease-associated interstitial lung disease: a literature review. *Arthritis Res Ther*. 2017 Sep;19(1):206.
  143. Hassan RI, Lubertino LI, Barth MA, Quaglia MF, Montoya SF, Kerzberg E, et al. Lung Ultrasound as a Screening Method for Interstitial Lung Disease in Patients With Systemic Sclerosis. *J Clin Rheumatol*. 2018 Jul;
  144. Muller C de S, Warszawiak D, Paiva EDS, Escuissato DL. Pulmonary magnetic resonance imaging is similar to chest tomography in detecting inflammation in patients with systemic sclerosis. *Rev Bras Reumatol*. 2017 Sep;57(5):419–24.
  145. Moore OA, Goh N, Corte T, Rouse H, Hennessy O, Thakkar V, et al. Extent of disease on high-resolution computed tomography lung is a predictor of decline and mortality in systemic sclerosis-related interstitial lung disease. *Rheumatology*. 2013 Jan 1;52(1):155–60.
  146. Ariani A, Lumetti F, Silva M, Santilli D, Mozzani F, Lucchini G, et al. Systemic sclerosis interstitial lung disease evaluation: comparison between semiquantitative and quantitative computed tomography assessments. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2014;28(3):507–13.
  147. Tashkin DP, Volkmann ER, Tseng C-H, Kim HJ, Goldin J, Clements P, et al. Relationship between quantitative radiographic assessments of interstitial lung disease and physiological and clinical features of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2016 Feb;75(2):374–81.
  148. Ahmed SS, Johnson SR, Meaney C, Chau C, Marras TK. Lung function and survival in systemic sclerosis interstitial lung disease. *The Journal of rheumatology Canada: The Journal of Rheumatology*; Nov 1, 2014 p. 2326–8.
  149. Wodkowski M, Hudson M, Proudman S, Walker J, Stevens W, Nikpour M, et al. Monospecific anti-Ro52/TRIM21 antibodies in a tri-nation cohort of 1574 systemic sclerosis subjects: evidence of an association with interstitial lung disease and worse survival. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33(4 Suppl 91):S131-5.
  150. Winstone TA, Assayag D, Wilcox PG, Dunne J V., Hague CJ, Leipsic J, et al. Predictors of Mortality and Progression in Scleroderma-Associated Interstitial Lung Disease. *Chest*. 2014 Aug;146(2):422–36.
  151. Kuzumi A, Yoshizaki A, Toyama S, Fukasawa T, Ebata S, Nakamura K, et al. Serum interleukin-34 levels in patients with systemic sclerosis: Clinical association with interstitial lung disease. *J Dermatol*. 2018 Oct;45(10):1216–

- 20.
152. Hoffmann-Vold A-M, Weigt SS, Palchevskiy V, Volkmann E, Saggar R, Li N, et al. Augmented concentrations of CX3CL1 are associated with interstitial lung disease in systemic sclerosis. *PLoS One*. 2018;13(11):e0206545.
  153. Kuwana M, Shirai Y, Takeuchi T. Elevated Serum Krebs von den Lungen-6 in Early Disease Predicts Subsequent Deterioration of Pulmonary Function in Patients with Systemic Sclerosis and Interstitial Lung Disease. *J Rheumatol*. 2016 Oct;43(10):1825–31.
  154. Yamakawa H, Hagiwara E, Kitamura H, Yamanaka Y, Ikeda S, Sekine A, et al. Serum KL-6 and surfactant protein-D as monitoring and predictive markers of interstitial lung disease in patients with systemic sclerosis and mixed connective tissue disease. *J Thorac Dis*. 2017 Feb;9(2):362–71.
  155. Benfante A, Messina R, Paterno A, Scichilone N. Serum surfactant protein D and exhaled nitric oxide as biomarkers of early lung damage in systemic sclerosis. *Minerva Med*. 2018 Apr;109(2):71–8.
  156. Hoffmann-Vold A-M, Tennoe AH, Garen T, Midtvedt O, Abraityte A, Aalokken TM, et al. High Level of Chemokine CCL18 Is Associated With Pulmonary Function Deterioration, Lung Fibrosis Progression, and Reduced Survival in Systemic Sclerosis. *Chest*. 2016 Aug;150(2):299–306.
  157. Moore OA, Proudman SM, Goh N, Corte TJ, Rouse H, Hennessy O, et al. Quantifying change in pulmonary function as a prognostic marker in systemic sclerosis-related interstitial lung disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33(4 Suppl 91):S111-6.
  158. Guler SA, Winstone TA, Murphy D, Hague C, Soon J, Sulaiman N, et al. Does Systemic Sclerosis-associated Interstitial Lung Disease Burn Out? Specific Phenotypes of Disease Progression. *Ann Am Thorac Soc*. 2018 Dec;15(12):1427–33.
  159. Young A, Vummidi D, Visovatti S, Homer K, Wilhalme H, White ES, et al. Prevalence, Treatment and Outcomes of Coexistent Pulmonary Hypertension and Interstitial Lung Disease in Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheumatol (Hoboken, NJ)*. 2019 Feb 14;
  160. Michelfelder M, Becker M, Riedlinger A, Siegert E, Drömann D, Yu X, et al. Interstitial lung disease increases mortality in systemic sclerosis patients with pulmonary arterial hypertension without affecting hemodynamics and exercise capacity. *Clin Rheumatol*. 2017 Feb 27;36(2):381–90.
  161. Winstone TA, Hague CJ, Soon J, Sulaiman N, Murphy D, Leipsic J, et al. Oesophageal diameter is associated with severity but not progression of systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Respirology*. 2018 Oct;23(10):921–6.
  162. Salaffi F, Di Carlo M, Carotti M, Fraticelli P, Gabrielli A, Giovagnoni A. Relationship between interstitial lung disease and oesophageal dilatation on chest high-resolution computed tomography in patients with systemic sclerosis: a cross-sectional study. *Radiol Med*. 2018 Sep;123(9):655–63.
  163. Priora M, Manetta T, Scarati M, Parisi S, Laganà A, Peroni CL, et al. Serological and clinical profile of systemic sclerosis: analysis in a cohort of patients from a single centre in northern Italy. *G Ital Dermatol Venereol*. 2018 Apr 7;153(1):33–8.
  164. Sandmeier B, Jäger VK, Nagy G, Carreira PE, Tzankov A, Widuchowska M, et al. Autopsy versus clinical findings in patients with systemic sclerosis in a case series from patients of the EUSTAR database. *Clin Exp Rheumatol*.

- 2015;33:75–9.
165. Fernández-Codina A, Simeón-Aznar CP, Pinal-Fernandez I, Rodríguez-Palomares J, Pizzi MN, Hidalgo CE, et al. Cardiac involvement in systemic sclerosis: differences between clinical subsets and influence on survival. *Rheumatol Int.* 2017 Jan 25;37(1):75–84.
  166. Hachulla a-L, Launay D, Gaxotte V, de Groote P, Lamblin N, Devos P, et al. Cardiac magnetic resonance imaging in systemic sclerosis: a cross-sectional observational study of 52 patients. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(12):1878–84.
  167. Ferri C, Sebastiani M, Lo Monaco A, Iudici M, Giuggioli D, Furini F, et al. Systemic sclerosis evolution of disease pathomorphosis and survival. Our experience on Italian patients' population and review of the literature. *Autoimmun Rev.* 2014 Oct;13(10):1026–34.
  168. Ioannidis JP a, Vlachoyiannopoulos PG, Haidich A-B, Medsger T a, Lucas M, Michet CJ, et al. Mortality in systemic sclerosis: an international meta-analysis of individual patient data. *Am J Med.* 2005;118(1):2–10.
  169. Rubio-Rivas M, Simeón-Aznar CP, Velasco C, Mari-Alfonso B, Espinosa G, Corbella X, et al. Changes in the pattern of death of 987 patients with systemic sclerosis from 1990 to 2009 from the nationwide Spanish Scleroderma Registry (RESCLE). *Clin Exp Rheumatol.* 2017 Feb 6;35 Suppl 1(4):40–7.
  170. Elhai M, Meune C, Boubaya M, Avouac J, Hachulla E, Balbir-Gurman A, et al. Mapping and predicting mortality from systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2017 Nov;76(11):1897–905.
  171. Hao Y, Hudson M, Baron M, Carreira P, Stevens W, Rabusa C, et al. Early mortality in a multinational systemic sclerosis inception cohort. *Arthritis Rheumatol.* 2017 Dec;69(5):1067–77.
  172. Tyndall AJ, Bannert B, Vonk M, Airò P, Cozzi F, Carreira PE, et al. Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database. *Ann Rheum Dis .* 2010 Oct 1;69(10):1809–15.
  173. Draeger HT, Assassi S, Sharif R, Gonzalez EB, Harper BE, Arnett FC, et al. Right bundle branch block: a predictor of mortality in early systemic sclerosis. *PLoS One.* 2013;8(10):e78808.
  174. Vacca A, Meune C, Gordon J, Chung L, Proudman S, Assassi S, et al. Cardiac arrhythmias and conduction defects in systemic sclerosis. *Rheumatol.* 2014;53(7):1172–7.
  175. Muresan L, Petcu A, Pamfil C, Muresan C, Rinzis M, Mada RO, et al. Cardiovascular profiles of scleroderma patients with arrhythmias and conduction disorders. *Acta Reumatol Port.* 41(1):26–39.
  176. Gialafos E, Konstantopoulou P, Voulgari C, Giavri I, Panopoulos S. Abnormal spatial QRS-T angle, a marker of ventricular repolarisation, predicts serious ventricular arrhythmia in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30:327–31.
  177. Nordin A, Björnådal L, Larsson A, Svenungsson E, Jensen-Urstad K. Electrocardiography in 110 patients with systemic sclerosis: a cross-sectional comparison with population-based controls. *Scand J Rheumatol.* 2014 May;43(3):221–5.
  178. De Luca G, Bosello SL, Gabrielli FA, Berardi G, Parisi F, Rucco M, et al. Prognostic Role of Ventricular Ectopic Beats in Systemic Sclerosis : A Prospective Cohort Study Shows ECG Indexes Predicting the Worse Outcome. *PLoS One.* 2016;11(4):e0153012.

179. Jaeger VK, Wirz EG, Allanore Y, Rossbach P, Riemekasten G, Hachulla E, et al. Incidences and Risk Factors of Organ Manifestations in the Early Course of Systemic Sclerosis: A Longitudinal EUSTAR Study. Assassi S, editor. *PLoS One*. 2016 Oct 5;11(10):e0163894.
180. Joven BE, Almodovar R, Carmona L, Carreira PE. Survival, Causes of Death, and Risk Factors Associated With Mortality in Spanish Systemic Sclerosis Patients: Results From a Single University Hospital. *Semin Arthritis Rheum*. 2010 Feb;39(4):285–93.
181. Byers R, Marshall D, Freemont A. Pericardial involvement in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 1997;56(6):393–4.
182. Shah SJ, Mahmood A, Coghlan JG. Cardiac Involvement: Evaluation and Management. Second Edi. Varga J, Denton C, Wigley F, Allanore Y, Masataka K, editors. *Scleroderma : from pathogenesis to comprehensive management*. New York: Springer; 2016. 337–338 p.
183. Dunne J V, Chou JP, Viswanathan M, Wilcox P, Huang SH. Cardiac tamponade and large pericardial effusions in systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*. 2011;30(3):433–8.
184. Cosyns B, Plein S, Nihoyanopoulos P, Smiseth O, Achenbach S, Andrade MJ oao, et al. European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) position paper: Multimodality imaging in pericardial disease. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015;16(1):12–31.
185. Bulkley BH, Ridolfi RL, Salyer WR, Hutchins GM. Myocardial lesions of progressive systemic sclerosis. A cause of cardiac dysfunction. *Circulation*. 1976;53(3):483–90.
186. Mueller KA, Mueller II, Eppler D, Zuern CS, Seizer P, Kramer U, et al. Clinical and histopathological features of patients with systemic sclerosis undergoing endomyocardial biopsy. *PLoS One*. 2015;10(5):1–22.
187. Bournia V-K, Tountas C, Protogerou AD, Panopoulos S, Mavrogeni S, Sfikakis PP. Update on assessment and management of primary cardiac involvement in systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord*. 2018 Feb 4;3(1):53–65.
188. Faludi R, Költő G, Bartos B, Csima G, Czirják L, Komócsi A. Five-year follow-up of left ventricular diastolic function in systemic sclerosis patients: determinants of mortality and disease progression. *Semin Arthritis Rheum*. 2014;44(2):220–7.
189. Caforio ALP, Adler Y, Agostini C, Allanore Y, Anastasakis A, Arad M, et al. Diagnosis and management of myocardial involvement in systemic immune-mediated diseases: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Disease. *Eur Heart J*. 2017;38(35):2649–62.
190. Nagueh SFS, Smiseth OOA, Appleton CCP, Byrd BF, Dokainish H, Edvardsen T, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2016;22(2):107–33.
191. Mor-Avi V, Lang RM, Badano LP, Belohlavek M, Cardim NM, Derumeaux G, et al. Current and evolving echocardiographic techniques for the quantitative evaluation of cardiac mechanics: ASE/EAE consensus statement on methodology and indications endorsed by the Japanese society of echocardiography. *Eur J Echocardiogr*. 2011;12(3):167–205.

192. Ataş H, Kepez A, Tigen K, Samadov F, Özen G, Cincin A, et al. Evaluation of left atrial volume and function in systemic sclerosis patients using speckle tracking and real-time three-dimensional echocardiography. *Anatol J Cardiol*. 2016 May 19;16(5):316–22.
193. Chighizola CB, Pregnotato F, Meroni PL, Denton CP, Ong VH. N-terminal pro Brain Natriuretic Peptide as predictor of outcome in scleroderma renal crisis. *Clin Exp Rheumatol*. 2016;34 Suppl 1(5):122–8.
194. Nordin A, Svenungsson E, Björnådal L, Elvin K, Larsson A, Jensen-Urstad K. Troponin I and echocardiography in patients with systemic sclerosis and matched population controls. *Scand J Rheumatol*. 2017 May 4;46(3):226–35.
195. Mavrogeni S, Bratis K, Sfikakis PP. Pleuro-pericarditis, vasculitis, subendocardial and nodular biventricular fibrosis. The multiple faces of systemic sclerosis detected by cardiac magnetic resonance in the same patient. *Int J Cardiol*. 2013;163(2):e26–7.
196. Ntusi NA, Piechnik SK, Francis JM, Ferreira VM, Rai AB, Matthews PM, et al. Subclinical myocardial inflammation and diffuse fibrosis are common in systemic sclerosis – a clinical study using myocardial T1-mapping and extracellular volume quantification. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2014;16:21.
197. Di Cesare E, Battisti S, Di Sibio A, Cipriani P, Giacomelli R, Liakouli V, et al. Early assessment of sub-clinical cardiac involvement in systemic sclerosis (SSc) using delayed enhancement cardiac magnetic resonance (CE-MRI). *Eur J Radiol*. 2013;82(6):e268–73.
198. Mavrogeni S, Sfikakis PP, Gialafos E, Bratis K, Karabela G, Stavropoulos E, et al. Cardiac Tissue Characterization and the Diagnostic Value of Cardiovascular Magnetic Resonance in Systemic Connective Tissue Diseases. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2014;66(1):104–12.
199. Tzelepis GE, Kelekis NL, Plastiras SC, Mitseas P, Economopoulos N, Kampolis C, et al. Pattern and distribution of myocardial fibrosis in systemic sclerosis: A delayed enhanced magnetic resonance imaging study. *Arthritis Rheum*. 2007;56(11):3827–36.
200. Thuny F, Lovric D, Schnell F, Bergerot C, Ernande L, Cottin V, et al. Quantification of myocardial extracellular volume fraction with cardiac MR imaging for early detection of left ventricle involvement in systemic sclerosis. *Radiology*. 2014;271(2):373–80.
201. Barison A, Gargani L, De Marchi D, Aquaro GD onato, Guiducci S, Picano E, et al. Early myocardial and skeletal muscle interstitial remodelling in systemic sclerosis: insights from extracellular volume quantification using cardiovascular magnetic resonance. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015;16(1):74–80.
202. Hassoun PM. The right ventricle in scleroderma (2013 Grover Conference Series). *Pulm Circ*. 2015;5(1):3–14.
203. Nihtyanova SI, Denton CP. Autoantibodies as predictive tools in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol*. 2010 Feb 1;6(2):112–6.
204. Stochmal A, Czuwara J, Trojanowska M, Rudnicka L. Antinuclear Antibodies in Systemic Sclerosis: an Update. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019 Jan 3;1–12.
205. HAMAGUCHI Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: Predictive value for clinical evaluation and prognosis. *J Dermatol*. 2010 Jan;37(1):42–53.
206. Bernal-Bello D, de Tena JG, Guillén-del Castillo A, Selva-O'Callaghan A, Callejas-Moraga EL, Marín-Sánchez AM, et al. Novel risk factors related to cancer in scleroderma. *Autoimmun Rev*. 2017 May 1;16(5):461–8.



207. Valentini G, Rossa A Della, ... SB-A of the, 2001 undefined. European multicentre study to define disease activity criteria for systemic sclerosis. II. Identification of disease activity variables and development of preliminary activity. *ard.bmj.com*.
208. 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. *Ann Rheum Dis*. 2017 Jan;76(1):270–6.
209. Tay T, Ferdowsi N, Baron M, Stevens W, Hudson M, Proudman SM, et al. Measures of disease status in systemic sclerosis: A systematic review. *Semin Arthritis Rheum*. 2017 Feb 1;46(4):473–87.
210. Medsger TA, Silman AJ, Steen VD, Black CM, Akesson A, Bacon PA, et al. A disease severity scale for systemic sclerosis: development and testing. *J Rheumatol*. 1999 Oct;26(10):2159–67.
211. Tay T, Huq M, Ferdowsi N, Stevens W, Sahhar J, Ngian G-S, et al. Early Accrual of Organ Damage in Systemic Sclerosis: Rationale for Development of a Disease Damage Index. *J Scleroderma Relat Disord*. 2017 May 23;2(2):127–34.
212. Angiolilli C, Marut W, van der Kroef M, Chouri E, Reedquist KA, Radstake TRDJ. New insights into the genetics and epigenetics of systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol*. 2018 Nov 10;14(11):657–73.
213. Sheldon WB, Lurie DP, Maricq HR, Kahaleh MB, DeLustro FA, Gibofsky A, et al. Three siblings with scleroderma (systemic sclerosis) and two with Raynaud's phenomenon from a single kindred. *Arthritis Rheum*. 1981 May;24(5):668–76.
214. Manolios N, Dunckley H, Chivers T, Brooks P, Englert H. Immunogenetic analysis of 5 families with multicase occurrence of scleroderma and/or related variants. *J Rheumatol*. 1995 Jan;22(1):85–92.
215. McGregor AR, Watson A, Yunis E, Pandey JP, Takehara K, Tidwell JT, et al. Familial clustering of scleroderma spectrum disease. *Am J Med*. 1988 Jun;84(6):1023–32.
216. 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 Rheum*. 2003 Jul;48(7):1956–63.
217. Zhou X, Tan FK, Xiong M, Arnett FC, Feghali-Bostwick CA. Monozygotic twins clinically discordant for scleroderma show concordance for fibroblast gene expression profiles. *Arthritis Rheum*. 2005 Oct;52(10):3305–14.
218. Roberts-Thomson PJ, Walker JG. Stochastic processes in the aetiopathogenesis of scleroderma. *Intern Med J*. 2012 Mar 1;42(3):235–42.
219. De Martinis M, Ciccarelli F, Sirufo MM, Ginaldi L. An overview of environmental risk factors in systemic sclerosis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2016 Apr 2;12(4):465–78.
220. Oliver JE, Silman AJ. What epidemiology has told us about risk factors and aetiopathogenesis in rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(3):223.
221. Janowsky EC, Kupper LL, Hulka BS. Meta-Analyses of the Relation between Silicone Breast Implants and the Risk of Connective-Tissue Diseases. *N Engl J Med*. 2000 Mar 16;342(11):781–90.
222. Aslani S, Sobhani S, Gharibdoost F, Jamshidi A, Mahmoudi M. Epigenetics and pathogenesis of systemic sclerosis; the ins and outs. *Hum Immunol*. 2018

- Mar 1;79(3):178–87.
223. 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. *Biomed Res Int*. 2019;2019:4569826.
  224. Sunderkotter C, Riemekasten G. Pathophysiology and clinical consequences of Raynaud's phenomenon related to systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2006 Oct 1;45(Supplement 3):iii33–5.
  225. Michalska-Jakubus M, Kowal M, Adamczyk M, Krasowska D. Anti-endothelial cell antibodies do not correlate with disease activity in systemic sclerosis. *Adv Dermatology Allergol*. 2018 Apr;35(2):185–91.
  226. Cipriani P, Di Benedetto P, Ruscitti P, Liakouli V, Berardicurti O, Carubbi F, et al. Perivascular Cells in Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis Overexpress Activated ADAM12 and Are Involved in Myofibroblast Transdifferentiation and Development of Fibrosis. *J Rheumatol*. 2016 Jul;43(7):1340–9.
  227. Kahaleh B. Vascular Disease in Scleroderma: Mechanisms of Vascular Injury. *Rheum Dis Clin North Am*. 2008 Feb;34(1):57–71.
  228. Del Papa N, Pignataro F. The Role of Endothelial Progenitors in the Repair of Vascular Damage in Systemic Sclerosis. *Front Immunol*. 2018 Jun 18;9:1383.
  229. Cozzani E, Javor S, Laborai E, Drosera M, Parodi A. Endothelin-1 Levels in Scleroderma Patients: A Pilot Study. *ISRN Dermatol*. 2013;2013:1–4.
  230. Matucci Cerinic M, Kahaleh MB. Beauty and the beast. The nitric oxide paradox in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2002 Aug;41(8):843–7.
  231. Ntelis K, Bogdanos D, Dimitroulas T, Sakkas L, Daoussis D. Platelets in Systemic Sclerosis: the Missing Link Connecting Vasculopathy, Autoimmunity, and Fibrosis? *Curr Rheumatol Rep*. 2019 May 4;21(5):15.
  232. O'Reilly S, Huggle T, van Laar JM. T cells in systemic sclerosis: a reappraisal. *Rheumatology*. 2012 Sep 1;51(9):1540–9.
  233. Sakkas LI, Chikanza IC, Platsoucas CD. Mechanisms of Disease: the role of immune cells in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2006 Dec 1;2(12):679–85.
  234. LeRoy EC. Increased collagen synthesis by scleroderma skin fibroblasts in vitro: a possible defect in the regulation or activation of the scleroderma fibroblast. *J Clin Invest*. 1974 Oct;54(4):880–9.
  235. Sakkas LI, Bogdanos DP. The Role of B Cells in the Pathogenesis of Systemic Sclerosis. *Isr Med Assoc J*. 2016 Sep;18(9):516–9.
  236. Choi MY, Fritzler MJ. Progress in understanding the diagnostic and pathogenic role of autoantibodies associated with systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2016 Nov;28(6):586–94.
  237. Ah Kioon MD, Tripodo C, Fernandez D, Kirou KA, Spiera RF, Crow MK, et al. Plasmacytoid dendritic cells promote systemic sclerosis with a key role for TLR8. *Sci Transl Med*. 2018 Jan 10;10(423):eaam8458.
  238. van Bon L, Affandi AJ, Broen J, Christmann RB, Marijnissen RJ, Stawski L, et al. Proteome-wide Analysis and CXCL4 as a Biomarker in Systemic Sclerosis. *N Engl J Med*. 2014;370(5):433–43.
  239. Lande R, Lee EY, Palazzo R, Marinari B, Pietraforte I, Santos GS, et al. CXCL4 assembles DNA into liquid crystalline complexes to amplify TLR9-mediated interferon- $\alpha$  production in systemic sclerosis. *Nat Commun*. 2019 Dec 1;10(1):1731.
  240. van Caam A, Vonk M, van den Hoogen F, van Lent P, van der Kraan P.

- Unraveling SSc Pathophysiology; The Myofibroblast. *Front Immunol*. 2018 Nov 13;9:2452.
241. Jelaska A, Korn JH. Role of apoptosis and transforming growth factor beta1 in fibroblast selection and activation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2000 Oct;43(10):2230–9.
  242. Denton CP, Abraham DJ. Transforming growth factor-beta and connective tissue growth factor: key cytokines in scleroderma pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol*. 2001 Nov;13(6):505–11.
  243. McAnulty RJ, Campa JS, Cambrey AD, Laurent GJ. The effect of transforming growth factor beta on rates of procollagen synthesis and degradation in vitro. *Biochim Biophys Acta*. 1991 Jan 31;1091(2):231–5.
  244. Leask A, Holmes A, Black CM, Abraham DJ. Connective tissue growth factor gene regulation. Requirements for its induction by transforming growth factor-beta 2 in fibroblasts. *J Biol Chem*. 2003 Apr 11;278(15):13008–15.
  245. Varga JA, Trojanowska M. Fibrosis in systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2008 Feb;34(1):115–43; vii.
  246. Dziadzio M, Smith RE, Abraham DJ, Black CM, Denton CP. Circulating levels of active transforming growth factor  $\beta$ 1 are reduced in diffuse cutaneous systemic sclerosis and correlate inversely with the modified Rodnan skin score. *Rheumatology*. 2005 Dec 1;44(12):1518–24.
  247. Ihn H. Autocrine TGF-beta signaling in the pathogenesis of systemic sclerosis. *J Dermatol Sci*. 2008 Feb;49(2):103–13.
  248. Pannu J, Gore-Hyer E, Yamanaka M, Smith EA, Rubinchik S, Dong J-Y, et al. An increased transforming growth factor beta receptor type I: type II ratio contributes to elevated collagen protein synthesis that is resistant to inhibition via a kinase-deficient transforming growth factor beta receptor type II in scleroderma. *Arthritis Rheum*. 2004 May;50(5):1566–77.
  249. Sonnylal S, Denton CP, Zheng B, Keene DR, He R, Adams HP, et al. Postnatal induction of transforming growth factor beta signaling in fibroblasts of mice recapitulates clinical, histologic, and biochemical features of scleroderma. *Arthritis Rheum*. 2007 Jan;56(1):334–44.
  250. Mori Y, Chen S-J, Varga J. Expression and regulation of intracellular SMAD signaling in scleroderma skin fibroblasts. *Arthritis Rheum*. 2003 Jul;48(7):1964–78.
  251. Giri SN, Hyde DM, Hollinger MA. Effect of antibody to transforming growth factor beta on bleomycin induced accumulation of lung collagen in mice. *Thorax*. 1993 Oct;48(10):959–66.
  252. Koh RY, Lim CL, Uhal BD, Abdullah M, Vidyadaran S, Ho CC, et al. Inhibition of transforming growth factor- $\beta$  via the activin receptor-like kinase-5 inhibitor attenuates pulmonary fibrosis. *Mol Med Rep*. 2015 May;11(5):3808–13.
  253. Denton CP, Merkel PA, Furst DE, Khanna D, Emery P, Hsu VM, et al. Recombinant human anti-transforming growth factor beta1 antibody therapy in systemic sclerosis: a multicenter, randomized, placebo-controlled phase I/II trial of CAT-192. *Arthritis Rheum*. 2007 Jan;56(1):323–33.
  254. Leask A. Transcriptional profiling of the scleroderma fibroblast reveals a potential role for connective tissue growth factor (CTGF) in pathological fibrosis. *Keio J Med*. 2004 Jun;53(2):74–7.
  255. Makino K, Makino T, Stawski L, Lipson KE, Leask A, Trojanowska M. Anti-connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) monoclonal antibody attenuates

- skin fibrosis in mice models of systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther.* 2017 Dec 13;19(1):134.
256. Ikawa Y, Ng P, Endo K, Kondo M, Chujo S, Ishida W, et al. Neutralizing monoclonal antibody to human connective tissue growth factor ameliorates transforming growth factor- $\beta$ -induced mouse fibrosis. *J Cell Physiol.* 2008 Sep;216(3):680–7.
  257. Trojanowska M. Role of PDGF in fibrotic diseases and systemic sclerosis. *Rheumatology.* 2008 Oct 1;47(Supplement 5):v2–4.
  258. Olson LE, Soriano P. Increased PDGFR $\alpha$  Activation Disrupts Connective Tissue Development and Drives Systemic Fibrosis. *Dev Cell.* 2009 Feb;16(2):303–13.
  259. Makino K, Makino T, Stawski L, Mantero JC, Lafyatis R, Simms R, et al. Blockade of PDGF Receptors by Crenolanib Has Therapeutic Effect in Patient Fibroblasts and in Preclinical Models of Systemic Sclerosis. *J Invest Dermatol.* 2017;137(8):1671–81.
  260. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum.* 1980/05/01. 1980 May;23(5):581–90.
  261. Frerix M, Meier FMP, Müller-Ladner U. Auf dem Weg zur Frühdiagnose der systemischen Sklerose. *Z Rheumatol.* 2013 Dec 4;72(10):954–9.
  262. Nadashkevich O, Davis P, Fritzler MJ. A proposal of criteria for the classification of systemic sclerosis. *Med Sci Monit.* 2004 Nov;10(11):CR615–21.
  263. Van Den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An american college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2737–47.
  264. Tyndall A, Fistarol S. The differential diagnosis of systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2013 Nov;25(6):692–9.
  265. Nashel J, Steen V. Scleroderma Mimics. *Curr Rheumatol Rep.* 2012 Feb 2;14(1):39–46.
  266. Guiducci S, Bellando-Randone S, Matucci-Cerinic M. A new way of thinking about systemic sclerosis: The opportunity for a very early diagnosis. *Isr Med Assoc J.* 2016;18(3–4):141–3.
  267. Avouac J, Fransen J, Walker U, 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. *Ann Rheum Dis.* 2011 Mar 1;70(3):476–81.
  268. Elhai M, Meune C, Avouac J, Kahan A, Allanore Y. Trends in mortality in patients with systemic sclerosis over 40 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Rheumatology.* 2012 Jun 1;51(6):1017–26.
  269. Rubio-Rivas M, Royo C, Simeón CP, Corbella X, Fonollosa V. Mortality and survival in systemic sclerosis: Systematic review and meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum.* 2014 Oct;44(2):208–19.
  270. Panopoulos S, Bournia V-K, Konstantonis G, Fragiadaki K, Sfikakis PP, Tektonidou MG. Predictors of morbidity and mortality in early systemic sclerosis: Long-term follow-up data from a single-centre inception cohort. *Autoimmun Rev.* 2018 Aug;17(8):816–20.
  271. Ooi C, Solanki K, Lao C, Frampton C, White D. Mortality in the Waikato

- Hospital Systemic Sclerosis Cohort. *Int J Rheum Dis*. 2018 Jan;21(1):253–60.
272. Al-Dhaher FF, Pope JE, Ouimet JM. Determinants of Morbidity and Mortality of Systemic Sclerosis in Canada. *Semin Arthritis Rheum*. 2010 Feb;39(4):269–77.
273. Fransen J, Popa-Diaconu D, Hesselstrand R, Carreira P, Valentini G, Beretta L, et al. Clinical prediction of 5-year survival in systemic sclerosis: validation of a simple prognostic model in EUSTAR centres. *Ann Rheum Dis*. 2011 Oct 1;70(10):1788–92.
274. Kowal-Bielecka O, Landewe R, Avouac J, Chwiesko S, Miniati I, Czirjak L, et al. EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR). *Ann Rheum Dis*. 2009 May 1;68(5):620–8.
275. 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. *Ann Rheum Dis*. 2017 Aug;76(8):1327–39.
276. Pope JE, Bellamy N, Seibold JR, Baron M, Ellman M, Carette S, et al. A randomized, controlled trial of methotrexate versus placebo in early diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum*. 2001 Jun;44(6):1351–8.
277. van den Hoogen FH, Boerbooms AM, Swaak AJ, Rasker JJ, van Lier HJ, van de Putte LB. Comparison of methotrexate with placebo in the treatment of systemic sclerosis: a 24 week randomized double-blind trial, followed by a 24 week observational trial. *Br J Rheumatol*. 1996 Apr;35(4):364–72.
278. Derk CT, Grace E, Shenin M, Naik M, Schulz S, Xiong W. A prospective open-label study of mycophenolate mofetil for the treatment of diffuse systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2009 Dec 1;48(12):1595–9.
279. Mendoza FA, Nagle SJ, Lee JB, Jimenez SA. A Prospective Observational Study of Mycophenolate Mofetil Treatment in Progressive Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis of Recent Onset. *J Rheumatol*. 2012 Jun;39(6):1241–7.
280. Le EN, Wigley FM, Shah AA, Boin F, Hummers LK. Long-term experience of mycophenolate mofetil for treatment of diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jun 1;70(6):1104–7.
281. Namas R, Tashkin DP, Furst DE, Wilhalme H, Tseng C-H, Roth MD, et al. Efficacy of Mycophenolate Mofetil and Oral Cyclophosphamide on Skin Thickness: Post Hoc Analyses From Two Randomized Placebo-Controlled Trials. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2018 Mar;70(3):439–44.
282. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Goldin J, Roth MD, Furst DE, et al. Cyclophosphamide versus Placebo in Scleroderma Lung Disease. *N Engl J Med*. 2006 Jun 22;354(25):2655–66.
283. Smith V, Van Praet JT, Vandooren B, Van der Cruyssen B, Naeyaert J-M, Decuman S, et al. Rituximab in diffuse cutaneous systemic sclerosis: an open-label clinical and histopathological study. *Ann Rheum Dis*. 2010 Jan 1;69(01):193–7.
284. Bosello SL, De Luca G, Rucco M, Berardi G, Falcione M, Danza FM, et al. Long-term efficacy of B cell depletion therapy on lung and skin involvement in diffuse systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum*. 2015 Feb;44(4):428–36.
285. Daoussis D, Liossis S-NC, Tsamandas AC, Kalogeropoulou C, Kazantzi A, Sirinian C, et al. Experience with rituximab in scleroderma: results from a 1-year, proof-of-principle study. *Rheumatology*. 2010 Feb;49(2):271–80.
286. Khanna D, Denton CP, Jahreis A, van Laar JM, Frech TM, Anderson ME, et al. Safety and efficacy of subcutaneous tocilizumab in adults with systemic

- sclerosis (faSScinate): a phase 2, randomised, controlled trial. *Lancet*. 2016 Jun 25;387(10038):2630–40.
287. Rirash F, Tingey PC, Harding SE, Maxwell LJ, Tanjong Ghogomu E, Wells GA, et al. Calcium channel blockers for primary and secondary Raynaud's phenomenon. *Cochrane database Syst Rev*. 2017 Dec 13;12:CD000467.
  288. Roustit M, Blaise S, Allanore Y, Carpentier PH, Caglayan E, Cracowski J-L. Phosphodiesterase-5 inhibitors for the treatment of secondary Raynaud's phenomenon: systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Ann Rheum Dis*. 2013 Oct 1;72(10):1696–9.
  289. Pope J, Fenlon D, Thompson A, Shea B, Furst D, Wells GA, et al. Iloprost and cisaprost for Raynaud's phenomenon in progressive systemic sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000 Apr 27;2:CD000953.
  290. Tingey T, Shu J, Smuczek J, Pope J. Meta-Analysis of Healing and Prevention of Digital Ulcers in Systemic Sclerosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013 Sep;65(9):1460–71.
  291. Fries R, Shariat K, von Wilmsowky H, Böhm M. Sildenafil in the Treatment of Raynaud's Phenomenon Resistant to Vasodilatory Therapy. *Circulation*. 2005 Nov 8;112(19):2980–5.
  292. Shenoy PD, Kumar S, Jha LK, Choudhary SK, Singh U, Misra R, et al. Efficacy of tadalafil in secondary Raynaud's phenomenon resistant to vasodilator therapy: a double-blind randomized cross-over trial. *Rheumatology*. 2010 Dec 1;49(12):2420–8.
  293. Wigley FM, Seibold JR, Wise RA, McCloskey DA, Dole WP. Intravenous iloprost treatment of Raynaud's phenomenon and ischemic ulcers secondary to systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 1992 Sep;19(9):1407–14.
  294. Wigley FM, Wise RA, Seibold JR, McCloskey DA, Kujala G, Medsger TA, et al. Intravenous iloprost infusion in patients with Raynaud phenomenon secondary to systemic sclerosis. A multicenter, placebo-controlled, double-blind study. *Ann Intern Med*. 1994 Feb 1;120(3):199–206.
  295. Korn JH, Mayes M, Matucci Cerinic M, Rainisio M, Pope J, Hachulla E, et al. Digital ulcers in systemic sclerosis: Prevention by treatment with bosentan, an oral endothelin receptor antagonist. *Arthritis Rheum*. 2004 Dec;50(12):3985–93.
  296. Matucci-Cerinic M, Denton CP, Furst DE, Mayes MD, Hsu VM, Carpentier P, et al. Bosentan treatment of digital ulcers related to systemic sclerosis: results from the RAPIDS-2 randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jan 1;70(1):32–8.
  297. Galiè N, Humbert M, Vachiery J-L, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur Heart J*. 2016 Jan 1;37(1):67–119.
  298. Kwon HM, Kang EH, Park JK, Go DJ, Lee EYB, Song YW, et al. A decision model for the watch-and-wait strategy in systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2015 Oct;54(10):1792–6.
  299. Tashkin DP, Roth MD, Clements PJ, Furst DE, Khanna D, Kleerup EC, et al. Mycophenolate mofetil versus oral cyclophosphamide in scleroderma-related interstitial lung disease (SLS II): a randomised controlled, double-blind, parallel group trial. *Lancet Respir Med*. 2016 Sep;4(9):708–19.
  300. Daoussis D, Melissaropoulos K, Sakellaropoulos G, Antonopoulos I, Markatseli TE, Simopoulou T, et al. A multicenter, open-label, comparative study of B-cell depletion therapy with Rituximab for systemic sclerosis-

- associated interstitial lung disease. *Semin Arthritis Rheum.* 2017 Apr;46(5):625–31.
301. Jordan S, Distler JHW, Maurer B, Huscher D, van Laar JM, Allanore Y, et al. Effects and safety of rituximab in systemic sclerosis: an analysis from the European Scleroderma Trial and Research (EUSTAR) group. *Ann Rheum Dis.* 2015 Jun;74(6):1188–94.
  302. Daoussis D, Liossis S-NC, Tsamandas AC, Kalogeropoulou C, Paliogianni F, Sirinian C, et al. Effect of long-term treatment with rituximab on pulmonary function and skin fibrosis in patients with diffuse systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30(2 Suppl 71):S17-22.
  303. Narváez J, LLuch J, Alegre Sancho JJ, Molina-Molina M, Nolla JM, Castellví I. Effectiveness and safety of tocilizumab for the treatment of refractory systemic sclerosis associated interstitial lung disease: a case series. *Ann Rheum Dis.* 2018 Oct 23;annrheumdis-2018-214449.
  304. van Laar JM, Farge D, Sont JK, Naraghi K, Marjanovic Z, Larghero J, et al. Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation vs Intravenous Pulse Cyclophosphamide in Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis. *JAMA.* 2014 Jun 25;311(24):2490.
  305. Sullivan KM, Goldmuntz EA, Keyes-Elstein L, McSweeney PA, Pinckney A, Welch B, et al. Myeloablative Autologous Stem-Cell Transplantation for Severe Scleroderma. *N Engl J Med.* 2018;378(1):35–47.
  306. Schachna L, Medsger TA, Dauber JH, Wigley FM, Braunstein NA, White B, et al. Lung transplantation in scleroderma compared with idiopathic pulmonary fibrosis and idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Arthritis Rheum.* 2006 Dec;54(12):3954–61.
  307. Miele CH, Schwab K, Saggari R, Duffy E, Elashoff D, Tseng C-H, et al. Lung Transplant Outcomes in Systemic Sclerosis with Significant Esophageal Dysfunction. A Comprehensive Single-Center Experience. *Ann Am Thorac Soc.* 2016 Jun;13(6):793–802.
  308. Fernandez-Codina A, Berastegui C, Pinal-Fernandez I, Silveira MG, Lopez-Meseguer M, Monforte V, et al. Lung transplantation in systemic sclerosis: A single center cohort study. *Joint Bone Spine.* 2018 Jan;85(1):79–84.
  309. Khanna D, Tashkin DP, Denton CP, Lubell MW, Vazquez-Mateo C, Wax S. Ongoing clinical trials and treatment options for patients with systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Rheumatology.* 2019 Apr 1;58(4):567–79.
  310. Distler O, Highland KB, Gahlemann M, Azuma A, Fischer A, Mayes MD, et al. Nintedanib for Systemic Sclerosis–Associated Interstitial Lung Disease. *N Engl J Med.* 2019 May 20;NEJMoa1903076.
  311. Steen VD, Costantino JP, Shapiro AP, Medsger TA. Outcome of renal crisis in systemic sclerosis: Relation to availability of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors. *Ann Intern Med.* 1990 Sep 1;113(5):352–7.
  312. Steen VD, Medsger TA. Long-term outcomes of scleroderma renal crisis. *Ann Intern Med.* 2000 Oct 17;133(8):600–3.
  313. Steen VD, Medsger TA. Case-control study of corticosteroids and other drugs that either precipitate or protect from the development of scleroderma renal crisis. *Arthritis Rheum.* 1998 Sep 1;41(9):1613–9.
  314. Nagaraja V. Management of scleroderma renal crisis. *Curr Opin Rheumatol.* 2019 May 1;31(3):223–30.
  315. Bertrand D, Dehay J, Ott J, Sberro R, Brunelle C, Kamar N, et al. Kidney

- transplantation in patients with systemic sclerosis: a nationwide multicentre study. *Transpl Int*. 2017 Mar;30(3):256–65.
316. Varjú C, Péntek M, Lóránd V, Nagy G, Minier T, Czirják L. Musculoskeletal Involvement in Systemic Sclerosis: An Unexplored Aspect of the Disease. *J Scleroderma Relat Disord*. 2017 Jan 28;2(1):19–32.
  317. Rangarajan V, Matiasz R, Freed BH. Cardiac complications of systemic sclerosis and management. *Curr Opin Rheumatol*. 2017 Nov;29(6):574–84.
  318. Bernardo P, Conforti ML, Bellando-Randone S, Paolo P, Blagojevic J, Kaloudi O, et al. Implantable Cardioverter Defibrillator Prevents Sudden Cardiac Death in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol*. 2011 Aug 1;38(8):1617–21.
  319. Pakozdi A, Wilson H, Black CM, Denton CP. Does long term therapy with lansoprazole slow progression of oesophageal involvement in systemic sclerosis? *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27(3 Suppl 54):5–8.
  320. Cutolo M, Pizzorni C, Sulli A. Capillaroscopy. *Best Pr Res Clin Rheumatol*. 2005/06/09. 2005;19(3):437–52.
  321. Cutolo M, Smith V. State of the art on nailfold capillaroscopy: a reliable diagnostic tool and putative biomarker in rheumatology? *Rheumatology*. 2013 Nov 1;52(11):1933–40.
  322. Lee JB, Hirokawa D. Dermatoscopy: Facts and controversies. *Clin Dermatol*. 2010 May 1;28(3):303–10.
  323. Colmenares Roldán LM, Velásquez Franco CJ, Mesa Navas MA. Capillaroscopy in systemic sclerosis: A narrative literature review. *Rev Colomb Reumatol (English Ed)*. 2016 Oct 1;23(4):250–8.
  324. Brown GE, O’Leary PA. Skin Capillaries in Scleroderma. *Arch Intern Med*. 1925 Jul 1;36(1):73.
  325. Maricq HR, LeRoy EC. Patterns of finger capillary abnormalities in connective tissue disease by “wide-field” microscopy. *Arthritis Rheum*. 1973;16(5):619–28.
  326. Moneta G, Vollenweider U, Dubler B, Bollinger A. Diagnostic value of capillaroscopy with and without fluorescent dyes to detect early connective tissue disease. *Vasa*. 1986;15(2):143–9.
  327. Grassi W, Core P, Carlino G, Blasetti P, Cervini M. Labial capillary microscopy in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 1993 Aug;52(8):564–9.
  328. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2000 Jan;27(1):155–60.
  329. Cutolo M, Sulli A, Smith V. How to perform and interpret capillaroscopy. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013 Apr 1;27(2):237–48.
  330. Etehad Tavakol M, Fatemi A, Karbalaie A, Emrani Z, Erlandsson B-E. Nailfold Capillaroscopy in Rheumatic Diseases: Which Parameters Should Be Evaluated? *Biomed Res Int*. 2015;2015:974530.
  331. Lambova SN, Hermann W, Müller-Ladner U. Comparison of qualitative and quantitative analysis of capillaroscopic findings in patients with rheumatic diseases. *Rheumatol Int*. 2012 Dec 7;32(12):3729–35.
  332. Sulli A, Secchi ME, Pizzorni C, Cutolo M. Scoring the nailfold microvascular changes during the capillaroscopic analysis in systemic sclerosis patients. *Ann Rheum Dis*. 2008;67:885–7.
  333. Hofstee HMA, Serne EH, Roberts C, Hesselstrand R, Scheja A, Moore TL, et al. A multicentre study on the reliability of qualitative and quantitative nailfold videocapillaroscopy assessment. *Rheumatology*. 2012 Apr 1;51(4):749–



- 55.
334. Hoerth C, Kundi M, Katzenschlager R, Hirschl M. Qualitative and quantitative assessment of nailfold capillaries by capillaroscopy in healthy volunteers. *Vasa*. 2012 Jan;41(1):19–26.
  335. Dolezalova P, Young S, Bacon P, Southwood T. Nailfold capillary microscopy in healthy children and in childhood rheumatic diseases: a prospective single blind observational study. *Ann Rheum Dis*. 2003;62(5):444.
  336. Lambova NS. *The Role Of Capillaroscopy In Rheumatology*. [Giessen]: Justus-Liebig-Universität Gießen; 2011.
  337. Kabasakal Y, Elvins DM, Ring EFJ, Mchugh NJ. Quantitative nailfold capillaroscopy findings in a population with connective tissue disease and in normal healthy controls. Vol. 55, *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1996.
  338. Smith V, Beeckman S, Herrick AL, Decuman S, Deschepper E, De Keyser F, et al. An EULAR study group pilot study on reliability of simple capillaroscopic definitions to describe capillary morphology in rheumatic diseases. *Rheumatology*. 2016 May;55(5):883–90.
  339. Cutolo M, Melsens K, Herrick AL, Foeldvari I, Deschepper E, De Keyser F, et al. Reliability of simple capillaroscopic definitions in describing capillary morphology in rheumatic diseases. *Rheumatology*. 2018 Apr 1;57(4):757–9.
  340. de Holanda Mafaldo Diogenes A, Bonfá E, Fuller R, Correia Caleiro MT. Capillaroscopy is a dynamic process in mixed connective tissue disease. *Lupus*. 2007 Apr 2;16(4):254–8.
  341. Manfredi A, Sebastiani M, Cassone G, Pipitone N, Giuggioli D, Colaci M, et al. Nailfold capillaroscopic changes in dermatomyositis and polymyositis. *Clin Rheumatol*. 2015 Feb 17;34(2):279–84.
  342. Lambova SN, Müller-Ladner U. Capillaroscopic pattern in systemic lupus erythematosus and undifferentiated connective tissue disease: What we still have to learn? *Rheumatol Int*. 2013 Mar 24;33(3):689–95.
  343. Pavlov-Dolijanovic S, Damjanov NS, Stojanovic RM, Vujasinovic Stupar NZ, Stanisavljevic DM. Scleroderma pattern of nailfold capillary changes as predictive value for the development of a connective tissue disease: A follow-up study of 3,029 patients with primary Raynaud’s phenomenon. *Rheumatol Int*. 2012 Oct 8;32(10):3039–45.
  344. Smith V, Pizzorni C, De Keyser F, Decuman S, Van Praet JT, Deschepper E, et al. Reliability of the qualitative and semiquantitative nailfold videocapillaroscopy assessment in a systemic sclerosis cohort: a two-centre study. *Ann Rheum Dis*. 2010 Jun 1;69(6):1092–6.
  345. Murray AK, Vail A, Moore TL, Manning JB, Taylor CJ, Herrick AL. The influence of measurement location on reliability of quantitative nailfold videocapillaroscopy in patients with SSc. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2012;51(7):1323–30.
  346. Boulon C, Devos S, Mangin M, Decamps-Le Chevoir J, Senet P, Lazareth I, et al. Reproducibility of capillaroscopic classifications of systemic sclerosis: results from the SCLEROCAP study. *Rheumatology*. 2017 Oct 1;56(10):1713–20.
  347. Dinsdale G, Moore T, O’Leary N, Tresadern P, Berks M, Roberts C, et al. Intra-and inter-observer reliability of nailfold videocapillaroscopy — A possible outcome measure for systemic sclerosis-related microangiopathy. *Microvasc Res*. 2017 Jul;112:1–6.
  348. Gutierrez M, Bertolazzi C, Tardella M, Becciolini A, Di Carlo M, Dottori M, et

- al. Interreader reliability in assessment of nailfold capillary abnormalities by beginners: Pilot study of an intensive videocapillaroscopy training program. *J Rheumatol.* 2012;39(6):1248–55.
349. Hudson M, Masetto A, Steele R, Arthurs E, Baron M, Canadian Scleroderma Research Group. Reliability of widefield capillary microscopy to measure nailfold capillary density in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2010;28(5 Suppl 62):S36-41.
350. Sekiyama JY, Camargo CZ, Andrade LEC, Kayser C. Reliability of Widefield Nailfold Capillaroscopy and Videocapillaroscopy in the Assessment of Patients With Raynaud’s Phenomenon. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013 Nov 1;65(11):1853–61.
351. Murray AK, Feng K, Moore TL, Allen PD, Taylor CJ, Herrick AL. Preliminary Clinical Evaluation of Semi-automated Nailfold Capillaroscopy in the Assessment of Patients with Raynaud’s Phenomenon. *Microcirculation.* 2011 Aug;18(6):440–7.
352. Cutolo M, Trombetta AC, Melsens K, Pizzorni C, Sulli A, Ruaro B, et al. Automated assessment of absolute nailfold capillary number on videocapillaroscopic images: Proof of principle and validation in systemic sclerosis. *Microcirculation.* 2018 May;25(4):e12447.
353. Piotta DGP, Correa MJU, Miotto e Silva VB, Kayser C, Terreri MTRA. Laser Doppler imaging for assessment of microcirculation in juvenile systemic sclerosis. *Rheumatology.* 2014 Jan 1;53(1):72–5.
354. Murray AK, Moore TL, Wragg E, Ennis H, Vail A, Dinsdale G, et al. Pilot study assessing pathophysiology and healing of digital ulcers in patients with systemic sclerosis using laser Doppler imaging and thermography. *Clin Exp Rheumatol.* 2016;34 Suppl 1(5):100–5.
355. Cutolo M, Vanhaecke A, Ruaro B, Deschepper E, Ickinger C, Melsens K, et al. Is laser speckle contrast analysis (LASCA) the new kid on the block in systemic sclerosis? A systematic literature review and pilot study to evaluate reliability of LASCA to measure peripheral blood perfusion in scleroderma patients. *Autoimmun Rev.* 2018 Aug;17(8):775–80.
356. Lambova SN, Müller-Ladner U. The role of capillaroscopy in differentiation of primary and secondary Raynaud’s phenomenon in rheumatic diseases: a review of the literature and two case reports. *Rheumatol Int.* 2009 Sep 23;29(11):1263–71.
357. LeRoy EC, Medsger TA. Raynaud’s phenomenon: a proposal for classification. *Clin Exp Rheumatol.* 1992;10(5):485–8.
358. Maverakis E, Patel F, Kronenberg DG, Chung L, Fiorentino D, Allanore Y, et al. International consensus criteria for the diagnosis of Raynaud’s phenomenon. *J Autoimmun.* 2014;48–49:60–5.
359. Blockmans D, Beyens G, Verhaeghe R. Predictive value of nailfold capillaroscopy in the diagnosis of connective tissue diseases. *Clin Rheumatol.* 1996 Mar;15(2):148–53.
360. Pavlov-Dolijanović S, Damjanov N, Ostojić P, Sušić G, Stojanović R, Gacić D, et al. The Prognostic Value of Nailfold Capillary Changes for the Development of Connective Tissue Disease in Children and Adolescents with Primary Raynaud Phenomenon: A Follow-up Study of 250 Patients. *Pediatr Dermatol.* 2006 Sep;23(5):437–42.
361. Koenig M, Joyal F, Fritzler MJ, Roussin A, Abrahamowicz M, Boire G, et al. Autoantibodies and microvascular damage are independent predictive factors

- for the progression of Raynaud's phenomenon to systemic sclerosis: A twenty-year prospective study of 586 patients, with validation of proposed criteria for early systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2008 Dec;58(12):3902–12.
362. Mueller M, Gschwandtner ME, Gamper J, Giurgea G-A, Charwat-Resl S, Kiener HP, et al. Relation of Nailfold Capillaries and Autoantibodies to Mortality in Patients With Raynaud Phenomenon. *Circulation.* 2016 Feb 2;133(5):509–17.
  363. Soulaïdopoulos S, Triantafyllidou E, Garyfallos A, Kitas GD, Dimitroulas T. The role of nailfold capillaroscopy in the assessment of internal organ involvement in systemic sclerosis: A critical review. *Autoimmun Rev.* 2017 Aug;16(8):787–95.
  364. Ohtsuka T, Hasegawa A, Nakano A, Yamakage A, Yamaguchi M, Miyachi Y. Nailfold capillary abnormality and pulmonary hypertension in systemic sclerosis. *Int J Dermatol.* 1997 Feb 1;36(2):116–22.
  365. Hofstee HMA, Noordegraaf A V., Voskuyl AE, Dijkmans BAC, Postmus PE, Smulders YM, et al. Nailfold capillary density is associated with the presence and severity of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2009 Feb 1;68(2):191–5.
  366. Castellví I, Simeón-Aznar CP, Sarmiento M, Fortuna A, Mayos M, Geli C, et al. Association between nailfold capillaroscopy findings and pulmonary function tests in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2015 Feb 1;42(2):222–7.
  367. Caramaschi P, Canestrini S, Martinelli N, Volpe A, Pieropan S, Ferrari M, et al. Scleroderma patients nailfold videocapillaroscopic patterns are associated with disease subset and disease severity. *Rheumatology.* 2007 Aug 27;46(10):1566–9.
  368. Sato LT, Kayser C, Andrade LEC. Nailfold capillaroscopy abnormalities correlate with cutaneous and visceral involvement in systemic sclerosis patients. *Acta Reumatol Port.* 2009;34(2A):219–27.
  369. Herrick AL, Moore TL, Murray AK, Whidby N, Manning JB, Bhushan M, et al. Nail-fold capillary abnormalities are associated with anti-centromere antibody and severity of digital ischaemia. *Rheumatology.* 2010 Sep 1;49(9):1776–82.
  370. Bredemeier M, Xavier RM, Capobianco KG, Restelli VG, Rohde LE paim, Pinotti AFF, et al. Nailfold capillary microscopy can suggest pulmonary disease activity in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2004 Feb;31(2):286–94.
  371. De Santis M, Ceribelli A, Cavaciocchi F, Crotti C, Massarotti M, Belloli L, et al. Nailfold videocapillaroscopy and serum VEGF levels in scleroderma are associated with internal organ involvement. *Auto- Immun highlights.* 2016 Dec;7(1):5.
  372. Smith V, Decuman S, Sulli A, Bonroy C, Piettte Y, Deschepper E, et al. Do worsening scleroderma capillaroscopic patterns, predict future severe organ involvement? A pilot study. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(10):1636–9.
  373. Marino Claverie L, Knobel E, Takashima L, Techera L, Oliver M, Gonzalez P, et al. Organ involvement in Argentinian systemic sclerosis patients with “late” pattern as compared to patients with “early/active” pattern by nailfold capillaroscopy. *Clin Rheumatol.* 2013;32(6):839–43.
  374. 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 Res (Hoboken).* 2016

- Jul;68(7):1021–7.
375. Ingegnoli F, Ardoino I, Boracchi P, Cutolo M, Airò P, Ananieva LP, et al. Nailfold capillaroscopy in systemic sclerosis: Data from the EULAR scleroderma trials and research (EUSTAR) database. *Microvasc Res*. 2013 Sep 1;89:122–8.
  376. Morardet L, Avouac J, Sammour M, Baron M, Kahan A, Feydy A, et al. Late Nailfold Videocapillaroscopy Pattern Associated With Hand Calcinosis and Acro-Osteolysis in Systemic Sclerosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2016 Mar;68(3):366–73.
  377. Sebastiani M, Manfredi A, Colaci M, Damico R, Malagoli V, Giuggioli D, et al. Capillaroscopic skin ulcer risk index: A new prognostic tool for digital skin ulcer development in systemic sclerosis patients. *Arthritis Care Res*. 2009;61(5):688–94.
  378. Sebastiani M, Manfredi A, Vukatana G, Moscatelli S, Riato L, Bocci M, et al. Predictive role of capillaroscopic skin ulcer risk index in systemic sclerosis: a multicentre validation study. *Ann Rheum Dis*. 2012 Jan;71(1):67–70.
  379. Walker UA, Jaeger VK, Bruppacher KM, Dobrota R, Arlettaz L, Banyai M, et al. Prospective evaluation of the capillaroscopic skin ulcer risk index in systemic sclerosis patients in clinical practice: a longitudinal, multicentre study. *Arthritis Res Ther*. 2018 Dec 25;20(1):239.
  380. Alivernini S, De Santis M, Toluoso B, Mannocci A, Bosello SL, Peluso G, et al. Skin ulcers in systemic sclerosis: Determinants of presence and predictive factors of healing. *J Am Acad Dermatol*. 2009 Mar 1;60(3):426–35.
  381. Smith V, De Keyser F, Pizzorni C, Van Praet ET, Decuman S, Sulli A, et al. Nailfold capillaroscopy for day-to-day clinical use: Construction of a simple scoring modality as a clinical prognostic index for digital trophic lesions. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(1):180–3.
  382. Cutolo M, Herrick AL, Distler O, Becker MO, Beltran E, Carpentier P, et al. Nailfold Videocapillaroscopic Features and Other Clinical Risk Factors for Digital Ulcers in Systemic Sclerosis A Multicenter , Prospective Cohort Study. *Arthritis Rheumatol (Hoboken, NJ)*. 2016;68(10):2527–39.
  383. Silva I, Teixeira A, Oliveira J, Almeida I, Almeida R, Águas A, et al. Endothelial Dysfunction and Nailfold Videocapillaroscopy Pattern as Predictors of Digital Ulcers in Systemic Sclerosis: a Cohort Study and Review of the Literature. 2015 Oct 4;49(2):240–52.
  384. Smith V, Riccieri V, Pizzorni C, Decuman S, Deschepper E, Bonroy C, et al. Nailfold Capillaroscopy for Prediction of Novel Future Severe Organ Involvement in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol*. 2013 Dec 1;40(12):2023–8.
  385. Voilliot D, Magne J, Dulgheru RE, Kou S, Henri C, Caballero L, et al. Cardiovascular outcome in systemic sclerosis. *Acta Cardiol*. 2015;70(5):554–63.
  386. Avouac J, Lepri G, Smith V, Toniolo E, Hurabielle C, Vallet A, et al. Sequential nailfold videocapillaroscopy examinations have responsiveness to detect organ progression in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum*. 2017 Aug;47(1):86–94.
  387. Kayser C, Sekiyama JY, Próspero LC, Camargo CZ, Andrade LEC. Nailfold capillaroscopy abnormalities as predictors of mortality in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(2 Suppl 76):103–8.
  388. Hissaria P, Lester S, Hakendorf P, Woodman R, Patterson K, Hill C, et al. Survival in scleroderma: results from the population-based South Australian

- Register. *Intern Med J*. 2011 May 1;41(5):381–90.
389. Simeón CP, Armadans L, Fonollosa V, Solans R, Selva A, Villar M, et al. Mortality and prognostic factors in Spanish patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2003 Jan;42(1):71–5.
  390. Scussel-Lonzetti L, Joyal F, Raynauld J-P, Roussin A, Rich E, Goulet J-R, et al. Predicting mortality in systemic sclerosis: analysis of a cohort of 309 French Canadian patients with emphasis on features at diagnosis as predictive factors for survival. *Medicine (Baltimore)*. 2002;81(2):154–67.
  391. Shenavandeh S, Habibi S. Nailfold capillaroscopic changes in patients with systemic lupus erythematosus: correlations with disease activity, skin manifestation and nephritis. *Lupus*. 2017 Aug 6;26(9):959–66.
  392. De Angelis R, Grassi W, Cutolo M. A growing need for capillaroscopy in rheumatology. *Arthritis Care Res*. 2009;61(3):405–10.
  393. Nagy Z, Czirják L. Nailfold digital capillaroscopy in 447 patients with connective tissue disease and Raynaud’s disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004 Jan;18(1):62–8.
  394. Furtado RN, Pucinelli ML, Cristo V V, Andrade LE, Sato EI. Scleroderma-like nailfold capillaroscopic abnormalities are associated with anti-U1-RNP antibodies and Raynaud’s phenomenon in SLE patients. *Lupus*. 2002 Jan 2;11(1):35–41.
  395. Tektonidou M, Kaskani E, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Microvascular abnormalities in Sjögren’s syndrome: nailfold capillaroscopy. *Rheumatology (Oxford)*. 1999 Sep;38(9):826–30.
  396. Sag S, Sag MS, Tekeoglu I, Kamanli A, Nas K, Aydın Y. Nailfold videocapillaroscopy results in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2017 Sep 4;36(9):1969–74.
  397. Cuomo G, Frongillo E, Pirro L, Mastro A Del, Romano C. THU0098 The nailfold capillaroscopy in rheumatoid arthritis: quantitative analysis and clinical and serological correlation. In: Poster Presentations. BMJ Publishing Group Ltd and European League Against Rheumatism; 2017. p. 237.2-237.
  398. Wermuth PJ, Piera-Velazquez S, Rosenbloom J, Jimenez SA. Existing and novel biomarkers for precision medicine in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol*. 2018 Jul 22;14(7):421–32.
  399. Affandi AJ, Radstake TRDJ, Marut W. Update on biomarkers in systemic sclerosis: tools for diagnosis and treatment. *Semin Immunopathol*. 2015 Sep;37(5):475–87.
  400. Manetti M. Emerging biomarkers in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2016 Nov 1;28(6):606–12.
  401. Hasegawa M. Biomarkers in systemic sclerosis: Their potential to predict clinical courses. *J Dermatol*. 2016 Jan;43(1):29–38.
  402. Zlotnik A, Yoshie O. The Chemokine Superfamily Revisited. *Immunity*. 2012 May 25;36(5):705–16.
  403. Ruytinx P, Proost P, Struyf S. CXCL4 and CXCL4L1 in cancer. *Cytokine*. 2018 Sep;109:65–71.
  404. Fox JM, Kausar F, Day A, Osborne M, Hussain K, Mueller A, et al. CXCL4/Platelet Factor 4 is an agonist of CCR1 and drives human monocyte migration. *Sci Rep*. 2018 Dec 21;8(1):9466.
  405. Vandercappellen J, Van Damme J, Struyf S. The role of the CXC chemokines platelet factor-4 (CXCL4/PF-4) and its variant (CXCL4L1/PF-4var) in inflammation, angiogenesis and cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2011

- Feb 1;22(1):1–18.
406. Patsouras MD, Sikara MP, Grika EP, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG, Vlachoyiannopoulos PG. Elevated expression of platelet-derived chemokines in patients with antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun.* 2015 Dec;65:30–7.
  407. Silva-Cardoso SC, Affandi AJ, Spel L, Cossu M, van Roon JAG, Boes M, et al. CXCL4 Exposure Potentiates TLR-Driven Polarization of Human Monocyte-Derived Dendritic Cells and Increases Stimulation of T Cells. *J Immunol.* 2017 Jul 1;199(1):253–62.
  408. Valentini G, Riccardi A, Vettori S, Irace R, Iudici M, Tolone S, et al. CXCL4 in undifferentiated connective tissue disease at risk for systemic sclerosis (SSc) (previously referred to as very early SSc). *Clin Exp Med.* 2017 Aug 20;17(3):411–4.
  409. Haddon DJ, Wand HE, Jarrell JA, Spiera RF, Utz PJ, Gordon JK, et al. Proteomic Analysis of Sera from Individuals with Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis Reveals a Multianalyte Signature Associated with Clinical Improvement during Imatinib Mesylate Treatment. *J Rheumatol.* 2017 May;44(5):631–8.
  410. Volkmann ER, Tashkin DP, Roth MD, Clements PJ, Khanna D, Furst DE, et al. Changes in plasma CXCL4 levels are associated with improvements in lung function in patients receiving immunosuppressive therapy for systemic sclerosis-related interstitial lung disease. *Arthritis Res Ther.* 2016 Dec 30;18(1):305.
  411. Gouwy M, Ruytinx P, Radice E, Claudi F, Van Raemdonck K, Bonecchi R, et al. CXCL4 and CXCL4L1 Differentially Affect Monocyte Survival and Dendritic Cell Differentiation and Phagocytosis. Appel S, editor. *PLoS One.* 2016 Nov 9;11(11):e0166006.
  412. De Sutter J, Van de Veire NR, Struyf S, Philippé J, De Buyzere M, Van Damme J. PF-4var/CXCL4L1 Predicts Outcome in Stable Coronary Artery Disease Patients with Preserved Left Ventricular Function. Bonecchi R, editor. *PLoS One.* 2012 Feb 23;7(2):e31343.

## **2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**





## **2.1 ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Α΄**

«Διαφορική Επίδοση των Παραμέτρων της Βίντεο-Τριχοειδοσκόπησης της Κοίτης των Ονύχων στη Διάγνωση και Πρόγνωση του Συστηματικού Σκληροδέρματος»

### **2.1.1 Εισαγωγή**

Το φαινόμενο Raynaud (RP), μια υποτροπιάζουσα αγγειοσυσπαστική διαταραχή των δακτύλων που εκδηλώνεται ως απόκριση στο ψύχος ή στη συναισθηματική φόρτιση, μπορεί να είναι ιδιοπαθές (pRP) ή δευτεροπαθές (sRP), συχνά δε εκδηλώνεται στα πλαίσια ενός συστηματικού αυτοάνοσου νοσήματος. Η βίντεο-τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων (Nailfold Video Capillaroscopy-NVC) είναι μία μη επεμβατική, εύχρηστη και φθηνή μέθοδος που επιτρέπει την άμεση παρατήρηση της μικροκυκλοφορίας σε ασθενείς με RP, διευκολύνοντας τη διάκριση των ατόμων εκείνων που εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης νοσημάτων του φάσματος του σκληροδέρματος (1,2). Επιπλέον, σε ασθενείς με εγκατεστημένη διάγνωση ΣΣκ, η βίντεο-τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων φαίνεται να έχει και κάποιο προγνωστικό ρόλο (3). Στόχος μας ήταν να αξιολογήσουμε συγκριτικά τη διαγνωστική ικανότητα των διαφόρων τριχοειδοσκοπικών παραμέτρων, ως προς την αναγνώριση ασθενών με νοσήματα του φάσματος του σκληροδέρματος. Επιπλέον, ερευνήσαμε σε δύο χρονικές στιγμές τις συσχετίσεις των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης με τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΣΣκ, προκειμένου να διαπιστώσουμε κατά πόσον παραμένουν σταθερές ή μεταβάλλονται με το χρόνο. Τέλος, επιχειρήσαμε να διαλευκάνουμε περαιτέρω τον προγνωστικό ρόλο της τριχοειδοσκόπησης σε ασθενείς με εγκατεστημένο σκληρόδεμα.

### **2.1.2 Ασθενείς και Μέθοδοι**

#### *α. Πληθυσμός της μελέτης*

Η μελέτη μας συμπεριέλαβε 251 διαδοχικούς, συναινούντες ασθενείς με RP που παραπέμφθηκαν για βίντεο-τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων στη ρευματολογική μονάδα της τριτοβάθμιας πανεπιστημιακής κλινικής του νοσοκομείου μας, μεταξύ Ιανουαρίου 2011 και Ιανουαρίου 2016. Εννέα ασθενείς εξαιρέθηκαν από τη μελέτη λόγω κακής ποιότητας λήψης των εικόνων της τριχοειδοσκόπησης. Από τους εναπομείναντες 242 ασθενείς οι 138 είχαν ΣΣκ σύμφωνα με τα κριτήρια ταξινόμησης που από κοινού υιοθέτησε το Αμερικανικό Κολλέγιο ρευματολογίας

(ACR) και η Ευρωπαϊκή Ένωση Εναντίον των Ρευματικών Νοσημάτων (EULAR) το 2013 (4) και 12 είχαν πολύ πρόωμη διάγνωση συστηματικού σκληροδέρματος (VEDOSS), χωρίς όμως να πληρούν τα κριτήρια του ΣΣκ (5). Τριάντα έξι ασθενείς χωρίς αυτοαντισώματα και χωρίς κλινικά σημεία ή συμπτώματα ενδεικτικά αυτοάνοσου συστηματικού νοσήματος απετέλεσαν την ομάδα του ιδιοπαθούς RP. Οι υπόλοιποι 56 ασθενείς που, είτε είχαν θετικά αυτοαντισώματα, είτε εμφάνιζαν σημεία ή συμπτώματα ενδεικτικά αυτοάνοσου συστηματικού νοσήματος, ή είχαν τεκμηριωμένη διάγνωση κάποιου αυτοάνοσου συστηματικού νοσήματος πλην του ΣΣκ ενετάχθησαν στην ομάδα του μη σχετιζόμενου με το ΣΣκ δευτεροπαθούς RP. Εξήντα δύο υγιείς εθελοντές απετέλεσαν την ομάδα των μαρτύρων. Όλοι οι συμμετέχοντες υπέγραψαν γραπτή φόρμα εν επιγνώσει συναινέσεως πριν την ένταξή τους στη μελέτη. Η μελέτη έλαβε έγκριση από την Επιτροπή Δεοντολογίας του νοσοκομείου μας. Μετά από ένα μέσο (mean±SD) χρονικό διάστημα 3.38±1.47 ετών 173 ασθενείς επανεκτιμήθηκαν προοπτικά. Ο **πίνακας 1** δείχνει τα κύρια δημογραφικά και τριχοειδοσκοπικά χαρακτηριστικά των ασθενών και των μαρτύρων κατά την αρχική εκτίμηση. Ο **πίνακας 2** παρουσιάζει τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΣΣκ και των ασθενών με VEDOSS κατά την αρχική εκτίμηση.

### *β. Τριχοειδοσκόπηση*

Οι συμμετέχοντες στη μελέτη παρέμειναν σε θερμοκρασία 22-25°C για 15 λεπτά πριν την εξέταση προκειμένου να εγκλιματιστούν. Η βίντεο-τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων πραγματοποιήθηκε από έναν μόνο χειριστή (B.K. Μπουρνιά), με τη χρήση μίας συσκευής DS MEDICA Video Cap 200<sup>®</sup>, εξοπλισμένης με φακό μεγέθυνσης 200x. Η ποιοτική εκτίμηση όλων των εικόνων που ελήφθησαν κατά τη βίντεο-τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων επέτρεψε την κατηγοριοποίηση των ασθενών είτε στο φυσιολογικό, είτε σε ένα από τα σκληροδερματικά πρότυπα τριχοειδοσκόπησης (πρώιμο, ενεργό ή όψιμο)(6). Η απώλεια τριχοειδών, η παρουσία διατεταμένων, γιγαντιαίων ή ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών και η παρουσία μικροαιμορραγιών εκτιμήθηκε περαιτέρω με την εξέταση του άπω στοίχου τριχοειδών σε τρία διαδοχικά πεδία μήκους 1mm έκαστο, προερχομένων από το 2<sup>ο</sup>, 3<sup>ο</sup>, 4<sup>ο</sup> και 5<sup>ο</sup> δάκτυλο αμφοτέρων των χεριών, με τη χρήση μίας ημιποσοτικής κλίμακας αξιολόγησης (score 0-3)(7). Η απώλεια τριχοειδών παριστά τη μείωση του αριθμού των τριχοειδών κάτω από μία βιβλιογραφικά καθοριζόμενη μέση τιμή εννέα

**Πίνακας 1.** Δημογραφικά χαρακτηριστικά, προφίλ αυτοαντισωμάτων και τριχοειδοσκοπικά ευρήματα 138 ασθενών με συστηματικό σκληρόδερμα (ΣΣκ), 12 ασθενών με πολύ πρώιμη διάγνωση συστηματικού σκληροδέρματος (VEDOSS), 56 ασθενών με φαινόμενο Raynaud δευτεροπαθές αυτοάνοσου συστηματικού νοσήματος πλην του συστηματικού σκληροδέρματος (sRP), 36 ασθενών με ιδιοπαθές φαινόμενο Raynaud (pRP) και 62 υγιών μαρτύρων. Για τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων χρησιμοποιήθηκε  $\chi^2$ -test και ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) με ανάλυση post-hoc κατά Bonferroni, όπου απαιτείτο. (NS: μη στατιστικά σημαντικό)

	ΣΣκ (N=138)	VEDOSS (N=12)	sRP (N=56)	pRP (N=36)	Μάρτυρες (N=62)	ΣΣκ vs sRP P-value	ΣΣκ vs pRP P-value	ΣΣκ vs μάρτυρες P-value
Ηλικία (mean±SD)	52.96± 14.062	42.17± 12.12	45.34± 13.18	36.56± 17.35	45.35± 15.47	0.010	<0.0001	0.015
Θήλυ φύλο, N (%)	121 (88)	12 (100)	51 (91)	31 (86)	51 (82)	NS	NS	NS
Διάρκεια Νόσου σε έτη (mean±SD)	6.57±6.51	3.87±5.08	7.02±8.65	4.96±9.00	-	NS	NS	NS
ANA, N (%)	125/129 (97)	12/12 (100)	33/51 (65)	0	-	<0.0001	-	-
ACA, N (%)	22/129 (17)	7/12 (58)	4/51 (8)	0	-	NS	-	-
Anti-Scl70, N (%)	70/126 (56)	3/12 (8)	2/35 (6)	0	-	<0.0001	-	-
Κάπνισμα, N (%)	24 (17)	5 (42)	24 (43)	8 (22)	15 (24)	<0.0001	NS	NS
Πακέτα-έτη (mean±SD)	8.06±15.50	17.60±18.22	15.57±26.11	4.44±9.41	4.05±7.80	NS	NS	NS
Πρότυπο τριχοειδοσκο- πησης	φυσιολογικό, N (%)	5 (4)	3 (25)	28 (56)	21 (58)	<0.0001	<0.0001	<0.0001
	πρώιμο, N (%)	33 (24)	5 (42)	22 (39)	12 (33)			
	ενεργό, N (%)	70 (51)	4 (33)	6 (11)	3 (8)			
	όψιμο, N (%)	30 (22)	0	0	0			
Score απώλειας τριχοειδών (mean±SD)	1.58±0.42	1.04±0.38	0.88±0.46	0.80±0.34	0.46±0.26	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Score γιγαντιαίων τριχοειδών (mean±SD)	0.47±0.49	0.28±0.39	0.11±0.35	0.05±0.17	0.00±0.01	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Score μικροαιμορραγιών (mean±SD)	0.39±0.34	0.25±0.26	0.21±0.23	0.21±0.24	0.10±0.12	0.001	0.005	<0.0001
Score ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών (mean±SD)	0.27±0.40	0.04±0.07	0.08±0.10	0.11±0.13	0.14±0.16	<0.0001	0.043	0.05
Score διατεταμένων τριχοειδών (mean±SD)	1.73±0.56	1.63±0.66	1.02±0.73	1.01±0.69	0.37±0.40	<0.0001	<0.0001	<0.0001

**Πίνακας 2.** Κλινικά χαρακτηριστικά, λειτουργικές δοκιμασίες πνεύμονα και θεραπεία των ασθενών στις ομάδες του συστηματικού σκληροδέρματος [περιορισμένος υπότυπος νόσου (lcSSc), διάχυτος υπότυπος νόσου (dcSSc)] και της πολύ πρώιμης διάγνωσης συστηματικού σκληροδέρματος (VEDOSS), κατά την αρχική εκτίμηση.

	Αρχική Εκτίμηση (N=150)		
Υπότυπος Νόσου	lcSSc (N=87)	dcSSc (N=51)	VEDOSS (N=12)
mRSS (mean±SD)	4,49±3,62	12,08±8,82	0
Δακτυλικά έλκη (οποτεδήποτε στην πορεία της νόσου) (%)	33 (38)	29 (57)	0
Διάμεση Πνευμονική Ίνωση (%)	42/85 (49)	37/48 (77)	-
FVC (mean±SD)	92,77±17,08	79,32±19,21	110,00±8,19
FVC<80% (%)	16/83 (19)	21/50 (42)	0/3
TLC-He (mean±SD)	85,81±17,93	75,92±20,61	116,00
TLC-He<80% (%)	24/68 (35)	22/40 (55)	0/1
DLCO (mean±SD)	70,75 ±20,37	59,22±18,72	86,50±14,85
DLCO<80% (%)	50/72 (69)	38/43 (88)	1/2 (50)
RVSP>45mmHg (%)	4/80 (5)	3/51 (6)	0/4
TKE (mean±SD)	32,35±21,38	34,63±21,51	13,55±4,80
HAQ-DI score (mean±SD)	0,32±0,42	0,65±0,78	0,31±0,52
Αγγειοδραστική Αγωγή (%)	41 (47)	31 (61)	0
Ανοσοκατασταλτική Αγωγή (%)	28 (34)	24 (47)	0

\*mRSS: modified Rodnan skin score, FVC: δυναμική ζωτική χωρητικότητα, TLC-He: ολική πνευμονική χωρητικότητα, DLCO: διαχυτική ικανότητα των πνευμόνων, RVSP: συστολική πίεση δεξιάς κοιλίας, HAQ-DI: ερωτηματολόγιο αξιολόγησης της υγείας-δείκτης αναπηρίας

αγκυλών ανά γραμμικό mm. Ως διατεταμένα ορίστηκαν τα τριχοειδή με ομοιογενή ή ανώμαλη αύξηση της διαμέτρου τους >20μm, ενώ ως γιγαντιαία τα ομοιογενώς διατεταμένα τριχοειδή με κορυφαία διάμετρο >50μm. Τριχοειδή ανώμαλου σχήματος (διακλαδισμένα, θυσανοειδή, σε σχήμα μαιάνδρου) χαρακτηρίστηκαν ως ανώμαλα διακλαδισμένα τριχοειδή. Σκοτεινόχροες εναποθέσεις αιμοσιδηρίνης αναγνωρίστηκαν ως μικροαιμορραγίες. Αναφορικά με την ημιποσοτική κλίμακα αξιολόγησης, κάθε τριχοειδοσκοπική παράμετρος σε κάθε ένα από τα υπό εξέταση πεδία έλαβε ένα score από 0 έως 3 ως ακολούθως: 0= καμία μεταβολή, 1= <33% αλλοιώσεις/μείωση τριχοειδών, 2= 33-66% αλλοιώσεις/μείωση τριχοειδών, 3= >66% αλλοιώσεις/μείωση τριχοειδών. Η τελική βαθμολόγηση για κάθε παράμετρο προήλθε από τη μέση τιμή των 8 δακτύλων (7). Οι εικόνες αποθηκεύθηκαν και βαθμολογήθηκαν από έναν εκ δύο διαφορετικών εκτιμητών (B.K. Μπουρνιά, Κ. Κοττάς).

### *γ. Κλινική και εργαστηριακή εκτίμηση*

Οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε φυσική εξέταση, τόσο κατά την αρχική εκτίμηση, όσο και κατά τον επανέλεγχο. Κατά την εξέταση αυτή κατεγράφησαν τα οίδηματώδη δάκτυλα, καθώς και τα ενεργά ή παλαιά έλκη δακτύλων (8). Η σκλήρυνση του δέρματος μετρήθηκε με τη χρήση του τροποποιημένου Rodnan skin score (mRSS). Η επιδείνωση του mRSS θεωρήθηκε κλινικά σημαντική εφόσον υπερέβαινε το 3.5 (9). Σημειώθηκε επίσης το προφίλ αυτοαντισωμάτων των ασθενών (αντι-πυρηνικά αντισώματα >1:160, αντι-κεντρομεριδιακά αντισώματα και anti-Sc170 αντισώματα). Η παρουσία διάμεσης πνευμονικής ίνωσης τεκμηριώθηκε μέσω αξονικής τομογραφίας θώρακα υψηλής ευκρίνειας. Κατεγράφησαν επίσης οι λειτουργικές δοκιμασίες των πνευμόνων (δυναμική ζωτική χωρητικότητα-FVC και διαχυτική ικανότητα πνευμόνων-DLCO), η υπερηχογραφικά προσδιοριζόμενη συστολική πίεση της πνευμονικής αρτηρίας (PASP), το score στο ερωτηματολόγιο αξιολόγησης της υγείας-δείκτης αναπηρίας [Health Assessment Questionnaire—Disability Index (HAQ-DI)], η ταχύτητα καθίζησης ερυθρών (ΤΚΕ) και η φαρμακευτική αγωγή των ασθενών, τόσο κατά την αρχική εκτίμηση όσο και κατά την επανεκτίμηση. Η επιδείνωση της FVC και της DLCO θεωρήθηκε κλινικά σημαντική εφόσον ξεπερνούσε το 10% και το 15%, αντιστοίχως. Ως ανοσοκατασταλτική αγωγή ορίστηκε η λήψη πρεδνιζολόνης>10mg ή ισοδύναμου, μεθοτρεξάτης, μυκοφαινολικού, κυκλοφωσφαμίδης, αζαθειοπρίνης, υδρόξυχλωροκίνης, rituximab ή tocilizumab. Ως αγγειοδραστική αγωγή ορίστηκε ή λήψη αναστολέων διαύλων ασβεστίου, ανταγωνιστή υποδοχέων ενδοθηλίνης, προστανοειδών ή αναστολέων της φωσφοδιεστεράσης-5. Το πρωταρχικό σύνθετο καταληκτικό σημείο για τους ασθενείς με ΣΣκ στη μελέτη μας ήταν η εμφάνιση τουλάχιστον ενός από τα ακόλουθα: πρώτη εμφάνιση δακτυλικών ελκών, >10% επιδείνωση της FVC, >15% επιδείνωση της DLCO, >3.5 επιδείνωση του mRSS ή θάνατος.

### *δ. Στατιστική Ανάλυση*

Αποθηκευμένες εικόνες βίντεο-τριχοειδοσκόπησης της κοίτης των ονύχων από είκοσι ασθενείς που επελέγησαν τυχαία από την κοορτή μας αξιολογήθηκαν σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές από τον ίδιο εκτιμητή και ακολούθως και από το δεύτερο εκτιμητή. Για τον προσδιορισμό της αξιοπιστίας των μετρήσεων μεταξύ εκτιμητών και μεταξύ επανειλημμένων μετρήσεων του ίδιου εκτιμητή υπολογίστηκε ο συντελεστής ενδοταξικής συσχέτισης [intraclass correlation coefficient (ICC)] βάσει

ενός μικτού μοντέλου ανάλυσης δύο κατευθύνσεων (two-way mixed model analysis) για τα score απώλειας τριχοειδών, διάτασης, γιγαντιαίων τριχοειδών, ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών και μικροαιμορραγιών. Το ποσοστό συμφωνίας μεταξύ αξιολογητών και μεταξύ επανειλημμένων μετρήσεων από τον ίδιο αξιολογητή υπολογίστηκε επίσης και για την ποιοτική εκτίμηση ενός ασθενούς ως ανήκοντος στο φυσιολογικό ή στο πρώιμο, ενεργό ή όψιμο πρότυπο σκληροδέρματος. Για να συγκριθεί η διαγνωστική αξία διαφορετικών τριχοειδοσκοπικών score χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία των καμπυλών ROC. Για να εξετασθεί κατά πόσον οι συσχετίσεις των κλινικών χαρακτηριστικών με τα τριχοειδοσκοπικά ευρήματα των ασθενών με σκληρόδερμα παρέμειναν σταθερές στη διάρκεια του χρόνου, χρησιμοποιήθηκε ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (ordinal and linear logistic regression analyses). Για την αναγνώριση παραμέτρων της τριχοειδοσκόπησης που θα μπορούσαν να προγινώσκουν την επέλευση του κύριου, σύνθετου, καταληκτικού σημείου στην ομάδα των ασθενών του ΣΣκ μετά από διόρθωση για φύλο, ηλικία, υπότυπο νόσου, διάρκεια νόσου, κάπνισμα, χρήση αγγειοδιασταλτικής αγωγής, FVC και mRSS κατά την αρχική εκτίμηση, χρησιμοποιήθηκε ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (binary logistic regression analysis). Το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ετέθη στο  $p=0.05$ . Όλες οι αναλύσεις έγιναν με χρήση του στατιστικού πακέτου Stata v.12.

### 2.1.3 Αποτελέσματα

*α. Συγκριτική αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας των διαφόρων παραμέτρων της τριχοειδοσκόπησης.*

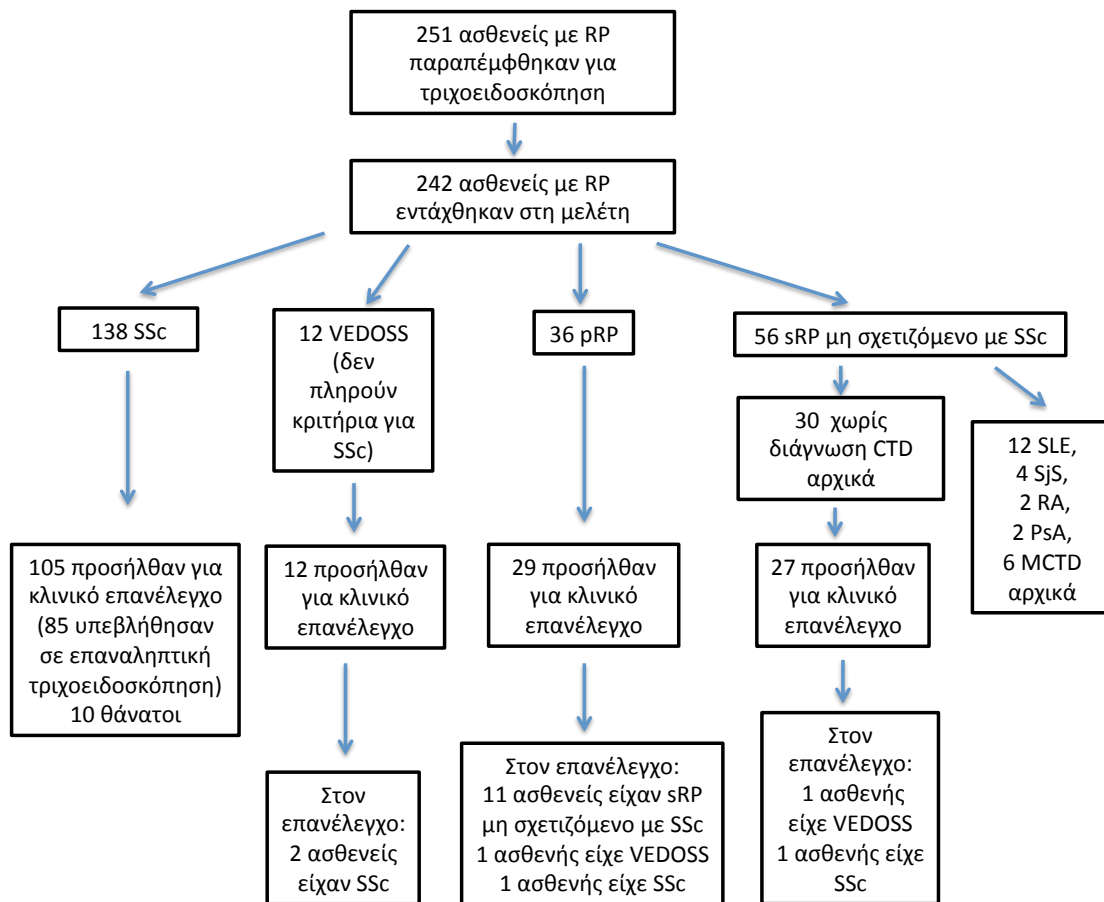
Εκατόν πέντε ασθενείς με ΣΣκ, 12 ασθενείς με VEDOSS, 29 ασθενείς με ιδιοπαθές RP και 27 από τους 30 ασθενείς με δευτεροπαθές RP για τους οποίους δεν υπήρχε διαθέσιμη διάγνωση κατά την αρχική εκτίμηση, επανεκτιμήθηκαν κλινικά μετά από ένα μέσο (mean±SD) χρονικό διάστημα  $3.38\pm 1.47$  ετών. Επαναληπτική τριχοειδοσκόπηση έγινε σε 85 ασθενείς με ΣΣκ, ενώ στους υπόλοιπους 20 ασθενείς είτε δεν πραγματοποιήθηκε (λόγω άρνησης των ασθενών, παρουσίας πολλαπλών δακτυλικών ελκών, ακροοστεόλυσης και παραμόρφωσης των χειρών), είτε κατέληξε σε μη αξιολογήσιμες εικόνες (**Εικόνα 1**). Δέκα ασθενείς στην ομάδα του ΣΣκ πέθαναν πριν επανεκτιμηθούν, ενώ δύο ακόμη πέθαναν εντός ολίγων εβδομάδων από τον κλινικό και τριχοειδοσκοπικό τους επανέλεγχο. Δεκατρείς ασθενείς (36%) που ανήκαν

αρχικά στην ομάδα του ιδιοπαθούς RP είτε ανέπτυξαν θετικά αυτοαντισώματα ή/και σημεία ή συμπτώματα ενδεικτικά συστηματικού αυτοάνοσου νοσήματος, είτε άρχισαν να πληρούν κριτήρια ταξινόμησης για κάποιο συστηματικό αυτοάνοσο νόσημα και έτσι επανακατηγοριοποιήθηκαν στην ομάδα του μη σχετιζόμενου με το ΣΣκ δευτεροπαθούς RP. Δύο ασθενείς στην ομάδα του VEDOSS και ένας σε καθμία από τις ομάδες του ιδιοπαθούς και δευτεροπαθούς RP ανέπτυξαν τελικά έκδηλο ΣΣκ, ενώ δύο ακόμη ασθενείς, ένας σε κάθε μία από τις ομάδες του ιδιοπαθούς και δευτεροπαθούς RP, άρχισαν να πληρούν κριτήρια για VEDOSS, όχι όμως και για ΣΣκ.

Όπως φαίνεται στον **πίνακα 1**, η μελέτη μας επιβεβαίωσε τις διαφορές στις τριχοειδοσκοπικές παραμέτρους μεταξύ των ασθενών με σκληρόδερμα και κάθε μίας από τις ομάδες του ιδιοπαθούς RP, του μη σχετιζόμενου με το ΣΣκ δευτεροπαθούς RP και των υγιών μαρτύρων, κατά την αρχική εκτίμηση. Η ανάλυση με τη μεθοδολογία των καμπυλών ROC χρησιμοποιήθηκε για να αξιολογηθεί συγκριτικά η διαγνωστική επάρκεια των διαφόρων τριχοειδοσκοπικών score που προσδιορίστηκαν κατά την αρχική εκτίμηση στο διαχωρισμό των ασθενών που κατά τον επανέλεγχο είχαν ΣΣκ (N=142) ή VEDOSS (N=12) από όλους τους υπόλοιπους συμμετέχοντες στη μελέτη [ιδιοπαθές RP (N=16), δευτεροπαθές RP (N=62) και μάρτυρες (N=62)]. Όπως φαίνεται στην **εικόνα 2** το score απώλειας τριχοειδών εμφάνιζε τη μεγαλύτερη περιοχή κάλυψης υπό την καμπύλη [area under the curve-AUC (95% CI)=0.905 (0.869-0.942)], ακολουθούμενο από το score διάτασης [0.863 (0.818-0.907)] και το score γιγαντιαίων τριχοειδών [0.835 (0.787-0.884)], αντιθέτως, το score μικροαιμορραγιών [0.720 (0.662-0.779)] και το score ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών [0.604 (0.539-0.670)] φάνηκαν να έχουν τη μικρότερη ακρίβεια στην αναγνώριση ασθενών με νοσήματα του φάσματος του σκληροδέρματος.

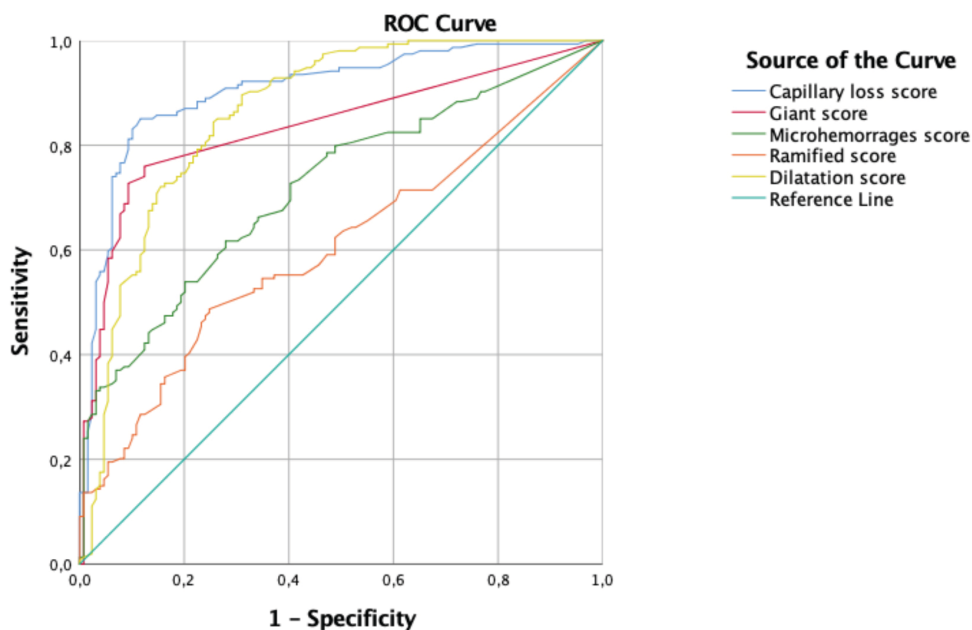
*β. Μεταβλητότητα μεταξύ πολλαπλών μετρήσεων από τον ίδιο εκτιμητή και μεταξύ μετρήσεων διαφορετικών εκτιμητών (Intra- και inter-rater variability)*

ο συντελεστής ενδοταξικής συσχέτισης [intraclass correlation coefficient (ICC)] για την ανάλυση προσδιορισμού της αξιοπιστίας των μετρήσεων μεταξύ εκτιμητών και μεταξύ επανειλημμένων μετρήσεων του ίδιου εκτιμητή ήταν πολύ καλός για το score απώλειας τριχοειδών [intra- και inter-rater variability ICC (95% CI) 0.98 (0.93-0.99)]



**Εικόνα 1.** Διάγραμμα ροής των ασθενών που δείχνει την επιστράτευση και κατηγοριοποίηση των ασθενών με φαινόμενο Raynaud που παραπέμφθηκαν στη ρευματολογική μονάδα της τριτοβάθμιας πανεπιστημιακής κλινικής μας για τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων κατά την αρχική εκτίμηση και κατά τον επανέλεγχο.





	AUC	95% CI	P-value	Cutoff	Sensitivity	Specificity
Capillary loss score	0.905	0.869-0.942	<0.0001	1.105	85.7%	85.3%
Dilatation score	0.863	0.818-0.907	<0.0001	1.089	81.8%	75.2%
Giant Score	0.835	0.787-0.884	<0.0001	0.021	76.0%	87.6%
Microhemorrhages score	0.720	0.662-0.779	<0.0001	0.167	66.2%	65.9%
Ramification score	0.604	0.539-0.670	0.003	0.083	57.1%	54.3%

**Εικόνα 2.** Καμπύλες ROC που δείχνουν τη διαγνωστική ακρίβεια των αρχικών τριχοειδοσκοπικών score (score απώλειας τριχοειδών, score γιγαντιαίων τριχοειδών, score μικροαιμορραγιών, score διατεταμένων τριχοειδών, score ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών) στη διάκριση ασθενών με νοσήματα του φάσματος του σκληροδέρματος (συστηματικό σκληρόδερμα-VEDOSS) από ασθενείς με φαινόμενο Raynaud και υγιείς μάρτυρες.

και 0.97 (0.74-0.99), αντιστοίχως], για το score διάτασης [0.97 (0.93-0.99) και 0.94 (0.85-0.98), αντιστοίχως], για το score γιγαντιαίων τριχοειδών [0.994 (0.985-0.998) και 0.98 (0.97-0.99), αντιστοίχως] και για το score μικροαιμορραγιών [0.93 (0.84-0.97) και 0.94 (0.84-0.97), αντιστοίχως]. Το score διακλαδισμένων τριχοειδών, ωστόσο, είχε μόνο μέτρια αξιοπιστία μεταξύ διαφορετικών εκτιμητών, [0.52 (0.2-0.8)], παρότι η αξιοπιστία του ήταν πολύ καλή μεταξύ διαφορετικών μετρήσεων από τον ίδιο εκτιμητή [0.989 (0.971-0.995)]. Ως εκ τούτου, το score διακλαδισμένων τριχοειδών αποκλείστηκε από όλες τις περαιτέρω αναλύσεις στη μελέτη μας. Το ποσοστό συμφωνίας μεταξύ δύο μετρήσεων του ίδιου βαθμολογητή και μεταξύ μετρήσεων από δύο διαφορετικούς βαθμολογητές για την ποιοτική εκτίμηση ενός ασθενούς ως ανήκοντος στο φυσιολογικό ή στο πρώιμο, ενεργό ή όψιμο πρότυπο σκληροδέρματος ήταν 90% και 85%, αντίστοιχα.

*γ. Κλινικές συσχετίσεις των παραμέτρων της τριχοειδοσκόπησης σε ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα, κατά την αρχική εκτίμηση.*

Οι συσχετίσεις των κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών με ΣΣκ με τα τριχοειδοσκοπικά τους ευρήματα κατά την αρχική εκτίμηση φαίνονται στον **πίνακα 3**. Η μονοπαραγοντική ανάλυση αποκάλυψε ότι χειρότερο πρότυπο στην βιντεο-τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων συσχετίζεται με το διάχυτο υπότυπο νόσου, με την παρουσία δακτυλικών ελκών οποτεδήποτε στην πορεία της νόσου, με την ανάγκη για αγγειοδραστική αγωγή, με υψηλότερο mRSS και HAQ-DI score, και με χαμηλότερες τιμές FVC. Η πολυπαραγοντική ανάλυση (multivariate ordinal regression analysis), διορθωμένη για ηλικία, φύλο και για τις κλινικές παραμέτρους που βρέθηκε ότι ήταν στατιστικά σημαντικές στη μονοπαραγοντική ανάλυση, επιβεβαίωσε τη συσχέτιση του χειρότερου τριχοειδοσκοπικού προτύπου με υψηλότερες τιμές mRSS ( $p=0.001$ ,  $B=0.141$ ,  $OR=1.15$ ), και με την παρουσία δακτυλικών ελκών οποτεδήποτε στην πορεία της νόσου ( $p=0.024$ ,  $B=0.872$ ,  $OR=2.39$ ). Στη μονοπαραγοντική ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης το score απώλειας τριχοειδών φάνηκε να συσχετίζεται με μεγαλύτερη διάρκεια νόσου, με το διάχυτο υπότυπο νόσου, με την παρουσία δακτυλικών ελκών οποτεδήποτε στη διάρκεια της νόσου, με υψηλότερες τιμές mRSS και με την ανάγκη χρήσης αγγειοδιασταλτικής αγωγής. Ομοίως, το score γιγαντιαίων τριχοειδών εμφάνιζε συσχέτιση με την τρέχουσα χρήση καπνού, με χαμηλότερες τιμές στο HAQ-DI score και με μικρότερη πιθανότητα για διάμεση πνευμονική νόσο. Το score μικροαιμορραγιών συσχετιζόταν θετικά με το FVC και το TLC-He και αρνητικά με το διάχυτο υπότυπο νόσου, την παρουσία διάμεσης πνευμονοπάθειας και το HAQ-DI score. Τέλος, το score διατεταμένων τριχοειδών εμφάνιζε θετική συσχέτιση με το κάπνισμα και την παρουσία δακτυλικών ελκών και αρνητική με την ηλικία. Η πολυπαραγοντική ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης, μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο και για τις παραμέτρους που κάθε φορά ήταν στατιστικά σημαντικές στη μονοπαραγοντική ανάλυση, επιβεβαίωσε τη συσχέτιση του score γιγαντιαίων τριχοειδών με το κάπνισμα ( $p=0.028$ ,  $B=0.262$ ), του score μικροαιμορραγιών με το TLC-He ( $p=0.035$ ,  $B=0.006$ ) και του score διατεταμένων τριχοειδών με μικρότερη ηλικία ( $p=0.030$ ,  $B=-0.007$ ), κάπνισμα ( $p=0.047$ ,  $B=0.248$ ) και επίσης οριακά με τα δακτυλικά έλκη ( $p=0.092$ ,  $B=0.163$ ).

**Πίνακας 3.** Συσχετίσεις των τριχοειδοσκοπικών παραμέτρων με τα κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών με συστηματικό σκληρόδερμα (N=138) κατά την αρχική εκτίμηση. Απεικονίζονται οι μονοπαραγοντικές συσχετίσεις που προκύπτουν από την ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (ordinal logistic regression για το πρότυπο τριχοειδοσκόπησης και linear regression για κάθε ένα από τα υπό μελέτη τριχοειδοσκοπικά score). Οι συσχετίσεις που παραμένουν σημαντικές στην πολυπαραγοντική ανάλυση σημαίνονται με έντονα γράμματα. Στις παρενθέσεις αναγράφεται ο αριθμός των ασθενών για τους οποίους υπάρχουν κάθε φορά διαθέσιμα δεδομένα. (NS: μη στατιστικά σημαντικό, mRSS: modified Rodnan skin score, FVC: δυναμική ζωτική χωρητικότητα, TLC-He: ολική πνευμονική χωρητικότητα, DLCO: διαχυτική ικανότητα των πνευμόνων, RVSP: συστολική πίεση δεξιάς κοιλίας, HAQ-DI: ερωτηματολόγιο αξιολόγησης της υγείας- δείκτης αναπηρίας)

	Πρότυπο τριχοειδοσκόπησης	Score απώλειας τριχοειδών	Score γιγαντιαίων τριχοειδών	Score μικροαίμορραγιών	Score διατεταμένων τριχοειδών
Ηλικία	NS	NS	p=0.073 B=-0.005	NS	<b>p=0.006**</b> <b>B=-0.009</b>
Άρρεν φύλο	NS	NS	NS	NS	NS
Διάρκεια νόσου	NS	p=0.046 B=0.001	NS	NS	NS
Διάχυτος υπότυπος νόσου	p<0.0001 B=1.65 OR=5.12	p=0.035 B=0.156	NS	p=0.036 B=-0.127	NS
ACA+ (N=129)	NS	NS	p=0.087 B=0.196	NS	NS
Anti-Scl70+ (N=126)	NS	p=0.061 B=0.139	NS	NS	NS
Κάπνισμα	NS	NS	<b>p=0.008§</b> <b>B=0.289</b>	NS	p=0.009** B=0.328
Δακτυλικά έλκη (ενεργά ή στο ιστορικό)	<b>p=0.002*</b> <b>B=1.068</b> <b>OR=2.86</b>	p=0.004 B=0.206	NS	NS	p=0.014** B=0.234
mRSS	<b>p&lt;0.0001*</b> <b>B=0.163</b> <b>OR=2.86</b>	p=0.015 B=0.012	NS	NS	NS
RVSP>45mmHg (N=131)	NS	NS	NS	NS	NS
DLCO <sub>cSB</sub> (N=115)	p=0.051 B=-0.017 OR=0.98	NS	NS	p=0.069 B=0.003	NS
TLC-He (N=108)	NS	NS	NS	<b>p=0.001#</b> <b>B=0.006</b>	NS
FVC (N=133)	p=0.037 B=-0.018 OR=0.98	NS	p=0.051 B=0.004	p=0.004 B=0.004	NS
Διάμεση πνευμονική ίνωση (N=133)	NS	NS	p=0.033 B=-0.181	p=0.012 B=-0.149	NS
TKE	NS	NS	NS	NS	p=0.095 B=-0.004
HAQ-DI score	p<0.0001 B=1.062 OR=3.042	NS	p=0.029 B=-0.156	p=0.022 B=-0.116	NS

Ανάγκη αγγειοδιασταλτικής αγωγής	p<0.013 B=0.825 OR=2.28	p=0.016 B=0.171	p=0.089 B=0.141	NS	p=0.057 B=0.182
Ανάγκη ανοσοκατασταλτικής αγωγής	NS	NS	NS	NS	NS

\* Το πρότυπο της τριχοειδοσκόπησης εμφανίζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το mRSS (p=0.001, B=0.141, OR=1.151) και τα έλκη δακτύλων (p=0.024, B=0.872, OR=2.391), μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο, υπότυπο νόσου, FVC, HAQ-DI score και ανάγκη αγγειοδιασταλτικής αγωγής (N=133)

§ Το score γιγαντιαίων τριχοειδών εμφανίζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το κάπνισμα (p=0.028, B=0.262) μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο, HAQ-DI score και διάμεση πνευμονική ίνωση στην αξονική τομογραφία θώρακα υψηλής ευκρίνειας (N=133)

# Το score μικροαιμορραγιών εμφανίζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το TLC-He (p=0.035, B=0.006), μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο, υπότυπο νόσου, διάμεση πνευμονική ίνωση, FVC και HAQ-DI score (N=102)

\*\* Το score διατεταμένων τριχοειδών εμφανίζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την ηλικία (p=0.030, B=-0.007) και το κάπνισμα (p=0.047, B=0.248) και οριακή συσχέτιση με τα έλκη δακτύλων (p=0.092, B=0.163), μετά από προσαρμογή για φύλο (N=138).

*δ. Σταθερότητα με το χρόνο των κλινικών συσχετίσεων της τριχοειδοσκόπησης σε ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές.*

Για να εκτιμηθεί η σταθερότητα με την πάροδο του χρόνου των συσχετίσεων που αναδύονται μεταξύ των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης και των κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών, πραγματοποιήθηκε η ίδια ανάλυση όπως ανωτέρω, τόσο κατά την αρχική εκτίμηση, όσο και κατά τον επανέλεγχο, σε 85 ασθενείς με ΣΣκ για τους οποίους υπήρχε διαθέσιμη επαναληπτική τριχοειδοσκόπηση. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον **πίνακα 4**. Η μεγαλύτερη ταύτιση των αποτελεσμάτων μεταξύ αρχικής και επαναληπτικής εκτίμησης διαπιστώθηκε για το score γιγαντιαίων τριχοειδών, για το οποίο η μόνη ανακολουθία αφορούσε τη συσχέτιση με τη διάμεση πνευμονική ίνωση. Η συσχέτιση αυτή αναδείχθηκε κατά τον αρχικό έλεγχο, τόσο από τη μονοπαραγοντική όσο και από την πολυπαραγοντική ανάλυση, μετά από διόρθωση για ηλικία και φύλο ( $p=0.005$ ,  $B=-0.328$ ), αλλά δεν επαληθεύθηκε στον επανέλεγχο. Καλή ταύτιση των αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε επίσης για το πρότυπο της τριχοειδοσκόπησης για το οποίο η μονοπαραγοντική ανάλυση έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το διάχυτο υπότυπο νόσου και με το mRSS, τόσο στην αρχική, όσο και στην επαναληπτική εκτίμηση. Θα πρέπει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι η μονοπαραγοντική ανάλυση ανέδειξε επίσης και μία συσχέτιση με το HAQ-DI score, αλλά μόνο στον αρχικό έλεγχο. Η πολυπαραγοντική ανάλυση, μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο και τις μεταβλητές που βρέθηκε ότι ήταν στατιστικά σημαντικές στο μονοπαραγοντικό μοντέλο επιβεβαίωσε τη συσχέτιση του προτύπου της τριχοειδοσκόπησης με το mRSS, τόσο στον αρχικό έλεγχο ( $p=0.004$ ,  $B=0.145$ ,  $OR=1.16$ ), όσο και στον επανέλεγχο ( $p=0.046$ ,  $B=0.085$ ,  $OR=1.09$ ) και με το διάχυτο υπότυπο νόσου μόνο στον επανέλεγχο ( $p=0.022$ ,  $B=1.066$ ,  $OR=2.90$ ), αλλά δεν μπόρεσε να επιβεβαιώσει τη συσχέτιση με το διάχυτο υπότυπο νόσου κατά την αρχική εκτίμηση. Στην περίπτωση του score απώλειας τριχοειδών, η μονοπαραγοντική συσχέτιση με το anti-Scl70, την ανάγκη λήψης αγγειοδιασταλτικής αγωγής, τα δακτυλικά έλκη (ενεργά ή στο παρελθόν) και το mRSS διαπιστώθηκε μόνο στην επίσκεψη επανεκτίμησης, με τις δύο τελευταίες συσχετίσεις να επιβεβαιώνονται και στην πολυπαραγοντική ανάλυση ( $p=0.001$ ,  $B=0.282$  για την περίπτωση των δακτυλικών ελκών και  $p=0.011$ ,  $B=0.019$ , για την περίπτωση του mRSS). Το score μικροαιμορραγιών συσχετίστηκε θετικά στην αρχική εκτίμηση με το TLC-He και το FVC και αρνητικά με το διάχυτο υπότυπο νόσου, το anti-Scl-70 και τη διάμεση πνευμονική ίνωση, αλλά αυτές οι συσχετίσεις δεν επιβεβαιώθηκαν από την πολυπαραγοντική ανάλυση. Αντιθέτως, κατά τον επανέλεγχο διαπιστώθηκε συσχέτιση του score μικροαιμορραγιών με το ιστορικό ή την ενεργό παρουσία

**Πίνακας 4.** Η πλειονότητα των κλινικών συσχετίσεων των τριχοειδοσκοπικών ευρημάτων δεν παραμένει σταθερή ανάμεσα στην αρχική εκτίμηση και τον επανέλεγχο που διενεργήθηκε μετά από ένα μέσο±SD χρονικό διάστημα 3.12±1.30 ετών σε 85 ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα. Απεικονίζονται οι μονοπαραγοντικές συσχετίσεις που προκύπτουν από την ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (ordinal logistic regression για το πρότυπο τριχοειδοσκόπησης και linear regression για κάθε ένα από τα υπό μελέτη τριχοειδοσκοπικά score). Οι συσχετίσεις που παραμένουν σημαντικές στην πολυπαραγοντική ανάλυση σημαίνονται με έντονα γράμματα. Στις παρενθέσεις αναγράφεται ο αριθμός των ασθενών για τους οποίους υπάρχουν κάθε φορά διαθέσιμα δεδομένα. (NS: μη στατιστικά σημαντικό, mRSS: modified Rodnan skin score, FVC: δυναμική ζωτική χωρητικότητα, TLC-He: ολική πνευμονική χωρητικότητα, DLCO: διαχυτική ικανότητα των πνευμόνων, RVSP: συστολική πίεση δεξιάς κοιλίας, HAQ-DI: ερωτηματολόγιο αξιολόγησης της υγείας- δείκτης αναπηρίας)

		Πρότυπο τριχοειδοσκόπησης	Score απώλειας τριχοειδών	Score γιγαντιαίων τριχοειδών	Score μικροαιμορραγιών	Score διατεταμένων τριχοειδών
Ηλικία	αρχική εκτίμηση	NS	NS	NS	NS	NS
	επανέλεγχος	NS	NS	NS	NS	p=0.013 B=-0.011
Άρρεν φύλο	αρχική εκτίμηση	NS	NS	NS	NS	NS
	επανέλεγχος	NS	NS	NS	NS	NS
Διάρκεια νόσου	αρχική εκτίμηση	NS	p=0.079 B=0.0008	NS	NS	NS
	επανέλεγχος	NS	NS	NS	NS	NS
Διάχυτος υπότυπος νόσου	αρχική εκτίμηση	p=0.007 B=1.277 OR=3.585	NS	NS	p=0.007 B=-0.206	NS
	επανέλεγχος	<b>p=0.003*</b> <b>B=1.319</b> <b>OR=3.740</b>	p=0.058 B=0.145	NS	p=0.068 B=-0.099	NS
ACA+	αρχική εκτίμηση (N=80)	NS	NS	NS	p=0.073 B=0.180	NS
	επανέλεγχος (N=80)	NS	NS	NS	NS	NS
Anti-Scl70+	αρχική εκτίμηση (N=78)	NS	NS	NS	p=0.014 B=-0.196	NS
	επανέλεγχος (N=78)	NS	p=0.036 B=0.164	NS	p=0.068 B=-0.102	NS
Κάπνισμα	αρχική εκτίμηση	NS	NS	p=0.090 B=0.243	NS	p=0.033** B=0.305
	επανέλεγχος	NS	NS	NS	NS	p=0.095 B=0.143
Δακτυλικά έλκη (ενεργά ή στο ιστορικό)	αρχική εκτίμηση	NS	NS	NS	NS	p=0.017** B=0.264
	επανέλεγχος	NS	<b>p&lt;0.0001#</b> <b>B=0.326</b>	p=0.061 B=0.185	<b>p=0.005<sup>s</sup></b> <b>B=0.111</b>	<b>p=0.001**</b> <b>B=0.450</b>
mRSS	αρχική εκτίμηση	<b>p=0.001*</b> <b>B=0.153</b> <b>OR=1.165</b>	NS	NS	NS	p=0.099 B=0.016

	επανάλεγχος	<b>p=0.009*</b> <b>B=0.108</b> <b>OR=1.113</b>	<b>p&lt;0.0001#</b> <b>B=0.029</b>	NS	NS	NS
RVSP>45mmHg	αρχική εκτίμηση (N=81)	NS	NS	NS	NS	NS
	επανάλεγχος (N=73)	NS	NS	NS	NS	NS
DLCO <sub>CSB</sub>	αρχική εκτίμηση (N=72)	p=0.092 B=-0.020 OR=0.980	NS	p=0.092 B=0.005	p=0.073 B=0.004	NS
	επανάλεγχος (N=72)	NS	NS	p=0.070 B=0.005	NS	NS
TLC-He	αρχική εκτίμηση (N=68)	NS	NS	NS	p=0.005 B=0.007	NS
	επανάλεγχος (N=66)	NS	NS	NS	NS	NS
FVC	αρχική εκτίμηση (N=80)	p=0.098 B=-0.020 OR=0.980	NS	p=0.054 B=0.006	p=0.001 B=0.007	NS
	επανάλεγχος (N=78)	NS	NS	NS	NS	NS
Διάμεση πνευμονική ίνωση	αρχική εκτίμηση (N=82)	NS	NS	<b>p=0.001&amp;</b> <b>B=-0.328</b>	p=0.001 B=-0.255	NS
	επανάλεγχος (N=81)	NS	NS	NS	NS	NS
TKE	αρχική εκτίμηση	NS	NS	NS	NS	NS
	επανάλεγχος	p=0.060 B=0.024 OR=1.02	NS	NS	NS	NS
HAQ-DI score	αρχική εκτίμηση	p=0.043 B=0.829 OR=2.29	NS	NS	p=0.063 B=-0.127	NS
	επανάλεγχος	NS	NS	NS	NS	NS
Ανάγκη αγγειοδιασταλτικής αγωγής	αρχική εκτίμηση	NS	p=0.090 B=0.135	NS	NS	NS
	επανάλεγχος	NS	p=0.003 B=0.226	NS	NS	NS
Ανάγκη ανοσοκατασταλτικής αγωγής	αρχική εκτίμηση	p=0.073 B=0.797 OR=2.22	NS	NS	NS	<b>p=0.013**</b> <b>B=0.282</b>
	επανάλεγχος	p=0.064 B=0.778 OR=2.18	NS	NS	NS	NS

\* Κατά την αρχική εκτίμηση το πρότυπο της τριχοειδοσκόπησης συσχετίζεται σημαντικά με το mRSS (p=0.004, B=0.145, OR=1.156), μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο, υπότυπο νόσου και HAQ-DI score (N=85). Στον επανάλεγχο το πρότυπο τριχοειδοσκόπησης συσχετίζεται σημαντικά με με το mRSS (p=0.046, B=0.085, OR=1.09) και τον υπότυπο νόσου (p=0.022, B=1.066, OR=2.90) μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο (N=85)

# Στον επανάλεγχο το score απώλειας τριχοειδών συσχετίζεται σημαντικά με τα δακτυλικά έλκη (p=0.001, B=0.282) και με το mRSS (p=0.011, B=0.019) μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο, ανάγκη αγγειοδιασταλτικής αγωγής και θετικό anti-Sc170 (N=78)

& Κατά την αρχική εκτίμηση το score γιγαντιαίων τριχοειδών συσχετίζεται σημαντικά με τη

διάμεση πνευμονική ίνωση ( $p=0.005$ ,  $B=-0.328$ ) μετά από προσαρμογή για ηλικία και φύλο ( $N=82$ )

<sup>§</sup> Στον επανέλεγχο το score μικροαιμορραγιών συσχετιζέτο σημαντικά με τα έλκη δακτύλων ( $p=0.048$ ,  $B=0.121$ ) μετά από προσαρμογή για ηλικία και φύλο ( $N=85$ )

\*\* Κατά την αρχική εκτίμηση το score διατεταμένων τριχοειδών συσχετιζέτο σημαντικά με την ανάγκη ανοσοκατασταλτικής αγωγής ( $p=0.015$ ,  $B=0.273$ ) και οριακά με τα έλκη δακτύλων ( $p=0.069$ ,  $B=0.197$ ) και το κάπνισμα ( $p=0.062$ ,  $B=0.259$ ) μετά από προσαρμογή για ηλικία και φύλο ( $N=85$ ). Στον επανέλεγχο το score διατεταμένων τριχοειδών συσχετιζέτο σημαντικά με τα έλκη δακτύλων ( $p=0.006$ ,  $B=0.374$ ), μετά από προσαρμογή για ηλικία και φύλο ( $N=85$ )



δακτυλικών ελκών, που παρέμεινε σημαντική ακόμη και μετά τη διόρθωση για ηλικία και φύλο ( $p=0.048$ ,  $B=0.121$ ). Τέλος, στη μονοπαραγοντική ανάλυση, το score διατεταμένων τριχοειδών κατά την αρχική εκτίμηση φάνηκε να συσχετίζεται σημαντικά με το κάπνισμα, το ιστορικό ή την παρουσία ενεργών δακτυλικών ελκών, και την ανοσοκατασταλτική αγωγή. Μετά τη διόρθωση για ηλικία και φύλο η συσχέτιση με την ανοσοκατασταλτική αγωγή παρέμεινε σημαντική ( $p=0.015$ ,  $B=0.273$ ), ενώ διατηρήθηκε μόνο μια οριακή συσχέτιση με τα δακτυλικά έλκη ( $p=0.069$ ,  $B=0.197$ ) και το κάπνισμα ( $p=0.062$ ,  $B=0.259$ ). Στην επανεκτίμηση το score διατεταμένων τριχοειδών βρέθηκε να συσχετίζεται με την ηλικία και τα δακτυλικά έλκη στη μονοπαραγοντική ανάλυση, ενώ μόνο τα δακτυλικά έλκη παρέμειναν σημαντικά μετά τη διόρθωση για ηλικία και φύλο ( $p=0.006$ ,  $B=0.374$ ).

*ε. Εκτίμηση της προγνωστικής αξίας της βίντεο-τριχοειδοσκόπησης της κοίτης των ονύχων σε ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα.*

Ακολουθώντας, επιχειρήσαμε να αξιολογήσουμε κατά πόσον τα ευρήματα της τριχοειδοσκόπησης στην αρχική εκτίμηση θα μπορούσαν να προγνώσουν την επέλευση ενός σύνθετου δυσμενούς κλινικού αποτελέσματος σε ασθενείς με ΣΣκ. Μεταξύ των 105 ασθενών με ΣΣκ που προσήλθαν στην κλινική μας για επαναληπτική εκτίμηση και των 10 επιπλέον ασθενών που είχαν ήδη καταλήξει πριν από τον επανέλεγχο, επαρκείς πληροφορίες για να προσδιορίσουμε την επέλευση του σύνθετου δυσμενούς καταληκτικού σημείου είχαμε στη διάθεσή μας για 94 άτομα, που συμπεριελήφθησαν τελικά στην ανάλυση. Το μέσο±SD χρονικό διάστημα μέχρι τον επανέλεγχο αυτού του πληθυσμού ήταν  $3.31\pm 1.40$  έτη. Από τις τριχοειδοσκοπικές παραμέτρους που εκτιμήθηκαν, μόνο το πρότυπο της τριχοειδοσκόπησης (ενεργό πρότυπο:  $p=0.023$ ,  $OR=3.374$ , όψιμο πρότυπο:  $p=0.007$ ,  $OR=6.400$ ) συσχετιζόταν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με το σύνθετο δυσμενές καταληκτικό σημείο στη μονοπαραγοντική ανάλυση. Δημιουργήσαμε ως εκ τούτου ένα πολυπαραγοντικό μοντέλο στο οποίο συμπεριλάβαμε το πρότυπο της τριχοειδοσκόπησης, την ηλικία το φύλο, τον υπότυπο νόσου, τη διάρκεια νόσου, το κάπνισμα, τη λήψη αγγειοδιασταλτικής αγωγής, το FVC και το mRSS κατά την αρχική εκτίμηση. Όπως φαίνεται στον **πίνακα 5**, οι ασθενείς με ΣΣκ και ενεργό ( $p=0.043$ ,  $OR=3.305$ ) ή όψιμο πρότυπο ( $p=0.023$ ,  $OR=6.900$ ) στην αρχική τριχοειδοσκόπηση είχαν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης του σύνθετου δυσμενούς κλινικού αποτελέσματος σε σύγκριση με ασθενείς που είχαν πρώιμο πρότυπο στην αρχική τριχοειδοσκοπική εκτίμηση. Σε αυτό

το προγνωστικό μοντέλο η διάρκεια νόσου ομοίως εμφάνιζε αρνητική συσχέτιση με το σύνθετο κλινικό αποτέλεσμα ( $p=0.014$ ,  $OR=0.991$ ). Ωστόσο, στατιστικά δε διαπιστώθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ της διάρκειας νόσου και του προτύπου της τριχοειδοσκόπησης.

Τέλος, προκειμένου να ανιχνευθεί μια πιθανή συσχέτιση των αρχικών τριχοειδοσκοπικών ευρημάτων με το θάνατο ως έκβαση σε ασθενείς με ΣΣκ, πραγματοποιήθηκε ανάλυση δυαδικής λογιστικής παλινδρόμησης σε 115 ασθενείς με σκληρόδερμα για τους οποίους υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα επιβίωσης στην επίσκεψη επανεκτίμησης. Μετά από έναν μέσο±SD χρόνο επανεκτίμησης  $3.22\pm 1.42$  ετών διαπιστώθηκε ότι καμία από τις αρχικές τριχοειδοσκοπικές παραμέτρους δε

**Πίνακας 5.** Η εμφάνιση ενός σύνθετου δυσμενούς κλινικού αποτελέσματος (επιδείνωση  $FVC >10\%$  και/ή επιδείνωση  $DLCO >15\%$  και/ή επιδείνωση  $mRSS >3.5$  και/ή νέα εμφάνιση δακτυλικών ελκών σε ασθενείς χωρίς προηγούμενο τέτοιο ιστορικό και/ή θάνατος) μετά από ένα μέσο±SD χρόνο παρακολούθησης  $3.31\pm 1.40$  ετών σε 94 ασθενείς με σκληρόδερμα, μπορεί να προβλεφθεί από το πρότυπο τριχοειδοσκόπησης κατά την αρχική εκτίμηση, όπως φαίνεται από την πολυπαραγοντική ανάλυση δυαδικής λογιστικής παλινδρόμησης.

		p-value	Odds Ratio	95% CI	
Άρρεν φύλο		0.272	2.413	0.502	11.600
Ηλικία		0.309	1.018	0.984	1.054
Διάχυτος υπότυπος νόσου		0.632	1.322	0.422	4.143
<b>Διάρκεια νόσου</b>		<b>0.014</b>	<b>0.991</b>	<b>0.984</b>	<b>0.998</b>
<b>Πρότυπο τριχοειδοσκόπησης</b>	<b>Ενεργό (vs. πρώιμο)</b>	<b>0.043</b>	<b>3.305</b>	<b>1.037</b>	<b>10.537</b>
	<b>Όψιμο (vs. πρώιμο)</b>	<b>0.023</b>	<b>6.900</b>	<b>1.305</b>	<b>36.472</b>
Κάπνισμα		0.406	1.736	0.472	6.387
Χρήση αγγειοδιασταλτικών		0.812	0.888	0.334	2.361
FVC		0.716	0.995	0.969	1.022
mRSS		0.314	1.049	0.560	1.151

FVC:δυναμική ζωτική χωρητικότητα, mRSS: modified Rodnan skin score.

Όλες οι παράμετροι στον πίνακα αναφέρονται στην αρχική εκτίμηση των ασθενών

συσχετιζόταν σημαντικά με το θάνατο στη μονοπαραγοντική ανάλυση, ενώ βρέθηκε μόνο μία οριακή αναστροφή συσχέτιση του score γιγαντιαίων τριχοειδών ( $p=0.076$ ,  $OR=0.203$ ) και του score μικροαιμορραγιών ( $p=0.064$ ,  $OR=0.074$ ), που όμως δεν διατηρήθηκε μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλο, διάρκεια νόσου, υπότυπο νόσου, κάπνισμα, FVC, mRSS και λήψη αγγειοδιασταλτικής αγωγής κατά την αρχική εκτίμηση.

#### 2.1.4 Συζήτηση

Στη μελέτη μας επιβεβαιώνουμε το ρόλο της βίντεο-τριχοειδοσκόπησης της κοίτης των ονύχων στη διάκριση των ασθενών που εμφανίζουν RP στα πλαίσια νοσημάτων του φάσματος του σκληροδέρματος από εκείνους που έχουν ιδιοπαθές RP, δευτεροπαθές RP μη σχετιζόμενο με το ΣΣκ και από υγιείς μάρτυρες (10). Η ανάλυση με χρήση καμπυλών ROC έδειξε ότι το score απώλειας τριχοειδών είναι η πιο αξιόπιστη τριχοειδοσκοπική παράμετρος για τη διαφοροποίηση των ασθενών που ανήκουν στο φάσμα νοσημάτων του σκληροδέρματος, ακολουθούμενο από το score διάτασης και από το score γιγαντιαίων τριχοειδών. Αντιθέτως, το score μικροαιμορραγιών και το score ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών δε φάνηκε να αποδίδουν εξίσου καλά. Είναι επομένως πιθανόν ότι οι μικροαιμορραγίες και τα ανώμαλα διακλαδισμένα τριχοειδή, που παριστούν το πιο συχνό τριχοειδοσκοπικό εύρημα σε νοσήματα όπως ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος (11) και ανευρίσκονται επίσης συχνά στο σύνδρομο Sjögren (12), στη ρευματοειδή αρθρίτιδα (13,14) και στο σακχαρώδη διαβήτη (15) είναι λιγότερο ειδικά για τα νοσήματα του φάσματος του σκληροδέρματος σε σχέση με την απώλεια ή τη διάταση των τριχοειδών και την παρουσία γιγαντιαίων τριχοειδών.

Οι Sekiyama et al. χρησιμοποίησαν τη μεθοδολογία των καμπυλών ROC για να εκτιμήσουν τη διαγνωστική αξία του αριθμού των τριχοειδών/mm, όπως αυτός προκύπτει από τη βίντεοτριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων, στη διάκριση 101 ασθενών με σκληρόδερμα από 151 μη πάσχοντες από σκληρόδερμα (υγιείς μάρτυρες, ασθενείς με ιδιοπαθές φαινόμενο RP και ασθενείς με αδιαφοροποίητο νόσημα συνδετικού ιστού) και αναφέρουν μία τιμή για την επιφάνεια υπό την καμπύλη  $AUC=0.894$  ( $P < 0.001$ , 95% CI 0.850–0.938), που είναι συγκρίσιμη με την τιμή  $AUC=0.905$  που εμείς βρήκαμε για το score απώλειας τριχοειδών (16). Σε μία άλλη

ενδιαφέρουσα μελέτη, οι Ingegnoli et al. αναφέρουν ότι μόνο η παρουσία γιγαντιαίων αγκυλών (HR 2.64) και μικροαιμορραγιών (HR 2.33), καθώς και ο αριθμός των τριχοειδών στη βίντεοτριχοειδοσκόπηση ήταν σημαντικά για την πρόγνωση της 5-ετούς μετάβασης από το ιδιοπαθές RP στο RP που εκδηλώνεται δευτεροπαθώς σε νοσήματα του φάσματος του σκληροδέρματος. Αντιθέτως, τα διατεταμένα ή ανώμαλα διακλαδισμένα τριχοειδή δεν είχαν προγνωστική αξία (17). Στη δική μας μελέτη, εξ αντιθέτου, δείξαμε ότι η διάταση των τριχοειδικών αγκυλών αποδίδει καλύτερα από τις μικροαιμορραγίες στην αναγνώριση ασθενών με RP δευτεροπαθές σκληροδέρματος. Τέλος, σε μία γαλλο-ιταλική μελέτη 66 ασθενών με VEDOSS, η διάμετρος των τριχοειδικών αγκυλών και το κορυφαίο εύρος ήταν σημαντικά υψηλότερα μεταξύ ασθενών που προχώρησαν στην εκδήλωση ΣΣκ (N=21) σε σχέση με όσους δεν προχώρησαν (N=45) (18).

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα μιας προηγούμενης δημοσίευσης της Smith et al. (19) τα δεδομένα μας δείχνουν ότι το ICC μεταξύ εκτιμητών για τα ανώμαλα διακλαδισμένα τριχοειδή ήταν 0.52, δηλαδή πολύ χαμηλότερο σε σχέση με όλων των υπολοίπων ποιοτικών και ημι-ποσοτικών εκτιμήσεων. Δεδομένου αυτού του περιορισμού, του γεγονότος ότι το πρωτόκολλό μας διαμορφώθηκε το 2011, όταν ακόμη τα ανώμαλα διακλαδισμένα τριχοειδή θεωρούντο αξιόπιστη παράμετρος στην τριχοειδοσκόπηση και δεδομένης της πρόσφατης δημοσίευσης ενός βελτιστοποιημένου συνόλου απλών ορισμών για την περιγραφή της μορφολογίας των τριχοειδών (φυσιολογικά, μη φυσιολογικά, αδύνατον να εκτιμηθούν), που εμφανίζουν εξαιρετική αξιοπιστία ακόμη και μεταξύ αρχάριων εκτιμητών (20,21), αποφασίσαμε να αποκλείσουμε το score ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών από όλες τις περαιτέρω αναλύσεις για την εκτίμηση των κλινικών συσχετίσεων και του προγνωστικού ρόλου της τριχοειδοσκόπησης στη μελέτη μας.

Παλαιότερες μελέτες διερεύνησαν διεξοδικά τις διατμητικές συσχετίσεις των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης με τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά της νόσου στο ΣΣκ (22). Το όψιμο πρότυπο και η μικρότερη πυκνότητα τριχοειδικών αγκυλών στην τριχοειδοσκόπηση έχουν συσχετισθεί με το διάχυτο υπότυπο νόσου (23–26), τα θετικά anti-Scl70 αντισώματα (23,24,26,27), τη μεγαλύτερη διάρκεια νόσου, (27), τα έλκη δακτύλων (23,25,27–31), την εκτενέστερη και βαρύτερη προσβολή του δέρματος (25,27,28), της καρδιάς (25) και των πνευμόνων

(23,25,27,28,32–34), την πνευμονική αρτηριακή υπέρταση (23,33,35–37), τη μυϊκή αδυναμία, τις συγκάμψεις των αγκώνων, την αρθρίτιδα, τον ήχο τριβής τενόντων και τις διαταραχές της καρδιακής αγωγιμότητας (23), τη διαταραχή κινητικότητας του οισοφάγου (27,32), την ακροοστεόλυση και τις ασβεστώσεις στις ακτινογραφίες των άκρων χειρών (38) και τους αυξημένους δείκτες βαρύτητας (28) ή ενεργότητας (23,25,39,40) του νοσήματος. Τα δικά μας ευρήματα επιβεβαιώνουν τη συσχέτιση του επιδεινωμένου προτύπου στην τριχοειδοσκόπηση με το διάχυτο υπότυπο νόσου (OR: 5.12), με τις αυξημένες τιμές mRSS (OR: 2.86), τις μειωμένες τιμές FVC (OR: 0.98), και DLCO (OR: 0.98) και τα ενεργά ή παλαιά δακτυλικά έλκη (OR: 2.86), καθώς και τη συσχέτιση του score απώλειας τριχοειδών με το διάχυτο υπότυπο νόσου, τις υψηλότερες τιμές mRSS και τα ενεργά ή παλαιά δακτυλικά έλκη. Ως προς τα μεγατριχοειδή, η παρουσία τους στο ΣΣκ έχει συσχετισθεί με μικρότερη ηλικία, μικρότερη έκταση δικτυωτού προτύπου στην αξονική τομογραφία θώρακα υψηλής ευκρίνειας (28), και μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης νέων δακτυλικών ελκών (41). Τα δικά μας αποτελέσματα ομοίως καταδεικνύουν μία οριακά σημαντική αρνητική συσχέτιση των μεγατριχοειδών με την παρουσία διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στην αξονική τομογραφία θώρακα υψηλής ευκρίνειας και μια οριακά θετική συσχέτιση με το FVC.

Εξ όσων γνωρίζουμε αυτή είναι η πρώτη μελέτη που εξετάζει τη σταθερότητα με το χρόνο των συσχετίσεων που ανευρίσκονται μεταξύ των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης και των κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών με σκληρόδερμα. Κατά ενδιαφέροντα τρόπο οι κλινικές συσχετίσεις που απορρέουν από τη μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση κατά την αρχική εκτίμηση και κατά τον επανέλεγχο των ασθενών δε συμπίπτουν για τους περισσότερους από τους τριχοειδοσκοπικούς δείκτες που εξετάστηκαν. Ο μεγαλύτερος βαθμός συμφωνίας διαπιστώθηκε για το score γιγαντιαίων τριχοειδών και για το πρότυπο της τριχοειδοσκόπησης. Θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών στην κοορτή μας λάμβανε ανοσοκατασταλτική και/ή αγγειοδιασταλτική αγωγή. Πρακτικά, από τους 115 ασθενείς με σκληρόδερμα για τους οποίους υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα επανεκτίμησης, αγωγή με αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες χορηγήθηκε σε 55 άτομα (48%) κατά την αρχική επίσκεψη και σε 65 (57%) άτομα στον επανέλεγχο. Οι ανταγωνιστές υποδοχέων ενδοθηλίνης, μόνοι τους ή σε συνδυασμό με iloprost έχουν δείξει ευνοϊκές επιδράσεις στη δομή και λειτουργία της

μικροκυκλοφορίας σε ασθενείς με σκληρόδερμα, προωθώντας την αγγειογένεση και οδηγώντας στην αύξηση του αριθμού των τριχοειδών (42–44). Είναι πιθανό η απουσία συμφωνίας των συσχετίσεων μεταξύ κλινικών και τριχοειδοσκοπικών ευρημάτων στην πορεία του χρόνου, να αντανακλά τις επιδράσεις της θεραπείας στη μικροκυκλοφορία των ασθενών μας, πολλώ μάλλον που αρκετοί από τους τριχοειδοσκοπικούς δείκτες που εκτιμήθηκαν εμφάνιζαν συσχέτιση με την τρέχουσα χρήση αγγειοδιασταλτικής αγωγής.

Τα δεδομένα μας δείχνουν ότι μετά από 3.31 έτη παρακολούθησης οι ασθενείς με σκληρόδερμα και όψιμο πρότυπο στην αρχική τους τριχοειδοσκόπηση είχαν σχεδόν 7 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα θανάτου ή επιδείνωσης της νόσου τους, ενώ όσοι είχαν ενεργό πρότυπο τριχοειδοσκόπησης κατά την αρχική εκτίμηση είχαν περίπου 3 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εκδήλωσης της δυσμενούς αυτής έκβασης, σε σχέση με ασθενείς που εμφάνιζαν πρώιμο πρότυπο κατά την αρχική τριχοειδοσκόπηση. Η διάρκεια νόσου επίσης παρουσίαζε μία ασθενή ανάστροφη συσχέτιση με το σύνθετο, δυσμενές κλινικό αποτέλεσμα που μελετήσαμε στο προγνωστικό μας μοντέλο. Μια πιθανή εξήγηση για αυτό είναι ότι η κοορτή μας δεν συμπεριέλαβε τους ασθενείς από την αρχή της εκδήλωσης της νόσου τους (incident cohort). Επομένως ενδέχεται κάποιοι ασθενείς και μάλιστα εκείνοι που είχαν τις βαρύτερες κλινικές εκδηλώσεις να μη συμπεριελήφθησαν στη μελέτη μας, καθώς πέθαναν πρώιμα, επιτρέποντας έτσι να αναδυθεί μια πλασματική συσχέτιση της μεγαλύτερης διάρκειας νόσου με την καλύτερη έκβαση.

Δύο παλαιότερες μεγάλες προοπτικές μελέτες που εκτίμησαν την προγνωστική αξία της βιντεοτριχοειδοσκόπησης σε σχέση με την εξέλιξη της νόσου στο ΣΣκ αναγνώρισαν το επιδεινωμένο πρότυπο τριχοειδοσκόπησης κατά την αρχική εκτίμηση ως σημαντικό καθοριστικό παράγοντα νέας σοβαρής προσβολής οργάνου σε ασθενείς με σκληρόδερμα, μετά από μία παρακολούθηση 18-24 μηνών (45,46). Εξάλλου, σε μία τρίτη μελέτη που πραγματοποίησαν οι Anouac et al. σε μια κοορτή 140 ασθενών με ΣΣκ, οι οποίοι παρακολουθήθηκαν ετησίως, τόσο κλινικά, όσο και τριχοειδοσκοπικά για 3 χρόνια, η μείζων προγνωστική τριχοειδοσκοπική παράμετρος, ικανή να προγνώσει τη συνολική εξέλιξη της νόσου, ήταν η προοδευτική απώλεια τριχοειδών με το χρόνο (41). Σε αυτή την τελευταία μελέτη η προοδευτική απώλεια τριχοειδών με το χρόνο συσχετιζόταν, επίσης, με νέα εμφάνιση δακτυλικών ελκών, με την

επιδείνωση της πνευμονικής αγγειοπάθειας, καθώς και με επιδείνωση του δερματικού score και του score βαρύτητας του νοσήματος κατά Medsger (41). Στη δική μας μελέτη εξετάσαμε προοπτικά τόσο το πρότυπο της τριχοειδοσκόπησης όσο και την απώλεια τριχοειδών και βρήκαμε σημαντική συσχέτιση της έκβασης της νόσου στην τριετία μόνο με το ενεργό και το όψιμο πρότυπο βλάβης κατά την αρχική τριχοειδοσκόπηση, επιβεβαιώνοντας έτσι τα ευρήματα των προηγούμενων ερευνητών. Επιπλέον στη μελέτη των Smith et al. (45,46) το προγνωστικό μοντέλο που διαμορφώθηκε με τη χρήση ανάλυσης πολλαπλής λογιστικής παλινδρόμησης είχε διορθωθεί μόνο για τη διάρκεια νόσου, τον υπότυπο νόσου και τη χρήση αγγειοδραστικής αγωγής. Στη δική μας ανάλυση πραγματοποιήσαμε επιπλέον διόρθωση για ηλικία, φύλο, κάπνισμα και για κάποιες κλινικές παραμέτρους των ασθενών κατά την αρχική εκτίμηση, όπως το FVC και το mRSS.

Όσον αφορά στη θνητότητα από το σκληρόδερμα δε βρήκαμε σημαντική συσχέτιση των παραμέτρων της τριχοειδοσκόπησης με το θάνατο, ενώ διαπιστώθηκε μόνο μία τάση εμφάνισης μειωμένης θνητότητας με την αύξηση του score γιγαντιαίων τριχοειδών και μικροαιμορραγιών. Μία παλαιότερη μελέτη σε ασθενείς με σκληρόδερμα αναγνώρισε την τιμή του score αναγγείων περιοχών >1.5 ως ανεξάρτητο παράγοντα θανάτου στην πολυπαραγοντική ανάλυση (47). Αντιστοίχως, άλλες μελέτες ανέφεραν ότι το ενεργό πρότυπο τριχοειδοσκόπησης (48) ή η αυξημένη απώλεια (49–51) και η διάταση των τριχοειδών (49) κατά την αρχική εκτίμηση αποτελούν μη ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για θάνατο.

Η μελέτη μας έχει αρκετούς περιορισμούς. Κατ' αρχήν το μεγάλο εύρος του χρόνου παρακολούθησης των ασθενών μας (18-73 μήνες) θα μπορούσε να έχει επηρεάσει την εμφάνιση συσχετίσεων των αρχικών τριχοειδοσκοπικών δεικτών με τη μελλοντική έκβαση των ασθενών μας, καθώς δεν είχαν όλοι οι ασθενείς το ίδιο χρονικό περιθώριο για να εκδηλώσουν τις υπό μελέτη κλινικές εκδηλώσεις. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η μελέτη μας δε συμπεριέλαβε τους ασθενείς από την αρχή της εκδήλωσης της νόσου τους (inception cohort). Επομένως, ασθενείς με πολύ βαριά κλινική πορεία που πέθαναν πρώιμα είχαν, a priori, αποκλεισθεί από την κοορτή μας. Επιπλέον, ο αριθμός των θανάτων που κατεγράφησαν στην κοορτή μας ήταν μόνο 12, σχετικά μικρός για να επιτρέψει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων αναφορικά με το ρόλο της τριχοειδοσκόπησης ως προγνωστικού παράγοντα θνητότητας στο σκληρόδερμα. Τέλος,

από τους 138 ασθενείς που αρχικά εντάχθηκαν στην ομάδα του σκληροδέρματος 17% χάθηκαν κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης ή αρνήθηκαν να προσέλθουν για επανεκτίμηση, γεγονός που αντιπροσωπεύει έναν υπολογίσιμο αριθμό απωλειών.

### **2.1.5 Συμπεράσματα**

Σε αυτή την προοπτική μελέτη ασθενών με ιδιοπαθές ή δευτεροπαθές RP που παραπέμφθηκαν στη ρευματολογική μονάδα της τριτοβάθμιας πανεπιστημιακής κλινικής μας για τριχοειδοσκόπηση, επιβεβαιώσαμε τον καθοριστικό ρόλο της βίντεοτριχοειδοσκόπησης στη διάκριση των ασθενών με νοσήματα του φάσματος του σκληροδέρματος από εκείνους με RP άλλης αιτιολογίας και από υγιείς μάρτυρες. Αφού συγκρίναμε τη διαγνωστική ακρίβεια των 5 κυριότερων ημιποσοτικών παραμέτρων της τριχοειδοσκόπησης, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι το score απώλειας τριχοειδών έχει υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα για την αναγνώριση ασθενών με RP που ανήκουν στο φάσμα νοσημάτων του σκληροδέρματος, ακολουθούμενο από το score διάτασης και το score γιγαντιαίων τριχοειδών, ενώ το score μικροαιμορραγιών και το score ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών δεν είχαν τόσο καλή διαγνωστική ακρίβεια. Επιπλέον δείξαμε ότι οι κλινικές συσχετίσεις των τριχοειδοσκοπικών παραμέτρων μεταβάλλονται με το χρόνο σε ασθενείς με σκληρόδερμα, πιθανώς λόγω της επίδρασης της θεραπείας στην φυσική ιστορία του νοσήματος. Τέλος τα δεδομένα μας επιβεβαίωσαν την προγνωστική αξία της τριχοειδοσκόπησης σε ασθενείς με ΣΣκ, καταδεικνύοντας ότι το ενεργό και όψιμο πρότυπο τριχοειδοσκόπησης κατά την αρχική εκτίμηση συσχετίζονται με δυσμενέστερη έκβαση της νόσου στην τριετία.



### 2.1.6 Βιβλιογραφία Ειδικού Μέρους Α'

1. Ruaro B, Sulli A, Smith V, Pizzorni C, Paolino S, Alessandri E, et al. Advances in nailfold capillaroscopic analysis in systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord*. 2018 Jun 9;3(2):122–31.
2. Pavlov-Dolijanovic S, Damjanov NS, Stojanovic RM, Vujasinovic Stupar NZ, Stanisavljevic DM. Scleroderma pattern of nailfold capillary changes as predictive value for the development of a connective tissue disease: A follow-up study of 3,029 patients with primary Raynaud's phenomenon. *Rheumatol Int*. 2012 Oct 8;32(10):3039–45.
3. Paxton D, Pauling JD. Does nailfold capillaroscopy help predict future outcomes in systemic sclerosis? A systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum*. 2018 Dec;48(3):482–94.
4. Van Den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An american college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. 2013;65(11):2737–47.
5. Minier T, Guiducci S, Bellando-randone S, Bruni C, Lepri G, Czirják L, et al. Preliminary analysis of the Very Early Diagnosis of Systemic Sclerosis (VEDOSS) EUSTAR multicentre study: evidence for puffy fingers as a pivotal sign for suspicion of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2014 Dec;73(12):2087–93.
6. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2000 Jan;27(1):155–60.
7. Sulli A, Secchi ME, Pizzorni C, Cutolo M. Scoring the nailfold microvascular changes during the capillaroscopic analysis in systemic sclerosis patients. *Ann Rheum Dis*. 2008;67:885–7.
8. Suliman YA, Bruni C, Johnson SR, Praino E, Alemam M, Borazan N, et al. Defining Skin Ulcers in Systemic Sclerosis: Systematic Literature Review and Proposed World Scleroderma Foundation (WSF) Definition. *J Scleroderma Relat Disord*. 2017 May 23;2(2):115–20.
9. Khanna D, Furst DE, Clements PJ, Allanore Y, Baron M, Czirjak L, et al. Standardization of the Modified Rodnan Skin Score for Use in Clinical Trials of Systemic Sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord*. 2017 Jan 23;2(1):11–8.
10. Bukhari M, Hollis S, Moore T, Jayson MI, Herrick AL. Quantitation of microcirculatory abnormalities in patients with primary Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis by video capillaroscopy. *Rheumatology (Oxford)*. 2000 May;39(5):506–12.
11. Cutolo M, Melsens K, Wijnant S, Ingegnoli F, Thevissen K, De Keyser F, et al. Nailfold capillaroscopy in systemic lupus erythematosus: A systematic review and critical appraisal. *Autoimmun Rev*. 2018 Apr;17(4):344–52.
12. Tektonidou M, Kaskani E, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Microvascular abnormalities in Sjögren's syndrome: nailfold capillaroscopy. *Rheumatology (Oxford)*. 1999 Sep;38(9):826–30.
13. Sag S, Sag MS, Tekeoglu I, Kamanli A, Nas K, Aydın Y. Nailfold videocapillaroscopy results in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2017 Sep 4;36(9):1969–74.
14. Cuomo G, Frongillo E, Pirro L, Mastro A Del, Romano C. THU0098 The nailfold capillaroscopy in rheumatoid arthritis: quantitative analysis and clinical

- and serological correlation. In: Poster Presentations. BMJ Publishing Group Ltd and European League Against Rheumatism; 2017. p. 237.2-237.
15. Uyar S, Balkarlı A, Erol MK, Yeşil B, Tokuç A, Durmaz D, et al. Assessment of the Relationship between Diabetic Retinopathy and Nailfold Capillaries in Type 2 Diabetics with a Noninvasive Method: Nailfold Videocapillaroscopy. *J Diabetes Res.* 2016;2016:7592402.
  16. Sekiyama JY, Camargo CZ, Andrade LEC, Kayser C. Reliability of Widefield Nailfold Capillaroscopy and Videocapillaroscopy in the Assessment of Patients With Raynaud's Phenomenon. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013 Nov 1;65(11):1853–61.
  17. Ingegnoli F, Boracchi P, Gualtierotti R, Lubatti C, Meani L, Zahalkova L, et al. Prognostic model based on nailfold capillaroscopy for identifying Raynaud's phenomenon patients at high risk for the development of a scleroderma spectrum disorder: PRINCE (Prognostic Index for Nailfold Capillaroscopic Examination). *Arthritis Rheum.* 2008 Jul 1;58(7):2174–82.
  18. Vasile M, Avouac J, Sciarra I, Stefanantoni K, Iannace N, Cravotto E, et al. From VEDOSS to established systemic sclerosis diagnosis according to ACR/EULAR 2013 classification criteria: a French-Italian capillaroscopic survey. *Clin Exp Rheumatol.* 2018;36 Suppl 1(4):82–7.
  19. Smith V, Pizzorni C, De Keyser F, Decuman S, Van Praet JT, Deschepper E, et al. Reliability of the qualitative and semiquantitative nailfold videocapillaroscopy assessment in a systemic sclerosis cohort: a two-centre study. *Ann Rheum Dis.* 2010 Jun 1;69(6):1092–6.
  20. Smith V, Beeckman S, Herrick AL, Decuman S, Deschepper E, De Keyser F, et al. An EULAR study group pilot study on reliability of simple capillaroscopic definitions to describe capillary morphology in rheumatic diseases. *Rheumatology.* 2016 May;55(5):883–90.
  21. Cutolo M, Melsens K, Herrick AL, Foeldvari I, Deschepper E, De Keyser F, et al. Reliability of simple capillaroscopic definitions in describing capillary morphology in rheumatic diseases. *Rheumatology.* 2018 Apr 1;57(4):757–9.
  22. Soulaïdopoulos S, Triantafyllidou E, Garyfallos A, Kitis GD, Dimitroulas T. The role of nailfold capillaroscopy in the assessment of internal organ involvement in systemic sclerosis: A critical review. *Autoimmun Rev.* 2017 Aug;16(8):787–95.
  23. Ingegnoli F, Ardoïno I, Boracchi P, Cutolo M, Airò P, Ananieva LP, et al. Nailfold capillaroscopy in systemic sclerosis: Data from the EULAR scleroderma trials and research (EUSTAR) database. *Microvasc Res.* 2013 Sep 1;89:122–8.
  24. Cutolo M, Pizzorni C, Tuccio M, Burroni A, Craviotto C, Basso M, et al. Nailfold videocapillaroscopic patterns and serum autoantibodies in systemic sclerosis. *Rheumatology.* 2004 Jun 1;43(6):719–26.
  25. Caramaschi P, Canestrini S, Martinelli N, Volpe A, Pieropan S, Ferrari M, et al. Scleroderma patients nailfold videocapillaroscopic patterns are associated with disease subset and disease severity. *Rheumatology.* 2007 Aug 27;46(10):1566–9.
  26. Sato LT, Kayser C, Andrade LEC. Nailfold capillaroscopy abnormalities correlate with cutaneous and visceral involvement in systemic sclerosis patients. *Acta Reumatol Port.* 2009;34(2A):219–27.
  27. Bredemeier M, Xavier RM, Capobianco KG, Restelli VG, Rohde LE paim, Pinotti AFF, et al. Nailfold capillary microscopy can suggest pulmonary disease

- activity in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2004 Feb;31(2):286–94.
28. De Santis M, Ceribelli A, Cavaciocchi F, Crotti C, Massarotti M, Belloli L, et al. Nailfold videocapillaroscopy and serum VEGF levels in scleroderma are associated with internal organ involvement. *Auto-Immun highlights*. 2016 Dec;7(1):5.
  29. Herrick AL, Moore TL, Murray AK, Whidby N, Manning JB, Bhushan M, et al. Nail-fold capillary abnormalities are associated with anti-centromere antibody and severity of digital ischaemia. *Rheumatology*. 2010 Sep 1;49(9):1776–82.
  30. Alivernini S, De Santis M, Tolusso B, Mannocci A, Bosello SL, Peluso G, et al. Skin ulcers in systemic sclerosis: Determinants of presence and predictive factors of healing. *J Am Acad Dermatol*. 2009 Mar 1;60(3):426–35.
  31. Ennis H, Moore T, Murray A, Vail A, Herrick AL. Further confirmation that digital ulcers are associated with the severity of abnormality on nailfold capillaroscopy in patients with systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2014 Feb 1;53(2):376–7.
  32. Marino Claverie L, Knobel E, Takashima L, Techera L, Oliver M, Gonzalez P, et al. Organ involvement in Argentinian systemic sclerosis patients with “late” pattern as compared to patients with “early/active” pattern by nailfold capillaroscopy. *Clin Rheumatol*. 2013;32(6):839–43.
  33. Markusse IM, Meijjs J, de Boer B, Bakker JA, Schippers HPC, Schouffoer AA, et al. Predicting cardiopulmonary involvement in patients with systemic sclerosis: complementary value of nailfold videocapillaroscopy patterns and disease-specific autoantibodies. *Rheumatology*. 2016 Dec 10;56(7):kew402.
  34. Castellví I, Simeón-Aznar CP, Sarmiento M, Fortuna A, Mayos M, Geli C, et al. Association between nailfold capillaroscopy findings and pulmonary function tests in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2015 Feb 1;42(2):222–7.
  35. Riccieri V, Vasile M, Iannace N, Stefanantoni K, Sciarra I, Vizza CD, et al. Systemic sclerosis patients with and without pulmonary arterial hypertension: a nailfold capillaroscopy study. *Rheumatology*. 2013 Aug 1;52(8):1525–8.
  36. Hofstee HMA, Noordegraaf A V., Voskuyl AE, Dijkmans BAC, Postmus PE, Smulders YM, et al. Nailfold capillary density is associated with the presence and severity of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2009 Feb 1;68(2):191–5.
  37. Ong YY, Nikoloutsopoulos T, Bond CP, Smith MD, Ahern MJ, Roberts-Thomson PJ. Decreased nailfold capillary density in limited scleroderma with pulmonary hypertension. *Asian Pacific J allergy Immunol*. 1998;16(2–3):81–6.
  38. Morardet L, Avouac J, Sasmour M, Baron M, Kahan A, Feydy A, et al. Late Nailfold Videocapillaroscopy Pattern Associated With Hand Calcinosis and Acro-Osteolysis in Systemic Sclerosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2016 Mar;68(3):366–73.
  39. Sambataro D, Sambataro G, Zaccara E, Maglione W, Polosa R, Afeltra AM V, et al. Nailfold videocapillaroscopy micro-haemorrhage and giant capillary counting as an accurate approach for a steady state definition of disease activity in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther*. 2014 Oct 9;16(5):462.
  40. Andracco R, Irace R, Zaccara E, Vettori S, Maglione W, Riccardi A, et al. The cumulative number of micro-haemorrhages and micro-thromboses in nailfold videocapillaroscopy is a good indicator of disease activity in systemic sclerosis: a validation study of the NEMO score. *Arthritis Res Ther*. 2017 Dec 13;19(1):133.
  41. Avouac J, Lepri G, Smith V, Toniolo E, Hurabielle C, Vallet A, et al. Sequential

- nailfold videocapillaroscopy examinations have responsiveness to detect organ progression in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum*. 2017 Aug;47(1):86–94.
42. Cutolo M, Zampogna G, Vremis L, Smith V, Pizzorni C, A. S. Longterm Effects of Endothelin Receptor Antagonism on Microvascular Damage Evaluated by Nailfold Capillaroscopic Analysis in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol*. 2013 Jan 1;40(1):40–5.
  43. Trombetta AC, Pizzorni C, Ruaro B, Paolino S, Sulli A, Smith V, et al. Effects of Longterm Treatment with Bosentan and Iloprost on Nailfold Absolute Capillary Number, Fingertip Blood Perfusion, and Clinical Status in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol*. 2016 Nov 1;43(11):2033–41.
  44. Cestelli V, Manfredi A, Sebastiani M, Praino E, Cannarile F, Giuggioli D, et al. Effect of treatment with iloprost with or without bosentan on nailfold videocapillaroscopic alterations in patients with systemic sclerosis. *Mod Rheumatol*. 2017 Jan 2;27(1):110–4.
  45. Smith V, Ricciari V, Pizzorni C, Decuman S, Deschepper E, Bonroy C, et al. Nailfold Capillaroscopy for Prediction of Novel Future Severe Organ Involvement in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol*. 2013 Dec 1;40(12):2023–8.
  46. Smith V, Decuman S, Sulli A, Bonroy C, Piette Y, Deschepper E, et al. Do worsening scleroderma capillaroscopic patterns, predict future severe organ involvement? A pilot study. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(10):1636–9.
  47. Kayser C, Sekiyama JY, Próspero LC, Camargo CZ, Andrade LEC. Nailfold capillaroscopy abnormalities as predictors of mortality in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(2 Suppl 76):103–8.
  48. Simeón CP, Armadans L, Fonollosa V, Solans R, Selva A, Villar M, et al. Mortality and prognostic factors in Spanish patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2003 Jan;42(1):71–5.
  49. Scussel-Lonzetti L, Joyal F, Raynauld J-P, Roussin A, Rich E, Goulet J-R, et al. Predicting mortality in systemic sclerosis: analysis of a cohort of 309 French Canadian patients with emphasis on features at diagnosis as predictive factors for survival. *Medicine (Baltimore)*. 2002;81(2):154–67.
  50. Hissaria P, Lester S, Hakendorf P, Woodman R, Patterson K, Hill C, et al. Survival in scleroderma: results from the population-based South Australian Register. *Intern Med J*. 2011 May 1;41(5):381–90.
  51. Pavan TR, Bredemeier M, Hax V, Capobianco KG, da Silva Mendonça Chakr R, Xavier RM. Capillary loss on nailfold capillary microscopy is associated with mortality in systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*. 2018 Feb 10;37(2):475–81.

## 2.2 ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Β΄

«Τα Επίπεδα του CXCL4-L1 Είναι Αυξημένα σε Ασθενείς με Συστηματικό Σκληρόδερμα και Συσχετίζονται με Τριχοειδοσκοπικούς Δείκτες Αγγειακής Βλάβης»

### 2.2.1. Εισαγωγή

Τα αποτελέσματα πρόσφατων μελετών ανέδειξαν ως πιθανό βιοδείκτη βαρύτερης νόσου σε ασθενείς με πρώιμο συστηματικό σκληρόδερμα (ΣΣκ) τον CXCL4(1). Το δέρμα των ασθενών με ΣΣκ βρέθηκε διηθημένο από χρονίως ενεργοποιημένα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα, που παράγουν ιντερφερόνη-α (IFN-α) και CXCL4(2). Ο CXCL4 είναι η κύρια πρωτεΐνη που παράγεται από τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα, στο αίμα και στην κυκλοφορία των ασθενών με ΣΣκ και φαίνεται να εμπλέκεται στην παθογένεια του νοσήματος. Τα επίπεδα του CXCL4 στους σκληροδερματικούς ασθενείς είναι σημαντικά υψηλότερα τόσο σε σχέση με τους υγιείς, όσο και σε σχέση με ασθενείς μάρτυρες και συσχετίζονται με την παρουσία πνευμονικής ίνωσης, ίνωσης του δέρματος και πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης (1). In vitro, ο CXCL4 έχει φανεί να μειώνει την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα FLI1, να επάγει την παραγωγή δεικτών ενδοθηλιακής ενεργοποίησης και να ευοδώνει την εξαρτώμενη από τον TLR-7, TLR-8 και TLR-9 παραγωγή ιντερφερόνης από τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα(1,2). Έχει ενδιαφέρον ότι η εξάλειψη των πλασματοκυτταροειδών δενδριτικών κυττάρων εμπόδισε την εκδήλωση νόσου ή ανέστρεψε την εγκατεστημένη ίνωση σε ζωικά μοντέλα σκληροδέρματος σε ποντίκια (2). Πολύ πρόσφατα προτάθηκε ότι ο CXCL4 ενισχύει την ανοσολογική απόκριση στο σκληρόδερμα μέσω σχηματισμού υγρών κρυσταλλικών συμπλόκων με το DNA, που διεγείρουν τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα μέσω σύνδεσης στους TLR-9 υποδοχείς τους (3). Το 2004 απομονώθηκε μια παραλλαγή του CXCL4, ο CXCL4-L1, που διαφέρει από τον CXCL4 σε 3 μόνο αμινοξέα του καρβόξυ-τελικού άκρου του πεπτιδίου. Ο CXCL4-L1 έχει ισχυρότερη αγγειοστατική δράση από τον CXCL4 και δεν αποθηκεύεται σε κοκκία, όπως ο CXCL4, αλλά παράγεται και εκκρίνεται συνεχόμενα από τα κύτταρα. Πρόσφατα περιεγράφη ότι ο CXCL4-L1 βρέθηκε αυξημένος στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, ένα άλλο ρευματικό νόσημα στην παθογένεια του οποίου εμπλέκεται ο CXCL4, η δε αύξησή του συσχετιζόταν με

βαρύτερη κλινική εικόνα των ασθενών (4). Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να συγκρίνει τα επίπεδα του CXCL4-L1 στο πλάσμα ασθενών με ΣΣκ με τα επίπεδά του στο πλάσμα υγιών μαρτύρων και να διερευνήσει τις πιθανές συσχετίσεις του CXCL4-L1 με τις κλινικές εκδηλώσεις νόσου σε αυτόν τον πληθυσμό ασθενών.

### 2.2.2 Ασθενείς και Μέθοδοι

Η μελέτη μας συμπεριέλαβε 94 ασθενείς με διάγνωση ΣΣκ βάσει των κριτηρίων ACR/EULAR του 2013, 9 ασθενείς με πολύ πρόωμη διάγνωση συστηματικού σκληροδέρματος [VEDOSS (φαινόμενο Raynaud, θετικά αντιτυρηνικά αντισώματα, οίδηματώδη δάκτυλα και είτε παρουσία αυτοαντισωμάτων ειδικών για το σκληρόδερμα είτε παθολογική τριχοειδοσκόπηση] και 74 υγιείς μάρτυρες σταθμισμένους με την ομάδα του σκληροδέρματος ως προς ηλικία και φύλο. Όλοι οι συμμετέχοντες υπέγραψαν φόρμα εν επιγνώσει συγκατάθεσης προ της ένταξής τους στη μελέτη. Σε όλους πραγματοποιήθηκε αιμοληψία 4.5cc ολικού αίματος, με ελεύθερη ροή, σε πλαστικό φιαλίδιο με 3.2% ρυθμισμένο διάλυμα κιτρικού νατρίου, προς αποφυγή ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Τα φιαλίδια φυγοκεντρήθηκαν άμεσα σε ψυχόμενη φυγόκεντρο στους 4°C, σε 2.500 RCF για 20min και το υπερκείμενο αποθηκεύθηκε στους -80 °C. Προ της αιμοληψίας, όλοι οι ασθενείς με σκληρόδερμα υπεβλήθησαν σε τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων με τη χρήση ενός βίντεομικροσκοπίου DS MEDICA Video Cap 200<sup>®</sup> εξοπλισμένου με φακό μεγέθυνσης x200, από τον ίδιο χειριστή (B.K. Μπουρνιά). Ελήφθησαν εικόνες από τρία διαδοχικά πεδία μήκους 1mm, από κάθε ένα από το 2<sup>ο</sup>, 3<sup>ο</sup>, 4<sup>ο</sup> και 5<sup>ο</sup> δάκτυλο αμφοτέρων των χεριών. Η εκτίμηση των εικόνων έγινε ποιοτικά και ημιποσοτικά, με προσδιορισμό του προτύπου της τριχοειδοσκόπησης (φυσιολογικό, πρόωμο, ενεργό και όψιμο) και των score απώλειας τριχοειδών, score διατεταμένων τριχοειδών, score γιγαντιαίων τριχοειδών και score μικροαιμορραγιών, όπως έχει περιγραφεί στην πρώτη ενότητα του ειδικού μέρους του παρόντος. Επίσης έγινε λήψη ιστορικού και φυσική εξέταση. Κατεγράφη η διάρκεια και ο υπότυπος νόσου, το προφίλ αυτοαντισωμάτων [αντιτυρηνικά αντισώματα (ANA), αντισώματα κατά κεντρομεριδίου (ACA), anti-Scl-70 αντισώματα], το κάπνισμα, η λήψη αγγειοδραστικών ή ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, η παρουσία ενεργού ή παλαιού έλκους δακτύλων, η έκταση της δερματικής προσβολής με τη χρήση του τροποποιημένου δερματικού score κατά Rodnan (mRSS), η συστολική πίεση της δεξιάς κοιλίας (RVSP), όπως μετράται με το υπερηχογράφημα καρδιάς, οι

λειτουργικές δοκιμασίες των πνευμόνων [δυναμική ζωτική χωρητικότητα (FVC), ολική πνευμονική χωρητικότητα (TLC-He), και διαχυτική ικανότητα πνευμόνων (DLCO)] και η παρουσία διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στην αξονική τομογραφία θώρακος υψηλής ευκρίνειας (HRCT). Από τους ασθενείς ζητήθηκε να συμπληρώσουν το ερωτηματολόγιο Health Assessment Questionnaire-Disability Index (HAQ-DI) και υπολογίσθηκε το αντίστοιχο score. Τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με σκληρόδερμα απεικονίζονται στον πίνακα 1.

Τα επίπεδα του CXCL4 μετρήθηκαν εις διπλούν για κάθε δείγμα, με τη χρήση του εμπορικού κιτ ELISA R&D Systems, DY795, Human CXCL4/PF4 DuoSet ELISA KIT στο πλάσμα 94 ασθενών με ΣΣκ, 5 ασθενών με VEDOSS και 74 υγιών μαρτύρων. Αντιστοίχως, τα επίπεδα του CXCL4-L1 μετρήθηκαν, ομοίως εις διπλούν για κάθε δείγμα, με τη χρήση του εμπορικού κιτ ELISA BlueGene, AMS.E01P0086, Human Platelet Factor 4 Variant 1 ELISA KIT (PF4V1), στο πλάσμα 68 από τους 94 ασθενείς με ΣΣκ, 9 ασθενών με VEDOSS και 58 σταθμισμένων ως προς ηλικία και φύλο υγιών μαρτύρων. Σε 42 ασθενείς με σκληρόδερμα, στους οποίους είχε γίνει μέτρηση CXCL4 και CXCL4-L1, μετρήθηκαν επιπλέον στο πλάσμα και τα επίπεδα θρομβοσπονδίνης-1 (TSP-1), εις διπλούν, με τη χρήση του εμπορικού κιτ ELISA R&D Systems, DY3074, Human Thrombospondin-1 DuoSet ELISA KIT.

Για να συγκρίνουμε την έκφραση του CXCL4-L1 σε επίπεδο mRNA στα λεμφομονοπύρηνα του περιφερικού αίματος (PBMCs), μεταξύ ασθενών με ΣΣκ και υγιών μαρτύρων χρησιμοποιήσαμε το online εργαλείο GEO2R για να ανακτήσουμε δεδομένα έκφρασης του γονιδίου ενδιαφέροντος (PF4V1) από το διαθέσιμο dataset μικροσυστοιχιών GSE33463(5). Συγκεκριμένα έγινε ανάλυση των επιπέδων mRNA του CXCL4-L1 στα περιφερικά λεμφομονοπύρηνα κύτταρα (PBMCs) από 41 υγιείς μάρτυρες, 30 ασθενείς με ιδιοπαθή πνευμονική υπέρταση, 19 ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα χωρίς πνευμονική αρτηριακή υπέρταση (ΠΑΥ) και 42 ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα και ΠΑΥ.

Η σύγκριση των επιπέδων του CXCL4 και του CXCL4-L1 μεταξύ των διαφόρων ομάδων έγινε με τη χρήση μη παραμετρικών στατιστικών μεθόδων (Mann-Whitney U-test και Kruskal-Wallis test κατά περίπτωση). Η αναζήτηση συσχετίσεων μεταξύ

**Πίνακας 1.** Δημογραφικά και κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με συστηματικό σκληρόδερμα στους οποίους έγινε μέτρηση των επιπέδων CXCL4 (N=94) και CXCL4-L1 (N=68) στο πλάσμα με ELISA.

	<b>Ασθενείς με SSc στους οποίους μετρήθηκε CXCL4</b>	<b>Ασθενείς με SSc στους οποίους μετρήθηκε CXCL4-L1</b>	
<b>Άρρεν φύλο N (%)</b>	9 (9.6)	6 (8.8)	
<b>Ηλικία (έτη) (mean ± SD)</b>	53.11±14.79	51.54±14.69	
<b>Διάρκεια νόσου (μήνες) (mean ± SD)</b>	84.01±77.16	87.07±78.78	
<b>Διάχυτος υπότυπος νόσου</b>	35 (37)	27 (40)	
<b>Αντικεντρομεριδιακά αντισώματα N(%)</b>	13/87 (15)	11/63 (17)	
<b>Anti-Scl70 αντισώματα N (%)</b>	44/84 (52)	32/61 (52)	
<b>Κάπνισμα N (%)</b>	15 (16)	12 (18)	
<b>Έλκη δακτύλων οποτεδήποτε στην πορεία νόσου N (%)</b>	42 (45)	36 (53)	
<b>mRSS (mean ± SD)</b>	7.31±7.38	7.69±6.84	
<b>RVSP≥ 45mmHg στο ηχοκαρδ/φίμα N (%)</b>	4/80 (5%)	3/57 (5%)	
<b>TLCOcSB (mean ± SD)</b>	66.46±18.11 (N=78)	65.45±17.56 (N=58)	
<b>TLC-He (mean ± SD)</b>	83.87±18.49 (N=71)	83.48±16.88 (N=54)	
<b>FVC (mean ± SD)</b>	89.02±19.10 (N=86)	90.73±18.48 (N=63)	
<b>Διάμεση πνευμονική ίνωση στη HRCT θώρακα N (%)</b>	46/87 (53)	33/66 (50)	
<b>Λήψη αγγειοδιασταλτικής αγωγής N(%)</b>	46 (49)	36 (53)	
<b>Λήψη ανοσοκατασταλτικής αγωγής N (%)</b>	36 (38)	25 (37)	
<b>Πρότυπο τριχοειδοσκόπησης N (%)</b>	<b>φυσιολογικό</b>	3 (4)	2 (3)
	<b>πρώιμο</b>	22 (26)	15 (24)
	<b>ενεργό</b>	43 (51)	29 (46)
	<b>όψιμο</b>	16 (19)	17 (27)
<b>Score απώλειας τριχοειδών (mean ± SD)</b>	1.62±0.41 (N=84)	1.63±0.43 (N=63)	
<b>Score γιγαντιαίων τριχοειδών (mean ± SD)</b>	0.40±0.49 (N=84)	0.36±0.49 (N=63)	
<b>Score μικροαιμορραγιών (mean ± SD)</b>	0.33±0.34 (N=84)	0.32±0.35 (N=63)	
<b>Score διατεταμένων τριχοειδών (mean ± SD)</b>	1.49±0.58 (N=84)	1.40±0.59 (N=63)	
<b>HAQ-DI score (mean ± SD)</b>	0.39±0.49 (N=84)	0.43±0.51 (N=63)	



του CXCL4, του CXCL4-L1 και της TSP-1 έγινε με ανάλυση κατά Spearman. Η αναζήτηση συσχετίσεων μεταξύ των επιπέδων του CXCL4 ή του CXCL4-L1 και των κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών με σκληρόδερμα έγινε με τη χρήση γραμμικής λογιστικής παλινδρόμησης. Το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ετέθη στο  $p \leq 0.05$ . Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση των λογιστικών πακέτων GraphPad Prism v. 8.0.0, GraphPad Software, San Diego, California USA και IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp. Released 2017.

### 2.2.3 Αποτελέσματα

Στην εικόνα 1 αποδίδεται γραφικά η σύγκριση των επιπέδων του CXCL4 στο πλάσμα των ασθενών με ΣΣκ (mean±SD= 62.84±82.32ng/ml, median= 36.46ng/ml, range= 569.65ng/ml), των ασθενών με VEDOSS (mean±SD= 52.03±52.09ng/ml, median= 20.24ng/ml, range= 117.08ng/ml) και των υγιών μαρτύρων (mean±SD= 32.67±33.48ng/ml, median= 26.32ng/ml, range= 184.32ng/ml). Με τη χρήση της μη παραμετρικής μεθόδου Kruskal-Wallis διαπιστώθηκε ότι οι τρεις ομάδες διαφέρουν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μεταξύ τους ( $p=0.0023$ ). Η σύγκριση των ομάδων ανά δύο με τη μέθοδο Mann-whitney U-test ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών με ΣΣκ και των υγιών μαρτύρων ( $p=0.0004$ ). Στην εικόνα 2, αντιστοίχως, φαίνεται ότι τα επίπεδα του CXCL4-L1 στο πλάσμα διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των ασθενών με ΣΣκ (mean±SD= 205.54±199.39pg/ml, median= 153.64pg/ml, range= 835.71pg/ml), των ασθενών με VEDOSS (mean±SD= 75.67±51.00 pg/ml, median= 63.84pg/ml, range= 141.07pg/ml) και των υγιών μαρτύρων (mean±SD= 82.29±114.88pg/ml, median= 63.17pg/ml, range= 891.71pg/ml) (Kruskal-Wallis test,  $p<0.0001$ ). Σε αυτή την περίπτωση, η σύγκριση των ομάδων ανά δύο με Mann-Whitney-U test έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά τόσο μεταξύ των ασθενών με σκληρόδερμα και των υγιών μαρτύρων ( $p<0.0001$ ), όσο και μεταξύ των ασθενών με σκληρόδερμα και των ασθενών με VEDOSS ( $p=0.0158$ ).

Στην ανάλυση κατά Spearman, οι τιμές του CXCL4 δε συσχετίζονταν με τις τιμές του CXCL4-L1 στο πλάσμα των 68 ασθενών για τους οποίους είχε γίνει προσδιορισμός και των δύο τιμών (εικόνα 3). Αντίθετα στο δείγμα των 42 ασθενών για τους οποίους υπήρχε μέτρηση της TSP-1 διαπιστώθηκε συσχέτιση των τιμών του CXCL4

(Spearman correlation  $p < 0.0001$ ,  $r = 0.953$ ), αλλά όχι και του CXCL4-L1, με τις τιμές της TSP-1 στο πλάσμα (εικόνα 4).

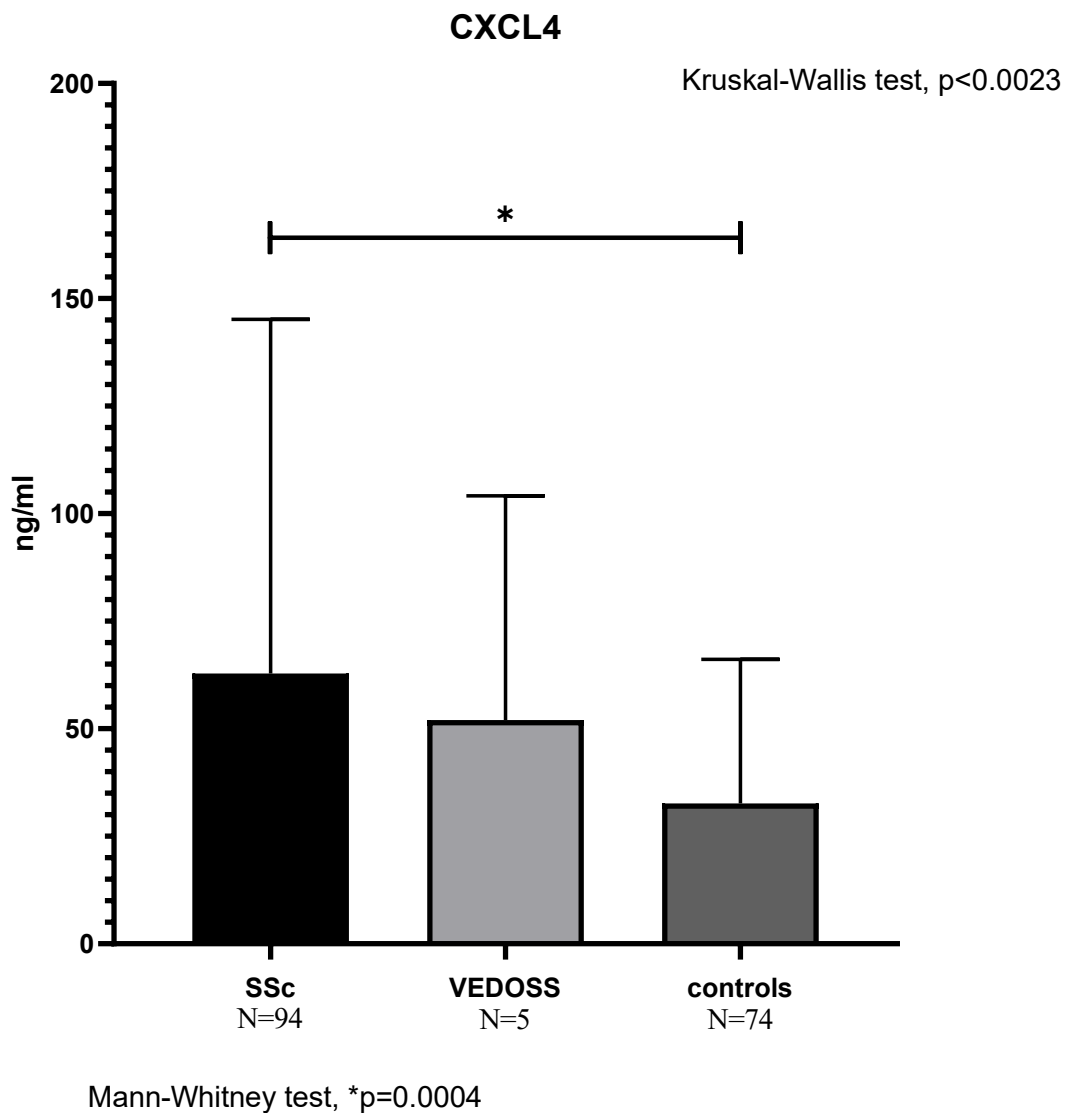
Η μονοπαραγοντική ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης έδειξε ότι τα επίπεδα του CXCL4 στον πληθυσμό των ασθενών με ΣΣκ εμφάνιζαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μόνο με το κάπνισμα ( $B = 61.51$ ,  $p = 0.007$ ) και την παρουσία διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στην αξονική τομογραφία θώρακα υψηλής ευκρίνειας ( $B = 51.38$ ,  $p = 0.005$ ), καθώς και μία τάση συσχέτισης με τις τιμές DLCO < 70% του προβλεπομένου ( $B = 32.12$ ,  $p = 0.073$ ), που όμως δεν έφθανε τα επίπεδα της στατιστικής σημαντικότητας. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης, επιβεβαιώθηκε η συσχέτιση του CXCL4 με το κάπνισμα ( $B = 51.74$ ,  $p = 0.024$ ) και με τη διάμεση πνευμονική ίνωση στην αξονική τομογραφία θώρακα ( $B = 33.47$ ,  $p = 0.042$ ), μετά από διόρθωση για ηλικία και φύλο.

Ως προς τις κλινικές συσχετίσεις του CXCL4-L1 στον πληθυσμό των ασθενών με ΣΣκ, η μονοπαραγοντική ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μόνο με τις παραμέτρους της τριχοειδοσκόπησης (score διατεταμένων τριχοειδών,  $B = 116.3$ ,  $p = 0.007$  score μικροαιμορραγιών,  $B = 185.87$ ,  $p = 0.012$ ), καθώς και μία τάση ανάστροφης συσχέτισης με την παρουσία του αυτοαντισώματος anti-Sc1-70 ( $B = -93.84$ ,  $p = 0.065$ ). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, μετά από διόρθωση για ηλικία και φύλο, παρέμεινε μόνο μία τάση συσχέτισης των επιπέδων του CXCL4-L1 με το score μικροαιμορραγιών στην τριχοειδοσκόπηση ( $B = 146.26$ ,  $p = 0.063$ ).

Αναφορικά με την έκφραση του CXCL4-L1 στα PBMCs σε επίπεδο mRNA, φάνηκε ότι οι ασθενείς με ΣΣκ ( $N = 61$ ) είχαν υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες ( $N = 41$ ) (Mann-Whitney U-test,  $p = 0.0004$ ). Αντιστοίχως, η στατιστική ανάλυση με Kruskal-Wallis ανέδειξε σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες των ασθενών με ΣΣΚ και ΠΑΥ, των ασθενών με ΣΣκ χωρίς ΠΑΥ, των ασθενών με ιδιοπαθή ΠΑΥ και των υγιών μαρτύρων ( $p = 0.0003$ ) (Εικόνα 5). Περαιτέρω σύγκριση των ομάδων ανά δύο με Mann-Whitney U-test ανέδειξε αύξηση των επιπέδων του mRNA του CXCL4-L1 στους ασθενείς με ΣΣκ και ΠΑΥ σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες ( $p < 0.0001$ ) και σε σχέση με τους ασθενείς με ΣΣκ χωρίς ΠΑΥ ( $p = 0.009$ ). Αντιθέτως, η ομάδα των ασθενών με ΣΣκ χωρίς ΠΑΥ δεν διέφερε σε

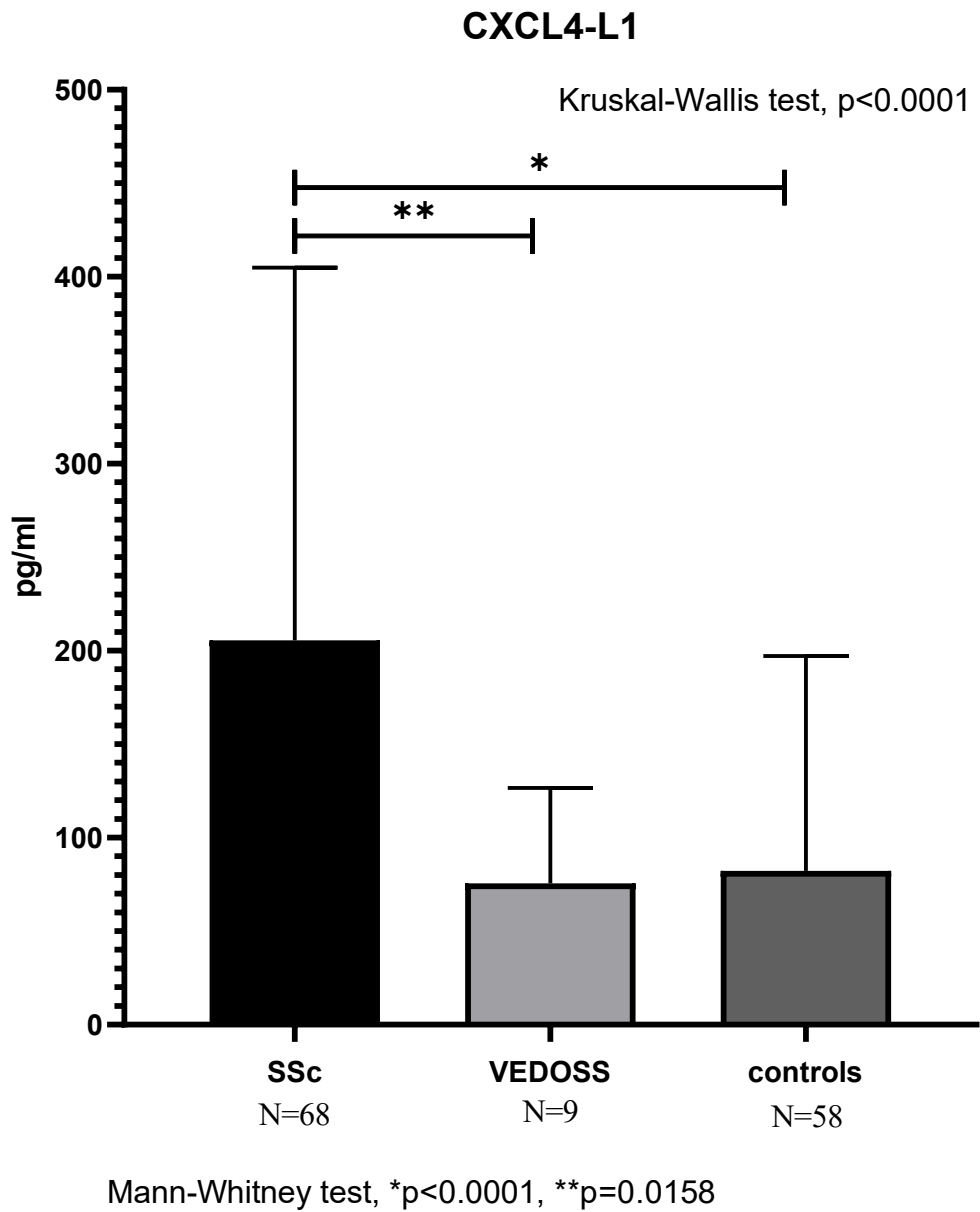
στατιστικά σημαντικό βαθμό από τους υγιείς μάρτυρες, ενώ οι ασθενείς με ιδιοπαθή ΠΑΥ είχαν υψηλότερα επίπεδα έκφρασης mRNA του CXCL4-L1 σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες ( $p=0.0132$ ).

**Εικόνα 1.** Η σύγκριση των επιπέδων του CXCL4 στο πλάσμα μεταξύ των ομάδων του συστηματικού σκληροδέρματος, της πολύ πρώιμης διάγνωσης συστηματικού σκληροδέρματος (VEDOSS) και των υγιών μαρτύρων έδειξε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα στους ασθενείς με σκληρόδερμα σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες.

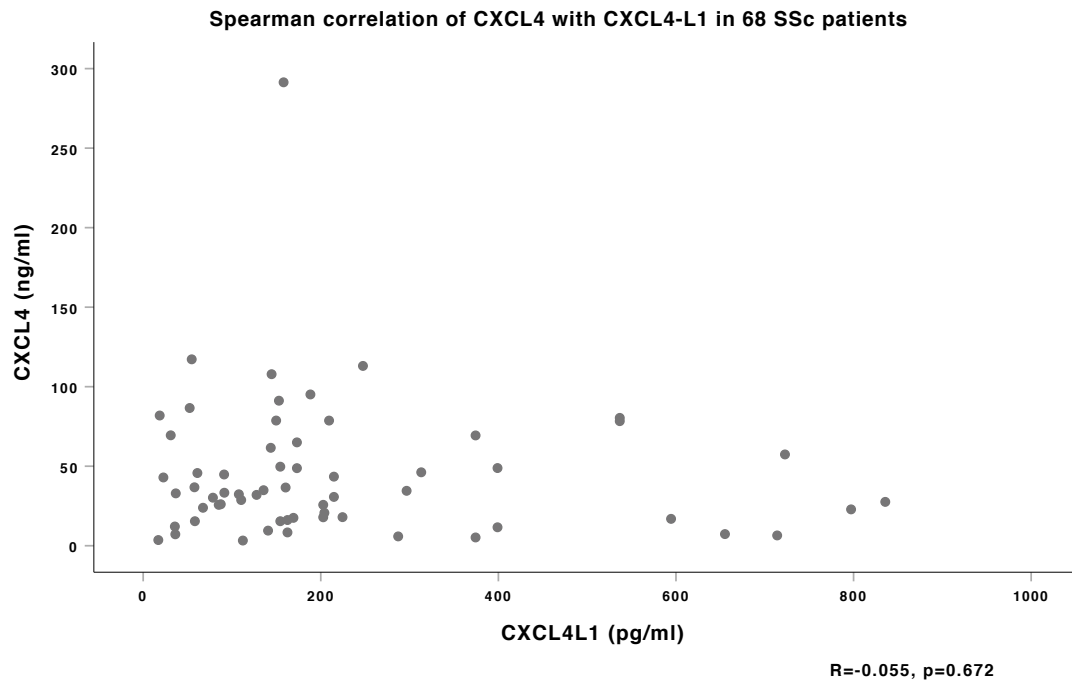


**Εικόνα 2.** Η σύγκριση των επιπέδων του CXCL4-L1 στο πλάσμα μεταξύ των ομάδων του συστηματικού σκληροδέρματος, της πολύ πρώιμης διάγνωσης συστηματικού

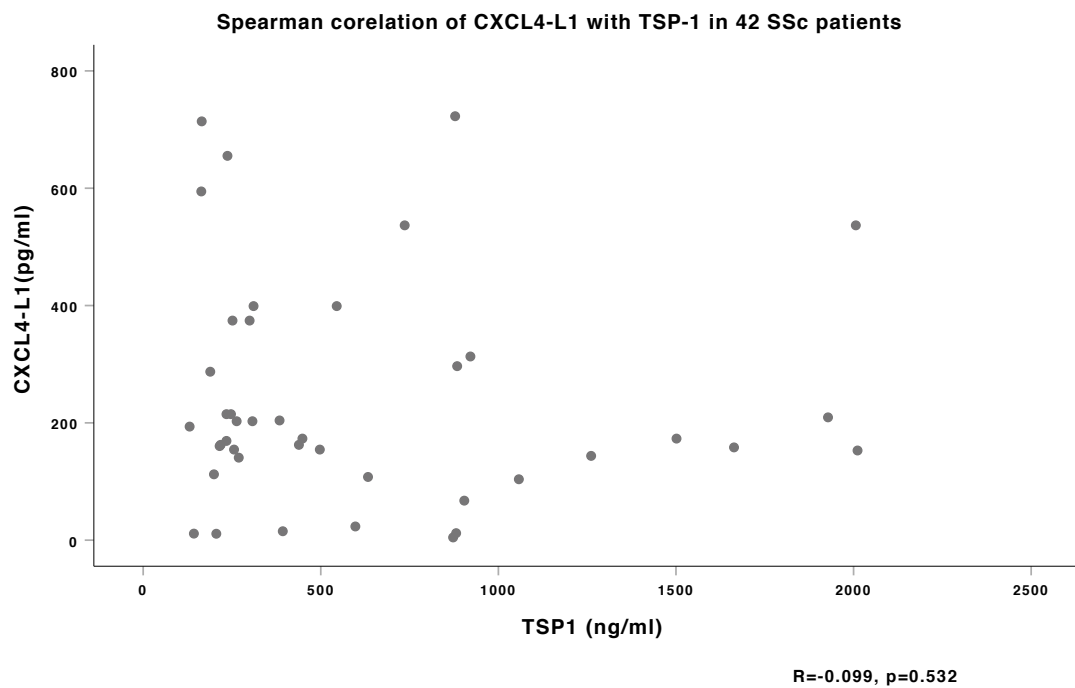
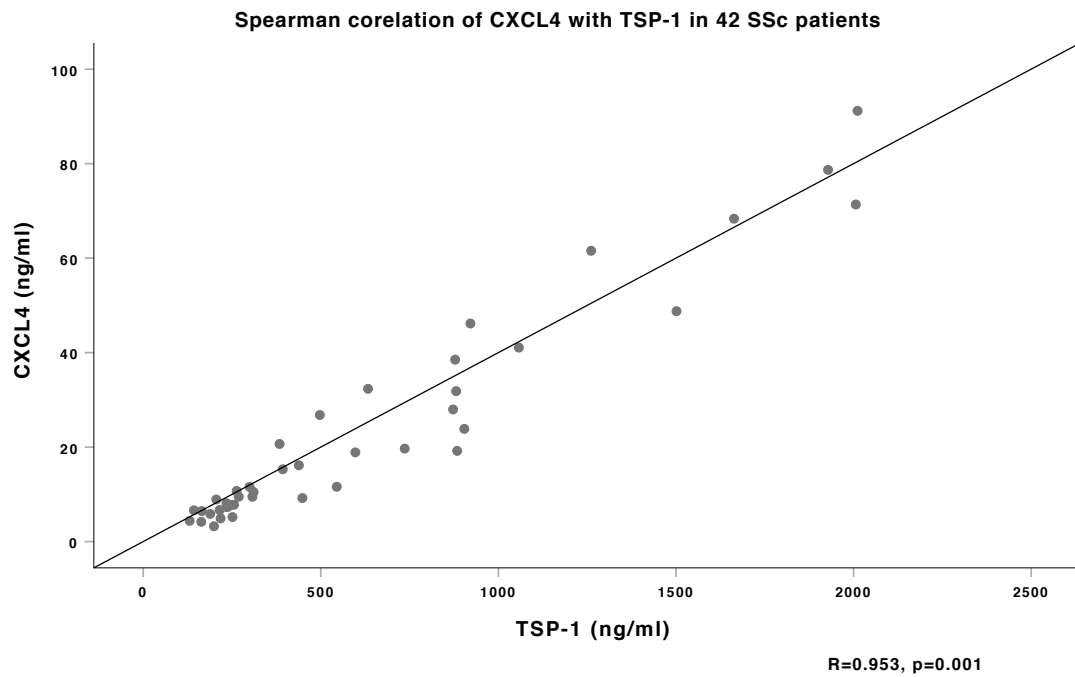
σκληροδέρματος (VEDOSS) και των υγιών μαρτύρων έδειξε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα στους ασθενείς με σκληρόδεμα σε σχέση τόσο με τους υγιείς μάρτυρες, όσο και με τους ασθενείς με VEDOSS.



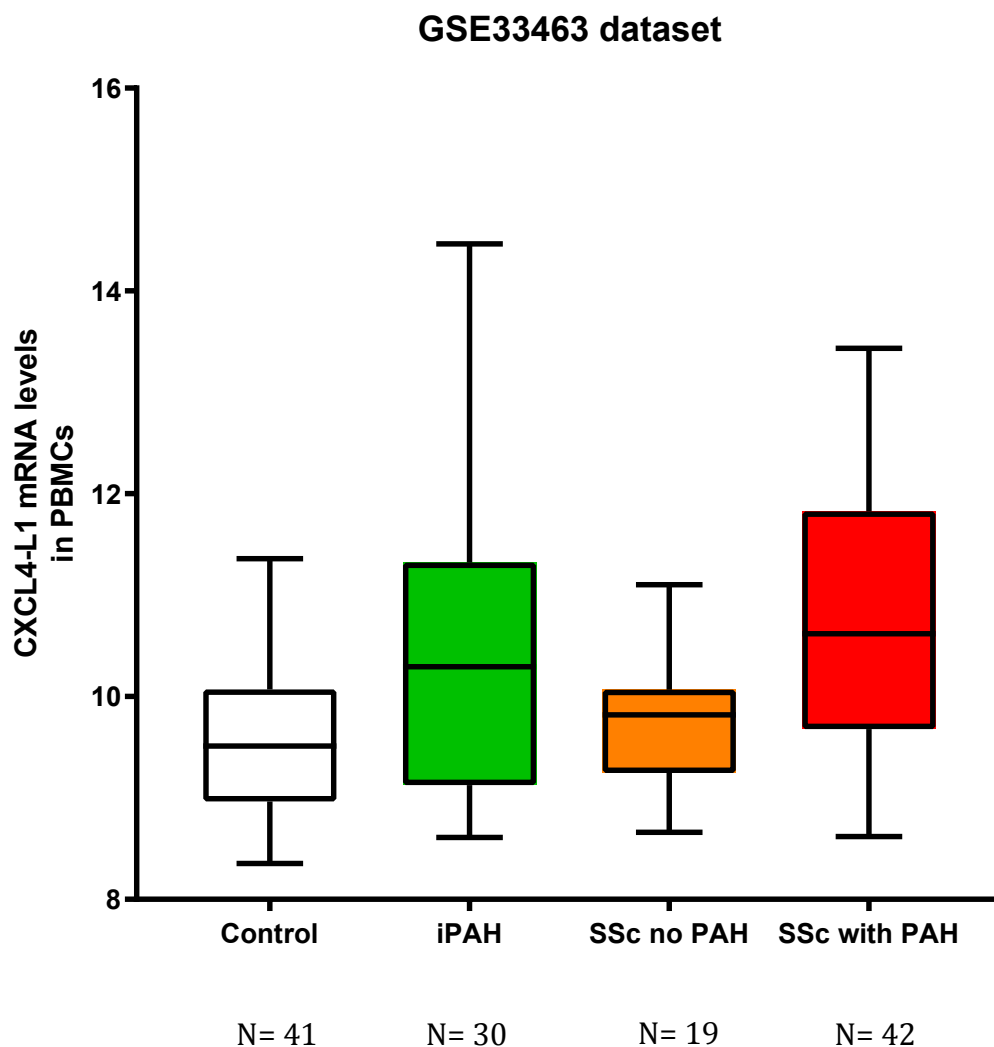
**Εικόνα 3.** Η ανάλυση Spearman έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική συσχέτιση των επιπέδων του CXCL4 με τα επίπεδα του CXCL4-L1 στο πλάσμα των 68 ασθενών με σκληρόδερμα στους οποίους είχαν πραγματοποιηθεί και οι δύο μετρήσεις.



**Εικόνα 4.** Η ανάλυση Spearman έδειξε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση του CXCL4 με τη θρομβοσπονδίνη-1 (TSP-1) ( $R=0.96$ ,  $p<0.0001$ ), αλλά όχι και του CXCL4-L1 με την TSP-1 στο πλάσμα των 42 ασθενών με σκληρόδερμα στους οποίους είχαν πραγματοποιηθεί και οι τρεις μετρήσεις.



**Εικόνα 5.** Ανάλυση των επιπέδων mRNA του CXCL4L1 σε online διαθέσιμη μικροσυστοιχία (microarray). Διαπιστώθηκε αύξηση στα επίπεδα έκφρασης του mRNA του CXCL4-L1 στους ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα και πνευμονική αρτηριακή υπέρταση τόσο σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες (Mann-Whitney U test,  $p < 0.0001$ ), όσο και σε σχέση με ασθενείς με συστηματικό σκληρόδερμα χωρίς πνευμονική αρτηριακή υπέρταση (Mann-Whitney U test,  $p = 0.009$ ).



#### 2.2.4 Συζήτηση

Αν και μέχρι στιγμής αρκετοί ερευνητές έχουν εξετάσει το ρόλο του CXCL4 στην παθογένεια του ΣΣκ(1–3,6), αυτή εξ όσων γνωρίζουμε, είναι η πρώτη μελέτη που διερευνά τα επίπεδα του CXCL4-L1 στο πλάσμα των ασθενών με ΣΣκ. Κατ' αναλογία με τον CXCL4, τα επίπεδα του CXCL4-L1 βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα στο πλάσμα των ασθενών με ΣΣκ σε σχέση με τα αντίστοιχα επίπεδα στο πλάσμα των υγιών μαρτύρων. Υψηλότερα επίπεδα CXCL4-L1 διαπιστώθηκαν επίσης στους ασθενείς με σκληρόδερμα συγκριτικά και με τους ασθενείς που είχαν VEDOSS, αν και ο αριθμός των ασθενών που συμπεριλάβαμε σε αυτή την ομάδα ήταν μόνον 9, πολύ μικρός για να επιτρέψει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Επιπλέον, εκμεταλλευόμενοι τα δεδομένα από ένα online διαθέσιμο dataset μικροσυστοιχιών(5) διαπιστώσαμε ότι και σε επίπεδο mRNA οι ασθενείς με ΣΣκ είχαν υψηλότερη έκφραση του CXCL4-L1 σε σχέση με υγιείς μάρτυρες.

Σε προηγούμενη μελέτη(1) αναφέρεται μία προοδευτική αλλά στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων του CXCL4 ξεκινώντας από την ομάδα του ιδιοπαθούς RP, προχωρώντας στην ομάδα του RP με θετικά ANA και καταλήγοντας στην ομάδα του VEDOSS. Τα υψηλότερα επίπεδα CXCL4 σε αυτή τη μελέτη διαπιστώθηκαν στους ασθενείς με πρώιμο διάχυτο σκληρόδερμα, ακολουθούσαν οι ασθενείς με όψιμο διάχυτο σκληρόδερμα, οι ασθενείς με περιορισμένο σκληρόδερμα και τέλος οι υγιείς μάρτυρες. Στη δική μας μελέτη οι τιμές του CXCL4 αυξήθηκαν επίσης κλιμακωτά από την ομάδα των υγιών μαρτύρων, στην ομάδα του VEDOSS και τελικά στην ομάδα του σκληροδέρματος, αλλά οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές, δεδομένου ότι δε μπορέσαμε να συμπεριλάβουμε μεγάλο αριθμό ατόμων με VEDOSS. Αντίθετα, οι Valentini et al οι οποίοι μελέτησαν 45 ασθενείς με VEDOSS διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα του CXCL4 στον ορό αυτών των ασθενών ήταν σημαντικά υψηλότερα συγκριτικά με εκείνα των υγιών μαρτύρων(7). Επιπλέον, στη μελέτη μας, από τη μονοπαραγοντική ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης δεν προέκυψε συσχέτιση των επιπέδων του CXCL4 με τον υπότυπο νόσου στον πληθυσμό των ασθενών με ΣΣκ. Αντίστοιχα, ούτε και για το CXCL4-L1 βρήκαμε συσχέτιση με τον υπότυπο νόσου.

Κατά ενδιαφέροντα τρόπο, διαπιστώσαμε ότι τα επίπεδα του CXCL4 δε συσχετιζόταν με τα επίπεδα του CXCL4-L1 στο πλάσμα των ασθενών με σκληρόδερμα. Αυτό



πιθανώς συμβαίνει γιατί η προέλευση και ο τρόπος έκκρισης αυτών των μορίων είναι διαφορετικός(8). Βιβλιογραφικά αναφέρεται ότι ο CXCL4 παράγεται κατά κύριο λόγο από τα μεγακαρυοκύτταρα, στα κοκκία-α των οποίων αποθηκεύεται και απελευθερώνεται κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων(8). Παράγεται επίσης από τα ιστιοκύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα T-λεμφοκύτταρα(9), ενώ σε ασθενείς με ΣΣκ ως κύρια πηγή προέλευσής του αναφέρονται τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα(1,2). Ο CXCL4-L1, αντιστοίχως, απελευθερώνεται σε μικρές ποσότητες από τα ίδια κύτταρα που συνθέτουν και τον CXCL4, ενώ παράγεται σχεδόν κατ' αποκλειστικότητα από τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων. Επιπλέον δεν αποθηκεύεται σε κοκκία, αλλά εκκρίνεται συνεχώς(8). Στη μελέτη μας διαπιστώσαμε ότι τα επίπεδα του CXCL4, αλλά όχι και του CXCL4-L1 συσχετίζονταν με τη TSP-1, μια ομοτριμερή γλυκοπρωτεΐνη της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας με ισχυρή αγγειοστατική δράση, που κατεξοχήν παράγεται από τα αιμοπετάλια και αποθηκεύεται στα κοκκία-α(10). Παρότι νεότερα δεδομένα αναδεικνύουν τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα ως την κύρια πηγή προέλευσης του CXCL4 στο σκληρόδερμα(1), τα δικά μας αποτελέσματα συμφωνούν με μία παλαιότερη δημοσίευση, στην οποία τα επίπεδα της TSP-1 είχαν βρεθεί αυξημένα σε ασθενείς με σκληρόδερμα και συσχετίζονταν με τα επίπεδα του CXCL4, πιθανώς λόγω κοινής προέλευσης και των δύο αυτών μορίων από τα κοκκία-α των αιμοπεταλίων(11). Αντιθέτως ο CXCL4-L1 στη μελέτη μας δε φαίνεται να έχει κατά κύριο λόγο αιμοπεταλιακή προέλευση.

Η σύνθεση του CXCL4 στα μεγακαρυοκύτταρα και η αποθήκευσή του στα κοκκία-α των αιμοπεταλίων δημιουργεί μια πρόσθετη δυσκολία στον προσδιορισμό αυτού του μορίου, αφού απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή κατά την αιμοληψία και το χειρισμό των δειγμάτων για να αποφευχθεί η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και η επακόλουθη απελευθέρωση του CXCL4 σε τεράστιες ποσότητες στο δείγμα. Αντίθετα, ο CXCL4-L1 λόγω της μη αποθήκευσής του στα αιμοπετάλια δεν εμφανίζει αυτόν τον περιορισμό, γεγονός που τον καθιστά έναν δελεαστικό προς διερεύνηση υποψήφιο βιοδείκτη για το ΣΣκ.

Ως προς τις συσχετίσεις των επιπέδων των μορίων που εξετάσαμε με τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με σκληρόδερμα, έχει ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι η πολυπαραγοντική ανάλυση ανέδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του CXCL4 με

το κάπνισμα και με την παρουσία διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στην αξονική τομογραφία θώρακα υψηλής ευκρίνειας. Αυτά τα αποτελέσματα βρίσκονται σε συμφωνία με τα ευρήματα των van Bon et al. που αναφέρουν υψηλότερες τιμές CXCL4 σε ασθενείς με διάμεση πνευμονική ίνωση(1). Στη δική μας μελέτη δεν διαπιστώσαμε συσχέτιση του CXCL4 με την πνευμονική αρτηριακή υπέρταση, ή με τις υψηλότερες τιμές του mRSS, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία(1). Αντιστοίχως, ούτε για τις τιμές του FVC και του TLC-He βρήκαμε συσχέτιση με τα επίπεδα του CXCL4 στο πλάσμα των ασθενών με ΣΣκ, ενώ διαπιστώσαμε μόνο μια τάση συσχέτισης με τις τιμές DLCO<70% του προβλεπομένου. Πρέπει, εδώ να αναφερθεί ότι στη μελέτη των Volkmann et al. που αξιοποίησε τα δεδομένα της Scleroderma Lung Study II για να προσδιορίσει σε διαδοχικές χρονικές στιγμές τα επίπεδα του CXCL4 σε 142 ασθενείς με ΣΣκ και διάμεση πνευμονική ίνωση, τα αρχικά επίπεδα του CXCL4 στο πλάσμα ήταν αυξημένα στους ασθενείς σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, χωρίς όμως να συσχετίζονται με τις τιμές του FVC, του DLCO ή με την έκταση της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης. Η προοπτική παρακολούθηση των ασθενών σε αυτή τη μελέτη έδειξε μείωση των επιπέδων του CXCL4 σε όσους έλαβαν ανοσοκατασταλτική θεραπεία, η δε μεταβολή του CXCL4 στους 12 μήνες μπορούσε να προβλέψει την εξέλιξη της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης μέσα στο επόμενο έτος(6).

Αντιστοίχως, για το CXCL4L1 η μονοπαραγοντική ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με δείκτες αγγειακής βλάβης στο σκληρόδερμα, όπως το score διατεταμένων τριχοειδών και το score μικροαιμορραγιών στην τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων. Μετά από διόρθωση για ηλικία και φύλο παρέμεινε μόνο μία τάση συσχέτισης με το score μικροαιμορραγιών. Αν και τα αποτελέσματα αυτά είναι μόνο ενδεικτικά λόγω του μικρού αριθμού ατόμων στη μελέτη, θα είχε ίσως ενδιαφέρον να διερευνηθεί περαιτέρω σε μελέτες προοπτικού σχεδιασμού ο ρόλος του CXCL4-L1 ως δυνητικού βιοδείκτη αγγειακής βλάβης στο ΣΣκ. Αυτή η υπόθεση ενισχύεται και από το γεγονός ότι σε επίπεδο έκφρασης mRNA ο CXCL4-L1 φαίνεται να υπερτερεί στην ομάδα των ασθενών με ΣΣκ και ΠΑΥ σε σχέση με τους ασθενείς με ΣΣκ χωρίς ΠΑΥ, συσχετίζεται δηλαδή με μία από τις σημαντικότερες εκδηλώσεις αγγειοπάθειας στο ΣΣκ. Βέβαια, θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι και στους ασθενείς με ιδιοπαθή ΠΑΥ τα επίπεδα του mRNA του CXCL4-L1 ήταν αυξημένα σε σχέση με των υγιών

μαρτύρων, ενώ αντίθετα κάτι τέτοιο δεν παρατηρήθηκε στους ασθενείς με ΣΣκ χωρίς ΠΑΥ. Θα μπορούσε επομένως να ισχυριστεί κανείς ότι η αύξηση της έκφρασης του mRNA του CXCL4-L1 σχετίζεται με αυτή καθαυτή την παρουσία ΠΑΥ και όχι με την παρουσία ΣΣκ. Αν και κάτι τέτοιο δεν μπορεί να αποκλεισθεί, δεν επιβεβαιώνεται, ωστόσο, από τη μέτρηση των επιπέδων του CXCL4-L1 με ELISA στο πλάσμα των ασθενών μας με ΣΣκ, καθώς μόνο 3 (5%) μεταξύ αυτών είχαν τιμές  $RVSP \geq 45 \text{ mmHg}$  στο ηχοκαρδιογράφημα, αλλά συνολικά ως ομάδα εμφάνιζαν υψηλότερες τιμές CXCL4-L1 σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες.

Μια βασική αδυναμία της μελέτης μας είναι ο μικρός αριθμός ασθενών και μαρτύρων στο πλάσμα των οποίων μετρήθηκε ο CXCL4-L1. Επιπλέον, παρότι το κάπνισμα φάνηκε να συσχετίζεται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με τα επίπεδα του CXCL4, οι ομάδες των ασθενών και των μαρτύρων στη μελέτη μας, ήταν μεν σταθμισμένες ως προς την ηλικία και το φύλο, όχι όμως και ως προς το κάπνισμα. Βεβαίως, θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι τα επίπεδα του CXCL4-L1 στη μονοπαραγοντική ανάλυση δεν έδειξαν ανάλογη συσχέτιση με το κάπνισμα.

### **2.2.5 Συμπεράσματα**

Η μελέτη μας είναι η πρώτη που δείχνει ότι τα επίπεδα του CXCL4-L1 στο πλάσμα είναι υψηλότερα στους ασθενείς με ΣΣκ σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και ασθενείς με VEDOSS. Αξιοποιώντας τα δεδομένα από το online διαθέσιμο dataset μικροσυστοιχιών GSE33463 διαπιστώσαμε ότι και η έκφραση του mRNA του CXCL4-L1 στα PBMCs των ασθενών με ΣΣκ υπερτερεί εκείνης των υγιών μαρτύρων. Η κύρια προέλευση του CXCL4-L1 σε αυτούς τους ασθενείς δεν φαίνεται να είναι από τα κοκκία-α των αιμοπεταλίων, όπως αντιστοίχως συμβαίνει με τον CXCL4. Τα επίπεδα του CXCL4-L1 στο πλάσμα των ασθενών με σκληρόδερμα συσχετίστηκαν με τα τριχοειδοσκοπικά score διατεταμένων τριχοειδών και μικροαιμορραγιών, ενώ μετά από διόρθωση για ηλικία και φύλο παρέμεινε μόνο μία τάση συσχέτισης με το score μικροαιμορραγιών. Στο επίπεδο του mRNA ο CXCL4-L1 φάνηκε να συσχετίζεται με την παρουσία ΠΑΥ στους ασθενείς με ΣΣκ. Επί τη βάση αυτών των δεδομένων, θα είχε ίσως νόημα να διερευνηθεί περαιτέρω σε μια μεγάλη προοπτική μελέτη η αξία του CXCL4-L1 ως δυνητικού βιοδείκτη αγγειακής βλάβης σε ασθενείς με ΣΣκ.

### 2.2.6 Βιβλιογραφία Ειδικού Μέρους Β'

1. van Bon L, Affandi AJ, Broen J, Christmann RB, Marijnissen RJ, Stawski L, et al. Proteome-wide Analysis and CXCL4 as a Biomarker in Systemic Sclerosis. *N Engl J Med*. 2014;370(5):433–43.
2. Ah Kioon MD, Tripodo C, Fernandez D, Kirou KA, Spiera RF, Crow MK, et al. Plasmacytoid dendritic cells promote systemic sclerosis with a key role for TLR8. *Sci Transl Med*. 2018 Jan 10;10(423):eaam8458.
3. Lande R, Lee EY, Palazzo R, Marinari B, Pietraforte I, Santos GS, et al. CXCL4 assembles DNA into liquid crystalline complexes to amplify TLR9-mediated interferon- $\alpha$  production in systemic sclerosis. *Nat Commun*. 2019 Dec 1;10(1):1731.
4. Patsouras MD, Sikara MP, Grika EP, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG, Vlachoyiannopoulos PG. Elevated expression of platelet-derived chemokines in patients with antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun*. 2015 Dec;65:30–7.
5. Cheadle C, Berger AE, Mathai SC, Grigoryev DN, Watkins TN, Sugawara Y, et al. Erythroid-Specific Transcriptional Changes in PBMCs from Pulmonary Hypertension Patients. *Poh LNF*, editor. *PLoS One*. 2012 Apr 24;7(4):e34951.
6. Volkmann ER, Tashkin DP, Roth MD, Clements PJ, Khanna D, Furst DE, et al. Changes in plasma CXCL4 levels are associated with improvements in lung function in patients receiving immunosuppressive therapy for systemic sclerosis-related interstitial lung disease. *Arthritis Res Ther*. 2016 Dec 30;18(1):305.
7. Valentini G, Riccardi A, Vettori S, Irace R, Iudici M, Tolone S, et al. CXCL4 in undifferentiated connective tissue disease at risk for systemic sclerosis (SSc) (previously referred to as very early SSc). *Clin Exp Med*. 2017 Aug 20;17(3):411–4.
8. Lasagni L, Grepin R, Mazzinghi B, Lazzeri E, Meini C, Sagrinati C, et al. PF-4/CXCL4 and CXCL4L1 exhibit distinct subcellular localization and a differentially regulated mechanism of secretion. *Blood*. 2007 May 15;109(10):4127–34.
9. Ruytinx P, Proost P, Struyf S. CXCL4 and CXCL4L1 in cancer. *Cytokine*. 2018 Sep;109:65–71.
10. Sipes JM, Murphy-Ullrich JE, Roberts DD. Thrombospondins: Purification of human platelet thrombospondin-1. In: *Methods in cell biology*. 2018. p. 347–

- 69.
11. Macko RF, Gelber AC, Young BA, Lowitt MH, White B, Wigley FM, et al. Increased circulating concentrations of the counteradhesive proteins SPARC and thrombospondin-1 in systemic sclerosis (scleroderma). Relationship to platelet and endothelial cell activation. *J Rheumatol.* 2002 Dec;29(12):2565–70.



### **3. ΓΕΝΙΚΗ ΣΥΖΗΤΗΣΗ**





Το συστηματικό σκληρόδερμα (ΣΣκ) είναι ένα σπάνιο, αυτοάνοσο συστηματικό νόσημα με πολυσχιδείς εκδηλώσεις από όλα τα συστήματα που συχνά καταλήγει σε παραμόρφωση του σώματος, αναπηρία ή θάνατο. Παρά τη σπανιότητά του η κοινωνική και οικονομική επιβάρυνση από το νόσημα είναι μεγάλη. Χαρακτηριστικά, αναφέρεται ότι το ΣΣκ επιφέρει απώλεια ως και 22.4 ετών ζωής για τις γυναίκες και ως 26.0 ετών ζωής για τους άνδρες που προσβάλλονται(1), ενώ το μέσο ετήσιο κόστος ανά ασθενή σε Ευρωπαϊκό επίπεδο κυμαίνεται από € 4,607 μέχρι € 30,797(2). Κατά τα τελευταία έτη έχουν συντελεστεί σημαντικά βήματα πρόοδου τόσο στη διάγνωση, όσο και στη θεραπεία του ΣΣκ. Η αναθεώρηση των κριτηρίων ταξινόμησης του νοσήματος το 2013(3) έχει επιτρέψει τη διάγνωσή του σε πολύ πρωιμότερα στάδια. Παράλληλα, νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις όπως οι αναστολείς υποδοχέων ενδοθηλίνης-1, οι αναστολείς φωσφοδιεστεράσης-5 και πρόσφατα το nintedanib που αναστέλει την τυροσινική κινάση, δρώντας αντινωτικά στη διάμεση πνευμονική ίνωση του ΣΣκ(4), έχουν δημιουργήσει ελπίδες για μια πιο αποτελεσματική παρέμβαση στην εξέλιξη του νοσήματος. Δεδομένης της ποικιλομορφίας του ΣΣκ ως προς τις κλινικές εκδηλώσεις και την έκβαση και λαμβάνοντας υπόψη την τοξικότητα πολλών από τα φάρμακα που χρησιμοποιούμε για τη θεραπεία του, η ανάγκη εξεύρεσης αξιόπιστων, εύχρηστων και οικονομικών προγνωστικών δεικτών οργανικής βλάβης και έκβασης στο ΣΣκ αναδύεται επιτακτική. Η αξιοποίηση αυτών των προγνωστικών δεικτών αναμένεται να κατευθύνει την επιθετική, πρώιμη, θεραπευτική παρέμβαση στοχευμένα σε εκείνους τους ασθενείς που περισσότερο τη χρειάζονται, ενώ θα επιτρέψει, παράλληλα, να αξιοποιηθεί το «παράθυρο ευκαιρίας» για την αναχαίτιση ή επιβράδυνση της φυσικής εξελικτικής πορείας της νόσου, που φαίνεται ότι ανοίγεται στα πολύ αρχικά στάδια του ΣΣκ(5).

Πολυάριθμες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην αναζήτηση προγνωστικών παραγόντων στο συστηματικό σκληρόδερμα. Μία πρόσφατη πολυκεντρική μελέτη από τη Γαλλία που συμπεριέλαβε 625 ασθενείς έδειξε ότι η μεγαλύτερη ηλικία κατά τη διάγνωση (>60 ετών), ο διάχυτος υπότυπος νόσος, η νεφρική κρίση του σκληροδέρματος, η δύσπνοια, η FVC και η DLCO<70% του προβλεπομένου, η πνευμονική υπέρταση, οι τηλεαγγειεκτασίες, η βαλβιδοπάθεια, η αναιμία, η κακοήθεια και η CRP>8mg/l συσχετιζόνταν με χειρότερη επιβίωση. Στην ίδια δημοσίευση, πραγματοποιήθηκε μια μεταανάλυση 36 μελετών, με συνολικό δείγμα

26,187 ασθενών, από την οποία αναγνώρισθηκαν ως σημαντικοί προγνωστικοί δείκτες έκβασης στο ΣΣκ η ηλικία κατά την έναρξη του νοσήματος, το άρρεν φύλο, η Αφρικανική καταγωγή, ο διάχυτος υπότυπος νόσος, η παρουσία anti-Scl-70 αντισωμάτων, η νεφρική και καρδιακή συμμετοχή, η διάμεση πνευμονική ίνωση, η πνευμονική υπέρταση και η κακοήθεια(6). Έχει ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι σε ανάλογα συμπεράσματα είχαν καταλήξει αρκετές παλαιότερες μελέτες(7–9), δύο εκ των οποίων συμπεριέλαβαν ασθενείς με ΣΣκ από την έναρξη της νόσου τους (inception cohorts)(1,10).

Το τελευταίο χρονικό διάστημα έχουν γίνει προσπάθειες να διερευνηθεί η προγνωστική αξία όχι μόνον των κλινικών χαρακτηριστικών του νοσήματος αλλά και της τριχοειδοσκόπησης στο ΣΣκ. Η τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων είναι μια φθηνή, μη παρεμβατική μέθοδος που επιτρέπει την άμεση παρατήρηση της μικροκυκλοφορίας και της εξέλιξης της μικροαγγειοπάθειας στο ΣΣκ. Ο διαγνωστικός ρόλος της τριχοειδοσκόπησης είναι καλά τεκμηριωμένος, αφού, πρόσφατα, η μέθοδος αυτή εντάχθηκε στα κριτήρια ταξινόμησης του ΣΣκ που από κοινού υιοθέτησαν το Αμερικανικό Κολλέγιο Ρευματολογίας (ACR) και η Ευρωπαϊκή Ένωση Κατά των Ρευματικών Νοσημάτων (EULAR) το 2013(3). Επιπλέον πολυάριθμες διατμητικές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης με τον κλινικό φαινότυπο του ΣΣκ, ενισχύοντας την υπόθεση για τον προγνωστικό ρόλο της τριχοειδοσκόπησης σε αυτό το νόσημα(11). Ως προς τις μελέτες προοπτικού σχεδιασμού που έχουν διενεργηθεί για την τριχοειδοσκόπηση στο σκληρόδερμα, οι περισσότερες επικεντρώθηκαν στη νέα εμφάνιση ή επούλωση των ήδη υπαρχόντων δακτυλικών ελκών(12). Σε μία μελέτη το καταληκτικό σημείο ήταν η εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων(13) ενώ σε τρεις μελέτες, εξετάστηκε η αξία της τριχοειδοσκόπησης της κοίτης των ονύχων στην πρόγνωση της συνολικής εξέλιξης του ΣΣκ(14–16).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η προσπάθεια ανίχνευσης μοριακών βιοδεικτών με προγνωστική αξία στο ΣΣκ. Μεταξύ αυτών αναφέρονται ενδεικτικά η επιφανειοδραστική πρωτεΐνη D, η γλυκοπρωτεΐνη KL-6 και η κυτταροκίνη CCL18, για την εκτίμηση της βαρύτητας, τη διάγνωση και την πρόγνωση της εξέλιξης της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης στο ΣΣκ, αντιστοίχως (17), το N-αμινοτελικό άκρο του εγκεφαλικού νατριουρητικού προ-πεπτιδίου για τη διάγνωση της πνευμονικής

αρτηριακής υπέρτασης, τα επίπεδα ICAM-1 στον ορό, ως δείκτης μελλοντικής προσβολής του αναπνευστικού, τα επίπεδα CXCL8 and P-selectin στον ορό, ως δείκτες μελλοντικής ανάπτυξης αναπηρίας(18) και ο CXCL4 που πρόσφατα καταδείχθηκε ότι συσχετίζεται με την ίνωση του δέρματος και των πνευμόνων και με την παρουσία πνευμονικής αρτηριακής υπέρτασης, ενώ φάνηκε ότι έχει και προγνωστική σημασία για την εξέλιξη του νοσήματος(19).

Η δική μας μελέτη είχε δύο σκέλη. Στο πρώτο σκέλος εξετάσαμε τη διαφορική επίδοση των ποικίλων ποιοτικών και ποσοτικών παραμέτρων της τριχοειδοσκόπησης της κοίτης των ονύχων στη διάγνωση αλλά και στην πρόγνωση της εξέλιξης του ΣΣκ. Στο δεύτερο σκέλος, διερευνήσαμε αν υπάρχει διαφορά στα επίπεδα του CXCL4-L1, μίας μη αλληλικής παραλλαγής του CXCL4 με ισχυρή αγγειοστατική δράση, στο περιφερικό αίμα ασθενών με ΣΣκ σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, καθώς και αν τα επίπεδα αυτού του μορίου στο πλάσμα συσχετίζονται με τις κλινικές εκδηλώσεις του νοσήματος.

Χρησιμοποιώντας καμπύλες ROC καταδείξαμε ότι το score απώλειας τριχοειδών εμφανίζει τη μεγαλύτερη διαγνωστική ακρίβεια στη διάκριση των ασθενών με εγκατεστημένο ή πολύ πρώιμο ΣΣκ από τους ασθενείς με φαινόμενο Raynaud άλλης αιτιολογίας και από τους υγιείς μάρτυρες. Ικανοποιητική ακρίβεια εμφανίζει ακόμη το score διάτασης και το score γιγαντιαίων τριχοειδών, ενώ το score μικροαιμορραγιών και το score ανώμαλα διακλαδισμένων τριχοειδών δε φάνηκαν να αποδίδουν τόσο καλά. Επομένως, η εφαρμογή της μεθοδολογίας των καμπυλών ROC στον πληθυσμό της μελέτης μας παρέχει πληροφορίες για την ευαισθησία και την ειδικότητα με την οποία η κάθε τριχοειδοσκοπική παράμετρος μπορεί να ξεχωρίσει τους ασθενείς του φάσματος του ΣΣκ από όσους δεν έχουν ΣΣκ. Θα πρέπει, βέβαια, να σημειωθεί ότι η προγνωστική αξία των επιμέρους τριχοειδοσκοπικών παραμέτρων αναφορικά με την εξέλιξη του φαινομένου Raynaud σε συστηματικό σκληρόδερμα δεν μπορεί να προσδιορισθεί από τη μελέτη μας, καθώς σε αυτήν περιλαμβάνονται 138 ασθενείς με ήδη εγκατεστημένο σκληρόδερμα κατά τη στρατολόγησή τους, ενώ από τις ομάδες του πρωτοπαθούς και δευτεροπαθούς φαινομένου Raynaud, μόνο 4 άτομα εξελίχθηκαν σε έκδηλο ή πολύ πρώιμο ΣΣκ στη διάρκεια της παρακολούθησης, αριθμός πολύ μικρός για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Ωστόσο, μια παλαιότερη μελέτη από τους Ingegnoli et al. εξέτασε αυτήν ακριβώς την

παράμετρο και αναφέρει ότι η παρουσία γιγαντιαίων τριχοειδών και μικροαιμορραγιών στην τριχοειδοσκόπηση συσχετίζεται με τον υψηλότερο σχετικό κίνδυνο μετάπτωσης του φαινομένου Raynaud σε νοσήματα του φάσματος του ΣΣκ(20).

Η μελέτη μας για πρώτη φορά έδειξε ότι οι κλινικές συσχετίσεις των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης εμφάνιζαν σημαντικές διαφορές μεταξύ της αρχικής και της επαναληπτικής εκτίμησης σε ένα δείγμα 85 ασθενών με ΣΣκ που υπεβλήθησαν σε τριχοειδοσκοπικό επανέλεγχο μετά από κατά μέσο όρο μία τριετία. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν, τις λιγότερες μεταβολές με το χρόνο εμφάνιζε το ποιοτικά προσδιοριζόμενο πρότυπο τριχοειδοσκόπησης και το score γιγαντιαίων τριχοειδών. Είναι λογικό ότι η έλλειψη σταθερότητας στις κλινικές συσχετίσεις της τριχοειδοσκόπησης με το χρόνο δημιουργεί προβληματισμό ως προς την πιθανή αξία της μεθόδου ως προγνωστικού δείκτη στο ΣΣκ. Παρόλα αυτά, δε θα πρέπει να αγνοεί κανείς το γεγονός ότι οι ασθενείς μας ευρίσκοντο υπό θεραπευτική αγωγή με ανοσοκατασταλτικούς και αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες, αρκετοί δε εξ αυτών ξεκίνησαν την αγωγή τους στη διάρκεια της παρακολούθησης. Επομένως η διαφοροποίηση που βλέπουμε μεταξύ των αρχικών και επαναληπτικών κλινικών συσχετίσεων της τριχοειδοσκόπησης θα μπορούσαν να οφείλονται στην επίδραση της θεραπευτικής αγωγής στην τριχοειδοσκοπική εικόνα των ασθενών, σε συμφωνία και με τα βιβλιογραφικά δεδομένα που περιγράφουν βελτίωση των ευρημάτων της τριχοειδοσκόπησης μετά από αγγειοδιασταλτική αγωγή(21).

Τα ευρήματά μας επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματα προγενέστερων μελετών, που αναδεικνύουν τον προγνωστικό ρόλο της τριχοειδοσκόπησης στην πρόβλεψη της συνολικής εξέλιξης του ΣΣκ(15,16). Στην ανάλυση που πραγματοποιήσαμε φάνηκε ότι μόνο το πρότυπο και όχι τα ημι-ποσοτικά score της τριχοειδοσκόπησης κατά την αρχική εκτίμηση συσχετίζονταν με το σύνθετο δυσμενές κλινικό αποτέλεσμα που ορίσαμε ως καταληκτικό σημείο στη μελέτη μας, με το ενεργό πρότυπο βλάβης να συνεπάγεται τριπλάσιο και το όψιμο πρότυπο επταπλάσιο κίνδυνο δυσμενούς κλινικής έκβασης. Επομένως τα αποτελέσματά μας συμφωνούν περισσότερο με τα ευρήματα των Smith et al. που αναφέρουν ότι σε δύο ανεξάρτητες κοορτές 66 και 82 ασθενών με ΣΣκ το επιδεινούμενο πρότυπο τριχοειδοσκόπησης μπορούσε να προγνώσει τη νέα σοβαρή προσβολή οργάνου. Μια σημαντική, βέβαια, διαφορά της

δικής μας από την προηγούμενη μελέτη είναι ότι στην πολυπαραγοντική ανάλυση που πραγματοποιήσαμε έχει γίνει διόρθωση όχι μόνο για τη διάρκεια νόσου, τον υπότυπο νόσου και τη χρήση αγγειοδραστικής αγωγής, αλλά και για ηλικία, φύλο, κάπνισμα και για κάποιες κλινικές παραμέτρους των ασθενών κατά την αρχική εκτίμηση, όπως το FVC και το mRSS. Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη οι Anouac et al. παρακολούθησαν μια κοορτή 140 ασθενών με ΣΣκ ετησίως, κλινικά και τριχοειδοσκοπικά, για 3 χρόνια. Στη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε ότι η επιδείνωση του πρότυπου της τριχοειδοσκόπησης από φυσιολογικό, πρώιμο ή ενεργό σε όψιμο και η απώλεια τριχοειδών με το χρόνο συσχετιζόταν με επιμέρους κλινικές εκδηλώσεις όπως η εμφάνιση νέων δακτυλικών ελκών, η επιδείνωση της πνευμονικής αγγειακής νόσου, η επιδείνωση της δερματικής προσβολής και η επιδείνωση της κλίμακας βαρύτητας του νοσήματος κατά Medsger. Επιπλέον, η απώλεια τριχοειδών με το χρόνο φάνηκε να αποτελεί ισχυρό και ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη συνολικής εξέλιξης του νοσήματος(16). Στη δική μας μελέτη, αντίθετα, δε μπορέσαμε να τεκμηριώσουμε την προγνωστική αξία των ημιποσοτικών παραμέτρων της τριχοειδοσκόπησης.

Μία άλλη παρατήρηση που προκύπτει από τη μελέτη μας σε σχέση με τον ρόλο των τριχοειδοσκοπικών παραμέτρων ως προγνωστικού δείκτη θνητότητας στο ΣΣκ, είναι η οριακή συσχέτιση του score γιγαντιαίων τριχοειδών και του score μικροαιμορραγιών με το μειωμένο κίνδυνο θανάτου που διαπιστώθηκε στη μονοπαραγοντική ανάλυση. Παρότι το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε στην πολυπαραγοντική ανάλυση, είναι συμβατό με την ανάστροφη συσχέτιση και των δύο αυτών score με τη διάμεση πνευμονική ίνωση και με το HAQ-DI score που διαπιστώθηκε, ομοίως στη μονοπαραγοντική χωρίς να επιβεβαιώνεται στην πολυπαραγοντική ανάλυση, κατά την αρχική εκτίμηση των ασθενών μας. Κατ'αντιστοιχία με τα δικά μας ευρήματα, οι Anouac et al. στη μελέτη τους παρατήρησαν ότι η παρουσία γιγαντιαίων τριχοειδών και μικροαιμορραγιών κατά την αρχική εκτίμηση δεν ήταν προγνωστικός δείκτης συνολικής εξέλιξης του νοσήματος, ενώ οι ασθενείς με αυξημένο αριθμό γιγαντιαίων τριχοειδών κατά την παρακολούθησή τους, είχαν μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης νέων δακτυλικών ελκών και οριακά μικρότερο κίνδυνο συνολικής επιδείνωσης του νοσήματος, επιδείνωσης της πνευμονικής αγγειακής νόσου και επιδείνωσης του score βαρύτητας κατά Medsger(16). Παρότι αυτό το εύρημα αντιπροσωπεύει μόνο μια τάση, ίσως να έχει

κάποια παθοφυσιολογική σημασία, αν λάβει κανείς υπόψιν ότι η εμφάνιση των γιγαντιαίων τριχοειδών και ο επακόλουθος σχηματισμός μικροαιμορραγιών όταν αυτά καταρρεύσουν, πιθανώς αντιπροσωπεύουν έναν αντιρροπιστικό μηχανισμό στην ισχαιμία που προκαλεί η μικροαγγειοπάθεια του ΣΣκ(22). Αντίθετα, η μείωση του αριθμού των τριχοειδών και η εμφάνιση ανάγγειων περιοχών ενδεχομένως να απορρέουν από την κάμψη αυτής της αντιρρόπισης που λογικά θα συνδέεται και με χειρότερη έκβαση.

Στο δεύτερο σκέλος της μελέτης μας για πρώτη φορά καταδεικνύεται με τη χρήση ELISA, ότι τα επίπεδα του CXCL4-L1 στο περιφερικό αίμα των ασθενών με ΣΣκ είναι υψηλότερα σε σχέση τόσο με τους υγιείς μάρτυρες, όσο και με τους ασθενείς με πολύ πρόωμη διάγνωση ΣΣκ (VEDOSS). Επιπλέον, σε αντίθεση με τον CXCL4 στο πλάσμα, που φάνηκε ότι είχε πολύ ισχυρή συσχέτιση με τα επίπεδα της θρομβοσπονδίνης-1 (TSP-1) ( $r=0.953$ ), ο CXCL4-L1 δε φάνηκε να συσχετίζεται με την TSP-1, ούτε και με τον CXCL4, πιθανώς λόγω των διαφορών στην προέλευση και στον τρόπο έκκρισής τω δύο μορίων(23). Ο CXCL4 παράγεται κατά κύριο λόγο από τα μεγακαρυοκύτταρα, αποθηκεύεται στα κοκκία-α των αιμοπεταλίων και απελευθερώνεται κατά την ενεργοποίησή τους. Δευτερευόντως, παράγεται επίσης από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (ιστιοκύτταρα, μονοκύτταρα και T-λεμφοκύτταρα) (24), ενώ ως σημαντική πηγή προέλευσής του στο ΣΣκ αναφέρονται τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα(19,25). Ο CXCL4-L1, αντίθετα, παράγεται συνεχόμενα και εκκρίνεται σε μικρές ποσότητες από τα ίδια κύτταρα που παράγουν τον CXCL4, ενώ σε μεγαλύτερες ποσότητες παράγεται από τα λεία μυϊκά κύτταρα(23). Η απουσία συσχέτισης του CXCL4-L1 με την TSP-1 αλλά και με τον CXCL4 που διαπιστώθηκε στη μελέτη μας, φαίνεται καταρχήν να ενισχύει την υπόθεση για τη μη προέλευση του CXCL4-L1 από τα κοκκία-α των αιμοπεταλίων στους ασθενείς μας.

Αξιοποιώντας τα δεδομένα από το διαδικτυακά διαθέσιμο dataset μικροσυστοιχιών GSE33463 συγκρίναμε την έκφραση του CXCL4-L1 σε επίπεδο mRNA μεταξύ ασθενών με ΣΣκ με και χωρίς πνευμονική αρτηριακή υπέρταση (ΠΑΥ), ασθενών με ιδιοπαθή ΠΑΥ και υγιών μαρτύρων και διαπιστώσαμε υψηλότερα επίπεδα mRNA του CXCL4-L1 στους πάσχοντες από ΣΣκ σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες και στους ασθενείς με ΣΣκ και ΠΑΥ σε σχέση με τους ασθενείς με ΣΣκ χωρίς ΠΑΥ. Το

γεγονός ότι οι ασθενείς με ιδιοπαθή ΠΑΥ είχαν συγκρίσιμα επίπεδα έκφρασης του mRNA του CXCL4-L1 με τους ασθενείς με ΣΣκ και ΠΑΥ και υπερτερούσαν των ασθενών με ΣΣκ χωρίς ΠΑΥ, δημιουργεί το εύλογο ερώτημα αν η αύξηση της έκφρασης του CXCL4-L1 είναι τελικά ένα χαρακτηριστικό συμβατό με την παρουσία αυτής καθαυτής της ΠΑΥ και όχι του ΣΣκ. Κάτι τέτοιο, ωστόσο, δεν υποστηρίζεται από τα ευρήματα της δικής μας κοορτής, όπου ο CXCL4-L1 βρέθηκε αυξημένος στο περιφερικό αίμα των ασθενών με ΣΣκ σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες παρότι μόνο το 5% των ασθενών μας είχε  $RVSP \geq 45 \text{ mmHg}$  στο υπερηχοκαρδιογράφημα.

Τα επίπεδα του CXCL4-L1 στο πλάσμα των ασθενών με ΣΣκ φάνηκε να συσχετίζονται με δείκτες αγγειακής βλάβης, όπως είναι το score διατεταμένων τριχοειδών και το score μικροαιμορραγιών στην τριχοειδοσκόπηση της κοίτης των ονύχων, παρότι μετά από διόρθωση για ηλικία και φύλο παρέμεινε μόνο μία τάση συσχέτισης με το score μικροαιμορραγιών. Αυτό το εύρημα, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι σε επίπεδο mRNA ο CXCL4-L1 βρέθηκε να συσχετίζεται με την ΠΑΥ σε ασθενείς με ΣΣκ, είναι ίσως μια ένδειξη ότι αυτός ο ισχυρός αναστολέας της αγγειογένεσης θα άξιζε να διερευνηθεί περαιτέρω ως δυνητικός βιοδείκτης αγγειακής βλάβης σε ασθενείς με ΣΣκ.

Συμπερασματικά, η μελέτη μας για την αναζήτηση προγνωστικών παραγόντων στο ΣΣκ δείχνει ότι η τριχοειδοσκόπηση, παρότι δεν εμφανίζει σταθερές συσχετίσεις με τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΣΣκ μεταξύ δύο διαφορετικών χρονικών στιγμών, έχει παρόλα αυτά προγνωστική σημασία στο ΣΣκ. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι το πρότυπο της τριχοειδοσκόπησης στην αρχική εκτίμηση αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη δυσμενούς έκβασης μετά από τρία χρόνια παρακολούθησης σε αυτούς τους ασθενείς. Ταυτόχρονα αποδείξαμε ότι ο CXCL4-L1, ένα μόριο με ισχυρή αντιαγγειογενετική δράση που αποτελεί τη μη αλληλική παραλλαγή του CXCL4, μιας χημειοκίνης με τεκμηριωμένο προγνωστικό ρόλο στο ΣΣκ, είναι αυξημένος σε ασθενείς με ΣΣκ και συσχετίζεται με τριχοειδοσκοπικούς δείκτες αγγειακής βλάβης και με την παρουσία ΠΑΥ σε αυτόν τον πληθυσμό. Τα χαρακτηριστικά αυτά καθιστούν τον CXCL4-L1 έναν, πιθανώς ενδιαφέροντα για περαιτέρω διερεύνηση, δυνητικό βιοδείκτη στο ΣΣκ.

## Βιβλιογραφία Γενικής Συζήτησης

1. Hao Y, Hudson M, Baron M, Carreira P, Stevens W, Rabusa C, et al. Early mortality in a multinational systemic sclerosis inception cohort. *Arthritis Rheumatol.* 2017 Dec;69(5):1067–77.
2. López-Bastida J, Linertová R, Oliva-Moreno J, Serrano-Aguilar P, Posada-de-la-Paz M, Kanavos P, et al. Social/economic costs and health-related quality of life in patients with scleroderma in Europe. *Eur J Heal Econ.* 2016 Apr 2;17(S1):109–17.
3. Van Den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An american college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2737–47.
4. Distler O, Highland KB, Gahlemann M, Azuma A, Fischer A, Mayes MD, et al. Nintedanib for Systemic Sclerosis–Associated Interstitial Lung Disease. *N Engl J Med.* 2019 May 20;NEJMoa1903076.
5. Guiducci S, Bellando-Randone S, Matucci-Cerinic M. A new way of thinking about systemic sclerosis: The opportunity for a very early diagnosis. *Isr Med Assoc J.* 2016;18(3–4):141–3.
6. Pokeerbux MR, Giovannelli J, Dauchet L, Mouthon L, Agard C, Lega JC, et al. Survival and prognosis factors in systemic sclerosis: Data of a French multicenter cohort, systematic review, and meta-analysis of the literature. Vol. 21, *Arthritis Research and Therapy.* 2019. p. 86.
7. Ooi C, Solanki K, Lao C, Frampton C, White D. Mortality in the Waikato Hospital Systemic Sclerosis Cohort. *Int J Rheum Dis.* 2018 Jan;21(1):253–60.
8. Al-Dhaher FF, Pope JE, Ouimet JM. Determinants of Morbidity and Mortality of Systemic Sclerosis in Canada. *Semin Arthritis Rheum.* 2010 Feb;39(4):269–77.
9. Elhai M, Meune C, Boubaya M, Avouac J, Hachulla E, Balbir-Gurman A, et al. Mapping and predicting mortality from systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2017 Nov;76(11):1897–905.
10. Panopoulos S, Bournia V-K, Konstantonis G, Fragiadaki K, Sfrikakis PP, Tektonidou MG. Predictors of morbidity and mortality in early systemic sclerosis: Long-term follow-up data from a single-centre inception cohort. *Autoimmun Rev.* 2018 Aug;17(8):816–20.
11. Soulaïdopoulos S, Triantafyllidou E, Garyfallos A, Kitis GD, Dimitroulas T. The role of nailfold capillaroscopy in the assessment of internal organ involvement in systemic sclerosis: A critical review. *Autoimmun Rev.* 2017 Aug;16(8):787–95.
12. Paxton D, Pauling JD. Does nailfold capillaroscopy help predict future outcomes in systemic sclerosis? A systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum.* 2018 Dec;48(3):482–94.
13. Voilliot D, Magne J, Dulgheru RE, Kou S, Henri C, Caballero L, et al. Cardiovascular outcome in systemic sclerosis. *Acta Cardiol.* 2015;70(5):554–63.
14. Smith V, Decuman S, Sulli A, Bonroy C, Piette Y, Deschepper E, et al. Do worsening scleroderma capillaroscopic patterns, predict future severe organ involvement? A pilot study. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(10):1636–9.
15. Smith V, Riccieri V, Pizzorni C, Decuman S, Deschepper E, Bonroy C, et al. Nailfold Capillaroscopy for Prediction of Novel Future Severe Organ



- Involvement in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol*. 2013 Dec 1;40(12):2023–8.
16. Avouac J, Lepri G, Smith V, Toniolo E, Hurabielle C, Vallet A, et al. Sequential nailfold videocapillaroscopy examinations have responsiveness to detect organ progression in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum*. 2017 Aug;47(1):86–94.
  17. Elhai M, Hoffmann–Vold AM, Avouac J, Pezet S, Cauvet A, Leblond A, et al. Performance of Candidate Serum Biomarkers for Systemic Sclerosis–Associated Interstitial Lung Disease. *Arthritis Rheumatol*. 2019 Jun 26;71(6):972–82.
  18. Hasegawa M. Biomarkers in systemic sclerosis: Their potential to predict clinical courses. *J Dermatol*. 2016 Jan;43(1):29–38.
  19. van Bon L, Affandi AJ, Broen J, Christmann RB, Marijnissen RJ, Stawski L, et al. Proteome-wide Analysis and CXCL4 as a Biomarker in Systemic Sclerosis. *N Engl J Med*. 2014;370(5):433–43.
  20. Ingegnoli F, Boracchi P, Gualtierotti R, Lubatti C, Meani L, Zahalkova L, et al. Prognostic model based on nailfold capillaroscopy for identifying Raynaud’s phenomenon patients at high risk for the development of a scleroderma spectrum disorder: PRINCE (Prognostic Index for Nailfold Capillaroscopic Examination). *Arthritis Rheum*. 2008 Jul 1;58(7):2174–82.
  21. Trombetta AC, Pizzorni C, Ruaro B, Paolino S, Sulli A, Smith V, et al. Effects of Longterm Treatment with Bosentan and Iloprost on Nailfold Absolute Capillary Number, Fingertip Blood Perfusion, and Clinical Status in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol*. 2016 Nov 1;43(11):2033–41.
  22. Sambataro D, Sambataro G, Zaccara E, Maglione W, Polosa R, Afeltra AM V, et al. Nailfold videocapillaroscopy micro-haemorrhage and giant capillary counting as an accurate approach for a steady state definition of disease activity in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther*. 2014 Oct 9;16(5):462.
  23. Lasagni L, Grepin R, Mazzinghi B, Lazzeri E, Meini C, Sagrinati C, et al. PF-4/CXCL4 and CXCL4L1 exhibit distinct subcellular localization and a differentially regulated mechanism of secretion. *Blood*. 2007 May 15;109(10):4127–34.
  24. Ruytinx P, Proost P, Struyf S. CXCL4 and CXCL4L1 in cancer. *Cytokine*. 2018 Sep;109:65–71.
  25. Ah Kioon MD, Tripodo C, Fernandez D, Kirou KA, Spiera RF, Crow MK, et al. Plasmacytoid dendritic cells promote systemic sclerosis with a key role for TLR8. *Sci Transl Med*. 2018 Jan 10;10(423):eaam8458.



#### **4. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**



Differential Performance of Nailfold Video Capillaroscopic Parameters in the  
Diagnosis and Prognosis of Systemic Sclerosis

Vasiliki Kalliopi Bournia<sup>1</sup>, Konstantinos Kottas<sup>1</sup>, Stylianos Panopoulos<sup>1</sup>, George Konstantonis<sup>1</sup>, Alexios Iliopoulos<sup>2</sup>, Maria G. Tektonidou<sup>1</sup>, Athanasios G. Tzioufas<sup>3</sup>, Petros P. Sfikakis<sup>1</sup>, Panayiotis G. Vlachoyiannopoulos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>First Department of Propaedeutic and Internal Medicine and Joint Rheumatology Program, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Laikon Hospital

<sup>2</sup>Department of Rheumatology, Veterans Administration Hospital (NIMTS)

<sup>3</sup>Department of Pathophysiology and Joint Rheumatology Program, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Laikon Hospital, Athens, Greece

**Keywords:** Systemic Sclerosis; Raynaud phenomenon; nailfold video capillaroscopy, capillaroscopy pattern, semi-quantitative capillaroscopic scores

**Running Title:** Capillaroscopy for the Diagnosis and Prognosis of Scleroderma

**Corresponding Author:** Panagiotis G. Vlachoyiannopoulos

Athens University Medical School, Laikon Hospital,

17 Ag. Thoma Str, Athens, 11527, Greece

E-mail: [pvlah@med.uoa.gr](mailto:pvlah@med.uoa.gr)

Tel #: +30 2107462561

Fax #: +30 210 7462664

Word count: 3757

Accepted for publication in Clinical Experimental Rheumatology,  
Reproduced with permission from the Editor.

## **Abstract (250 words)**

**Objective:** The contribution of Nailfold Video Capillaroscopy (NVC) in identifying patients with Raynaud phenomenon (RP) at risk for systemic sclerosis (SSc) is well established. Herein we comparatively assess the performance of different capillaroscopic parameters in predicting development of SSc in patients with RP and evaluate the prognostic capacity of NVC in SSc.

**Methods:** At baseline we clinically and capillaroscopically evaluated 242 consecutive patients referred to our department for NVC (138 with SSc); 173 were reevaluated after  $3.38 \pm 1.47$  years. Sixty-two healthy volunteers served as controls. Capillaroscopy pattern (normal/early/active/late) was qualitatively defined. Capillary loss, dilated, giant or ramified capillaries and micro-hemorrhages were scored semi-quantitatively.

**Results:** Capillary loss score had the highest diagnostic accuracy at discriminating patients with an SSc-spectrum disorder from patients with RP of different etiology and controls, as defined by ROC curve analysis [AUC (95% CI)=0.905 (0.869-0.942)], followed by dilatation score [0.863 (0.818-0.907)] and giant score [0.835 (0.787-0.884)]. By contrast, micro-hemorrhages [0.720 (0.662-0.779)] and ramifications scores [0.604 (0.539-0.670)] performed worse. Multivariate analysis in 94 SSc patients indicated that active (OR=3.305,  $p=0.043$ ) and late (OR=6.900,  $p=0.023$ ) baseline capillaroscopy pattern predicted occurrence of a combined adverse disease outcome [forced vital capacity (FVC) deterioration >10% and/or DLCO deterioration >15% and/or mRSS deterioration >3.5 and/or first occurrence of digital ulcers and/or death] at 3 year follow-up.

**Conclusions:** Dilatation score performs best of all semi-quantitative NVC parameters in diagnosing SSc and although clinical correlations of capillaroscopic findings change over time, our study confirms earlier reports that worse capillaroscopy pattern at baseline correlates with higher likelihood for adverse prognosis.

## **Introduction**

Raynaud phenomenon (RP) is a recurrent vasospastic disorder of fingers and toes, occurring in response to cold or emotional stress. It is characterized by reversible ischemia of the digits, followed by cyanosis and hyperemia upon reperfusion. Depending on definition, its prevalence ranges between 3-5%[1]. RP can be either primary (pRP) or secondary (sRP), commonly occurring in association with a systemic autoimmune disease. Nailfold video capillaroscopy (NVC) is a non-invasive, inexpensive method that permits direct visualization of the nail-bed microcirculation in patients with RP and helps differentiate subjects at risk to develop disease of the scleroderma spectrum[2,3]. In fact, capillaroscopic findings were recently added to the 2013 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism (ACR/EULAR) classification criteria for Systemic Sclerosis (SSc)[4]. Moreover, in patients with an established diagnosis of SSc, a prognostic role for NVC has also been suggested[5]. Herein, we aimed to comparatively evaluate the discriminative capacity of different NVC parameters for the diagnosis of SSc-spectrum diseases. Moreover, we longitudinally explored associations of NVC findings with clinical features in SSc patients, in order to assess their consistency over time and attempted to further elucidate the predictive role of NVC in established SSc.

## **Patients and Methods**

### *i. Study Population*

Our study enrolled 251 consecutive consenting patients with RP, referred for basal NVC to our tertiary university rheumatology center, between January 2011 and January 2016. Nine patients were excluded from the study, due to poor quality of NVC images (bad acquisition). Of the remaining 242 patients, 138 had SSc according to the 2013 ACR/EULAR classification criteria[4] and 12 had very early diagnosis of SSc (VEDOSS)[6]. Thirty-six patients with no autoantibodies and no clinical signs or symptoms indicative of connective tissue disease (CTD) formed the primary RP group, while the remaining 56 patients who were either autoantibody positive, or had symptoms or signs indicative of a CTD or a diagnosis of CTD other than SSc, were grouped as non-SSc secondary RP. Sixty-two healthy volunteers served as controls. Written informed consent was obtained from all study participants prior to enrollment. The study was approved by our hospital's Institutional Review Board. After a mean $\pm$ SD of 3.38 $\pm$ 1.47 years 173 patients were reevaluated prospectively.

**Table 1.** shows baseline demographic and capillaroscopic characteristics of patients and controls. **Table 2.** presents the clinical and laboratory features of patients with SSc and VEDOSS at baseline.

### *ii. Capillaroscopy*

Study participants were acclimatized to a temperature of 22-25°C for 15 minutes prior to examination. NVC was performed by a single operator (VKB), using a DS MEDICA Video Cap 200<sup>®</sup> device equipped with a 200x lens. Qualitative evaluation of all NVC images taken permitted categorization of patients to either a normal or an SSc capillaroscopic pattern (early, active or late)[7]. Capillary loss, dilated, giant or ramified capillaries and micro-hemorrhages were further assessed on the distal row of three consecutive 1mm fields of fingers 2, 3, 4 and 5 of both hands, using a semi-quantitative rating scale (score 0-3)[8]. Capillary loss represented the reduction of capillary number below an average of nine per linear mm. Capillaries with a homogeneous or irregular increase in diameter >20µm were defined as dilated. Homogeneously enlarged capillaries with an apical diameter >50µm were defined as giant. Irregularly shaped capillaries (branching, bushy, meandering, coiled) were defined as ramified. Dark-colored hemosiderin depositions were recognized as microhemorrhages. Regarding the semi-quantitative scoring system, every capillaroscopic parameter on each field received a score from 0 to 3 as follows: 0=no changes, 1<33% capillary alterations/reduction, 2=33-66% capillary alterations/reduction, 3>66% capillary alterations/reduction. The final score for each parameter was derived as a mean from all eight digits[8]. Images were stored and scored by one of two different assessors (VKB, KK).

### *iii. Clinical and Laboratory Evaluation*

Patients underwent physical examination, both at baseline and at follow-up, recording puffy fingers and current or past digital ulcerations[9]. Skin thickening was measured using the modified Rodnan Skin Score (mRSS). Deterioration in mRSS was considered clinically significant if >3.5[10]. Autoantibody status (Antinuclear antibodies >1:160, anti-centromere and anti-Scl70 antibodies) was also noted. Interstitial lung disease (ILD) was documented by high-resolution computed tomography of the chest. Pulmonary function tests (FVC and DLCO), echocardiography derived pulmonary artery systolic pressure (PASP), Health



Assessment Questionnaire—Disability Index (HAQ-DI), Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) and patient medications were recorded, both at baseline and follow-up. Deterioration in FVC and DLCO was considered clinically significant if >10% and >15%, respectively. Immunosuppressive treatment was defined as prednisolone >10mg or equivalent, methotrexate, mycophenolate, cyclophosphamide, azathioprine, hydroxylchloroquine, rituximab or tocilizumab. The primary composite endpoint for SSc patients in our study was occurrence of at least one of the following: first occurrence of digital ulcers, >10% deterioration of FVC, >15% deterioration of DLCO, >3.5 deterioration of mRSS or death.

#### *iv. Statistical Analysis*

Stored NVC images from twenty patients, randomly selected from our cohort, were scored at two different time points by the same assessor and then by the second assessor. Intraclass correlation coefficient (ICC) based on two-way mixed model analyses for intra- and inter-rater variability was calculated for capillary loss score, dilatation score, giant score, microhemorrhages score and ramification score. The intra- and inter-rater proportion of agreement for the qualitative assessment of a patient as belonging to the normal, or the early, active, or late SSc pattern was also assessed. ROC curve methodology was used to compare the diagnostic performance of different NVC scores. Ordinal and linear logistic regression analyses were used to explore if associations of clinical characteristics with NVC findings in SSc remained stable over two longitudinal assessments. Binary logistic regression analysis was performed to identify NVC parameters able to prognosticate the primary composite adverse outcome, or death in the SSc group, after adjustment for gender, age, disease subtype, disease duration, smoking, vasoactive treatment, FVC and mRSS at baseline. The level of statistical significance was set at  $p=0.05$ . The Stata v.12 statistical software package was used for all analyses.

## **Results**

### *i. Comparative assessment of the diagnostic accuracy of different capillaroscopic scores*

One hundred-five SSc, 12 VEDOSS, 29 pRP and 27 of 30 sRP patients for whom no diagnosis was available at baseline were clinically re-evaluated after a mean±SD of 3.38±1.47 years. Repeat capillaroscopy was available in 85 SSc patients, while in 20 this was either not performed (due to digital ulcers, hand deformity or patient refusal) or resulted in non-evaluable images (**figure 1**). Ten patients in the SSc group were deceased at follow-up and two more died shortly after re-evaluation. Thirteen patients (36%) originally in the pRP group either developed positive autoantibodies and/or signs or symptoms indicative of a CTD, or met criteria for the diagnosis of a CTD, thus being re-classified as sRP. Two patients in the VEDOSS group and one in each of the pRP and sRP groups developed overt SSc, while two more patients, one in each of the pRP and sRP groups, met criteria for VEDOSS, but not for SSc.

Differences in baseline capillaroscopy parameters between SSc patients and each of the pRP, non-SSc sRP and control groups, were confirmed in our study, as shown in **table 1**. ROC curve analysis was employed to evaluate the comparative performance of different baseline NVC scores at discriminating patients with SSc and VEDOSS at follow-up [SSc (N=142), VEDOSS (N=12)] from all other study participants [pRP (N=16), sRP (N=62) and controls (N=62)], excluding pRP and non SSc-sRP patients lost to follow-up. As shown in **figure 2**, capillary loss score displayed the highest area under the curve [AUC (95% CI)=0.905 (0.869-0.942)], followed by dilatation score [0.863 (0.818-0.907)] and giant score [0.835 (0.787-0.884)], whereas micro-hemorrhages [0.720 (0.662-0.779)] and ramifications scores [0.604 (0.539-0.670)] seemed to be the least accurate in identifying patients with an SSc spectrum disorder.

#### *ii. Intra- and inter-rater variability*

Intraclass correlation coefficient (ICC) for intra- and inter-rater variability analyses was very good for capillary loss score [intra- and inter-rater variability ICC (95% CI) 0.98 (0.93-0.99) and 0.97 (0.74-0.99), respectively], dilatation score [0.97 (0.93-0.99) and 0.94 (0.85-0.98), respectively], giant score [0.994 (0.985-0.998) and 0.98 (0.97-0.99), respectively] and microhemorrhages score [0.93 (0.84-0.97) and 0.94 (0.84-0.97), respectively]. Ramifications score, however, had only moderate inter observer reliability [0.52 (0.2-0.8)], despite a very good intra observer reliability [0.989 (0.971-0.995)]. Therefore, ramifications score was excluded from all further analyses in our study. The intra- and inter-rater proportion of agreement for the qualitative

assessment of a patient as belonging to the normal, or the early, active, or late SSc pattern was 90% and 85%, respectively.

*iii. Clinical correlations of capillaroscopic parameters in SSc patients, at baseline*

Associations of clinical characteristics of SSc patients with capillaroscopic features at baseline are shown in **table 3**. Univariate analysis revealed that worse pattern in NVC correlates with the diffuse disease subtype (dcSSc), current or past digital ulcers, need for vasodilatory treatment, higher mRSS and HAQ-DI score and lower FVC. Multivariate ordinal regression analysis, adjusted for age, gender and the clinical features found statistically significant in univariate analysis, confirmed the association of worse capillaroscopic pattern with higher mRSS ( $p=0.001$ ,  $B=0.141$ ,  $OR=1.15$ ), and digital ulcers ever in the disease course ( $p=0.024$ ,  $B=0.872$ ,  $OR=2.39$ ). In univariate linear regression analysis capillary loss score was shown to correlate with longer disease duration, dcSSc, current or past digital ulcers, higher mRSS, and vasodilatory treatment. Likewise, giant score was shown to correlate with current smoking, lower HAQ-DI score and a lower probability for ILD. Micro-hemorrhages score correlated positively with FVC and TLC-He. An inverse association was found with dcSSc, ILD and HAQ-DI score. Finally, dilatation score correlated positively with smoking and digital ulcers and negatively with age. Multiple linear regression, adjusted for age, gender and the variables each time found statistically significant in univariate analysis, confirmed a direct association of giant score with current smoking ( $p=0.028$ ,  $B=0.262$ ), of micro-hemorrhages score with TLC-He ( $p=0.035$ ,  $B=0.006$ ) and of dilatation score with younger age ( $p=0.030$ ,  $B=-0.007$ ), smoking ( $p=0.047$ ,  $B=0.248$ ) and also marginally with digital ulcers ( $p=0.092$ ,  $B=0.163$ ).

*iv. Consistency over time of clinical correlations of capillaroscopic findings in SSc patients at two different time-points*

To assess the consistency over time of correlations revealed between capillaroscopic findings and patients' clinical features, the same analysis as above was performed, at baseline and at follow-up, for 85 SSc patients with an available follow-up NVC, as shown in **table 4**. The best match was found for giant score, for which only the baseline association with ILD indicated by univariate analysis at baseline and shown to persist when adjusted for age and gender ( $p=0.005$ ,  $B=-0.328$ ) was not replicated at follow-up. A good match was also found for capillaroscopy pattern, for which

univariate analysis showed a significant correlation with dcSSc and mRSS, both at baseline and follow-up. However, an association with HAQ-DI score was present only at baseline. Multivariate analysis adjusted for age, gender and the variables that were significant in the univariate model, confirmed the correlation of capillaroscopy pattern with mRSS, both at baseline ( $p=0.004$ ,  $B=0.145$ ,  $OR=1.16$ ) and at follow-up ( $p=0.046$ ,  $B=0.085$ ,  $OR=1.09$ ) and with dcSSc at follow-up ( $p=0.022$ ,  $B=1.066$ ,  $OR=2.90$ ), but failed to confirm the association with dcSSc at baseline. In the case of capillary loss score, univariate associations with anti-Scl-70 positivity, need for vasodilation, current or past digital ulcers and mRSS were found only at follow-up, with the latter two being further confirmed by multivariate analysis. Micro-hemorrhages score correlated positively at baseline with TLC-He and FVC and inversely with dcSSc, anti-Scl-70 positivity and ILD, but these associations were not confirmed by multivariate analysis. On the contrary, at follow-up, a significant association of micro-hemorrhages score with digital ulcers persisted after adjustment for age and gender ( $p=0.048$ ,  $B=0.121$ ). Finally, in univariate analysis, dilatation score correlated significantly at baseline with current smoking, current or past digital ulcers and immunosuppressive treatment. Association with immunosuppressive treatment ( $p=0.015$ ,  $B=0.273$ ) remained significant, while that with digital ulcers ( $p=0.069$ ,  $B=0.197$ ) and current smoking status ( $p=0.062$ ,  $B=0.259$ ) became marginal after correcting for age and gender. At follow-up, dilatation score was found to correlate with age and digital ulcers in univariate analysis, with only digital ulcers remaining significant ( $p=0.006$ ,  $B=0.374$ ) after adjusting for age and gender.

*v. Evaluation of the predictive capacity of NVC in SSc patients*

Next we attempted to evaluate the ability of baseline NVC to predict the occurrence of a composite adverse disease outcome in SSc patients. Among 105 SSc patients attending our clinic for a follow-up evaluation and 10 additional patients deceased at follow-up, sufficient information to define occurrence of the composite outcome was provided for 94 subjects, who were included in the analysis. Mean $\pm$ SD time to follow-up for this population was 3.31 $\pm$ 1.40 years. Of the NVC parameters under study, only capillaroscopy pattern (active pattern:  $p=0.023$ ,  $OR=3.374$ , late pattern:  $p=0.007$ ,  $OR=6.400$ ) correlated significantly with the composite adverse disease outcome in univariate analysis. A multivariate model was constructed including capillaroscopy pattern, age, gender, disease subtype, disease duration, smoking,

vasoactive treatment, FVC and mRSS at baseline. As shown in **table 5**, SSc patients with active (OR=3.305, p=0.043) or late capillaroscopic pattern (OR=6.900, p=0.023) at baseline had higher risk for the composite adverse disease outcome, compared to patients with an early baseline pattern. In this model disease duration also displayed a negative correlation with the composite outcome (p=0.014, OR=0.991). No interaction existed between disease duration and capillaroscopy pattern in this model.

Finally, to detect possible correlations of baseline capillaroscopic features with death as an outcome in SSc patients, we performed univariate binary logistic regression analysis in 115 SSc patients for which follow-up survival data were available. After a mean±SD follow-up of 3.22±1.42 years no baseline NVC parameter was found to correlate significantly with death in univariate analysis and only a marginal inverse correlation was found for giant (p=0.076, OR=0.203) and micro-hemorrhages score (p=0.064, OR=0.074), which ceased to exist after adjusting for age, gender, disease duration, disease subtype, smoking, FVC, mRSS and vasoactive therapy at baseline.

## **Discussion**

In our study we confirm the importance of NVC in discriminating patients presenting RP in the context of the SSc spectrum of disorders from those with primary RP, non-SSc secondary RP and from healthy controls[11]. ROC curve analysis indicated that capillary loss score, followed by dilatation score and giant score, are the most reliable parameters in differentiating patients belonging to the SSc spectrum of disorders. By contrast, micro-hemorrhages and ramifications scores did not perform equally well. It is therefore conceivable that micro-hemorrhages and ramifications, which represent the most common capillaroscopic finding in systemic lupus erythematosus [12] and are also frequent in Sjögren's syndrome [13], rheumatoid arthritis [14,15] and diabetes mellitus [16] are less specific for the SSc spectrum of disorders compared to capillary loss, dilatation and giant capillaries.

Sekiyama et al. used ROC curve analysis to assess the diagnostic performance of the number of capillaries/mm as measured by NVC, in discriminating 101 SSc patients from 151 non-SSc patients (healthy controls, primary RP patients, and undifferentiated CTD patients) and reported an AUC of 0.894 (P < 0.001, 95% CI

0.850–0.938), which is comparable to the AUC=0.905 we found for capillary loss score[17]. In another interesting paper, Ingegnoli et al reported that only the presence of giant loops (HR 2.64) and microhemorrhages (HR 2.33) and the number of capillaries in NVC were significant for predicting the 5-year transition from primary RP to RP secondary to the SSc spectrum of disorders, whereas enlarged or branching loops and capillary disorganization were not [18]. In our study by contrast we showed that dilatation of capillary loops performs better than microhemorrhages in identifying patients with RP secondary to scleroderma. Finally, in a French-Italian study of 66 VEDOSS patients loop diameter and apex width were significantly higher among patients progressing to SSc (N=21) compared to non-progressors (N=45) [19].

In concert with the results of a previous study by Smith et al [20] our data show that the inter-rater ICC for capillary ramifications was 0.52, much lower than for all other qualitative and semi-quantitative assessments. Given this limitation, the fact that our protocol was configured in 2011, at a time when ramifications score was still considered a reliable parameter in capillaroscopy and the recent publication by the EULAR Study Group on Microcirculation in Rheumatic Diseases of an optimized set of simple definitions for describing capillary morphology (normal, abnormal, non-evaluable), with an excellent reliability, even among novice assessors [21,22], we decided to exclude ramifications score from all further analyses evaluating the clinical correlations and the predictive role of NVC in our study.

Previous studies have extensively investigated the cross-sectional correlations of capillaroscopy findings with clinical disease features in SSc [23]. Late scleroderma pattern and lower capillary density in NVC have been associated with dcSSc [24–27], anti-Scl70 positivity [24,25,27,28], longer disease duration [28], digital ulcers [24,26,28–32], more extensive skin [26,28,29], heart [26] and lung involvement [24,26,28,29,33–35] pulmonary arterial hypertension [24,34,36–38], muscle weakness, joint contractures, synovitis, tendon friction rubs, conduction blocks [24], esophageal dysmotility [28,33], acro-osteolysis and calcinosis on hand radiographs [39] and increased severity [29] or activity indices [24,26,40,41]. Our findings corroborate the association of worse NVC pattern with dcSSc (OR: 5.12), increased mRSS (OR: 2.86), decreased FVC (OR: 0.98), decreased DLCO (OR: 0.98) and current or past digital ulcers (OR: 2.86), as well as the association of capillary loss

score with dcSSc, higher mRSS and current or past digital ulcers. Regarding mega-capillaries, their presence in SSc has been associated with younger age, lower extent of reticular pattern on chest HRCT [29], and less risk for new digital ulcers [42]. Our results also indicate a marginally significant negative correlation of mega-capillaries with the presence of ILD on HRCT of the lungs and a marginal positive correlation with FVC.

To the best of our knowledge, this is the first study to explore the consistency over time of the correlations found between capillaroscopic features and clinical characteristics of SSc patients. Interestingly, clinical correlations derived from univariate and multivariate analysis at baseline and at follow-up did not coincide for most of the capillaroscopic indices investigated. The best match was found for giant score and capillaroscopy pattern. In our cohort a considerable proportion of SSc patients have been receiving immunosuppressive and/or vasodilating therapy. In fact, treatment with vasodilating agents was administered to 55 (48%) of the 115 SSc patients with follow-up data available, at baseline and to 65 patients (57 %) at follow-up. Endothelin receptor antagonists, alone or in combination with iloprost, have shown a beneficial effect on the structure and function of the microvasculature in SSc patients, promoting angiogenesis and leading to an increase in capillary number [43–45]. It is possible that the lack of consistency over-time in the correlations between capillaroscopic and clinical findings observed in our SSc cohort, could reflect the effect of treatment on the microvasculature of our patients, even more so since many of the capillaroscopic indices we examined showed an association with current use of vasodilation.

Our data show that after 3.31 years of follow-up, SSc patients with a late baseline NVC pattern had nearly 7-fold higher probability for disease deterioration or death, whereas those with an active baseline NVC pattern had nearly 3-times higher risk for this adverse outcome, compared to patients with an early baseline pattern. Disease duration also displayed a weak negative correlation with the composite adverse outcome in our predictive model. Since ours was not an incident cohort, some SSc cases with severe disease were not included, as they died early, thus causing the association of longer disease duration with better outcome to emerge.

Two previous large prospective studies evaluating the prognostic capacity of NVC with regard to disease progression in SSc have identified worsening baseline capillaroscopy pattern as an important determinant of new severe organ involvement in SSc patients, after a follow-up of 18-24 months [46,47]. By contrast, in a third study performed by Avouac et al. in a cohort of 140 French SSc patients followed up annually, both clinically and capillaroscopically for 3 years, the major prognostic capillaroscopic parameter predictive of overall disease progression was progressive loss of capillaries over time [42]. In this latter study progressive loss of capillaries over time was also associated with new digital ulcer occurrence, lung vascular progression, skin score deterioration and worsening of the Medsger severity score [42]. In our study we prospectively evaluated both capillaroscopy pattern and loss of capillaries and found a significant correlation of disease outcome at 3-years only with the active and late disease pattern, thus corroborating the findings of Smith et al. Moreover, in the studies by Smith et al. [46,47] the predictive model constructed using multiple logistic regression analysis, was adjusted only for disease duration, disease subset and vasoactive medication, whereas in our analysis we also corrected for age, gender, smoking and baseline clinical parameters, such as FVC and mRSS.

As far as mortality is concerned, we found no significant correlations of NVC parameters with death and only a trend towards lower mortality with increased giant and micro-hemorrhages score. A previous study in SSc patients reported an avascular score >1.5 as an independent predictor of death in multivariate analysis [48]. Other studies have identified an active NVC pattern [49] or an increased capillary loss [50–52] and capillary dilatation [50] at baseline as non-independent risk factors for mortality.

Our study has several limitations. First of all the wide range of follow-up time of our patients (18-73 months) could have affected the association of baseline capillaroscopic indices with future outcomes, as not all patients had the same timespan to develop the outcomes under study. As already mentioned, ours was not an inception cohort, therefore, patients with the most severe clinical course who died early, have been, a priori, excluded. In addition, the number of deaths that occurred in our cohort is small to allow for definitive conclusions regarding the role of NVC as a predictor of mortality in SSc. Finally, of the 138 patients originally enrolled in the



SSc group, 17% were lost to follow-up or declined re-evaluation, which represents a considerable rate of attrition.

### **Conclusions**

In this prospective study of primary and secondary RP patients, referred to our tertiary university rheumatology clinic for capillaroscopy, we confirmed the pivotal role of NVC in discriminating patients with the SSc spectrum of disorders from those with RP of other etiology and from controls. After comparing the diagnostic accuracy of the main 5 semi-quantitative components of NVC, we concluded that capillary loss score performs best for identifying RP patients with the SSc spectrum of disorders, followed by dilatation and giant score, while micro-hemorrhages and ramifications scores were not as useful. In addition, we showed that individual clinical correlations of NVC parameters change over time in SSc patients, possibly due to treatment effect on disease physical history. Finally, our data confirmed the predictive values of NVC in SSc patients, showing that active and late capillaroscopy pattern at baseline are prognostic of an adverse disease outcome.

**Declarations of Interest:** VK Bournia has received a grant from the Hellenic Society for Rheumatology

**Acknowledgment:** This work was supported by the Hellenic Society for Rheumatology. Publication of the manuscript was not conditional on any external approval.

## References

- [1] WIGLEY FM, FLAVAHAN NA: Raynaud's Phenomenon. *N Engl J Med* 2016;375:556–65.
- [2] RUARO B, SULLI A, SMITH V, PIZZORNI C, PAOLINO S, ALESSANDRI E, et al.: Advances in nailfold capillaroscopic analysis in systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord* 2018;3:122–31.
- [3] PAVLOV-DOLIJANOVIC S, DAMJANOV NS, STOJANOVIC RM, VUJASINOVIC STUPAR NZ, STANISAVLJEVIC DM: Scleroderma pattern of nailfold capillary changes as predictive value for the development of a connective tissue disease: A follow-up study of 3,029 patients with primary Raynaud's phenomenon. *Rheumatol Int* 2012;32:3039–45.
- [4] VAN DEN HOOGEN F, KHANNA D, FRANSEN J, JOHNSON SR, BARON M, TYNDALL A, et al.: 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An american college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2013;65:2737–47.
- [5] PAXTON D, PAULING JD: Does nailfold capillaroscopy help predict future outcomes in systemic sclerosis ? A systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum* 2018:1–13.
- [6] MINIER T, GUIDUCCI S, BELLANDO-RANDONE S, BRUNI C, LEPRI G, CZIRJÁK L, et al.: Preliminary analysis of the Very Early Diagnosis of Systemic Sclerosis (VEDOSS) EUSTAR multicentre study: evidence for puffy fingers as a pivotal sign for suspicion of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2014;73:2087–93.
- [7] CUTOLO M, SULLI A, PIZZORNI C, ACCARDO S: Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2000;27:155–60.
- [8] SULLI A, SECCHI ME, PIZZORNI C, CUTOLO M: Scoring the nailfold microvascular changes during the capillaroscopic analysis in systemic sclerosis patients. *Ann Rheum Dis* 2008;67:885–7.
- [9] SULIMAN YA, BRUNI C, JOHNSON SR, PRAINO E, ALEMAM M, BORAZAN N, et al.: Defining Skin Ulcers in Systemic Sclerosis: Systematic Literature Review and Proposed World Scleroderma Foundation (WSF) Definition. *J Scleroderma Relat Disord* 2017;2:115–20.
- [10] KHANNA D, FURST DE, CLEMENTS PJ, ALLANORE Y, BARON M, CZIRJAK L, et al.: Standardization of the modified Rodnan skin score for use in clinical trials of systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord* 2017;2:11–8.
- [11] BUKHARI M, HOLLIS S, MOORE T, JAYSON MI, HERRICK AL: Quantitation of microcirculatory abnormalities in patients with primary Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis by video capillaroscopy. *Rheumatology (Oxford)* 2000;39:506–12.
- [12] CUTOLO M, MELSENS K, WIJNANT S, INGEGNOLI F, THEVISSSEN K, DE KEYSER F, et al.: Nailfold capillaroscopy in systemic lupus erythematosus: A systematic review and critical appraisal. *Autoimmun Rev* 2018;17:344–52.
- [13] TEKTONIDOU M, KASKANI E, SKOPOULI FN, MOUTSOPOULOS HM: Microvascular abnormalities in Sjögren's syndrome: nailfold capillaroscopy. *Rheumatology (Oxford)* 1999;38:826–30.
- [14] SAG S, SAG MS, TEKEOGLU I, KAMANLI A, NAS K, AYDIN Y: Nailfold videocapillaroscopy results in patients with rheumatoid arthritis. *Clin*

- Rheumatol 2017;36:1969–74.
- [15] CUOMO G, FRONGILLO E, PIRRO L, MASTRO A DEL, ROMANO C: THU0098 The nailfold capillaroscopy in rheumatoid arthritis: quantitative analysis and clinical and serological correlation. Poster Present., vol. 76, BMJ Publishing Group Ltd and European League Against Rheumatism; 2017, p. 237.2-237.
- [16] UYAR S, BALKARLI A, EROL MK, YEŞİL B, TOKUÇ A, DURMAZ D, et al.: Assessment of the Relationship between Diabetic Retinopathy and Nailfold Capillaries in Type 2 Diabetics with a Noninvasive Method: Nailfold Videocapillaroscopy. *J Diabetes Res* 2016;2016:7592402.
- [17] SEKIYAMA JY, CAMARGO CZ, ANDRADE LEC, KAYSER C: Reliability of Widefield Nailfold Capillaroscopy and Videocapillaroscopy in the Assessment of Patients With Raynaud’s Phenomenon. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013;65:1853–61.
- [18] INGEGNOLI F, BORACCHI P, GUALTIEROTTI R, LUBATTI C, MEANI L, ZAHALKOVA L, et al. Prognostic model based on nailfold capillaroscopy for identifying Raynaud’s phenomenon patients at high risk for the development of a scleroderma spectrum disorder: PRINCE (Prognostic Index for Nailfold Capillaroscopic Examination). *Arthritis Rheum* 2008;58:2174–82.
- [19] VASILE M, AVOUAC J, SCIARRA I, STEFANANTONI K, IANNACE N, CRAVOTTO E, et al.: From VEDOSS to established systemic sclerosis diagnosis according to ACR/EULAR 2013 classification criteria: a French-Italian capillaroscopic survey. *Clin Exp Rheumatol n.d.*;36 Suppl 1:82–7.
- [20] SMITH V, PIZZORNI C, DE KEYSER F, DECUMAN S, VAN PRAET JT, DESCHEPPER E, et al.: Reliability of the qualitative and semiquantitative nailfold videocapillaroscopy assessment in a systemic sclerosis cohort: a two-centre study. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1092–6.
- [21] SMITH V, BEECKMAN S, HERRICK AL, DECUMAN S, DESCHEPPER E, DE KEYSER F, et al.: An EULAR study group pilot study on reliability of simple capillaroscopic definitions to describe capillary morphology in rheumatic diseases. *Rheumatology* 2016;55:883–90.
- [22] CUTOLO M, MELSENS K, HERRICK AL, FOELDVARI I, DESCHEPPER E, DE KEYSER F, et al.: Reliability of simple capillaroscopic definitions in describing capillary morphology in rheumatic diseases. *Rheumatology* 2018;57:757–9.
- [23] SOULAIPOPOULOS S, TRIANTAFYLLIDOU E, GARYFALLOS A, KITAS GD, DIMITROULAS T: The role of nailfold capillaroscopy in the assessment of internal organ involvement in systemic sclerosis: A critical review. *Autoimmun Rev* 2017;16:787–95.
- [24] INGEGNOLI F, ARDOINO I, BORACCHI P, CUTOLO M, AIRÒ P, ANANIEVA LP, et al.: Nailfold capillaroscopy in systemic sclerosis: Data from the EULAR scleroderma trials and research (EUSTAR) database. *Microvasc Res* 2013;89:122–8.
- [25] CUTOLO M, PIZZORNI C, TUCCIO M, BURRONI A, CRAVIOTTO C, BASSO M, et al.: Nailfold videocapillaroscopic patterns and serum autoantibodies in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2004;43:719–26.
- [26] CARAMASCHI P, CANESTRINI S, MARTINELLI N, VOLPE A, PIEROPAN S, FERRARI M, et al.: Scleroderma patients nailfold videocapillaroscopic patterns are associated with disease subset and disease severity. *Rheumatology* 2007;46:1566–9.

- [27] SATO LT, KAYSER C, ANDRADE LEC: Nailfold capillaroscopy abnormalities correlate with cutaneous and visceral involvement in systemic sclerosis patients. *Acta Reumatol Port* 2009;34:219–27.
- [28] BREDEMEIER M, XAVIER RM, CAPOBIANCO KG, RESTELLI VG, ROHDE LE PAIM, PINOTTI AFF, et al.: Nailfold capillary microscopy can suggest pulmonary disease activity in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2004;31:286–94.
- [29] DE SANTIS M, CERIBELLI A, CAVACIOCCHI F, CROTTI C, MASSAROTTI M, BELLOLI L, et al.: Nailfold videocapillaroscopy and serum VEGF levels in scleroderma are associated with internal organ involvement. *Auto- Immun Highlights* 2016;7:5.
- [30] HERRICK AL, MOORE TL, MURRAY AK, WHIDBY N, MANNING JB, BHUSHAN M, et al.: Nail-fold capillary abnormalities are associated with anti-centromere antibody and severity of digital ischaemia. *Rheumatology* 2010;49:1776–82.
- [31] ALIVERNINI S, DE SANTIS M, TOLUSSO B, MANNOCCI A, BOSELLO SL, PELUSO G, et al.: Skin ulcers in systemic sclerosis: Determinants of presence and predictive factors of healing. *J Am Acad Dermatol* 2009;60:426–35.
- [32] ENNIS H, MOORE T, MURRAY A, VAIL A, HERRICK AL: Further confirmation that digital ulcers are associated with the severity of abnormality on nailfold capillaroscopy in patients with systemic sclerosis. *Rheumatology* 2014;53:376–7.
- [33] MARINO CLAVERIE L, KNOBEL E, TAKASHIMA L, TECHERA L, OLIVER M, GONZALEZ P, et al.: Organ involvement in Argentinian systemic sclerosis patients with “late” pattern as compared to patients with “early/active” pattern by nailfold capillaroscopy. *Clin Rheumatol* 2013;32:839–43.
- [34] MARKUSSE IM, MEIJS J, DE BOER B, BAKKER JA, SCHIPPERS HPC, SCHOUFFOER AA, et al.: Predicting cardiopulmonary involvement in patients with systemic sclerosis: complementary value of nailfold videocapillaroscopy patterns and disease-specific autoantibodies. *Rheumatology* 2016;56:kew402.
- [35] CASTELLVÍ I, SIMEÓN-AZNAR CP, SARMIENTO M, FORTUNA A, MAYOS M, GELI C, et al.: Association between nailfold capillaroscopy findings and pulmonary function tests in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2015;42:222–7.
- [36] RICCIERI V, VASILE M, IANNACE N, STEFANANTONI K, SCIARRA I, VIZZA CD, et al.: Systemic sclerosis patients with and without pulmonary arterial hypertension: a nailfold capillaroscopy study. *Rheumatology* 2013;52:1525–8.
- [37] HOFSTEE HMA, NOORDEGRAAF AV, VOSKUYL AE, DIJKMANS BAC, POSTMUS PE, SMULDERS YM, et al.: Nailfold capillary density is associated with the presence and severity of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2009;68:191–5.
- [38] ONG YY, NIKOLOUTSOPOULOS T, BOND CP, SMITH MD, AHERN MJ, ROBERTS-THOMSON PJ: Decreased nailfold capillary density in limited scleroderma with pulmonary hypertension. *Asian Pacific J Allergy Immunol* n.d.;16:81–6.
- [39] MORARDET L, AVOUAC J, SAMMOUR M, BARON M, KAHAN A,

- FEYDY A, et al.: Late Nailfold Videocapillaroscopy Pattern Associated With Hand Calcinosis and Acro-Osteolysis in Systemic Sclerosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2016;68:366–73.
- [40] SAMBATARO D, SAMBATARO G, ZACCARA E, MAGLIONE W, POLOSA R, AFELTRA AM V, et al.: Nailfold videocapillaroscopy micro-haemorrhage and giant capillary counting as an accurate approach for a steady state definition of disease activity in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2014;16:462.
- [41] ANDRACCO R, IRACE R, ZACCARA E, VETTORI S, MAGLIONE W, RICCARDI A, et al.: The cumulative number of micro-haemorrhages and micro-thromboses in nailfold videocapillaroscopy is a good indicator of disease activity in systemic sclerosis: a validation study of the NEMO score. *Arthritis Res Ther* 2017;19:133.
- [42] AVOUAC J, LEPRI G, SMITH V, TONIOLO E, HURABIELLE C, VALLET A, et al.: Sequential nailfold videocapillaroscopy examinations have responsiveness to detect organ progression in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2017;47:86–94.
- [43] CUTOLO M, ZAMPOGNA G, VREMIS L, SMITH V, PIZZORNI C, SULLI A: Longterm Effects of Endothelin Receptor Antagonism on Microvascular Damage Evaluated by Nailfold Capillaroscopic Analysis in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol* 2013;40:40–5.
- [44] TROMBETTA AC, PIZZORNI C, RUARO B, PAOLINO S, SULLI A, SMITH V, et al.: Effects of Longterm Treatment with Bosentan and Iloprost on Nailfold Absolute Capillary Number, Fingertip Blood Perfusion, and Clinical Status in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol* 2016;43:2033–41.
- [45] CESTELLI V, MANFREDI A, SEBASTIANI M, PRAINO E, CANNARILE F, GIUGGIOLI D, et al.: Effect of treatment with iloprost with or without bosentan on nailfold videocapillaroscopic alterations in patients with systemic sclerosis. *Mod Rheumatol* 2017;27:110–4.
- [46] SMITH V, RICCIERI V, PIZZORNI C, DECUMAN S, DESCHEPPER E, BONROY C, et al.: Nailfold Capillaroscopy for Prediction of Novel Future Severe Organ Involvement in Systemic Sclerosis. *J Rheumatol* 2013;40:2023–8.
- [47] SMITH V, DECUMAN S, SULLI A, BONROY C, PIETTTE Y, DESCHEPPER E, et al.: Do worsening scleroderma capillaroscopic patterns, predict future severe organ involvement? A pilot study. *Ann Rheum Dis* 2012;71:1636–9.
- [48] KAYSER C, SEKIYAMA JY, PRÓSPERO LC, CAMARGO CZ, ANDRADE LEC. Nailfold capillaroscopy abnormalities as predictors of mortality in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol n.d.*;31:103–8.
- [49] Simeón CP, Armadans L, Fonollosa V, Solans R, Selva A, Villar M, et al. Mortality and prognostic factors in Spanish patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42:71–5.
- [50] SCUSSEL-LONZETTI L, JOYAL F, RAYNAULD J-P, ROUSSIN A, RICH E, GOULET J-R, et al.: Predicting mortality in systemic sclerosis: analysis of a cohort of 309 French Canadian patients with emphasis on features at diagnosis as predictive factors for survival. *Medicine (Baltimore)* 2002;81:154–67.
- [51] HISSARIA P, LESTER S, HAKENDORF P, WOODMAN R, PATTERSON K, HILL C, et al.: Survival in scleroderma: results from the population-based South Australian Register. *Intern Med J* 2011;41:381–90.

- [52] PAVAN TR, BREDEMEIER M, HAX V, CAPOBIANCO KG, DA SILVA MENDONÇA CHAKR R, XAVIER RM: Capillary loss on nailfold capillary microscopy is associated with mortality in systemic sclerosis. *Clin Rheumatol* 2018;37:475–81.

## Legends to the Figures

**Figure 1.** Patient flowchart showing recruitment, patient categorization at baseline and at follow-up of patients with Raynaud phenomenon referred to our tertiary university rheumatology clinic for nailfold video capillaroscopy.

**Figure 2.** ROC curves showing the accuracy of baseline capillaroscopic scores (capillary loss score, giant score, micro-hemorrhages score, ramifications score and dilatation score) in discriminating subjects with the scleroderma spectrum of diseases [Systemic sclerosis (SSc) and very early diagnosis of SSc] from patients with primary Raynaud phenomenon, non-SSc secondary Raynaud phenomenon and controls.

**Table 1.** Demographic features, autoantibody profile and capillaroscopic findings in 242 patients with systemic sclerosis (SSc), very early diagnosis of SSc (VEDOSS), Raynaud phenomenon secondary to connective tissue disease other than SSc (sRP), primary Raynaud phenomenon (pRP) and 62 healthy controls. Chi-square test and ANOVA with Bonferoni post hoc analysis was used for between group comparisons, as appropriate.

	SSc (N=138)	VEDOSS (N=12)	sRP (N=56)	pRP (N=36)	Controls (N=62)	SSc vs sRP P-value	SSc vs pRP P-value	SSc vs controls P-value
Age (mean±SD)	52.96± 14.062	42.17± 12.12	45.34± 13.18	36.56± 17.35	45.35± 15.47	0.010	<0.0001	0.015
Female gender N (%)	121 (88)	12 (100)	51 (91)	31 (86)	51 (82)	NS	NS	NS
Disease duration in years (mean±SD)	6.57±6.51	3.87±5.08	7.02±8.65	4.96±9.00	-	NS	NS	NS
ANA N (%)	125/129 (97)	12/12 (100)	33/51 (65)	0	-	<0.0001	-	-
ACA N (%)	22/129 (17)	7/12 (58)	4/51 (8)	0	-	NS	-	-
anti-Scl70 N (%)	70/126 (56)	3/12 (8)	2/35 (6)	0	-	<0.0001	-	-
smoking N (%)	24 (17)	5 (42)	24 (43)	8 (22)	15 (24)	<0.0001	NS	NS
packyears (mean±SD)	8.06±15.50	17.60±18.22	15.57±26. 11	4.44±9.41	4.05±7.80	NS	NS	NS
Capilla- roscopy pattern	normal N (%)	5 (4)	3 (25)	28 (56)	21 (58)	<0.0001	<0.0001	<0.0001
	early N (%)	33 (24)	5 (42)	22 (39)	12 (33)			
	active N (%)	70 (51)	4 (33)	6 (11)	3 (8)			
	late N(%)	30 (22)	0	0	0			
Capillary loss score (mean±SD)	1.58±0.42	1.04±0.38	0.88±0.46	0.80±0.34	0.46±0.26	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Giant score (mean±SD)	0.47±0.49	0.28±0.39	0.11±0.35	0.05±0.17	0.00±0.01	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Microhemorrhages score (mean±SD)	0.39±0.34	0.25±0.26	0.21±0.23	0.21±0.24	0.10±0.12	0.001	0.005	<0.0001
Ramifications score (mean±SD)	0.27±0.40	0.04±0.07	0.08±0.10	0.11±0.13	0.14±0.16	<0.0001	0.043	0.05
Dilatation score (mean±SD)	1.73±0.56	1.63±0.66	1.02±0.73	1.01±0.69	0.37±0.40	<0.0001	<0.0001	<0.0001



**Table 2.** Clinical features, lung function tests and treatment of patients in the systemic sclerosis [limited (lcSSc) and diffuse (dcSSc) cutaneous systemic sclerosis subtypes] and very early diagnosis of systemic sclerosis (VEDOSS), at baseline.

Disease Subgroup	Baseline (N=150)		
	lcSSc (N=87)	dcSSc (N=51)	VEDOSS (N=12)
mRSS (mean±SD)	4,49±3,62	12,08±8,82	0
Digital ulcers (anytime during disease course) (%)	33 (38)	29 (57)	0
Interstitial Lung Disease (%)	42/85 (49)	37/48 (77)	-
FVC (mean±SD)	92,77±17,08	79,32±19,21	110,00±8,19
FVC<80% (%)	16/83 (19)	21/50 (42)	0/3
TLC-He (mean±SD)	85,81±17,93	75,92±20,61	116,00
TLC-He<80% (%)	24/68 (35)	22/40 (55)	0/1
DLCO (mean±SD)	70,75 ±20,37	59,22±18,72	86,50±14,85
DLCO<80% (%)	50/72 (69)	38/43 (88)	1/2 (50)
RVSP>45mmHg (%)	4/80 (5)	3/51 (6)	0/4
ESR (mean±SD)	32,35±21,38	34,63±21,51	13,55±4,80
HAQ-DI score (mean±SD)	0,32±0,42	0,65±0,78	0,31±0,52
Vasoactive Treatment (%)	41 (47)	31 (61)	0
Immunosuppressive Treatment (%)	28 (34)	24 (47)	0

**Table 3.** Baseline correlations of capillaroscopic parameters with clinical and demographic features of SSc patients (N=138). Correlations by univariate analysis (ordinal logistic regression for capillaroscopy pattern and linear regression for each of the capillaroscopy scores under study) are shown; of them, those that remain significant in multivariate analysis are shown in bold. Number of patients with available data is shown in parenthesis.

	Capillaroscopy pattern	Capillary loss score	Giant score	Microhemorrhages score	Dilatation score
Age	NS	NS	p=0.073 B=-0.005	NS	<b>p=0.006**</b> <b>B=-0.009</b>
Male gender	NS	NS	NS	NS	NS
Disease duration	NS	p=0.046 B=0.001	NS	NS	NS
dcSSc disease subtype	p<0.0001 B=1.65 OR=5.12	p=0.035 B=0.156	NS	p=0.036 B=-0.127	NS
ACA+ (N=129)	NS	NS	p=0.087 B=0.196	NS	NS
Anti-Scl70+ (N=126)	NS	p=0.061 B=0.139	NS	NS	NS
Current smocking	NS	NS	<b>p=0.008<sup>s</sup></b> <b>B=0.289</b>	NS	p=0.009** B=0.328
Digital ulcers (ever)	<b>p=0.002*</b> <b>B=1.068</b> <b>OR=2.86</b>	p=0.004 B=0.206	NS	NS	p=0.014** B=0.234
mRSS	<b>p&lt;0.0001*</b> <b>B=0.163</b> <b>OR=2.86</b>	p=0.015 B=0.012	NS	NS	NS
RVSP>45mm Hg (N=131)	NS	NS	NS	NS	NS
DLCO <sub>CSB</sub> (N=115)	p=0.051 B=-0.017 OR=0.98	NS	NS	p=0.069 B=0.003	NS
TLC-He (N=108)	NS	NS	NS	<b>p=0.001<sup>#</sup></b> <b>B=0.006</b>	NS
FVC (N=133)	p=0.037 B=-0.018 OR=0.98	NS	p=0.051 B=0.004	p=0.004 B=0.004	NS
Interstitial Lung disease (N=133)	NS	NS	p=0.033 B=-0.181	p=0.012 B=-0.149	NS
ESR	NS	NS	NS	NS	p=0.095 B=-0.004
HAQ-DI score	p<0.0001 B=1.062 OR=3.042	NS	p=0.029 B=-0.156	p=0.022 B=-0.116	NS
Need for Vasodilation	p<0.013 B=0.825 OR=2.28	p=0.016 B=0.171	p=0.089 B=0.141	NS	p=0.057 B=0.182
Need for Immunosuppression	NS	NS	NS	NS	NS

\*Capillaroscopy pattern correlates significantly with mRSS ( $p=0.001$ ,  $B=0.141$ ,  $OR=1.151$ ) and digital ulcers ( $p=0.024$ ,  $B=0.872$ ,  $OR=2.391$ ) when adjusted for age, gender, disease subtype, FVC, HAQ-score and need for vasodilation ( $N=133$ )

§Giant score correlates significantly with current smoking status ( $p=0.028$ ,  $B=0.262$ ) when adjusted for age, gender, HAQ-DI score and interstitial lung disease on chest HRCT ( $N=133$ )

# Microhemorrhages score correlates significantly with TLC-He ( $p=0.035$ ,  $B=0.006$ ) when adjusted for age, gender, disease subtype, interstitial lung disease, FVC and HAQ-DI score ( $N=102$ )

\*\*Dilatation score correlates significantly with age ( $p=0.030$ ,  $B=-0.007$ ) and current smoking status ( $p=0.047$ ,  $B=0.248$ ) and marginally with digital ulcers ( $p=0.092$ ,  $B=0.163$ ) when adjusted for gender ( $N=138$ ).

**Table 4.** Lack of consistency between the majority of clinical correlations of capillaroscopic findings at baseline and after a mean±SD of 3.12±1.30 years in 85 SSc patients. Values shown in the table represent the results of univariate analysis (ordinal logistic regression for capillaroscopy pattern and linear regression for each of the 4 capillaroscopy scores under study). Correlations that remain significant in multivariate analysis are shown in bold. Number of patients with data available is shown in parenthesis

		Capillaroscopy pattern	Capillary loss score	Giant score	Microhemorrhages score	Dilatation score
Age	Baseline	NS	NS	NS	NS	NS
	Follow-up	NS	NS	NS	NS	p=0.013 B=-0.011
Male gender	Baseline	NS	NS	NS	NS	NS
	Follow-up	NS	NS	NS	NS	NS
Disease duration	Baseline	NS	p=0.079 B=0.0008	NS	NS	NS
	Follow-up	NS	NS	NS	NS	NS
dcSSc disease subtype	Baseline	p=0.007 B=1.277 OR=3.585	NS	NS	p=0.007 B=-0.206	NS
	Follow-up	<b>p=0.003*</b> <b>B=1.319</b> <b>OR=3.740</b>	p=0.058 B=0.145	NS	p=0.068 B=-0.099	NS
ACA+	Baseline (N=80)	NS	NS	NS	p=0.073 B=0.180	NS
	Follow-up (N=80)	NS	NS	NS	NS	NS
Anti-Sc170+	Baseline (N=78)	NS	NS	NS	p=0.014 B=-0.196	NS
	Follow-up (N=78)	NS	p=0.036 B=0.164	NS	p=0.068 B=-0.102	NS
Current smoking	Baseline	NS	NS	p=0.090 B=0.243	NS	p=0.033** B=0.305
	Follow-up	NS	NS	NS	NS	p=0.095 B=0.143
Digital ulcers (ever)	Baseline	NS	NS	NS	NS	p=0.017** B=0.264
	Follow-up	NS	<b>p&lt;0.0001#</b> <b>B=0.326</b>	p=0.061 B=0.185	<b>p=0.005<sup>s</sup></b> <b>B=0.111</b>	<b>p=0.001**</b> <b>B=0.450</b>
mRSS	Baseline	<b>p=0.001*</b> <b>B=0.153</b> <b>OR=1.165</b>	NS	NS	NS	p=0.099 B=0.016
	Follow-up	<b>p=0.009*</b> <b>B=0.108</b> <b>OR=1.113</b>	<b>p&lt;0.0001#</b> <b>B=0.029</b>	NS	NS	NS
RVSP>45mmHg	Baseline (N=81)	NS	NS	NS	NS	NS
	Follow-up (N=73)	NS	NS	NS	NS	NS
DLCOC <sub>SB</sub>	Baseline (N=72)	p=0.092 B=-0.020 OR=0.980	NS	p=0.092 B=0.005	p=0.073 B=0.004	NS

	Follow-up (N=72)	NS	NS	p=0.070 B=0.005	NS	NS
TLC-He	Baseline (N=68)	NS	NS	NS	p=0.005 B=0.007	NS
	Follow-up (N=66)	NS	NS	NS	NS	NS
FVC	Baseline (N=80)	p=0.098 B=-0.020 OR=0.980	NS	p=0.054 B=0.006	p=0.001 B=0.007	NS
	Follow-up (N=78)	NS	NS	NS	NS	NS
Interstitial Lung disease	Baseline (N=82)	NS	NS	<b>p=0.001<sup>&amp;</sup></b> <b>B=-0.328</b>	p=0.001 B=-0.255	NS
	Follow-up (N=81)	NS	NS	NS	NS	NS
ESR	Baseline	NS	NS	NS	NS	NS
	Follow-up	p=0.060 B=0.024 OR=1.02	NS	NS	NS	NS
HAQ-DI score	Baseline	p=0.043 B=0.829 OR=2.29	NS	NS	p=0.063 B=-0.127	NS
	Follow-up	NS	NS	NS	NS	NS
Need for vasodilation	Baseline	NS	p=0.090 B=0.135	NS	NS	NS
	Follow-up	NS	p=0.003 B=0.226	NS	NS	NS
Need for Immunosuppression	Baseline	p=0.073 B=0.797 OR=2.22	NS	NS	NS	<b>p=0.013<sup>**</sup></b> <b>B=0.282</b>
	Follow-up	p=0.064 B=0.778 OR=2.18	NS	NS	NS	NS

\*At baseline capillaroscopy pattern correlates significantly with mRSS (p=0.004, B=0.145, OR=1.156) when adjusted for age, gender, disease subtype and HAQ-DI score (N=85). At follow-up capillaroscopy pattern correlates significantly with mRSS (p=0.046, B=0.085, OR=1.09) and disease subtype (p=0.022, B=1.066, OR=2.90) when adjusted for age and gender (N=85)

<sup>#</sup> At follow-up capillary loss score correlates significantly with digital ulcers (p=0.001, B=0.282) and mRSS (p=0.011, B=0.019) when adjusted for age, gender, need for vasodilation and anti-Scl70 positivity (N=78)

<sup>&</sup> At baseline giant score correlates significantly with interstitial lung disease (p=0.005, B=-0.328) when adjusted for age and gender (N=82)

<sup>§</sup>At follow-up micro-hemorrhages score correlates significantly with digital ulcers (p=0.048, B=0.121) when adjusted for age and gender (N=85)

<sup>\*\*</sup> At baseline dilatation score correlates significantly with immunosuppressive treatment (p=0.015, B=0.273) and marginally with digital ulcers (p=0.069, B=0.197) and current smoking status (p=0.062, B=0.259) when adjusted for age and gender (N=85). At follow-up dilatation score correlates significantly with digital ulcers (p=0.006, B=0.374) when adjusted for age and gender (N=85)

**Table 5.** Occurrence of a composite adverse disease outcome (FVC deterioration >10% and/or DLCO deterioration >15% and/or mRSS deterioration >3.5 and/or new digital ulcer formation in patients without prior such history and/or death) after a mean±SD follow-up of 3.31±1.40 years in 94 SSc patients can be predicted by baseline capillaroscopy pattern, as shown by multivariate binary logistic regression analysis.

	p-value	Odds Ratio	95% CI	
Male gender	0.272	2.413	0.502	11.600
Age	0.309	1.018	0.984	1.054
dcSSc disease subtype	0.632	1.322	0.422	4.143
<b>Disease duration</b>	<b>0.014</b>	<b>0.991</b>	<b>0.984</b>	<b>0.998</b>
<b>Capillaroscopy pattern</b>	<b>Active (vs. early)</b>	<b>0.043</b>	<b>3.305</b>	<b>1.037</b>
	<b>Late (vs. early)</b>	<b>0.023</b>	<b>6.900</b>	<b>1.305</b>
Smoking at baseline	0.406	1.736	0.472	6.387
Need for vasodilation at baseline	0.812	0.888	0.334	2.361
FVC at baseline	0.716	0.995	0.969	1.022
mRSS at baseline	0.314	1.049	0.560	1.151

Figure 1.

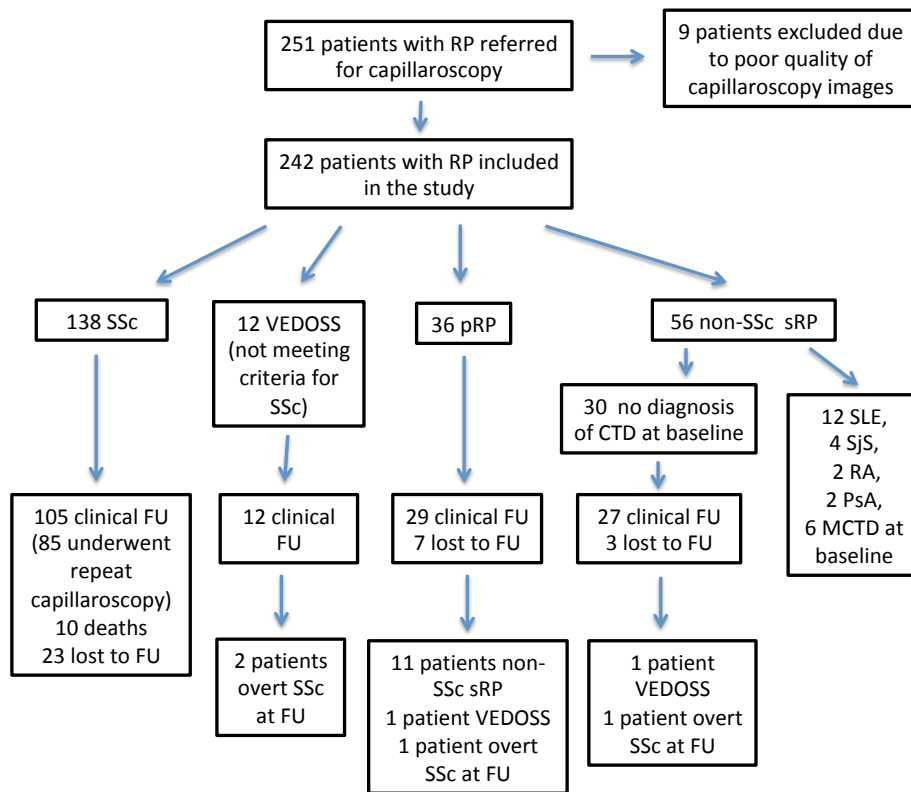
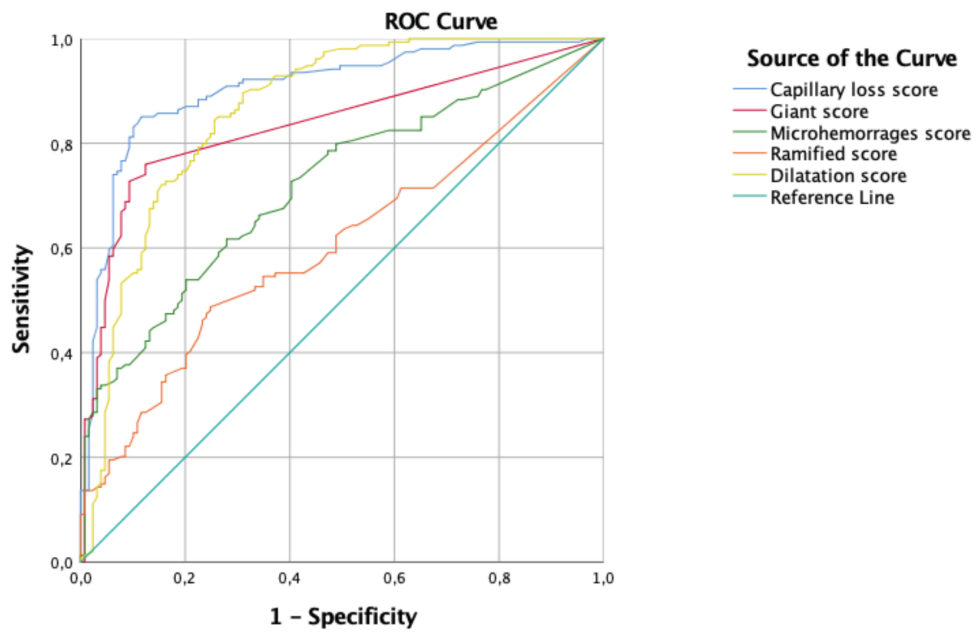


Figure 2.



	AUC	95% CI	P-value	Cutoff	Sensitivity	Specificity
Capillary loss score	0.905	0.869-0.942	< <b>0.0001</b>	1.105	85.7%	85.3%
Dilatation score	0.863	0.818-0.907	< <b>0.0001</b>	1.089	81.8%	75.2%
Giant Score	0.835	0.787-0.884	< <b>0.0001</b>	0.021	76.0%	87.6%
Microhemorrhages score	0.720	0.662-0.779	< <b>0.0001</b>	0.167	66.2%	65.9%
Ramification score	0.604	0.539-0.670	<b>0.003</b>	0.083	57.1%	54.3%