



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ROMATOLOJİ BİLİM DALI

**SİSTEMİK SKLEROZ PATOGENEZİNDE IL-6
VE IL-17’NİN YERİ VE KLİNİK
BULGULARLA İLİŞKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. İKBAL YILMAZ AKDAM

DANIŞMAN

Prof. Dr. Taşkın ŞENTÜRK

AYDIN-2013

T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ROMATOLOJİ BİLİM DALI

**SİSTEMİK SKLEROZ PATOGENEZİNDE IL-6
VE IL-17’NİN YERİ VE KLİNİK
BULGULARLA İLİŞKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. İKBAL YILMAZ AKDAM

DANIŞMAN

Prof. Dr. Taşkın ŞENTÜRK

AYDIN-2013

TEŞEKKÜR

Yan dal eğitimim süresince birlikte çalıştığım, bilgi ve deneyimlerinden yararlanma olanağı bulduğum, her konuda bana yol gösteren tez danışmanım Prof. Dr. Taşkın Şentürk'e,

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gürhan Kadıköylü başta olmak üzere tüm değerli İç Hastalıkları AD Öğretim Üyesi hocalarıma,

Tez konumla ilgili serolojik parametrelerin değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Neriman Aydın ve Dr. Rıfat Bülbül'e,

Ege Üniversitesi FTR AD'dan başta Prof. Dr. Yeşim Kirazlı, Prof. Dr. Cihat Öztürk, Prof. Dr. Simin Hepgüler ve Prof. Dr. Yeşim Akkoç olmak üzere tüm öğretim üyelerine,

Birlikte çalıştığım tüm dayiliye araştırma görevlisi doktor arkadaşlarıma ve Dr. Songül Çildağ'a,

Her zaman yanımda olan bana bu süreçte destek veren, sabır, anlayış gösteren sevgili eşim ve aileme teşekkür ederim.

Dr. İkbal Yılmaz Akdam

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sistemik Skleroz Tanımı	3
2.2. Sistemik Skleroz Epidemiyolojisi	3
2.3. Sistemik Skleroz Etiyolojisi	3
2.4. Sistemik Skleroz Patogenezi	4
2.4.1. Vaskülopati	4
2.4.2. İmmün sistem aktivasyonu	5
a. Otoimmünite ve İnflamasyon	5
b. T Hücre Kaynaklı İmmünite	6
c. Otoantikorlar ve Humoral İmmünite	6
d. Monositler ve Makrofajlar	7
e. Sitokinler	7
2.4.3. Fibrozis	9
2.5. Sistemik Skleroz Sınıflandırılması	10
2.6. Sistemik Skleroz Klinik Belirti ve Bulguları	11
2.7. Sistemik Skleroz Tanı Kriterleri	15
2.8. Sistemik Skleroz Tedavisi	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19

3.1. Hasta Seçimi	19
3.2. Serum IL-6 ve IL-17 Düzeyi Ölçümü	19
3.3. İstatiksel Analiz	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	37
7. ÖZET	38
8. ABSTRACT	39
9. KAYNAKLAR	40

TABLO LİSTESİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo-I.	Sistemik skleroza özgü otoantikor, SSc tipi ve klinik bulgularla ilişkisi	5
Tablo-II.	Sistemik skleroz sınıflandırılması	10
Tablo-III.	Sistemik skleroz tanı kriterleri	15
Tablo-IV.	IL-6 ELİSA kiti içeriği	20
Tablo-V.	IL-17 ELİSA kiti içeriği	22
Tablo-VI.	Grupların demografik özellikleri	25
Tablo-VII.	Sistemik sklerozlu hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri	26
Tablo-VIII.	Grupların IL-6 düzeyi	26
Tablo-IX.	Grupların IL-17 düzeyi	27

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil-1.	Modifiye Rodnan Skorlama Sistemi	12
Şekil-2.	IL-6 standart hazırlanması	21
Şekil-3.	IL-17 standart hazırlanması	23
Şekil-4.	Grupların IL-6 ortanca değerleri	27
Şekil-5.	Grupların IL-17 ortanca değerleri	28
Şekil-6.	Gruplara göre IL-17 düzeyi ve olgu sayıları	28
Şekil-7.	Grupların CRP ortanca değerleri	29
Şekil-8.	Grupların ESH ortanca değerleri	30

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SSc	Sistemik skleroz
dcSSc	Yaygın kutanöz sistemik skleroz
lcSSc	Sınırlı kutanöz sistemik skleroz
ssSSc	Sine skleroderma sistemik skleroz
CREST	Kalsinozis, raynaud,özafagial dismotilite,sklerodaktili,telenjiektazi
IL-6	İnterlökin-6
IL-17	İnterlökin-17
Th2	T helper-2
Th17	T helper-17
NK	Natural Killer
AS	Ankilozan spondilit
ANA	Anti-nükleer antikor
ACA	Anti-sentromer antikor
PAB	Pulmoner arter basıncı
PAH	Pulmoner arteryel hipertansiyon
CRP	C-reaktif protein
ESH	Eritrosit sedimantasyon hızı
FVC	Zorlu vital kapasite
DLCO	Karbon monoksit diffüzyon kapasitesi
İAH	İnterstisyel akciğer hastalığı
YÇBT	Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi
Anti-Scl70	Anti-topoizomerez I
TNF-α	Tümör nekroz faktör alfa
SLE	Sistemik Lupus Eritematozis
RA	Romatoid Artrit
PDGF	Platalet kökenli büyüme faktörü
AIF-1	Allogreft inflamatuvar faktör-1
CGRP	Kalsitonin gen-ilişkili peptid
TGF-β	Transforming Büyüme Faktör Beta
CD	Küme Farklılaştırıcı Hücre Yüzey Belirleyicisi
LFA -1	Lenfosit ilişkili Antijen-1
IFN-γ	İnterferon gama
CTGF	Konnektif doku büyüme faktörü

PM	Polimiyozit
MRSS	Modifiye Rodnan Skorlama Sistemi
MCTD	Miks konnektif doku hastalığı
MRCS	Modifiye Rodnan Cilt Skoru
anti-U3 RNP	Ribonükleaz protein U3 antikoru
anti-Th/To	Ribonükleaz protein Th/To antikoru
anti-Pm/Scl	Polimiyozit/skleroderma antikoru
cGMP	Guanozin monofosfat
PDE-5	Fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri
NSAİİ	Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç
ESM	Ekstra Selüler Matriks
ELISA	Enzim bağlı immunosorban ölçüm
BASDAI	Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi
EULAR	Avrupa romatizma derneği
DÜ	Dijital ülser
RF	Raynaud fenomeni

1.

GİRİŞ

Sistemik Skleroz (Skleroderma; SSc) deri ve iç organların yaygın fibrozisi ile karakterize kronik inflamatuvar otoimmün bir hastalıktır. Hastalığın patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte fibroze giden süreçte T hücrelerinin rol aldığı immün aktivasyon ve vaskülopati (endotel hiperaktivasyonu) sonucu artmış fibroblast aktivasyonu patogeneizde bilinen temel özelliklerdir. SSc’de immün aktivasyon sırasında T hücreleri başta olmak üzere çeşitli hücrelerden salgılanan birçok sitokin endotel ve fibroblastlar üzerine etkili olduğu bilinmektedir (1,2).

İnterlökin-6 (IL-6) ve İnterlökin-17 (IL-17) SSc patogenezinde rol alan en önemli sitokinlerdendir. IL-6 esas olarak makrofajlar, T helper-2 (Th2) hücreler ve endotelyal hücrelerden salgılanır ve B hücre aktivasyonu ile antikor oluşumunda, inflamasyonun uyarılmasında, kollojen sentezinin uyarılmasında, T regülatuar hücrelerin inhibisyonunda ve Th2 hücrelerin diferansiyasyonunda rol oynar. IL-17 ise esas olarak T helper-17 (Th17) ve natural killer (NK) hücrelerinden salgılanır; fibroblast proliferasyonunda rol oynar, proinflamatuvar bir sitokindir ve anjiyogenezi inhibe etmek gibi özellikleri vardır. Ayrıca IL-17 henüz yeni yeni araştırılmaya ve birçok hastalığın patogenezinde incelenmeye başlanmış olan Th17’nin belirteci olan bir sitokindir (3).

Sistemik skleroz sürecinde bazı klinik ve laboratuvar bulgular meydana gelir. Bu bulguları değerlendirdiğimiz bazı metodlar vardır. Bunlardan Modifiye Rodnan cilt skoru, cilt fibrozisinin düzeyini ölçen bir değerlendirme metodudur. Zorlu vital kapasite (force vital capacity-FVC), yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi (YÇBT) bulguları hastalığın akciğer tutulumu ile ilgili bilgi verir. Pulmoner arter basıncında (PAB) primer vaskülopatiyeye bağlı veya akciğer tutulumuna sekonder olarak yükseklik görülebilir. Sistemik sklerozun lokalize yada diffüz tip olmasıyla beraber antinükleer antikor (ANA) tipi, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP) gibi laboratuvar bulguları hastalığın progresyon ve izleminde önemlidir.

Tüm bu klinik ve laboratuvar bulguların sitokin düzeyleriyle ilişkisinin olup olmadığını tesbit etmek, sitokinlerin hastalığın patogenezindeki rollerini değerlendirmek açısından önemlidir. IL-6 ve IL-17’nin SSc ile ilişkisi daha önce bazı çalışmalarda değerlendirilmiş ve bunların bir kısmında bu sitokin düzeylerinde yükseklik saptanırken

bazılarında ise d         saptanmıştır. Buna rağmen SSc hasta grubunda IL-6 ve IL-17 serum seviyeleri ile birlikte, birden fazla klinik bulgu ve laboratuvar özelliklerinin değerlendirildiği çalışma sayısı oldukça azdır.

Biz   alı  mamızda Sistemik Skleroz ve Ankilozan Spondilit tanılarıyla kliniğimizde takip edilmekte olan hastalarla, sağlıklı olguların IL-6 ve IL-17 serum düzeylerini     meyi ve düzeylerini karşılaştırmayı planladık. Ayrıca SSc hastalarında bu sitokin düzeyleriyle klinik ve laboratuvar bulgularının ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sistemik Skleroz Tanımı

Sistemik skleroz cilt başta olmak üzere tüm iç organlarda fibrozis ile karakterize etyolojisi bilinmeyen kronik, otoimmün bir bağ doku hastalığıdır. İmmün aktivasyonla birlikte, mikrovasküler hasarın fibroblast aktivasyonuna yol açması sonucu gelişen fibrozis hastalığının bilinen temel özellikleridir (1,2,4).

2.2. Sistemik Skleroz Epidemiyolojisi

Ülkemiz genelinde SSc ile ilgili yapılmış epidemiyolojik çalışma yoktur. Dünyanın farklı ülkelerinde, 1969-2006 yılları arasında yapılmış 32 prevelans - insidans araştırmasının değerlendirildiği bir derlemede SSc prevelansı 7-489/10⁶, insidansı ise yılda 0,6-122/10⁶ bulunmuştur. Sistemik skleroz prevelansı ABD (276/10⁶) ve Avusturalya'da (233/10⁶) diğer Avrupa ülkelerine (İngiltere 88/10⁶, Fransa 158/10⁶, Almanya 154/10⁶) ve Japonya'ya (53/10⁶) göre daha fazla olarak bulunmuştur (5). Sistemik sklerozun kadın/erkek oranı coğrafi bölgelere göre 1/1 ile 14/1 arasında değişmekle birlikte, ortalama oran 3/1'dir. İnsidansı 45-64 yaş arasında ve özellikle de 5. dekatta pik yapar. Siyah ırkta, beyaz ırka göre görülme insidansı daha sık ve daha erken yaşlardadır (6,7).

2.3. Sistemik Skleroz Etiyolojisi

Hastalığın etiyolojisi tam olarak anlaşılmamakla birlikte genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol aldığı bilinmektedir. Normal popülasyonda SSc gelişme riski % 0.026 iken, birinci derece akrabalarında SSc bulunan bireylerde bu risk %1.6 olarak bulunmuştur (8). İkiz çalışmalarında, düşük klinik konkordans oranı (%4.7) bildirilmesine karşın, ANA konkordansının çok daha yüksek olduğu (tek yumurta ikizlerinde %90, çift yumurta ikizlerinde %40) bildirilmiştir. Yine klinik konkordansı olmayan SSc monozigot ikizlerinde deri fibroblast gen profilinin hücre kültürlerinde konkordansının yüksek olduğu gösterilmiştir (9). Otoimmün bazı hastalıklarla (SLE, RA, Crohn, Graves, Tip1 diyabet) ilişkisi gösterilmiş IRF5 (rs2004640), STAT4 (rs7574865), PTPN22 (rs2476601), BANK1 (rs3733197 ve rs10516487) gibi bazı gen mutasyonlarının SSc ile de ilişkisinin olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (10). Ancak fenotip olarak farklı olan bu hastalıklar arasındaki bu benzer genetik altyapının hangi noktalarda farklılaştığı net olarak bilinmemekte ve araştırılması

gerekmektedir. Tüm bunlar genetik faktörün risk arttırıcı bir etken olduğu ancak tek başına etiyolojide rol oynamadığını göstermektedir.

Bazı enfeksiyöz ajanların (helikobakter pileri, parvovirüs B19, sitomegalovirüs, Epstein-Barr virüsü ve herpes simpleks virüs tip 1 gibi) moleküler benzerlik veya direk endotelial hasar yaparak etiyopatogeneizde rolü olabileceğine dair çalışmalar mevcuttur (11). Bleomisin, silika tozları, vinil klorid, L-triptofan (deri bulguları SSc'ye benzeyen eozinofilik myalji sendromu etyolojisinde rol oynar), meme silikon implantları ve organik çözücüler SSc ile ilişkilendirilen diğer çevresel faktörlerdir (12).

2.4. Sistemik Skleroz Patogenezi

Hastalığın patogenezi ile ilgili araştırmalar devam etmektedir. Patogenezi ile ilgili bilinenler; endotel, fibroblast, immün sistem hücreleri ve immün mediyatörlerin etkileşimiyle ekstraselüler matrikste artış ve fibrozis gelişimi sonucu oluşan patolojilerin eşlik ettiği bir hastalık olduğudur (13). SSc patogenezi; vaskülopati, immün sistem aktivasyonu ve fibrozis olarak üç temel basamağa ayrılabilir.

2.4.1. Vaskülopati:

Vasküler hasar ve bu hasarla birlikte gelişen ve/veya vasküler hasarı tetikleyen immün aktivasyon SSc'da patogenezindeki ilk basamaktır. Çünkü hastalığın erken döneminde görülen ilk klinik (Raynaud fenomeni) ve ilk histopatolojik bulgular (kapilleroskopik değişiklikler) vasküler patolojiyle ilgilidir. Vasküler hasar, endotel hasarı ile başlar. Endotel hasarını ve dolayısıyla endotel hiperaktivasyonunu başlatan nedenler konusu henüz net değildir ve birden fazla farklı etken olabileceğine dair görüş ve araştırmalar vardır. Vasküler hasarı başlatan olay, birtakım serum sitotoksik faktörleriyle veya T hücre kaynaklı proteolitik enzimler tarafından tetiklenen endotel hücre hasarının varlığıdır. Diğer olası nedenler endotel hücre kaynaklı otoantikorlar, vaskülotrop virüsler, inflamatuvar sitokinler ve çevresel strestir. Vasküler hasara ayrıca VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü-1), vazoaaktif mediyatörlerin değişen salgılanması, trombositler, fibrinolitik yolların aktivasyonu ve artmış ekspresyonu sonucu endotel hücre aktivasyonu ve endotel hücre fonksiyon bozukluğu da neden olabilir (14). Endotelial hasar sonucu inflamatuvar hücrelerin adezyonu ve migrasyonu meydana gelir, fibroblast proliferasyonu ve epizodik vazospazmlar gelişir (15). Bu olaylar zincirine trombositlerden salınan tromboksan A2, PDGF (platelet kökenli büyüme faktörü) ve

TGF- β (transforme edici büyüme faktörü-beta) gibi sitokinler vazokonstriksiyon, fibroblast aktivasyonu ve myofibroblast diferansiasyonuna katkıda bulunarak rol oynarlar. Normalde küçük kan damarlarının duvarlarında bulunan ve kas benzeri hücre olan perisitlerin, erken evre SSc'lu hastaların lezyonlu derisinden yapılan incelemelerinde belirgin hiperplazi gösterdiği ve yüzeylerinde CD90 ile PDGF reseptörleri olduğu saptanmıştır (16). Sistemik sklerozda endotel hasarı ve bozulmuş vasodilatör/vasokonstriktör dengesi mevcuttur. Endotel kaynaklı vazodilatör faktörlerde (nitrik oksit, kalsitonin gen-ilişkili peptid (CGRP) ve prostasiklin) azalma, artmış transendotelyal lökosit göçü, subendotelyal yapıların fibrinolitik kaskadlara ve trombosit agregasyonuna maruz kalması söz konusudur. Endotel hasarıyla aktive olan endotel hücrelerinden salınan artmış ET-1 (endotelin-1) düzeyi mevcuttur. Endotelin-1 güçlü vasokonstriktör etki yanında lökosit adezyonu, vasküler düz kas hücre proliferasyonu ve fibroblast aktivasyonunu indükler. SSc hastalarında yapılan çalışmalarda serumda ve bronkoalveolar sıvıda ET-1 seviyelerinin artmış olduğu gösterilmiştir (17, 18, 19).

Kronik allogreft rejeksiyonu sırasında meydana immün yanıtı ve proliferatif vaskülopatide önemli bir makrofaj kaynaklı protein olan allogreft inflamatuvar faktör'ün (AIF-1) kanda yüksek bulunmuş ve bunun artmış TGF- β düzeyiyle ilişkisi olduğu saptanmıştır. Bu rejeksiyon hastalarında görülen damarlardaki artmış düz kas proliferasyonu, SSc hastalarındaki deri ve akciğerlerdeki vaskülopati ile benzerlikler taşımaktadır. Allogreftteki inflamasyonun SSc patogenezinde de rolü olabileceği gösterilmiştir (20). Adventisyal fibrozis ile birlikte küçük kan damarlarının intimal ve medial tabakalarının hipertrofisi sonucu ilerleyici lümen daralmasına yol açar. Endotelyal hücre apoptozu mikrovasküler kayba ve kronik doku hipoksisine yol açar. Hipoksinin sebep olduğu hasarla beraber anjiogenik faktörlerden VEGF ve PDGF düzeyleri yükselir. Bozuk bir anjiogenez süreciyle birlikte artmış myofibroblast aktivasyonu gelişir (21, 22).

2.4.2. İmmün Sistem Aktivasyonu:

a.) Otoimmünite ve İnflamasyon: Sistemik sklerozda hastalığın erken döneminde doğal ve kazanılmış immün sistemlerin aktive olduğu bilinmektedir, ancak hücrel ve humoral immün yolların etkisinin patogenezdaki yeri tam olarak belli değildir. T hücrelerinin doku hasarında rol oynadığı bilinmektedir. Aktive CD4 ve CD8 pozitif T lenfositler, monosit/makrofajlar, B hücreleri, eozinofiller, mast hücreleri ve doğal öldürücü hücreler hastalığın erken evrelerinde deride perivasküler bölgelerde, akciğerler ve diğer

etkilenen organlarda fibrozisden önce saptanırlar. İnflamatuvar hücrelerin fibroblast aktivasyonu üzerinde tetikleyici rolleri de vardır (23, 24, 25).

b.) T Hücre Kaynaklı İmmünite: Doku örneklerinde CD3+ ve CD4+ T hücrelerinde aktivasyon belirtici olarak CD45, HLA-DR, IL-2 reseptörlerinin arttığı ve oligoklonal T hücre ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir (26). Akciğerlerde dominant olarak CD8+ T hücrelerinde artış görülür (27). Sistemik sklerozdaki artmış T hücre aktivasyonu, periferik kandada tespit edilir. Artmış IL-2 reseptör ekspresyonu ile birlikte, IL-2 serum seviyelerinde artış görülür. Dolaşımdaki CD4+ T hücrelerinde bulunan LFA-1 (lenfosit fonksiyonuyla ilişkili antijen-1), kemokin reseptörleri (MCP-1, MCP-3) ve α -1 integrin adezyon moleküllerinde artış görülür. Bu artmış adezyon reseptörleri aracılığıyla, T hücreleri endotel ve fibroblastlar üzerine artan afiniteyle bağlanabilirler. Bunun yanısıra VCAM-1, E-selektin gibi endotel üzerinde lökosit adezyonunu kolaylaştıran birçok adezyon molekülünde de artış vardır (28, 29, 30).

Patogeneizde Th1 ve Th2 hücre dengesinin bozularak, Th2 ağırlıklı patolojik olarak artmış sitokin salınımı görülür. Th2 hücrelerinden IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 ve Th1 hücrelerinden IFN- γ salınımında artış söz konusudur. Th2 kaynaklı sitokinler ve özellikle IL-4; TGF- β ile birlikte kollajen sentezinde, myofibroblast diferansiasyonunda rol alır ve profibrojenik özeldir. Buna karşılık, Th1 kaynaklı IFN- γ 'nın antifibrotik etkisi vardır. Hayvan çalışmaları ve in vivo deneyler, fibrozis patogenezinde Th2 polarizasyonunun önemli olduğunu göstermiştir. Sistemik sklerozlu hastaların bronkoalveoler lavaj sıvılarında Th2 kaynaklı sitokinlerde artış olduğu gösterilmiştir. SSc'li hastalarının bronkoalveolar lavaj sıvısından alınan CD8+ T hücrelerinden kaynaklanan bir genin ekspresyonu sonucu Th2'nin aktive olması, IL-4 ve IL-13 düzeylerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (31-35). Ayrıca, CD4+ T hücrelerin farklı bir tipi olan Th17 hücrelerden salınan IL-17'nin de fibroblast stimülasyonu yaptığı bilinmektedir (36).

c.) Otoantikorlar ve Humoral İmmünite: Sistemik sklerozda aktif ve naif B hücresi üzerinde CD19 ekspresyonunda artış, hipergamaglobulinemi, otoantikor yapımında artış ile beraber bellek B hücrelerinde azalma görülür (36). Hastalıkta otoantikorlar tanısız belirteç olmanın yanı sıra, otoantikor tipinin hastalığın klinik fenotip farklılığının belirlenmesinde de rolü vardır (Tablo-I) (37, 38).

Tablo-I. Sistemik skleroza özgü otoantikor, SSc tipi ve klinik bulgularla ilişkisi

Otoantikor	SSc tipi	Organ tutulumu
Anti-topoizomeraz-I (anti-Scl-70)	dcSSc	İAH, kalp tutulumu, renal kriz
Anti-sentromer	lcSSc	Dijital iskemi, kalsinozis, izole PAH
Anti-U3-RNP	dcSSc	PAH, İAH, renal kriz, miyozit
Anti-Th/T0	lcSSc	İAH, PAH
Anti-PM/Scl	lcSSc	Kalsinozis, miyozit
Anti-U1-RNP	MCTD	PAH
Anti-RNA polimeraz III	dcSSc	Yaygın cilt tutulumu, renal kriz

Sistemik sklerozdaki otoantikorların üretimini açıklamak için çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür. Bu hipotezlerden biri topoizomeraz gibi SSc özgü self antijenlerin, reaktif oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan hücrel hasar sırasında ortaya çıkan antijenin, spesifik antikor üretimini tetikleyecek şekilde farklılaşarak immünojenik hale gelmesidir (39). Başka bir hipoteze göre de otoantikor oluşumunda kronik viral bir enfeksiyon sonucu B hücre hiperaktivitesi görülmesi ve/veya self antijenlerin yapısında değişikliğe sebep olarak otoantikor üretilmesine yol açtığı ileri sürülmektedir (37). B hücrelerinden salgılanan IL-6 ve IL-10, direk ve Th2 hücrelerini indükleyerek kollajen yapımını arttıran sitokinlerin salınımını artırır. Yine aktif B hücrelerinin kendisi de TGF- β salgılayarak direk fibrozise katkıda bulunmaktadır (40).

d.) Monosit ve Makrofajlar: Monosit ve makrofajlardan immün ve inflamatuvar yanıtları ve fibroblast proliferasyonunu düzenlemede önemli rolleri olan IL-1, IL 6, TNF- α , MCP-1, PDGF, TGF- β gibi sitokinler ve kemokinler salgılanır. Ayrıca monositler, doku yenilenmesine aracılık eden kollajenaz ve matriks metaloproteinaz enzimlerini üretirler. Makrofajlar erken dönem sistemik sklerozlu deride, infiltre mononükleer hücreler arasında belirgindir. Aktif akciğer hastalığı olan SSc'li hastaların bronkoalveoler lavaj sıvısında bulunan makrofajlardan profibrotik TGF- β , PDGF ve IL-13 salgılandığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (41, 42, 43).

e.) Sitokinler: Makrofajlardan salgılanan IL-1, fibroblast proliferasyonunu, tip 1 ve tip 3 kollojen sentezini stimüle eder, fakat kemotaksisi uyarmaz. IL-1'in fibroblastlar

üzerindeki etkilerinin çoğunda, serum içersinde bulunan IL-1 ve serum büyüme faktörleri (PDGF ve TGF- β) gereklidir. Sistemik sklerozlu hastaların derilerindeki fibroblastlar IL-1 α üretirler ve buda hücrelerin PDGF ve IL-6 üretimindeki artışlardan sorumludur (46,47).

İnterlökin-2; aktive T hücrelerinin bir ürünüdür, bir T hücre büyüme faktörü olarak fonksiyon görür. SSC'lu hastaların serumunda IL-2 düzeyi ve solubl IL-2 reseptörleri artar ve her ikisinin de seviyesinin, deri kalınlaşmasının ilerleme hızı ile uyumlu olduğu gösterilmiştir (48).

İnterlökin-4; T hücre ve mast hücrelerinin bir ürünü olup B ve T hücrelerini ve makrofajları inhibe eder, fakat ekstrasellüler matriks (ESM) sentezini stimüle eder. IL-4, fibrozis ve inflamasyon arasında bir ilişki vardır ve SSC'li hastaların serumunda artmış miktarda bulunur (48).

İnterlökin-6; önemli bir kısmı fibroblast ve makrofaj ürünü olup, SSC fibroblastlarında normale oranla 30 kat daha yüksek konsantrasyonda üretildiği gösterilmiştir. IL-6 kollojen sentezini sadece çok yüksek konsantrasyonda iken stimüle eder ve kollojenaz aktivitesini inhibe ederek fibrozisi destekler (49). SSC'lu hastaların dolaşımdaki IL-6 konsantrasyonları ve cilt tutulumu arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır (50).

İnterlökin-8; makrofajların, polimorfonükler lökositlerin ve fibroblastların ürünüdür. Üretimi TNF- α tarafından artırılır. Alveolitli SSC hastalarının bronkoalveolar lavaj sıvılarında saptanır ve pulmoner fibrotik lezyonun erken inflamatuvar fazında önemli olabilir (51). IL-13; SSC'lu hastaların fibrozisi ve inflamasyonunu destekleyen bir sitokindir. Tırnak yatağı kapilleroskopisi ile değerlendirilen mikrovasküler hasar parametreleri ile uyumludur. Bu gözlem bu sitokinin olası vasküler etkisini işaret eder (52).

İnterlökin-17; sistemik sklerozlu hastaların serumunda, derisinde ve bronkoalveolar lavaj sıvılarında artmış düzeyde bulunur ve yeni başlangıçlı SSC ile ilgilidir. Fibroblastları stimüle eder ve fibroblastların IL-6 ve IL-8 üretmesine neden olur (53). IL-17, Th17 olarak isimlendirilen CD4+ T hücrelerden salınır ve SSC'da bu hücrelerin anahtar rol oynadığı ile ilgili görüşler vardır (54)

Platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF), serumdaki major fibroblast mitojenik faktördür, orijinal olarak platelet granüllerinde bulunmasına rağmen, makrofaj ve fibroblastlar

tarafından üretilir (55). TGF- β (transforming büyüme faktörü β); megakaryositler, makrofajlar, epidermal hücreler, fibroblastlar ve T hücreleri tarafından yapılır. Fibroblastlarda kollojen ve fibronektin sentezinin en potent indükleyicisidir, etkili bir şekilde ESM oluşumunu stimüle eder. Endotelial hücre hasarından sorumlu olabileceği yönünde bulgular vardır. Vasküler bazal membranın yapısında olan tip 4 kollojenin yıkımında rol alan tip 4 kollojenazın üretimini arttırarak vasküler yıkım ve neovaskülarizasyonda rol alır. Fibroblastlar için kemotaktiktir. SSc'li hastaların derisinde ve bronkoalveolar lavajında arttığı gösterilmiştir (56,57). Konnektif doku büyüme faktörü (CTGF) fibroblastlar için mitojeniktir. Serum düzeyleri sSSc'ye göre, dSSc daha yüksektir. Pulmoner tutulumu olan hastalarda özellikle yüksek düzeyleri bulunmuştur (58).

Fibronektin; fibroblastlar, endotelial hücreler, makrofajlar, hepatositler başta olmak üzere bir çok hücre tarafından üretilir. Fibroblast üzerinde mitojenik etkisi vardır. TGF- β , fibronektin indükleyicisidir. Sistemik sklerozlu hastalarda deride ve akciğerde yüksek düzeylerde bulunmuştur (59). Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) esas olarak makrofajlar olmak üzere fibroblast, lenfosit ve endotelial hücreler tarafından salgılanan bir sitokindir. IL-6, IL-1, IL-8 gibi diğer sitokinlerin salınımını indükler. Sistemik sklerozda endotelial hasardan sorumlu görünmektedir (60, 61).

İnterferon- γ (IFN- γ); T hücreleri ve natural killer hücrelerinin ürünü olup, güçlü bir immün stimulatördür. Ancak fibroblastlarda kollojen sentezini inhibe eder ve SSc'de serum konsantrasyonları azalmış olarak bulunur. Bu negatif korelasyon SSc patogeneğinde T hücrelerindeki bir defektin fibrozisi baskılamakta yetersiz yanıtı sebep olabileceğini düşündürmektedir (61). Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF); anjiogenik bir sitokindir ve artmış konsantrasyonları dcSSc ve restriktif akciğer hastalığının şiddeti ile ilişkilidir (62). Asidik ve sisteinden zengin salgılanan protein (SPARC); ekstraselüler matriks proteindir ve TGF- β sinyalizasyonunu artırır (63).

2.4.3 Fibrozis

Fibroblastların inflamatuvar hücrelerden ve endotelden salınan çeşitli sitokinler büyüme faktörleri aracılığı ile aktivitesinin artması sonucu ekstraselüler matriks üretiminde artış görülür (43). Fibroblastik aktivitenin temel indükleyici faktörlerinden birisi olan TGF- β ; fibroblastlardan kollajen gibi ESM yapıtaşlarının üretiminde önemli rol oynar (44). Aktive

fibroblastlar (miyofibroblastlar), ESM yapıtaşlarının sentezi yanında, IL-6, TGF- β , PDGF ve CTGF gibi profibrotik sitokin ve büyüme faktörlerini üretirler. Böylece, fibroblastlar bir kez aktive olduktan sonra otokrin özellik kazanmakta ve aktivasyon için inflamatuvar hücre uyarımına gereksinimleri kalmamaktadır (45).

2.5. Sistemik Skleroz Sınıflandırılması

Sistemik skleroz Tablo-2 belirtildiği gibi sınıflandırılmaktadır (64).

Tablo-II. Sistemik skleroz sınıflandırılması.

1. Pre-skleroderma
2. Sınırlı kutanöz sistemik skleroz (lcSSC)
3. Difüz kutanöz sistemik skleroz (dcSSC)
4. Sistemik sklerozis sine skleroderma (Sklerodermasız skleroderma)
5. Çakışma sendromları

Pre-skleroderma, Raynaud fenomeni bulgusu olan bir olguda, anti-Scl veya anti-sentromer antikor pozitifliği yada tırnak yatağı kapilleroskopik değişikliği olan ancak SSc klinik ve laboratuvar bulgularının tam olarak ortaya çıkmadığı hastaları ifade eder (65,66).

Sınırlı kutanöz sistemik skleroz (lcSSC); cilt tutulumu sadece yüz, boyun ve ekstremitelerin distalinde sınırlıdır. Raynaud fenomeni öyküsü cilt bulguları çıkmadan çok öncesine dayanır. Özefagus hipomotilitesi ve pulmoner hipertansiyon, dcSSC'a göre daha sık görülür. Kalsinosis kutis, Raynaud, özefagial dismotilite, sklerodaktili ve telenjiyektazi ile seyreden CREST sendromu, bu alt grupta yer alır. Vakaların %70-80'inde anti-sentromer antikor pozitifliği saptanır.

Diffüz kutanöz sistemik skleroz (dcSSC); akut başlangıçlı cilt tutulumu vardır ve distalden proksimale doğru ilerleyerek gövdeyi kapsar. Hastaların %30-40'ında anti-Scl70 antikor pozitifliği vardır. İç organ tutulumu, interstisyel akciğer hastalığı (İAH) ve böbrek tutulumu riski yüksektir.

Sine Skleroderma (ssSSC), kutanöz tutulum olmadan iç organ tutulumu ile karakterize SSc tipidir. Çakışma sendromunda, SSc bulguları ile beraber SLE, RA,

polimiyozit gibi diğer konnektif doku hastalıklarında tanımlanan belirtiler de eşlik eder. Hastalarda anti-RNP ve anti- PM-Scl antikorları saptanabilir (67).

2.6. Sistemik Skleroz Klinik Belirti ve Bulguları

Ciltte fibroze bağlı kalınlaşma ve sertleşme hastalığın temel özellikleridir. Sınırlı tutulumlu SSc (lcSSc) hastalarında, deri değişiklikleri genellikle eller, kolun bir kısmı yüz ve boyun ile sınırlıdır. Fibrozis gelişmeden önce bazı olgularda parmaklarda puffy ödem görülür. Sınırlı tutulumda genellikle ilk semptom Raynaud fenomenidir. Pitting skar ve ülserasyon dahil olmak üzere parmaklarda iskemiye bağlı değişiklikler görülebilir. Diffüz tutulumlu hastalarda (dcSSc) ilk bulgu olarak eller, el bilekleri ve bacaklarda 12 ila 18 ay boyunca devam edebilen yoğun kaşıntı ile birlikte olan yumuşak doku ödemi görülebilir. Bu aşamayı dermal fibrozis ve skleroz izler. Skleroz tipik olarak proksimale doğru hareket eder ve gövde, üst kol ve uyluk tutulumu meydana gelebilir (68).

Cilt sklerozunu ölçmek için birçok skorlama sistemleri geliştirilmiştir. Bunlardan günümüzde en yaygın olarak kullanılanı Modifiye Rodnan Skorlama Sistemidir (MRSS). Cilt sertliğini ve kalınlaşması 17 ayrı bölgede 0-3 arası puanlanarak (0 normal, 1 hafif, 2 orta, 3 ciddi sklerotik ve kalın) alınan toplam skora göre (maksimum 51 puan) derecelendirilir (Şekil-1). MRSS' ye göre, cilt tutulumu hastalık düzeyi 1-14 arası hafif, 15-29 orta, 30-39 ciddi ve 40 üzeri son dönem cilt tutulumu olarak değerlendirilir (69).

SSc'de telenjektazi en sık yüzde, muköz membranlarda ve el parmaklarında görülür. Kalsinosis ise ön kolun ekstansör yüzü gibi travmaya açık bölgelerde subkutan kalsifikasyonlar şeklinde görülür. Tırnak yatağı kapillerlerinde kapilleroskopik incelemede görülebilen dilatasyonlar, özellikle SSc'nin erken dönem bulgusu olarak ortaya çıkar (70).

Raynaud fenomeni (RF) soğuğa bağlı vazospazm sonucu el parmaklarında ve vücudun uç bölgelerinde görülen solukluk/soğukluk, siyanoz ve daha sonra kızarıklık ile karakterize durumdur. Primer RF'inde tırnak yatağı kapilleroskopik değişikliği gözlenmez ve eşlik eden bağ doku hastalığı yoktur. Sekonder RF' ni en sık SSc'da (%95'den fazla) görülür ve genellikle deride fibroze bağlı değişikliklerden önce ortaya çıkan erken dönem bulgudur. Sistemik sklerozlu hastalarda RF'ne ilerleyen dönemlerde digital iskemi sonucu ülser ve gangren gelişimi olabilmektedir. Sistemik sklerozda RF patogenezinin daha agresif

ve komplikasyon içermesinin sebebi; primer RF'dan farklı olarak patogeneiz mekanizmasında yalnız vasospazmın değil, inflamatuvar, endotelyal hücre kaynaklı kalıcı mikrovasküler hasarın ön planda olduğu vaskülopati ile fibroblastik aktivite artışının eşlik etmesidir (71, 72).

Şekil-1. Modifiye Rodnan Skorlama Sistemi

Sistemik sklerozda PAH prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalarda, kullanılan metoda göre prevalans değişkenlik göstermektedir. Ekokardikardiyografi ile yapılan prevalans çalışmalarında PAH % 35-49 arasında bulunmuştur (74-75). Ancak altın standart kabul edilen sağ ventrikül kateterizasyonu ile yapılan bir çalışmalarda PAH sıklığı % 8-12 arasında

bulunmuştur. Pulmoner arteriyel hipertansiyon, İAH'dan sonra SSc'li hastalardaki en önemli mortalite sebebidir (76-77).

Sistemik sklerozlu hastalarda İAH gelişimi yavaş ve ilerleyici olabilir. Hastalar radyolojik bulguların varlığına rağmen asemptomatik kalabilir. En sık eforla nefes darlığı ve kuru öksürük gibi belirtiler görülür. Fizik muayenede en tipik inspiratuar ve ekspiratuar (Velcro) ralleri mevcuttur. Solunum fonksiyon testinde, restriktif tipte solunum yetmezliği izlenir. FEV1, FVC, RV, TLC, DLCO değerleri düşüktür. Serolojide anti-topoisomerase I/ Scl-70 varlığı anti-U3RNP, anti-Th olması İAH için yüksek risk faktörüdür. Anti-sentromer antikorlar sınırlı cilt tutulumu yada cilt tutulumu olmaksızın İAH ile ilişkili olabilir. Nospesifik interstisyel pnömoni (NSIP) en sık görülen histopatolojik tutulum şeklidir. Olağan interstisyel pnömoni (UIP) bunu izler. Akciğer grafisinde, bibasiller interstisyel infiltratlar, lineer, retiküler ve retikülonodüler gölgelenmeler görülür. Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi interstisyel akciğer hastalığı varlığını akciğer grafisinden daha erken dönemde göstermektedir. Buzlu cam görünümü aktif inflamasyonun güvenilir bir bulgusudur. Bal peteği görünümü ise irreversibl fibrotik hastalığı gösterir (78,79). Bronkoalveoler lavaj (BAL), hastalık aktivitesi hakkında bilgi vermektedir. BAL'da nötrofil yüzdesinin eozinofil yüzdesinden 3 kat fazla olması aktif alveoliti düşündürür (80).

Orofarinks, özefagus, mide, ince ve kalın barsaklar, rektum ve anus dahil olmak üzere tüm gastrointestinal sistem tutulabilir. Gastrointestinal sistem tutulumunda mikrovasküler yetersizlik, fibrozis, düz kas atrofisi, nörojenik faktörler rol oynar. Orofarinkste deri kalınlığında artışa bağlı ağız açıklığında daralma görülebilir. Sistemik skleroza sekonder ve/veya sekonder Sjögren'e bağlı olarak kserostomi (ağız kuruluğu) ve submukozal fibrozis bulguları tükürük bezi biopsisinde görülür. Özefagial dismotilite %75-90 oranında görülmektedir. Özefagusda bunu dışında disfaji, gastroözefagial reflü ve buna bağlı Barrett özafagus, eroziv özefajit ve mukozal telenjektaziler görülebilir. Midede erken tokluk hissi, bulantı-kusma, gecikmiş gastrik boşalma, mukozal telejektazi, gastrit, antral ektaziye bağlı gastrointestinal sistem kanaması görülen en sık bulgulardır. İnce ve kalın barsaklarda da dismotilite, kolik tarzında ağrı, sıklıkla konstipasyon, nadiren bakteriyel çoğalmaya bağlı olarak diyare görülür. Ayrıca, endoskopik olarak saaptanabilen ve gizli kanamaya sebep olabilen mukozal telenjektaziler ve kalın barsakta geniş ağızlı divertiküller görülebilir.

Karaciğer nadiren tutulur. Primer bilier siroz (PBS) hastaları ile lcSSc arasında bir ilişki vardır. PBS hastalarının büyük kısmında anti-sentromer pozitifliği görülür. Sistemik sklerozlu hastalarda transaminaz yüksekliği, karaciğer tutulumundan çok birlikte olan inflamatuvar kas hastalığını yansıtır (81).

Sistemik sklerozun böbrek tutulumunda, renal krize bağlı olarak malign hipertansiyon, mikroanjiopatik hemolitik anemi ve hızlı ilerleyen oligürik böbrek yetmezliği görülür. Ayrıca, SSc renal kriziyle anti-scl70 ve anti-RNA polimeraz III antikor birlikteliği sıklıktır. Hastalarda önceleri önemli bir mortalite nedeni iken anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACEİ) kullanımı ile mortalitede önemli bir azalma gözlenmiştir. Hipertansif SSc renal krizi tanısı için, yeni başlangıçlı hipertansiyon veya sistolik kan basıncında 30 mmHg ya da diyastolik kan basıncında 20 mmHg artmaya ilaveten şu 5 özellikten biriside gerekir (82);

1. Serum kreatinin değerinde %50' den fazla artış
2. Spot idrarda proteinürinin +2 olması
3. Spot idrarda hematürinin +2 olması
4. Trombositopeni
5. Başka nedenlere bağlanamayan retikülositoz ve periferik yaymada şistozitlerin tanımlandığı anemi

Sistemik skleroz hastalarında perikardit, dilate kardiyomyopati ve mortaliteye önemli katkısı olan ve ani seyreden aritmiler, en sık görülen kardiyak tutulum şeklidir. Bunlara ilave olarak perikardiyal effüzyon, yamalı tarzda myokard fibrozisi, mikrovasküler tutulumla bağlı iskemik değişikliklere sekonder olarak gelişir. İnflamatuvar miyopatisi olanlarda myokardit ve myokard fibrozisi sonucu aritmi gelişebilir. Sağ ve sol diyastolik disfonksiyonda artma vardır (83).

Kas-iskelet sistemi tutulumunda, sıklıkla perifasiküler fibrozun gelişmesi ve kapiller sayısında azalma ile birlikte kas gücünde azalma ve serum kas enzimlerinde hafif artış görülür. Tendon kılıflarında fibrin ve kollojen depolanmasıyla sinovit ve fleksiyon kontraktürü gelişir. Artralji ve myalji sık görülen semptomlardır. Bazen inflamatuvar artropati görülebilir ve en sık tutulan eklemler proksimal interfalengial, metakarpofalengial, el bileği ve

ayak bileği eklemleridir. Ayrıca fizik muayenede tendon kılflarında fibrozise bağlı gelişen sürtünme palpe edilebilir (84).

2.7. Sistemik Skleroz Tanı Kriterleri

Sistemik skleroz tanı kriterleri, Tablo-III de verilmiştir (64,85). Bu kriterlere ilaveten tırnakyatağı kapilleroskopik değişiklikleri veya telenjektazik bulgular eklenirse, bu tanı setinin duyarlılığının % 34-67'den % 89-99'a yükseldiği gösterilmiştir. Bu yüzden, bu kriterlerin üzerine 2001 yılında SSc erken tanı kriterleri olarak tanımlanan Raynaud fenomenine ek olarak kapilleroskopik bulgu ve/veya SSc'ye özgül otoantikor varlığı da ilave edilmiştir (65).

Tablo-III. Sistemik skleroz tanı kriterleri

Major kriter	1-Metokarpofalangeal veya metotarsofalangeal eklemlerin proksimalindeki deri sertliği
Minör kriterler	1-Sklerodaktili 2-Dijital ülser 3-Bibaziler pulmoner fibroz
Majör kriter + 2 minör kesin tanı için yeterli	

2.8. Sistemik Skleroz Tedavisi

Tedavide henüz tam etkin bir ajan yoktur ve SSc organ tutulumuna göre tedavi edilmektedir. Bu yüzden, tedavi öncesi önce tutulan organları, organ fonksiyon bozukluklarını belirlemek gerekir. Tedavi basamakları patogeneze bilinenlerle paralel olarak artmaktadır. Tedavinin bir basamağını patogenezin temelinde yatan bozuk immün sistem aktivasyonuna yönelik immünsüpresif tedaviler (metotreksat, siklosporin, siklofosfamid, azatiopürin, mikofenolat mofetil, rituksimab) ve otolog kök hücre nakli oluşturmaktadır. Bir diğer patogeneze basamağı olan fibrinogenez ve vaskülopatiyeye yönelik tedaviler de mevcuttur. Patogeneze hedefli tedaviler dışında semptomatik tedaviler de uygulanır (86,87).

Cilt tutulumu olan vakalarda yapılan birkaç randomize klinik çalışmada, metotreksat ve siklofosfamidin deride kalınlaşmayı azalttığı gösterilmiştir. Metotreksat

EULAR tarafından erken diffüz sklerodermada tedavi olarak tavsiye edilir. D-penisilamin, siklosporin ve takrolimus hastaların deri gerginliğini azaltmada faydalı bir rol göstermiştir. Rekombinant insan relaxininin bazı çalışmalarda yararlı etkileri gösterilmiştir. Sistemik sklerozda fibroblastlar artmış proliferasyon ve kollajen sentezi ve hücre dışı matriks proteinlerinde artış vardır. Fibrogenizde aracılık eden iki ana sitokin TGF- β ve PDGF dir. Tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib mesilat TGF- β ve PDGF selektif ikili inhibisyonunu sağlar. Fibroblast aktivasyonu ve ekstrasellüler matriks sentezini inhibe eder ve güçlü antifibrotik bir potansiyele sahiptir. Olgu sunumları ve çalışmalarda, diffüz sistemik skleroz için imatinibin olumsuz etkilerine (ödem, kas krampları, ishal, kemik iliği toksisitesi ve konjestif kalp yetmezliği) rağmen bu ilaç önerilmektedir (88).

Mikofenolat mofetil ve antitimosit globulinle yapılan bir çalışmada cilt skoru ve sistemik diğer organ bulgularında anlamlı gerileme saptanmıştır (89). Rituksimabla ilgili yapılan birkaç çalışmada cilt skorunda gerileme saptanmıştır (90).

Raynaud fenomeni medikal tedavisinde dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokerleri (nifedipin, nikardipin, amlodipin, felodipin, isradipin), Anjiotensin Reseptör Bloker (ARB)'leri gibi vazodilatör ilaçların yararlı oldukları kanıtlanmıştır. Kalsiyum kanal blokerleri bu amaçla en sık kullanılan vazodilatörlerdir. Bir ARB olan losartanın etkinliği gösterilmiştir. Dirençli durumlarda fosfodiesteraz tip 5 (PDE-5) inhibitörleri (sildenafil), fluoksetin gibi serotonin geri alım inhibitörleri, topikal nitrogliserin veya İV iloprost kullanılabilmektedir.

Raynaud fenomeni klasik tedavi yaklaşımları ile kontrol altına alınamadığında dijital ülser (DÜ) gelişebilir. Bu durumlarda intravenöz iloprost kullanılabilmektedir. Stellat ganglion bloğu ve lomber sempatik bloklar dirençli hastalarda faydalı olabilir. Sempatektomi iloprostla dirençli DÜ hastaları dışında, pek tercih edilmemelidir. Yine dirençli DÜ hastaları için botulinum toksini A enjeksiyonları iyi bir tedavi seçeneği olabilir. Endotelin reseptör antagonist (ERA)'lerinden olan bosentan, aktif DÜ'lerin iyileşmesinde etkisizdir. Ancak, yaygın cilt tutulumlu ve çok sayıda ülseri olan hastalarda yeni DÜ oluşumunu engellemek amacıyla kullanımı onaylanmıştır (91, 92, 93).

Aktif İAH saptanan hastalarda, siklofosfamid oral 1-2 mg/kg/gün veya intravenöz 600 mg/m²/ay dozlarında uygulanmasını, hastalık aktivitesi kontrol altına alındıktan

sonra ise idame olarak 2,5 mg/kg/gün dozunda azatioprin kullanımı önerilir (94). Seçilmiş hastalarda mikofenolat mofetil veya rituksimab kullanılabilmektedir (95,96).

Pulmoner arteriyel hipertansiyon tedavisinde öncelikli olarak hastaların fonksiyonel durumunun belirlenmesi ve vazoreaktivite testi yapılması gerekmektedir. Vazoreaktivite testinde, kısa etkili bir vazodilatatör (inhale iloprost veya NO veya iv adenosin veya epoprostenol) uygulandığında, kardiyak debide değişim olmaksızın, ortalama pulmoner arter basıncında ≥ 10 mmHg düşüş saptanmayan (vazoreaktivite testi negatif olan) veya kalsiyum kanal blokeri tedavisine yanıt vermeyen hastalara prostasiklin analogları, ERA'lar ve PDE-5 inhibitörleri gibi PAH spesifik tedavi ajanları tercih edilmelidir. Prostrasiklin analoglarından iloprost, epoprostenol ve treprostininin egzersiz kapasitesi, dispne skoru, kardiyopulmoner hemodinamikler ve yaşam süresine olumlu etkileri bildirilmiştir. İloprost, inhalasyon şeklinde uygulanması daha az sistemik yan etki oluşturmaktadır. Bosentanin, egzersiz kapasitesi, pulmoner vasküler direnç ve PAB üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir. NO, vazodilatatör etkisini hücre içi siklik guanozin monofosfat (cGMP) üzerinden göstermektedir. Akciğer dokusunda da yoğun olarak bulunan PDE-5, cGMP'yi hızlı bir şekilde inaktive etmektedir. PDE-5 inhibitörü olan sildenafil, cGMP'yi hızlı bir şekilde inaktive eder ve NO artışı üzerinden pulmoner vasküler yapılarda vazodilatatör etki gösterir (97).

Renal kriz hastaların % 5-10'unda oluşur. Renal krizde hastalarda hızla ilerleyen diffüz deri kalınlaşması ve hızla ilerleyen böbrek yetmezliğiyle karakterize malign hipertansiyon vardır. SSc renal krizinde, yüksek doz kortikosteroid kullanımından kaçınılmalıdır. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri SSc renal krizinin tedavisinde önemlidir. Kaptopril veya oral tedavi olarak günlük tek kullanımlık uzun etkili ajanlar tercih edilir. Doz yavaş yavaş 10-20 mmHg/24 saat olacak şekilde artırılır (98).

Özofagus tutulumu en yaygın tutulum şeklidir ve sonrasında ince bağırsak ve kolon tutulumu da gelişebilir. Proton pompa inhibitörleri; gastroözefageal reflü, fibrozis ve striktür oluşumu gibi komplikasyonların önlenmesinde ve semptomların azaltılmasında oldukça etkilidir. Metoklopramid ve sisaprid gibi prokinetik ajanlar, kombinasyon halinde kullanılabilir. Ayrıca Raynaud için verilen nifedipin, özefageal sfinkter basıncını düşürür ve reflü özefajit belirtilerini kötüleştirir. Özefajit semptomatik tedavisi için yedikten sonra dik oturma ve yatmadan önce ağır yemekler kaçınma, küçük öğün alımı önerilir. Ampisilin,

tetrasiklin, siprofloksasin ve metronidazol gibi geniş spektrumlu antibiyotikler, bağırsak stazı sonucu gelişen bakteriyel aşırı çoğalmayı önler. Malabsorpsiyonun geliştiği ileri durumlarında parenteral beslenme gerekli olabilir (94).

Artrit ve artralji durumlarında NSAİİ yararlıdır. Kortikosteroidin sadece hastalığın erken ödemli aşamasında sınırlı kullanımı vardır ve 5-10 mg/ gün düşük doz steroidler kısa süreli kullanımında faydalı olabilir. Metotreksat ciddi poliartrit olan hastalarda iyi bir seçenektir. Geri dönüşü olmayan durumlarda dijital kontraktürler ve deformitelerde, fizyoterapi ve bazen ileri evrede cerrahi gerekebilir. Sistemik skleroz nedeniyle miyozit ya da overlap sendromu gelişen hastalarda yüksek doz steroid verilir ve tedaviye metotreksat veya azatioprin gibi bir immünsupresif ajanlarda ilave edilir. Miyozit, miyokardit, serozit gibi durumlarda yüksek dozda kortikosteroid etkilidir (94,99).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmamız için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 20.07.2012 tarihinde onay aldıktan sonra, çalışmaya alınan tüm olguların yazılı onamları alındı. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları-Romatoloji kliniğinde takip edilen Sistemik Skleroz tanılı 31 hasta, Ankilozan Spondilit tanılı 20 hasta ve 18 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. SSc hastaları Amerika Romatoloji Birliği'nin SSc kriterlerine göre seçildi. Çalışmamıza dahil olan tüm SSc hastaları siklofosfamid, metotreksat ve/veya azatiopürin gibi sitotoksik tedavileri almış veya bu tedavilere devam etmekteydi. Ankilozan spondilit hastaları Modifiye New York Kriterlerine göre seçildi ve BASDAI'si 3,2 üzerinde olan biyolojik tedavi almayan, NSAİİ ve salazoprin kullanan hastalar çalışmaya dahil edildi. Sağlıklı kontrollerde romatolojik veya diğer bir ek hastalığı olmayan olgular alındı. Hastaların anamnezleri alınıp, fizik muayeneleri yapıldıktan sonra dosya bilgileri incelendi ve cinsiyet, yaş, tanı, tanı süresi gibi demografik özellikleri ve mevcut ANA, ESH, CRP değerleri kaydedildi. Sistemik sklerozlu hastalarda ilave olarak anti-Scl-70, anti-sentromer antikorları, solunum fonksiyon testinde FVC, transtorasik EKO ile PAB değerleri, YÇBT bulguları (normal bulgular, buzlu cam görünümü ve akciğer fibrozisi olarak 3 sınıfa ayrıldı) ve modifiye rodnan cilt skoru (MRCS) değerleri kaydedildi.

Olgulardan alınan 5 cc kan 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları IL-6 ve IL-17 ölçülmek üzere ayrıştırıldı ve testler çalışılana kadar serumlar mikrobiyoloji laboratuvarında -80°C' de bekletildi.

3.2. Serum IL-6 ve IL-17 Düzeyi Ölçümü

Adnan Menderes Üniversitesi Mikrobiyoloji laboratuvarında saklanan serumlar, oda sıcaklığında (18-26°C) 30 dakika boyunca iyice çözüldükten sonra, ELISA yöntemiyle çalışıldı ve sitokin düzeyleri ölçüldü.

İnterlökin-6 ölçümü için araştırmamızda Quantikine ELISA Human IL-6 D6050 (R&D System Minneapolis, USA) ticari kiti kullanıldı. Kit kantitatif sonuç veren sandwich

ELISA yöntemi ile çalışıldı. IL-6'ya spesifik monoklonal antikor 96 kuyucuklu plaklara kaplanmıştır. Kitin parçaları Tablo-IV'te gösterilmiştir.

Tablo-IV. IL-6 ELİSA kiti içeriği

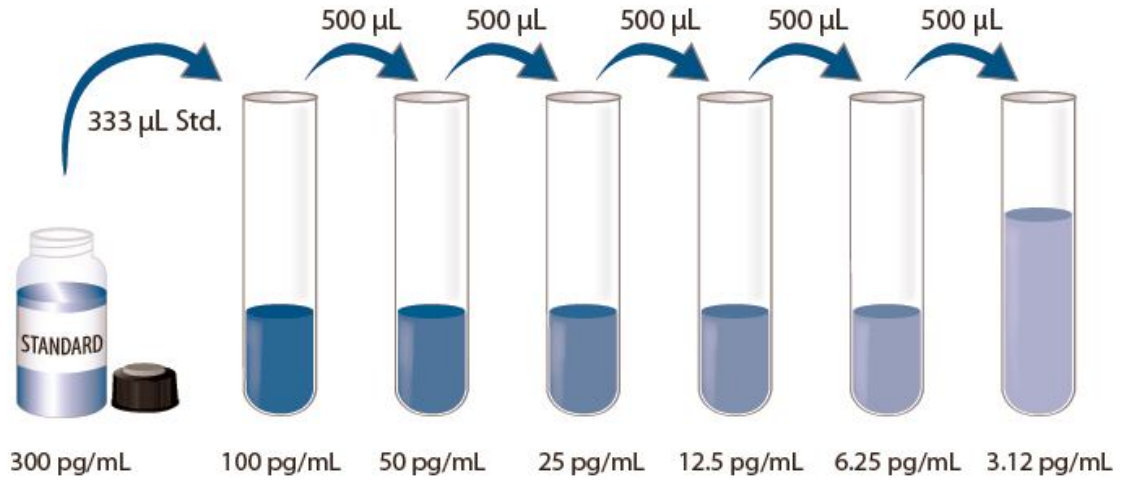
Parça	Miktar	Açıklama
IL-6 Plak	1 plak	IL-6'ya karşı geliştirilmiş fare monoklonal antikor ile kaplanmış 96 kuyucuk (8 kuyucuklu 12 strip)
IL-6 Standart	1 şişe	Çözünebilir 1.5 ng rekombinant insan IL-6'sı
IL-6 Konjugat	1 şişe	21 ml horseradishperoksidazla konjuge edilmiş IL-6'ya karşı geliştirilmiş poliklonal antikor
Assay dilüent	1 şişe	11 ml
Kalibratör dilüent (RD6F)	1 şişe	21 ml hayvan serumu (serum ve plazma örneklerinde kullanmak için)
Yıkama tamponu	1 şişe	21 ml, distile su ile 25 kat sulandırılarak kullanılır
Colorreagent A	1 şişe	12 ml hidrojen peroksit
Colorreagent B	1 şişe	12 ml kromojen (tetrametilbenzidin)
Stop solüsyon	1 şişe	6 ml sülfürik asit

ELISA kitinde bulunan standart kalibtratör dilusyon tamponu, standart konjugatlar, 96 kuyucuklu ELISA plağı ve diğer parçalar çalışmaya başlamadan en az 1 saat önce dolaptan çıkartılarak oda sıcaklığına gelmeleri beklenmiştir.

Yıkama solüsyonu hazırlanması; 20 ml yıkama solüsyonu distile su ile 500 ml'ye tamamlanır.

Substrat hazırlama; kullanılmadan en az 15 dakika önce eşit miktarda colorreagent A ile colorreagent B karıştırılır.

Standart hazırlanması; Kitte bulunan 300pg/ml konsantrasyonundaki standart, kalibratör dilusyon tamponuyla (RD6F) dilue edilmiştir. Dilusyon sonrası standartlar seri dilusyonlar yardımıyla 100 pg/ml, 50 pg/ml, 25 pg/ml, 12.5pg/ml, 6.25 pg/ml, 3.12 pg/ml konsantrasyona ayarlanmıştır.



Şekil-2. IL-6 standart hazırlanması (www.rndsystem.com)

IL-6 ELISA Testinin Aşamaları,

- 1- Her kuyucuğa 100µl assay dilüent eklenir
- 2- Kuyucuklara 100µl standart, örnek veya kontrol eklenir
- 3- Oda ısısında, karanlık bir ortamda 2 saat inkübe edilir
- 4- Yıkama tamponuyla dört kez yıkanır
- 5- Her kuyucuğa 200µl konjugat eklenir
- 6- Oda ısısında, karanlık bir ortamda 2 saat inkübe edilir
- 7- Yıkama tamponuyla dört kez yıkanır
- 8- Her kuyucuğa 200µl substrat solüsyonu eklenir
- 9- Oda ısında 20 dakika inkübe edilir
- 10- 50µl stop solüsyonu eklenir, 1 dakika beklenir
- 11- 450-570 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılır.

Tüm bu işlemler TRİTURUS Tam otomatik ELİSA cihazıyla gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda IL-17 Ölçümü için Quantikine ELISA Human IL-17 D1700 (R&D System Minneapolis, USA) ticari kiti kullanılmıştır. Kit kantitatif sonuç veren sandwich ELISA yöntemi ile kullanılmıştır. IL-17'ye spesifik monoklonal antikor 96 kuyucuklu plaklara kaplanmıştır. Kitin parçaları Tablo-V'te gösterilmiştir.

Tablo-V. IL-17 ELİSA kiti içeriği

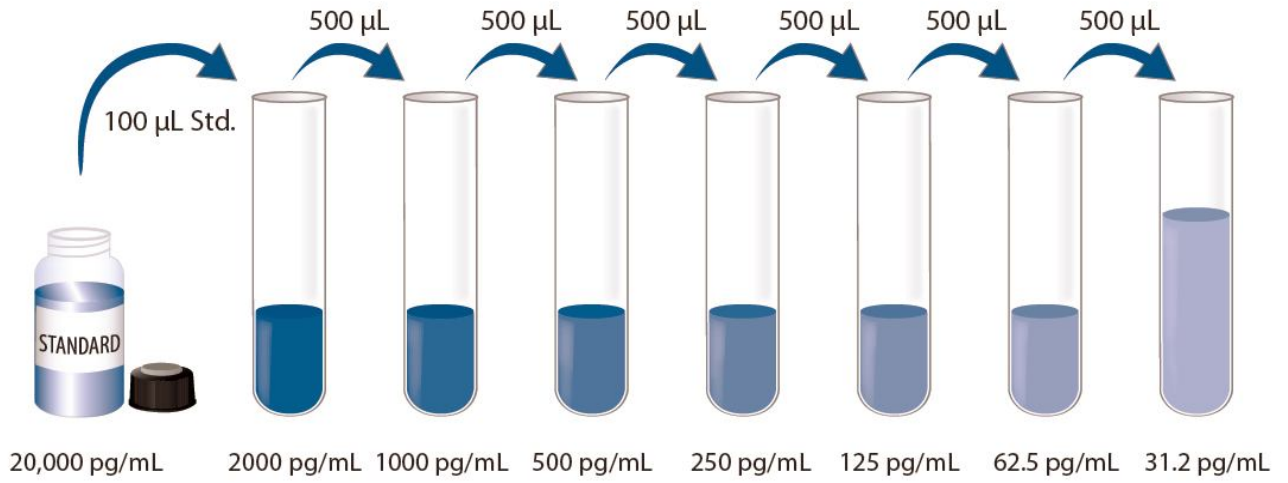
Parça	Miktar	Açıklama
IL-17 Plak	1 plak	IL-17' ye karşı geliştirilmiş fare monoklonal antikoru ile kaplanmış 96 kuyucuk (8 kuyucuklu 12 strip)
IL-17 standart	1 şişe	Çözünebilir 20ng rekombinant insan IL-17'si
IL- 17 konjugat	1 şişe	21 ml horseradishperoksidazlakonjuge edilmiş IL-17'ye karşı geliştirilmiş poliklonal antikor
Assay dilüent	1 şişe	11 ml
Kalibratör dilüent (RD6-21)	1 şişe	21 ml serum veya plazma örneği için
Yıkama tamponu	1 şişe	21 ml, distile su ile 25 kat sulandırılarak kullanılır
Colorreagent A	1 şişe	12 ml hidrojen peroksit
Colorreagentb	1 şişe	12 ml kromojen (tetrametilbenzidin)
Stop solüsyon	1 şişe	6 ml sülfürik asit

ELISA kitinde bulunan standart kalibtratör dilüsyon tamponu, standart, konjugatlar, 96 kuyucuklu ELISA plağı ve diğer parçalar çalışmaya başlamadan en az 1 saat önce dolaptan çıkartılarak oda sıcaklığına gelmeleri beklenmiştir.

Yıkama solüsyonu hazırlanması; 20 ml yıkama solüsyonu distile su ile 500 ml'ye tamamlanır.

Substrat hazırlama; kullanılmadan en az 15 dakika önce eşit miktarda colorreagent A ile colorreagent B karıştırılır.

Standart hazırlanması; Kitte bulunan 20000 pg/ml konsantrasyonundaki standart, kalibratör dilüsyon tamponuyla (RD6-21) dilue edilmiştir. Dilüsyon sonrası standartlar seri dilüsyonlar yardımıyla 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250pg/ml, 125 pg/ml, 62.5pg/ml ve 31.2pg/ml konsantrasyona ayarlanmıştır.



Şekil-3. IL-17 standart hazırlanması

IL-17 ELISA Testinin Aşamaları;

- 1-Her kuyucuğa 100µl assaydilüent eklenir
- 2-Kuyucuklara 100µl standart, örnek veya kontrol eklenir
- 3-Oda ısısında, karanlık bir ortamda 3 saat inkübe edilir
- 4-Yıkama tamponuyla dört kez yıkanır
- 5-Her kuyucuğa 200µl konjugat eklenir
- 6-Oda ısısında, karanlık bir ortamda 1 saat inkübe edilir
- 7-Yıkama tamponuyla dört kez yıkanır
- 8-Her kuyucuğa 200µl substrat solüsyonu eklenir
- 9-Oda ısısında 30 dakika inkübe edilir
- 10-50µl stop solüsyonu eklenir, 1 dakika beklenir
- 11-450-570 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılır

Tüm bu işlemler TRİTURUS Tam otomatik ELİSA cihazıyla gerçekleştirilmiştir.

3.3. İstatiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler, “Statistical Package for Social Sciences for Windows” version 17 [SPSS Inc; Chicago, IL, USA] paket programı kullanılarak yapıldı.

Nicel verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov Testi ile incelendi. Normal dağılıma uygun olmayan nicel verilerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi ve çoklu karşılaştırmalar için de Mann Whitney U testi kullanıldı ve tanımlayıcı istatistikleri ortalama $\pm$ standart sapma, ortanca (25-75 persantil) biçiminde gösterildi. Değişkenlerin birbirleriyle olan ilişkileri Spearman Korelasyon Katsayısı ile incelendi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında McNemar Ki-Kare testleri kullanıldı ve tanımlayıcı istatistikleri sayı, yüzde biçiminde gösterildi. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya Adnan Menderes Üniversitesi İç Hastalıkları- Romatoloji kliniğinde takipli ve bilgilendirilmiş hasta onayı alınmış sistemik skleroz tanılı 31 hasta, ankilozan spondilit tanılı 20 hasta ve 18 sağlıklı kontrol olgusu dahil edildi. Bu grupların demografik özellikleri Tablo-VI.'de belirtilmiştir.

Tablo-VI. Grupların demografik özellikleri

	Sistemik Skleroz	Ankilozan Spondilit	Kontrol	P
Olgu sayısı	31	20	18	-
Yaş (yıl)	51,1±12,6 51,0 (44-61)*	41,0±13,5 41,0 (31,5-51,0)	50,1±11,3 49,5 (41,5-59,7)	0,031
Cinsiyet Erkek (n/ %) Kadın (n/ %)	3 (%9,7) 28 (%90,3)	11(%55) 9 (%45)†	1 (%5,6) 17 (%94,4)	<0,001
ESH (mm/saat)	45,8±19,2 44 (29,0-60,0)	48,9±23,5 44 (27,7-70,7)	29,4±13,4 33 (19,7-40,0)‡	0,013
CRP (mg/dl)	6,5±7,9 4 (2,5-7,0)	18,3±2,3 10 (6,4-21,5)†	1,9±1,2 1,6 (1,1-3)‡	<0,001

*: Sistemik Skleroz grubu ile Ankilozan spondilit grubu arasındaki fark,

†: Ankilozan spondilit grubu ile diğer gruplar arasındaki fark,

‡: Kontrol grubu ile skleroderma grubu arasındaki fark.

Sistemik sklerozlu hastalarının klinik ve laboratuvar bulguları Tablo VII. gösterilmiştir.

Tablo-VII. Sistemik sklerozlu hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri

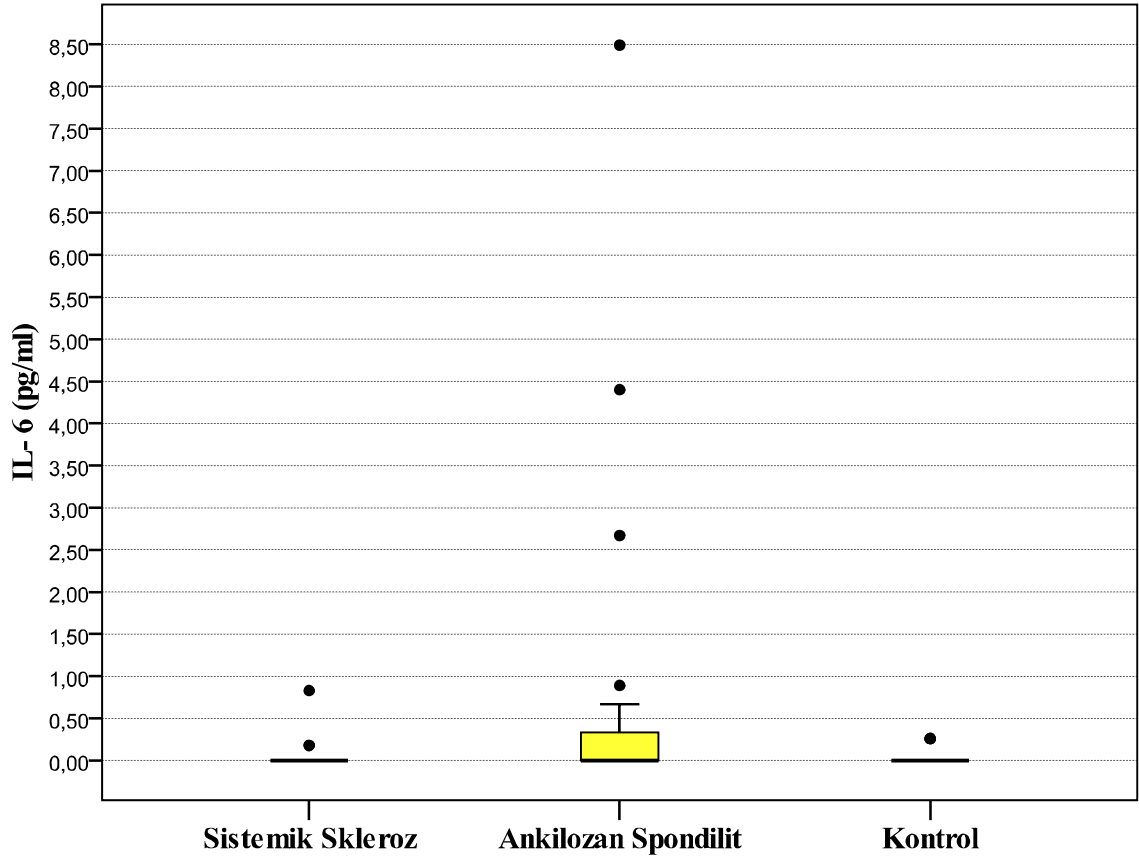
Hastalık özelliği	Sıklık
Diffüz kutanöz sistemik Skleroz (n/%)	17 (%54,8)
Sınırlı kutanöz Sistemik Skleroz (n/%)	14 (%45,2)
Hastalık Süresi (yıl)	9,6±6,9 9 (5-10)
Pulmoner Arter Basıncı (mmHg) *	33,5±10,2 30 (25-37)
FVC (%) *	89±23,8 86 (70-115)
Modifiye Rodnan Cilt Skoru *	16,1±8,6 15 (9-22)
YÇBT Bulguları	
Normal (n/%)	10 (%32,3)
Buzlu Cam (n/%)	7 (22,6)
Fibrozis (n/%)	14 (45,2)
Anti-Scl70 (n/%)	20 (%64,5)
Anti-sentromer (n/%)	11 (%35,5)

Grupların IL-6 ortanca düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,234$). Grupların IL-6 düzeyleri ve p değeri Tablo-VIII’de, grafiksel değerleri Şekil-4’te gösterilmiştir.

Tablo-VIII. Grupların IL-6 düzeyi

	Sistemik Skleroz	Ankilozan spondilit	Kontrol	<i>P</i>
IL-6 (pg/ml)	0,03±0,15 0,0 (0,0-0,0)	0,85±2,11 0,0 (0,0-0,50)*	0,04±0,09 0,0 (0,0-0,0)	0,234

[ortalama ± standart sapma; ortanca (25-75 persantil); gruplar arası fark saptanmadı]



Şekil-4. Grupların IL-6 ortanca değerleri

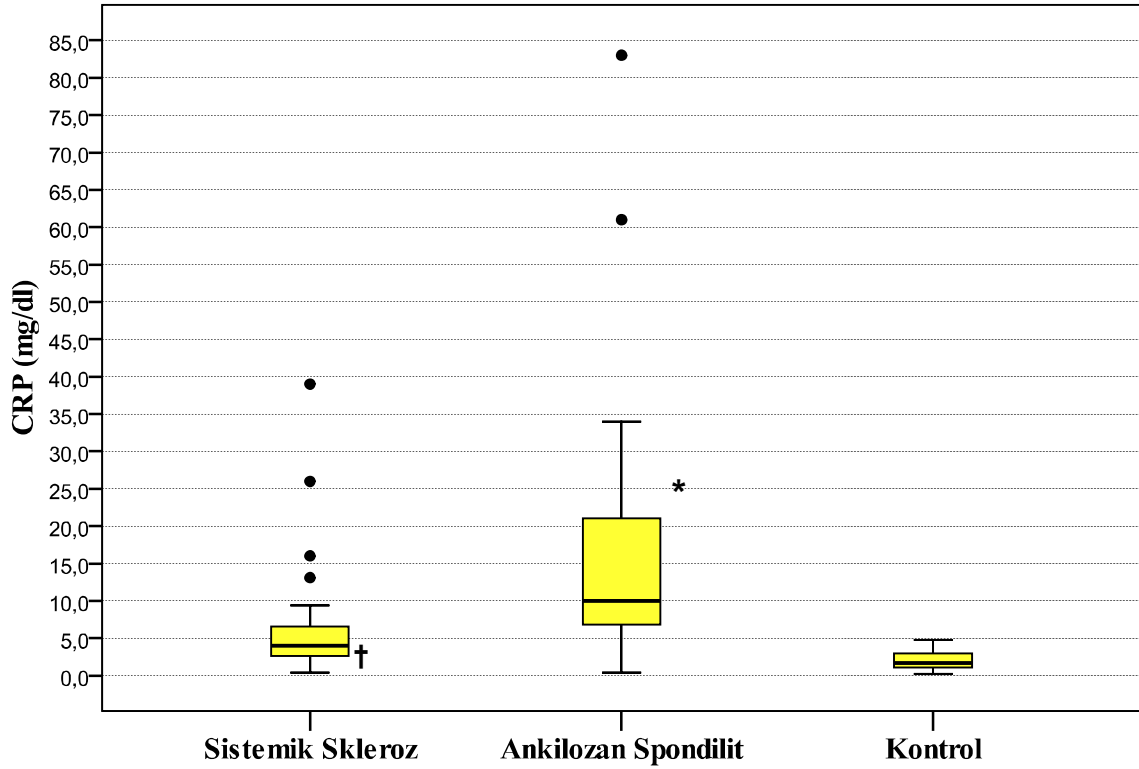
Ankilozan spondilit hastalarının IL-17 düzeyi sağlıklı kontrol ve SSc hasta grubuna göre daha yüksek saptandı ve yükseklik istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.001$). Sağlıklı kontrol grubu ile SSc grubu arasında fark saptanmadı. Grupların IL-17 düzeyleri ve p değeri Tablo-IX’da, grafiksel değerleri Şekil-5’te gösterilmiştir.

Tablo-IX. Grupların IL-17 düzeyi

	Sistemik Skleroz	Ankilozan spondilit	Kontrol	<i>P</i>
--	------------------	---------------------	---------	----------

Şekil-6. Gruplara göre IL-17 düzeyi ve olgu sayıları

Sistemik skleroz, AS ve sağlıklı kontrol gruplarının CRP düzeyleri karşılaştırıldığında; CRP düzeyi AS grubunda diğer 2 gruptan ($p<0,001$) ve SSc hasta grubunda ise sağlıklı kontrolden anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0,001$) (Şekil-7).

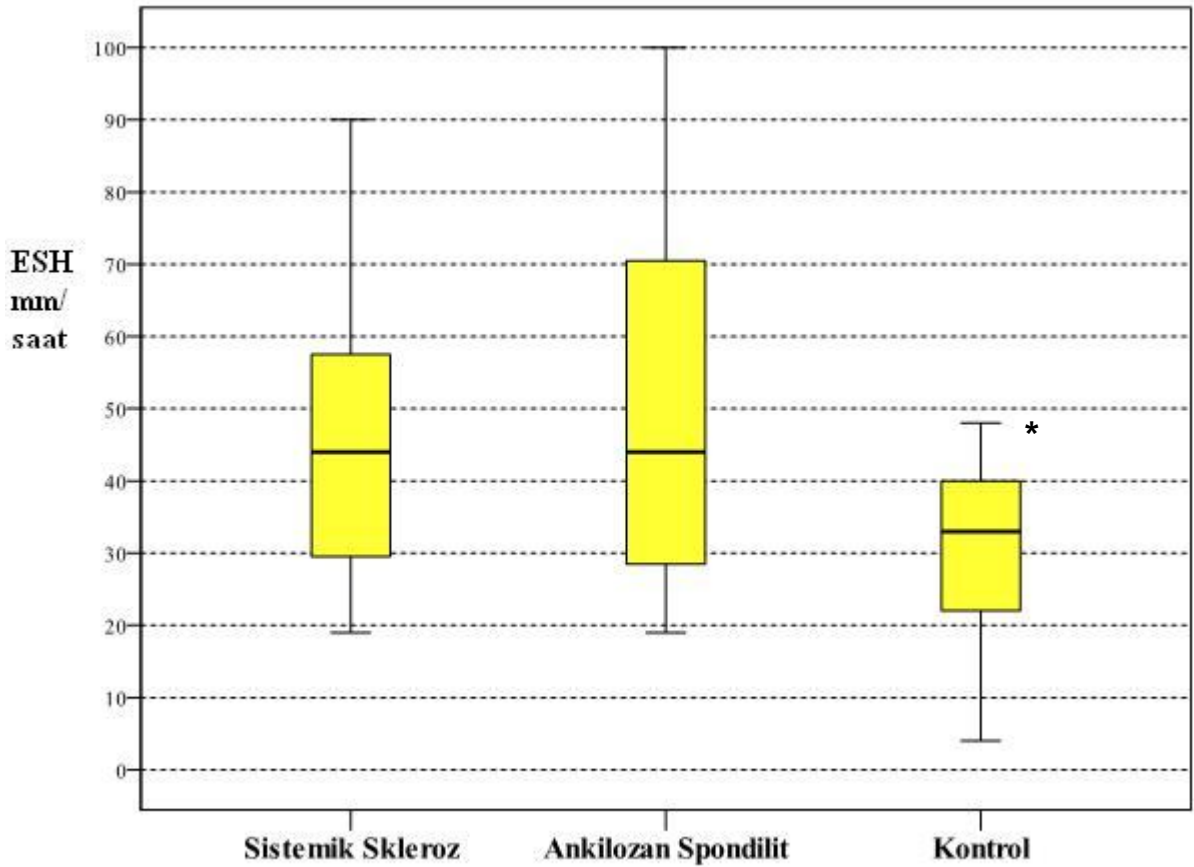


Şekil-7. Grupların CRP ortanca değerleri

*: Ankilozan spondilit ile diğer iki grup arasındaki fark, $p<0,001$,

†: Sistemik Skleroz ile kontrol grubu arasındaki fark, $p<0,001$

Gruplar ESH düzeyleri açısından karşılaştırıldığında SSc grubunda $45,8\pm19,2$ mm/saat, AS'de $48,9\pm23,5$ mm/saat ve sağlıklı kontrol grubunda $29,4\pm13,4$ mm/saat saptandı. Sağlıklı kontrol grubunun ESH düzeyi hasta gruplarına göre istatistiksel olarak daha düşük saptandı ($p=0,013$). Sistemik skleroz ile AS hasta grupları arasında fark gözlenmedi (Şekil-8).



Şekil-8. Grupların ESH ortanca değerleri

*: Kontrol grubu ile hasta grupları arasındaki fark, $p=0,013$

Sistemik skleroz hastalarında IL-6 düzeyi ile yaş ($r=0,185$ $p=0,318$), hastalık süresi ($r=0,160$ $p=0,389$), PAB ($r=-0,199$ $p=0,283$), FVC ($r=0,137$ $p=0,463$), Modifiye Rodnan Cilt Skoru ($r=0,1$ $p=0,591$), CRP ($r=0,200$ $p=0,229$) ve ESH ($r=0,040$ $p=0,813$) değerleri arasında korelasyon saptanmamıştır.

Sistemik skleroz hastalarında YÇBT bulgularına (normal, buzlu cam, fibrozis) göre IL-6 düzeyleri ($p=0,351$), IL-17 düzeyleri ($p=0,944$), PAB düzeyleri ($p=0,702$) PAB skoru (PAB<35 ve PAB>35) ($p=0,651$), FVC düzeyleri ($p=0,528$), CRP düzeyleri ($p=0,401$) Modifiye Rodnan cilt skoru ($p=0,131$) ve ESH (0,331) arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Sistemik skleroz hastalarında ANA tiplerine (anti-Sc170 ve anti-sentromer) göre IL-6 düzeyleri ($p=0,277$), IL-17 düzeyleri ($p=0,914$), PAB düzeyleri ($p=0,412$), PAB skoru (PAB<35 ve PAB>35) ($p=0,842$), FVC değerleri ($p=0,116$) ve CRP düzeyleri (0,292) arasında fark saptanmamıştır. Sistemik sklerozlu ve anti-Sc170 pozitif hastaların Modifiye

Rodnan cilt skoru ($p=0,015$) ve ESH değerleri ($p=0,022$), anti-sentromer pozitif hastalara göre istatistiksel olarak yüksek saptanmıştır.

Sistemik skleroz hastalarında hastalık tipine (diffüz/sınırlı) göre IL-6 düzeyleri ($p=0,728$), IL-17 düzeyleri ($p=0,836$), PAB düzeyleri ($p=0,407$), PAB skoru ($PAB<35$ ve $PAB>35$) ($p=0,293$), FVC değerleri ($p=0,404$), CRP düzeyleri ($0,171$), Modifiye Rodnan cilt Skoru ($p=0,392$) ve ESH değerleri ($p=0,203$) arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Sistemik skleroz hastalarında IL-17 ile yaş ($r=0.049$ $p=0,793$), hastalık süresi ($r=0.092$ $p=0.625$), PAB ($r=0,027$ $p=0,884$), FVC ($r=0,297$ $p=0,105$), Modifiye Rodnan Cilt Skoru ($r=0,272$ $p=0,139$), CRP ($r=0,160$ $p=0,389$) ve ESH ($r=-0,162$ $p=0,384$) değerleri arasında korelasyon gözlenmemiştir.

Sistemik skleroz hastalarında PAB ile FVC arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=-0,227$ $p=0,219$). Sistemik skleroz hastalarında Modifiye Rodnan Cilt Skoru ve FVC arasında negatif korelasyon gözlenmiştir ($r=0,168$ $p=0,366$).

Ankilozan spondilit hastalarında IL-17 düzeyi ile yaş arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0,464$ $p=0,039$). Ankilozan spondilit hastalarında IL-17 düzeyi ile CRP ($r=-0,082$ $p=0,732$) ve ESH ($r=-0,314$ $p=0,178$) değerleri arasında korelasyon saptanmadı.

5. TARTIŞMA

Sistemik skleroz patogenezinde temel basamaklar immün aktivasyon, vaskülopati ve fibrozisdir. Birçok otoimmün hastalıkta olduğu gibi hücreler arasında sitokinler aracılığıyla iletişim olduğu bilinmektedir. Ancak bu sitokinlerden hangilerinin SSc patogenezinin hangi basamağında rol aldığı ve klinik bulguların gelişmesindeki rolü ile ilgili bilinmeyenler vardır.

İnterlökin-6 birçok konnektif doku hastalığında, özellikle hastalığın aktif olduğu dönemde yüksek bulunmuştur (100). IL-6 başta makrofajlar, Th2 hücreler, endotelial hücreler ve fibroblastlardan salgılanarak B hücre aktivasyonu yoluyla antikor oluşumuna, inflamasyonun uyarılmasına, kollojen sentezinin uyarılmasına, T regülatuar hücrelerin inhibisyonuna, Th2 hücre diferansiyasyonuna yol açar ve bu şekilde SSc patogenezinde rol aldığı birçok çalışmayla kanıtlanmış bir sitokindir (101,102). İlave olarak IL-6 hedefli tedavilerin özellikle erken dönem SSc hastalarında faydalı olabileceğine dair görüşler vardır (103).

İnterlökin-17, CD4+ T hücrelerinin bir bölümünün Th17 olarak tanımlanan bir efektör hücreye farklılaşması sonucu, bu hücrelerden salgılanan bir sitokindir (104). Th17 hücrelerinin farklılaşmasını inceleyen Bettelli ve Kuchroo da, bu hücrelerin naif T hücrelerden farklılaşmalarında TGF- β ve IL-6'nın birlikte uyarılmasının etkili olduğunu göstermişlerdir (105). TGF- β tek başına etki ettiği zaman T hücre farklılaşmasını anti-inflamatuvar özellikteki regülatör T hücreleri yönüne doğru ilerletmektedir, IL-6 ile birlikte uyarım sağlandığı zaman ise proinflamatuvar bir T hücre grubunun gelişimini sağlamaktadır. Bu ve diğer başka bulgular, Th17 hücrelerinin regülatör T hücreleri ile birlikte karşılıklı olarak antagonist etkileşimle, immün yanıtı dengelediğini düşündürmektedir (106). Birçok bulgu Th17 hücrelerinin romatoid artrit patogenezinde rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca, Th17 hücrelerinin SLE, psöriyazis, multipl skleroz, sistemik skleroz, inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi otoimmün hastalıklarda da rolü olduğu bilinmektedir (107).

Gourh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, SSc'lu 444 hasta (immünsüpresif tedavi almamış) ve 216 sağlıklı kontrolde, IL-17 ve IL-6 serum seviyeleri de dahil olmak üzere 11 farklı sitokinin serum düzeyleri, hastalık klinik bulguları ve antikor tipi arasındaki ilişki değerlendirilmiş (108). Bu çalışmada SSc hastalarında IL-6, TNF- α ve IFN- γ düzeyinde kontrol grubuna göre anlamlı farklılık saptanmış, ancak IL-17 ve IL-23 düzeylerinde sağlıklı

kontrole göre anlamlı fark bulunmamış, hatta düşük saptanmış. IL-6 serum düzeyi yüksek olan SSc hastaları, düşük olanlarla karşılaştırıldığında anti-Sc170 ve anti-RNA polimeraz-3 düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmış. Ayrıca IL-6 yüksekliğiyle İAH ve PAH arasında pozitif ilişki saptanmış. Bizim çalışmamızda da IL-6 ve IL-17 serum seviyeleri, SSc hastalarında düşük saptandı ve Gourh ve arkadaşlarının çalışmasıyla karşılaştırıldığında, bu çalışmaya dahil edilen SSc hastalarının hastalık süresi (ortalama 6,7 yıl) bizim çalışmamıza benzer şekilde (ortalama hastalık süresi 9,6 yıl) uzun olduğu görülmektedir. Farklılık açısından bakıldığında, bizim çalışmamızın aksine bu çalışmadaki SSc hastalarının hiçbirinin immünsupresif tedavi altında olmamalarıdır. Her iki çalışma birlikte değerlendirildiğinde, IL-17 düzeyiyle SSc hastalık süresi uzunluğu arasında negatif bir ilişki olduğu sonucu çıkmaktadır. Yine her iki çalışma birlikte değerlendirildiğinde IL-6 düzeyinin hastalık süresinin uzunluğundan etkilenmediğini, ancak immünsupresif tedaviden etkilenerek düşük saptandığını görmekteyiz.

İnterlökin-17'nin SSc patogenezindeki yerini araştıran diğer bir çalışma Kurasawa ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmadır (53). Bu çalışmada hastalarda serum IL-17 düzeyi bakılmış ve 16 SSc hastasının 9'unda yüksek saptanırken, 9 SLE hastası ve 12 sağlıklı kontrolde normal bulunmuş. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmış. Bu çalışmaya dahil edilen hastalar, metilprednisolon dışında tedavi almamışlar. Bu çalışmada ayrıca periferik kan lenfositlerinden IL17 ekspresyonunda rol alan mRNA ekspresyonuna bakılmış ve 19 SSc hastasının 11'inde artma saptanırken, 14 SLE hastası, 6 PM/DM hastası ve 14 sağlık kontrolün hiçbirinde artış saptanmamış. Serum IL-17 düzeyi veya T hücrelerinden bakılan mRNA ekspresyonunda yükseklik saptanan SSc hastalarıyla, yükseklik saptanmayan SSc hastalarının arasında anti-sentromer antikor ve anti-Sc170 antikor varlığı, sınırlı ve diffüz cilt tutulumu ve akciğer tutulumu özellikleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamış. IL-17 düzeyi serumda ve/veya mRNA ekspresyonu yüksek olan hastalarda (24 hastanın 13'ünde ortalama hastalık süresi 2,7 yıl), düşük olanlara göre (ortalama hastalık süresi 7,6 yıl) hastalık sürelerinin anlamlı derecede kısa olduğu görülmüş. Bu nedenle hastalık süresi 4 yıldan kısa olan erken dönem SSc hastalarında, IL-17'nin yüksek olduğu sonucuna varılmış. Bizim çalışmamızda serum IL-17 düzeyi açısından, SSc hastalarıyla sağlıklı kontrol grubu arasında fark saptanmadı ve IL-17 düzeyiyle sınırlı yada diffüz kutanöz tip SSc, ANA tipi, YÇBT buguları ve hastalık süresi ile ilişki bulunamadı. Kurasawa ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmayla karşılaştırıldığında, bizim çalışmamızda IL-17 düzeyinin düşük

olmasının nedeninin 31 SSc olgumuzda ortalama hastalık süresinin (9,6 yıl ve 29'unda 4 yıldan daha fazla) uzun olmasının ve tüm SSc hastalarımızın bu çalışma hastalarından farklı olarak immünsüpresif tedavi altında olmasının farklı birer etken olabileceği kanısındayız.

Yukarıda değerlendirdiğimiz 2 çalışmayla kendi çalışmamızı karşılaştırdığımızda, SSc hastalık süresi ve immünsüpresif tedavi almış olmak gibi parametreler değerlendirilen IL-6 ve IL-17 seviyelerini etkileyebildiği görülmektedir. Uzun hastalık süresi ile IL-17 düzeyi arasında negatif bir ilişki varken, IL-6'nın hastalık süresinden etkilenmediği ancak IL-6 ve IL-17'nin immünsüpresif tedavi altında olanlarda daha düşük olabileceği sonucuna vardık. Bazı çalışmalar, naif T hücrelerinden Th17 hücrelerinin farklılaşmasında TGF- β ile beraber IL-6'nın birlikte uyarımının etkili olduğunu bildirmektedir (3,105). Ancak biz çalışmamızda, Gourh ve arkadaşlarının (108) yaptığı çalışmada da olduğu gibi, TGF- β seviyelerini değerlendirmedik. Eğer bu sitokin seviyeleri çalışmaya dahil edilseydi, belkide bu farklı IL-17 ve IL-6 sonuçlarının mekanizmasını açıklamaya katkıda bulunabilirdi. Ayrıca bu çalışmalardaki farklılıklara neden olarak farklı kit ve cihazların kullanılmasının katkısının olabileceği de göz ardı edilmemelidir.

Sistemik skleroz hastalarını içeren bir başka çalışmada, hastalık süresinin ortalama 11 yıl ve 2 aydır metilprenisolon hariç immünsüpresif tedavi almayan 54 hastada, TGF- β ve IL-6'nın dahil olduğu birçok sitokin ve kemokin bakılmış ve klinik bulgularla değerlendirilmiştir (101). Bu hastalarda IL-6 yüksek saptanırken, TGF- β seviyeleri düşük bulunmuş. IL-6'nın cilt skoru ve iç organ fibrozisi ile pozitif korele olduğu tesbit edilmiş. Yine bir diğer çalışmada erken dönem diffüz kutanöz SSc hastalarında (ortalama hastalık süresi 2,1 yıl), IL-6 düzeyi dahil Th2 kaynaklı sitokinler değerlendirilmiş ve yüksek cilt skoruyla beraber IL-6 yüksekliği saptanmış (109). Tüm bu veriler ışığında SSc ile ilişkisi ispatlanmış olan TGF- β , IL-6, IL-17 gibi sitokinlerin hastalığın erken döneminde anahtar rol oynadığını, uzun süren hastalık süresiyle negatif korele olduğunu, bazı ileri evre kabul edilebilecek klinik bulgular (ciltte ve akciğerde fibrozis, pulmoner hipertansiyon) görülmeye başladığında seviyelerinin artmadığı sonucunu çıkartabiliriz. Ayrıca, diğer çalışmalarla karşılaştırdığımızda IL-6 ve IL-17'nin düzeyinin düşük saptanmasında immünsüpresif tedavi alıyor olmanın etkisinin olduğu da düşünülmelidir.

Çalışmamızda ayrıca 20 AS hastasında da IL-6 ve IL-17 düzeyini değerlendirdik ve IL-17'yi sağlıklı kontrol ve SSc hastalarına göre yüksek bulurken, IL-6 seviyelerini düşük

saptadık. AS hastalarının hepsi hastalık aktiviteleri orta yüksek düzeyde olan (BASDAI> 3,2) hastalardı. Literatürde AS hastalarıyla, SSc hastalarının bu iki sitokin seviyeleri yönünden karşılaştırıldığı bir çalışma bulamadık, ancak AS hastalarında IL-17 düzeyi hastalık aktivitesiyle pozitif korele olarak yüksek olduğunu gösteren birçok çalışma vardır (110, 111). Biz çalışmamızda CRP düzeylerini AS hastalarında, SSc hastaları ve kontrole göre anlamlı derecede yüksek saptadık. CRP gibi bir akut faz reaktanının IL-17 ile paralel olarak AS hastalarında yüksek çıkması, hastalığın aktif olduğu dönemde T hücre kaynaklı IL-17'nin salgılandığını düşündürmektedir. Buda CRP seviyeleri AS hastalarına göre düşük olan ve dolayısıyla akut faz yanıtı düşük saptanan SSc hastalarında, akut faz yanıtının yüksek (CRP'nin yüksek) olduğu dönemlerde IL-17'nin yüksek saptanabileceğini ve patogeneze kronik dönemde değilde akut (erken) dönemde rol olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca AS hastalarında IL-6'nın düşük ve IL-17 nin yüksek bulunması, immün sistemde IL-6 ve IL-17'nin birbirinden bağımsız hücre ve sitokin etkileşimleri üzerinden salgılanabileceğini gösterebilir.

Bizim yaptığımız çalışmada, varolan çalışmalarda olduğu gibi SSc sitokin düzeyi ile klinik ve laboratuvar parametreler arasındaki ilişkinin değerlendirmesi, hastalarımızda sitokin düzeyi düşük saptandığından dolayı herhangi bir pozitif yada negatif korelasyon kurulamamıştır. Bu düşük sitokin seviyeleri muhtemelen, daha önce belirtildiği gibi hastalık süresinin uzunluğu ve immünsüpresif tedavi almış olmaları nedeniyle meydana gelmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz diğer sonuçlardan biride ANA tipiyle (anti-sentromer yada anti-Scl70) hastalığın sınırlı yada diffüz kutanöz tip olması, akciğer tutulum paterni, PAB ve FVC arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamasıdır. Sadece anti-Scl70 pozitifliği ile cilt skoru arasında ve ESH arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır, buda anti-Scl70 antikor varlığının cilt fibrozisinin yaygınlığı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Cilt fibrozis düzeyi ve bir inflamasyon belirteci olan ESH yüksekliği, tahmin edilebileceği gibi anti-Scl-70 pozitif olan grupta daha fazla bulundu ve bu bulgu bir başka çalışmayla uyumlu olarak saptandı (112). Bazı çalışmalarda anti-sentromer pozitifliği ile sınırlı kutanöz tip ve akciğer tutulumundan bağımsız Pah arasında ilişki saptanırken (113), biz çalışmamızda akciğer fibrozisi ile PAB arasında ve ANA tipi ile PAH arasında bir ilişki bulamadık.

SSc patogenezinde rol aldığı düşünülen IL-6 ve IL-17'nin dahil olduğu birçok sitokin ve Th1/Th2/Th17/Treg arasındaki ilişkiler ve bunların fibroblast, endotel gibi birçok

hücre üzerinde etkileri ve klinik bulgularla ilişkilerinin olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmıştır (108-114). Bizim çalışmamızın diğer çalışmalara göre farklılığı, tedavi altındayken sitokin düzeylerinin durumunun gözlenmiş olmasıdır. İmmünsüpresif tedavi almayan AS hastalarında IL-17 serum seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur.

Çalışmamızın kısıtlılığını oluşturan nedenler arasında SSc hastalarının hastalık sürelerinin uzun olması, kronik dönem hastaların büyük çoğunluğu oluşturmaları, erken dönem ve hastalık süresi kısa olan hasta sayısının yetersiz olması, hasta ve kontrol grubu sayısının nisbeten az olması sayılabilir. Ancak hastalığın nadir görülmesi nedeniyle bir merkezden kısa sürede yeterli sayıda hasta toplamak çalışmanın zorluğunu oluşturmaktadır. Erken dönem yada yeni tanı hastalarda tedavisizken geniş spektrumda ve farklı doku hücrelerde sitokin düzeylerinin daha hassas olabilecek yöntemlerle bakılması ve sonrasında bu hastaların klinik bulgularının tedavili ve tedavisiz randomize edilerek prospektif takibi yapılması şeklindeki bir araştırmanın sitokinlerin patogenezdaki yerinin tam anlaşılmasına katkıda bulunabileceği kanısındayız. Bu şekildeki bir çalışmanın, hastalığın insidansı göz önüne alındığında çok merkezli olması uygun olabilir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

- Sistemik skleroz ve Ankilozan spondilit hasta grupları ve sağlıklı kontrol grubunda serum IL-6 düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır.
- Sistemik skleroz hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında serum IL-17 düzeyleri arasında fark bulunmamıştır.
- Ankilozan spondilit hastalarında serum IL-17 düzeyi, sağlıklı kontrol ve SSc hasta grubuna göre yüksek saptanmıştır ($p=0.001$).
- C-reaktif protein düzeyleri karşılaştırıldığında, AS grubunda CRP düzeyi diğer 2 gruptan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($P<0,001$).
- Ankilozan spondilit hastalarında yaş ve serum IL-17 düzeyleri arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır ($r=-0,464$ $p=0,039$).
- Sistemik skleroz hastalarında serum IL-6 ve IL-17 düzeyleri ile FVC, PAB, YÇBT, MRCS, ANA tipi, ESH ve CRP düzeyleri arasında ilişki bulunmamıştır.
- Sistemik skleroz hastalarında Modifiye Rodnan Cilt Skoru ile FVC arasında negatif bir korelasyon ($p=0.049$) saptanmıştır.
- Sistemik skleroz hastalarında, anti-Sc170 ve anti-sentromer pozitif hastalar ESH açısından karşılaştırıldığında, anti-Sc170 pozitif hastalarda ESH anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,022$).
- Sistemik skleroz hastalarında PAB ile FVC, MRCS ve YÇBT bulguları arasında korelasyon görülmemiştir.
- Sistemik skleroz hastalarında serum IL-6 ve IL-17'nin düşük saptanmasında hastalık süresinin uzun olması ve hastaların immünsupresif tedavi almış olmaları etkilidir.
- Sistemik skleroz hastalarında sitokin çalışmaları yapılırken, erken dönem yada yeni tanı tedavsisiz hastalarda sadece plazma düzeyinde sitokin düzeyi değİ, ayrıca doku ve

hücre düzeyinde de sitokin bakılması ve klinik bulgularla birlikte değerlendirilmesi, daha sonrasında prospektif olarak aralıklı sitokin ve klinik bulgu takibinin yapılması, anlamlı düzeyde hasta sayısına ulaşılabilme için çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

7.

ÖZET

SİSTEMİK SKLEROZ PATOGENEZİNDE IL-6 VE IL 17’NİN YERİ VE KLİNİK BULGULARLA İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç ve Hipotez: Sistemik skleroz (SSc) patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Ancak sitokinlerin bu otoimmün hastalıkta önemli rol aldığı, T hücre aktivasyonu, otoantikor üretimi sonucu mikrovasküler hasar, inflamasyon ve fibrozisin geliştiği bilinmektedir. Biz bu çalışmada, B hücre aktivasyonunda önemli rolü olan IL-6 ve T hücre aktivasyonunda rol oynayan IL-17 serum düzeyleriyle SSc klinik bulguları arasındaki ilişkiyi saptamayı amaçladık.

Yöntem: Çalışmaya, SSc’lu 31 hasta, ankilozan spondilitli (AS) 20 hasta ve 18 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Tüm hasta ve sağlıklı kontrol grubunda IL-6 ve IL-17 serum seviyeleri ELISA yöntemi ile bakıldı. Tüm olguların ESH, CRP ve demografik özellikleri kaydedildi. Ayrıca SSc hastalarının Anti-Sc170, Anti-sentromer antikorları, solunum fonksiyon testi FVC, PAB değerleri, YÇBT bulguları ve Modifiye Rodnan Cilt Skoru (MRCS) değerleri kaydedildi. Tüm bu veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Sistemik sklerozlu hastalarda IL-6 ve IL-17 serum düzeyleri normal sınırlar içinde bulundu. Sistemik sklerozlu hastalarda ortalama hastalık süresi $9,6 \pm 6,9$ yıl saptandı. Ayrıca SSc hastalarında klinik bulgular ve IL-6 ile IL-17 serum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ankilozan spondilitli hastalarda ise IL-17 ve CRP düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.05$). SSc hastalarında ESH yüksekliği ve MRCS ile anti-Sc170 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki saptandı ($p < 0.05$).

Sonuç: İnterlökin-6 ve IL-17 serum düzeylerinin SSc hastalık patogenezindeki rolünü araştırdığımız çalışmamızda, hasta ve sağlıklı kontrol grupları ile SSc hastaları arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Serum IL-17 seviyeleri sadece AS hastalarında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Bu sonuçların nedeni, SSc hasta grubunda, hastalık süresinin uzun olmasından dolayı fibrozisin inflamasyondan daha hakim olması olabilir. Bu nedenle daha erken evre SSc hastaların, sitokin seviyeleri ve klinik bulgular arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar gereklidir.

Anahtar Kelimeler: IL-6, IL-17, sitokin, sistemik sklerozis

İletişim Adresi: ikbalyilmaz80@gmail.com

8.

ABSTRACT

THE ROLE OF IL-6 AND IL-17 IN PATHOGENESIS OF SYSTEMIC SCLEROSIS AND EVALUATION TO ASSOCIATIONS WITH CLINICAL MANIFESTATIONS

Aim and Hypothesis: The pathogenesis of systemic sclerosis (SSc) remains unknown. However, what is known about this autoimmune disease is the important role of cytokines and T cell activation and auto-antibodies production leading to microvascular damage, inflammation and fibrosis. We aimed to determine the association between the serum levels of IL-6 and IL-17 which plays an important role in B and T cell activation respectively and the clinical manifestations of SSc.

Methods: In this study, 31 SSc patients, 20 ankylosing spondylitis (AS) patients and 18 healthy controls included. IL-6 and IL-17 cytokines levels of all cases were identified by the ELISA methods. All cases ESR, CRP and demographic characteristics were recorded. SSc patients Anti-Sc170, anticentromere, FVC, PAB, HRCT findings and Modified Rodnan Skin Score (MRSS) values were recorded. All these data were statistically compared.

Results: The serum levels of IL-6 and IL-17 were not elevated in SSc patients. Mean disease duration in SSc patients was $9,6 \pm 6,9$ years. No association were found between clinical findings and levels of IL-6 and IL-17 in SSc patients. IL-17 and CRP levels in AS patients were significantly higher ($p < 0.05$). In SSc patients, elevated ESR and MRSS high values were associated with anti-Sc170 positive ($p < 0.05$).

Conclusion: In our study that investigated role of IL-6 and IL-17 levels in the pathogenesis of SSc, no significant difference the serum levels of IL-6 and IL-17 in SSc patients compared to AS patients and healthy controls. Serum IL-17 levels were significantly higher only in AS

patients. In SSc patients, a relationship between the serum levels of IL-6/IL-17 and clinical findings has not been established. The reasons of these results in SSc patients are that longer disease duration and therefore it is more dominant fibrosis than inflammation. Consequently, The studies are needed to evaluate between cytokine levels and clinical findings in early stage of SSc patients.

Key words: IL-6, IL-17, cytokine, systemic sclerosis

Communication adres: ikbalyilmaz80@gmail.com

9.

KAYNAKLAR

1. Denton CP, Black CM. Scleroderma clinical and pathological advances. Best Pract Res Clin Rheumatol 2004;18: 271-90.
2. Varga J. Systemic sclerosis: an update. Bull NYU Hosp Jt Dis 2008;66:198-202.
3. Baraut J, Michel L, Verrecchia F, Farge D. Relationship between cytokine profiles and clinical outcomes in patients with systemic sclerosis. Autoimmunity reviews 2010; 10(2): 65-73.
4. Clements PJ. Systemic sclerosis (scleroderma) and related disorders: clinical aspects. Best Practice & Research Clinical Rheumatology, 2000; 14.(1): 1-16.
5. Chiffhot H, Fautrel B, Sordet C, Chatelus E, Sibilia J. Incidence and prevalence of systemic sclerosis: a systematic literature review. Semin Arthritis Rheum. 2008 Feb;37(4):223-35.
6. Ranque B Mouthon L. Geoepidemiology of systemic sclerosis. Autoimmunity Reviews 2010; (9):311–318
7. Coral-Alvarado P, Pardo AL, Castaño-Rodriguez N, Rojas-Villarraga A, Anaya JM. Systemic sclerosis: a world wide global analysis. Clin Rheumatol. 2009 Jul; 28(7):757-65.
8. Allanore Y, Dieude P, Boileau C. Familial occurrence frequencies and relative risk for systemic sclerosis (scleroderma) in three United States cohorts. Arthritis Rheum 2001;44:1352–62

9. Feghali B, Medsger C, Thomas AW, Timothy M. Analysis of systemic sclerosis in twins reveals low concordance for disease and high concordance for the presence of antinuclear antibodies. *Arthritis & Rheumatism*, 2003, 48.7: 1956-1963.
10. Allanore Y, Dieude P, Boileau C. Genetic background of systemic sclerosis: autoimmune genes take centre stage. *Rheumatology* 2010;49 (2): 203-210
11. Guiducci SB, Cerinic MM. Systemic sclerosis and infections. *Autoimmun Rev* 2008; 8: 36-40.
12. Nietert PJ, Silver RM. Systemic sclerosis: environmental and occupational risk factors. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 520-526.
13. Abraham DJ, Krieg T, Distler J, Distler O. Overview of pathogenesis of systemic sclerosis. *Rheumatology* 2009; 48: iii3–iii7
14. Cerinic MM, Valentini G, Sorano GG, Cuomo G, Fenu L, Generini S, Marongiu F. Blood coagulation, fibrinolysis, and markers of endothelial dysfunction in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2003;32:285-295.
15. Hummers L. Microvascular damage in systemic sclerosis. Detection and monitoring with biomarkers. *Curr Rheumatol Rep* 2006; 8:131-137
16. Rajkumar VS, Howell K, Csiszar K, Denton CP, Black CM, Abraham DJ. 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; 7:1113-1123
17. Vancheeswaran R, Azam A, Black C, Dashwood MR. Localization of endothelin-1 and its binding sites in scleroderma skin. *J Rheumatol* 1994; 21:1268-1276.
18. Harrison NK, Cambrey AD, Myers AR, Southcott AM, Black CM, du Bois RM, Laurent GJ, McNulty RJ. Increased levels of endothelin-1 in bronchoalveolar lavage fluid from patients with systemic sclerosis contribute to fibroblast mitogenic activity in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994; 11:439-445.

19. Yamane K, Miyauchi T, Suzuki N, Yuhara T, Akama T, Suzuki H, Kashiwagi H. Significance of plasma endothelin-1 levels in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1992; 19:1566-1571
20. Del Galdo F, Maul GG, Jiménez SA, Artlett CM. Expression of allograft inflammatory factor 1 in tissues from patients with systemics clerosis and in vitro differential expression of its isoforms in response to transforming growth factor beta. *Arthritis Rheum* 2006; 54:2616-2625.
21. Fleming JN, Nash RA, McLeod DO, Fiorentino DF, Shulman HM, Connolly MK, Molitor JA, Henstorf G, Lafyatis R, Pritchard DK, Adams LD, Furst DE, Schwartz SM. Capillary regeneration in scleroderma: Stem cell therapy reverses phenotype?. *PLoS ONE* 2008; 16(31):e1452.
22. Distler O, Distler JH, Scheid A, Acker T, Hirth A, Rethage J, Michel BA, Gay RE, Müller-Ladner U, Matucci-Cerinic M, Plate KH, Gassmann M, Gay S. Un controlled expression of vascular endothelial growth factor and its receptors leads to insufficient skin angiogenesis in patients with systemic sclerosis. *Circ Res* 2004; 95:109-116
23. Kalogerou A, Gelou E, Mountantonakis S, Settas L, Zafiriou E, Sakkas L. Early T cellactivation in the skin from patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1233-1235.
24. Freemont AJ, HoylandJ, Fielding P, Hodson N, Jayson MI. Studies of the microvascular endothelium in uninvolved skin of patients with systemic sclerosis: Direct evidence for a generalized microangiopathy. *Br J Dermatol* 1992; 126:561-568.
25. Kahari VM, Sandberg M, Kalimo H, Vuorio T, Vuorio E. Identification of fibroblasts responsible for increased collagen production in localized scleroderma by insitu hybridization. *J Invest Dermatol* 1988; 90:664-670
26. Sakkas LI, Xu B, Artlett CM, Altucci P, Abbate G, Valentini G. Oligoclonal T cell expansion in the skin of patients with systemic sclerosis. *J Immunol* 2002; 168:3649-3659.

27. Yurovsky VV, Wigley FM, Wise RA, White B. Skewing of the CD8+ T-cell repertoire in the lungs of patients with systemic sclerosis. *Hum Immunol* 1996; 48(1-2):84-97.
28. Piela TH, Korn JH. Lymphocyte-fibroblast adhesion induced by interferon-gamma. *Cell Immunol* 1988; 114:149-160.
29. Rudnicka L, Majewski S, Blaszczyk M, Skiendzielewska A, Makiela B, Skopinska M, Jablonska S. Adhesion of peripheral blood mononuclear cells to vascular endothelium in patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1992; 35:771-775.
30. York MR, Nagai T, Mangini AJ, Snewin VA, Janssen R, Thole J, Cook HT, Shaw RJ, Young DB. A macrophage marker, siglec-1, is increased on circulating monocytes in patients with systemic sclerosis and induced by type I interferons and Toll-like receptor agonists. *Arthritis Rheum* 2007; 56:1010-1020
31. Wangoo A, Sparer T, Brown IN, Snewin VA, Janssen R, Thole J, Cook HT, Shaw RJ, Young DB. Contribution of Th1 and Th2 cells to protection and pathology in experimental models of granulomatous lung disease. *J Immunol* 2001; 166:3432-3439.
32. Hasegawa M, Fujimoto M, Kikuchi K, Takehara K. Elevated serum levels of interleukin-4 (IL-4), IL-10, and IL-13 in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1997; 24:328-332.
33. Mavali C, Scaletti C, Romagnani P, Carossino AM, Pignone A, Emmi L, Pupilli C, Pizzolo G, Maggi E, Romagnani S. Type 2 helper T cell predominance and high CD30 expression in systemic sclerosis. *Am J Pathol* 1997; 151:1751-1758.
34. Atamas SP, Yurovsky VV, Wise R, Wigley FM, Goter Robinson CJ, Henry P, Alms WJ, White B. Production of type 2 cytokines by CD8+ lung cells is associated with greater decline in pulmonary function in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1168-1178.

35. Luzina IG, Atamas SP, Wise R, Wigley FM, Choi J, Xiao HQ, White B. Occurrence of an activated, profibrotic pattern of gene expression in lung CD8⁺ T cells from SSc patients. *Arthritis Rheum* 2003; 48:2262-2268
36. Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K. Altered blood B lymphocyte homeostasis in systemic sclerosis: expanded naive B cells and diminished but activated B cells. *Arthritis Rheum* 2004; 50:1918–27.
37. Harris ML, Rosen A. Autoimmunity in scleroderma: The origin, pathogenetic role, and clinical significance of autoantibodies. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15:778-784
38. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Åkesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2003; 42:534–40.
39. Casciola-Rosen L, Wigley F, Rosen A. Scleroderma autoantigens are uniquely fragmented by metal-catalyzed oxidation reactions: Implications for pathogenesis. *J Exp Med* 1997; 185:71-79.
40. Zuber JP, Spertini F. Immunological basis of systemic sclerosis. *Rheumatology*, 2006; 45(suppl 3), iii23-iii25.
41. Kraling BM, Maul GG, Jimenez SA. Mononuclear cellular infiltrates in clinically involved skin from patients with systemic sclerosis of recent onset predominantly consist of monocytes/macrophages. *Pathobiology* 1995; 63:48-56.
42. Hamilton RF, Parsley E, Holian A. Alveolar macrophages from systemic sclerosis patients: Evidence for IL-4-mediated phenotype changes. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286:1202-1209.
43. Tamby MC, Chanseaud Y, Guillevin L, Mouthon L. New insights into the pathogenesis of systemic sclerosis. *Autoimmun Rev* 2003; 2: 152-157.
44. Ihn H. Autocrine TGF-beta signaling in the pathogenesis of systemic sclerosis. *J Dermatol Sci* 2008; 49: 103-113.
45. Sakkas LI. New developments in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Autoimmunity* 2005; 38: 113-116.
46. Goldring MB, Krane SM. Modulation by recombinant interleukin 1 of synthesis of types I and III collagens and associated procollagen mRNA levels in cultured human cells. *Journal of Biological Chemistry*, 1997; 262(34), 16724-16729.

47. Postlethwaite AE, Raghow R, Stricklin GP, Poppleton H, Seyer JM, Kang AH. Modulation of fibroblast functions by interleukin 1: increased steady-state accumulation of type I procollagen messenger RNAs and stimulation of other functions but not chemotaxis by human recombinant interleukin 1 alpha and beta. *The Journal of cell biology*, 1988; 106(2): 311-318.
48. Famularo G, Procopio A, Giacomelli R, Danese C, Sacchetti S, Perego MA, Santoni A, Tonietti G. Soluble interleukin-2 receptor, interleukin-2 and interleukin-4 in sera and supernatants from patients with progressive systemic sclerosis. *Clinical & Experimental Immunology* 1990;(81.3) : 368-372.
49. Feghali CA, Bost KL, Boulware DW, Levy LS. Mechanisms of pathogenesis in scleroderma: Overproduction of interleukin 6 by fibroblasts cultured from affected skin sites of patients with scleroderma. *The Journal of rheumatology*, 1992, 19.(8): 1207-1210
50. Sato S, Hasegawa M, Takehara K. Serum levels of interleukin-6 and interleukin-10 correlate with total skin thickness score in patients with systemic sclerosis. *Journal of dermatological science*, 2001, 27.2: 140-144
51. Southcott AM, Jones KP, Li DM, Majumdar S, Cambrey AD, Pantelidis P, et al. Interleukin-8. Differential expression in lone fibrosing alveolitis and systemic sclerosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 1995; 151(5): 1604-1612.
52. Riccieri V, Rinaldi T, Spadaro A, Scrivo R, Ceccarelli F, Franco MD, Taccari E, Valesini G. Interleukin-13 in systemic sclerosis: relationship to nailfold capillaroscopy abnormalities. *Clinical rheumatology*, 2003, 22(2): 102-106.

53. Kurasawa K, Hirose K, Sano H, Endo H, Shinkai H, Nawata Y, Takabayashi K, Iwamoto I. Increased interleukin-17 production in patients with systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism* 43.11 (2000): 2455-2463.
54. Murata M, Fujimoto M, Matsushita T, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Takehara K, Komura K, Sato S. Clinical association of serum interleukin-17 levels in systemic sclerosis: is systemic sclerosis a Th17 disease?. *Journal of dermatological science*, 2008, 50(3): 240-242.
55. Yamakage A, Kikuchi K, Smith EA, LeRoy EC, Trojanowska M. Selective upregulation of platelet-derived growth factor alpha receptors by transforming growth factor beta in scleroderma fibroblasts. *The Journal of experimental medicine* 175.5 (1992): 1227-1234.
56. Yamane K, Ihn H, Kubo M, Tamaki K. Increased transcriptional activities of transforming growth factor β receptors in scleroderma fibroblasts. *Arthritis & Rheumatism*, 2002, 46(9): 2421-2428.
57. Ludwicka A, Ohba T, Trojanowska M, Yamakage A, Strange, C, Smith EA, et al. Elevated levels of platelet derived growth factor and transforming growth factor- β 1 in bronchoalveolar lavage fluid from patients with scleroderma. *Journal of rheumatology* 1995;22 (10): 1876-1883.
58. Holmes A, Abraham DJ, Sa S, Shiwen, X, Black CM, Leask A. CTGF and SMADs, maintenance of scleroderma phenotype is independent of SMAD signaling. *Journal of Biological Chemistry* 2001; 276 (14): 10594-10601.
59. Jelaska A, Korn JH. Role of apoptosis and transforming growth factor β 1 in fibroblast selection and activation in systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism* 2000; 43(10) : 2230-2239.
60. Pober JS. Effects of tumor necrosis factor and related cytokines on vascular endothelial cells. *Tumour necrosis factor and related cytotoxins. CIBA Foundation Sympo-EDITORIAL sium*, 1987; 131: 170-84.

61. Needleman BW, Wigley FM, Stair RW. Interleukin-1, Interleukin-2, Interleukin-4, Interleukin-6, Tumor Necrosis Factor α , and Interferon- γ Levels in Sera from Patients With Scleroderma. *Arthritis & Rheumatism* 1992; 35 (1): 67-72.
62. Kuryliszyn-Moskal A, Klimiuk PA, Sierakowski S. Soluble adhesion molecules (sVCAM-1, sE-selectin), vascular endothelial growth factor (VEGF) and endothelin-1 in patients with systemic sclerosis: relationship to organ systemic involvement. *Clinical rheumatology*, 2005; 24(2), 111-116.
63. Macko RF, Gelber, AC, Young BA, Lowitt MH, White B, Wigley FM, Goldblum SE. Increased circulating concentrations of the counteradhesive proteins SPARC and thrombospondin-1 in systemic sclerosis (scleroderma). Relationship to platelet and endothelial cell activation. *The Journal of rheumatology* 29.12 (2002): 2565-2570.
64. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA Jr, Rowell N, Wollheim F. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15: 202-205.
65. Koenig M, Joyal F, Fritzler MJ, Roussin A, Abrahamowicz M, Boire G, Goulet JR, Rich E, Grodzicky T, Raymond Y, Senécal JL. Autoantibodies and microvascular damage are independent predictive factors for the progression of Raynaud's phenomenon to systemic sclerosis: a twenty-year prospective study of 586 patients, with validation of proposed criteria for early systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2008; 58 (12), 3902–3912 .
66. LeRoy EC, Medsger TA Jr. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001;28:1573–6.
67. Hinchcliff M, Varga J. Systemic sclerosis/scleroderma: a treatable multisystem disease. *Am Fam Physician* 78.8 (2008): 961-8.

68. Siebold J. Scleroderma. In: Harris E, Budd RC, Firestein GS, Genovese MC, Sargent JS, Ruddy S, et al., eds. *Kelley's Textbook of Rheumatology*, 7th ed. Philadelphia, Elsevier, 2005.
69. Valentini G, Silman AJ, Veale D. Assessment of disease activity. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21(3 Suppl 29): 39-41.
70. Eisenberg ME, Nguyen BY, Karnath BM. (2008). Clinical features of systemic sclerosis. *Hospital Physician*, 33.
71. Saigal R, Kansal A, Mittal M, Singh, Y., Ram H. (2010). Raynaud's phenomenon. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 58, 309.
72. Wigley FM, Hummers, LK. Clinical features of systemic sclerosis. In: Hochberg M, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH eds. *Rheumatology*, 3rd ed. Elsevier, 2006.
73. Chang B, Wigley FM, White B, Wise RA. Scleroderma patients with combined pulmonary hypertension and interstitial lung disease. *J Rheumatol* 2003; 30:2398.
74. Murata I, Kihara H, Shinohara S, Ito K. Echocardiographic evaluation of pulmonary arterial hypertension in patients with progressive systemic sclerosis and related syndromes. *Jpn Circ J*. 1992; (56):983–91. [PubMed: 1433824]
75. Battle RW, Davitt MA, Cooper SM, Buckley LM, Leib ES, Beglin PA, Tischler MD. Prevalence of pulmonary hypertension in limited and diffuse scleroderma. *Chest*. 1996; 110:1515–9. [PubMed: 8989070]
76. Mukerjee D, St George D, Coleiro B, Knight C, Denton CP, Davar J, Black CM, Coghlan JG. Prevalence and outcome in systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension: application of a registry approach. *Ann Rheum Dis*. 2003; 62:1088–93. [PubMed: 14583573]
77. Hachulla E, Gressin V, Guillemin L, Carpentier P, Diot E, Sibilia J, et al. Early detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: a French nationwide prospective multicenter study. *Arthritis Rheum*. 2005; 52: 3792–800. [PubMed: 16320330]
78. Highland KB, Silver RM. New developments in scleroderma interstitial lung disease. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17:737.

79. King TE. Jr. Clinical advances in the diagnosis and therapy of the interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:268.
80. The BAL Cooperative Group Steering Committee. Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, idiopathic pulmonary fibrosis, and selected comparison groups. *Am Rev Respir Dis.* 1990; 141:S169–202. [PubMed: 2186681]
81. Clements PJ, Becvar R, Drosos AA, Ghattas L, Gabrielli A. Assessment of gastrointestinal involvement. *Clinical and experimental rheumatology* 2003; 21.3(SUPP/29) : 15-18.
82. Steen VD, Mayes MD, Merkel PA. Assessment of kidney involvement. *Clinical and experimental rheumatology.* 2003. 21(3; 29), S29-S31.
83. Deswal A, Follansbee WP. Cardiac involvement in scleroderma. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 1996; 22(4), 841-860.
84. Randone SB, Serena G, Marco MC. Musculoskeletal involvement in systemic sclerosis." *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 2008; 22(2) : 339-350.
85. Masi AT. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum.* 1980; 23(5): 581–590 1980.
86. Blank N, Max R, Lorenz HM. The role of DMARDs in systemic sclerosis therapy. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45 (3), (42–44) .
87. Milanetti F, Bucha J, Testori A, Burt RK. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for systemic sclerosis. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 2011; 6(1): 16–28.
88. Khanna D. Diagnosis and treatment of systemic and localized scleroderma. *Expert Review of Dermatology*, 2011, 6.3: 287-302.
89. Stratton RJ, Wilson H, Black CM. Pilot study of antithymocyte globulin plus mycophenolate mofetil in recent-onset diffuse scleroderma. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40:84–88.
90. Phumethum V, Jamal S, Johnson SR. Biologic therapy for systemic sclerosis: a systematic review. *The Journal of rheumatology*, 2011; 38(2): 289-296.

91. Thompson AE, Shea B, Welch V, Fenlon D, Pope JE. Calcium channel blockers for Raynaud's phenomenon in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2001;44(8): 1841–1847 .
92. Flavahan NA, Flavahan S, Mitra S, Chotani MA. The vasculopathy of Raynaud's phenomenon and scleroderma. *Rheum. Dis. Clin. North. Am.* 2003; 29: 275–291 .
93. Milio G, Corrado E, Genova C, Amato C, Raimondi F, Almasio PL, Novo S. Iloprost treatment in patients with Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis and the quality of life: a new therapeutic protocol. *Rheumatology* 2006; 45(8):999–1004
94. Kowal-Bielecka O, Landewe, R, Avouac J, Chwiesko S, Miniati I, Czirjak L, et al. EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma. Trials and Research group (EUSTAR). *Annals of the Rheumatic Diseases* 2009 68(5) : 620-628.
95. Phumethum V, Jamal S, Johnson SR. Biologic therapy for systemic sclerosis: a systematic review. *The Journal of rheumatology* 2011; 38(2):289-296.
96. Stratton RJ, Wilson H, Black CM. Pilot study of antithymocyte globulin plus mycophenolate mofetil in recent-onset diffuse scleroderma. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40:84–88.
97. Lee SH, Rubin LJ. Current treatment strategies for pulmonary arterial hypertension. *J Intern Med* 2005; 258:199-215.
98. Penn H, Denton CP. Diagnosis, management and prevention of scleroderma renal disease. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2008; 20(6): 692–696 .
99. Hasegawa M, Takehara K. Potential Immunologic Targets for Treating Fibrosis in Systemic Sclerosis: A Review Focused on Leukocytes and Cytokines. In *Seminars in arthritis and rheumatism* WB Saunders 2012, April.
100. Stuart RA, Littlewood AJ, Maddison PJ, Hall ND. Elevated serum interleukin-6 levels associated with active disease in systemic connective tissue disorders. *Clin Exp Rheumatol* 1995;13: 17-22.

101. Scala E, Pallotta S, Frezzolini A, Abeni D, Barbieri C, Sampogna F, De Pità O, Puddu P, Paganelli R, Russo G. Cytokine and chemokine levels in systemic sclerosis: relationship with cutaneous and internal organ involvement. *Clin Exp Immunol* 2004;138:540-6.
102. Ong V, Nihtyanova S, Black CM, Denton CP. A clinically defined subset of dcSSc is associated with elevated serum IL-6 level [abstract]. *Arthritis Rheum* 2009;60 Suppl:440.
103. Muangchan C, Janet EP. Interleukin 6 in Systemic Sclerosis and Potential Implications for Targeted Therapy. *The Journal of Rheumatology* 2012;39(6): 1120-1124.
104. Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrieli M, Murphy KM. Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. *Immunity*. 2006; 24:677-88
105. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441:235–238
106. Deleuran B, Abraham DJ. Possible implication of the effector CD4+ T-cell subpopulation TH17 in the pathogenesis of systemic scleroderma. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2007; 3:682-3.
107. Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol*. 2007; 148:32-46
108. Gourh P, Arnett FC, Assassi S, Tan FK, Huang M, Diekman L, Mayes MD, Reveille JD, Agarwal SK. Plasma cytokine profiles in systemic sclerosis: associations with autoantibody subsets and clinical manifestations. *Arthritis Res Ther* 2009;11(5): 147.
109. Matsushita T, Hasegawa M, Hamaguchi Y, Takehara K, Sato S. Longitudinal analysis of serum cytokine concentrations in systemic sclerosis: association of interleukin 12 elevation with spontaneous regression of skin sclerosis. *The Journal of rheumatology* 2006; 33(2): 275-284.

110. Wei-Sheng C, Chang YS, Lin KC, Lai CC, Wang SH, Hsiao K, Lee HT, Chen MH, Tsai CY, Chou CT. Association of serum interleukin-17 and interleukin-23 levels with disease activity in Chinese patients with ankylosing spondylitis. *Journal of the Chinese Medical Association* (2012).
111. Wang X, Lin Z, Wei Q, Jiang Y, Gu J. Expression of IL-23 and IL-17 and effect of IL-23 on IL-17 production in ankylosing spondylitis. *Rheumatology international* 2009;29(11): 1343-1347.
112. Steen VD, Donald LP, Thomas AM. Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatism* 1988; 31(2) : 196-203.
113. Steen VD, Thomas AM. Predictors of isolated pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and limited cutaneous involvement. *Arthritis & Rheumatism* 2003; 48(2) : 516-522.
114. Baraut J, Farge D, Jean-Louis F. Cytokines in systemic sclerosis. *Pathologie-biologie* (2012); 60.(2) : 127.