

Avances en la Clasificación, Inmunopatogenia y Tratamiento de la Esclerodermia

Johanna Roa A.
Becada de Inmunología Clínica, Universidad de Chile

Summary

Sclerodermy is a systemic disorder characterized by an excessive deposit of collagen at a cutaneous and visceral level, linked to vascular abnormalities, including vessel spasm and microvascular obliteration. The cause of this disease is still unknown. Sclerodermy comprises a wide spectrum of alterations that range from Raynaud's disease to localized forms of cutaneous fibrosis and the most significant forms of systemic sclerosis.

Recently there have been changes in the evaluation of the natural history of the disease, and the classification and advances in the development of new organ-specific therapies. It is a fact that the knowledge of the immunopathogenesis of this entity is fundamental for discovering and implementing new therapeutic alternatives.

Extracellular matrix overproduction by the fibroblasts is the main indicator of sclerodermy. Collagen accumulation is the result of an abnormal interaction between three main cell types: endothelial cells, mononuclear cells (lymphocytes, monocytes) and fibroblasts, in a context of vascular hyperreactivity and tissue hypoxia. Many autoantibodies have been identified in the serum of patients with sclerodermy. These autoantibodies can be helpful for defining the clinical subgroup of the disease whose pathogenic role is still uncertain.

We present a general review of the recent changes in the concepts of classification, immunopathogenesis and sclerodermy treatment.

Key words: *Sclerodermy, systemic sclerosis, immunopathogenesis, classification, treatment.*

INTRODUCCION

La esclerodermia es un desorden sistémico caracterizado por un depósito excesivo de colágeno a nivel cutáneo y visceral, asociado a anomalías vasculares, incluyendo vasoespasmo y oclusión microvascular (1). El término esclerodermia es utilizado en forma genérica para describir tanto la enfermedad limitada a la piel (esclerodermia localizada) como aquella con compromiso orgánico (esclerosis sistémica-ES).

La esclerodermia presenta una edad de inicio máxima entre los 35 a 65 años, con una relación mujer:hombre de aproximadamente 10:1 (1, 2). La causa de esta enfermedad es aún desconocida. Se ha propuesto que la alorreactividad, junto con factores genéticos y ambientales podría contribuir a la susceptibilidad individual para el desarrollo de esta entidad (1-3).

Recientemente se han producido cambios en la clasificación de la enfermedad, la evaluación de su historia natural y avances en la investigación de nuevos tratamientos órgano-específicos. Es probable que próximos estudios clínicos transformen el manejo de la esclerosis sistémica y ayuden a disipar su reputación como una de las enfermedades reumatológicas menos tratables. El conocimiento de la inmunopatogenia de esta entidad es fundamental para el desarrollo de nuevas alternativas.

La sobreproducción de matriz extracelular por parte de los fibroblastos es el principal marcador de la esclerodermia. La acumulación de colágeno es resultado de una interacción anormal entre las células endoteliales, las células mononucleares (linfocitos y monocitos) y los fibroblastos, lo que conduce a la producción de citoquinas inductoras de fibrosis, en un contexto de hiperreactividad vascular e hipoxia tisular (3, 4). Por otro lado, han sido identificados numerosos autoanticuerpos en el suero de pacientes con esclerodermia; sin embargo, su rol patogénico permanece incierto.

CLASIFICACION DE LA ENFERMEDAD

Los límites tradicionales entre los diferentes subgrupos clínicos de la esclerodermia no son tan claros; no obstante, los principios básicos de la antigua clasificación aún se conservan (5). La mayor distinción existe entre los pacientes con formas de esclerosis con compromiso cutáneo localizado y aquellas con compromiso visceral. Sin embargo, se ha observado que algunos individuos con esclerosis sistémica desarrollan una o más placas de esclerodermia localizada, generalmente placas de morfea, y, por otra parte, se ha reportado que algunos pacientes con esclerodermia localizada típica desarrollan características serológicas de un compromiso sistémico u otra enfermedad autoinmune, por ejemplo, el lupus eritematoso sistémico (6).

En la esclerosis sistémica, la extensión del compromiso cutáneo define el subtipo clínico de la enfermedad. Los pacientes con compromiso de la piel proximal al cuello, codos o rodillas presentan esclerosis sistémica cutánea variedad difusa (EScd), mientras que aquellos con compromiso sólo distal a esos sitios corresponden a esclerosis sistémica cutánea variedad limitada (EScl); este último grupo ha sido también llamado síndrome de CREST en Estados Unidos (del inglés *calculosis, Raynaud's, esophageal dysmotility, sclerodactyly, telangiectasis*). Sin embargo, esta terminología es cada vez menos utilizada, ya que muchas veces los pacientes no desarrollan todas las características de CREST o evolucionan con complicaciones orgánicas no consideradas en esta denominación, tales como hipertensión o fibrosis pulmonar (7).

Por otro lado, se ha descrito que un subgrupo de pacientes que presentan clínicamente un fenómeno de Raynaud aislado, tienen evidencias de microvasculopatía basados en los hallazgos de la capilaroscopia o en la presencia de anticuerpos antinucleares séricos positivos. Diferentes estudios sugieren que estos casos pueden progresar y desarrollar una enfermedad del tejido conectivo bien definida en un porcentaje que varía entre un 10% a 20% (7, 8).

Algunos autores han sugerido que la presencia de una capilaroscopia compatible con esclerodermia o de autoanticuerpos contra antígenos marcadores de la enfermedad, identifica a un subgrupo de pacientes que pueden desarrollar más tarde características clínicas de esclerosis sistémica cutánea variedad limitada (EScl) y, basados en la ausencia de cambios cutáneos al momento de presentación, se ha propuesto para este grupo la denominación de "esclerosis sistémica limitada" (9), la cual aún es controversial. Más ampliamente aceptado es el término de esclerosis sistémica sin esclerodermia para definir al pequeño número de pacientes en quienes se demuestran caracte-

rísticas vasculares y serológicas de esclerosis sistémica cutánea difusa (EScd), pero no presentan compromiso cutáneo (10).

Por otro lado, se ha determinado que el valor predictivo negativo de una capilaroscopia normal y la ausencia de autoanticuerpos es muy elevado, por lo que prácticamente podría ser considerado que aquellos pacientes con ambos tests negativos en dos evaluaciones, con 12 meses de diferencia, muy probablemente no desarrollarán ningún problema adicional (7). Esto puede ser sumado a otras características tranquilizadoras que orienten a fenómeno de Raynaud primario, tales como historia familiar, predisposición en mujeres, inicio en la adolescencia, compromiso simétrico y ausencia de necrosis o gangrena (7, 8).

La clasificación actualizada del espectro de la esclerodermia se muestra en la Tabla 1 (7):

TABLA 1.
ESPECTRO DE DESORDENES DE LA
ESCLERODERMIA

- **Fenómeno de Raynaud**
 - Fenómeno de Raynaud primario
 - Fenómeno de Raynaud secundario
- **Esclerosis sistémica**
 - Esclerosis sistémica limitada
 - Esclerosis sistémica cutánea limitada
 - Esclerosis sistémica cutánea difusa
 - Esclerosis sistémica sin esclerodermia
- **Esclerodermia localizada**
 - Placa morfea
 - Esclerodermia lineal
 - En golpe de sable (en *coup de sabre*)

INMUNOPATOGENIA

La patogenia de la esclerodermia presenta fundamentalmente tres fases (7):

i. **Vasculopatía:** Tanto funcional como estructural, la que se expresa clínicamente como fenómeno de Raynaud y patológicamente se manifiesta como una injuria y activación de la célula endotelial.

ii. **Inflamación:** Corresponde a un infiltrado perivascular inicialmente de monocitos/macrófagos, y luego de múltiples tipos celulares.

iii. **Fibrosis:** En esta tercera fase de la enfermedad se observa un aumento del depósito de componentes de la

matriz extracelular, con la consiguiente destrucción de la arquitectura tisular normal, lo que constituye la base para la disfunción de los órganos y tejidos comprometidos.

Como se mencionó anteriormente, la interacción anormal entre las células endoteliales, mononucleares y fibroblastos conduce a la producción de citoquinas inductoras de fibrosis, lo que asociado a la hiperreactividad vascular existente, genera un exceso de producción de colágeno (3, 4). Estudios experimentales recientes se han enfocado en la identificación de las vías mediante las cuales los diferentes componentes celulares interactúan y participan en la patogenia de la esclerodermia. Se han identificado algunos de los componentes de la compleja cascada de mediadores primarios y secundarios, tales como factor de crecimiento transformante- β (TGF- β), factor de crecimiento del tejido conectivo (FCTC), factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP), la endotelina-1 (ET-1) y otras citoquinas y quimioquinas (7, 11). Es probable que la interacción entre estos factores, junto con las diferencias individuales en las formas de esta interacción, dé cuenta de las bases biológicas para la gran heterogeneidad de esta enfermedad (7).

Fibroblastos: Los fibroblastos se encuentran activados y producen cantidades excesivas de proteínas de la matriz extracelular, tales como colágeno I, III, V, VI y VII, tenascina, proteoglicanos, fibronectina y fibrilarina-1 (12). Los miofibroblastos, los cuales se diferencian a partir de los fibroblastos, son los principales responsables por el incremento en la producción de colágeno (13). La síntesis de colágeno es dependiente de TGF- β , citoquina producida por los fibroblastos y las células endoteliales, y de FCTC, sintetizada por los fibroblastos bajo la influencia de TGF- β . Por lo tanto, el TGF- β juega un rol importante en el inicio y desarrollo de fibrosis, mientras que el FCTC es responsable principalmente de la mantención de las lesiones fibróticas (14,15). Los fibroblastos en pacientes con esclerodermia también producen grandes cantidades de interleuquina-6 (IL-6), IL-8 y FCDP, las cuales contribuyen a aumentar la síntesis de matriz extracelular de manera autocrina (4).

Células endoteliales: El endotelio es el blanco de la injuria inmune-inflamatoria que conduce a desregulación del control del tono vascular y desorganización progresiva de la arquitectura vascular, proliferación de células endoteliales (CE), engrosamiento de la íntima y oclusión vascular (15). Este fenómeno conduce a un aumento de la permeabilidad vascular y formación de un infiltrado inflamatorio perivascular, contribuyendo al comienzo de la fibrosis. La disfunción vascular endotelial en estos

pacientes se caracteriza por incremento de los mediadores vasoconstrictores, tales como ET-1, y disminución de la producción de prostaciclina, un vasodilatador derivado del endotelio. La ET-1 tiene efectos profibróticos potentes, estimulando la biosíntesis de matriz extracelular y reduciendo la producción de enzimas que participan en la degradación de ésta. Además incrementa la diferenciación de miofibroblastos. Estos efectos serían mediados vía receptor de ET-1, específicamente los subtipos ETA y ETB (16, 17).

Diferentes factores citotóxicos solubles, tales como granzima-A, citoquinas proinflamatorias, anticuerpos contra células endoteliales (AcCE) y quimioquinas como MCP-1 (proteína quimioattractante de monocitos tipo 1) podrían contribuir a la activación de la CE (3).

Mastocitos: Los mastocitos se localizan junto con los miofibroblastos en las fases iniciales de las lesiones cutáneas en la esclerodermia, y se encuentran frecuentemente degranulados (18). Los mastocitos activan la proliferación de fibroblastos y miofibroblastos a través de la secreción de histamina y triptasa, estimulando aún más la síntesis de colágeno (19). En una fase temprana de las lesiones en esclerosis sistémica, los fibroblastos sobreexpresan el factor de células madre (*stem cell factor*), una citoquina que promueve el desarrollo de mastocitos (15).

Linfocitos y microquimerismo: Por otro lado, las células mononucleares, principalmente linfocitos T, son detectadas en las fases tempranas de la enfermedad, previo al desarrollo de lesiones fibróticas o vasculares en la piel y los pulmones. Se ha evidenciado que los linfocitos T que infiltran la piel de pacientes con esclerosis sistémica son oligoclonales, sugiriendo que existe una proliferación *in situ* y probablemente patogénica (20, 21). Algunas evidencias sugieren que la activación de las células T es gatillada por un antígeno específico, aunque el o los antígenos que conducen a esta expansión clonal de linfocitos T son aún desconocidos (20). Sin embargo, han sido propuestos algunos posibles antígenos de esclerodermia, ya sea relacionados con microquimerismo, autoantígenos y/o con infecciones virales.

En primer lugar, el microquimerismo es reflejado por la presencia de pequeñas proporciones de células fetales en la sangre periférica y la piel de mujeres con SSc que habían tenido un embarazo previamente (22-24). Además, también se han identificado pequeñas proporciones de células maternas en la sangre periférica de mujeres con ES sin embarazos previos o en varones con ES (25, 26).

Se ha propuesto que la ES en mujeres con embarazos previos es causada por una enfermedad injerto (células fetales) versus huésped (madre) crónica que se manifestaría como ES (22-26). En otras palabras, la ES en mujeres con antecedentes de embarazos es iniciada por activación de linfocitos T de origen fetal en respuesta a antígenos maternos o estímulos antigénicos desconocidos, o por quiebre de la tolerancia que controla el microquimerismo (la coexistencia de células maternas o células fetales), resultando en la inducción de una enfermedad injerto versus huésped crónica fetal antimaterna. De manera similar, las células T de origen materno pueden ser activadas, resultando en inducción de una reacción injerto versus huésped crónica materna antifetal, lo cual se manifestaría como ES en mujeres sin historia de embarazos o en varones (22-26).

Este concepto es consistente con las características clínicas, patológicas y el perfil serológico que son compartidos entre pacientes con enfermedad injerto versus huésped y aquellos con ES, incluyendo fibrosis, proliferación fibrointimal microvascular y producción de autoanticuerpos (27). Sin embargo, son necesarios más estudios para confirmar este concepto.

En segundo lugar, se ha descrito que la enzima DNA topoisomerasa I genera una respuesta tanto humoral como celular en pacientes con ES (28, 29), lo que sugiere que esta enzima actuaría como un autoantígeno. También se ha sugerido al citomegalovirus (CMV) como agente causal de la ES, dados los altos niveles de anticuerpos anti-CMV encontrados en pacientes con ES, y la existencia de importantes similitudes entre la vasculopatía producida por este virus y la encontrada en la ES (30, 31). Por último, se ha identificado la existencia de mimetismo molecular, definido como la presencia de epítopes comunes entre microorganismos y proteínas del huésped, entre secuencias peptídicas de la proteína UL70 del CMV y la topo I (30, 31). Los linfocitos T que reconocen determinantes o epítopes virales pueden también reconocer, por mimetismo molecular, epítopes del huésped que son compartidos por el virus, lo que puede dar como resultado el desarrollo de enfermedad autoinmune. De esta manera, el mimetismo molecular podría jugar un rol importante en la patogénesis de la ES. Este mecanismo también ha sido descrito para algunos retrovirus (32).

Autoanticuerpos: En la mayoría de los pacientes con ES se detectan autoanticuerpos contra componentes celulares. Tres de estos autoanticuerpos son específicos de la enfermedad; anticentrómero (ACA) antitopoisomerasa-I (también conocido como anti-Scl-70) y anti-RNA polimerasa III. Se han detectado otros tipos de autoanticuerpos dirigidos contra estructuras nucleolares, citoplasmáticas,

de membrana, componentes de la matriz extracelular, fibroblastos y/o CE (3, 33).

Topoisomerasa-1 es una proteína involucrada en la regulación del enrollamiento del ácido desoxirribonucleico (DNA). Está presente en el suero de 30%-70% de los pacientes con ESc difusa, y se asocia fuertemente con el riesgo de desarrollar fibrosis pulmonar (3, 34). Por otro lado, los ACA son detectados en 22%-40% de los pacientes con ESc y más frecuentemente en aquellos con la variedad limitada (35). Aunque bastante específicos, es importante destacar que los ACA se encuentran ocasionalmente en otras enfermedades autoinmunes. Los anticuerpos anti-RNA polimerasa III, una de las enzimas involucradas en la transcripción del DNA, se encuentran en un 4%-33% de los pacientes con ES difusa y se asocian con compromiso renal, representando un marcador de mal pronóstico (36).

Entre los anticuerpos no específicos se han detectado, entre otros, anticuerpos antifibrilarina, proteína localizada en la ribonucleoproteína U3 (un complejo proteico involucrado en la síntesis de RNA), los cuales se asocian con compromiso cutáneo difuso, gastrointestinal e hipertensión pulmonar (37).

Existe una variedad de características comunes entre las formas localizada y sistémica de la esclerodermia. La patología de ambos procesos involucra cambios vasculares con la activación de las células endoteliales y daño microvascular. Más tarde, existe una fase inflamatoria con infiltrado de células mononucleares. La sobreexpresión de un número de factores de crecimiento y citoquinas, incluyendo TGF- β y factor de crecimiento del tejido conectivo, es común a ambos procesos. Posteriormente, la fase esclerótica de la esclerodermia localizada semeja la lesión fibrótica establecida de la esclerosis sistémica, predominando la activación de fibroblastos y miofibroblastos. Además, existen características serológicas comunes a las dos condiciones, incluyendo la presencia de anticuerpos antinucleares y en ocasiones la presencia de autoanticuerpos marcadores de esclerodermia (38). Además, se ha demostrado la existencia de reactividad contra componentes de la matriz extracelular, incluyendo fibrilarina-1, tanto en esclerodermia localizada como en la forma sistémica (39). Por lo tanto, estas características comunes sugieren la existencia de mecanismos inmunopatogénicos similares entre estas entidades.

NUEVAS TERAPIAS

El tratamiento de los pacientes con esclerodermia es sintomático y orientado al órgano específico comprometido.

El fenómeno de Raynaud puede responder parcialmente a vasodilatadores, tales como bloqueadores de los canales de calcio. Las úlceras digitales isquémicas pueden ser tratadas con bloqueo simpático, infusión de prostaciclina y cuidado cutáneo meticuloso (1). Recientemente, se ha propuesto que un agente bloqueador del receptor de endotelina tendría un rol en la prevención de nuevas úlceras digitales y en mejorar la función manual en los pacientes con ES (40). Aproximadamente 30% de los pacientes con esclerosis sistémica desarrollarán compromiso respiratorio clínicamente significativo; por lo tanto, es fundamental para complementar la evaluación clínica el realizar periódicamente test de función pulmonar y otros estudios, tales como tomografía axial computarizada de alta resolución para evaluar la existencia de fibrosis pulmonar y el ecocardiograma Doppler para la detección de hipertensión pulmonar (7). El tratamiento del compromiso pulmonar en esclerosis sistémica se ha beneficiado de los avances en otras ramas de la neumología, especialmente del manejo de la hipertensión arterial. Sin embargo, no existen tratamientos de probada eficacia. La mayor cantidad de evidencias sobre efectividad se encuentran en relación al uso de la ciclofosfamida, donde muchos estudios muestran estabilización o incluso mejoría, principalmente en casos que son activos o progresivos (7). No obstante, aún no existe ningún estudio prospectivo placebo-control. Actualmente, se están realizando dos estudios de este tipo, uno en el Reino Unido, que compara ciclofosfamida endovenosa intermitente, y el otro en Norteamérica, que evalúa ciclofosfamida oral versus placebo (7). Por otro lado, algunos estudios han confirmado la eficacia de análogos de prostaciclina parenteral o inhalada y también un antagonista oral del receptor de endotelina-1. Ambas terapias tienen actualmente licencia para su uso, ya sea en hipertensión pulmonar primaria o asociada a enfermedades del tejido conectivo (7, 40, 41).

En cuanto al compromiso renal, la complicación más temida es la conocida como crisis renal, la cual se puede observar en aproximadamente 12% de los casos de EScl y 2% de los casos de EScl. El uso rutinario de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) ha disminuido la mortalidad desde un 76% a menos del 15%. Se han implicado ciertas drogas como precipitantes de una crisis renal, tales como la ciclosporina y los corticoides (42).

CONCLUSION

En esta revisión se da una visión global de los recientes cambios en los conceptos de la clasificación, la inmu-

nopatogenia y el tratamiento de la esclerodermia. Existe una gran cantidad de líneas de investigación sobre estos aspectos, lo que ha conducido al desarrollo de potenciales tratamientos para esta enfermedad. De esta manera, a pesar de que no existe actualmente una terapia definitiva para la esclerodermia, ésta no debe considerarse como una enfermedad intratable. Indudablemente son necesarios más estudios para comprender a cabalidad la patogénesis de la enfermedad, los que eventualmente ayudarán a identificar nuevos blancos terapéuticos a futuro.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Brasington R, Kahl L, Ranganathan P et al. Immunologic rheumatic disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111(2):593-601.
2. Smith M. Esclerodermia. En: Lahita R (editor). *Tratado de enfermedades autoinmunitarias*. 1ª ed. McGraw-Hill Interamericana; 2002, págs. 595-606.
3. Tamby MC, Chanseaud Y, Guillevin L, Mouthon L. New insights into pathogenesis of systemic sclerosis. *Autoimmunity Reviews* 2003; 2(3):152-157.
4. Mouthon L, Garcia De La Pena-Lefebvre P, Chanseaud Y, Tamby MC, Boisier MC, Guillevin L. Pathogenesis of systemic sclerosis: immunological aspects. *Ann Med Interne (Paris)* 2002; 153(3):167-78.
5. No authors listed. 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; 23(5):581-90.
6. Auzary C, Mouthon L, Soilleux M, Cohen P, Boiron P, Guillevin L. Localized subcutaneous Nocardia farcinica abscess in a woman with overlap syndrome between systemic sclerosis and polymyositis. *Ann Med Interne (Paris)* 1999; 150(7):582-4.
7. Denton CP y Black CM. Scleroderma: clinical and pathological advances. *Best Pract Res Clin* 2004; 18(3):271-290.
8. Wigley F. Raynaud's Phenomenon. *N Engl J Med* 2002; 347(13):1001-08.
9. LeRoy EC y Medsger TA Jr. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001; 28(7):1573-6.
10. Poormoghim H, Lucas M, Fertig N, Medsger TA Jr. Systemic sclerosis sine scleroderma: demographic, clinical, and serologic features and survival in forty-eight patients. *Arthritis Rheum* 2000; 43(2):444-51.
11. Pannu J y Trojanowska M. Recent advances in fibroblast signaling and biology in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16(6):739-45.
12. Varga J y Bashey RI. Regulation of connective tissue synthesis in systemic sclerosis. *Int Rev Immunol* 1995; 12(2-4):187-99.
13. Bogatkevich GS, Tourkina E, Silver RM, Ludwicka-Bradley A. Thrombin differentiates normal lung fibroblasts to a myofibroblast phenotype via the proteolytically activated receptor-1 and a protein kinase C-dependent pathway. *J Biol Chem* 2001; 276(48):45184-92.
14. Querfeld C, Eckes B, Huerkamp C, Krieg T, Sollberg S. Expression of TGF-beta 1, -beta 2 and -beta 3 in localized and systemic sclerosis. *J Dermatol Sci* 1999; 21(1):13-22.
15. Yamamoto T, Katayama I, Nishioka K. Expression of stem cell factor in the lesional skin of systemic sclerosis. *Dermatology* 1998; 197(2):109-14.
16. Mayes MD. Endothelin and endothelin receptor antagonists in systemic rheumatic disease. *Arthritis Rheum* 2003; 48(5):1190-9.
17. Hachulla E y Coghlan JG. A new era in the management of pulmonary arterial hypertension related to scleroderma: endothelin receptor antagonism. *Ann Rheum Dis*. 2004; 63(9):1009-14.
18. Akimoto S, Ishikawa O, Igarashi Y, Kurosawa M, Miyachi Y. Dermal mast cells in scleroderma: their skin density, tryptase/chymase phenotypes and degranulation. *Br J Dermatol* 1998; 138(3):399-406.

19. Gailit J, Marchese MJ, Kew RR, Gruber BL. The differentiation and function of myofibroblasts is regulated by mast cell mediators. *J Invest Dermatol* 2001; 117(5):1113-9.
20. Sakkas LI, Xu B, Artlett CM, Lu S, Jimenez SA, Platsoucas CD. Oligoclonal T cell expansion in the skin of patients with systemic sclerosis. *J Immunol* 2002; 168(7):3649-59.
21. Sakkas LI y Platsoucas CD. Is systemic sclerosis an antigen-driven T cell disease? *Arthritis Rheum* 2004; 50(6):1721-33.
22. Artlett CM, Smith JB, Jimenez SA. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338(17):1186-91.
23. Evans PC, Lambert N, Maloney S, Furst DE, Moore JM, Nelson JL. Long-term fetal microchimerism in peripheral blood mononuclear cell subsets in healthy women and women with scleroderma. *Blood* 1999 (Mar 15); 93(6):2033-7.
24. Artlett CM. Microchimerism and scleroderma: an update. *Curr Rheumatol Rep* 2003; 5(2):154-9.
– Artlett CM, Smith JB, Jimenez SA. New perspectives on the etiology of systemic sclerosis. *Mol Med Today* 1999; 5(2):74-8.
25. Maloney S, Smith A, Furst DE, Myerson D, Rupert K, Evans PC, Nelson JL. Microchimerism of maternal origin persists into adult life. *J Clin Invest* 1999; 104(1):41-7.
26. Artlett CM, Cox LA, Jimenez SA. Detection of cellular microchimerism of male or female origin in systemic sclerosis patients by polymerase chain reaction analysis of HLA-Cw antigens. *Arthritis Rheum* 2000; 43(5):1062-7.
27. Bell SA, Faust H, Mittermuller J, Kolb HJ, Meurer M. Specificity of anti-nuclear antibodies in scleroderma-like chronic graft-versushost disease: clinical correlation and histocompatibility locus antigen association. *Br J Dermatol* 1996; 134(5):848-54.
28. Scaletti C, Vultaggio A, Bonifacio S, Emmi L, Torricelli F, Maggi E, Romagnani S, Piccinni MP. Th2-oriented profile of male offspring T cells present in women with systemic sclerosis and reactive with maternal major histocompatibility complex antigens. *Arthritis Rheum* 2002; 46(2):445-50.
29. Kuwana M, Medsger TA Jr, Wright TM. T cell proliferative response induced by DNA topoisomerase I in patients with systemic sclerosis and healthy donors. *J Clin Invest* 1995; 96(1):586-96.
30. Pandey JP y LeRoy EC. Human cytomegalovirus and the vasculopathies of autoimmune diseases (especially scleroderma), allograft rejection, and coronary restenosis. *Arthritis Rheum* 1998; 41(1):10-5.
31. Neidhart M, Kuchen S, Distler O, Bruhlmann P, Michel BA, Gay RE, Gay S. Increased serum levels of antibodies against human cytomegalovirus and prevalence of autoantibodies in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1999; 42(2):389-92.
32. Maul GG, Jimenez SA, Riggs E, Ziemnicka-Kotula D. Determination of an epitope of the diffuse systemic sclerosis marker antigen DNA topoisomerase I: sequence similarity with retroviral p30gag protein suggests a possible cause for autoimmunity in systemic sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86(21):8492-6.
33. Cepeda EJ y Reveille JD. Autoantibodies in systemic sclerosis and fibrosing syndromes: clinical indications and relevance. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16(6):723-32.
34. Diot E, Giraudeau B, Diot P, Degenne D, Ritz L, Guilmot JL, Lemarie E. Is anti-topoisomerase I a serum marker of pulmonary involvement in systemic sclerosis? *Chest* 1999; 116(3):715-20.
35. Ferri C, Valentini G, Cozzi F, Sebastiani M, Michelassi C, La Montagna G, Bullo A, Cazzato M, Tirri E, Storino F, Giuggioli D, Cuomo G, Rosada M, Bombardieri S, Todesco S, Tirri G. Systemic Sclerosis Study Group of the Italian Society of Rheumatology (SIR-GSSSc). Systemic sclerosis: demographic, clinical, and serologic features and survival in 1,012 Italian patients. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81(2):139-53.
36. Okano Y, Steen VD, Medsger TA Jr. Autoantibody reactive with RNA polymerase III in systemic sclerosis. *Ann Intern Med* 1993; 119(10):1005-13.
37. Okano Y, Steen VD, Medsger TA Jr. Autoantibody to U3 nucleolar ribonucleoprotein (fibrillarin) in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1992; 35(1):95-100.
38. Marzano AV, Menni S, Parodi A, Borghi A, Fuligni A, Fabbri P, Caputo R. Localized scleroderma in adults and children. Clinical and laboratory investigations on 239 cases. *Eur J Dermatol* 2003; 13(2):171-6.
39. Tan FK, Arnett FC, Antohi S, Saito S, Mirarchi A, Spiera H, Sasaki T, Shoichi O, Takeuchi K, Pandey JP, Silver RM, LeRoy C, Postlethwaite AE, Bona CA. Autoantibodies to the extracellular matrix microfibrillar protein, fibrillin-1, in patients with scleroderma and other connective tissue diseases. *J Immunol* 1999; 163(2):1066-72.
40. Korn JH, Mayes M, Matucci Cerinic M, Rainisio M, Pope J, Hachulla E, Rich E, Carpentier P, Molitor J, Seibold JR, Hsu V, Guillevin L, Chatterjee S, Peter HH, Coppock J, Herrick A, Merkel PA, Simms R, Denton CP, Furst D, Nguyen N, Gaitonde M, Black C. Digital ulcers in systemic sclerosis: Prevention by treatment with bosentan, an oral endothelin receptor antagonist. *Arthritis Rheum* 2004; 50(12):3985-93.
41. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galie N, Black CM, Keogh A, Pulido T, Frost A, Roux S, Leconte I, Landzberg M, Simonneau G. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2002; 346(12):896-903.
42. Steen VD, Mayes MD, Merkel PA. Assessment of kidney involvement. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21(3):S29-31.