

MATERIAL DE APOIO - CASO CLÍNICO 33

Revisão/Atualização em Nefrologia Clínica: Envolvimento renal no escleroderma

Rui Toledo Barros, Myrthes Anna Maragna Toledo Barros

Disciplinas de Nefrologia e Alergia/Imunopatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Endereço para correspondência: Rui Toledo Barros

Av. Dr. Arnaldo, 455 - 3o andar, Conj. 3342

01246-903 - São Paulo, SP

Introdução

O escleroderma ou esclerose sistêmica é uma doença multisistêmica do tecido conectivo, que se caracteriza pela fibrose e pelo envolvimento microvascular dos tecidos. De um modo geral, todos os órgãos ou aparelhos podem estar envolvidos, particularmente a pele, os vasos sanguíneos, os pulmões, o trato gastrointestinal e o miocárdio. O envolvimento renal tem sido reconhecido como a complicação mais grave da esclerose sistêmica, manifestando-se comumente pelo quadro de "crise renal", traduzido pela hipertensão maligna e pela insuficiência renal rapidamente progressiva.

A esclerose sistêmica é uma doença rara, com uma incidência de aproximadamente 20 novos casos por milhão de habitantes por ano, nos Estados Unidos.¹ A faixa etária mais acometida se situa entre 30 e 50 anos, tendo as mulheres uma frequência da doença de 3 a 5 vezes maior que os homens. O envolvimento renal no escleroderma é uma das mais sérias complicações desta doença, que ainda apresenta elevada taxa de mortalidade, especialmente se o seu diagnóstico for retardado e a terapêutica não for corretamente programada.²

Envolvimento Sistêmico e Regional

Analisando-se o caráter multisistêmico do escleroderma, percebe-se que o acometimento dos diferentes órgãos, sua intensidade e o ritmo de progressão da doença são extremamente variáveis em cada paciente. Os critérios para o diagnóstico e a classificação do escleroderma foram definidos pela "American Rheumatism Association"³ e, atualmente, considera-se a existência de dois pólos desta doença: a esclerose sistêmica limitada e a esclerose sistêmica difusa. Aproximadamente 60% dos pacientes são portadores da forma limitada, onde é predominante o acometimento cutâneo, podendo ocorrer envolvimento visceral como evento tardio após 10 a 30 anos do início dos primeiros sintomas, dentre os quais o fenômeno de Raynaud. O termo "forma cutânea limitada" é preferível ao de CREST (calcinose, Raynaud, envolvimento esofágico, esclerodactilia, telangiectasia), uma vez que o quadro cutâneo nem sempre se apresenta com esclerodactilia típica e, mesmo a calcinose, pode se manifestar muito tardiamente e até mesmo ser diagnosticada somente por métodos radiológicos.

A forma cutânea difusa se caracteriza por ser muito mais grave e pela evolução relativamente rápida do quadro sistêmico, podendo ocorrer falência orgânica no prazo de até cinco anos após o início dos primeiros sintomas. A esclerose cutânea, neste caso, costuma se distribuir pelo tronco e extremidades, ao contrário da forma limitada, mais restrita aos membros, face e região cervical. O envolvimento visceral, que acarreta elevada taxa de morbidade e mortalidade, pode resultar em fibrose pulmonar, enteropatia difusa, miocardiopatia e insuficiência renal crônica.

O fenômeno de Raynaud é o sintoma inicial em 70% dos pacientes e pode

preceder o início das manifestações sistêmicas da doença pelo prazo de alguns meses e até de vários anos. Frequentemente, este sintoma se associa à infiltração edematosa dos dedos e das mãos, bem como à queixas inespecíficas de fadiga e artralgias. Ocasionalmente, desde a instalação do quadro cutâneo, alguns sintomas orgânicos já podem estar presentes, tais como disfagia, refluxo gastroesofágico e dispnéia aos esforços.

Diagnóstico Laboratorial

A alteração sorológica mais frequente na esclerose sistêmica é a positividade do anticorpo antinúcleo em aproximadamente 70% dos pacientes, havendo maior especificidade para os padrões pontilhado e nucleolar, vistos à imunofluorescência. Apesar de serem mais específicos, os anticorpos anti-DNA topoisomerase I (anti-Scl 70) são detectados em somente 30% dos pacientes com a forma cutânea difusa e em 15% dos pacientes com a forma limitada.⁴ O anticorpo anti-RNA polimerase também aparece com baixa positividade (15%) no escleroderma difuso e se correlaciona com mau prognóstico da doença, frequentemente associado ao envolvimento renal.⁴ Anticorpos anti-centrômero podem estar presentes em 50% dos casos, a maioria portadores de esclerose sistêmica limitada (síndrome CREST). O encontro de anti-DNA de dupla hélice (dsDNA) costuma ser esporádico.

Os testes de função pulmonar na esclerose sistêmica, em geral, revelam um padrão misto de alterações restritivas e obstrutivas. A radiografia torácica pode mostrar infiltrado intersticial e reticular, mais proeminente na metade inferior dos pulmões. Com o evoluir da doença, surge um padrão típico de fibrose com aspecto de "favo de mel". Endoscopia do trato digestivo alto, associada a manometria esofágica, auxiliam no diagnóstico dos distúrbios da motilidade e do refluxo gastroesofágico. A radiografia das mãos pode revelar pontos de calcificação em partes moles e, ocasionalmente, reabsorção das falanges distais. A capilaroscopia do leito ungueal tem sido proposta como método não invasivo para a detecção das alterações microvasculares características da esclerose sistêmica; os principais achados incluem dilatação e redução do número de capilares.⁵

Etiopatogenia

A etiopatogenia do escleroderma é complexa e permanece não totalmente esclarecida. Seu aspecto mais marcante é a presença concomitante de lesão microvascular, ativação imunológica e síntese excessiva de matriz extracelular, com deposição aumentada de colágeno estruturalmente normal. Estas alterações são resultantes de interações tipo célula-célula, célula-citocina e célula-matriz.^{6,7}

Uma das observações mais interessantes no escleroderma é a semelhança entre as lesões teciduais que acometem os vários órgãos, ou seja, a presença ubiqüitária de vasculopatia e fibrose. Embora o evento deflagrador da doença seja desconhecido (genético? ambiental?), é possível que ocorra uma interação entre fatores iniciais imunológicos e alterações vasculares, resultando na geração de uma população de fibroblastos fibrogênicos ativados.⁸

1. Lesões Microvasculares

As funções normais das células endoteliais são: a) promover uma barreira entre o conteúdo vascular e o interstício; b) manter o tônus vascular; c) inibir a cascata da coagulação; d) prevenir a agregação plaquetária. Cada uma destas funções está comprometida na esclerose sistêmica, sendo que as alterações vasculares e endoteliais responsáveis pelo tônus vascular parecem preceder as demais.⁹

A importância da vasculopatia no escleroderma é enfatizada pela presença de fenômeno de Raynaud em extremidades e de alterações no leito ungueal em mais de 85% dos pacientes.^{7,10} As demais alterações vasculares incluem: a) instabilidade vasomotora visceral; b) lesão das células endoteliais e proliferação obliterativa da íntima; c) aumento da coagulabilidade e da ativação plaquetária.

Provavelmente, o desenvolvimento da vasculopatia sistêmica, com a conseqüente isquemia tecidual, constitui o mecanismo patogênico mais importante do comprometimento visceral do escleroderma, sendo a crise renal uma das suas conseqüências mais dramáticas.

A vasorreatividade está aumentada e, provavelmente, é multifatorial. Numerosos vasopressores têm sido historicamente implicados neste fenômeno, incluindo a serotonina, catecolaminas, prostaglandinas, o tromboxane A2 e a angiotensina.⁹ Mais recentemente, alterações das endotelinas, do óxido nítrico (NO ou fator de relaxamento derivado do endotélio) e dos ânions superóxidos (mediadores inflamatórios) têm sido consideradas como as mais significantes no desarranjo do tônus vascular do escleroderma.

Níveis elevados de endotelina, um peptídeo derivado do endotélio e que constitui o vasoconstritor conhecido mais potente, têm sido observados em pacientes com escleroderma e fenômeno de Raynaud primário.¹¹ O conhecimento de que a endotelina é mitogênica para fibroblastos e estimula a síntese de colágeno pode constituir um elo importante entre as alterações vasculares e do tecido conectivo presentes na esclerose sistêmica. O NO equilibra a ação vasoconstritora da endotelina-1 em vasos normais, sendo que alterações relativas destes dois componentes podem causar uma redução local do fluxo sanguíneo, contribuindo para a patogênese da doença.¹² Os ânions superóxidos liberados pelo endotélio podem lesar as próprias células endoteliais através de sua capacidade de neutralizar o NO e pela oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-oxidada) circulantes.¹³

Fatores vasculares citotóxicos. Alguns estudos morfológicos têm evidenciado a presença de injúria e disfunção das células endoteliais.¹⁴ A primeira evidência *in vivo* de injúria endotelial foi a detecção de níveis plasmáticos elevados do fator de von Willebrand em pacientes com escleroderma,¹⁵ à semelhança do que ocorre em algumas doenças que também cursam com lesão das células endoteliais. O soro de alguns pacientes parece ser citotóxico para o endotélio, sendo que os seguintes fatores parecem estar envolvidos:

a) Anticorpos anti-células endoteliais. Embora detectados por diversos investigadores, parecem não ser citotóxicos per se, uma vez que podem ser demonstrados também no soro de pacientes com outras doenças reumáticas. É possível que eles exerçam um papel patogênico indireto através do mecanismo de citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC)⁹ ou da capacidade de aumentar a expressão de moléculas de adesão na superfície de células endoteliais.¹⁶

b) Citocinas. TGF- β e TNF- α podem inibir o crescimento de células endoteliais *in vitro*¹⁷ e a citotoxicidade vascular de alguns soros de pacientes com escleroderma pode ser bloqueada por anticorpos monoclonais anti-TNF- α ou β .

c) Proteases. A atividade citotóxica pode ser também inibida através da incubação prévia com inibidores de proteases de possível origem retroviral ou de células T ativadas.¹⁸

Fatores de ativação endotelial. Nos últimos anos foi demonstrado que moléculas de adesão, como a molécula de adesão intercelular -1 (ICAM-1), a molécula de adesão leucócito-endotelial-1 (ELAM-1) e a molécula de adesão da célula vascular (VCAM-1), têm sua expressão aumentada em resposta a citocinas e outros fatores após inflamação e lesão do endotélio vascular. Estas moléculas de adesão presentes no endotélio ligam-se a integrinas específicas em células T e B, neutrófilos, monócitos, NK e plaquetas; esta interação resulta em adesão e subsequente migração dos elementos celulares através do endotélio lesado em direção à matriz extracelular.¹⁹

Neste contexto, foi demonstrada expressão aumentada de ICAM-1 na pele de pacientes com início recente de escleroderma, sugerindo um mecanismo de "homing" para linfócitos patogênicos.²⁰ Adicionalmente, células mononucleares que migram para a matriz celular podem expressar marcadores de ativação de células T, incluindo HLA-DR e LFA-1.²¹ Também foram demonstrados níveis aumentados de ICAM-1 solúvel no soro de pacientes quando comparados a controles normais, sendo que os valores mais elevados correlacionaram-se com a presença de úlceras digitais.²² As células endoteliais, uma vez lesadas e ativadas, são capazes de estimular diretamente a proliferação da íntima através da produção de fatores de crescimento e, indiretamente, de deflagrar a ativação e a degranulação de plaquetas. Estes fatores levam à lesão obliterativa da íntima, característica do escleroderma e, como consequência, a alterações da coagulação intravascular.¹⁴

Embora a lesão e ativação das células endoteliais pareçam exercer papéis fundamentais no desenvolvimento da vasculopatia no escleroderma, os mecanismos através dos quais tal injúria ocorre ainda não estão esclarecidos. Uma das probabilidades é a da participação do sistema imunológico, como será abordado a seguir.

2. Ativação Imunológica

Tendo em vista a presença de anticorpos anti-nucleares (ANA), anti-DNA topoisomerase, anti-centrômero e anti-RNA polimerase, o escleroderma tem sido considerado uma doença autoimune. No entanto, ainda não foi demonstrado que eles sejam patogênicos per se, ao menos no contexto de injúria tecidual mediada por imunocomplexos circulantes.²³ Por outro lado, há evidências atuais de que anticorpos anti-Scl-70 quando associados à presença de alterações cutâneas e fibrose pulmonar possam estar envolvidos na etiopatogênese da doença.⁶ O estímulo inicial para a síntese destes anticorpos não é conhecido. Uma hipótese é a de que auto-antígenos sejam fragmentados através de metais como cobre ou ferro, justificando o uso terapêutico do quelante metálico penicilamina no escleroderma.²⁴

O provável envolvimento da imunidade celular na patogênese da doença baseou-se na presença de infiltrados perivasculares de células mononucleares no derma de pacientes na fase edematosa inicial,²⁵ no predomínio de linfócitos TCD4 ativadas na pele²⁶ e de níveis séricos elevados de IL-2 e de seu receptor solúvel (sIL-2R).²⁷ Adicionalmente, foi observado que a IL-2 é capaz de induzir a lise *in vitro* de células endoteliais por linfócitos normais ou de pacientes com escleroderma,²⁸ o que estabelece um possível elo entre a ativação de células T e a lesão endotelial observada na vasculopatia.

Alguns investigadores acreditam que o escleroderma constitua uma variante da doença enxerto-versus-hospedeiro (GVHD), uma vez que ambas partilham aspectos clínicos como o envolvimento proeminente da pele, pulmão e esôfago, além da sorologia positiva para ANA.²⁹ Corroborando esta hipótese, tem sido descrita a persistência de células fetais na pele comprometida de mulheres com esclerose sistêmica e história pregressa de gravidez.^{30,31,32} Adicionalmente, foi observada uma síndrome similar ao escleroderma em camundongos com GVHD crônica, dependente da presença de células T imunocompetentes do doador reativas contra antígenos H-2 incompatíveis do receptor.³³ Este modelo experimental tem importantes implicações no possível papel da imunidade celular na patogênese da doença, uma vez que associa a presença de células T reativas contra antígenos do MHC expressos na superfície de células endoteliais ativadas ao desencadeamento de uma síndrome similar ao escleroderma.

3. Fibrose

Talvez um dos aspectos mais característicos da esclerose sistêmica seja a fibrose generalizada, resultante do acúmulo de colágeno tipos I e III, ao lado de outros componentes da matriz celular, na pele e órgãos. Foi observado que culturas de fibroblastos obtidos do derma³⁴ e do tecido pulmonar³⁵ de pacientes apresentam atividade fibroblástica anormal, sugerindo a existência de um mecanismo patogênico comum naqueles órgãos.

É amplamente aceito que as interações célula-célula e célula-matriz mencionadas anteriormente possam estimular a produção e liberação de citocinas capazes de mediar a proliferação e ativação de células vasculares e do tecido conectivo, particularmente de fibroblastos,³⁶ sendo as mais implicadas: TGF- β (fator β de crescimento e transformação), PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas), TNF (fator de necrose tumoral), IGF (fator de crescimento insulina-símile), bFGF (fator de crescimento básico de fibroblastos), IL-1, 4, 6, 8 e, IFN- γ . É altamente improvável que algum destes mediadores seja o responsável único pela patogênese do escleroderma, uma vez que eles são produzidos por diversos tipos celulares que interagem através de vias autócrinas e parácrinas.

As citocinas, ao lado de seus efeitos celulares diretos já conhecidos, podem atuar através de vários mecanismos, sendo os principais os citados a seguir.

a) Efeitos sobre interações célula-célula: como exemplo, IL-1 e TNF- α aumentam a adesão de leucócitos a células endoteliais, seu extravasamento subsequente para a matriz extracelular e o número de células endoteliais ativadas nas lesões teciduais.

b) Efeitos sobre a expressão de moléculas de adesão: neste contexto, IL-1, TNF e IFN- γ aumentam a expressão de ICAM-1 pelos fibroblastos, efeito este potencializado pelo hormônio feminino b-estradiol. Este último efeito pode ter importância na fisiopatologia da doença, haja visto a predominância do escleroderma em mulheres.³⁷

c) Efeitos sobre o "fenótipo" dos fibroblastos: as propriedades estimulatórias marcantes do TGF- β sobre a matriz extracelular têm implicado este fator de crescimento como potencialmente importante no escleroderma. No entanto, ainda não foi esclarecido se o TGF- β age apenas nos estádios iniciais da doença, se atua isoladamente ou se interage com outras citocinas, sendo esta última possibilidade a mais provável. Há evidências recentes de que o TGF- β possa influenciar indiretamente outros fatores, principalmente o PDGF, para promover a fibrogênese. Neste caso, é possível que esta citocina aumente a população de fibroblastos induzindo o aumento da expressão do receptor PDGF- α e sua subsequente interação com o ligante PDGF-AA.³⁸ Este, por sua vez, é capaz de aumentar a transcrição de bFGF mesmo em fibroblastos normais. Realmente, tanto PDGF como bFGF têm sido detectados em lesões recentes ao redor de vasos sanguíneos do derma, sugerindo que possam estar envolvidos na injúria tecidual.

d) Efeitos sobre a regulação genética: há evidências recentes de que a produção aumentada de colágeno pelos fibroblastos ocorra como resultado do aumento da transcrição de RNA mensageiro, provavelmente devido à estimulação por citocinas, entre as quais o TGF- β tem sido o mais implicado.³⁹

Recentemente, foi aventada uma hipótese tentando unificar todas as alterações patogênicas acima abordadas.⁷ Assim, os autores propõem que um evento inicial desconhecido deflagraria a injúria de células endoteliais e a ativação do sistema imunológico, sendo que esta última potencializaria ou perpetuaria a lesão endotelial. Uma cascata de citocinas, originadas da ativação imunológica, ao lado da degranulação de plaquetas desencadeada pelas lesões endoteliais, provocariam ativação e proliferação dos fibroblastos, tendo como resultado final a fibrose característica do escleroderma. Ainda não foi estabelecido se os auto-anticorpos associados à doença desempenhem papel patogênico ou se constituem apenas epifenômenos.

O Rim no Escleroderma

O envolvimento renal ocorre quase que exclusivamente em pacientes com a forma de esclerose sistêmica difusa e se caracteriza tipicamente por um estado hiperreninêmico. O quadro clínico principal é o da hipertensão acelerada, do rápido declínio da função renal, anemia hemolítica microangiopática e plaquetopenia. Este conjunto sintomático tem sido denominado "crise renal do escleroderma", que tem grave implicação prognóstica se não for rapidamente reconhecido e agressivamente tratado.

Estimativas da prevalência do envolvimento renal na esclerose sistêmica são muito variáveis, dependendo dos marcadores de nefropatia considerados e se a casuística analisada se refere a pacientes ambulatoriais, internados, ou a casos necropsiados. Quando o critério utilizado é a presença de insuficiência renal grave, a prevalência aproximada de nefropatia é de 10%.² Quando são considerados outros marcadores, tais como proteinúria, redução da filtração glomerular ou hipertensão, a frequência sobe para 50%.^{2,4} Alterações histológicas renais encontradas durante autópsia estão presentes em até 80% dos casos.^{2,4} Durante a avaliação de 210 pacientes, Cannon et al⁴⁰ encontraram proteinúria em 36%, hipertensão em 21%, uremia em 19% e hipertensão maligna (crise renal do escleroderma) em 7%. De um modo geral, o prognóstico de pacientes que apresentam proteinúria associada à hipertensão ou disfunção renal é pior do que daqueles com proteinúria isolada.²

Em alguns pacientes com escleroderma, a elevação dos níveis pressóricos pode ser discreta e não estar associada ao declínio rápido da função renal. Embora em alguns destes pacientes a pressão arterial elevada possa ser devido à hipertensão essencial coexistente, alterações histológicas renais e o aumento da renina plasmática sugerem fortemente a relação causal entre a vasculopatia intrarrenal e o quadro de hipertensão. Muitos pacientes com hipertensão leve permanecem estáveis por longos períodos e outros, por sua vez, desenvolvem hipertensão mais grave e insuficiência renal, freqüentemente após um evento clínico como cirurgias, desidratação, insuficiência cardíaca ou derrame pericárdico.⁴⁰

Alterações Patológicas

Os achados mais freqüentes no tecido renal são a proliferação subintimal com obliteração da luz de vasos de pequeno e médio calibres; as artérias interlobulares e arqueadas podem mostrar edema da íntima e proliferação endotelial. O acúmulo de substância mucóide, composto de glicoproteínas e mucopolissacarídeos, contribui para separar o endotélio da lâmina elástica interna. A lesão mais característica dos vasos de pequeno calibre (ex. arteríola aferente) é a necrose fibrinóide. Um aspecto interessante relacionado a estas alterações microvasculares é que elas podem ser vistas em pacientes não hipertensos e sem o quadro típico da crise renal do escleroderma. Os glomérulos geralmente mostram alterações isquêmicas traduzidas por espessamento da membrana basal, obliteração e colapso dos capilares, que podem evoluir para a glomeruloesclerose.⁴

Diagnóstico da Crise Renal do Escleroderma

Trata-se de uma complicação bastante grave desta doença, que costuma ocorrer durante os primeiros cinco anos após o diagnóstico da esclerose sistêmica. Os aspectos clínicos predominantes são de hipertensão acelerada com retinopatia severa, encefalopatia e falência aguda do ventrículo esquerdo. É importante notar que nem todos os pacientes com crise renal apresentam quadro de hipertensão arterial. Quando comparados aos hipertensos, os pacientes normotensos apresentam mais freqüentemente anemia hemolítica microangiopática e plaquetopenia. O fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular estão reduzidos, a uremia progride rapidamente e o sedimento urinário apresenta proteinúria, hematúria microscópica e cilindros granulares. Níveis plasmáticos de

renina estão constantemente elevados, embora não esteja claro se tal elevação constitua um fenômeno primário ou se seria secundário à isquemia renal. O diagnóstico da crise renal torna-se relativamente fácil quando um quadro de hipertensão maligna, anemia hemolítica e insuficiência renal são detectados em um paciente com esclerose cutânea difusa. No entanto, deve ser ressaltado que muitos pacientes não têm anemia hemolítica, que a função renal pode estar limítrofe no início da crise e que, em 11 % dos casos, a pressão arterial pode permanecer na faixa dos valores normais.⁴ Nesta situação, aparentemente estável, o surgimento de queixas como cefaléia constante, fadiga inexplicável, alterações visuais e dispnéia podem sugerir a fase inicial do envolvimento renal.⁴

Fatores Preditivos da Crise Renal

Algumas características clínicas implicam em maior risco para o desenvolvimento da crise renal do escleroderma: 1) forma cutânea difusa, de evolução rápida e progressiva; 2) anemia de instalação recente e sem causa definida; 3) eventos cardíacos recentes, como derrame pericárdico e sintomas de insuficiência cardíaca congestiva; 4) uso prévio de doses elevadas de corticosteróides. O antecedente de hipertensão aparentemente não implica em maior risco para a crise renal, assim como as alterações do sedimento urinário e os níveis elevados de renina plasmática.⁴¹

Tratamento da Crise Renal

O uso de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (ECA) deve ser iniciado tão logo seja diagnosticada a crise renal do escleroderma. No passado, sem a utilização destas drogas, a sobrevida de um ano se situava ao redor de 20%; com os inibidores da ECA, as séries estudadas nos últimos anos chegam até a 75% de sobrevida.⁴ A instituição dos inibidores da ECA e o rápido controle pressórico, preferencialmente no prazo máximo de três dias, é a medida mais importante para a preservação da função renal. Os inibidores da ECA devem ser mantidos mesmo que ocorra elevação da creatinina sérica e mesmo que a piora da função atinja níveis dialíticos, uma vez que estas drogas provavelmente representem uma das poucas alternativas para o controle deste quadro tão grave. Diuréticos devem ser evitados, pelo risco de provocar hipovolemia e estimular a secreção de renina. Corticosteróides, imunossupressores e plasmaferese não estão indicados por serem ineficazes para o tratamento desta complicação e por aumentarem o risco de infecções e piorar a hipertensão. Aproximadamente metade dos pacientes que permanecem em diálise podem ficar livres deste procedimento, num prazo de 5 a 18 meses, se forem mantidos com inibidores da ECA.⁴² Pacientes do sexo masculino acima de 50 anos, demora no controle pressórico, presença de insuficiência cardíaca e início dos inibidores da ECA com creatinina sérica acima de 3 mg/dl, constituem fatores de mau prognóstico para a reversibilidade da insuficiência renal e das outras graves conseqüências da vasculopatia sistêmica.

Referências

1. Steen V, Conte C, Santoro. Twenty years incidence survey of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1988; 32(Suppl 14): S57
2. Traub YM, Shapiro AP, Rodnan GP, Medsger TA, Tolchin SF. Hypertension and renal failure in progressive systemic sclerosis: Review of 25 years experience with 68 cases. *Medicine.* 1983; 62: 335-47
3. Subcommittee of the American Rheumatism Association: Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1980; 23: 581-90
4. Donohe JF. Scleroderma and the kidney. *Kidney Int.* 1992; 41: 462-475
5. Maricq HR, Maize JC. Nailfold capillary abnormalities. *Clin Rheum Dis.* 1982; 8: 455-478
6. Black CM. The aetiopathogenesis of systemic sclerosis: Thick skin-thin hypotheses. The Parkes Weber Lecture 1994. *J R Coll Physicians Lond.* 1995; 29: 119-130

7. Denton CP, Black CM, Korn JH, de Crombrughe B. Systemic sclerosis: Current pathogenetic concepts and future prospects for targeted therapy. *Lancet*. 1996; 347: 1453-1458
8. Piela-Smith TH, Korn JH. Lymphocyte modulation of fibroblast function in systemic sclerosis. *Clin Dermatol*. 1994; 12: 369-377
9. Pearson JD. The endothelium: its role in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 1990; 50: 866-871
10. Carpenter PH, Maricq HR. Microvasculature in systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am*. 1990; 16: 75-91
11. Kahaleh MB. Endothelin: An endothelial-dependent vasoconstrictor in scleroderma. *Arthritis Rheum*. 1991; 34: 978-983
12. Kahaleh B, Fan P-S, Matucci-Cerinic M, et al. Study of endothelial dependent relaxation in scleroderma (abstract). *Am Coll Rheum*. 1993; B233: S180
13. Bruckdorfer KR, Hilary JB, Bunce T, Vancheeswaran R, Black CM. Increased susceptibility to oxidation of low-density lipoproteins isolated from patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 1995; 38: 1060-1067
14. Kahaleh MB. Vascular disease in scleroderma: Endothelial T lymphocyte-fibroblast interactions. *Rheum Dis Clin North Am*. 1990; 16: 53-73
15. Kahaleh MB, Osborn I, LeRoy EC. Increased factor VIII/von Willebrand factor antigen activity in scleroderma and Raynaud's phenomenon. *Ann Intern Med*. 1981; 94: 482-484
16. Carvalho D, Savage COS, Black CM, Pearson JD. IgG antiendothelial cell autoantibodies from scleroderma patients induce leukocyte adhesion to human vascular endothelial cells *in vitro*. Induction of adhesion molecule expression and involvement of endothelium-derived cytokines. *J Clin Invest*. 1996; 97: 111-119
17. Smith EA, LeRoy EC. Systemic Sclerosis: Etiology and Pathogenesis. In JH Klippel and PA Dieppe eds. *Rheumatology*. London, Mosby 1994; 10.1-10.10
18. Kahaleh MB. The molecular mechanism of endothelial cell (EC) injury in scleroderma (SSc): identification of granzyme 1 (a product of cytotoxic T cell) in SSc sera (Abstract). *Arthritis Rheum*. 1990; 33(Suppl): 67
19. Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature*. 1990; 346: 425-434
20. Sollberg S, Peltonen J, Uitto J, Jimenez, AS. Elevated expression of b1 and b2 integrins, intercellular adhesion molecule-1, and endothelial leukocyte adhesion molecule -1 in the skin of patients with systemic sclerosis of recent onset. *Arthritis Rheum*. 1992; 35: 290-298
21. Prescott RJ, Freemont AJ, Jones CJ, Hoyland J, Fielding, P. Sequential dermal microvascular and perivascular changes in the development of scleroderma. *J Pathol*. 1992; 166: 255-263
22. Sfrikakis PP, Tesar J, Baraf H, Lipnick R, Klipple G, Tsokos GC. Circulating intercellular adhesion molecule-1 in patients with systemic sclerosis. *Clin Immunol Immunopathol*. 1993; 68: 88-92
23. D'Agati VD, Cannon PJ. Scleroderma (Systemic Sclerosis). IN CC Tisher and BM Brenner eds. *Renal Pathology with Clinical and Functional Correlations*. Philadelphia, Lippincott. 1994, 1058-1086
24. Casciola-Rosen L, Wigley F, Rosen A Scleroderma autoantigens are uniquely fragmented by metal-catalyzed oxidation reactions: implications for pathogenesis. *J Exp Med*. 1997; 185: 71-79
25. Fleishmajor R, Perlish, JS, Reeves JRT. Cellular infiltrates in scleroderma skin. *Arthritis Rheum*. 1977; 20: 975
26. Roumm AD, Whiteside TL, Medsger TA Jr, Rodnan GP. Lymphocytes in the skin of patients with progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 1984; 27: 645-653
27. Bulpitt KJ, Clements PJ, Lachenbruch PA, Paulus HE, Peter JB, Agopian MS, Singer JZ, Seen VD, Clegg DO, Ziminski CM et al. Early undifferentiated connective-tissue disease: III. Outcome and prognostic indicators in early scleroderma (systemic sclerosis). *Ann Intern Med*. 1993; 118: 602-609
28. Silver RM. Lymphokine activated killer (LAK) cell activity in the peripheral blood of lymphocytes of systemic sclerosis (SSc) patients. *Clin Exp Rheum*. 1990; 8: 481-486
29. Furst DE, Clements PJ, Graze P, Gale R, Roberts N. A syndrome resembling

- progressive systemic sclerosis after bone marrow transplantation: A model for scleroderma? *Arthritis Rheum.* 1979; 22: 904-910
30. Artlett CM, Smith JB, Jimenez AS. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis. *N Eng J Med* 1998; 338: 1186-1191
31. Nelson JL, Furst DE, Maloney S, Gooley T, Evans PC, Smith A, Bean MA, Ober C, Bianchi DW. Microchimerism and HLA-compatible relationships of pregnancy in scleroderma. *Lancet.* 1998; 351: 559-562
32. Nelson JL. Microchimerism and autoimmune disease (Editorial). *N Eng J Med.* 1998; 338: 1224-1225
33. Van Elven EH, Rolink AG, Veen FV, Gleichmann E. Capacity of genetically different T lymphocytes to induce lethal graft-versus-host disease correlates with their capacity to generate suppression but not with their capacity to generate anti-F1 killer cells. A non- H2 locus determines the inability to induce lethal graft-versus-host disease. *J Exp Med.* 1981; 153: 1474-1488
34. LeRoy EC. Increased collagen synthesis by scleroderma skin fibroblasts *in vitro*. A possible defect in regulation or activation of scleroderma fibroblasts. *J Clin Invest.* 1974; 54: 880-890
35. Shi-Wen X, Denton CP, McWhirter A, Bou-Gharios G, Abraham DJ, du Bois RM, Black CM. Scleroderma lung fibroblasts exhibit elevated and dysregulated type I collagen biosynthesis. *Arthritis Rheum.* 1997; 40: 1237-1244
36. Bashkin P, Doctrow S, Klagsbrun M, Svahn CM, Folkman J, Vlodavsky I. Basic fibroblast growth factor binds to subendothelial extracellular matrix and is released by heparitinase and heparin-like molecules. *Biochemistry.* 1989; 28: 1737-1743
37. Shi-Wen X, Panesar M, Vancheeswaran R, Mason J, Haskard D, Black C, Olsen I, Abraham D. Expression and shedding of intercellular adhesion molecule 1 and lymphocyte function-associated antigen 3 by normal and scleroderma fibroblasts. Effects of interferon-gamma, tumor necrosis factor alpha, and estrogen. *Arthritis Rheum.* 1994; 37: 1689-1697
38. Yamakage A, Kikuchi K, Smith EA, LeRoy EC, Trojanowska M. Selective upregulation of platelet-derived growth factor alpha receptors by transforming growth factor beta in scleroderma fibroblasts. *J Exp Med.* 1992; 175: 1227-1234
39. Ignatz RA, Massague J. Transforming growth factor beta stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J Biol Chem.* 1986; 261: 4337
40. Cannon PJ. The relationship of hypertension and renal failure in scleroderma (progressive systemic sclerosis) to structural and functional abnormalities of the renal cortical circulation. *Medicine.* 1974; 53: 1-18
41. Altman RD, Medsger TA, Bloch DA. Predictors of survival in systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum.* 1991; 34: 403-408
42. Steen VD, Costantino JP, Shapiro AP, Medsger TA. Outcome of renal crisis in systemic sclerosis: relation to availability of converting enzyme (ACE) inhibitors. *Ann Intern Med.* 1990; 113: 352-357