

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ROMATOLOJİ-İMMUNOLOJİ BİLİM DALI

**SİSTEMİK SKLEROZLU HASTALARDA SIKKA
SEMPTOMLARI İLE SJÖGREN SENDROMU
SIKLIĞININ GÖSTERİLMESİ VE MİNÖR
TÜKÜRÜK BEZİ BİYOPSİSİNDE *ALFA-SMOOTH
MUSCLE ACTIN* EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. GERÇEK CAN

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2010

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ROMATOLOJİ-İMMUNOLOJİ BİLİM DALI

**SİSTEMİK SKLEROZLU HASTALARDA SIKKA
SEMPTOMLARI İLE SJÖGREN SENDROMU
SIKLIĞININ GÖSTERİLMESİ VE MİNÖR
TÜKÜRÜK BEZİ BİYOPSİSİNDE *ALFA-SMOOTH
MUSCLE ACTIN* EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

DR. GERÇEK CAN

Danışman Öğretim Üyesi

DOÇ. DR. SERVET AKAR

İÇİNDEKİLER

Tablo listesi	III
Şekil listesi	IV
Kısaltmalar	V-VI
Teşekkür	VII
Özet	1-2
Summary	3-4
1.GİRİŞ VE AMAÇ	5
2.GENEL BİLGİLER	7
2.1. Epidemiyoloji	7
2.2. Genetik	8
2.3. Çevresel Faktörler	9
2.4. Fibrozis Patogenezi	10
2.4.1. Erken vasküler ve enflamatuvar değişiklikler	10
2.4.2. Tutulan hücre tipleri	11
2.4.2.1. Endotel hücresi	11
2.4.2.2. Vasküler düz kas hücreleri ve perisitler	12
2.4.2.3. Fibroblast	12
2.4.2.4. Mononükleer hücreler	13
2.4.3. Soluble mediatörler	14
2.4.3.1. Sitokin ve büyüme faktörleri	14
2.4.3.2.TGF- β	14
2.4.3.3. Trombosit kökenli büyüme faktörü	15
2.4.4. Ekstrasellüler matrix komponentleri ve reseptörleri	15
2.4.5. Otoantikorlar	16
2.5. Klinik Özellikler	16
2.5.1. Kutanöz bulgular	17
2.5.2. Ekstrakutanöz bulgular	18
2.5.2.1. Muskuloskeletal tutulum	18

2.5.2.2. Oral bulgular	19
2.5.2.3. Gastrointestinal tutulum	19
2.5.2.4. Pulmoner tutulum	20
2.5.2.5. Miyokardiyal tutulum	21
2.5.2.6. Renal tutulum	21
2.5.2.7. Nörolojik tutulum	21
2.6. Serolojik Özellikler	22
2.7. Sistemik Skleroz ve Çakışma Sendromları	22
3. HASTALAR VE YÖNTEM	
3.1. MTB Biyopsi Yöntemi	27
3.2. Histopatolojik Değerlendirme	27
3.3. İmmunhistokimyasal İnceleme	27
3.4. İstatistiksel Analiz	28
4. SONUÇLAR	30
5. TARTIŞMA	37
6. KAYNAKLAR	42

TABLO LİSTESİ

Sayfa no:

Tablo- 1: SSc'da fibrozis ile ilişkili mediatörler.	14
Tablo- 2: SSc'da otoantikolar ve klinik ilişkileri.	22
Tablo- 3: Sjögren Sendromu Amerika-Avrupa Kriterleri.	26
Tablo- 4: Çalışmaya alınan SSc hastalarımızın başlıca klinik ve laboratuvar özellikleri.	30
Tablo- 5: Çalışma grubumuzun SSc ilişkili özellikleri.	31
Tablo- 6: SjS tanısı alan 36 hastanın klinik ve laboratuvar özellikleri.	34
Tablo- 7: α -SMA boyaması pozitif olan 7 hastanın klinik ve laboratuvar özellikleri.	35

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa no:

- | | |
|--|----|
| Şekil- 1: Diffüz kutanöz sistemik sklerozda akciğer ve deri fibrozisinin histolojisi. | 11 |
| Şekil- 2: Fibroziste fibroblast akümüasyonu. | 13 |
| Şekil- 3: Çalışma grubunda subjektif sikka semptomları, objektif kuruluk testleri ve tükürük bezi biyopsi bulgularının dağılımını gösteren akış şeması. | 32 |
| Şekil- 4: MTB biobisinde fibrozis ve fokus skoru ≥ 1 olan hastaların dağılımı. | 33 |
| Şekil- 5: MTB biyopsi preparatlarında fibrozis, lenfositik fokus, diffüz lenfositik infiltrasyon örnekleri. | 33 |

KISALTMALAR

Sc:	Skleroderma
LSc:	Lokalizasyon skleroderma
SSc:	Sistemik Skleroz
ISSc:	Sınırlı SSc
dSSc:	Diffüz SSc
TGF- β	Transforming growth faktör beta
α -SMA	Alfa-düz kas aktin, <i>Alfa-smooth muscle actin</i>
SjS	Sjögren Sendromu
RA	Romatoid artrit
SLE	Sistemik Lupus Erimatozus
ACA	Antisentromer antikor
PM	Polimyozit
HLA	İnsan lökosit antijen
SNPs	Tek nükleotid polimorfizmi, Single Nucleotide Polymorphism
TNF	Tümör nekrozis faktör
MHC	Major histokompatibilite kompleksi
CMV	Cytomegalovirus
ECM	Ekstrasellüler matrix
VEGF	Vasküler endotelial growth faktör
Th2	T helper 2
IL-6	Interlökin 6
CTGF	Konnektif doku growth faktörü
PDGF	Platelet derived growth factor, Trombosit kökenli büyüme faktörü
PDGFR	PDGF reseptörü
GVHD	Graft-versus-host hastalığı
HRCT	Yüksek rezolüsyonlu akciğer tomografisi
AIDS	Erişkin immün yetmezlik sendromu

VAS	Vizüel Anolog Skala
MTB	Minör tükürük bezi
DAB	Diaminobenzidin
ESR	Eritrosit sedimantasyon hızı
CRP	C-reaktif protein
ANA	Anti-nükleer antikor
ENA	Ekstrakte edilebilen nükleer antijenler
C3	Kompleman 3
C4	Kompleman 4
r	Korelasyon katsayısı
B	Regresyon katsayısı
Scl-70	Anti-topoizomeraz I

TEŞEKKÜR

Romatoloji yan dal uzmanlık eğitimim sırasında bana destek olan ve değerli vakitlerinden zaman ayırıp deneyimlerini ve kazanımlarını paylaşmaktan asla çekinmeyen Romatoloji-İmmunoloji Bilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Nurullah Akkoç başta olmak üzere Sn. Prof. Dr. Fatoş Önen, Sn. Yard. Doç. Dr. Merih Birlik, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. İlkay Şimşek'e teşekkür ederim.

Romatoloji yan dal uzmanlık eğitimim süresince iyi bir insan ve iyi bir hekim olmam için kendi bilgi birikimlerini ve deneyimlerini benimle paylaşan, tezimin fikir aşamasından sonuçlanıncaya kadar olan süreçte kıymetli zamanını, emeğini ve bilimsel desteğini benden esirgemeyen tez danışmanım Sn. Doç. Dr. Servet Akar'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yapımında bilimsel ve teknik yardımlarını benden esirgemeyen Patoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Prof. Dr. Sülen Sarıoğlu'na teşekkür etmeyi borç bilirim.

Uzmanlık eğitim süresince birlikte çalıştığım, kendilerini tanımaktan mutluluk duyduğum ve tezimin örnek toplama aşamasında yardımları olan sevgili dostlarım Sn. Uzm. Dr. Dilek Solmaz, Sn. Uzm. Dr. Özgül Soysal, Sn. Uzm. Dr. Vedat Gerdan ile romatoloji hemşiremiz Sn. Selda Çoban'a teşekkür ederim.

Bu zorlu ve uzun süreçte desteğini benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan sevgili eşim İsmail Özgür Can'a, onunla oynamamı sabırla bekleyen biricik kuzucuğum oğlum İsmail Tuna Can'a teşekkür ederim.

Dr. Gerçek Can
İzmir- Şubat 2010

ÖZET

**SİSTEMİK SKLEROZLU HASTALARDA SIKKA SEMPTOMLARI İLE
SJÖGREN SENDROMU SIKLIĞININ GÖSTERİLMESİ VE MİNÖR
TÜKÜRÜK BEZİ BİYOPSİSİNDE ALFA-SMOOTH MUSCLE ACTIN
EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr.Gerçek Can, Dokuz Eylül üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji-İmmunoloji
Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

Giriş ve Amaç:

Sistemik Skleroz (SSc), kollajen ve matrix proteinlerinin konnektif dokuda masif birikimi ile karakterli heterojen bir sistemik hastalıktır. Sikka semptomları SSc'da sıklıkla görülür ancak tükürük bezi hipofonksiyonunun sıklığı ve patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Çalışmamızın amacı; SSc'lu hastalarda sikka semptomları ve Sjögren sendromu (SjS) sıklığı ile buna katkıda bulunan faktörlerin saptanması ve ayrıca miyofibroblastik transformasyonun göstergesi olan α -smooth muscle actin (α -SMA) ekspresyonunun tükürük bezi biyopsilerinde değerlendirilmesidir.

Hastalar ve yöntem:

Çalışmaya romatoloji polikliniğinde takip edilen ardışık 102 SSc hastası [91 kadın (89%), ortalama yaş $52,5 \pm 12$ yıl] ardışık olarak dahil edildi. İlk aşamada klinik değerlendirmede, tüm hastalarda Amerika-Avrupa SjS sınıflama kriterlerinde tanımlanan spesifik soruları içeren, subjektif ağız, göz kuruluğu semptomlarının varlığı araştırıldı ve birlikte Schirmer 1 ve uyarılmamış tükürük akım testi uygulandı. İlk aşamada yapılan klinik değerlendirmesi pozitif olan hastalara tükürük bezi biyopsisi yapıldı. Tükürük bezi biyopsilerinde fokal lenfositik siyaloadenit (fokus skoru ≥ 1) ve glandular fibrosis varlığı araştırıldı. Tükürük bezi biyopsilerinde α -SMA ekspresyonunun tespitinde immunohistokimyasal yöntem kullanıldı.

Sonuçlar:

Çalışmaya alınan 102 hastanın 85'i (83%) sınırlı SSc (*limited*; ISSc), 12'si (%12) diffüz SSc (dSSc) ve 5'i (5%) sine sklerodermaya sahipti. Yüz iki hastanın 76'sında (%75) sikka sendromu (65'inde [%64] kserostomi, 49'unda [%48] kseroftalmi) vardı. Yüz iki hastanın 65'inde (%64) schirmer 1 testi, 36'sında (%35) uyaransız total tükürük akımı testi (siyalometri) pozitif. Çalışma protokolüne göre 90 hastaya minör tükürük bezi biyopsisi endikasyonu konuldu, bunlardan 6'sı biyopsiyi reddetti ve toplamda 84 (%82) hastaya biyopsi yapıldı. Biyopsi örneklerinin histopatolojik değerlendirmesinde 67 (%80) hastada fibrotik lezyon gözlenirken, 38 (%45) hastada fokus skoru ≥ 1 idi. Amerika-Avrupa kriterlerine göre 36 (%35,3) hasta sekonder SjS olarak sınıflandırıldı. SjS'lu hastalardan 34'ü ISSc, 2'si sine sklerodermaydı. Sekonder SjS'u yaş, semptom başlangıç yaşı ve SS-A pozitifliği ile ilişkili bulundu. Multivariate analizde SS-A pozitifliği ve yaş sekonder SjS gelişiminde istatistik anlamlı belirleyicilerdi ($p=0.015$, $p=0,038$). İmmunohistokimyasal incelemede yalnızca 7 örnek α -SMA ile zayıf boyandı.

Tartışma:

Sikka semptomlarının temel nedeni fibrosis gibi görünmesine rağmen bizim çalışmamız, SSc'li hastalarda SjS prevalansının en yüksek olarak gösterildiği çalışmalardan biridir. Bu sonuçlar SSc'nin limitli kutanöz subtipinin SjS açısından daha riskli olduğunu düşündürmektedir. Miyofibroblastik transformasyon minör tükürük bezinde fibrosis gelişiminde tek faktör olmayabilir.

Anahtar kelimeler: Sistemik Skleroz, Sjögren Sendromu, Prevalans, Tükürük Bezi Biyopsisi, Alfa-Smooth Muscle Actin

SUMMARY

THE PREVALENCE OF SICCA SYMPTOMS AND SJOGREN'S SYNDROME IN PATIENTS WITH SYSTEMIC SCLEROSIS AND EXPRESSION OF *ALFA-SMOOTH MUSCLE ACTIN* IN SALIVARY GLAND BIOPSY SPECIMENS

Dr. Gerçek Can, Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Rheumatology-Immunology, Izmir, Turkey

Objective:

Systemic sclerosis (SSc) is a heterogeneous systemic disorder characterized by massive deposition of collagen and other matrix substances in connective tissue. Although sicca symptoms are thought to be a frequent complaint associated with SSc, pathogenesis of salivary hypofonction is not defined clearly and little is known about how often they occur. The aim of this study was to determine the prevalence and contributing factors of sicca symptoms and Sjogren's syndrome (SjS) in patients with SSc, and also to evaluate to expression of the α -smooth muscle actin (α -SMA), a myofibroblast marker, in salivary gland specimens.

Method:

Consecutive 102 SSc patients [91 female (89%), mean age $52,5 \pm 12$ years] followed by an outpatient rheumatology clinic were included in the study. The systematic first-line clinical evaluation included a questionnaire specific for the subjective presence of xerophthalmia and xerostomia based on the revised American-European Consensus Group criteria for SS, together with the Schirmer I test and unstimulated whole salivary flow. If the findings of the first-line clinical evaluation were positive a labial salivary gland biopsy was performed. Salivary glandular tissue sections were evaluated for the presence of focal lymphocytic sialadenitis (a focus score ≥ 1), and

glandular fibrosis. Immunohistochemistry was used for the expression of α -SMA.

Results:

Of 102 patients, 85 (83%) had limited SSc (lSSc), 12 (12%) diffuse SSc (dSSc) and 5 (5%) had sine scleroderma. Seventy-six patients (75%) had sicca syndrome (65 [64%] had xerostomia, and 49 [48%] had xerophthalmia). Sixty-five of the 102 patients (64%) had positive findings on the Schirmer test and 36 (35%) patients had positive salivary flow test. A total salivary gland biopsy was indicated in 90 patients according to our protocol. Six patients refused the procedure therefore biopsy were performed in eighty-four (82%) patients. On histopathologic examination of biopsy samples; fibrotic lesion were observed in 67 out of 84 (80%) and in 38 (45%) sample focus score was ≥ 1 . Thirty-six patients (35,3%) fulfilled American European Consensus Group criteria for secondary SjS. Thirty-four patients who diagnosed secondary SjS had lSSc and two of them had sine scleroderma. Secondary SjS were associated with age, age at onset of disease and the presence of SS-A antibody. Multivariate analysis revealed that SS-A antibody positivity, age were significant predictor for SjS ($p=0,015$, $p=0,038$). In immunohistochemistry examination only 7 sample were stained poorly for α -SMA.

Conclusion:

Despite fibrosis seems to be the main cause of sicca symptoms, our study revealed one of the highest prevalence of SjS in patients with SSc. These results suggest that limited cutaneous subtype of SSc carries a greater risk for SjS. Our study also suggested that myofibroblastic transformation may not be the only factor for fibrosis seen on minor salivary glandular tissue.

Key words: Systemic Sclerosis, Sjogren's Syndrome, Prevalance, Salivary Gland Biopsy, Alfa-Smooth Muscle Actin

SİSTEMİK SKLEROZLU HASTALARDA SIKKA SEMPTOMLARI İLE SJÖGREN SENDROMU SIKLIĞININ GÖSTERİLMESİ VE MİNÖR TÜKÜRÜK BEZİ BİYOPSİSİNDE ALFA-SMOOTH MUSCLE ACTIN EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Skleroderma (Sc), kollajen ve matrix proteinlerinin konnektif dokuda masif birikimi ile karakterli heterojen bir sistemik hastalıktır [1]. Lokalize skleroderma (LSc) ve Sistemik Skleroz (SSc) olarak iki büyük gruba ayrılır. Sınırlı SSc (*limited*; ISSc) ve diffüz SSc (dSSc) ise SSc'un en önemli iki alt grubunu oluşturur. LSc cilde sınırlıdır ve çok nadiren iç organ tutulumu yapar. SSc ise deri tutulumuna ek olarak mortalite ve morbidite artışıyla ilişkili organ tutulumu yapabilir [2].

Sistemik sklerozda hastalığın başlangıç döneminde immün aktivasyon rol oynuyor gibi görülmesine rağmen, en erken patolojik bulgular endotel aktivasyonu ve buna bağlı olarak gelişen hasarlanmadır. Klinikte Raynaud fenomeni gibi vasküler fenomenlerin doku fibrozisinden önce görülüyor olması, erken endotel fonksiyon bozukluğunun patogenezdaki rolünü desteklemektedir. Endotel fonksiyon bozukluğu; küçük damarlarda tıkanıklığa, enflamatuvar yanıt ve otoimmüniteyi tetikleyebilecek hücrel antijenlerin salınmasına neden oluyor olabilir [3].

Hastalığın ana karakteristiği olan ekstrasellüler matriksin aşırı depolanmasında, aktive fibroblast hücreleri rol oynamaktadır. Normal sağlıklı fibroblastlarda olduğu gibi, SSc fibroblastlarında da transforming growth faktör beta (TGF- β)'nin bu süreçte başlıca düzenleyici faktör olduğu düşünülmektedir [4]. Deneysel çalışmalarda SSc'lu hastalarda miyofibroblastların, fibrozis gelişiminde merkezi rol oynadığı ve alfa-düz kas aktin [*α -smooth muscle actin*; α -SMA] eksprese ettikleri gösterilmiştir [5].

Sjögren sendromu (SjS) temel olarak ekzokrin bezleri etkileyen, kronik otoimmün bir hastalıktır. Sıklıkla 40-50 yaşlarında kadınları etkileyen bir hastalık olmasına rağmen, tüm yaş gruplarında görülebilir. Ana histolojik özellik tükürük ve gözyaşı bezlerinin fokal lenfositik infiltrasyonudur. Hastaların 1/3'ünde deri, kan ve lenfatik sistem, kas, damarlar, iç organları da içine alan non-egzokrin belirtiler görülebilir [6]. SjS yalnız başına görülebileceği gibi diğer otoimmün hastalıklara [Romatoid artrit (RA), Sistemik Lupus Erimatozus (SLE)] eşlik edebilir [7, 8].

Kserostomi ve kseroftalmi şeklinde sikka semptomları SSc'da sıklıkla görülür. SSc'da tükürük bezi gibi ekzokrin dokularda hipofonksiyona yol açan durum; sıklıkla glandular fibrozisle, bazı araştırmalarda ise SjS birlikteliği ile ilişkilendirilmiştir. Yine bu hastalarda SjS prevalansı %1-90 gibi geniş bir aralıkta bildirilmiştir [8-12] ve patogenezini de tam olarak anlayamamıştır [9-11].

Bu nedenle bu çalışmada: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji biriminde izlediğimiz SSc'lu hastalarda:

1. Sikka semptomlarının,
2. Amerika-Avrupa sınıflama kriterlerine göre sekonder Sjögren sendromu sıklığının saptanması,
3. Tükürük bezi biyopsilerinde, fibrozis sürecinde miyofibroblastik transformasyonun göstergesi olarak α -SMA ekspresyonunun immunhistokimyasal yöntemle değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Sistemik skleroz (SSc); başlıca bulguları yaygın fibrozis, vasküler değişiklikler ve çeşitli hücrel antijenlere karşı otoantikör gelişimi olan kompleks bir hastalıktır. Sklerodermanın en yaygın kabul gören sınıflamalarında başlıca iki alt grubu yer alır: sınırlı kutanöz skleroderma (lSSc) ve diffüz kutanöz skleroderma (dSSc). Sınırlı sklerodermada fibrozis büyük ölçüde el, kol ve yüze sınırlıdır. Raynaud fenomeni fibrozun ortaya çıkışından birkaç yıl önce ortaya çıkar, pulmoner hipertansiyon sıktır ve hastaların %50-90'ında antisentromer antikör (ACA) bulunur. Diffüz SSc hızla ilerleyerek ciltte geniş alanları ilgilendirir, bir veya daha fazla iç organda tutulum tipiktir. Nadir olarak bazı hastalarda belirgin bir cilt tutulumu görülmeden SSc organ-sistem lezyonları gelişir ve diğer bir grupta SSc dışında sistemik lupus eritematozus (SLE), romatoid artrit (RA), polimyozit (PM) veya Sjögren sendromu (SjS) kanıtları ile çakışma sendromundan bahsedilir [13].

2.1. Epidemiyoloji

Günümüzde SSc insidansı ve prevalansı konusunda sınırlı veri bulunmaktadır. Bu durum hastalığın düşük sıklıkta olması ile güvenilir taramaların yapılmasındaki güçlüklerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca hastalık şiddeti ve klinik bulgulardaki değişkenlik, epidemiyolojik çalışmaların dizayn ve metodlarındaki farklılıklar da bu duruma katkıda bulunmaktadır.

SSc genellikle 35-55 yaşları arasında görülür, çocuklarda ve 35 yaş altı erkeklerde oldukça seyrek. SSc prevalansı 7-489/milyon, insidansı 0.6-122/milyon olarak bildirilmiştir. Coğrafi bölgeler arasında büyük değişkenlik söz konusudur: SSc prevalansı Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde (1990 yılında 276/milyon) ve Avustralya'da (1999'da 233/milyon), Japonya ve Avrupa'dan daha yükek bildirilmiştir. Avrupa'da ayrıca Kuzey ve Güney arasında bir farklılık ta gözlenmektedir (Fransa'da 2001 yılında 158/milyon ve İngiltere'de 2000'de 88/milyon). Bazı bölgelerde (Ontario, Roma ve

Londra'da havaalanları yakınlarında) alışık olunmadık şekilde yüksek SSc varlığı görülmüştür (beklenilenden 3.5-1000 kat daha fazla) ve bunun henüz temel nedeni belirlenememiş olmakla birlikte mekansal-zamansal kümelenmeyi düşündürmektedir [14]. Diğer yandan zaman içerisinde SSc insidansında artış eğilimi var gibi görülmektedir ancak bu durum çalışma dizaynları ve kullanılan metodların farklı olmasından dolayı net değildir. Ayrıca hastalığın yaş, cins, ırklar arasında da farklı olduğuna dair veriler bulunmaktadır. SSc Afro-Amerikalılarda beyazlara göre hafifçe daha yüksek sıklıkta bildirilmiştir ve kadınlarda daha fazla görülmektedir [15]. Kadın/erkek oranı 3/1 ile 8/1 arasında bulunmuştur [16].

Lokalize skleroderma epidemiyolojisine ait veriler çok daha kısıtlıdır. LSc sıklıkla 20-40 yaş arasında görülür ancak lineer alttip çocuklarda daha sıktır. Yine bu alt tipte kadın/erkek oranı benzerdir. LSc insidansı bir tek çalışmada Minnesota-Olmsted County'de 27/milyon saptanmış ve kadın/erkek oranı 2,6/1 olarak bulunmuştur [17].

2.2. Genetik

Sistemik skleroz, multifaktoriyel bir sürecin (immün sistem anormallikleri, genetik ve çevresel faktörler) sonucu gibi görülmektedir ancak patogenezi halen tam olarak aydınlatılamamıştır. SSc'li hastalarda sıklıkla görülen aile öyküsünün hastalık gelişiminde genetiğin rolüne işaret ettiği düşünülmüştür. Gerçekten ailesel birikim yönünde çok sayıda çalışma bulunmaktadır [18]. Ancak son zamanlarda tek ve çift yumurta ikizleri arasında oldukça düşük ve benzer (yaklaşık %4,7) bulunan konkordans oranı genetik faktörlerden daha çok çevresel etmenlerin rolüne işaret ediyor olabilir [19]. Hastalık etiolojisinde genetik faktörlerin rolünü gösteren diğer bulgular arasında; otoimmün yanıt (antinükleer antikor gibi) sıklığının artışı, SSc hastalarının yakınlarında diğer otoimmün hastalıkların daha sık görülmesi, insan lökosit antijen (HLA) ilişkisi ve bazı genetik polimorfizmlerin sıklığının yüksek bulunmasıdır [16, 20, 21].

İmmun sistem ve enflamatuvar yanıtı düzenleyen birkaç gende tek nükleotid polimorfizmi (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNPs) varlığı ile SSc arasında ilişki gösterilmiştir. Bunlar içerisinde en dikkat çekici olanı tümör nekrozis faktör (TNF)- α 'nın promotor bölgesindeki bir polimorfizmin SSc'de daha sık bulunmuş olmasıdır. Ayrıca aynı SNP'in anti-sentromer antikor pozitifliği ile daha sıkı ilişkili olduğu saptanmıştır [22].

Son olarak mikrokimerizmin, SSc gelişiminde olası bir faktör olabileceği yönünde bulgular elde olunmuştur. Bir çalışmada en az bir erkek çocuk doğurmuş olan SSc'lu kadın hastalarda, kontrollere göre yüksek konsantrasyonda erkek DNA'sı tespit edilmiştir [23]. Diğer çalışmalarda daha yüksek oranda DNA varlığının, fetal hücrelerin reddini engelleyecek şekilde, HLA uyumu ile korelasyonu gösterilmiştir. Fetal hücrelerin, hastalığın başlamasındaki mekanistik rolü ise hala bilinmemektedir.

Serolojik tetkikler ile yapılan HLA çalışmalarında, HLA-A1, -B8, ve -DR3 veya -DR3/DR52 haplotipleri ile hastalığın bağlantılı olabileceği düşünülmüştür. DNA düzeyinde major histokompatibilite kompleksi (MHC) analizi yapıldığında, C4AQ0 ve DQA2 ile güçlü ilişkili bulunmuştur [24, 25].

2.3. Çevresel Faktörler

Enfeksiyöz ve diğer çevresel ajanların SSc'un gelişimini tetikleyebileceği ileri sürülmüştür. Bazı çalışmalarda *parvovirus B19* [26] ve *cytomegalovirus (CMV)* [27] enfeksiyonunun hastalıkta rolü olabileceği gösterilmiş olmakla birlikte, başlangıç niteliğindeki bu çalışmaların sonuçlarının önemi çok açık değildir. Birkaç vaka-kontrol çalışması ve olgu sunumlarında çeşitli organik solventler, vinil klorid ve silika tozunun, bazı kişilerde SSc benzeri hastalığı tetikleyebilecek potansiyel ajanlar oldukları saptanmıştır [28]. Ancak bu maddelerin hastalık yatkınlığındaki kesin rolünün ortaya konulabilmesi için daha büyük ve özenli epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Avrupa'da yapılan bazı çalışmalarda *Borrelia burgdorferi* enfeksiyonu ile LSc ilişkisi olabileceğini öne sürülmüştür. Bu çalışmalar büyük ölçüde

hastalık başlangıcı ve *Borrelia* IgG antikoruna arasındaki ilişkiye dayanmaktadır. Bununla birlikte birkaç takip çalışmasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Ayrıca ABD’de *Borrelia* enfeksiyonu ve LSc arasında ilişki bulunmamıştır. Birkaç olgu sunumu ve olgu serilerinde; İspanyol toksik yağı, çeşitli organik çözücüler ve radyasyon gibi bazı çevresel ajanlar ile LSc arasında birliktelik saptanmıştır [29].

2.4. Fibrozis Patogenezi

Sistemik skleroz erken döneminde dokuda görülen değişiklikler; mikrovasküler hasarlanma, mononükleer hücre infiltrasyonu ve yavaş gelişen fibrozistir. Geç dönemde ise ana bulgu dermiste yoğun bir şekilde paketlenmiş kollajen ile birlikte hücrelerin ortadan kaybı ve atrofidir [13].

Doku tamir sürecinde, ekstrasellüler sinyalin etkisiyle, fibroblast veya diğer progenitör hücreler, miyofibroblastlara transdiferansiye olarak; kollajen ve diğer ekstrasellüler matrix (ECM) proteinlerinin sentezi, konnektif dokunun yapışma ve kontraksiyonu, büyüme faktörlerinin sekresyonu ile tüm bu ligandlar için reseptörlerin hücre yüzey ekspresyonu indüklenir. Fizyolojik koşullarda tamir programı sıkı kontrol altındadır ve kendini sınırlar. Patolojik fibrozis ise sürekli ve artmış fibroblast aktivasyonu ile karakterizedir ve bu da ECM’in aşırı birikimi ve yeniden şekillendirilmesi (*remodeling*) ile sonuçlanır.

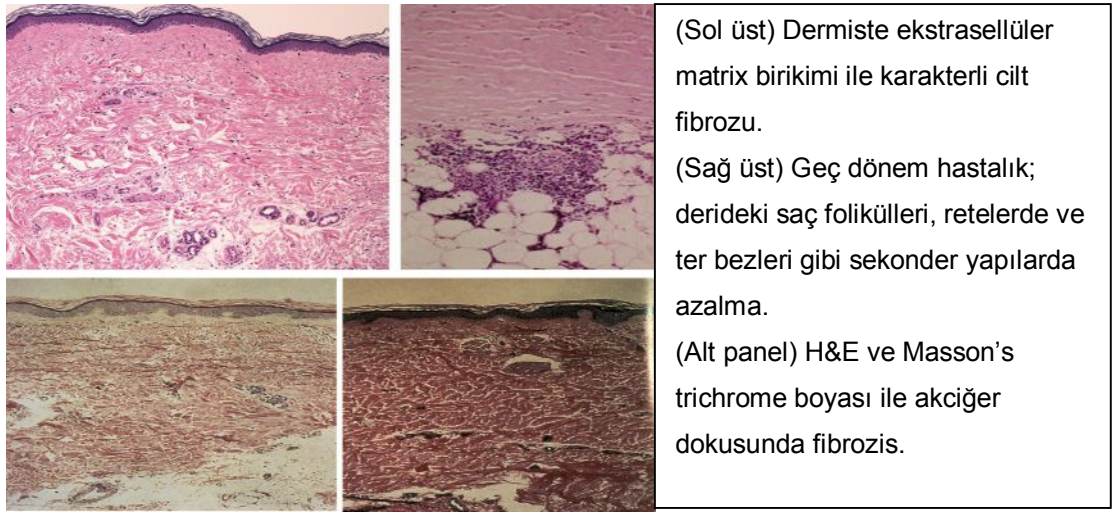
Fibrozis; normal doku mimarisinin, dens konnektif dokuya dönüşümü ile karakterizedir. ECM; hücrelerel kompartman (sirkülasyondan kaynaklanan infiltratif hücreler, dokuya yerleşik hücreler), büyük veya küçük yapısal moleküllerden (kollajen, proteoglikan, elastin, fibrillin ve adezyon molekülleri) oluşmaktadır [30].

2.4.1. Erken vasküler ve enflamatuvar değişiklikler

Sistemik sklerozda vasküler hasarlanma erken dönem lezyonudur. Özellikle arteriyol olmak üzere küçük damarları ilgilendirir ve hemen tüm organlarda görülür [31-34]. Bu dönemde endotel döşeyici tabaka

değişiklikleri, perivasküler infiltratlar ve tıkaçıcı mikrovasküler lezyonlar görülebilir. Geç dönemde kan damarlarının belirgin şekilde seyrelmesi tipiktir [31, 35]. Kan damarlarının progresif azalması ve hipoksiye yanıt olarak plazma vasküler endotelial growth faktör (VEGF) düzeyleri yüksek olmasına rağmen vaskülojenez defektiftir [36] ve bu paradoksun mekanizması bilinmemektedir.

Zaman içerisinde SSc'da vasküler enflamasyon, fibrozisle yavaşça yer değiştirir ve etkilenen organların mimarisi bozulur. Bu durum hastalığın ana belirti ve bulgularına yol açar. Ciltte fibrozis alt dermis ve üst subkutan tabakada başlar, mikrovaskülatür kaybı ile birlikte deri ekleri, retiküler yapılar, çizgilenmeler azalır (şekil 1). Erken dönemde değişik kollajen tipleri, proteoglikanlar ve fibrillin dahil elastik lifler tipik iken geç dönemde temel birikim tip I kollajendir.



Şekil- 1. Diffüz kutanöz sistemik sklerozda akciğer ve deri fibrozisinin histolojisi [37].

2.4.2. Tutulan hücre tipleri

2.4.2.1. Endotel hücresi

Endotel hücreleri erken dönemde etkilenirler. Bu dönemde endotel hücrelerinde apoptoz ve fenotip değişikliklerine rağmen endotel hücre

proliferasyon ve prekürsör farklılaşması yoktur [38, 39]. SSc'nın erken lezyonları perivasküler bölgede oluşur. Progresif duvar kalınlaşması ve perivasküler infiltratlar yanında vasküler düz kas hücresi ve perisit tutulumu görülür [40, 41].

2.4.2.2. Vasküler düz kas hücreleri ve perisitler

Küçük damarlar vasküler düz kas hücreleri ve perisitleri içerir. Perisitler; vasküler düz kas hücreleri, fibroblast ve miyofibroblastlara (α -düz kas aktin [α -smooth muscle actin; α -SMA] ve fibronektinin ED-A varyantı eksprese eden özelleşmiş kontraktıl hücreler) [42, 43] farklılaşabilme potansiyeline sahiptirler ve endotel hücre proliferasyonunu etkilerler [44, 45].

Bu durumda SSc'da erken dönemde etkilenen hücreler arasında endotel hücreleri, perisitler, vasküler düz kas hücreleri ve perivasküler alandaki immün hücreler sayılabilir. Bunlar içerisinde yalnızca endotel hücreleri, apoptoza uğrayan mezenkimal hücrelerdir oysa perisitler ve düz kas hücreleri hızla çoğalırlar [13].

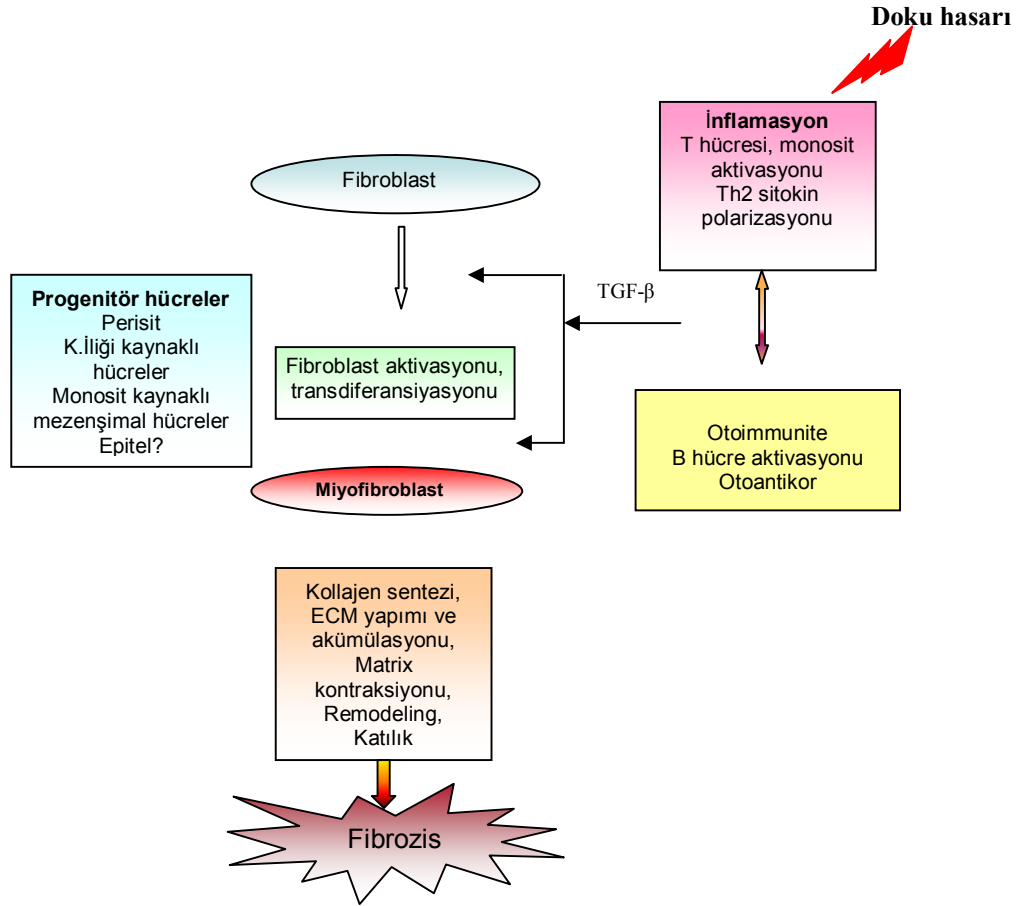
2.4.2.3. Fibroblast

Fibroblastlar, kollajen ve diğer ekstrasellüler matrix proteinlerinin yapımı, depolanması, remodelinginde orkestra şefidir. Fizyolojik durumlarda fibroblastlarca tamir süreci çok sıkı kontrol edilen ve kendini sınırlayan bir aktivite iken SSc fibrozisinin altında yatan temel patolojik değişiklik uygunsuz fibroblast aktivasyonudur [37]. SSc fibrotik lezyonlarında dokudaki fibroblastlar yanında; perisitler, kemik iliği kökenli mezenkimal progenitör hücreler ve hatta belki epitelyal-mezenkimal transizyon ile epitelyal hücreler miyofibroblastlara transdiferansiye olarak ECM birikimine katkıda bulunurlar [46]. Fizyolojik olarak miyofibroblastlar apoptozla ortadan kaldırılırken patolojik durumlarda dokudaki varlıklarını sürdürürler ve aşırı ECM üretirler (şekil 2). Thy-1 eksprese eden, α -SMA pozitif miyofibroblastlar SSc ve fibrotik

hastalıklarla güçlü ilişkili bulunmuştur ancak normal ciltte bulunmazlar [44, 47].

2.4.2.4. Mononükleer hücreler

SSc'nin erken lezyonlarındaki hücreyel infiltrasyonda çoğunlukla T hücreleri, makrofajlar, B hücreleri ve mast hücreleri bulunur [48-50]. Cilt lezyonlarındaki T hücreleri öncelikle CD4+ hücrelerdir [48]. Bu hücreler aktivasyon [51] ve oligoklonal ekspansiyon [52] göstergeleri taşırlar ve büyük ölçüde T helper 2 (Th2) fenotipindedir [53]. Cilt lezyonlarında CD20+ B hücreleri de bulunmaktadır. Bu hücreler interlekin 6 (IL-6), TGF- β sekresyonu ve otoantikor üretmekle fibrozis patogeneziine katkıda bulunabilir.



Şekil- 2: Fibroziste fibroblast akümüasyonu [37]. (Aktive fibroblastlar kollajen ve diğer konnektif doku moleküllerinin yapımını ve ekstraselüler matrisin (ECM) kontraksiyon ve yeniden şekillenmesini sağlar.)

2.4.3. Soluble Mediatörler (Tablo- 1)

2.4.3.1. Sitokin ve büyüme faktörleri

Sistemik sklerozlu hastalarda cilt biyopsi örneklerinden tüm genom transkripsiyon profili ve bu şekilde fibroblast aktivasyonunda görev alan sitokine dair doğrudan bazı kanıtlar elde edilmiştir. Biyopsi yerine göre değişkenlik, karışık hücre topluluğu ve transkripsiyon sonrası düzenlemeler gibi bu yaklaşımın sınırlılıkları dahilinde bu veri SSc'de fibroblastlar, endotel hücreleri, B ve T lenfositlerinde gen transkripsiyonu açısından sistemik değişiklikler olduğuna işaret etmektedir. Bu tip transkripsiyonel değişiklikler hem etkilenen hem de etkilenmeyen cilt bölgelerinde gösterilmiştir [50].

Tablo- 1: SSc'da fibrozis ile ilişkili mediatörler [37].

Büyüme Faktörü	Hücre Kökeni
TGF- β	Enflamatuar hücreler, trombosit, fibroblast, makrofajlar
PDGF	Trombosit, fibroblast, makrofajlar, endotel hücreleri
CTGF/CCN2	Fibroblast
İnsülin benzeri büyüme faktörü-1	Fibroblast
IL-4, IL-13	Th2 lenfosit, Mast hücresi
IL-6	Makrofaj, B hücresi, T hücresi, fibroblast
Th17 sitokinler (IL-17,IL-23)	T lenfositler
Kemokinler (MCP-1, MCP-3)	Nötrofil, epitelyum hücresi, endotel hücresi, fibroblast
Fibroblast büyüme faktörü	Fibroblast
Endotelin-1	Endotel hücresi

2.4.3.2. TGF- β

TGF- β güçlü bir profibrotik sitokindir [54]. SSc'lu hastaların cilt lezyonlarından elde edilen biyopsi örneklerinde, DNA mikroarray analizleri ile TGF- β bağımlı bir grup genin aşırı ekspresyonu saptanmıştır. TGF- β aynı

zamanda miyofibroblastların en güçlü uyarandır ve TGF- β ve PDGF reseptörleri dahil çeşitli sitokin reseptörlerinin ekspresyonunu düzenler [55].

Ayrıca SSc fibroblastlarında TGF- β , CCN ailesinden matrisellüler büyüme faktörlerinden birisi olan, sistein zengin bir modüler protein, konnektif doku growth faktörünü (CTGF) de up regüle eder. Bu madde TGF- β 'ya benzer biyolojik aktiviteye sahiptir. SSc lezyonlarında artmış TGF- β ve CTGF ekspresyonu tespit edilmiştir ve fare modellerinde, fibroblastlardaki artmış TGF- β sinyalizasyonunun, cilt fibrozisine neden olduğu gösterilmiştir [56].

Skleroderma hücrelerinde, TGF- β sinyalizasyon yolağının daha alt kesimlerindeki, Smad bağımlı ve bağımsız iletiler yoğun şekilde araştırılmıştır. In vitro modellerde protein kinaz C delta, geranil transferaz 1, stress-aktive protein kinaz p38 inhibisyonu, SSc hücrelerinde kollajen I ve III ekspresyonunu elimine etmektedir. İnaktif prekürsör olarak üretilen TGF- β , $\alpha_v\beta_3$ integrin ve trombospondin tarafından aktive edilir ve bu durum sitokinler, ECM ve integrinler arasındaki etkileşimin iyi bir örneğidir ve tüm bu moleküllerin SSc'de ekspresyonu indüklenmiştir [57, 58].

2.4.3.3. Trombosit kökenli büyüme faktörü (*Platelet derived growth factor*; PDGF)

Yara iyileşmesinde ve fibrozis oluşumunda görevli olan PDGF'in SSc'de de rolü olabilir. SSc'lu hasta serumlarında PDGF reseptörü (PDGFR)'ne karşı stimulan antikor varlığı, perisit-fibroblast transizyonunda PDGF'in güçlü bir uyarıcı olması, SSc hastalarının tutulan cilt örneklerinde yüksek oranda PDGF ve beta reseptörünün bulunması, cilt fibrozunda PDGF sinyalizasyon inhibitörlerinin yararlı etkiler göstermesi SSc'de PDGF'in önemine işaret etmektedir [59-61].

2.4.4. Ekstrasellüler matrix komponentleri ve reseptörleri

Kollajen ile fibronektin ve fibrillin gibi diğer glikoproteinlerin aşırı yapımı ve ECM komponentlerinin aşırı depolanması SSc'un temel özelliğidir. SSc'de

kollajenin düzenlenmesi değişmiştir ve normalde ciltte değil kemikte görülen çapraz bağlar içerir. Bu çapraz bağlar lizil hidroksilaz 2 tarafından oluşturulur [62]. ECM molekülleri sitokin ve büyüme faktörlerinin aktivitesini düzenleyerek hücre sel yanıtı etkilerler. Örneğin TGF- β ve fibrillin etkileşimi SSc'de fibroblast aktivasyonu için gereklidir [37].

2.4.5. Otoantikolar

Sistemik sklerozlu hastalarda çeşitli otoantikoların varlığı bildirilmiştir. Bazı otoantikolar, SSc'de hastalık şiddeti ve belli organ tutulumları ile korele bulunmuş olmasına karşın patojenik bağlantıları açık değildir. Yakın dönemde, hücre yüzey antijenleri dahil, çekirdek dışı antijenlere karşı da otoantikolar tanımlanmıştır. Son dönemde hastalık patogenezinde rolü olabileceği düşünölen PDGFR'ne karşı olan antikolar, spesifik sinyal kaskadını stimüle ettiklerinden agonistik gibi görölmektedir [63]. Bu durumu destekleyen diğer bulgu da PDGFR agonistik aktivitesi ile aynı tipte otoantikoların, sklerodermatöz graft-versus-host hastalıklı (GVHD) hastaların serumlarında kaba immünglobulin şeklinde saptanmış olması ve dirençli sklerodermatöz GVHD'da PDGFR sinyalizasyon inhibitörlerinin yararlı etki gösterdiklerinin bildirilmesidir [64].

2.5. Klinik Özellikler

A-Lokalize Skleroderma (LSc)

Morfolojik ve klinik bulgularına dayalı olarak LSc başlıca dört alt tipe ayrılır:

1. Plak
2. Büllöz
3. Lineer
4. Derin tipler.

En sık plak ve lineer tipler görölr. LSc genel olarak cilde sınırlı bir hastalık olmasına karşın plak ve lineer tipte erişkin ve çocuk hastaların dahil edildiği

bir çalışmada %21'e varan oranda hafif özefagus ve pulmoner anormallikler bildirilmiştir. Genellikle motilite sorunları olan özefagus problemleri ile gaz değişim kusurları şeklindeki pulmoner olaylar semptomatik bulunmamıştır [65]. Ancak erişkinlerin dahil edildiği daha büyük, diğer bir çalışmada bu sonuçlar tekrar edilememiştir. Bununla beraber özellikle lineer varyant olmak üzere 750 çocuk hastanın alındığı daha kapsamlı ve çok uluslu bir çalışmada Zulian ve arkadaşları hatırı sayılır oranda deri-dışı tutulum varlığını göstermişlerdir [66]. Bu durum çocuklardaki lineer varyantın SSc ile bazı ortak patogenetik faktörleri paylaşıyor olduğunu düşündürmektedir [2].

B-Sistemik Skleroz (SSc)

Sistemik skleroz 4 kategoride incelenir [67].

1. Sınırlı kutanöz sistemik skleroz (ISSc)
2. Diffüz kutanöz sistemik skleroz (dSSc)
3. Sine skleroderma
4. Çakışma sendromları

2.5.1. Kutanöz bulgular

SSc ile LSc cilt tutulumu arasında önemli farklar vardır. LSc'un plakları sistemik forma göre oldukça heterojendir. Bu heterojenlik hem tek bir plakta hem de aynı hastada farklı plaklar arasında dikkat çekebilir. LSc vücudun herhangi bir yerinde olabilirken, SSc daha yaygın hale gelmeden önce elleri, perioral bölgeyi daha fazla tutar.

Sınırlı SSc, bazen parmaklarla sınırlı olmak üzere, distal ekstremitelerde simetrik, progresif cilt fibrozisi ile karakterizedir. SSc lezyonları, LSc'nın plakları ile karşılaştırıldığında sıklıkla daha az sklerotiktir ve teleanjiektaziler daha fazla dikkat çekicidir. Erken ödematöz fazdan, geç fibrozis evresine ilerleme 5-15 yıl sürebilir ve bazı hastalarda hiç belirgin akroskleroz gelişmeyebilir. Diffüz SSc hastalarında sıklıkla proksimal ve distal ekstremiteler, gövde ve yüzü içeren yaygın simetrik fibrozis görülür.

Diffüz formda, sınırlı alt tipe göre ödematöz fazdan fibrozis fazına geçiş çoğu kez daha kısa sürer. Etkilenen bölgelerde hipo-hiperpigmentasyon görülebilir. Sınırlı SSc'da ve geç dönem dSSc'da ciltte kalsinozis gelişebilir. İleri evrelerde cilt atrofisi gelişebilir. Ayrıca bu hastalarda, özellikle distal parmak pulpası ve kemik çıkıntılar üzerinde olmak üzere, cilt ülserasyonu gelişebilir [2].

SSc'daki deri değişikliklerinin takibinde en yaygın kabul gören yöntem, basit klinik palpasyondur. Modifiye Rodnan deri skorlamasında, 17 vücut alanının klinik palpasyon bulgularını temel alan kalitatif bir derecelendirme skalası kullanılır (0, normal deri; 1, hafif; 2, orta; 3, şiddetli kalınlaşma). Bu skorlama klinik araştırmalar için semikantitatif bir araç oluştururken, bireysel hasta için de klinik ilerlemenin ölçülmesini sağlar [68].

2.5.2. Ekstrakutanöz bulgular

2.5.2.1. Muskuloskeletal tutulum

Yaygın artralji ve sabah katılığı SSc'un tipik bulgularındandır. Klinik olarak saptanabilen eklem enflamasyonu seyrek, ancak bazı serilerde vakaların % 29'unda eroziv artropati gelişiminden bahsedilmiştir. Tendon kılıflarının enflamatuar ve fibröz tutulumu artriti taklit edebilir. Etkilenen bölgelerde aktif ve pasif hareket sırasında tendon sürtünme sesi hissedilebilir.

Kullanılmama atrofisine bağlı olarak pek çok hastada proksimal ve distal kaslarda sinsi kas güçsüzlüğü ortaya çıkabilir. Bazı hastalarda ise primer kas hastalığının EMG ve biyopsi bulguları gözlenebilir. Uzun süreli hastalıkta kronik dijital iskemi nedeniyle, dijital tuftların erozyonu ve akroosteoliz oluşabilir [69, 70].

2.5.2.2. Oral bulgular

SSc'lu hastalarda oral komplikasyonlar sıklıkla görülür. Diffüz SSc'da ağız açıklığında azalma, dudakta incelme ve retraksiyon, ağız çevresinde vertikal kırışıklık gibi yüz değişiklikleri yaygındır. Kozmetik problemler, ağız açıklığındaki azalma nedeniyle beslenme ve diş sorunları gelişebilir. Otuzbir kadın hastanın dahil edildiği bir çalışmada, klinik ve radyolojik olarak oral değerlendirme yapılmış; interkomissural mesafe, maximum ağız açıklığı sağlıklı kontrollere göre azalmış olarak bulunmuştur. Yine bu araştırmada 31 hastanın 9'unda, mandibular açığı, kondiler baş, koronoid proçes, posterior ramus, digastrik bölgeyi içeren mandibular kemikte erozyon veya incelme tespit edilmiştir. Hastaların %70'inde gözlenen kserostomi diş çürükleriyle ilişkili bulunmuştur. Periodontal hastalık sıklığı, SSc'de sağlıklı kontrollere göre artmıştır. Alveolar kemiğin normal periodontal bağlantısının ortadan kalkması diş kaybı ile sonuçlanmaktadır. SSc'lu hastalarda, periodontal membran genişliğinde artış bulunmuştur [71].

2.5.2.3. Gastrointestinal tutulum

Deri değişiklikleri ve Raynaud fenomeninden sonra en sık görülen bulgu gastrointestinal sistem (GIS) tutulumudur. GIS fibrozisine bağlı hemen tüm traktta belirti ve bulgular saptanabilmektedir. Özefagus motilite bozukluğu, hem sınırlı hem yaygın hastalığı olanlarda benzer oranda görülmektedir. Alt özefagus sfinkterinin fonksiyon bozukluğuna bağlı dispepsi görülebilir. Özefagusun alt üçte ikisinde peristaltizmin bozulması, katı gıdalara karşı disfaji ve odinofaji şeklinde kendini gösterebilir. Özefagus fonksiyonları manometri, baryumlu sineözefagografi, radyonüklid çalışmalar ve özefagoskopi ile değerlendirilebilir [72].

SSc'da mide etkilenmesinde; fonksiyonel gastrik çıkış obstrüksiyonu, akut gastrik dilatasyon ve üst GIS kanamasına neden olabilen gastrik antral venöz ektazi görülebilir. İnce barsak tutulumunda başlıca kronik diyare,

intestinal obstrüksiyon ve malabsorbsiyon, kolon lezyonlarında konstipasyon, psödo-obstrüksiyon ve geniş ağızlı divertiküller gözlenebilir [73].

2.5.2.4. Pulmoner tutulum

Pulmoner tutulum, SSc'da en önde gelen mortalite ve morbidite nedenlerindedir. Akciğer dokusunda vasküler obliterasyon, fibrozis ve enflamasyon değişen oranlarda beraberce bulunabilir. Genel olarak, dSSc hastaları, progresif interstisyel akciğer hastalığı için risk altındadır. Alveollerde, interstisyumda, peribronşial dokularda diffüz fibroze bağlı histolojik değişiklikler ve değişen derecelerde enflamatuar infiltratlar gözlenir. Sınırlı SSc'lu hastalarda da interstisyel akciğer hastalığı gelişebilir, ancak bu hastalarda uzun dönemde pulmoner hipertansiyon daha sıktır [74].

Klinik başlangıç, genellikle sinsidir. Egzersizle artan dispne, efor kapasitesinde kısıtlanma, produktif olmayan öksürük tipik bulgularıdır. Fizik muayenede; interstisyel fibrotik hastalık varlığında erken inspiratuar ince raller, pulmoner hipertansiyonda ikinci kalp sesinin pulmoner komponentinin duyulması, sağ ventriküler gallop ritmi, pulmoner ve triküspit yetmezlik üfürümleri, juguler venöz dolgunluk, hepatojuguler reflü ve pedal ödem tespit edilebilir [75].

Akciğer grafilerinin interstisyel akciğer hastalığını tespit etmede duyarlılığı düşüktür. Yüksek rezolüsyonlu akciğer tomografisi (*high resolution computed tomography*; HRCT) bu açıdan daha iyi bir yöntemdir ve fibrozis ile enflamasyonun ayrımını sağlayabilir [76]. Solunum fonksiyon testlerinde vital kapasitede azalma, azalmış kompliyans ve zorlu ekspiratuvar hacmin vital kapasiteye oranının artması gibi restriksiyon bulguları tipiktir. Difüzyon kapasitesindeki azalma en duyarlı anormalliktir. Tek başına veya orantısız olarak azalmış ise pulmoner vasküler tutulumu düşündürmelidir [77]. Yapılan çalışmaların çoğunda, pulmoner tutulumun bir kez yerleşik hal aldıktan sonra sürekli progresyon gösterdiği ve hastalığın süresiyle birlikte sıklığının arttığı gösterilmiştir [78].

2.5.2.5. Miyokardiyal tutulum

Patolojik seriler, SSc'lu hastaların yaklaşık %81'inde yama tarzında miyokardiyal fibrozis görüldüğünü vurgulamaktadır [79]. Bununla birlikte klinik olarak miyokardiyal tutulum daha az görülür. Hastaların yaklaşık % 50'sinde atrial veya ventriküler aritmiler, iletim bozuklukları gibi istirahat elektokardiyografisinde anormalikler bulunabilir [80]. LSSc'u olanlarda miyokard tutulum açısından biraz daha az risklidir [81].

2.5.2.6. Renal tutulum

Ani başlangıçlı hızlı seyirli malin hipertansiyon, hızlı ilerleyen böbrek yetmezliği, hiperreninemi, mikroanjiopatik hemoliz bulguları "skleroderma renal kriz" sendromu olarak tanımlanır [82]. Bu klinik tablo sıklıkla hastalığın erken dönemlerinde ve deri tutulumu hızla ilerleyen diffüz sklerodermalı bireylerde görülür. SSc'un tipik intimal proliferatif lezyonuna, medianın fibrinoid nekrozu eşlik eder. Mediadaki fibrinoid nekroz nonspesifik malin hipertansiyonun bir bulgusudur. Bu değişiklikler daha çok interlobuler ve arkuat arterlerde göze çarpar. Ven duvarlarında kompleman ve immunglobulin depolanması seyrek olarak bildirilmektedir. Vaskülit sık değildir [83].

2.5.2.7. Nörolojik tutulum

Sistemik skleroz'da santral sinir sistemi tutulmaz. Karpal tünel sendromu, meraljia parestetika, trigeminal nevralji, fasyal sinir felçleri gibi tuzak nöropatileri görülür. Subklinik otonomik disfonksiyon gösterilmiştir. Periferik duyu bozuklukları, eşlik eden hastalıklara veya medikal tedavinin yan etkilerine bağlanmaktadır [84, 85].

2.6. Serolojik Özellikler

SSc'da otoantikörlerin varlığı ilk olarak 1960'lı yıllarda tespit edilmiştir [86] ve bugün hastaların %90'ından fazlasında otoantikörlerinin görüldüğü bildirilmektedir [87]. Belli antikörlerin çeşitli klinik ve laboratuvar bulgular ile korelasyonunun gösterilmiş olmasından dolayı (tablo 2) SSc tanısı ve idaresinde otoantikörlerin saptanması ve kantite edilmesi önemli bir hal almıştır. Bununla birlikte otoantikörlerin SSc için "altın standard" olduğu düşünülmemelidir. Çünkü bunlar, önemli kısıtlılıkları bulunan hastalık göstergelerinden birisidir ve en iyisi tanısal panelin bir parçası olarak kullanılmalıdır [88].

Tablo- 2. SSc'da otoantikörler ve klinik ilişkileri [88].

Otoantikör	Klinik ilişki
Anti-DNA topoizomeraaz I	dSSc, pulmoner fibrozis, hastalık ciddiyeti (total deri skoru)
Anti-sentromer	ISSc, iyi prognoz
Anti-RNA polimeraz I-III	dSSc, renal tutulum
Anti-U3 RNP	dSSc, erkek, Afro-Amerikan ırk, pulmoner HT
Anti-Th	ISSc, barsak tutulumu
Anti-PM-Scl	ISSc; miyozit overlap
Anti-fibroblast	Fibroblastlarda pro-adheziv ve pro-enflamatuvar fenotip
Anti-endotelial hücre	Dermal endotelial hücrelerde fibrillin 1 ekspresyonu ve apoptozisin indüksiyonu

2.7. Sistemik Skleroz ve Çakışma Sendromları

Sistemik sklerozlu pek çok hastanın anti-nükleer antikörleri pozitifdir ve bazı hastaların ailelerinde RA ve SLE gibi bağ dokusu hastalığı öyküsü vardır.

SSc'li hastaların bir kısmında da diğer otoimmün hastalıklar bulunabilir. Yakın dönemde RA ve SSc çakışma sendromuna dair bildirimler ile anti-topoizomeraz I (Scl-70) pozitif diffüz SSc, pulmoner fibrozlu belli bir grup hastada romatoid faktör (RF) pozitif eroziv artrit gelişimi tanımlanmıştır [89, 90]. SLE nadiren SSc ile birliktelik göstermektedir. Oysa SSc için spesifik olduğu düşünülen bazı otoantikörlerin, diğer otoimmün hastalıklarda da bulunabileceği gösterilmiştir. Örneğin %35 kadar SSc'li hastada gösterilmiş olan Scl-70 antikörlerinin %25 kadar SLE hastasında pozitif olabildiği bildirilmiştir [91]. Myozit veya myopati SSc'un da bulgusu olabilir ve polimyozit/SSc çakışması olan hastalarda sıklıkla anti-PM Scl antikörleri pozitifdir. Oysa polimyozit, artrit ve alveolit ile birlikte bulunan anti-Jo-1 antikörleri SSc çakışma durumlarında görülmez. Yine PM Scl pozitif hastaların daha iyi prognozlu oldukları bildirilmiştir. Vaskülit SSc'un tipik bir bulgusu olmamakla birlikte vaka sunumları mevcuttur. Simvastatin kullanımı ile ilişkili olabilecek eozinofilik fasiitli olgular da rapor edilmiştir [92].

Sistemik sklerozda sikka semptomları sıktır. Tükürük bezlerinde fibrotik değişiklikler bulunabilir ve ağız kuruluğuna neden olabilir. Eski yayınlarda SSc'da "sekonder SjS" sıklığı % 17-29 olarak belirtilmiş ve hatta %1 ile %90 gibi uç bildirimler olmuştur [12, 93]. SSc'lu hastalarda SjS sıklığı ve karakteristik özellikleri konusunda az sayıda çalışma bulunmaktadır dahası Amerika-Avrupa kriterlerine göre SjS varlığını araştıran çalışmalar daha da kısıtlıdır [1, 94]. Bir çalışmada subjektif kuruluk SSc'lu %68 hastada bulunmuş ve bunların %55'inde tükürük bezi biyopsilerinde fibrozis gösterilmiştir. Bu çalışmada 133 hastadan 19'u (%14) Amerika-Avrupa kriterlerini karşılamıştır [1]. 202 primer SjS'lu hastanın hem SSc hem SjS olan 27 hasta ile karşılaştırıldığı diğer çalışmada her iki hasta grubunun aynı özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Yine bu çalışmada primer SjS'lu olanlarda kriyoglobulinemi, SSc-SjS birlikteliği olan olgularda periferik nöropati ile ne SSc ne de SjS için tipik olmayan primer biliyer siroz gibi ek otoimmün hastalık veya otoantikörler daha fazla bulunmuştur [94].

Yakın dönemde yapılmış bu iki Fransız çalışmasının sonuçları SSc ile SjS birlikteliğinin, SSc ilişkili pulmoner fibrozisten koruyucu olabileceğini

göstermiştir. Bu çalışmalarda SjS'u daha çok ISSc alt tipi olanlarda saptanmıştır [1, 94]. Özetle eldeki kısıtlı veriler; sikka semptomlarının SSc'a bağlı fibrozisten kaynaklandığı, SjS-SSc birlikteliğinin pulmoner fibrozis riskinden koruyucu etkili olabileceğine işaret etmektedir.

3. HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışmaya, B.30.2.DEÜ.0.01.00.00/13529 sayısı ile alınan lokal etik kurul onayını takiben, romatoloji polikliniğinde SSc tanısı ile izlenen 102 hasta, ardışık olarak dahil edildi. SjS ile ilgili klinik ve laboratuvar özelliklere neden olabileceği bilinen; baş-boyun ışınlaması yapılan, hepatit C enfeksiyonu, erişkin immün yetmezlik sendromu (AIDS), lenfoma, sarkoidoz, graft versus host hastalığı olan ve antikolinergik ilaç (ilacın yarı ömrünün 4 katından daha kısa süre içerisinde) kullanan hastalar çalışma dışında bırakıldı. Katılmayı kabul eden tüm hastalardan yazılı bilgilendirilmiş onam alındı. Hastaların temel demografik, klinik ve laboratuvar bulguları standard bir form kullanılarak kaydedildi.

İlk aşamada tüm hastalarda Amerika-Avrupa SjS sınıflama kriterlerinde (tablo 3) tanımlanan subjektif ağız ve göz kuruluğu semptomlarının varlığı araştırıldı. Bu amaçla söz konusu kriter setinde yer alan I ve II no'lu maddelerdeki 6 soru kullanıldı. Bu sorulara olumlu yanıt veren hastalarda ağız ve göz kuruluğu semptomlarının şiddeti 0-10 Vizüel Analog Skala (VAS) kullanılarak belirlendi.

Çalışmaya katılan tüm hastalara objektif olarak göz kuruluğunun ortaya konulmasında kullanılan Schirmer I testi uygulandı. Bu test için standard filtre kağıdı (5x35 mm'lik OptiTech®), alt göz kapağı konjunktival forniksi dış kesimine yerleştirilerek 5 dakika bekletildi. Bu sırada hastanın gerekli olduğunda göz kırpmasına izin verildi. Beş dakika sonunda, kurutma kağıdının ıslanan kısmı ölçüldü ve ≤ 5 mm olması halinde Schirmer 1 testi pozitif olarak değerlendirildi [122]. Yine tüm hastalara objektif ağız kuruluğunun göstergelerinden birisi olan uyaransız total tükürük akımı testi (siyalometri) yapıldı. Siyalometri 2 saatlik açlığı takiben uygulandı. Hastaların tükürüklerini biriktirmeleri için ölçülü kap olarak falcon tüpü kullanıldı ve 15 dakikada $\leq 1,5$ mL tükürük miktarı anormal olarak yorumlandı [95].

İlk aşamada araştırılan;

- Subjektif kuruluk semptomlarından herhangi birinin varlığı veya,
- Schirmer I testinin anormal olması veya,

- Uyaransız total tükürük akım testinin pozitif olması durumunda ikinci aşamada minör tükürük bezi (MTB) biyopsisi yapıldı.

Tablo- 3: Sjögren Sendromu Amerika-Avrupa Kriterleri (2002) [96]
<p>I. Oküler semptomlar: aşağıdaki sorulardan en az birine olumlu yanıt verilmesi</p> <ul style="list-style-type: none"> ✚ 3 aydan uzun zamandır her gün, devamlı, rahatsız edici göz kuruluğu var mı? ✚ Gözlerde tekrarlayan kum veya çakıl taşı varlığı hissi var mı? ✚ Günde 3 defadan fazla yapay gözyaşı kullanıyor musunuz? <p>II. Oral semptomlar: aşağıdaki sorulardan en az birine olumlu yanıt verilmesi</p> <ul style="list-style-type: none"> ✚ 3 aydan uzun zamandır ağız kuruluğu hissi var mı? ✚ Bir yetişkin olarak tekrarlayan veya kalıcı tükürük bezi şişliği oldu mu? ✚ Kuru gıdaları yutmaya yardımcı olması için sıklıkla sıvı alır mısınız? <p>III. Oküler tutulumun objektif kanıtı: aşağıdaki testlerden en az birinin pozitif sonuçlanması.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✚ Anestezisiz uygulanmış Schirmer testi (≤ 5 mm/ 5 dk) ✚ Rose Bengal veya diğer oküler boya skorları (<i>van Bijsterveld skorlamasına göre ≥ 4</i>) <p>IV. Histopatoloji:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✚ Minör tükürük bezlerinde (normal görünümlü mukozadan alınmış) fokal lenfositik siyaloadenit, 1 \geqfokus skoru (<i>normal görünümlü müköz asini komşuluğunda, glandular dokunun her 4 mm²'lik alanında 50'den fazla lenfosit içeren odak</i>) <p>V. Tükürük bezi tutulumu objektif kanıtı:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✚ Uyaransız total tükürük akımı (15 dk'da $\leq 1,5$ ml) ✚ Parotis siyalografisi: majör kanallarda tıkanma olmaksızın, diffüz siyaloektazi (punktat, kaviter veya destrüktif patern) ✚ Tükürük bezi sintigrafisi; radyoaktif izotopun gecikmiş alımı, azalmış konsantrasyonu ve/veya gecikmiş atılımı <p>VI. Otoantikolar: serumda, anti-Ro(SSA), veya anti-La(SSB) veya herikisinin pozitifliği</p> <p>Primer SjS: Altta yatan başka bir hastalık bulunmaksızın, yukarıdaki 6 kriterden herhangi 4'ünün pozitifliği (IV. ya da VI. Kriterlerden en az biri pozitif olmalıdır); veya 4 objektif kriterden (III, IV, V, VI) 3'ü pozitif olmalıdır.</p> <p>Sekonder SjS: Altta yatan bir hastalık varlığında I. veya II. kriterden birisinin pozitifliğine ek olarak III, IV ve V. kriterlerden herhangi ikisinin pozitifliği.</p>

Hastaların SSc'a sahip olmaları nedeniyle Sjögren klasifikasyonu, Amerika-Avrupa SjS sınıflama kriterlerinde yer alan **sekonder SjS** tanımlamasına göre yapıldı [96].

3.1. MTB Biyopsi Yöntemi

MTB biyopsisi için öncelikle alt dudakta tükürük bezleri palpasyonla lokalize edildi. Biyopsi yapılacak alan dezenfekte edildikten sonra lokal anestezi uygulandı. Yirmi iki no bistüri kullanılarak, 2-3 mm'lik küçük insizyon oluşturulup, biyopsi forcepsiyile glandüler doku çıkarıldı. İnsizyon emilebilen sutur materyali ile kapatıldı [97].

3.2. Histopatolojik Değerlendirme

Biyopsi materyali, formalin ile fikse edilip, parafin bloklara gömülerek standard labaratuvar işlemi uygulandı. Preparatlara hemotoksilen eozin boyası uygulandı. Tüm örnekler, 200 mikron arayla kesilmiş 3 kesit yapılarak; tek bir uzman patolog tarafından değerlendirildi. Tüm preparatlar; örneğin yüzey alanı, lenfositik infiltrasyon derecesi, fokus sayısı, dev fokus varlığı, fibrozisin lokalizasyonu ve derecesi, lobuler veya asiner atrofi, nonspesifik siyaloadenit varlığı açısından değerlendirildi.

Histopatolojik olarak fokal lenfositik siyaloadenit varlığı, fokus skorunun (50 veya daha fazla lenfosit varlığı ile karakterize enflamatuvar infiltrat) ≥ 1 (Chisholm ve Mason skalasına göre tükürük bezi dokusunun 4 mm² lik alanında grade 3 veya 4) olması SjS için tanısal olarak değerlendirildi. Fibrozis hafif, orta, ciddi olarak sınıflandırıldı.

3.3. İmmünohistokimyasal İnceleme

Tükürük bezi biyopsilerinde α -SMA ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle çalışıldı. Bu amaçla poli-L-lizinli lamlara hazırlanan kesitler; aktin (*Actin Smooth Muscle (ASM-1)-alpha Mouse/Afpur* IB; IHP; IF Hu, 25 uq, Quartett marka) ile boyandı. Bu immunhistokimyasal boyama işlemi sırasında şu aşamalar uygulandı:

1- Hazırlanan kesitler 1 saat süreyle 65 derecede etüvde bekletildi.

2- Kesitler 20 dk. ksilolde bekletilerek deparafinize edildi.

3- Daha sonra %96'lık alkolden başlayarak %70'lik alkole dek azalan alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edildi.

4- Kesitler akan suda yıkandı.

5- Kesitler EDTA ile 20 dk. süreyle 99 derecede kaynatıldı.

6- Daha sonra *Lab Vision Autostainer 360* ile boyama işlemi yapıldı. Bu işlem sırasında kesitler: %3 'lük H₂O₂ damlatılarak 15 dk. bekletildi sonra Tris ile yıkandı. Large Volume Ultra V Block ile damlatılarak 5 dk. bekletildi ve yıkama yapılmadan primer antikorlar (aktin) damlatılarak 60 dk bekletildi. Süre sonunda Tris ile yıkandı. Daha sonra biotinlenmiş keçi anti-polyvalent ile 20 dk süreyle yıkandı. Süre sonunda Tris ile yıkandı. Daha sonra streptavidin peroksidaz ile 20 dk süreyle yıkandı. Diaminobenzidin (DAB) kromojen damlatılarak 7 dk süreyle bekletildi (DAB kromojen solüsyonu 10 ml Tris içinde DAB kromojen tabletin eritilip 3 damla H₂O₂ eklenmesiyle elde edilmiştir.). Distile su ile yıkandı.

7- Boyama işlemi sonrası kesitler 30 sn. Mayer's hematoksilen ile boyanıp distile suda yıkandı.

8- Kesitler %70'lik alkolden başlayarak %96'lık alkole dek çoğalan alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi.

9- Ksilol ile 10 dk süreyle şeffaflandırdıktan sonra lamalar kapatma (montaj) makinesinde kapatıldı.

10- Pozitif kontrol olarak kolon dokusu kullanıldı.

Kesitler ışık mikroskopunda uzman patolog tarafından değerlendirildi. Miyoeptelyal hücrelerin ve damar çeperlerindeki düz kasların pozitif boyanması her olguya bir iç kontrol sağladı. Damar dışında tubuloalveolar bölgede epitel dışı alanlarda stromal pozitiflik "pozitif" olarak kabul edilerek, bu bulgu saptanmadığında negatif olarak değerlendirildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenler ortalama ve standard sapma olarak, kategorik değişkenler yüzde olarak ifade edildi. Gruplar arasında sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi ve kategorik değişkenlerin

karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Değişkenler arası bağıntının analizinde non parametrik Spearman testinden ve Sjs gelişimini ön görmeye yarayacak değişkenlerin saptanmasında logistik regresyondan faydalanıldı. Tüm istatistiki analizler SPSS V.11.0 (SPSS Chicago, Illinois, USA) veritabanı kullanılarak yapıldı. İstatistiki anlamlılık p değerinin <0.05 olması olarak tanımlandı.

4.SONUÇLAR

Çalışmaya, romatoloji polikliniğimizde takip edilen 102 ardışık SSc'lu hasta (91'i [%89] kadın; ortalama yaşları $52,5 \pm 12$) dahil edildi. Hastalık başlangıç yaşı ortalama $42,3 \pm 14,8$ ve ortalama hastalık süreleri $10,9 \pm 9,8$ yıl idi. Çalışmaya dahil edilen hastaların çoğunluğu ISSc'a (85 hasta [%83]) sahipti (tablo 4). Diffüz SSc'lu hastalarda akciğer fibrozu ISSc'lu hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek sıklıkta saptandı (9 vs 26 hasta; $p < 0,007$). Pulmoner HT sıklığı her iki grupta benzerdi (4 vs 15).

Çalışma grubumuzda ortalama eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) $31,4 \pm 18$ mm/h, C-reaktif protein (CRP) düzeyleri $9,1 \pm 16,5$ mg/L bulundu. Doksan beş hastanın (%95) anti-nükleer antikor'u (ANA) pozitif. En sık görülen ANA boyanma paterni %48 sıklıkta saptanan homojen paterni. Saptanan diğer ANA tipleri ve dağılımları:sentromerik %34, nukleolar %8, granüler %5'ti. Ekstrakte edilebilen nükleer antijenlere (ENA) karşı antikorlar %49 pozitif tespit edildi. Hastaların %38'sinde Scl-70 pozitif. Çalışmaya katılan 13 hastada tek başına veya diğer otoantikorlarla birlikte SS-A pozitifliği saptandı, SS-B sadece SS-A pozitif bir hastada tespit edildi (Tablo-4).

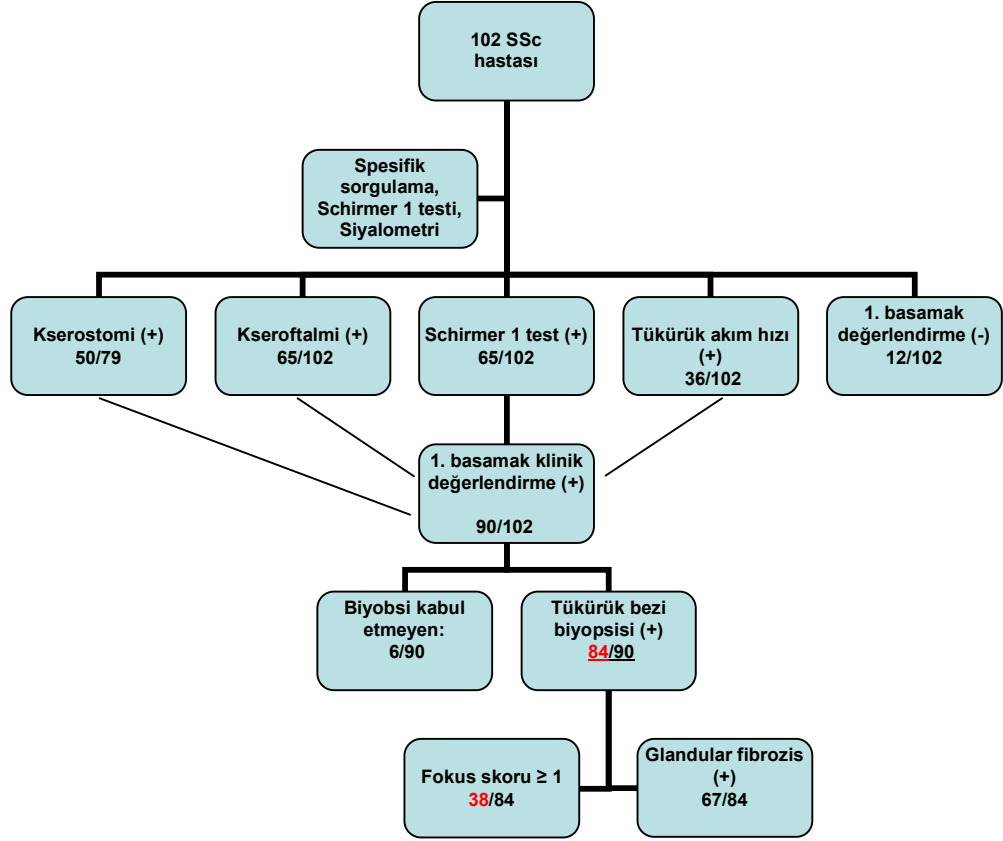
Tablo- 4: Çalışmaya alınan SSc hastalarımızın başlıca klinik ve laboratuvar özellikleri	
Yaş (yıl); ort \pm SD	52,5 \pm 12
Cinsiyet, kadın; n (%)	91 (%89)
SSc alt tipi	
Sınırlı kutanöz SSc; n (%)	85(%83)
Diffüz kutanöz SSc; n (%)	12(%12)
Sine SSc; n (%)	5 (%5)
Hastalık süresi (yıl); ort \pm SD	10,9 \pm 9,8
ESR (mm/h); ort \pm SD	31,4 \pm 18,0
CRP (mg/L); ort \pm SD	9,1 \pm 16,5
ANA; n (%)	95 (%95)
Sentromerik ANA; n (%)	34 (%34)
SS-A; n (%)	13 (%13)
Scl-70; n (%)	38 (%38)

SSc= Sistemik skleroz; ESR= eritrosit sedimentasyon hızı; CRP=C-Reaktif Protein

Hastaların 20'sinde (%20) pulmoner hipertansiyon ve 35'inde (%34) interstisyel akciğer hastalığı mevcuttu. Çalışma sırasında hastalarımızın SSc ilişkili klinik özellikleri ve komplikasyonları tablo-5' te özetlenmiştir.

Tablo- 5: Çalışma grubumuzun SSc ilişkili özellikleri	
Rodnan skoru; ort ± SD	10,4 ± 8,4
İnterstisyel akciğer hastalığı; n (%)	35 (%34)
Pulmoner arterial hipertansiyon; n (%)	20 (%20)
Dijital ülser; n (%)	19 (%19)
Dijital gangren; n (%)	3 (%3)
Hastalık VAS değeri; ort ± SD	4,7 ± 23
Fonksiyonel skor; ort ± SD	6,8 ± 7,8

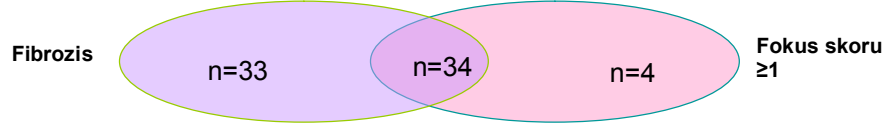
Yapılandırılmış anket formu ile 102 hastanın 76'sında (%75) subjektif sikka semptomları (49'unda [%48] kseroftalmi, 65'inde [%64] kserostomi) saptandı. 65 hastada (%64) schirmer 1 testi, 36 hastada (%35) uyaransız total tükürük akımı testi (siyalometri) pozitif bulundu. Çalışma protokolüne göre 90 hastaya minör tükürük bezi biyopsisi endikasyonu konuldu, bunlardan 6'sı biyopsiyi reddetti ve toplamda 84 (endikasyon konulan hastalarda %94) hastaya biyopsi yapıldı (Şekil- 3).



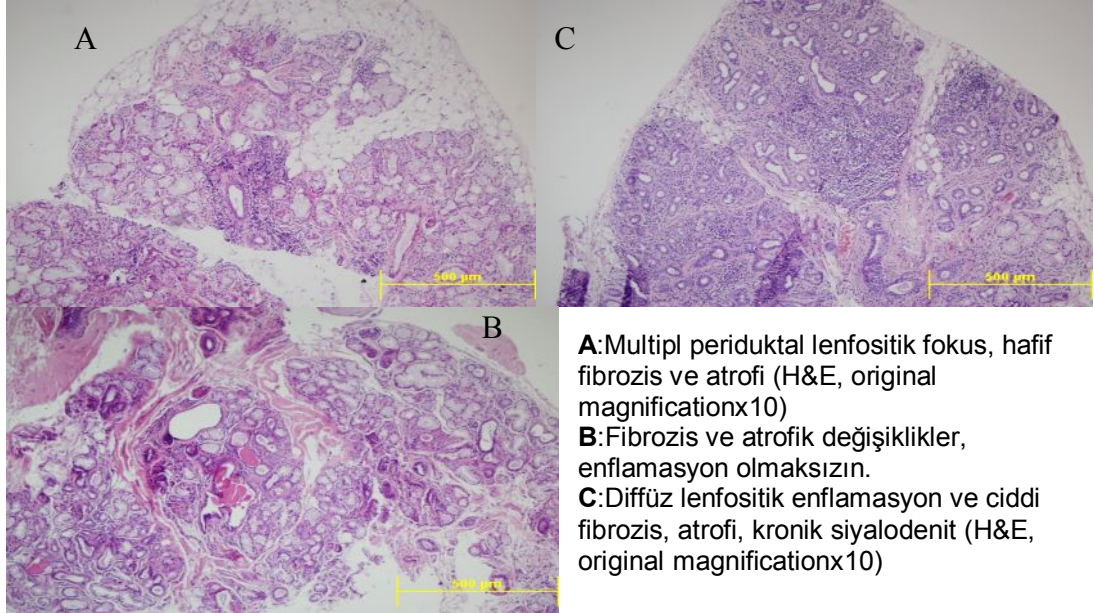
Şekil- 3: Çalışma grubunda subjektif sikka semptomları, objektif kuruluk testleri ve tükürük bezi biyopsi bulgularının dağılımını gösteren akış şeması.

Minör tükürük bezi örneklerinin histopatolojik değerlendirmesinde 67 (%80) hastada fibrotik lezyon gözlenirken, 38 (%45) hastada fokus skoru ≥ 1 idi. Hastaların 34'ünde hem fibrozis hem de fokus skoru ≥ 1 bulundu (Şekil 4). Hafif, orta, ciddi fibrozise sahip olan hastaların oranları sırasıyla; %67, %24, %9 olarak saptandı. Histolojik incelemelere ilişkin örnekler Şekil 5' te görülmektedir.

Ş



Şekil- 4: MTB biobisisinde fibrozis ve fokus skoru ≥ 1 olan hastaların dağılımı



Şekil- 5: MTB biyopsi preparatlarında fibrozis, lenfositik fokus, diffüz lenfositik infiltrasyon örnekleri.

Sonuç olarak, 36 (%35,3) hasta Amerika-Avrupa kriterlerine göre sekonder SjS olarak sınıflandırıldı. Bu hastalardan 22'si aynı sette primer SjS kriterlerini de karşılamaktaydı. Ayrıca 2 hasta primer SjS kriterlerini doldurmasına karşın subjektif yakınmaları olmadığı için sekonder SSj olarak sınıflandırılmadı. Sekonder SjS olarak sınıflandırabildiğimiz 12 hastanın fokus skoru < 1 idi. Biyopsi bulguları SjS ile uyumlu olmayan ancak SSA pozitifliği olan 2 hasta da primer SjS'u olarak sınıflandırılabilirdi.

Tablo- 6: SjS tanısı alan 36 hastanın klinik ve laboratuvar özellikleri

Vaka no	Subjektif sikka	Schirmer	Siyalometri	Fokus skor≥1	Fibrozis	ENA paterni
1.	+	+	+	Yok	Var	ScI-70
2.	+	+	-	Var	Var	SS-A+SS-B
3.	+	+	+	Yok	Var	smRNP+SS-A
4.	+	+	+	Var	Var	SS-A+ScI-70
5.	+	+	-	Var	Yok	sm+ScI70
6.	+	+	-	Var	Var	SS-A+ScI-70
7.	+	+	+	Yok	Var	SS-A+ScI-70
8.	+	+	+	Var	Var	SS-A+ScI-70
9.	+	+	-	Var	Var	SS-A
10.	+	+	+	Var	Var	ScI-70
11.	+	+	-	Var	Var	ScI-70
12.	+	+	-	Var	Var	ScI-70
13.	+	+	+	Yok	Var	ScI-70
14.	+	+	+	Yok	Var	ScI-70
15.	+	+	+	Yok	Yok	ScI-70
16.	+	+	+	Yok	Var	Negatif
17.	+	+	-	Var	Var	Negatif
18.	+	+	+	Yok	Var	Negatif
19.	+	-	+	Var	Var	smRNP+SS-A
20.	+	+	-	Var	Var	Negatif
21.	+	+	+	Var	Var	Negatif
22.	+	+	+	Yok	Var	Negatif
23.	+	+	+	Yok	Var	Negatif
24.	+	+	+	Var	Var	Negatif
25.	+	+	+	Var	Var	Negatif
26.	+	+	-	Var	Var	Negatif
27.	+	+	+	Var	Var	Negatif
28.	+	+	+	Var	Var	Negatif
29.	+	-	+	Var	Var	Negatif
30.	+	+	-	Var	Var	Negatif
31.	+	+	+	Var	Var	Negatif
32.	+	+	+	Yok	Var	Negatif
33.	+	+	+	Yok	Var	Negatif
34.	+	+	-	Var	Var	Negatif
35.	+	+	+	Var	Var	Negatif
36.	+	+	+	Var	Yok	SS-A

SjS'lu hastalardan 34'ü ISSc, 2'si sine sklerodermaydı. Bu hastaların karakteristik özellikleri tablo 6'da özetlenmiştir. SSc çakışma olarak sınıflanan hastalar arasında sentromerik ANA pozitifliği olan hastaların hiçbirinde dSSc mevcut değildi. Diffüz SSc'u olan hastalarda, SjS ile uyumlu histopatolojik bulgular yoktu ve bu hastalardan hiçbiri SjS olarak sınıflandırılmadı. Diffüz SSc'u olan altı hastada, birinde şiddetli olmak üzere biyopside değişen derecelerde fibrozis saptandı.

Biyopsi örneklerinin α-SMA ile immunohistokimyasal incelemesinde sadece 7 örnekte zayıf şiddette boyanma saptandı. Bu 7 hasta ISSc alttipine sahipti. Biyopsi örneklerinde α-SMA boyaması pozitif olan hastaların 3'ünde

tükürük bezi biyopsisinde fokus skoru ≥ 1 idi ve tümünde hafiften şiddetliye değişen oranlarda fibrozis mevcuttu.

Tablo- 7: α -SMA boyaması pozitif olan 7 hastanın klinik ve laboratuvar özellikleri

Vaka no	Fokus skoru ≥ 1	Fibroz (MTB)	Schirmer (+)	Siyalometri (+)	Akciğer Fibrozu	Pulm. HT	ANA paterni	ENA
1.	Var	Orta	Evet	Evet	Hayır	Hayır	Sentromer	Negatif
2.	Var	Ciddi	Evet	Evet	Hayır	D*	Sentromer	Negatif
3.	Var	Hafif	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Nukleolar	Negatif
4.	Yok	Ciddi	Evet	Hayır	Hayır	Evet	Nukleolar	Negatif
5.	Yok	Orta	Hayır	Hayır	Evet	Hayır	Homojen	Sc1-70
6.	Yok	Hafif	Evet	Evet	Hayır	Evet	Nukleolar	Negatif
7.	Yok	Orta	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Nukleolar	Negatif

D* Hastanın pulmoner HT'ü değerlendirilememiştir.

Amerika-Avrupa kriterlerine göre sekonder SjS varlığı; yaş, semptom başlangıç yaşı, ve SS-A pozitifliği ile orta derecede (korelasyon katsayıları ve p değerleri sırasıyla $r=0.407$ ve $p=0.000$; $r=0.343$ ve $p=0.000$; $r=0,270$ ve $p=0,006$), RF varlığı ile zayıf korele bulundu ($r=-0,216$ ve $p=0.035$). Primer SjS kriterlerini karşılamak SS-A pozitifliği ile, sekonder SjS'ü olanlara göre daha iyi korelasyon gösterdi ($r=0,411$ ve $p<0,000$). Ayrıca primer SjS ile, akciğer fibrozisi varlığı, %80'in altında DLCO düzeyi arasında zayıf negatif korelasyon tespit edildi (korelasyon katsayıları ve p değerleri sırasıyla $r=-0,206$ ve $p=0,038$, $r=-0,220$ ve $p=0,029$).

Çalışma grubumuzda SjS varlığı; anti-Sc170, anti-sentromerik ANA pozitifliği, pulmoner HT, ESR, CRP, kompleman 3 (C3) , kompleman 4 (C4), serum kreatinini, hemoglobin lökosit, trombosit sayıları gibi diğer klinik ve labortauvar parametreler ile ilişkili bulunmadı.

Lojistik regresyon analizinde SS-A pozitifliği ve yaş bağımlı değişken olarak analiz edilen sekonder SjS gelişimi için istatistiki anlamlı bağımsız değişkenler olarak tespit edildi (SS-A pozitifliği için regresyon katsayısı $B=-3.211$ ve $p=0.015$, yaş için $B=0,109$ ve $p=0,038$).

Bu çalışmada minör tükürük bezi biyopsisinde fibrozis saptanan hastalar anlamlı olarak daha yaşlı idiler ($p=0.034$) ancak bunun dışında

fibrozis varlığı bakılan diğer klinik veya labortauvar parametreleri ile ilişkili bulunulmadı.

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada, SSc hastalarında sikka semptomları, Sjögren sendromu sıklığı ile SjS gelişimi üzerinde etkili olabilecek faktörler araştırılmış ve bu hastalarda her iki durumun da oldukça yaygın olduğu gösterilmiştir. Daha önce SSc ile SjS birlikteliği farklı çalışmalarda % 1-90 sıklığı arasında bildirilmiştir [1, 10-12, 93, 98-102]. En yüksek prevalanslardan birisi hastaların %90'ında SSc-SjS çakışmasının bildirildiği Alarcon-Segovia ve arkadaşlarının çalışmasında saptanmıştır [93]. Bu durum kısmen vaka tanımlamalarının farklı olmasından kaynaklanabilir. Örneğin en yüksek bildirimlerden birinde İspanyol araştırmacılar tarafından; SjS-SSc birlikteliği %69 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada SSj tanımlaması için; kserostomi (tükürük bezi biyopsisi veya sintigrafi ile tanımlanan), kseroftalmi (subjektif yanma-batma hissi, Schirmer testi, Rose Bengal testi ile tanımlanan) ve otoimmün hastalık şeklindeki üç kriterden ikisinin varlığı gerekmektedir [102]. Yine bir diğer çalışmada SjS'u, klinik ne olursa olsun minör tükürük bezi biyopsi bulgularına dayalı olarak sınıflanmıştır ve bu çalışmada %17 oranında diğer bildirimlerden oldukça düşük SjS sıklığı bildirilmiştir [99]. Benzer şekilde bir Yunan çalışmasında, 44 ardışık SSc'lu hastada, SjS sıklığı % 20,5 saptanmıştır. Söz konusu çalışmada SjS tanısı için tükürük bezi biyopsisi pozitifliği ile birlikte kserostomi (subjektif semptom veya azalmış parotis akım hızı) veya kseroftalmi (rose bengal testi pozitifliği) varlığı gerekmektedir. Bu çalışmada diğerlerinden farklı olarak histopatolojik değerlendirmede Tarpley skalası [103] kullanılmıştır. Tarpley skalasına göre skor ≥ 2 olanların biyopsisi SjS ile uyumlu olarak kabul edilmiştir [104].

SjS olgu tanımlamasında çeşitli kriter setleri bulunmakla birlikte; Kopenhag, Avrupa kriterleri ile bu kriterlerin zemininde geliştirilmiş Amerika-Avrupa konsensusu en yaygın kullanılan kriterlerdir [105]. Kopenhag kriterleri sadece objektif bulgulara dayalıdır [106]. Vitali ve arkadaşları ise kriter setine subjektif yakınmaları araştıran bir anket ile başlanmasını uygun bulmuşlardır[96]. Bu şekilde geliştirilen Avrupa kriterleri ile Amerika-Avrupa konsensus kriterleri subjektif bulguları da kapsamaktadır ancak Kopenhag

kriterlerine göre daha kısıtlayıcı oldukları ileri sürülmüştür [6]. Nitekim bu kriter setinde primer SjS sınıflaması için serolojik veya histopatolojik kriterlerden en az birinin pozitif olması gereklidir. Bununla birlikte Amerika-Avrupa kriterlerinde sekonder SjS tanımlaması için subjektif kriterlerden herhangi birinin pozitifliğine ek olarak objektif üç kriterden ikisinin pozitifliği gerekmektedir ve serolojik kriter kullanılmamaktadır. Sekonder tanımlaması için pratikte ne seroloji ne de biyopsi gereksinimi olmayabilir. Bizim çalışmamızda da 12 hastada da sekonder SjS sınıflaması için biyopsi bulguları katkıda bulunmadı ve bu hastalardan yalnızca birinin serolojik kriteri pozitif idi.

Kopenhag kriterlerinin SSc hastalarında SjS tanısında kullanıldığı bir çalışmada 26 SSc'lu hasta dahil edilmiş ve yalnızca 1 hasta sekonder SjS saptanabilmiştir, 2 hastada da inkomplet SjS varlığından söz edilmiştir [98]. Bu çalışmada sikka ile ilişkili göz yakınmaları, oral semptomlardan daha yüksek sıklıkta bulunmuştur. Ancak bu çalışmanın en önemli kısıtlılığı tükürük bezi biyopsisi yapılmamış olmasıdır.

Daha önce SSc-SjS birlikteliğinin prevalansının tespitinde, Amerika-Avrupa konsensus kriterleri yalnızca bir çalışmada kullanılmıştır. Avouac ve arkadaşlarının bu prospektif çalışmasında, SSc hastalarında SjS sıklığı %14 (133 hastada 19 vaka) bulunmuştur. Fakat yazarların da belirttikleri gibi kriter setinin V no'lu maddesi (siyalometri) kullanılmamıştır ve bu durum hastalık frekansının düşük bulunmasında etkili olabilir [1].

Çalışmalarda saptanan prevalans rakamlarının farklılığında, hastalık alt tiplerinin dağılımının da rolü olabilir. SjS olduğunu gösterdiğimiz hastaların hemen tamamı sınırlı kutanöz tutulumla sahipti ve bu veri daha önceleri ISSc'un SjS gelişimi için bir risk faktörü olabileceği yolundaki verilerle [1, 94, 101, 107] uyumluydu. Bağintı analizinde, SjS ile sınırlı alt tip varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmasına karşın ($p=0.024$), diffüz etkilenmesi olan hiçbir hastada SjS olmaması nedeniyle bu sonuç dikkatle ele alınmalıdır. Bu durum grubumuzda dSSc'nin daha az temsil ediliyor olması (hastaların yalnızca %12'si) nedeniyle olabilir. Ayrıca en düşük SSj'u prevalanslarından birini bildiren bir çalışmada da hastaların tümü dSSc idi

[12]. Aynı durum anti-sentromer veya anti-scl70 gibi diğer otoantikolar ile SjS gelişimi arasındaki ilişki gösterilememiş olmamızda da rol oynuyor olabilir.

Sınırlı tutulumu sahip hastaların primer biliyer siroza benzer şekilde, SjS için de yatkınlığın nedenleri bilinmemektedir. Çalışmalar, SSc hastalarında, naive B hücre sayısı artışı ve hafıza B hücrelerinin sayısının azalması şeklindeki B hücre homeostazisinde değişiklikler ile cilt biyopsilerinde CD4+, CD30+ T hücrelerinin, serumda çözünür CD30'un yüksek oranda gösterilmesi nedeniyle, Th2 polarizasyonunun olası rolüne işaret etmektedir [39, 53, 108-111]. Bu değişiklikler, T hücrelerinin klonal ekspansiyonunun gösterildiği dSSC hastaları [111] ile kıyaslandığında, özellikle ISSc hastaları için geçerli olabilir [1]. Bu durum sınırlı tutulumu sahip hastaların diğer otoimmün hastalıklara daha yatkın olmalarına neden oluyor olabilir. Çalışmamızda yalnızca hastaların %12'sinin diffüz sistemik kutanöz tutulumlu oldukları ve bu hastaların hiçbirinin SjS olarak sınıflandırılmadıkları hatırlanmalıdır. Diğer bildirimlerde de sınırlı kutanöz tipte hastalar arasında SjS daha sık görüldüğü rapor edilmiştir [1, 94, 101]. Ayrıca en düşük SSj'u prevalansı bildiren bir çalışmada da hastaların tümü dSSc idi [12].

Sistemik sklerozun cilt tutulumunda tipik bulgu fibrozistir. Cilt fibrozisi dermiste dikkat çekici genişlemeye, kıl folikülleri, ter bezleri ve diğer eklerin ortadan kalkmasına neden olur [37]. Bu hastalardan alınan biyopsilerde erken dönemde, derin dermiste büyük ölçüde T lenfositleri ile monositlerden, daha az oranda B hücreleri, mast hücreleri ve eozinofillerden oluşan enflamatuvar infiltrasyon bulunabilir [49]. Ancak özellikle bu örneklerde fibrogenezde başlıca rol oynayan hücrelerin; yani myofibroblast, fibroblast ve kontraktıl düz kas hücreleri arasında geçiş olan mezenkimal hücrelerin artmış olduğu gözlenmiştir [112]. Fibrozis sürecinde doku havuzunda aktive mezenkimal hücreler, hücre dışı matriks birikimine yol açarlar. Bu yanıtta hem TGF- β 'nın temel kaynağı olan hem de başlıca TGF- β 'ya yanıt olarak fibroblastlardan köken alarak kollajen, metalloproteazların doku inhibitörleri ve diğer ekstrasellüler matriks kompanenetlerini sentezleyen, özelleşmiş hücreler olan myofibroblastlar, bir hücre iskelet proteini olan α -SMA

ekspresyonu ile belirlenirler [113]. Deri dışında, SSc'li hastaların mide duvarı biyopsilerinde de immunohistokimyasal yöntemle, TGF- β , α -SMA ve diğer sitokinlerin ekspresyonu gösterilmiştir [114]. SSc'de akciğer ve diğer dokularda ortaya çıkan fibroz başta lezyonların patogenezi hakkında çok daha az şey bilinmektedir [37]. Bu nedenle çalışmamızda hastalarımızda sikka semptomları ortaya çıkışında, SSc cilt lezyonlarında yeri oldukça iyi bilinen myofibroblastik transformasyonun rolü olup olmadığı da araştırılmıştır. Ancak 7 hastada, α -SMA ile immünohistokimyasal olarak zayıf bir boyanma saptanmıştır. Hepsinde fibrozis görülen bu hastaların üçünde fokus skoru ≥ 1 olduğu saptanmıştır. Ancak sonuçlarımız α -SMA ekspresyonu ve dolayısıyla myofibroblastların; SSc'da sikka semptomları veya SjS gelişiminde, önemli rol oynamadığını düşündürmektedir.

Sistemik skleroz hastalarında sikka sendromunun sık olduğu bilinmesine karşın etiyojisi çok açık değildir. Bazı çalışmalarda bu bulgulardan tükürük bezindeki fibrozisin sorumlu olduğu ileri sürülmüştür [1, 11, 93, 115]. Bizim çalışmamızda ağız kuruluğu tanımlayan ve biyopsi yapılan 62 hastanın yarısında (31 hasta), yakınmaların SjS ile açıklanabileceği ve geri kalan 21 hastada tükürük bezindeki fibrozisin yakınmaları açıklayabilecek tek bulgu olduğu görülmüştür. Bulgularımız diğer bazı araştırmacıların, SSc hastalarındaki ağız kuruluğunun fibrozis yanında SjS'a sekonder olabileceği yönündeki saptamalarıyla uyumlu olabilir [10, 93, 107]. Ancak tükürük bezinde saptanan fibrozis veya fibrozis derecesi, yaş dışında ($p=0.034$) gerek SSc gerekse SjS ile ilişkili olabilecek herhangi bir klinik veya laboratuvar bulgu ile ilişkili bulunamadı. Bununla birlikte SjS olarak sınıfladığımız hastaların 24'ünde fokus skoru ≥ 1 idi ve bunların 21'inde aynı zamanda fibrozis vardı; kserostomisi olan toplamda 51 hastada fibrozis mevcuttu. Fibrozisin diğer bulgular ile korelasyon göstermeyişi çok yaygın bir bulgu olmasından kaynaklanıyor olabilir ve SSc hastalarında sikka semptomlarının ortaya çıkışında fibrozisin katkısının yadsınamayacağı açıktır.

Alspaugh ve Tan tarafından ilk tanımlandığında [116, 117] primer SjS için spesifik olduğu düşünülen SS-A antikoru, SSc ve SjS olan

hastalarımızda %25 sıklığında olup daha önce bildirilen bazı çalışmalar ile benzer iken [1, 104, 118], Bell ve arkadaşları ile Osial ve arkadaşlarınca [100, 119] saptanan %53-60 prevalans değerinden belirgin şekilde azdır. Çalışmamızda SS-A antikor pozitifliğinin; SSc hastalarında SjS varlığıyla korele olması yanında regresyon analizinde bu hastalarda SjS için; yaşla birlikte tek belirleyici faktör olduğu bulundu. Bu durum daha önceki veriler ışığında, bu antikorların SSc hastalarında güçlü bir şekilde SjS gelişimini tahmin ettirebileceğini düşündürmektedir [1, 100]. Nitekim daha önceki çalışmalarda gerek SLE gerekse RA'li hastalarda SjS olmadan SS-A antikorlarının oldukça nadir olduğu da bildirilmiştir [95, 120, 121].

İmmünolojik çalışmalarda, SjS olan SSc hastalarında; daha yüksek oranda RF varlığı saptanmıştır. Çalışmamızda da RF varlığı sekonder SjS gelişimi ile korele ($r=-0,216$ ve $p=0.035$) olmasına karşın regresyon analizinde bağımsız bir değişken değildi.

Sonuç olarak bu bulgular SjS ve SSc birlikteliğinin rastlantısal bir bulgu olmadığını ve olasılıkla patogeneizde bilinmeyen bazı ortak faktörlerin rolü olabileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR:

1. Avouac, J., et al., Systemic sclerosis-associated Sjogren's syndrome and relationship to the limited cutaneous subtype: results of a prospective study of sicca syndrome in 133 consecutive patients. *Arthritis Rheum*, 2006. 54(7): p. 2243-9.
2. Gupta, R.A. and D. Fiorentino, Localized scleroderma and systemic sclerosis: is there a connection? *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2007. 21(6): p. 1025-36.
3. Kahaleh, M.B., G.K. Sherer, and E.C. LeRoy, Endothelial injury in scleroderma. *J Exp Med*, 1979. 149(6): p. 1326-35.
4. Pannu, J. and M. Trojanowska, Recent advances in fibroblast signaling and biology in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol*, 2004. 16(6): p. 739-45.
5. Krieg, T., D. Abraham, and R. Lafyatis, Fibrosis in connective tissue disease: the role of the myofibroblast and fibroblast-epithelial cell interactions. *Arthritis Res Ther*, 2007. 9 Suppl 2: p. S4.
6. Loch, H., R. Pelck, and R. Manthorpe, Clinical manifestations correlated to the prevalence of autoantibodies in a large (n=321) cohort of patients with primary Sjogren's syndrome: a comparison of patients initially diagnosed according to the Copenhagen classification criteria with the American-European consensus criteria. *Autoimmun Rev*, 2005. 4(5): p. 276-81.
7. Shearn, M.A., Sjogren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum*, 1972. 2(2): p. 165-90.
8. Alarcon-Segovia, D., E. Diaz-Jouanen, and E. Fishbein, Features of Sjogren's syndrome in primary biliary cirrhosis. *Ann Intern Med*, 1973. 79(1): p. 31-6.
9. Boin, F. and A. Rosen, Autoimmunity in systemic sclerosis: current concepts. *Curr Rheumatol Rep*, 2007. 9(2): p. 165-72.
10. Nagy, G., et al., Analysis of the oral manifestations of systemic sclerosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1994. 77(2): p. 141-6.

11. Janin, A., et al., Histological criteria of Sjogren's syndrome in scleroderma. *Clin Exp Rheumatol*, 1989. 7(2): p. 167-9.
12. Rodnan, G.P., The natural history of progressive systemic sclerosis (diffuse scleroderma). *Bull Rheum Dis*, 1963. 13: p. 301-4.
13. Gabrielli, A., E.V. Avvedimento, and T. Krieg, Scleroderma. *N Engl J Med*, 2009. 360(19): p. 1989-2003.
14. Bernatsky, S., et al., Scleroderma prevalence: demographic variations in a population-based sample. *Arthritis Rheum*, 2009. 61(3): p. 400-4.
15. Helmick, C.G., et al., Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I. *Arthritis Rheum*, 2008. 58(1): p. 15-25.
16. Steen, V.D., et al., Incidence of systemic sclerosis in Allegheny County, Pennsylvania. A twenty-year study of hospital-diagnosed cases, 1963-1982. *Arthritis Rheum*, 1997. 40(3): p. 441-5.
17. Peterson, L.S., et al., The epidemiology of morphea (localized scleroderma) in Olmsted County 1960-1993. *J Rheumatol*, 1997. 24(1): p. 73-80.
18. Michet, C.J., Jr., et al., Epidemiology of systemic lupus erythematosus and other connective tissue diseases in Rochester, Minnesota, 1950 through 1979. *Mayo Clin Proc*, 1985. 60(2): p. 105-13.
19. Maricq, H.R., et al., Prevalence of scleroderma spectrum disorders in the general population of South Carolina. *Arthritis Rheum*, 1989. 32(8): p. 998-1006.
20. Mayes, M.D., et al., Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum*, 2003. 48(8): p. 2246-55.
21. Medsger, T.A., Jr., et al., Survival with systemic sclerosis (scleroderma). A life-table analysis of clinical and demographic factors in 309 patients. *Ann Intern Med*, 1971. 75(3): p. 369-76.
22. Sato, H., et al., The TNF-863A allele strongly associates with anticentromere antibody positivity in scleroderma. *Arthritis Rheum*, 2004. 50(2): p. 558-64.

23. Nelson, J.L., et al., Microchimerism and HLA-compatible relationships of pregnancy in scleroderma. *Lancet*, 1998. 351(9102): p. 559-62.
24. Lynch, C.J., et al., Histocompatibility antigens in progressive systemic sclerosis (PSS; scleroderma). *J Clin Immunol*, 1982. 2(4): p. 314-8.
25. Briggs, D., et al., A molecular and serologic analysis of the major histocompatibility complex and complement component C4 in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*, 1993. 36(7): p. 943-54.
26. Ferri, C., et al., Parvovirus B19 infection of bone marrow in systemic sclerosis patients. *Clin Exp Rheumatol*, 1999. 17(6): p. 718-20.
27. Lunardi, C., et al., Systemic sclerosis immunoglobulin G autoantibodies bind the human cytomegalovirus late protein UL94 and induce apoptosis in human endothelial cells. *Nat Med*, 2000. 6(10): p. 1183-6.
28. Nietert, P.J. and R.M. Silver, Systemic sclerosis: environmental and occupational risk factors. *Curr Opin Rheumatol*, 2000. 12(6): p. 520-6.
29. Tuffanelli, D.L., Localized scleroderma. *Semin Cutan Med Surg*, 1998. 17(1): p. 27-33.
30. Varga, J. and R.I. Bashey, Regulation of connective tissue synthesis in systemic sclerosis. *Int Rev Immunol*, 1995. 12(2-4): p. 187-99.
31. Fleischmajer, R. and J.S. Perlish, Capillary alterations in scleroderma. *J Am Acad Dermatol*, 1980. 2(2): p. 161-70.
32. Prescott, R.J., et al., Sequential dermal microvascular and perivascular changes in the development of scleroderma. *J Pathol*, 1992. 166(3): p. 255-63.
33. Harrison, N.K., et al., Structural features of interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Am Rev Respir Dis*, 1991. 144(3 Pt 1): p. 706-13.
34. Hoskins, L.C., et al., Functional and morphologic alterations of the gastrointestinal tract in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Am J Med*, 1962. 33: p. 459-70.
35. Fleming, J.N., et al., Capillary regeneration in scleroderma: stem cell therapy reverses phenotype? *PLoS One*, 2008. 3(1): p. e1452.

36. Distler, O., et al., Uncontrolled expression of vascular endothelial growth factor and its receptors leads to insufficient skin angiogenesis in patients with systemic sclerosis. *Circ Res*, 2004. 95(1): p. 109-16.
37. Varga, J.A. and M. Trojanowska, Fibrosis in systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am*, 2008. 34(1): p. 115-43; vii.
38. Avouac, J., et al., Circulating endothelial progenitor cells in systemic sclerosis: association with disease severity. *Ann Rheum Dis*, 2008. 67(10): p. 1455-60.
39. Allanore, Y., et al., Levels of circulating endothelial progenitor cells in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*, 2007. 25(1): p. 60-6.
40. Stellos, K., et al., Platelet interaction with progenitor cells: vascular regeneration or inquiry? *Pharmacol Rep*, 2008. 60(1): p. 101-8.
41. Stellos, K., et al., Platelet-derived stromal cell-derived factor-1 regulates adhesion and promotes differentiation of human CD34+ cells to endothelial progenitor cells. *Circulation*, 2008. 117(2): p. 206-15.
42. Sundberg, C., et al., Pericytes as collagen-producing cells in excessive dermal scarring. *Lab Invest*, 1996. 74(2): p. 452-66.
43. Hirschi, K.K. and P.A. D'Amore, Pericytes in the microvasculature. *Cardiovasc Res*, 1996. 32(4): p. 687-98.
44. Rajkumar, V.S., et al., Shared expression of phenotypic markers in systemic sclerosis indicates a convergence of pericytes and fibroblasts to a myofibroblast lineage in fibrosis. *Arthritis Res Ther*, 2005. 7(5): p. R1113-23.
45. Orledge, A. and P.A. D'Amore, Inhibition of capillary endothelial cell growth by pericytes and smooth muscle cells. *J Cell Biol*, 1987. 105(3): p. 1455-62.
46. Abraham, D.J., et al., New developments in fibroblast and myofibroblast biology: implications for fibrosis and scleroderma. *Curr Rheumatol Rep*, 2007. 9(2): p. 136-43.
47. Helmbold, P., et al., Hyperplasia of dermal microvascular pericytes in scleroderma. *J Cutan Pathol*, 2004. 31(6): p. 431-40.

48. Roumm, A.D., et al., Lymphocytes in the skin of patients with progressive systemic sclerosis. Quantification, subtyping, and clinical correlations. *Arthritis Rheum*, 1984. 27(6): p. 645-53.
49. Kraling, B.M., G.G. Maul, and S.A. Jimenez, Mononuclear cellular infiltrates in clinically involved skin from patients with systemic sclerosis of recent onset predominantly consist of monocytes/macrophages. *Pathobiology*, 1995. 63(1): p. 48-56.
50. Whitfield, M.L., et al., Systemic and cell type-specific gene expression patterns in scleroderma skin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. 100(21): p. 12319-24.
51. Sondergaard, K., et al., Soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) in scleroderma skin. *Br J Rheumatol*, 1998. 37(3): p. 304-10.
52. Sakkas, L.I., et al., Oligoclonal T cell expansion in the skin of patients with systemic sclerosis. *J Immunol*, 2002. 168(7): p. 3649-59.
53. Mavalia, C., et al., Type 2 helper T-cell predominance and high CD30 expression in systemic sclerosis. *Am J Pathol*, 1997. 151(6): p. 1751-8.
54. Leask, A. and D.J. Abraham, TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB J*, 2004. 18(7): p. 816-27.
55. Kawakami, T., et al., Increased expression of TGF-beta receptors by scleroderma fibroblasts: evidence for contribution of autocrine TGF-beta signaling to scleroderma phenotype. *J Invest Dermatol*, 1998. 110(1): p. 47-51.
56. Sonnylal, S., 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. 56(1): p. 334-44.
57. Asano, Y., et al., Increased expression of integrin alpha(v)beta3 contributes to the establishment of autocrine TGF-beta signaling in scleroderma fibroblasts. *J Immunol*, 2005. 175(11): p. 7708-18.

58. Mimura, Y., et al., Constitutive thrombospondin-1 overexpression contributes to autocrine transforming growth factor-beta signaling in cultured scleroderma fibroblasts. *Am J Pathol*, 2005. 166(5): p. 1451-63.
59. Chen, Y., et al., Contribution of activin receptor-like kinase 5 (transforming growth factor beta receptor type I) signaling to the fibrotic phenotype of scleroderma fibroblasts. *Arthritis Rheum*, 2006. 54(4): p. 1309-16.
60. Asano, Y., et al., Increased expression levels of integrin alphavbeta5 on scleroderma fibroblasts. *Am J Pathol*, 2004. 164(4): p. 1275-92.
61. Asano, Y., et al., Increased expression of integrin alphavbeta5 induces the myofibroblastic differentiation of dermal fibroblasts. *Am J Pathol*, 2006. 168(2): p. 499-510.
62. Brinckmann, J., et al., Different pattern of collagen cross-links in two sclerotic skin diseases: lipodermatosclerosis and circumscribed scleroderma. *J Invest Dermatol*, 2001. 117(2): p. 269-73.
63. Mori, Y., et al., Connective tissue growth factor/CCN2-null mouse embryonic fibroblasts retain intact transforming growth factor-beta responsiveness. *Exp Cell Res*, 2008. 314(5): p. 1094-104.
64. Magro, L., et al., Efficacy of imatinib mesylate in the treatment of refractory sclerodermatous chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant*, 2008. 42(11): p. 757-60.
65. Chung, L., et al., Systemic and localized scleroderma. *Clin Dermatol*, 2006. 24(5): p. 374-92.
66. Zulian, F., et al., Localized scleroderma in childhood is not just a skin disease. *Arthritis Rheum*, 2005. 52(9): p. 2873-81.
67. Rodnan, G.P., R.L. Myerowitz, and G.O. Justh, Morphologic changes in the digital arteries of patients with progressive systemic sclerosis (scleroderma) and Raynaud phenomenon. *Medicine (Baltimore)*, 1980. 59(6): p. 393-408.

68. Clements, P., et al., Inter and intraobserver variability of total skin thickness score (modified Rodnan TSS) in systemic sclerosis. *J Rheumatol*, 1995. 22(7): p. 1281-5.
69. Blocka, K.L., et al., The arthropathy of advanced progressive systemic sclerosis. A radiographic survey. *Arthritis Rheum*, 1981. 24(7): p. 874-84.
70. Medsger, T.A., Jr., et al., Skeletal muscle involvement in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum*, 1968. 11(4): p. 554-68.
71. Wood, R.E. and P. Lee, Analysis of the oral manifestations of systemic sclerosis (scleroderma). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1988. 65(2): p. 172-8.
72. Zamost, B.J., et al., Esophagitis in scleroderma. Prevalence and risk factors. *Gastroenterology*, 1987. 92(2): p. 421-8.
73. Sjogren, R.W., Gastrointestinal motility disorders in scleroderma. *Arthritis Rheum*, 1994. 37(9): p. 1265-82.
74. Salerni, R., et al., Pulmonary hypertension in the CREST syndrome variant of progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Ann Intern Med*, 1977. 86(4): p. 394-9.
75. Seibold, J.R., et al., Acute hemodynamic effects of ketanserin in pulmonary hypertension secondary to systemic sclerosis. *J Rheumatol*, 1987. 14(3): p. 519-24.
76. Orens, J.B., et al., The sensitivity of high-resolution CT in detecting idiopathic pulmonary fibrosis proved by open lung biopsy. A prospective study. *Chest*, 1995. 108(1): p. 109-15.
77. Steen, V.D., et al., Isolated diffusing capacity reduction in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*, 1992. 35(7): p. 765-70.
78. Greenwald, G.I., et al., Longitudinal changes in lung function and respiratory symptoms in progressive systemic sclerosis. Prospective study. *Am J Med*, 1987. 83(1): p. 83-92.

79. D'Angelo, W.A., et al., Pathologic observations in systemic sclerosis (scleroderma). A study of fifty-eight autopsy cases and fifty-eight matched controls. *Am J Med*, 1969. 46(3): p. 428-40.
80. Follansbee, W.P., et al., The electrocardiogram in systemic sclerosis (scleroderma). Study of 102 consecutive cases with functional correlations and review of the literature. *Am J Med*, 1985. 79(2): p. 183-92.
81. Follansbee, W.P., The cardiovascular manifestations of systemic sclerosis (scleroderma). *Curr Probl Cardiol*, 1986. 11(5): p. 241-98.
82. Cannon, P.J., et al., The relationship of hypertension and renal failure in scleroderma (progressive systemic sclerosis) to structural and functional abnormalities of the renal cortical circulation. *Medicine (Baltimore)*, 1974. 53(1): p. 1-46.
83. Norton, W.L. and J.M. Nardo, Vascular disease in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Ann Intern Med*, 1970. 73(2): p. 317-24.
84. Sonnex, C., E. Paice, and A.G. White, Autonomic neuropathy in systemic sclerosis: a case report and evaluation of six patients. *Ann Rheum Dis*, 1986. 45(11): p. 957-60.
85. Cerinic, M.M., S. Generini, and A. Pignone, New approaches to Raynaud's phenomenon [corrected]. *Curr Opin Rheumatol*, 1997. 9(6): p. 544-56.
86. Rothfield, N.F. and G.P. Rodnan, Serum antinuclear antibodies in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum*, 1968. 11(5): p. 607-17.
87. Steen, V.D., The many faces of scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am*, 2008. 34(1): p. 1-15; v.
88. Matucci-Cerinic, M., et al., The complexity of managing systemic sclerosis: screening and diagnosis. *Rheumatology (Oxford)*, 2009. 48 Suppl 3: p. iii8-13.

89. Doran, M., et al., A distinct syndrome including features of systemic sclerosis, erosive rheumatoid arthritis, anti-topoisomerase antibody, and rheumatoid factor. *J Rheumatol*, 2001. 28(4): p. 921-2.
90. Horiki, T., et al., The coexistence of systemic sclerosis and rheumatoid arthritis in five patients. Clinical and immunogenetic features suggest a distinct entity. *Arthritis Rheum*, 1996. 39(1): p. 152-6.
91. Gussin, H.A., et al., Anti-topoisomerase I (anti-Scl-70) antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 2001. 44(2): p. 376-83.
92. Pope, J.E., Scleroderma overlap syndromes. *Curr Opin Rheumatol*, 2002. 14(6): p. 704-10.
93. Alarcon-Segovia, D., et al., Sjogren's syndrome in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Am J Med*, 1974. 57(1): p. 78-85.
94. Salliot, C., et al., Sjogren's syndrome is associated with and not secondary to systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*, 2007. 46(2): p. 321-6.
95. Fox, P.C., et al., Sjogren's syndrome: a model for dental care in the 21st century. *J Am Dent Assoc*, 1998. 129(6): p. 719-28.
96. Vitali, C., et al., Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis*, 2002. 61(6): p. 554-8.
97. Caporali, R., et al., Safety and usefulness of minor salivary gland biopsy: retrospective analysis of 502 procedures performed at a single center. *Arthritis Rheum*, 2008. 59(5): p. 714-20.
98. Rasker, J.J., et al., Sjogren's syndrome in systemic sclerosis. A clinical study of 26 patients. *Scand J Rheumatol*, 1990. 19(1): p. 57-65.
99. Cipoletti, J.F., et al., Sjogren's syndrome in progressive systemic sclerosis. *Ann Intern Med*, 1977. 87(5): p. 535-41.
100. Osial, T.A., Jr., et al., Clinical and serologic study of Sjogren's syndrome in patients with progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*, 1983. 26(4): p. 500-8.

101. Andonopoulos, A.P., et al., Sjogren's syndrome in rheumatoid arthritis and progressive systemic sclerosis. A comparative study. *Clin Exp Rheumatol*, 1989. 7(2): p. 203-5.
102. Coll, J., et al., Prevalence of Sjogren's syndrome in autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis*, 1987. 46(4): p. 286-9.
103. Tarpley, T.M., Jr., L.G. Anderson, and C.L. White, Minor salivary gland involvement in Sjogren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1974. 37(1): p. 64-74.
104. Drosos, A.A., et al., Sjogren's syndrome in progressive systemic sclerosis. *J Rheumatol*, 1988. 15(6): p. 965-8.
105. Manthorpe, R., Sjogren's syndrome criteria. *Ann Rheum Dis*, 2002. 61(6): p. 482-4.
106. Manthorpe, R., et al., The Copenhagen criteria for Sjogren's syndrome. *Scand J Rheumatol Suppl*, 1986. 61: p. 19-21.
107. Miyawaki, S., et al., Clinical and serological heterogeneity in patients with anticentromere antibodies. *J Rheumatol*, 2005. 32(8): p. 1488-94.
108. Del Prete, G., et al., CD30, Th2 cytokines and HIV infection: a complex and fascinating link. *Immunol Today*, 1995. 16(2): p. 76-80.
109. Rothermel, A.L., K.M. Gilbert, and W.O. Weigle, Differential abilities of Th1 and Th2 to induce polyclonal B cell proliferation. *Cell Immunol*, 1991. 135(1): p. 1-15.
110. Ihn, H., et al., Circulating levels of soluble CD30 are increased in patients with localized scleroderma and correlated with serological and clinical features of the disease. *J Rheumatol*, 2000. 27(3): p. 698-702.
111. Marie, I., et al., Clonal T cells in the blood of patients with systemic sclerosis. *Arch Dermatol*, 2005. 141(1): p. 88-9.
112. Jelaska, A. and J.H. Korn, Role of apoptosis and transforming growth factor beta1 in fibroblast selection and activation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*, 2000. 43(10): p. 2230-9.
113. Tomasek, J.J., et al., Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002. 3(5): p. 349-63.

114. Manetti, M., et al., Severe fibrosis and increased expression of fibrogenic cytokines in the gastric wall of systemic sclerosis patients. *Arthritis Rheum*, 2007. 56(10): p. 3442-7.
115. Janin, A., et al., Fibroblast markers in labial salivary gland biopsies in progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*, 1990. 8(3): p. 237-42.
116. Alspaugh, M.A., N. Talal, and E.M. Tan, Differentiation and characterization of autoantibodies and their antigens in Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum*, 1976. 19(2): p. 216-22.
117. Alspaugh, M.A. and E.M. Tan, Antibodies to cellular antigens in Sjogren's syndrome. *J Clin Invest*, 1975. 55(5): p. 1067-73.
118. Akiyama, Y., et al., [Clinical, serological and genetic study in patients with CREST syndrome] [In Process Citation]. *Nippon Naika Gakkai Zasshi*, 2000. 89(7): p. 1331-6.
119. Bell, S., T. Krieg, and M. Meurer, Antibodies to Ro/SSA detected by ELISA: correlation with clinical features in systemic scleroderma. *Br J Dermatol*, 1989. 121(1): p. 35-41.
120. Derk, C.T. and S.A. Jimenez, Systemic sclerosis: current views of its pathogenesis. *Autoimmun Rev*, 2003. 2(4): p. 181-91.
121. Eckes, B., et al., Differential regulation of transcription and transcript stability of pro-alpha 1(I) collagen and fibronectin in activated fibroblasts derived from patients with systemic scleroderma. *Biochem J*, 1996. 315 (Pt 2): p. 549-54.
122. Dry eye tests. *Acta ophthalmologica scandinavica*, 2000;78:14-5