

54712

T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**SİSTEMİK SKLEROZDA İNTERLÖKİN - 1, İNTERLÖKİN - 6,  
SOLUBLE İNTERLÖKİN - 2 RESEPTÖRÜ DÜZEYLERİNİN VE  
LENFOSİT SUBPOPULASYONLARININ İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ : Prof.Dr. Eren ERKEN

Dr. Emel GÜRKAN

ADANA - 1996

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No.</u>
GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
Sistemik Skleroz (SSc).....	2
Lenfosit Subpopulasyonları.....	18
SSc'da Lenfosit Subpopulasyonları.....	20
Sitokinler.....	21
SSc'da Sitokinler.....	26
MATERYAL ve METOD.....	30
BULGULAR.....	37
TARTIŞMA.....	50
SONUÇ.....	63
ÖZET.....	64
KAYNAKLAR.....	65
EKLER.....	74

## **GİRİŞ ve AMAÇ**

Sistemik skleroz (SSc) cilt, eklemler ve iç organları etkileyen akkiz bir bağ dokusu hastalığıdır.

Sistemik sklerozun nispeten az görülen bir hastalık oluşu, belirgin klinik varyasyonlar göstermesi, teşhiste güçlük arzemesi ve sistemik lupus eritematosus, polimiyozit-dermatomyozit gibi yakından ilgili hastalıklarla örtüşen özellikler göstermesi nedeniyle bu hastalığa dair epidemiyolojik çalışmalar sınırlıdır.

Sistemik sklerozun karakteristik vasküler ve doku değişikliklerinin oluşumunda hümorale ve hücresele immün sistemleri rol oynar. Sistemik sklerozlu bir hastada hümorale ve hücresele immün sistemler anormal çalışır. Otoimmün reaksiyonlar sistemik sklerozun belirgin bir özelliğidir. Sistemik sklerozda aşırı T hücre aktivitesine yol açan immün regülasyon kaybının olduğuna dair kanıtlar mevcuttur.

Dolaşımdaki sitokinlerin ve ortama salınmış interlökin-2 reseptörlerinin varlığı, hastalığın en belirgin karakteri olan vasküler ve fibrotik lezyonların oluşumunda sitokin ve lenfokinlerin etkisini, dolayısıyla hücresele immün reaksiyonların devam etmekte olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda sistemik sklerozlu olgularda immün aktivasyonu gösteren serum interlökin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), IL-1 $\beta$ , IL-6 ve soluble interlökin-2 reseptörü (sIL-2R) gibi sitokinler ile CD4, CD8, CD25 gibi lenfosit yüzey aktivasyon belirleyici düzeylerini ölçerek bu parametrelerin hastalık patogenezinin olan katkılarını araştırmayı amaçladık.

Sitokinlerin ve lenfosit aktivasyon belirleyicilerinin hastalık patogenezindeki rolünün anlaşılmasının gelecekte etkili bir sistemik skleroz tedavisinin gelişmesine ışık tutacağı kanısındayız.

## GENEL BİLGİLER

### SİSTEMİK SKLEROZ

#### 1) Tanım

Sistemik skleroz ciltte, küçük arterlerde ve bazı iç organlarda fibrozis ve dejeneratif değişikliklerle karakterize bir bağ dokusu hastalığıdır(1).

Skleroderma terimi Grek skleroz(sert) ve derma(deri) kelimelerinden türemiş olup sistemik sklerozla eş anlamlı kullanılmaktadır(2).

#### 2) Sistemik Sklerozda Terminoloji

Sklerodaktili: El ve ayak parmakları cildinde gerginlik, kalınlaşma ve gode bırakmayan ödem bulunması halidir.

Proksimal Skleroderma: Yüz, boyun, gövde, metakarpofalanjiyal veya metatarsofalanjiyal eklemlerin proksimalinde bilateral, simetrik tipik sklerodermatoz cilt değişiklikleriyle birlikte sklerodaktili bulunmasıdır.

Akroskleroz: Gövde dışında tüm ekstremitelerde sklerodermatoz tutulum olması olarak tanımlanmıştır.

Anormal Deri Pigmentasyonu: Genellikle noktasal veya yama tarzında hipopigmentasyon veya depigmente alanlar içeren hiperpigmentasyon olarak tarif edilmiştir.

Telenjektazi: Basınca solan, basınç bırakıldığında yavaş dolan yüzeysel kan damarlarının gözle görülebilir maküler dilatasyonudur.

Raynaud Fenomeni: Hastanın anamnestik sorgulanmasıyla veya doktorun gözlemiyle tespit edilen, soğuk veya emosyonel uyarılara maruz kalmakla, el parmaklarında ve sıklıkla ayak parmaklarında ortaya çıkan solukluk, siyanoz ve/veya

reaktif hiperemik yanıtın en az iki fazlı renk değişikliğinin bulunmasıdır .

**Bibazilar Pulmoner Fibrozis:** Standart akciğer grafilerinde (primer akciğer hastalığına sekonder olmamak kaydıyla) çoğunlukla akciğer bazallerde bilateral retiküler, lineer veya lineonodular dansitede retiküler patern bulunması olarak tanımlanmıştır (3).

### 3) Epidemiyoloji:

Sistemik skleroz tüm dünyada ve bütün ırklarda görülebilir. Hastalığın başlangıcı genellikle 30-50 yaşları arasında olup yaşla birlikte insidans artar. Kadınlarda erkeklerden üç kat daha sık görülür. Hatta doğurganlık çağındaki kadınlarda bu sıklık daha da artar. Sklerodermanın çocuk yaşlarda görülmesi olağan dışıdır(4). Eldeki çalışmaların birçoğu her yıl milyonda 4 ile 12 kişide skleroderma görüldüğünü ortaya koymaktadır(2). Sistemik skleroz tüm coğrafik yerleşim bölgelerinde ve siyahlarda daha sık olmak üzere tüm ırklarda görülür(2).

Vinilklorür, epoksi rezinleri ve trikloroetilen gibi çevresel toksinlere maruziyet ile sistemik skleroz görülmesi arasında zayıf bağlantılar bulunmuştur. Mesleki olarak silikayla sürekli temas ve mammoplasti nedeniyle silikon kullanımı sonrası sistemik skleroz insidansında artış gözlenmiştir. Ailesel sistemik skleroz olgularına ait seyrek raporlar bildirilmektedir.

HLA fenotiplerinin ayrıntılı çalışılması neticesinde sistemik skleroz veya ilgili klinik alt gruplarında sabit birlikteliklere rastlanmamıştır. Sistemik sklerozlu hasta yakınlarının serumlarında her ne kadar antinükleer antikor (ANA) bulunmuşsa da, serum antisentromer antikor (ACA) gibi daha spesifik serolojik bulguların ailesel insidansında artma tespit edilememiştir(2).

İngiltere'de 1974-85 yılları arasında yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre hastalıktan ölüm hızı erkeklerde milyonda 1, kadınlarda milyonda 4 olarak bulunmuştur (5).

#### 4) Genetik:

Sistemik skleroz seyrek görülen bir hastalık olup bir ailede tesadüfi olarak birden fazla vakanın birarada bulunması olağan dışıdır. Bu konuda yapılmış az sayıda sistematik araştırma bulunmaktadır. Bu araştırmalarda kesin olarak görülmektedir ki sklerodermada genetik faktörler majör sebep değildir. İlginç olarak akrabalarda antinükleer antikor pozitifliği ve kromozomal kırılma (sistemik sklerozda karakteristiktir) gibi immünolojik anormalliklerin görülmesi sıklıktır(5). Bir çalışmada sistemik skleroz hastalarında HLA-DR ve antisentromer antikor ile anti-Scl-70 birlikteliği bulunmamakla beraber, DR1 ve DR5 sıklığında bir artış saptanmıştır(6). Her ne kadar ortak genetik göstergeler tanımlanmamış olsa da, sklerodermalı hastaların asemptomatik yakınlarında kontrollere göre antinükleer antikor bulunma insidansı artmış olarak bulunmuştur (7). Bazı popülasyon çalışmaları sistemik sklerozlu hastalarda DR1, DR3 ve DR5 gibi belli HLA tiplerinin prevalansında artış olduğunu ortaya koymuştur(7).

#### 5) Etyopatogenez:

Sistemik sklerozun karakteristik özelliği kollajen ve diğer bağ dokusu matriks proteinlerinde aşırı birikim olmasıdır.

LeRoy, sklerodermada dermal fibroblastların invitro ortamda aşırı kollajen sentezlediğini ve bu özelliğin normale dönüncüye dek birkaç pasajda sürdüğünü işaret etmiştir. Glikozaminoglikanlar ve fibronektinin de artmış sentezi söz konusudur. Yapılan son çalışmalarda "TGF- $\beta$ " (Transforming growth factor  $\beta$ )'nın kollajen genindeki promotör bölge aktivasyonuna yolaçarak kollajen mRNA transkripsiyonunu artırdığını ortaya koymuştur. TGF- $\beta$  güçlü bir fibroblast mitojen olan "platelet derive büyüme faktörü" (PDGF)'nin otokrin olarak çoğalmasına ve invitro endotel hücre proliferasyonunda inhibisyona neden olur(7,8,9). TGF- $\beta$  integrinlerin açığa çıkmasını hızlandırır ve matrikse adhezyonlarını kolaylaştıracak şekilde hücre yüzeyindeki integrinlerin rölatif oranlarını değiştirir(10). TGF- $\beta$ 'nın

endotel hücre fonksiyonu üzerindeki etkisi sistemik sklerozda görülen mikrovasküler zedelenmede kritik rol oynar(11). TGF- $\beta$  kollajen ve fibronektin oluşumunu artırır, fibroblastlarda kemotaktik migrasyonu stimüle eder ve endotel hücrelerinden vazokonstriktör peptid salınımına neden olur (12,13). TGF- $\beta$  endotel hücre proliferasyonunu inhibe eder, PDGF sentezine yol açar ve PDGF yoluyla fibroblastları stimüle eder(14). Sistemik sklerozlu hastalarda von Willebrand faktör aktivitesi ve Faktör VIII- VWF Ag konsantrasyonları artmış olarak bulunmuştur. Dolaşımdaki trombosit agregatları ile plazma  $\beta$ -tromboglobulin düzeyleri de sistemik sklerozda artmıştır(15,16). Sistemik sklerozlu hastalarda ortak bulgu olan ANA pozitifliği ve bu hastaların dermisinde mononükleer hücre birikimlerinin bulunması skleroderma patogenezinde immün yanıtta bozukluk olduğunu düşündürmektedir. Bunun başka bir kanıtı da kronik GVH (graft vs host) hastalığında skleroderma benzeri lezyonlar bulunmasıdır(7).

Sistemik sklerozlu hastalarda kompleman yollarında aktivasyon olduğu yapılan son çalışmalarda gösterilmiştir (17). Çözünebilir lenfosit ürünleri ve monositler, vasküler endotel ve fibroblastlar üzerindeki etkileri yönünden incelendiğinde, bu tip bir sitokin olan gamma interferonun invitro ortamda fibroblastlarda kollajen sentezini azalttığı gözlenmiştir. İnterlökin 1 fibroblast için mitojenik bir sitokindir. Sistemik sklerozlu hastaların mononükleer hücrelerinde IL-1 inhibitor sentezi tespit edilmiştir. Sistemik sklerozlu hastaların serumlarında lenfotoksin (TNF- $\beta$ ) ve tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) patogeneizde rol oynar. TNF- $\alpha$  invitro ortamda endotel hücre zedelenmesine ve fibroblast proliferasyonuna yol açar(7).

Skleroderma patogenezi kesin olarak bilinmemekle birlikte hastalığın gelişiminde hücre sel immün mekanizmanın oynadığı rolle ilgili ipuçları bulunmaktadır. T hücrelerinin mitojen veya antijenle aktivasyonu sonucu bu hücrelerden interlökin 2 sentezi gerçekleşir. IL-2, reseptörlerine bağlanarak T hücrelerinde antijenden bağımsız proliferasyonu ve ekspansiyonu sağlar. Sistemik

sklerozlu hastaların serumlarında tespit edilen IL-2, skleroderma patogeneğinde T-hücre aktivasyonunu destekleyen bir bulgudur(18).

### **6) Histopatoloji:**

Sistemik sklerozda ciltte kalınlaşma ve gerginlik oluşması, fibronektin ve glikozaminoglikanlar gibi hücre dışı matriks maddelerinin ve kollajenin aşırı birikimi sonucu oluşur. Hastalığın erken dönemlerinde yapılan cilt biyopsilerinde alt dermis ve subkütan dokunun üst kısımlarında perivasküler ve interstisyel lenfosit ve histiosit infiltrasyonu ile birlikte hyalinize kollajen fibrillerinde artış bulunmuştur. Direkt immünofloresan boyama fikir vermez.

Elektron mikroskopide 10-20 nm incelikteki kollajen fibrillerinde ve zemin materyalinde artış görülür. Geç dönemlerde, rete peg kaybı ve deri eklerinin atrofisi ile epidermiste incelmeye göze çarpar(2).

### **7) Sınıflama:**

Skleroderma terimi özellikle dermal fibrozise yol açan lokalize sklerodermayı (morphea), genellikle lokalize olan, ancak sistemik hastalık şeklinde de olabilen juvenil sklerodermayı ve skleroderma benzeri hastalıkları içeren hastalık yelpazesini tanımlar(19).

Sistemik sklerozda cilt ve iç organ tutulumunun derecesi ve hızı hastalar arasında değişkenlik gösterir(4). Skleroderma, sistemik tutulum olmaksızın cilt, subkütan doku ve kas dokusunda tutulumla sınırlı formda da görülebilir. Lokalize skleroderma, genellikle morphea (ciltte tek veya birden fazla endurasyon plaklarının bulunması) veya lineer skleroderma, yüzde veya bir ekstremitayla sınırlı tutulum şeklindedir(4). Lokalize sklerodermanın sistemik sklerozdan farkı lokalize formda Raynaud fenomeni, akroskleroz veya iç organ tutulumunun bulunmamasıdır(19,20).

Lokalize skleroderma morfolojik özelliklerine göre 3 grupta incelenmiştir; morphea, generalize morphea ve lineer skleroderma. Lineer sklerodermada eklem



çizgilerini çaprazlayan ve bazen şiddetli, genellikle hafif tarzda eklem kontraktürlerine yol açan, ciltte lineer, band şeklinde uzantısı bulunan sklerotik alanlar ile karakterizedir(20).

Lineer sklerodermada inflamatuvar ve fibrotik olay subkütan doku ve kası tutabilir. Lineer skleroderma yüzü ve kafatası cildini tuttuğunda fildişi benzeri, deprese görünüme yolaçabilir, bu da "en coup de sabre" olarak tanımlanmıştır(20).

Skleroderma, hastalığı düşündürülen belirti ve bulguların başlangıcından önce Raynaud fenomeninin süresine göre iki alt gruba ayrılır. Sınırlı kutanöz sklerodermada hastalık yüz, boyun, diz ve dirsek distallerini içine alan bölgede ciltte kalınlaşma ile karakterizedir. Bu hastalık önceleri CREST sendromu olarak bilinirdi.

Diffüz kutanöz sklerodermada yüzde, proksimal ve distal ekstremitelerle birlikte gövdede ciltte kalınlaşma görülür(2). Sınırlı kutanöz sklerodermada hastalığın karakteristik semptomları olan ciltte kalsiyum birikintileri, parmaklarda hassas sikatris ve ülserasyonlar, dilate kan damarları (telenjiektazi) özefagus dismotilitesi ile reflü gelişiminden yıllar önce Raynaud fenomeni bulunabilir. Son evrede damar hastalığı sıklıkla yaygın telenjiektazi, ülser, kalsinozis ve pulmoner hipertansiyonla kötüleşir. Diffüz kutanöz sklerodermalı hastaların öyküleri genellikle kısa süreli olup Raynaud fenomeni aniden başlar; ciltleri ödemli ve kaşıntılıdır. Artrit, miyozit ve tendinit sıktır. Ardından fibrotik faz başlar, sırt, bel ve kalçalar dışında cildin büyük bir bölümünü etkileyecek kadar yayılabilir. Hipo veya hiperpigmentasyon görülebilir. Cilt hastalığının hızlı ilerlemesi böbrek yetmezliği (sıklıkla hipertansif renal kriz ile başlar), pulmoner interstisyel, erken kardiyak ve gastrointestinal hastalık risklerinin artmasıyla birlikte görülür.

### **Sınırlı Kutanöz Skleroderma**

- Skleroderma başlangıcından yıllar önce bulunan Raynaud fenomeni
- Yalnızca ekstremitelerdeki eller, yüz, ayaklar ve ön kollar etkilenebilir.
- Hastaların önemli bir bölümünde geç başlayan (10-15 yıl sonra) pulmoner

hipertansiyon gelişir. İnterstisyel akciğer hastalığı, cilt kalsifikasyonları, telenjektazi ve gastrointestinal semptomlar buna eşlik edebilir.

-Antisentromer antikorların prevalansı yüksektir (% 70-80).

-Genellikle kapiller göllenme olmaksızın gelişen dilate tırnak yatağı kapiller urveleri bulunur.

### **Diffüz Kutanöz Skleroderma**

-Cilt değişiklikleri Raynaud fenomeni başladıktan sonraki bir yıl içinde gelişir.

-Gövde ve ekstremitelerde cildi tutulur

-Tendon sürtünme tahrişleri bulunabilir

-Hastaların önemli bir bölümünde erken başlayan interstisyel akciğer hastalığı, oligürik böbrek yetmezliği, diffüz gastrointestinal hastalık ve miyokard hastalığı bulunur.

-Tırnak yatağı kapillerlerinde göllenme olur.

-Hastaların %30'unda skleroderma-70 (Scl-70;topoizomerez-1) antikorları saptanır.

### **Skleroderma Sine Skleroderma**

-Raynaud fenomeni olmayabilir

-Cilt tutulumu yoktur

-Pulmoner fibrozis, skleroderma renal krizi, kalp hastalığı ve gastrointestinal hastalık ile kendini gösterir.

-Antinükleer antikorlar (anti-Scl-70, antisentromer antikor) bulunabilir.

## **8) Klinik Bulgu ve Belirtiler**

Raynaud fenomeni, genellikle el parmaklarında, bazen ayaklarda, nadiren burun, dil ve kulaklarda, soğuk veya duygusal değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkan epizodik, sınırları belirgin iki yada üç fazlı renk değişikliği -Beyaz (iskemi),

daha sonra sıklıkla mavi (staz) ve sonra kırmızı (reaktif hiperemi)- olarak tanımlanabilir(19)

Cilt tutulumundan önce başlayan Raynaud fenomeninin süresi önemlidir. Diffüz kutanöz sklerodermada ve erken iç organ hasarı oluşan hastalarda Raynaud fenomeninin oluşması ve cilt değişikliklerinin ortaya çıkması arasında kısa bir süre olmasına rağmen sınırlı kutanöz formda bu süre yıllarla ifade edilir (7).

### **Cilt Tutulumu:**

Sistemik sklerozda hastalığın en belirleyici özelliği ciltte sklerozdur. Az sayıda hastada cilt tutulumu olmaksızın tipik iç organ tutulumu olabilir. Dermal tutulum 3 fazda tanımlanmıştır. İlk olarak ödematöz faz sıklıkla gergin, şiş parmaklar ile karşımıza çıkar. Hastalığın başlangıç safhasını diğer bağ dokusu hastalıklarından ve karpal tünel sendromundan ayırdetmede tırnak yatağı kapiller mikroskopisi ve antinükleer antikorun varlığı ve tipi yararlıdır. Ciltte gerginlikle karakterize endurasyon fazında, sklerodaktili ve klasik ifadesiz (maske) yüz görünümü ortaya çıkar. Son olarak ciltte yumuşama ile giden atrofik dönem gelir. Parmak uçlarındaki noktasal skarlar sıklıkla parmak ucu destek dokusunun kaybı ile birlikte görülüp hem sınırlı hem de diffüz kutanöz sistemik sklerozda karakteristik bulgudur. Telenjiektaziler sınırlı formda daha belirgin olmak üzere genellikle ellerde ve yüzde bulunur. Kalsinozis parmak uçlarında volar yüzde, metakarpofalanjiyal ve interfalanjiyal eklemler üzerinde olabilir ve ülserasyon gelişebilir. Enduratif faz yıllarca sürebilir ve hasta genellikle bu aşamada bir romatolog tarafından değerlendirilir.

### **Pulmoner Tutulum:**

Sistemik sklerozda pulmoner tutulum sık görülüp, genellikle yavaş ilerler ve pulmoner yetmezliğe yol açabilir(21). Sklerodermada gastrointestinal tutulumdan sonra en sık görülen tutulum akciğerlerdedir. Dispne ve hipoksi interstisyel inflamasyon ve fibroze sekonder olabileceği gibi parankimal akciğer hastalığı olmaksızın pulmoner hipertansiyon sonucu da gelişebilir. Ciddi pulmoner hipertansiyon sıklıkla sınırlı kutanöz formda görülür. Skleroderma böbrek

tutulumdaki tedavide son gelişmelerle birlikte en sık ölüm sebebi sklerodermal akciğer hastalığı olmuştur. En sık görülen yakınma efor dispnesi olup sıklıkla buna kuru öksürük eşlik eder. Akciğer grafileri genellikle diffüz lineer veya nodüler fibrozis alanları içerir. Pulmoner fonksiyon testleri genellikle restriktif akciğer hastalığı ile uyumludur. Akciğer hacimleri ve diffüzyon kapasitesi azalmıştır(7). Akciğer hastalığı ilerledikçe hipoksi ve kor pulmonale görülebilir. Akciğerlerde fibrotik, kistik ve vasküler değişiklikler oluşur. Vasküler bozukluklar intimal proliferasyon, medial hipertrofi ve arteriyollerde miksomatoz değişikliklerle karakterizedir. Postmortem çalışmalar interstisyel fibrozis varlığının sık olduğunu ortaya koymuştur(22).

### **Renal Tutulum:**

Proteinüri, azotemi veya hipertansiyon sistemik sklerozlu hastaların %45'inde bulunur. Sistemik sklerozun etkilediği iç organlardan böbrek hastalığı en yüksek mortaliteye sahip olanıdır. Karakteristik histopatolojik bulgu konsantrik, arkuat ve interlobular arterlerde subendotelyal intimal proliferasyondur. Bir çalışmada sistemik sklerozlu hastalarda mikroalbuminüri görülme sıklığı dermatolojik tutulumu olan fakat vasküler hastalığı olmayan aynı yaştaki hastalara göre daha fazla bulunmuştur(23). Sklerodermada böbrek yetmezliği gelişiminden önce genellikle proteinüri ve hipertansiyon vardır. Sistemik skleroz renal hastalığında yapısal anormalliğe ek olarak Raynaud fenomenine bağlı vazospazm nedeniyle böbrek kortikal kan akımında azalma görülür. Skleroderma renal krizi oluşumundaki risk faktörleri olarak anemi, perikardiyal efüzyon, konjestif kalp yetmezliği ve cilt kalınlaşmasının hızlı ilerlemesi sayılabilir. Sklerodermaya sekonder malign hipertansiyonun patogenezinde renin-anjiyotensin sistemi major rol oynar(7).

### **Gastrointestinal Sistem Tutulumu:**

Sistemik sklerozda en sık görülen iç organ tutulumu gastrointestinal sistemde görülür. Dispepsi ve göğüste yanma, özefajiyal dismotilite ve reflüye sekonder olarak sık görülen semptomlardır. Peristaltik anormallikler gastrik boşalmayı geciktirir ve ince ve kalın barsaklardaki motiliteyi etkiler, bazen psödo-obstrüksiyon veya bakteriyel aşırı üremeye sekonder malabsorpsiyona yol açabilir.

Malabsorpsiyon nadiren pankreatik yetmezlik sonucu da oluşabilir. Primer biliyer siroz genellikle uzun süren kutanöz sistemik skleroz ile birlikte görülür (2,7).

### **Kardiyak Tutulum:**

Sistemik sklerozda kalp tutulumu vasküler hastalık ve fibrozis sonucu oluşan kalp yetmezliği, aritmiler, iletim bozuklukları veya göğüs ağrısı gibi belirtiler gösterir. Weiss ve ark. ektramural koroner arterlerinin normal olduğu olgularda da myokarda zedelenme oluşabildiğini göstermişlerdir(7).

Benzer durum deneysel olarak kan akımının geçici kesilmesiyle oluşturulabilmekle birlikte sklerodermada kalp tutulumunun klasik bulgusu olan kontraksiyon-band nekrozu sonucu ortaya çıkar. Soğuk etkisi ile sol ventriküler disfonksiyonun oluşturulabildiğine dair kuvvetli deliller bulunmuştur. Buna göre soğuk bölgesel perfüzyon defektlerine yol açmaktadır(23,24,25). Sınırlı kutanöz formda myokard tutulumu riski daha az sıklıkta görülür(2).

### **9) Laboratuvar Bulguları:**

**a) Rutin Laboratuvar Testleri:** Sistemik sklerozda eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) yükselebilir. Kronik inflamasyona sekonder anemi sklerodermalılarda aneminin en sık görülen nedenidir. İnce barsaklardaki atoniye sekonder bakteriyel aşırı üreme vitamin B12 ve/veya folik asit eksikliğine yol açabilir. Anemi gastrointestinal kanamaya bağlı demir eksikliği şeklinde de görülebilir. Mikro anjiopatik hemolitik anemi, en sık renal tutulumu olanlarda renal arteriyollerde intravasküler fibrin birikimi sonucu gelişir. Hipergammaglobulinemi (çoğunlukla IgG) hastaların yaklaşık %80'inde bulunur(4).

**b) Otoantikolar:** Antinükleer antikolar sistemik sklerozlu hastaların %90'ında bulunur. Tipik olarak immünofloresan boyamada homojen, benekli ve nükleolar boyanma gösterir. Bu antikolar genellikle komplemanı fikse etmezler (1,26,27). Sklerodermada nükleer boyanma diffüz nükleer noktalanma, antisentromer antikör ile iri benekli ve nükleolar boyanma paternleri gösterir. İmmünfloresansta substrat olarak organ dokuları kullanıldığında antisentromer ve antinükleolar antikolar gözden kaçabilir. Nükleolar immünfloresans skleroderma

olasılığını kuvvetle düşündürmelidir, çünkü hücrenin bu bölgesini hedef alan antikoları diğer konnektif doku hastalıklarında görmek mutad değildir. Sklerodermalı hastaların serumları genellikle U3, Th Sno RNP ve RNA polimeraz I gibi nükleolar komponentleri tanır. Bu grup otoantikoların tümü skleroderma ile birlikte bulunur ve hastalığın değişik bulgularını belirleyici rol oynar(27). Morphea'lı hastaların %50'sinde homojen veya benekli nükleer boyanma gösterebilen antinükleer antikoların pozitifliği gösterilmiştir.

Sistemik sklerozda anti-DNA bulunmaz veya oldukça düşük titrededir. Kural olarak bu hastalarda anti-Sm bulunmaz ve sadece %20 kadarında antinükleer ribonükleoprotein antikoru bulunur. Hastaların yaklaşık %30'unda romatoid faktör pozitifliği tespit edilmiştir. Sklerodermalı hastaların %20-40'ında 70 kD'luk eriyebilen bir nükleer antijen olan Scl-70'e karşı serum antikoru pozitifdir. DNA topoizomeraz I olarak da adlandırılan bu antijen, transkripsiyon öncesi DNA sarmalının çözünmesinde rol alan bir enzim olup, sentromer ve diğer hücre içi lokalizasyonlarda bulunur(2). Anti-SSA antikoları sklerodermalı hastalarda %5 oranında bulunabilir. Anti-SSB antikoları bu olgularda gösterilememiştir. Anti-SSA ve/veya anti-SSB skleroderma ile sjögren sendromunun birlikte görüldüğü örtüşme (overlap) durumunda görülebilir(4). Sistemik sklerozlu hastalar nükleer, nükleolar ve mitokondriyal antijenlere karşı spontan olarak otoantikolar üretirler (26,28). Antisentromer antikolar sistemik sklerozlu hastaların %25-55'inde bulunur(29). Doku kültür substratları kullanılarak yapılan indirekt immünofloresan çalışmalarda antisentromer antikoları interfaz çekirdeğinde kaba, benekli patern, metafaz nükleusunda ise sentromerik birikim gösterir(2). Antisentromer antikoları sınırlı kutanöz sistemik skleroz (CREST) sendromuyla birlikte bulunur(26,28). Antisentromer pozitifliği olan sınırlı kutanöz sistemik sklerozlu hastalar periferik vasküler oklusif hastalık için artmış risk grubundadır.

Tablo 1. Sistemik Sklerozda Antinükleer Antikorları Özellikleri (26)

İmmünofloresans	Reaktif antijenin karakteri
-Diffüz ince benekli	-Scl-70-70.000 dalton ağırlığında nonhiston nükleer protein
-Seyrek kaba benekli	-Bilinmiyor
-Nükleolar	-Birden fazla antijen; bunlardan bir tanesi 4-6S nükleolus spesifik RNA'dır
-Sentromer	-Sentromerik DNA'ya sıkıca bağlı proteindir

**10) Ayırıcı Tanı:** Konnektif doku hastalıkları cilt, akciğerler, gastrointestinal sistem, serozal yüzeyler, eklemler, iskelet kası, kalp ve santral sinir sistemi gibi çeşitli organlarda değişik derecelerde immün-inflamatuvar, proliferatif veya fibrotik-atrofik değişikliklerle giden bozukluklardır(30). Tipik cilt lezyonları ve viseral tutulum ile Raynaud fenomeninin varlığında sistemik skleroz tanısı koymak zorluk arzemez. Her ne kadar Raynaud fenomeni sistemik sklerozun ilk semptomu olsa da, sadece Raynaud fenomeni olan birçok hastada bağ dokusu hastalığı gelişmez. Skleroderma benzeri bulgulara neden olan hastalıklar tablo 2'de görülmektedir(2).

**Tablo 2. Skleroderma Benzeri Bulgulara Neden Olan Hastalıklar**

---

**I- Ellerde cilt kalınlaşması ile karakterize hastalıklar**

Bleomisin kullanımına bağlı skleroderma

Diabetes mellitusun dijital sklerozu

Kronik refleks sempatik distrofi

Mycosis fungoides

Vibrasyon hastalığı

Amiloidosis

Erişkin çölyak hastalığı

Akrodermatitis chronica atrophicans

**II- Eller hariç generalize cilt kalınlaşması olan hastalıklar**

Skleroderma adultorum of Buschke

Skleromiksödem

Eosinofilik fasciitis

Generalize subkütan morphea

Pentazosine bağlı skleroderma

Graft vs host hastalığı

Silikaya bağlı skleroderma

**III- Asimetrik cilt değişiklikleriyle giden hastalıklar**

Morphea

Lineer skleroderma

Coup de sabre

**IV- Benzer iç organ tutulumu yapan hastalıklar**

Primer pulmoner hipertansiyon

Primer biliyer siroz

İnfiltratif kardiyomyopati

İntestinal psödo-obstrüksiyon

Kollagenaz kolitis

İdiopatik pulmoner fibrozis

---



Skleredema (scleredema adultorum Buschke) ve skleromiksödem (papular mucinosis, lichen miksedematosus) klinik olarak sklerodermaya benzeyen, dermiste kollajen ve proteoglikan birikimine yol açarak ciltte kalınlaşmaya ve endurasyona neden olan, sklerodermadan ayrı bir bağ dokusu hastalığıdır. Cilt tutulumu yüz ve boyundan ekstremitelere uzanır, fakat eller ve parmaklar tutulmaz. Bununla birlikte iç organ tutulumunun ve Raynaud fenomeninin olmaması ile sistemik sklerozdan ayırılır.

Eosinofilik fasciitis derin fasyanın inflamasyonu ve kalınlaşması ile karakterize sklerodermaya benzerlik gösteren bir bozukluktur. Komşu iskelet kası tutulumu olabilir ve alt dermis tabakası ile cilt altı bölgeye yayılım sık görülür. Başlangıç daha çok erkeklerde, aşırı fizik aktivite ve travmayı izleyen dönemde olur. Ekstremitelerde hızlı başlayan ağrı ve şişliği takiben ön kol, bacaklar, bazen eller, ayak ve gövde cildinin ve cilt altı dokusunun progresif endurasyonu oluşur. Sistemik sklerozdaki Raynaud fenomeni ve iç organ tutulumu bu hastalıkta yoktur (2,7,31).

### 11) Tedavi:

Sistemik skleroz romatizmal hastalıklar arasında patogenezi en az anlaşılmışlardan biridir. Diffüz sistemik sklerozun erken dönemindeki hastalarda sklerodermal cilt kalınlaşmasının hızlı ilerlemesi daha sık görülür. Bu hastalarda yeni iç organ tutulumu gelişme riski yüksektir(4,28). Sınırlı hastalığın klinik özelliklerinin spontan olarak gerilemesi mümkün olsa bile tam remisyon nadirdir.

Sistemik skleroz tedavisinde etkinliği kanıtlanmış bir ilaç terapisi yoktur. Glukokortikoidlerin sistemik sklerozun ilerlemesini yavaşlatıcı bir etkisi bulunmaz. Sistemik skleroz ile overlap olan inflamatuvar myozitis ve interstisyel akciğer hastalığının inflamatuvar dönemlerinde glukokortikoidler yararlı olabilir. Kısa süreli düşük doz glukokortikoid tedavisi erken ödematöz sklerodermada artralji ve myaljileri düzeltmekte ve ağrılı tendon tutulumlarında palyatif yarar sağlar.

İmmünespresif ajanlarla yapılan çalışmalarda henüz somut yarar elde edilmemiştir(32). Aferezin sistemik sklerozlu hastalarda efektif olduğu iddia edilmiş olsa da bu konuda henüz yeterli çalışma bulunmamaktadır.

Kolşisin mikrotübül transportunu engelleyerek prokollajenin kollajene dönüşümünü, dolayısıyla kollajen birikimini önleyen bir terapeetik ajandır. Kolşisinin sklerodermanın sistemik etkilerini tedavide rolü olmadığı çeşitli çalışmalarla ortaya koyulmuştur(4,28).

Sistemik skleroz tedavisinde kullanılan bir diğer ajan olan D-penisilamin, kollajenin inter ve intramoleküler çapraz bağ yapımını engeller. Aynı zamanda immün supresif etkiye de sahiptir(28). Bu ikinci etkisiyle kollajen sentezinde azalmaya neden olur. Kontrolsüz yapılan bazı çalışmalarda D- penisilaminin cilt kalınlaşmasını azalttığı ve belirgin organ tutulumu gelişmesini önlediği öne sürülmüştür(33).

Sistemik sklerozlu hastaların tümü Raynaud fenomeninden yakınır. Raynaud fenomeninin ortaya çıkmasının önlenmesi vazospazmın kontrolü ile sağlanır. Hafif semptomlar soğuğa maruz kalmaktan kaçınma, ekstremiteleri sıcak tutma ve eldiven-çorap kullanımı gibi pratik yaklaşımlarla kontrol altına alınabilir. Sigara içilmesi kesinlikle yasaklanmalıdır. İlaç tedavisi ciddi semptomları olan hastalar için kullanılmalıdır. Kalsiyum kanal blokerleri özellikle yavaş salımlı nifedipin oldukça efektiftir. Nifedipin ve diltiazem gibi ilaçlar Raynaud fenomenini ortadan kaldırmada yararlı olsa bile, baş dönmesi, palpasyon, başağrısı gibi yan etkileri kullanımlarını sınırlar. Hastalar amfetamin, ergotamin, beta blokerlerin kullanımından kaçınmalıdır. Rezerpin, alfa-metil dopa, fenoksibenzamin, prazosin gibi sempatik vazokonstriksiyonu bloke eden ilaçlar ve nitrogliserin Raynaud fenomenini kontrol altına almada yardımcıdır. Oral serotonin antagonisti olan ketanserin de bu konuda etkili olduğu bildirilmiştir. Raynaud fenomeni için uygulanan herhangi bir tedaviye yanıt dijital arterlerde varolan yapısal darlığın derecesi ile sınırlıdır. Distal parmakların gangreni oluşabilir ve cerrahi amputasyon

gerekebilir. Cerrahi sempatektomi genellikle geçici iyilik hali sağlar ve vasküler lezyonların ilerlemesini önlemez.

Sklerodermalı hastalarda gastrointestinal yakınmalar sıklıkla görülür. Disfaji ve gastroözefajiyal reflü semptomları geliştiğinde yatak başının elevasyonu, alkol ve kafeinli içeceklerden kaçınma, sık ve az miktarda gıda alımı gibi basit önlemler alınmalıdır. Reflü özefajiti antasitler, proton pompası inhibitörleri (omeprazol gibi) veya cimetidine, ranitidine gibi H<sub>2</sub> reseptör antagonistleriyle ve sukralfat ile tedavi edilebilir. İnce barsak dismotilitesinden kaynaklanan abdominal semptomları gidermede diyetteki yağ miktarının ve posalı gıdaların azaltılması yardımcı olur. Sklerodermanın ileri evrelerinde malabsorpsiyon gelişen hastalarda intermitan uygun antibiyotik kullanımı önerilir. Debilite edici malabsorpsiyonu olanlarda parenteral hiperalimentasyona geçilebilir(34).

Pulmoner semptomların kontrolünde antireflü rejimleriyle aspirasyonun önlenmesi, wheezing olanlarda bronkodilatör ilaç kullanımı, yıllık influenza aşısı, solunum yolu enfeksiyonlarının erken tedavisi, sigara içiminden kaçınılması gibi genel önlemler çok önemlidir. Bronkoalveolar lavaj veya yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi ile tespit edilen inflamatuvar alveoliti olan hastalarda günlük 30-40 mg prednizon ve 750-1000 mg intravenöz bolus siklofosfamid tedavisi uygulanabilir. İnterstisyel pulmoner fibrozis veya pulmoner hipertansiyon tedavisinde etkinliği ispatlanmış bir yöntem yoktur. İleri evre hastalarda destekleyici önlemlerle birlikte akciğer veya kalp-akciğer transplantasyonu düşünülmelidir.

Sistemik sklerozda malign hipertansiyon, mikroanjiopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve hızlı ilerleyen progresif böbrek yetmezliği ile karakterize renal kriz ciddi, yaşamı tehdit eden bir komplikasyondur. Kaptopril ve enalapril gibi anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleriyle hipertansiyonun hemen, agresif tedavisi klinik önem taşır. Maksimum ACE inhibitörü dozuna yanıt vermeyen olgularda minoksidil kullanılabilir. Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda hemodiyaliz(veya periton diyalizi)veya transplantasyon umut vaatmektedir (34,35).

## 12) Prognoz

Sistemik sklerozda klinik seyir oldukça değişkenlik gösterir. Hastalığın subgruplarından biri olarak tanı konuluncaya dek, erken dönemde prognozu tayin etmek güçtür. Sınırlı kutanöz sklerodermada özellikle ACA+ olanlar daha iyi prognoza sahiptir, fakat %10'dan daha az sayıda hastada 10-20 yıl sonra pulmoner arteriyel hipertansiyon gelişebilir. Bazı skleroderma hastalarında malabsorpsiyon ve primer biliyer siroz morbidite ve mortalite nedenidir. Hastalığın başlangıcı geç dönemde olan diffüz sistemik sklerozlu hastalarda ve erkeklerde prognoz daha kötüdür. Hızlı ilerleyen generalize cilt kalınlaşması olan olgularda böbrek ve diğer iç organ hastalıkları erken dönemde ortaya çıkabilir. Ölüm genellikle kardiyak, renal veya pulmoner tutulumdan dolayı olur(4). Genellikle tanı konulduktan sonra 10 yıllık yaşam olasılığı %50'nin altındadır (28).

### Lenfosit Subpopulasyonları

Kandaki normal lenfositlerde B ve T lenfositlerin ayrıntılı olarak tayin edilmesini sağlayan ve monoklonal antikolar yardımıyla lazer tabanlı akım sitometrisi kullanılarak tespit edilen hücre yüzey belirleyicileri bulunmaktadır. Uluslararası Lökosit Farklılaşma Antijenleri çalışma grubu birçok monoklonal antikoları "cluster of differentiation" adı altında toplanmıştır. Lenfositlerin monoklonal antikor reaktivitesinin CD birimleri olarak analizi, hücre yüzey antijenleri alt gruplarının tanımlanmasını oldukça kolaylaştırmıştır(36).

T lenfositler immün yanıtları inhibe veya stimüle edici özellikler taşıyan düzenleyici hücreler popülasyonudur.

Timusta prekürsör timositlerin olgunlaşmasıyla ortaya çıkan olgun timositlerle dolaşımdaki T hücre subpopulasyonlarının sentezi ve ekspresyonu monoklonal antikolar kullanılarak gösterilmiştir. Timositler başlangıçta olgunlaşmamış timosit

(evre I) fazında bulunur. Tipik olarak CD7, CD45 ve %50'si CD2 ekspres eder. Evre II timositlerde (timusta iç kortekste) CD7, CD1, CD2, CD4 ve CD8 antijenleri açığa çıkar. Terminal dönemde (evre III) farklılaşmış timositler CD7, CD2, CD3, T hücre antijen reseptör ve CD4 veya CD8 antijeni taşırlar. Bu T hücre yüzey antijenleri T hücre fonksiyonlarında kritik öneme sahiptir.

İnsanda otoimmün ve bazı immün yetmezlik hastalıklarında patogeneizde lenfositlerin sayı veya fonksiyon anormalliklerin rol oynadığı gösterilmiştir.

**CD8:** Dolaşımdaki T lenfositlerin %25-35'inde pozitiftir. CD8 34 kD homodimerinden oluşan bir glikoproteindir. CD8 molekülleri diğer hücrelerdeki klas I (HLA) determinantlarını tanırlar ve reaksiyona girerler. Böylece CD8, hücresel bağlantıları stabil hale getirir ve T hücre proliferasyon ve sitotoksitesini kolaylaştırır(36).

**CD4:** Kandaki normal T hücrelerinin yaklaşık 2/3'ünde bulunan 55-62 kD ağırlığında bir hücre yüzey glikoproteindir. CD4 HLA klas II antijenlerinin sabit kısmı için reseptör görevi yapar CD4 molekülleri T helper aktivasyonunu kolaylaştırırlar ve regülasyonunu sağlarlar.

**CD25:** Bu antijen bir hücre yüzeyi IL-2 reseptörüdür. CD25 hem aktive T hücrelerde hem de B hücrelerde bulunur ve antijenle indükte edilmiş proliferasyonda anahtar rolü oynar. IL-2 reseptörünün düşük ve yüksek afiniteli iki tipi bulunur. Antijen T hücresine bağlandıktan sonra T hücre çoğalması için hücre içi reaksiyon kaskatı başlar. Yüksek ve düşük afiniteli IL-2 reseptörünün geçici olarak ortaya çıkması da bu kaskat içinde yer alır. IL-2'nin yüksek afiniteli IL-2 R'ne bağlanması, IL-2 ile indüklenmiş hücre proliferasyonu için şarttır. Düşük afiniteli IL-2R'nin fonksiyonu henüz bilinmemektedir(36).

### **Sistemik Sklerozda Lenfosit Subpopulasyonları:**

Sistemik skleroz sebebi bilinmeyen bir bağ dokusu hastalığı olup, immünolojik bozukluklar sıklıkla görülmektedir. Skleroderma patogeneğinde dolaşımdaki lenfositlerin rolü üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Deri antijenlerine karşı hücresele immün yanıtın diffüz skleroderma patogeneğinde bir faktör olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir(37,38).

Sistemik sklerozlu olgularda total periferik lenfosit sayımları tipik olarak normal veya hafif azalmıştır. T lenfosit subpopulasyonlarının analizinde CD4+ (T helper) hücre elemanlarında CD8+ (T supressor) hücrelerindeki mutlak azalmaya bağlı rölatif bir artış gözlenmiştir. Plazmada çözünür halde bulunan CD8 molekül düzeyinde artış tespit edilmiş olup bunda CD8 populasyonundaki aktivasyonun veya artmış turnoverın rolü olduğu sanılmaktadır(2).

Araştırmaların büyük bir kısmı sistemik sklerozda sistemik hücresele immün fonksiyonların azaldığını bildirmiştir. Bu çalışmalarda sistemik sklerozlu hastalarda periferik kan mononükleer hücrelerin mitojenlere yanıtının, T lenfosit koloni formasyonunun, NK(natural killer) hücre aktivitesinin ve primer test antijenlerine olan antikor yanıtlarının azaldığını göstermektedir. Her ne kadar yapılan diğer çalışmalarda sistemik sklerozlu hastalarda bu immün yanıtların normal olduğu söylenmişse de, immün yanıtta gözlenen azalma supresor monosit aktivitesinde artışa veya T lenfosit populasyonundaki azalmaya ve/veya dengesizliğe bağlanmıştır(16).

Üzerinde uzlaşma sağlanan bir çalışmada, sistemik sklerozda dolaşımdaki T lenfositlerin sayıca azaldığı üzerine olmuştur. OKT4-OKT8 monoklonal antikorları ve IgM ve IgG'ye karşı T lenfosit-Fc reseptörleri kullanılarak ölçülen T-helper/ T-supressor oranlarında sistemik sklerozda bazen T helper hücrelerinde azalma veya artma bazen de T supressor hücrelerinde artma veya azalma gösterilmiştir. Bu çelişkili bulguların nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte immünolojik anormalliklerin farklılık gösterdiğini düşündürmektedir (16).

Supressor-inducer T hücrelerinin kaybı daha çok sınırlı kutanöz sistemik sklerozlu hastaların ileri evrelerinde gözlenmiştir(39). CD8 supressor / sitotoksik T hücreleri sistemik sklerozlu hastalarda azalmış olarak bulunmuştur (39).CD4+ T hücreleri sistemik sklerozlu hastalarda rölatif olarak artmıştır(39,40,41,42,43). CD4+ subpopulasyonunda CD4/4B4+ (inducer of helper) hücre oranında azalma, CD4/2H4+ (inducer of supressor) hücre oranlarında ise artış gösterilmiştir(36,44). T hücre fonksiyonları sistemik sklerozlu hastaların dolaşımlarında belirgin olarak azalmakla birlikte invitro çalışmalarda helper T hücre fonksiyonunun arttığı gözlenmiştir.Sistemik sklerozda özellikle erken diffüz formda dolaşımdaki NK (natural killer) hücrelerin hem sayıca hem de fonksiyonel olarak aktivitesi azalmıştır. Sklerodermal lezyonlarda NK hücrelerde sayıca artış olup bu da dolaşımdaki NK hücre havuzunda daralmaya yol açar (45).

CD25 + T lenfositlerin oranı sistemik sklerozda hafif artış göstermektedir (2,44).

## **SİTOKİNLER**

Son 10-20 yıl içinde temel fen bilimlerindeki en önemli ilerleme hücrelerin birbiriyle olan iletişimlerinin anlaşılması olmuştur. Normal fonksiyon gören, gelişmesini tamamlamış organizmada olduğu gibi embriyogenezde de kanda çözünür halde bulunan moleküller hücreler arasında bilgi alışverişini sağlar. Spesifik uyarılar sonucu orijin hücrelerden salınan bu moleküller, gen ekspresyonu üzerinde pozitif veya negatif etki göstererek hedef hücrelerin uyarıya yanıtları ve fonksiyonlarını ölçerler. Normal fizyolojideki önemine ek olarak, bu polipeptidlerin fazla salınması veya kontrol altına alınamaması insanda otoimmün veya inflamatuvar birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynar(46). Hücre iletişimi sağlayan bu moleküller interlökinler(IL), interferonlar(IFN), büyüme faktörleri ve koloni stimüle edici faktörlerdir. Sitokinler hücrelerde salınan faktörlere verilen genel bir isimdir. Bu hücre orijini lenfositlerden alıyorsa lenfokin, monositlerden alıyorsa monokin olarak tanımlanır. Tablo 3'de sitokinler ve biyolojik aktiviteleri görülmektedir.

Tablo 3. Sitokinler ve Biyolojik Aktiviteleri (30)

Sitokin	Orijin Aldığı Hücre			Aktivite
	T	Makrofaj	Diğer	
İnterlökin-1 $\alpha$ ve $\beta$		+	+	Ateş; kemik rezorpsiyonu PG salınımı; makrofaj ve T lenfositlerde sitokin sentezini uyarır; B ve T hücre proliferasyonunu sağlar.
İnterlökin-2	+			Sitotoksik T ve NK hücreleri aktive eder. T ve NK hücre proliferasyon, T ve LAK hücre farklılaşmasını sağlar. B hücre proliferasyonu ve antikor sekresyonunun stimülasyonu
İnterlökin-3	+			Mast hücre ve pre B hücrelerin proliferasyonu;stem hücrelerin farklılaşması
İnterlökin-4	+		+	İstirahat halindeki, B hücrelerin ve makrofajların aktivasyonuna ve LPS ile aktive B hücrelerinin IgG ve IgE sekresyonuna yol açar. T ve mast hücrelerin proliferasyonunu stimüle eder. Monositlerde TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6'yı suprese eder.
İnterlökin-5	+			LPS ile aktive B hücrelerden IgA sentezi ve IgM sekresyonunu indükte eder. Eosinofil proliferasyonunu ve sitotoksik T hücre farklılaşmasını sağlar
İnterlökin-6	+	+	+	Antikor sekresyonunu sitotoksik T hücre farklılaşmasını ve megakaryositlerin proliferasyonunu sağlar. Myeloma hücre büyümesine katkıda bulunur.



Sitokin	Orijin Aldığı Hücre			Aktivite
	T	Makrofaj	Diğer	
İnterlökin-7			Timik hücreler	Pre-B hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması; timositlerin proliferasyonunu sağlar.
İnterlökin-8		+		Nötrofil ve T hücre kemotaksını sağlar
İnterlökin-9	+			T helper hücre klonlarının büyümesini sağlar
İnterlökin-10	+			Bazı T helper hücre klonlarından sitokin sentezini inhibe eder
TNF- $\alpha$ (kazehtin)	+	+		Ateş; şok; makrofaj aktivasyonu; PMN kemotaksının stimülasyonu, anjiogenez; kemik rezorpsiyonu; birçok hücreye sitotoksiktir.
TNF- $\beta$ (lenfotoksin)	+			Endotel, granülosit ve B hücreleri aktive eder
IFN- $\gamma$	+		NK hücreler	NK hücreler, sitotoksik T hücre endotel hücre ve makrofajları aktive eder. Antitumor aktivitesi, B hücre proliferasyonunun stimülasyonu ve T hücre proliferasyonunun inhibisyonunda rol oynar.

LAK : Lymphokine Activated Killer

NK : Natural Killer

TNF : Tumor Necrosis Factor

Sitokinler primer olarak hematopoetik ve mezenkimal orijinli normal hücrelerin büyümesinde ve farklılaşmasında rol oynar(46). Bu polipeptidler spesifik membran reseptörleriyle birleşerek orijinal hücrede (otokrin), komşu hücrelerde(parakrin) veya uzak hücrelerde (endokrin) hücre sel fonksiyonları belirleyen, kanda çözünür halde bulunan moleküllerdir. Sitokin-reseptör kompleksi, genellikle uyarı transdüksiyonunu protein kinaz fosforilasyonu veya G-protein bağımlı fosfoinositol değişiklikleri ile başlatır(47). IL-1 $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  büyüme, hücre dışı matriks komponentlerinin üretimi, kollagen ve prostaglandinlerin sentezi, klas I ve klas II major histokompatibilite kompleksinin açığa çıkarılması gibi bazı fibroblast aktivitelerinde etkili olan sitokinlerdir.

Bu sitokinler aynı zamanda, major histokompatibilite kompleksinin proliferasyonu, açığa çıkarılması, adhezyon moleküllerinin ekspresyonu, nötrofil ve T lenfositlere adhezyon gibi endotel hücre fonksiyonlarını da yönlendirir. IL-2 endotel hücrelerine NK hücrelerinin bağlanma kapasitesini artırır(48).

### **İnterlökin-1 (IL-1):**

IL-1 inflamatuvar, metabolik, fizyolojik, hematopoetik ve immünolojik geniş spektrumlu özellikler taşıyan iki polipeptid için kullanılan bir terimdir. IL-1'in iki formu (IL- $\alpha$  ve IL- $\beta$ ) farklı gen ürünleri olmasına rağmen, her ikisi de aynı hücre yüzey reseptörlerini tanır ve değişik biyolojik aktiviteleri paylaşırlar(49). IL-1 $\alpha$ , 150 aminoasitten oluşur, esas olarak (%75) hücreyle birlikte bulunur. IL-1 $\beta$ , 153 aminoasitten oluşur ve hücre dışı ortama uyarı sonucu salınır(46).

IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  genleri ikinci kromozom üzerinde olup sırasıyla 12 ve 9.7 kbaz DNA içerirler. Herhangi bir hücrenin uyarılması özellikle monositlerden olmak üzere IL-1 gen ekspresyonunu indükte eder. TNF- $\alpha$ , IL-1 sentezini stimüle eden önemli bir sitokindir. IL-1 kendi sentezini otokrin veya parakrin yolla artırabilir. Lökotrien B4 (LTB4) IL-1 sentezini artırırken, prostaglandin E2 tam tersi bir etkiye sahiptir(46). IL-1'in major kaynağı aktive monositlerdir. Eritrositler ve trombositler

dışındaki tüm hücreler IL-1 sentezi yapabilirler. Monositler ve makrofajlar büyük miktarda IL-1 sentezinden sorumlu primer hücrelerdir. IL-1 için iki farklı yüksek afiniteli hücre membran reseptörü vardır (Tip I ve II). Hem IL-1 $\alpha$  hemde IL-1 $\beta$  her iki tip IL-1 reseptörüne eşit ağırlıkta olmasa da bağlanabilir. Tip I IL-1 reseptörleri yaklaşık 80 kD ağırlığında olup T hücreler, endotel ve epitel hücrelerle, kondrositler üzerinde bulunur. Tip II IL-1 reseptörleri 56 kD ağırlığında olup B hücreler, nötrofil ve makrofajlarda bulunur. IL-1 fosfolipaz A'yı aktive ederek kalsiyumun hücre içine geçişine neden olur. CAMP sentezinin fosfoinositol metabolizmasını artırır, ornitin dekarboksilaz aktivitesini indükte eder(44,46).

### **Interlökin 6 (IL-6):**

IL-6, 184 aminoasitten oluşan 26 kD ağırlığında bir glikoproteindir. IL-6 geni yedinci kromozomda 3 farklı alel halinde bulunur. IL-6 monositler, T lenfositler ve fibroblastlar tarafından sentezlenir. IL-6 T hücre çoğalmasının modülasyonu ve farklılaşmasının belirlenmesinde IL-3 ile sinerjistik olarak hematopoetik koloni formasyonunda ve B hücrelerinden immünoglobulin sentezinin artmasında rol oynar. En önemli fonksiyonu, karaciğerde akut faz proteinlerinin sentezinin indüksiyonudur.

IL-6 çeşitli hücre tipleri tarafından üretilir ve IL-1, TNF- $\alpha$ , PDGF gibi inflamatuvar sitokinler, virüsler, endotoksin gibi bakteriyel ürünler tarafından IL-6 sentezi indüklenir. IL-6 sentezinin artmış olduğu durumlar arasında bazı malign hastalıklar, otoantikor ve romatoid faktör oluşumu bulunan otoimmün hastalıklar sayılabilir(46).

IL-1 ve TNF- $\alpha$  ile uyarılmış sinoviyal hücrelerde IL-6 büyük miktarlarda üretilir. Her ne kadar IL-6'nın bazı biyolojik aktiviteleri IL-1 ve TNF- $\alpha$  ile benzerlik gösterse de, IL-6'nın fibroblastlar ve sinovyal hücreler tarafından prostaglandin E2 ve kollagenaz üretimini stimüle edici etkisi yoktur. IL-6 poliklonal

B hücre aktivasyonu ile karakterize birçok hastalıkta önemli rol oynar. Kardiyak miksoma, romatoid artrit, kronik HIV enfeksiyonu, alkolik karaciğer hastalığındaki hipergammaglobulinemide, artmış IL-6 sentezinin payı vardır. IL-6 bazı malignansilerde görülen plazmasitozla da ilgilidir.

Özetle IL-6, primer olarak karaciğerde akut faz proteinlerinin sentezinin indüksiyonundan ve kronik otoimmün inflamatuvar hastalıklarda görülen hipergammaglobulinemiden sorumludur. IL-6'ya has bir özellik de malignansilerde plazma lenfoid hücrelere olan otokrin uyarıcı etkisidir(46). İnsanda keratinositler IL-6 sentez ederler ve bu sitokininvivo ortamdaki rolü bilinmemektedir.

### **Soluble İnterlökin-2 Reseptörü (sIL-2R)**

İnterlökin-2 reseptörü, IL-2 sitokininin yüksek afiniteli üç komponentinden ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) biri olarak fonksiyon gören bir glikoproteindir. IL-2 $\alpha$  aynı zamanda p55, Tac, CD25 olarak da bilinen 55 kD'luk bir hücre yüzey glikoproteindir. T hücre aktivasyonu sonrası bu glikoprotein proteolitik olarak 45 kD'luk bir glikoprotein olan sIL-2R'ü haline dönüşür. sIL-2R immün aktivasyonunun bir ölçüsü olarak araştırmalarda ilgi odağı olmuştur.

Bazı lösemi ve malign lenfomalarda sIL-2R düzeylerinde artışlar bulunabilir. Yine organ transplant rejeksiyonunda sIL-2R düzeyinde bazı değişiklikler olduğu rapor edilmiştir. Dolaşımdaki sIL-2R düzeyleri altta yatan hastalığın klinik aktivite şiddetiyle korrelasyon gösterir ki bu da, sIL-2R'nün aktive hücreler tarafından sentezlendiğini düşündürmektedir(46).

### **Sistemik sklerozda sitokinler:**

Sistemik sklerozda periferik mononükleer hücre süpernatantlarının endotel hücre inhibisyonuna ve fibroblast büyümesinin stimülasyonuna yol açması dolaşımdaki sitokinlerin endotel hücre zararlanmasına etkisi olduğunu düşündürmektedir. Bu etki sistemik sklerozda daha belirgindir. Sistemik sklerozlu

serumlarda IL-1, IL-2, TNF- $\alpha$  ve TNF- $\beta$ 'nin tanımlanması gözlenen endotel hasarında sitokin kendisinin veya sitokin kombinasyonlarının sorumluluğu olduğunu ortaya koymaktadır(50).

### **IL-1:**

İnterlökin-1'in invivo ortamda verildiğinde vasküler permeabilitede artış ile birlikte pulmoner dolaşımında PMNL'lerin sekestrasyonuna ve endotel hücrede ultrastrüktürel zedelenmeye yol açar. İn vitro ortamda IL-1, ICAM-1 ekspresyonunu, lenfosit adhezyonunu, IL-1'in hücre zarında ekspresyonunu artırır, PDGF açığa çıkmasına neden olur ve endotel hücre büyümesini inhibe eder. Bunun yanında IL-1 tip I ve III kollagen mRNA düzeylerini 2-5 kat, kollajen sentezini 2 kat artırır. Bu yollarla, IL-1 sistemik sklerozda vasküler ve fibrotik değişikliklere katkıda bulunur.

Sistemik sklerozda periferik kandaki mononükleer hücrelerde IL-1 sentezi azalmıştır(2,51). IL-1 fibroblastlardan fibronektin, tip I kollajen, proteoglikanlar, kollagenaz ve diğer nötral proteaz inhibitörlerinin sentez ve salınımlarını artırır(46). Sistemik sklerozda fibroblastlar IL-1'e daha duyarlı bulunmuştur. Fibrozis oluşumunda IL-1 $\alpha$ 'nın otokrin etkisinin olduğu gözlenmiştir(52).

Literatürde sistemik sklerozlu hastaların monositlerinde IL-1 üretimi azalmış olarak bulunmuştur(53). Bazı çalışmalarda sistemik sklerozlu hasta serumlarında IL-1 $\alpha$  ve IL-1  $\beta$ 'nin tespit edilememesi hızlı degradasyonun veya serum inhibitörlerinin varlığı ile açıklanmıştır(51,54). Yine bazı araştırmalarda sistemik sklerozlu hastaların monositlerinden genelde daha fazla IL-1 ve IL-1 inhibitörü sentezlendiği bildirilmiştir(54,55).

### **IL-6**

Lokalize veya sistemik sklerodermalı olgularda plazma IL-6 düzeyleri artmış olarak bulunmakla birlikte, sklerodermal epidermiste artmış IL-6 düzeyi, IL-6'nın

epidermal atrofi ile seyreden bazı dermatolojik hastalıklarda patofizyolojide rol oynadığını göstermektedir (56).

İnterlökin-6'nın sklerodermal fibroblastlar tarafından lezyon bölgelerinde aşırı sentezi bu sitokinin antikör sentezi stimülasyonu ve T hücre aktivasyonunun indüksiyonu gibi biyolojik etkileri dikkate alındığında, hastalığın seyrini etkileyen bir faktördür(57).

Sklerodermada IL-2 sentezinin arttığı *invivo* ve *invitro* çalışmalarla gösterilmiştir(31). IL-6'nın sklerodermada yüksek afiniteli IL-2 reseptörlerinin açığa çıkmasını sağladığı ve skleroderma lenfositlerinin kontrol hücrelere göre 10-20 kat daha fazla IL-6 salgıladığı yönünde araştırma sonuçları bulunmaktadır(31). Sistemik lupus eritematosus ve skleroderma gibi genelde karaciğerde normal akut faz yanıtının oluşmadığı hastalıklarda, hastalık aktivitesini belirlemede serum IL-6 düzeyi önemli bir gösterge olabilir(58).

### **sIL-2R**

Sklerodermada serum veya plazma sIL-2R düzeyleri artmış olup, bu da hastalık şiddeti, progresyonu ve mortalite ile korrelasyon gösterir(2,59). Sklerodermada IL-2 reseptörleri eksprese eden T lenfositlerin oranı hafif artmıştır. Fitohemagglutinin (PHA) ve concanavalin A (Con A) gibi mitojenlere maruziyet kontrollere kıyasla sklerodermalılarda lenfositlerden CD25 ekspresyonunu daha fazla artırır. Sklerodermada varsayımsal bir otoantijen olan laminin lenfosit proliferasyonunu artırmaksızın CD25 ekspresyonuna yol açar ve sIL-2R salınımını artırır(2).

### **TNF/Lenfotoksin**

TNF *invitro* ortamda vasküler endotel hücreler ve fibroblastlarda HLA-A/B antijenlerinin mRNA düzeylerini ve yüzeyel ekspresyonunu artırır. Bu etki TNF'nin IL-6 sentezini indükte etmesi ile gerçekleşir. TNF/LT endotel hücrede morfolojik

değişikliklere neden olurken ICAM-I ekspresyonunda artışa ve endotel hücrelerden IL-1 sentezinde artışa yol açar. TNF endotel hücrelerin, PDGF salınımını artırır, böylece düz kas hücreleri ile komşu fibroblastları etkiler (60).

### **TGF- $\beta$**

TGF- $\beta$  sklerodermada *invivo* ve *invitro* profibrotik etkileri olan bir sitokindir. Bunun yanında TGF- $\beta$  hücrel immün sistem üzerinde belirgin supresif etkiye sahiptir. Yara iyileşmesi ile ilgili deneylerde TGF- $\beta$ 'nin lokal olarak uygulanması skar kuvvetinde ve yeni kollajen sentezinde artmayla birlikte fibroblastların bölgeye hücumuna yol açar. Subkütan olarak enjekte edildiğinde, TGF- $\beta$  yoğun mononükleer hücre inflamatuvar yanıtına, yeni damar oluşumuna ve şiddetli doku fibrozisine yol açar(60). Sklerodermada TGF- $\beta$  endotel üzerindeki inhibitör etkisiyle birlikte PDGF'ün otokrin salınımını stimüle ederek fibroblast proliferasyonu ve matriks sentezine neden olur(2).

## MATERYAL ve METOD

Çalışmamıza 1995-1996 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Romatoloji Polikliniğinde sistemik skleroz tanısı ile takip edilen 25 hasta alındı. Hastalardan 24'ü kadın, 1'i erkek olup yaşları 13-67 (ortalama  $43.2 \pm 15.5$ ) arasında değişmekteydi. Olguların 24'üne Amerikan Romatizma Cemiyeti sınıflandırmasına göre diffüz sistemik skleroz olarak tanısı kondu(3). Bir hastada lokalize skleroderma mevcuttu(20). Tüm hastaların cilt biyopsileri skleroderma ile uyumluydu.

Diffüz kutanöz sistemik sklerozlu tüm olgularda ekstremitelerdeki cilt tutulumuyla birlikte gövde tutulumu da mevcuttu. Sınırlı kutanöz sistemik skleroz sadece ekstremitelerdeki (eller, yüz, ayaklar ve ön kol) cilt tutulumu olarak tanımlandı(19). Hastaların hiçbirinde sınırlı kutanöz sistemik skleroz formu yoktu.

Hastalar ile ilgili klinik bilgiler anamnez ve fizik muayene ile elde edildi. Ortalama hastalık süresi  $7.2 \pm 6.5$  yıl idi. Hastalarda Raynaud fenomeni, telenjiektazi, anormal pigmentasyon, dijital ülser veya skar, sklerodaktili, subkütan kalsinozis, hipertansiyon bulguları kaydedildi. Dijital skar, parmak ucunda noktasal içe çökük alanlar veya travma ve diğer ekzojen nedenler olmaksızın parmak uçlarında iskemi sonucu destek dokusunun kaybı olarak tanımlandı(61). Eklemlerin dorsal yüzündeki ülserler travmatik kabul edildi ve çalışmaya dahil edilmedi.

Hipertansiyon birden fazla yapılan ölçümlerde sistolik kan basıncının 140mmHg veya diyastolik kan basıncının 90 mmHg'dan fazla olması şeklinde tanımlandı.

Anemi hemoglobin düzeyinin erkeklerde 14 g/dl'den kadınlarda 12 g/dl'den düşük olması olarak, eritrosit sedimentasyon hızındaki artış Westergren metoduyla erkeklerde 20 mm/st, kadınlarda 30 mm/st'den yüksek olması şeklinde tanımlandı(61).



Hastalar gastrointestinal, pulmoner, kardiyak ve renal tutulum açısından değerlendirildi. Pulmoner tutulum solunum fonksiyon testlerinde restriktif havayolu hastalığı düşündürülen bulguların bulunması veya standart postero-anterior akciğer grafilerinde bazallerde belirgin bilateral retiküler patern tespit edilmesi olarak tanımlandı. Hemoglobün değeri 14 g/dl'den yüksek olan hastalarda zorlu vital kapasitenin tahmin edilenin %80'inden hemoglobün değeri 14 g/dl'den düşük veya eşit olanlarda zorlu vital kapasitenin tahmin edilenin %65'inden düşük olması restriktif havayolu hastalığı olarak tanımlandı(61).

Gastrointestinal tutulum, semptomatik veya endoskopik olarak özefajiyal reflü, kronik diyare ile malabzorpsiyon bulunması; radyolojik olarak anormal gastrointestinal motilite veya kolonik sakkulasyonların varlığı olarak tariflendi(48).

Kardiyak tutulum, klinik olarak belirgin kardiyomyopati, perikardit, elektrokardiyografide ventriküler aritmi, hipertansiyon olmaksızın sol ventrikül duvar kalınlaşması veya sağ ventriküler dilatasyon olarak tanımlandı(61).

Böbrek tutulumu hızlı ilerleyen böbrek yetmezliği veya kreatinin klerensinin 75 ml/dk'dan düşük olması veya 24 saatte 2 g dan fazla proteinüri olması şeklinde kabul edildi.

Hastaların rutin olarak 12 derivasyonlu elektrokardiyografileri, özefagus-mide-duodenum grafileri, solunum fonksiyonları ölçümü ve standart göğüs grafileri incelendi.

Hastaların 24 saatlik idrar volümü, idrar kreatinini, proteinüri miktarı ölçüldü ve kreatinin klerensleri çalışıldı. Hastaların halen almakta oldukları ilaçlar, ilaç kullanım süreleri ve dozları kaydedildi.

Kan biyokimyasından üre, kreatinin, sodyum, potasyum, klorid, SGOT, SGPT, total protein, albumin, kalsiyum, fosfor, ürik asit düzeyleri, hematokrit, beyaz küre ve trombosit sayımları ile eritrosit sedimentasyon hızı ölçümü yapıldı. İmmünolojik testlerden antinükleer antikor(ANA), romatoid faktör(RF), ANA pozitifliği olanlarda tip tayini, anti-DNA, anti-SSA, anti-SSB, anti-RNP, anti-Sm ve

anti-Sc1-70 çalışıldı.

Lenfosit yüzey belirleyicilerden CD4, CD8, CD25 ve CD4/CD8 oranı, serum sitokinlerinden IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve sIL-2R ölçümü yapıldı. Sistemik sklerozlu hastaların 8'i kolşisin, romatoid artritli hastaların 6'sı altın, 4'ü sulfasalazin ve NSAİD kullanmaktaydı.

Kolşisin tedavisi almakta olan 8 sistemik sklerozlu hastada ilaç 1 ay süreyle kesilerek sitokin düzeyleri ölçüldü.

Kontrol grubu olarak Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Bilim Dalında 1987 ARA kriterlerine göre romatoid artrit tanısı almış, aktif hastalık bulguları olan 3'ü erkek 21 hasta, ayrıca tamamen sağlıklı 21 kişi araştırmaya dahil edildi(62,63). RA'li hastalarda ESH'nin 30 mm/st'den yüksek olması, en az bir eklemden şişlik olması, 6 veya daha fazla hassas eklem bulunması, 45 dakikadan uzun süren sabah sertliğinin varlığı gibi kriterlerden en az ikisinin bir ay süreyle devam etmekte olması aktivite kriteri olarak kabul edildi. Sağlıklı kontrol grubundaki kişilerin 1'i erkek, 20'si kadın idi.

Romatoid artritli hastaların yaşları 31-65 (ortalama  $49.9 \pm 10.7$ ), sağlıklı kontrollerin yaşları 19-57 (ortalama  $33.8 \pm 10.6$ ) arasında değişmekteydi. Kontrol grubundaki tüm hastalara kan sayımı, serum sitokin düzeyleri tayini, lenfosit yüzey belirleyicileri ölçümü ve immünolojik testler uygulandı

Hasta ve kontrol gruplarından alınan kanlar santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Çalışma yapılıncaya dek -70 derecede derin dondurucuda muhafaza edildi.

**Laboratuvar Ölçümleri:** ÇÜTF Merkez Laboratuvarında, tam kan sayımı coulter counter STKS kan sayım cihazıyla, kan üre azotu urease w/GLDH yöntemiyle, kreatinin Jaffe yöntemiyle, kan şekeri GOD-PAP metoduyla, sodyum ve potasyum ISE proteinometri yöntemiyle, klorid Mercurie thiocyanate, fosfor phosphomolybdate 340 nm yöntemiyle, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserid enzimatik kolormetrik test ile, total lipid Krankel Ehrenz turbidimetrik yöntem ile, total protein Biuret, albumin Bromocresol green

yöntemiyle, idrar kreatinin Jaffe yöntemiyle, idrar protein Esbach çözeltisiyle ölçüldü.

İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarında, immünolojik testlerden ANA Hep-2 immünfloresan (Scimadex Corp,USA), RF latex (Avitex, Omega Diagnostics, UK), anti-Sm Elisa (Clark Lab Inc, Jamestown, NY), anti-Scl-70 Elisa (Encore Lab, Jamestown, NY), anti-SSA ve anti-SSB Elisa (Immunowell, Boehringer Mannheim), anti-RNP Elisa yöntemiyle (Clark Lab Inc) test edildi.

### **IL-1 $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Ölçümü:**

IL-1  $\alpha$  ölçümü için mikroelisa kiti (Endogen, EH2-IL1A, Cambridge, USA), IL-1  $\beta$  ölçümü için de mikroelisa kiti (Endogen, EH2-IL-1B, Cambridge, USA) kullanıldı.

### **Solüsyonların hazırlanması ve deneyin yapılışı:**

50  $\mu$ l standart solüsyonu ve hasta serumları çift olarak plak üzerindeki kuyucuklara konuldu. 50  $\mu$ l biyotinli antikor solüsyonu eklendi. Üzeri kapatılan plak oda sıcaklığında 3 saat inkübe edildi. Plak 3 kez yıkandı. Dilüsyon çözeltisindeki streptavidin- HRP konsantrisi seyreltildi ve bu solüsyondan 100  $\mu$ l her kuyucuğa ilave edildi. Üzeri kapatılan plak oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Tekrar 3 kez yıkandı. Önceden karıştırılmış tetramethylbenzidine (TMB) substrat solüsyonundan 100  $\mu$ L her kuyucuğa eklendi. Plak oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika bekletildi. Reaksiyon 100  $\mu$ L durdurma solüsyonu eklenerek durduruldu. Plaktaki her kuyucuğun absorbansı 450 nm'de okundu. IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  değerleri standart eğrisi kullanılarak pikogram/ml cinsinden hesaplandı.

### **İnterlökin-6 Ölçümü**

IL-6 ölçümü için mikroelisa kiti (Quantikine D6050, R&D Systems, Minneapolis, USA) kullanıldı.

### **Solüsyonların hazırlanışı ve deneyin yapılışı:**

Tüm solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığında bekletildi. 20 ml yıkama solüsyonu konsantresi distile su eklenerek 500 ml yıkama solüsyonu haline getirildi. Her kuyucuğa 100  $\mu$ l seyreltici solüsyon eklendi. Yine her kuyucuğa 100  $\mu$ l standart veya hasta serumu ilave edildi. Yapışkan bant ile üzeri kapatıldı. Oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi. Daha sonra her kuyucuk aspire edilip yıkandı. Bu işlem toplam 4 kez olmak üzere tekrar edildi. Her kuyucuk yıkama solüsyonu ile yıkandı. Son yıkamadan sonra plak ters çevrilerek geri kalan yıkama solüsyonundan arındırıldı ve kurutuldu. 200  $\mu$ L IL-6 konjugesi ilave edildi. Üzeri bant ile kapatıldı. 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha önce yapıldığı gibi 4 kez yıkama işlemi tekrar edildi. Her kuyucuğa 200  $\mu$ L substrat solüsyonu eklendi. Oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa 30  $\mu$ L durdurma solüsyonu ilave edildi.

Homojen renk değişikliği gözlendikten sonra 30 dakika içinde spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda her kuyucuğun optik dansitesi belirlendi. Her örneğin IL-6 konsantrasyonunu belirlemek için absorbands değerleri önceden oluşturulan standart eğrisi ile karşılaştırıldı. Kit standartlarının konsantrasyonlarına karşı, optik dansite değerleri kullanılarak çizilen grafikten IL-6 değerleri pikogram/ml (pg/ml) cinsinden hesaplandı.

### **Soluble interlekin-2 reseptör ölçümü (sIL-2R):**

SIL-2R ölçümü için mikroelisa kiti (Predicta, Genzyme Corp., Cambridge, MA, USA) kullanıldı.

### **Solüsyonların Hazırlanması:**

50  $\mu$ l konsantre yıkama solüsyonuna distile veya deiyonize su eklenerek 1 litrelik total hacime tamamlandı ve yıkama solüsyonu hazırlandı.

### **Yöntemin Uygulanması:**

Sırayla 75  $\mu$ l anti IL-2R antikoları kullanılarak kuyucuklara konuldu. Aynı kuyucuklara standart, kontrol ve hasta serumları çift olarak ilave edildi. Kuyucukların üzeri plak ile kapatılarak  $37 \pm 2$  °C'de  $60 \pm 5$  dakika inkübe edildi.

Test kuyucuklarının içeriği aspire edildi. Test kuyucukları yıkama solüsyonu ile dolduruldu. Daha sonra kuyucuklar tekrar aspire edildi. Bu yıkama işlemi toplam 5 kez olacak şekilde yinelendi. Son yıkamadan sonra geri kalan sıvıyı ortadan kaldırmak amacıyla plaklar kurutma kağıdı üzerinde kurulandı. Her kuyucuğa 100 µl IL-2R streptavidin-HRP substratı konuldu. Plak üzeri kapatıldı, 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Daha önce yapıldığı gibi 5 kez yıkama yapıldı. 100 µl substrat solüsyonu kuyucuklara ilave edildi.

Kuyucuklar oda sıcaklığında (18-24°C) 10 dakika inkübe edildi. Damla pipeti kullanılarak 2 damla (100 µl) durdurma solüsyonu her kuyucuğa ilave edildi. Reaksiyon durduktan sonra her kuyucuğun absorbansı 450 nm'de 30 dakika içinde okundu. Örneklerin IL-2R konsantrasyonları absorbans değerlerinin standart eğrisi ile karşılaştırılması ile pikogram/ml (pg/ml) cinsinden elde edildi.

#### **Lenfosit Yüzey Belirleyicilerinin Ölçümü:**

Lenfosit subgruplarından CD4, CD8 ve CD25 fakültemiz Merkez Laboratuvarında flow cytometry (Profille-1 coulter USA) cihazıyla ölçüldü. Bu yöntem bir sıvı akımı içinden tek tek geçmekte olan çeşitli hücreler veya biyolojik partiküllerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini duyarlı alıcılar vasıtasıyla ölçme tekniğine dayanır. Lenfositler, yüzey antijenlerine spesifik monoklonal antikorlara reaksiyona sokularak flow-cytometry cihazından geçirildi ve yüzdeleri ölçüldü.

#### **Deneyin Yapılışı:**

Her hastadan 2 ml kan EDTA'lı tüpe alındı. Bu kandan her parametre için 100 µl işaretlenmiş diğer tüplere alındı. Çalışılacak monoklonal antikorlardan işaretlenmiş uygun tüpe 10 µl eklendi. Tüpler Q-Preep cihazında karıştırıldı. 10 dakika kadar oda sıcaklığında karanlık ortamda bekletildi. Q-Preep cihazına yerleştirilen ABC solüsyonlarından uygun miktarda otomatik olarak tüplere aktarıldı. Lenfosit dışındaki eritrositler hemoliz edilerek ortamdan uzaklaştırıldı. Flow-Cytometry cihazında ana menüden çalışılacak parametrelerin seçimi yapıldı

ve hazırlanmış kan örnekleri cihaza aspire ettirildi. Her parametrenin CD4, CD8 ve CD25 yüzde değeri yazıcıdan okundu.

### **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Çalışmamızda istatistiksel değerlendirme yapılırken Minitab ve SPSS for Windows PC programları kullanıldı.

Grup ortalamaları arasındaki farkın önemlilik testi Student's Paired t test ve Mann Whitney U testi ile, sitokinler üzerinde kolşisin tedavisinin etkisini ölçmede iki eş arasındaki farkın önemlilik testi olan Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testinden yararlanıldı.

Faktörler arası ilişkinin tayini korrelasyon analizi ile değerlendirildi. Sitokin düzeylerinin klinik parametrelerle ilişkisi Ki-kare yöntemi ile test edildi. p'nin 0.05'den küçük değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

### 1) KLİNİK BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların klinik özellikleri tablo 4'te gösterilmiştir. Lokalize skleroderma bulunan hasta dışındaki tüm hastalarda Raynaud fenomeni mevcuttu (%96). Hastaların 7'sinde (%28)telenjiektazi, 19'unda (%76) sklerodaktili, 10'unda(%40) dijital ülser/skar, birinde kalsinozis cutis, 23'ünde ağız kenarında çizgilenme(%92) bulunmaktaydı. Hastaların klinik bulgu ve belirtileri tablo 5'de görülmektedir.

Tablo 4. Hastaların Klinik Özellikleri

Hasta sayısı	25
Yaş(yıl±SD)	43.2±15.5
Cins	1 E, 24 K
Hastalık süresi (yıl±SD)	7.2±6.5
Diffüz kutanöz skleroderma	24
Sınırlı kutanöz skleroderma	0
Lokalize skleroderma	1

Tablo 5. Sistemik Sklerozlu hastalarda klinik bulgu ve belirtiler

Bulgu/Belirti	Hasta Sayısı(25)	( % )
Raynaud Fenomeni	24	96
Telenjektazi	7	28
Anormal pigmentasyon	9	36
Sklerodaktili	19	76
Dijital ülser/skar	10	40
Kalsinosis cutis	1	4
Eklem ağrısı	16	64
Kas güçsüzlüğü	5	20
Ellerde kontraktür	12	48

Pulmoner tutulum 16 hastada (%64) saptandı. Bu hastalarda pulmoner tutulum klinik bulgu ve belirtilerinden en az biri mevcuttu. Fizik muayenede anormal akciğer oskültasyon bulguları olan hastaların hepsinde solunum fonksiyon testleri ve akciğer grafileri anormal bulundu. Sklerodermalı hastalara pulmoner tutulum bulgu ve belirtileri tablo 6'de görülmektedir.

Tablo 6. Sistemik sklerozlu olgularda pulmoner tutulum bulgu ve belirtileri

Bulgu/Belirti	Hasta Sayısı(25)	(%)
Dispne	13	52
Anormal SFT	13	52
Anormal akciğer grafisi	12	48
Anormal akciğer dinleme bulguları	5	20



Hastaların kardiyovasküler sistem tutulumu yönünden taramasında 10 hastada (%40) Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre birden fazla sayıda yapılan ölçümler ortalamasına göre hipertansiyon tespit edildi. Bu hastalardan 7'si hafif (evre I), 3'ü orta derecede (evre II) hipertansiyon grubuna girmektedir. Bu hastalardan 6'sı nonfarmakolojik tedaviye ek olarak antihipertansif ilaç (ACE inhibitörü veya kalsiyum kanal blokeri) almaktadır.

Çalışmaya alınan olguların 8'inde (%32) anormal elektrokardiyografik bulgular, 10'unda (%40) anormal ekokardiyografik bulgu tespit edildi. Hastaların 6'sında (%24) stabil angina pectoris ile uyumlu göğüs ağrısı yakınması mevcuttu. Hastaların hiçbirinde perikardit bulgusu yoktu. Bir hastada fonksiyonel sınıf III konjestif kalp yetmezliği bulgu ve belirtisi vardı. İki hastada elektrokardiyografide sol ventrikül hipertrofisi tespit edildi. Bu hastalardan birinde hipertansiyon olmaksızın SVH mevcut olup, ekokardiyografide de bulgu tespit edildi. Elektrokardiyografik sol ventrikül hipertrofisi olan ikinci hasta hipertansif olup, EKG'de SVH tespit edilmeyen hipertansif bir hastada ise bu bulgu ekokardiyografide saptandı.

Sistemik sklerozlu hastalarda elektrokardiyografi ve ekokardiyografi bulguları tablo 7'de gösterilmektedir.

Tablo 7. SS'lu Olgularda EKG ve EKO Bulguları

Olgu No.	Cins	Yaş	EKG Bulgusu	Ekokardiyografi Bulgusu
1	K	60	N	Pulmoner Hipertansiyon + TY
2	K	47	N	N
3	K	52	N	N
4	K	32	N	N
5	K	45	Sağ dal bloku	N
6	E	34	Sinüs taşikardisi	Min sol atrium dilatasyonu
7	K	17	N	N
8	K	47	N	N
9	K	18	N	N
10	K	67	Atrial ES+Anterolat iskemi	Bivent. diyastolik fonksiyon azalması + aort kapak kalsifikasyonu
11	K	52	Anterolat. iskemi	Mitral k. kalınlaşması + SVH + sol ventrikül ve sol atrium dilatasyonu
12	K	51	N	N
13	K	55	N	N
14	K	47	SVH	SVH
15	K	60	N	SV duvar ve aort k. kalınlaşması
16	K	62	Sol dal bloku	SV diyastolik fonksiyon azalması
17	K	30	N	MVP
18	K	25	N	N
19	K	31	N	Mitral k. min. kalınlaşma + SV diyastolik fonksiyon azalması
20	K	27	N	N
21	K	13	N	MVP
22	K	49	N	SV ve sol atrium min dilate + MY
23	K	50	N	N
24	K	45	N	N
25	K	65	SVH	SVH

SVH: sol ventrikül hipertrofisi  
MVP: mitral valye prolapsus  
ES: ekstrasistol

Böbrek fonksiyonları açısından yapılan incelemede hastaların biri hariç hepsinde kan üre azotu ve kreatinin değerleri normal sınırlardaydı. Bir hastada konjestif kalp yetmezliğine sekonder prerenal azotemi mevcuttu. 3 hastanın (%12) kreatinin klerensi ölçüm değerleri 75 ml/dk'nın altındaydı. Bu hastaların hiçbirinde böbrek yetmezliğinin klinik ve laboratuvar bulgu ve belirtileri mevcut değildi. Hastaların hiçbirinde proteinüri saptanmadı.

Gastrointestinal tutulum açısından yapılan değerlendirmede hastaların 16'sında (%64) yutma güçlüğü yakınması vardı. Bu hastaların 14'ünde (%56) ÖMD grafisi ve/veya endoskopik incelemeler gastrointestinal hastalık ile uyumlu bulundu. Yutma güçlüğü yakınması olan 2 hastada (%9) röntgenografik incelemeler normal idi.

Tablo 8. Sistemik sklerozlu hastalarda organ tutulumu

Tutulum Yeri	Hasta Sayısı(25)	(%)
Pulmoner	16	64
Kardiyak	9	36
Renal	1	4
Gastrointestinal	16	64

## 2) Laboratuvar Bulguları

### a) Rutin Laboratuvar Bulguları:

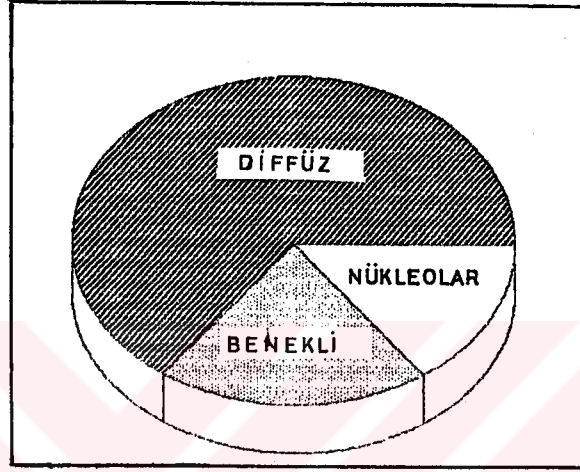
Sistemik sklerozlu olgularda ortalama hematokrit  $37.2 \pm 4.09$  (28-46 arasında) idi. 2 hastada (%8) demir eksikliği anemisi tespit edildi. Hastalarda ortalama eritrosit sedimentasyon hızı  $37.8 \pm 21.3$  (10-90 arasında) bulundu. 10 hasta dışındaki tüm hastalarda (%60) eritrosit sedimentasyon hızı yüksekti. Sistemik sklerozlu hastalarda ESH'nın boxplot grafisi ile ifade edilen değerleri Ek'te Grafik 1'de gösterilmiştir.

Romatoit artritli hastalarda ortalama hematokrit değeri  $36.32 \pm 3.18$  (18-42 arasında), ortalama eritrosit sedimentasyon hızı  $50.1 \pm 27.4$  (10-104 arasında) bulundu.

Sağlıklı kontrol grubundaki hastalarda hematokrit  $37.3 \pm 2.8$  (33-45 arasında), eritrosit sedimentasyon hızı ortalama  $18.7 \pm 7.0$  (6-32 arasında) idi.

### b) İmmünolojik Bulgular

Sistemik sklerozlu hastaların 20'sinde (%80) ANA pozitifliği (+) ile (++++) arasında bulundu. 13 hastada (%65) ANA diffüz homojen boyanma, 4 hastada (%20) benekli, 3 hastada (%15) nükleolar tipte boyanma gözlemlendi. Şekil 1'de sistemik sklerozlu hastalarda antinükleer antikor tiplendirmesinin oranı görülmektedir.



Şekil 1. PSS'lu hastalarda ANA tiplendirmesi

Hastaların hiçbirinde anti-DNA ve anti-Sm pozitifliği saptanmadı. 4 hastada romatoid faktör (%16) (+) ile (++++) arasında pozitif idi. Anti-RNP hastaların tümünde negatif bulundu. Anti-SSA hastaların 4'ünde (%16), anti-SSB hastaların 6'sında (%24) tespit edildi. Anti-Scl-70 antikorları hastaların 17'sinde (%68) pozitif idi.

Romatoid artritli olguların tümünde ANA negatif idi. RF bu hastaların 10'unda (%47.6) (+) ile (+++) arasında pozitif bulundu. Anti-DNA, anti-Scl-70, anti-RNP, anti-SSA ve anti-SSB romatoid artritli hastaların hepsinde menfi bulundu.

Sağlıklı kontrol grubundaki kişilerin tümünde ANA, RF, anti-DNA, anti-SSA, anti-SSB, anti-Scl-70 ve anti-RNP antikorları tespit edilemedi. Sistemik sklerozlu hastalardaki immünolojik bulgular tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Sistemik sklerozlu olgularda immünolojik parametreler

İmmünolojik Test	Hasta Sayısı(25)	(%)
ANA	20	80
RF	4	16
anti-DNA	0	0
anti-SSA	4	16
anti-SSB	6	24
anti-Sm	0	0
anti-Scl-70	17	68
anti-RNP	0	0

**c) Sitokinler:**

**IL-1 $\alpha$**

Sistemik sklerozlu hastaların IL- $\alpha$  değerleri (ortalama  $\pm$  SD)  $2.36 \pm 4.41$  olarak bulundu.

Romatoid artritli kontrol grubunda bu değer  $1.01 \pm 2.98$  idi. Sağlıklı kontrol grubunda IL-1 $\alpha$   $5.97 \pm 5.67$  olarak tespit edildi.

Sistemik sklerozlularda IL-1 $\alpha$  değerleri sağlam kontrol grubundaki hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $p=0.023$ ).

Romatoid artritli hasta grubuyla sağlam kontrol grubu IL-1 $\alpha$  düzeyleri yönünden karşılaştırıldığında RA'lilerde sağlam kontrol grubundan elde edilen değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi ( $p=0.0013$ ). Sistemik sklerozlu grup ile RA'lı grup arasında IL-1 $\alpha$  yönünden anlamlı bir fark

gösterilemedi ( $p=0.22$ ). SSc, RA ve sağlam kontrol grubundaki hastalara ait IL-1 $\alpha$  değerleri tablo 10'da görölmektedir. Bu değerlerin boxplot grafi ile ifadesi Ek'te Grafik 2'de görölmektedir.

### IL-1 $\beta$

Sistemik sklerozlu hastalarda IL-1 $\beta$  değerleri (ortalama $\pm$ SD)  $14.1\pm 31.9$  olarak bulundu.

Romatoid artritli hastalarda  $5.1\pm 12.8$  ve sağlıklı kontrol grubunda  $6.8\pm 10.2$  olarak tespit edildi.

Sistemik sklerozlu hastalar ile sağlam kontrol grubunda IL-1 $\beta$  yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0.29$ ). RA'li hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında IL-1 $\beta$  değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p=0.65$ ).

Sistemik sklerozlu kontrolde RA'li hastalar arasında IL-1 $\beta$  değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilemedi ( $p=0.21$ ). Sistemik skleroz, RA ve sağlıklı kontrol grubuna ait IL-1 $\beta$  düzeyleri tablo 10'da verilmiştir. Bu değerlerin boxplot grafi ile ifadesi Ek'te Grafik 3'te görölmektedir.

### sIL-2R :

Sistemik sklerozlu olgularda sIL-2R düzeyi ortalama  $3884\pm 2684$  pg/ml olarak bulundu.

RA'li hastalarda sIL-2R düzeyi  $3218\pm 1750$  olarak tespit edildi.

Sağlıklı kontrol grubundaki kişilerde sIL-2R düzeyi  $1825\pm 791$  olarak saptandı.

Sistemik sklerozlu hastalarda sIL-2R düzeyleri sağlam kontrol grubundaki bireylerin sIL-2R düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $p=0.0009$ ). Romatoid artritli hastalarla sağlıklı kontrol grubundaki kişilerin sIL-2R düzeyleri karşılaştırıldığında RA'li hastalarda sIL-2R düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir şekilde artış göstermekteydi ( $p=0.0026$ ).

Sistemik sklerozlu hastalar ve RA'li hastalar sIL-2R düzeyleri yönünden karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p=0.31$ ). Sistemik skleroz, RA ve sağlam kontrol grubuna ait sIL-2R değerleri tablo 11'de verilmiştir. Bu grupların sIL-2R düzeylerinin boxplot grafi ile ifadesi Ek'te Grafik 4'te görülmektedir.

#### **IL-6**

Sistemik sklerozlu olguların IL-6 değerleri (ortalama  $\pm$  SD)  $68 \pm 114$  olarak belirlendi.

RA'li hastaların IL-6 düzeyleri  $60.1 \pm 64.3$  olarak tespit edildi.

Sağlıklı kontrol grubundaki kişilerde IL-6 düzeyleri  $25.8 \pm 17.9$  olarak bulundu.

Sistemik sklerozlu hastalarla sağlam kontrol grubu karşılaştırıldığında iki grubun ortalama değerleri arasında belirgin fark bulunmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.081$ ).

RA'li hastalar ile kontrol grubu arasında IL-6 düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ( $p=0.027$ ).

Sistemik sklerozlu olgular ile RA'li hastalar karşılaştırıldığında iki grubun IL-6 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p=0.77$ ) SSc, RA ve sağlam kontrol grubuna ait IL-6 düzeyleri tablo 11'de gösterilmektedir. Bu grupların IL-6 düzeylerinin boxplot grafi ile ifadesi Ek'te Grafik 5'te görülmektedir.

#### **Lenfosit Yüzey Belirleyicileri**

##### **CD4:**

Sistemik sklerozlu olguların CD4 değerleri (ortalama  $\pm$  SD)  $43.14 \pm 8.14$  olarak bulundu.

RA'lı hastalarda CD4 düzeyleri  $50.17 \pm 4.87$  olarak tespit edildi.

Sağlıklı kontrol grubunda CD4 düzeyleri  $44.27 \pm 6.7$  idi

Sistemik sklerozlu hastalar ile sağlam kontrol grubundaki bireyler arasında



CD4 değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p=0.61$ ).

RA'li olguların CD4 düzeylerinde kontrol grubunun değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artma saptandı ( $p=0.0024$ ).

RA'li olgularla sistemik sklerozlu hastaların arasında CD4 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ( $p=0.0008$ ).

RA olgularında sistemik sklerozlu hastalara göre CD4 düzeyleri yüksek bulundu.

Sistemik skleroz, RA ve sağlam kontrol grubuna ait CD4 değerleri tablo 12'de verilmiştir. Bu değerlerin boxplot grafi ile ifadesi Ek'te Grafik 6'da verilmiştir.

#### **CD8:**

Sistemik sklerozlu olgularda ortalama CD8 düzeyleri  $22.12 \pm 8.42$  bulundu.

RA'li hastalarda CD8 düzeyi  $26.33 \pm 7.63$  olarak bulundu.

Sağlıklı bireylerdeki CD8 değeri  $22.74 \pm 3.54$  olarak tespit edildi.

Sistemik sklerozlu hastalarla sağlam kontrol grubu bireyleri arasında CD8 değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p=0.074$ ).

RA'li olgular ile sağlam kontrol grubu CD8 düzeyi yönünden karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p=0.061$ ).

Sistemik sklerozlu hastalar ile RA'li hastalar CD8 düzeyleri yönünden karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.083$ ). Sistemik skleroz, RA ve sağlam kontrol grubuna ait CD8 düzeyleri tablo 12'de gösterilmektedir. Bu gruplara ait CD8 düzeylerinin boxplot grafi ile ifadesi Ek'te Grafik 7'de görölmektedir.

#### **CD25:**

Sistemik sklerozlu olgularda (ortalama  $\pm$ SD) CD25 düzeyleri  $0.072 \pm 0.131$  olarak bulundu.

RA'li hastalarda CD25 düzeyi  $0.533 \pm 0.774$  olarak tespit edildi.

Sağlıklı kontrol grubunda CD25 değeri  $0.019 \pm 0.873$  bulundu.

Sistemik sklerozlu hastalarla sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında CD25 düzeyi yönünden aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0.11$ ).

RA'li olgularla sağlam kontrol grubunun CD25 düzeyleri kıyaslandığında RA'li hastalarda ortalama CD25 düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artma göstermekteydi ( $p=0.0067$ ).

RA'li hastalarda CD25 düzeyi sistemik sklerozlu hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artma arz ediyordu ( $p=0.014$ ). Sistemik skleroz, RA ve sağlam kontrol grubuna ait CD25 değerleri tablo 12'de görülmektedir.

#### **CD4/CD8:**

Sistemik sklerozlu hastalarda CD4/CD8 oranı (ortalama  $\pm$  SD)  $2.143 \pm 0.713$  olarak bulundu.

RA'li hastalarda bu oran  $2.07 \pm 0.732$  olarak tespit edildi. Sağlam kontrol grubundaki bireylerde CD4/CD8 oranı  $1.986 \pm 0.458$  idi.

Sistemik sklerozlu olgularla sağlam kontrol grubu CD4/CD8 oranı yönünden karşılaştırıldığında arada istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunamadı ( $p=0.37$ ). RA'li hastalardaki CD4/CD8 oranı ile sağlam kontrol grubundaki oran kıyaslandığında iki grup arasında istatistiksel anlamlı bir değişiklik yoktu ( $p=0.66$ ). Sistemik sklerozlu hastalar ile RA'li hastalar arasındaki kıyaslamada CD4/CD8 oranında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p=0.74$ ).

#### **Faktörler Arasında İlişki Analizi:**

Sistemik sklerozlu hastalarda sIL-2R düzeyleri ile ESH arasında ( $\chi^2=0.108$ ,  $p>0.05$ ), kardiyovasküler, pulmoner, gastrointestinal sistem tutulumu ile sIL-2R düzeyleri arasında (sırasıyla  $\chi^2=2.932$ ,  $\chi^2=0.649$ ,  $\chi^2=0.244$ ,  $p>0.05$ ), anti-Scl-70 seropozitivitesi ile sIL-2R düzeyi arasında ( $\chi^2=0.172$ ,  $p>0.05$ ), Raynaud fenomeni ve dijital ülser/skar oluşumu ile sIL-2R düzeyi arasında (sırasıyla  $\chi^2=0.818$ ,

$\chi^2=1.326$ ,  $p>0.05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilemedi. Yine sistemik sklerozlu hastalarda sIL-2R düzeyleri ile IL-1 $\alpha$ ,IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korrelasyon tespit edilmedi(sırasıyla  $r=-0.27$ ,  $r=-0.225$ ,  $r=-0.002$ ,  $p>0.05$ )

Sistemik sklerozlu 8 hastada kolşisin tedavisi almaktayken ve tedavi kesildikten sonra bakılan IL-1 $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-6 ve sIL-2R düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). Romatoid artritli major ilaç alan ve almayan hastaların serum sitokin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (IL- $\alpha$ ,IL- $\beta$ ,sIL-2R,IL-6 için sırasıyla  $p=0.9590$ ,  $p=0.6985$ ,  $p=0.4181$ , $p=0.4597$ )

Sistemik sklerozlu hastalarda serum IL-6 düzeyleri ile ANA ve anti-Sc1-70 arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi(sırasıyla  $\chi^2=0.198$ ,  $\chi^2=0.198$ , $p>0.05$ ).

## TARTIŞMA

Sistemik skleroz etyolojisi bilinmeyen, ciltte ve iç organlarda fibrozis ile karakterize olan bir konnektif doku hastalığıdır.

Sistemik sklerozda kronik selüler aktivasyon endotelial hücre hasarına yol açan ve fibroblastlardan kollajen sentezini artıran sitokinlerin sürekli salınımına yol açar(64). İnvitro ortamda yapılan çalışmalar sistemik sklerozda hücreler arası etkileşimler sonucu oluşan aşırı miktarlarda bağ dokusu birikiminde sitokinlerin rolü olduğunu ortaya koymuştur. Sistemik sklerozda farklı ve hastalığa özgü bir sitokin profilinin mevcut olduğu düşünülmektedir. TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'ya ek olarak TGF- $\beta$ , PDGF ve FGF (fibroblast growth factor)'den oluşan fibrogenik sitokin profili, multiorgan fibrozisi ile giden birçok hastalıkta bulunabilir. TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  düzeyleri birçok akut ve kronik inflamatuvar hastalıkta artış gösterir. Sistemik sklerozda erken dönemlerdeki mononükleer hücre aktivasyonunu takiben, sitokin uyarısı sonucu mezankimal hücre proliferasyonu ve hücre dışı matriks birikimi gerçekleşir. Sistemik sklerozda arttığı bildirilen fibrogenik sitokinler bu hastalığı karakterize eden bağ dokusundaki değişikliklerde rol oynar. Aynı sitokin profilinin tüm skleroderma tiplerinde bulunması hastalığın başlangıcında sitokin regülasyonu aşamasında immün sistemde bir anormallik olduğunu düşündürmektedir (64).

İnterlökin-1 fibroblastların proliferasyonu ve kollajen sentezinin indüksiyonu gibi birçok biyolojik fonksiyonu olan bir sitokindir. IL-1 ile uyarılan normal fibroblastlar IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , CSF (Koloni stimüle edici faktör), PDGF ve prostaglandinler gibi bazı sitokinleri ve büyüme faktörlerini sentezler. IL-1'in reseptörlerine bağlanma afinitesi göstermiş olmasına rağmen, Dinarello ve arkadaşları her iki formun molekül düzeyi oranlarının hücre tipine spesifik olduğunu ve iki formun da farklı transkripsiyonel kontrol altında olduğunu bildirmişlerdir(49).

Çalışmamızda serum IL-1 $\alpha$  düzeyleri yönünden sklerodermalı hastalarda

sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit ettik ( $p=0.023$ ). Serum IL- $\beta$  düzeylerinde ise sağlıklı kontrol grubuna göre belirgin bir artış gözlenmekle birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Sklerodermalı hastalarda IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar bulunmaktadır(48,51,52).

Needleman ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada IL-1 $\alpha$  ve IL- $\beta$  düzeyleri yönünden skleroderma ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır(48).

Kawaguchi ve arkadaşlarının çalışmalarında sklerodermal fibroblastların IL-1 $\alpha$  mRNA ile beraber IL-1 $\beta$  mRNA'yı da eksprese ettikleri fakat IL-1  $\beta$ 'nin hücre ekstralarında ve süpernatantlarda tayin edilemediği bildirilmiştir. Aynı çalışmada posttranskripsiyonel aşamada IL-1 $\beta$  protein sentezinin olmadığı veya IL-1 $\beta$ 'nin testin duyarlılık seviyesinin altında çok az miktarlarda sentezlendiği sonucuna varılmıştır(52). Kahaleh ve arkadaşları sklerodermalı hasta serumlarında IL-1 $\beta$  ve TNF tespit etmelerini sklerodermada monosit aktivasyonunun bir kanıtı olarak bildirmişlerdir(65). Sandborg ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada sklerodermalı hastalarda normal kontrollere göre invitro ortamda IL-1 sentezinde belirgin azalma olduğunu ortaya koymuştur(51). İnterlökin-1'in fibroblast üzerindeki düzenleyici etkileri gözönüne alındığında anormal fibrotik süreç ile karakterize bir hastalıkta düşük IL-1 aktivitesi ilginç bir bulgudur. Bu bulgu, periferik kan mononükleer hücrelerinde spontan olarak gerçekleşen IL-1 sentezinin, hastalıktan etkilenen dokulardaki makrofajların aktivitesini yansıtmadığının bir kanıtı olarak kabul edilebilir. Yüksek IL-1 aktivitesinden bazı monosit/makrofaj popülasyonlarının dokularda sekestrasyonu ve geri kalan düşük IL-1 aktiviteli monositlerin dolaşıma bırakılması bu durumun izahı olabilir. Lokal olarak IL-1'lerin yüksek miktarlarda sentez edilmesinin dolaşımdaki monositlerin feedback supresyonuna veya dolaşımda inhibitörlerin sentez edilmesine yol açabileceği öne sürülmüştür.(51). Bir çalışmada erken dönem sistemik sklerozda kültüre edilmiş monositlerden IL-1'in spontan

salınımının arttığı bildirilmiştir (66). Daha sonra yapılan başka bir çalışmada periferik kan monositlerinden spontan IL-1 veya IL-1 inhibitörü salınımı ile hastalık süresi ve aktivitesi arasında korelasyon bulunmadığı gösterilmiştir (54). Yine bu çalışmada sistemik sklerozlu hastaların monositlerinden genel olarak daha fazla IL-1 ve IL-1 inhibitörü sentezlendiği bildirilmiştir. Fibroblastlar için mitojenik olduğu düşünülen bu IL-1 inhibitörünün sistemik sklerozlu hastaların monositlerinden akselere bir hızda sentez edilmekte olduğu belirtilmiştir (54,60).

Sistemik sklerozlu hastaların izole periferik kan mononükleer hücrelerinde invitro ortamda spontan sitokin sentezi, bu hücrelerin daha invivo ortamda iken aktivite kazandığını göstermektedir. Sistemik sklerozda invitro IL-1 ve fibroblast stimulan aktivitesi ile IL-1 inhibitörünün sentezinin arttığı daha önce yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir (51,66,67). Fakat IL-1'in kendisinin mi yoksa IL-1 inhibitörünün mü sklerodermada fibroblastlardan kollajen sentezini stimüle ettiği halen tartışma konusudur(68). Sandborg ve arkadaşları inhibitörlerin mevcudiyetinin bir kanıtı olarak seyreltilmiş süpernatantlardaki IL-1 aktivitesinin seyreltilmemiş süpernatantlardakine kıyasla daha belirgin olduğunu bulmuşlardır(51). Kawaguchi ve arkadaşları sklerodermada fibroblastların serum bulunmayan ortamda normal fibroblastlara göre spontan olarak daha fazla miktarlarda IL-1 reseptör ve IL-6 ile PGE2 gibi IL-1 ile indüktelenen proteinlerin ekspresyonuna neden olduklarını bildirmişlerdir(52). Bu bulgular yapısal olarak IL-1'in skleroderma fibroblastlarınca sentezlendiğine ve fibroblastlardan IL-1 ile indüklenen proteinlerin sentezinin otokrin yolla gerçekleştiğine dair hipotezi desteklemektedir.

Kawaguchi ve arkadaşları sistemik sklerozda fibroblastların konstitusyonel olarak IL-1 $\alpha$  mRNA ve proteininin indüksiyonuna neden olduğunu bunun da sistemik skleroz fibroblastlarında görülen anormalliklerde önemli rolü olduğunu ortaya koymuşlardır(52,69). Konstitusyonel IL-1 $\alpha$  üretimi normal fibroblastlar veya romatoid artrit gibi diğer inflamatuvar hastaların fibroblastlarında gözlenmeyip sklerodermal fibroblastlara özgü bir bulgudur. İlginç olarak, konstitusyonel IL-1 $\alpha$

üretimi sklerodermada hastalık tutulumu olmayan cilt bölgelerindeki fibroblastlarda gözlenmemiştir. Sınırlı ve diffüz sistemik sklerozlu hastaların fibroblastları arasında IL-1 $\alpha$  sentezi yönünden anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Bizim hastalarımızın biri hariç (lokalize form) hepsi diffüz kutanöz tipte olduğu için, hastalarımızda sınırlı ve diffüz gruplar arası kıyaslama şansımız olmamıştır.

IL-1 sentezi hücreler arası etkileşim, monosit/makrofaj aktivasyonu ve farklılaşması ile PGE2'den etkilenir. Bu sistemlerce IL-1 aktivite inhibitörü üretilir ki bu da IL-1'in invivo etkilerini tayin etmede önemli olabilir. Bazı araştırmacılar sistemik sklerozda IL-1 düzeylerinin az olması veya tespit edilmemesini iki hipotezle açıklamışlardır(51). Birincisi, IL-1 sentezi monosit/makrofaj aktivasyonunun durumuna, hücre etkileşimlerine ve inhibitör hücre veya maddelerin varlığına göre az olabilir. İkinci olarak, normal IL-1 sentezi mevcuttur fakat, henüz tanımlanamayan maddelerce IL-1'in faaliyeti inhibe edilmektedir.

Çalışmamızda IL-1 $\alpha$  düzeylerinin düşük bulunması daha önceki benzer çalışmalarla desteklenir niteliktedir. IL-1 düzeyleri yönünden önceki çalışmalarda çelişkiler vardır. Hastalığın evresi ve tipi IL-1 $\alpha$  düzeyleri üzerinde etkili olabilir. Ancak bu konuda bir kıyaslama olanağımız yoktur. Ayrıca IL-1 $\alpha$  öncelikli olarak doku makrofajlarında sentezlendiği için bu sitokinin sklerodermalı dokularda (cilt, akciğer, gastrointestinal sistem vs) incelenmesi yararlı olacaktır.

Literatürde romatoid artritli hastaların periferik kan mononükleer hücreleri tarafından normal bireylere göre daha fazla miktarlarda IL-1 sentezinin olduğuna dair bir takım çalışmalar vardır(49,53). Aynı çalışmalarda, skleroderma ve SLE'li hastaların monositlerinde IL-1 üretimi de azalmış olarak bulunmuştur(53).

Çalışmamızda RA'li hastalarda sağlıklı kontrol grubuna kıyasla serum IL-1 $\alpha$  düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi ( $p=0.0013$ ). IL-1 $\beta$  düzeyleri yönünden değerlendirildiğinde her iki grup arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi. RA'li hastalarımızın 6'sı altın, 4'ü de sulfasalazin kullanmaktaydı. Bu hastalardan 4'ü ek olarak NSAİD ilaç almaktaydı. Biyolojik yanıtı modifiye edici

bu ilaçları kullanan 10 hastada (%47.6) IL-1 $\alpha$  düzeyleri, kontrol ortalamasına standart sapmanın iki katı eklenerek elde edilen cut-off değerlerine göre düşük bulundu. Buna karşılık ilaç tedavisi almayan 11 RA'li (% 52.4) hastada da IL-1 $\alpha$  değerleri düşüktü. İlaç tedavisi alan ve almayan RA'li hasta grupları arasında IL-1 $\alpha$  düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Romatoid artritli sinoviyal sıvıda IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  protein düzeyleri artmakla birlikte, IL-1 $\beta$  biyoaktivite düzeyi değişkenlik gösterir. Kanda IL-1 $\beta$  bulunabilir ve hastalık aktivitesi ile genellikle korrelasyon gösterir. Romatoid artritte hücre süpernatantlarında ve idrar örneğinde gösterilen IL-1 inhibitörlerinin IL-1 sentezini ve IL-1 reseptör ekspresyonunu azaltabileceği öne sürülmektedir(46).

Newman ve arkadaşlarının çalışmalarında sodyum aurothiomalate'ın (SAT) endotel hücrelerinin TNF, IL-1, IL-4 ile stimülasyonu sonrası açığa çıkan VCAM-1 ve E-selectin gibi adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu inhibe ettiği fakat ICAM-1 inhibisyonuna yol açmadığı bildirilmiştir(70). Loetscher ve ark.nın yaptığı bir çalışmada SAT'ın romatoid sinoviyal hücrelerde MCP-1 (monosit kemoatraktan protein) ve IL-8 sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir(71). Yine aynı çalışmada NSAİD ilaçların prostoglandin sentezini inhibe ettiği fakat kemotaktik sitokinlerin sentez ve salınımları üzerinde etkili olmadığı bildirilmiştir. Yanni ve arkadaşları altın tedavisi sonrası sinoviyal membranda IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  ekspresyonunda azalma olduğunu, böylece altının sinoviyal membranda monosit ve makrofaj sayılarını dolayısıyla monokin sentezini azaltarak RA hastalık aktivitesini suprese ettiğini tespit etmişlerdir(72). Romatoid artritte tedavide kullanılan immünomodülatör ilaçların IL-1 sentezi ve IL-1'in biyolojik etkileri üzerindeki etkilerinin anlaşılabilmesi amacıyla daha çok çalışmaya gereksinim vardır.

İnterlökin-6 esas olarak endotel hücresi ile monosit/makrofaj sistemi tarafından salgılanan, bilinen immünomodülatör etkileri olan pluripotent bir sitokindir(73).

IL-6, RA ve SLE gibi otoimmün ve/veya inflamatuvar hastalıkların



patogenezinde rol oynar. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda IL-6'nın sistemik skleroz patogenezinde de yer aldığı gösterilmiştir. IL-6 ve anti IL-6 otoantikoru sistemik sklerozlu hastaların serumlarında kontrollere nazaran daha çok sıklıkta tespit edilmiştir (74). Ayrıca sklerodermalı hastalardan alınan kan örneklerinde lenfositlerin ve cilt tutulumu olan bölgelerdeki fibroblastların aşırı miktarlarda IL-6 sentezlediği bildirilmiştir(44).

Çalışmamızda sistemik sklerozlu olgularda serum IL-6 düzeyleri sağlıklı kontrol grubundaki bireylerin IL-6 düzeylerine göre belirgin olarak artmış bulunmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu bulguyu sistemik sklerozlu hastalardaki serum IL-6 düzeylerinin standart sapmalarının oldukça geniş bir aralıkta yer almasına bağlayabiliriz. RA grubundaki hastalarda ise sağlam kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum IL-6 düzeylerinde anlamlı bir artış tespit edildi ( $p=0.027$ ). Needleman ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada skleroderma serumlarında kontrollere göre anlamlı bir artış tespit edilmiştir(48). Crestani ve arkadaşlarının yer aldığı bir çalışmada ise, akciğer tutulumu olan sistemik sklerozlu hastaların lenfositlerinden spontan olarak ve stimülasyon sonrası IL-6 sekresyonunda sağlıklı kontrol grubundakilere göre belirgin artış gözlendiğini, fakat alveolit bulunmasına rağmen alveolar makrofajlardan IL-6 sekresyonunun normal sınırlarda olduğunu bildirmişlerdir(73). Çalışmamızda akciğer tutulumu olan sklerodermalı hastaların %31.2'sinde IL-6 düzeyleri yüksek bulundu.

IL-6, IL-1 ve IL-2'ye karşı T hücre yanıtını artırmak ve IL-2 biyosentezini indüklemek suretiyle allojenik sitolitik T hücre yanıtının oluşumuna neden olur. Böylece T hücre fonksiyonlarını etkiler(31). Aynı zamanda IL-6, PHA ve Con A varlığında T hücre farklılaşmasını indükler. Kahaleh ve arkadaşları sistemik sklerozda, invitro ortamda IL-6'nın T lenfositlerde yüksek afiniteli IL-2 reseptör ekspresyonunu artırdığını göstermişlerdir(31). Çalışmamızda sklerodermalı hasta ve kontrol gruplarında serum sIL-2R düzeyleri ile IL-6 düzeyleri arasında anlamlı bir korrelasyon tespit edilmedi( $r=-0.002, r=0.089, p>0.05$ ). Sistemik sklerozda sıklıkla

görülen bir bulgu olan endotel hücre hasarının patogeneğinde, IL-6 T hücre sitotoksik yanıtını artırarak rol oynar(50). Stuart ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada serum IL-6 düzeylerinin aktif SLE, SSc ve RA'te yükseldiği tespit edilmiştir (58). Bu çalışmada, IL-6 düzeylerindeki artışın SLE ve SSc'da akut faz yanıtı ile zayıf korrelasyon gösterdiği, fakat hastalık aktivitesi ile IL-6 düzeyleri arasında kuvvetli bir ilişkinin varlığı bildirilmiştir. Buna göre, SLE ve SSc gibi karaciğerde normal akut faz yanıtının oluşmadığı durumlarda serum IL-6 düzeylerinin hastalık aktivitesini belirlemede yararlı bir kriter olduğu söylenebilir. Bu hastalıklarda hepatik disfonksiyonun mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte, akut faz yanıtını oluşturmadaki yetersizlik uygun sitokin uyarısının oluşturulamamasına bağlanamaz.

Konnektif doku hastalıklarında lokal veya sistemik olarak aşırı miktarlarda IL-6 sentezlenmesi, otoantikor oluşumuna neden olmak suretiyle bu hastalıkların patogeneğinde önemli bir rolü olabilir.

Bruns ve arkadaşları sistemik sklerozda IL-6 düzeylerinin yükseldiğini fakat fibroblastlarda normallere göre IL-6 sentezinde artışa rastlanmadığını bildirmiştir(75). Buna karşılık Kahaleh ve arkadaşları sklerodermal fibroblastlarda IL-1 ve IL-6'ya yanıtın ve ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (31). Buna destekler nitelik bir bulguda Koch ve ark. tarafından bildirilmiştir. Buna göre sistemik sklerozda normal endotel hücre ve fibroblastlarınkine göre IL-6 ekspresyonunda artış olmaktadır(76).

Feghali ve arkadaşlarının çalışmalarında skleroderma tutulumu olan cilt bölgelerinde IL-6 sentezinin belirgin olarak artmış olmasına rağmen, serum IL-6 konsantrasyonlarında kontrollere göre anlamlı bir artış saptanmamıştır(57). Buna dayanarak, SSc'de tutulum olan bölgelerdeki fibroblastlardan IL-6'nın fazla miktarlardaki sentezinin sistemik IL-6 düzeylerindeki artış ile korrelasyon göstermesinin şart olmadığı, IL-6 konsantrasyonunun lokal olarak yükselebileceğini öne sürmüşlerdir.

Çalışmamızdaki sistemik sklerozlu hasta sayısının artırılmasıyla hasta popülasyonunda homojenlik sağlanabileceği böylece serum IL-6 düzeylerindeki belirgin artışın istatistiksel olarak anlamlı bir düzeye çekilebileceği inancındayız.

İstirahat fazındaki T lenfositlerinin aktivasyonundan kısa bir süre sonra hücre yüzeylerinde IL-2 reseptörleri(IL-2R) belirir. Hücre yüzeyindeki yüksek afiniteli IL-2R'ü hücrenin bu lenfokine (IL-2) yanıt olarak proliferasyonuna ortam hazırlar. Hücre yüzeyinde IL-2R ekspresyonu iki günde maksimum düzeye ulaşır ve daha sonra azalır. Hücre üzerindeki IL-2R ekspresyonundaki azalmayla birlikte eş zamanlı olarak süpernatant kültürlerinde serum IL-2R ekspresyonu ortaya çıkar. Çevre ortamına atılan veya salgılanan bu glikoproteinler yaklaşık 45.000 D molekül ağırlığındadır. Serum IL-2R'nün IL-2'ye bağlanabildiği gösterilmiştir(77,78). İmmün sistem aktivasyonu ile giden hastalıklarda serum IL-2R düzeylerinde artış gözlenmiştir. Campen ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada serum sIL-2R düzeylerinin SLE ve RA'li hastalarda hastalık aktivitesini gösteren diğer klinik ve laboratuvar göstergelerle korrele olduğunu tespit etmişlerdir(78). Bu bulgu Symons ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmayla da desteklenmektedir(79). Bu çalışmada RA'li hastaların serumlu ve sinoviyal sıvılarında sağlıklı kontroller ve osteoartritli hastalar ile karşılaştırıldığında sIL-2R düzeylerinde belirgin bir artış olduğu gözlemlenmektedir. Aynı çalışmada RA'li hastalarda sIL-2R düzeylerinin hastalık aktivitesi ile güçlü korrelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Degiannis ve arkadaşları sistemik sklerozlu hastalarda serum sIL-2R düzeylerinde kontrollere göre belirgin artış olduğunu tespit etmişlerdir(59).

Çalışmamızda da, literatür verilerinde olduğu gibi sistemik sklerozlu ve romatoid artritli hastalarda kontrollere kıyasla serum sIL-2R düzeylerinde anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Kantor ve arkadaşları tüm skleroderma gruplarında kronik immün hücre aktivasyonunun bir bulgusu olarak serum sIL-2R düzeylerinin yükseldiğini bildirmişlerdir (64). Aynı çalışmada kronik aktivasyonun özellikle sIL-2R düzeylerinde belirgin artış bulunan erken dönem diffüz hastalığı olan

sklerodermalılarda daha belirgin olduğu bildirilmiştir. Literatürde invitro ortamda monosit ve B lenfositlerden salınan sIL-2R düzeylerinin aktive T lenfositlerden açığa çıkan sIL-2R düzeylerine göre çok daha az miktarlarda olduğuna dair çalışma sonuçları yer almaktadır (80,81). Famuloro ve ark. çalışmalarında sistemik sklerozlu olgularda serum sIL-2R düzeylerinin arttığını, bunun da T hücre aktivasyonunun bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir(80). Uziel ve arkadaşları lokalize skleroderma vakalarında da sIL-2R düzeylerinin arttığını, hastalık aktivitesi ile korrelasyon gösterdiğini, bunun da hücrel immün sistemin aktivasyonunun bir kanıtı olduğunu rapor etmişlerdir(82).

Sistemik sklerozun farklı klinik formlarında açıklanmayan birçok gözlem bulunmaktadır. Örneğin erken dönemde generalize sistemik sklerozdaki hızlı progresyon ile sınırlı sistemik sklerozdaki yavaş seyirli hastalık süreci arasındaki farkın açıklaması tariflenememektedir. Yine geç dönemde generalize sistemik sklerozda görülebilen spontan iyileşmenin hangi mekanizma ile oluştuğu henüz tam olarak bilinmemektedir. Hastalığın klinik belirtilerini yorumlamada çekilen güçlük patogenezinin tam olarak anlaşılmasından ve hastalık aktivitesini gösteren güvenilir bir laboratuvar indeksi bulunmamasından kaynaklanmaktadır(59).

Generalize hastalığı bulunan olgularda sIL-2R düzeylerinin en yüksek düzeylerde olduğunu ve bunun mortaliteyle yakından ilişkisi olduğunu yaptıkları çalışmada Degiannis ve arkadaşları göstermişlerdir(59). Aynı çalışmada sIL-2R düzeylerinin hastalık süresi ile ters bir ilişki gösterdiği fakat cinsiyet, yaş, spesifik viseral tutulum, serolojik bulgular veya tedavi ile ilişkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu bulgular Kahaleh ve LeRoy'un çalışmasıyla da desteklenmektedir(18). Bu çalışmada IL-2 düzeyleri ile hastalık süresi arasında ters bir ilişki olduğu, tutulumunun boyutları ile IL-2 düzeylerinin ise pozitif korrelasyon gösterdiği bildirilmiştir.

Her iki çalışmanın sonuçları gözönüne alındığında sistemik sklerozda lenfosit aktivasyonu olduğu, hastalık şiddetinin ve progresyonunun buna bağlı olduğu

söylenbilir.

İnflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda, hastalık aktivitesi izleminde değişik serolojik testler kullanılmaktadır. ESH serolojik bir gösterge olarak genellikle en çok RA hastalarını monitorize etmede faydalı bulunmuştur(83). Fakat bir çalışmada tam remisyonunda olan RA'li hastaların %16'sında, parsiyel remisyonda olanların ise %38'inde ESH > 30 mm/st olarak bulunmuştur (84). SLE'lu hastalarda da hastalık aktivitesi ile sedimentasyon hızı arasında bir korrelasyon olmadığı iyi bilinmektedir. Buna karşılık RA ve SLE hastalarında hastalık aktiviteleri ile sIL-2R düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (78). Bu hastalarda aynı korrelasyon sedimentasyon hızı ile gösterilememiştir. Bizim çalışmamızda, sistemik sklerozlu hastalarda yüksek sIL-2R düzeyleri ile visceral organ tutulumu, serolojik bulgular, hastalık süresi, ESH, dijital iskemi, hipertansiyon gibi klinik bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Bu bulgularımız literatür verileriyle desteklenmekle birlikte çalışmamızın nokta prevalansı özelliğinden dolayı klinik korrelasyon yapılmasının doğru olmadığı kanısındayız. Sitokin düzeyleri ile olası spesifik klinik bulgular arasındaki ilişkinin ancak prospektif bir çalışma sonrası anlamlı sonuç verebileceğini düşünmekteyiz.

Özetle, sIL-2R seviyesindeki yükselmeler hastalığa spesifik bir bulgu olmasa da immün aktivasyonun hassas bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Elde bulunan birçok araştırma sonuçlarına dayanarak sIL-2R düzeylerini tayin etmenin, klinik durumu, tedaviye yanıtı ve bazı hastalıklarda prognozu belirlemede basit, kolay bir laboratuvar parametresi olduğunu söyleyebiliriz(85).

Serum sIL-2R düzeylerindeki artış sistemik skleroza özgü bir bulgu olmayıp diğer otoimmün hastalıklarda da belirlenebilir. Fakat, bu veri gelecekte hastalığa spesifik immün mekanizmanın keşfedilmesine bir temel teşkil edebilir. Sistemik skleroz lezyonlarından sorumlu spesifik molekülleri tariflemek ve T hücre aktivasyon mekanizmalarını berraklaştırmak amacıyla yapılacak çalışmalar, gelecekte skleroderma tedavisinde spesifik biyolojik terapi yöntemlerini gündeme

getirecektir.

Sistemik skleroz lenfosit subgruplarında dengesizlikler gibi bazı immünolojik anormalliklerin görüldüğü bir hastalıktır(86). Yakın zamana dek sistemik sklerozda T ve B lenfosit aktivasyon (subgrup) belirleyicileri geniş olarak çalışılmamıştır. Yeni monoklonal antikörlerin ve "flow cytometry" analizinin geliştirilmesiyle birlikte T hücre populasyonlarını farklı fenotipik alt gruplara ayırmak kolaylaşmıştır. Sistemik sklerozda karakteristik olarak periferik kan T lenfositlerde CD4+ T hücre oranlarında artış, CD8+ supressor/sitotoksik hücre oranlarında ise azalma görülmüştür(39).

Çalışmamızda sklerodermalı hastaların periferik kan örneklerinde CD4, CD8 ve CD25 düzeyleri sağlıklı kontrol grubundakilerle karşılaştırıldığında her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. CD8+ T hücrelerinin kaybının daha çok sınırlı kutanöz sistemik sklerozlu hastaların ileri evrelerinde tespit edildiğini gözönüne alırsak, bizim çalışma grubumuzdaki hastaların diffüz formda bulunması nedeniyle CD8+ düzeylerinde azalma beklenmediğini söyleyebiliriz(39).

CD4/CD8 oranlarında sağlıklı kontrollere göre belirgin artış kaydedilmişse de bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Degiannis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da hemen hemen benzer sonuçlar elde edilmiştir(44). Bu çalışmada CD4+ ve CD3+ T lenfositlerinde kontrol grubundakilerle kıyaslandığında aralarında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Öte yandan, aynı çalışmada sklerodermalı hastaların CD8+ lenfosit düzeylerinde kontrollere göre anlamlı bir azalma saptanmıştır. CD4 alt grupları yönünden skleroderma ve kontrol hastalar kıyaslandığında CD4/4B4+ (inducer of helper) ve CD4/2H4+ (inducer of supressor) düzeyleri arasında da anlamlı bir fark bulunamamıştır. Melendro ve arkadaşlarının çalışmasında ise bizim çalışmamızı destekler nitelikte sonuçlar göze çarpmaktadır. Buna göre, sistemik sklerozlu olgular ile normal kontrol grubu CD4, CD8, ve CD4/CD8 T lenfosit oranları açısından karşılaştırıldığında arada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır(87).

Umehera ve ark. sistemik sklerozlu hastalardan alınan taze kan örneklerindeki mononükleer hücrelerde lenfosit yüzey belirleyicileri çalışmışlar ve hastalar ile normal kontroller arasında CD4+, CD8+ ve CD4/CD8 T lenfosit oranları yönünden anlamlı bir farklılık tespit edememişlerdir(88). Aynı çalışmada sistemik sklerozlu ve normal grubun periferik kan mononükleer hücrelerinin PHA ile stimülasyonu sonrası tekrarlandığında sistemik sklerozlu hastalarda CD8+ lenfositlerde belirgin azalma ( $p < 0.01$ ) ve CD4/CD8 oranlarında anlamlı bir artma saptamışlardır.

Bu bulgulara dayanarak çalışmamızdaki bulguların literatürde yer alan bazı çalışma sonuçlarıyla genel olarak uyumlu olduğunu söyleyebiliriz de aradaki bazı değişiklikleri kullanılan metod farkı ile açıklayabileceğimiz düşüncesindeyiz. PHA gibi bir mitojenle stimülasyon sonrası çalışmamızdaki bulguların daha anlamlı sonuçlar verebileceği kanısındayız.

Bruns ve arkadaşları çalışmalarında aktif sistemik sklerozlu olgularda CD25+ ve CD71+ gibi T lenfosit aktivasyon belirleyicilerinin ekspresyonunda bir artış gözlemlendiğini bildirmişlerdir(75). Çalışmamızda sistemik sklerozlu hastaların serumlarında CD25 düzeylerinde bir artış gözlemlenmedi. Ayrıca sistemik sklerozlu hastalarda CD25 düzeyleri ile sIL-2R düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon tespit edilmedi( $r=0.182, p > 0.05$ ). Hücre ekspresyonu sonrası vücut sıvılarına salınan sitokinlerin çoğu zaman hücre yüzeyinde ekspresyonu azalmış olabilir. Bu nedenle çalışmamızdaki sistemik sklerozlu olguların serumlarında sIL-2R düzeylerinin artmış olması nedeniyle CD25 düzeylerinin de artmasının şart olmadığı düşüncesindeyiz. Bunun yanında RA kontrol grubunda normal kontrollere göre CD4 ve CD25 düzeylerinde tespit ettiğimiz anlamlı artış T hücre aktivasyonunun bir göstergesi olarak literatür bulgularıyla uyumludur (89).

Tüm bu araştırma sonuçlarından anlaşıldığı gibi T hücre subpopulasyonlarının monoklonal antikolar kullanılarak belirlenmesinin klinik önemi sınırlıdır.

Otoimmün hastalıklarda görülebilen sitokin ağındaki anormallikler vücut sıvılarında sitokin düzeylerinin ölçümü veya izole edilmiş hücre populasyonlarındaki sitokin üretiminin tayini ile belirlenebilir.

Serum sitokin düzeylerinin kronik olarak artmış olması persistan invivo aktivasyonun bir göstergesi olarak ele alınabilir. Fakat, her ne kadar lenfosit ve makrofaj aktivasyonu yüzey aktivasyon belirleyicilerinin ekspresyonu veya sIL-2R gibi diğer aktivasyon ürünlerinin sentezi ile kanıtlanmış olsa da, dolaşımda sitokinlerin yarı ömürlerinin kısa olması ve serum inhibitörlerinin varlığı gibi nedenlerle, serum sitokin düzeyleri nadiren yüksek bulunur (64).

Sklerodermalılarda serum sitokin düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmalar, bu hastalıkta sitokinlerin patogeneze olan potansiyel katkılarının anlaşılmasında tahmin edilenin altında bilgi verebilir.



## SONUÇ

Sistemik sklerozda immün sistem aktivasyonunun hastalık patogenezinin katkısını araştırmak amacıyla yürütölen bu çalışmada, biri lokalize sklerodermalı, 24'ü diffüz kutanöz SSc'lu toplam 25 hastanın serum IL-1 $\alpha$  düzeylerinde belirgin bir azalma gözlemlendi. Bu hastaların serum IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri belirgin olarak artmış bulunmasına rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Sistemik sklerozlu hastaların serum sIL-2R düzeylerinde ise önemli bir yükselme tespit edildi.

Sistemik sklerozlu olguların CD4, CD8, CD25 düzeyleri ve CD4/CD8 oranlarında sağlıklı kontrollere göre farklılık gözlemlenmedi.

Serum sIL-2R düzeyleri ile eritrosit sedimentasyon hızı, CD25 düzeyleri, organ tutulumları gibi klinik bulgular arasında önemli bir ilişki bulunmadı.

Sonuçta, sistemik sklerozlu hastaların serum IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeylerindeki nisbi, sIL-2R düzeylerindeki belirgin yükselme, hastalık patogenezinin kronik immün aktivasyonun katkısının bir göstergesi olarak yorumlandı.

## ÖZET

İmmün sistem tarafından salgılanan sitokinler sistemik sklerozda fibrozis gelişimine ve vasküler zedelenmeye yol açabilir.

Çalışmamızda, sistemik skleroz patogenezinde immün mekanizmaların rolünü incelemek amacıyla serum sitokin düzeyleri ve lenfosit yüzey belirleyicileri tayini yapıldı. Bu nedenle biri lokalize, 24'ü diffüz kutanöz sklerodermalı 25 hasta ile 21 aktif romatoid artrit hastası ve 21 sağlıklı kontrol çalışma grubuna dahil edildi. Sistemik sklerozlu hastalar cilt, kardiyovasküler, pulmoner, gastrointestinal ve renal sistem gibi organ tutulumları yönünden incelendi. Ayrıca antinükleer antikorlar, anti-DNA, romatoid faktör, anti-Sc1-70, anti-SSA, anti-SSB, anti-RNP, anti-Sm gibi immünolojik parametreler tüm hastalarda ve sağlıklı kontrollerde araştırıldı.

Sistemik sklerozlu ve RA'li hastalar ile sağlıklı kontrollerde sitokin düzeyleri mikro-elisa yöntemi ile lenfosit yüzey belirleyicileri "flow cytometry" yöntemi ile çalışıldı.

IL-1 $\alpha$  sistemik sklerozlu hastalarda sağlam kontrollere göre düşük bulundu. IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri SSc'lu hastalarda normal kontrollere göre belirgin artış göstermesine rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Soluble IL-2R düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı bir yükselme göstermekteydi.

Serum sitokin düzeyleri ile organ tutulumu, eritrosit sedimentasyon hızı, Raynaud fenomeni ve dijital ülser gibi klinik bulgu ve belirtiler arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Lenfosit yüzey belirleyicilerinden CD4, CD8, CD25 ve CD4/CD8 düzeylerinde sistemik sklerozlu hastalarda normal kontrollere göre bir fark tespit edilmedi.

Sonuç olarak, IL-1 $\beta$  ve IL-6 sistemik sklerozda hastalık oluşumuna katkıda bulunabilir. Bu hastalarda sIL-2R'nin yüksek düzeylerde bulunması kronik immün hücre aktivasyonunun bir bulgusu olarak yorumlanmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Berstein RM, Steigerwald JC, Tan EM: Association of antinuclear and antinucleolar antibodies in progressive systemic sclerosis. Clin Exp Immunol 1982; 48: 43-51.
2. Seibold JR: Connective tissue diseases characterized by fibrosis Kelley WN, Harris ED Jr, Ruddy S, Sledge CM: Textbook of Rheumatology içinde, 3rd Ed. WB Saunders Company, Philadelphia 1993; s: 1113-43.
3. Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee: Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis: Arthritis Rheum 1980; 23: 581-90.
4. Gilliland BC: Systemic sclerosis (scleroderma): Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Martin JB, Fauci AS, Root RK: Harrison's Principles of Internal Medicine içinde, 12 th Ed. McGraw-Hill Inc. 1991; s: 1443-48.
5. Silman AJ: Epidemiology of scleroderma. Ann Rheum Dis 1991; 50: 846-53.
6. Steen VD, Powel DL, Medsger TA Jr: Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. Arthritis Rheum 1988; 31: 196-203.
7. Silver RM: Clinical aspects of systemic sclerosis (scleroderma). Ann Rheum Dis 1991; 50: 854-61.
8. Rudnicka L, Varga J, Christiano AM, et al: Elevated expression of type VII collagen in the skin of patients with systemic sclerosis. J Clin Invest 1994; 93:1709-15.
9. Gabrielli A, Loreto CD, Taborro R, et al: Immunohistochemical localisation of intracellular and extracellular associated TGF- $\beta$  in the skin of patients with systemic sclerosis (scleroderma) and primary Raynaud's phenomenon. Clin Immunol Immunopathol 1993; 68: 34-49.

10. Border WA, Ruoslahti E: Transforming growth factor- $\beta$  in disease: The dark side of tissue repair. *J Clin Invest* 1992; 90: 1-7.
11. Higley H, Persichitte K, Chu S, et al: Immunocytochemical localisation and serologic detection of transforming growth factor- $\beta$ 1. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 278-88.
12. Sfikakis PP, McCune BK, Tsokos M, et al: Immunohistological demonstration of transforming growth factor- $\beta$  isoforms in the skin of patients with systemic sclerosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1993; 69: 199-204.
13. Gruschwitz M, Müller PU, Sepp N, et al: Transcription and expression of transforming growth factor type beta in the skin of progressive systemic sclerosis: A mediator of fibrosis. *J Invest Dermatol* 1990; 94: 197-203.
14. LeRoy EC, Smith EA, Kahaleh MB: A strategy for determining the pathogenesis of systemic sclerosis. *Arthritis and Rheum* 1989; 32: 817-25.
15. Kahaleh MB, Osborn I, LeRoy EC: Increased factor VIII/von Willebrand factor antigen and Von Willebrand activity in scleroderma and in Raynaud's phenomenon. *Ann Intern Med* 1981; 94 (Part I): 482-84.
16. Fleischmajer R, Perlish JS, Duncan M: Scleroderma. *Arch Dermatol* 1983; 119: 957-62.
17. Senaldi G, Lupoli S, Vergani D, et al: Activation of the complement system in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 1262-67.
18. Kahaleh MB, LeRoy EC: Interleukin-2 in scleroderma: Correlation of serum level with extent of skin involvement and disease duration. *Ann Intern Med* 1989; 110: 446-50.
19. Iserberg DA, Black C: Raynaud's phenomenon, scleroderma and overlap syndromes. *Br Med J* 1995; 310: 795-98.
20. Falanga V, Medsger TA, Reichlin M: Linear Scleroderma. *Ann Intern Med* 1986; 104: 849-57.

21. Tashkin DP, Clements PJ, Wright RS, et al: Interrelationships between pulmonary and extrapulmonary involvement in systemic sclerosis. *Chest* 1994; 105: 489-95.
22. Silver RM, Metcalf JF, Stanley JH, et al: Interstitial lung disease in scleroderma. *Arthritis and Rheum* 1984; 27: 1254-63.
23. Dawney A, Wilson AG McT, Lamb E, et al: Microalbuminuria in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 384-88.
24. Ellis WW, Baer AN, Robertson RM, et al: Left ventricular dysfunction induced by cold exposure in patients with systemic sclerosis. *Am J Med* 1986; 80: 385-92.
25. Alexander EL, Firestein GS, Weiss J, et al: Reversible cold-induced abnormalities in myocardial perfusion and function in systemic sclerosis. *Ann Intern Med* 1986; 105: 661-668.
26. Tan EM, Rodnan GP, Garcia I, et al: Diversity of antinuclear antibodies in progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 617-25.
27. Craft J, Hardin JA: Antinuclear antibodies. Kelley WN, Harris EDJr, Ruddy S, Sledge CB: *Textbook of Rheumatology içinde*, 3rd Ed WB Saunders Company Philadelphia 1993; s:164-187.
28. Reimer G: Autoantibodies against nuclear, nucleolar, and mitochondrial antigens in systemic sclerosis (scleroderma). *Rheum Dis Clin North Am* 1990; 16: 169-183.
29. McHugh NJ, Whyte J, Artlett C, et al: Anti-centromere antibodies (ACA) in systemic sclerosis patients and their relatives: a serological and HLA study *Clin Exp Immunol* 1994; 96: 267-74.
30. LeRoy EC: Systemic sclerosis (Scleroderma). Wyngaarden JB, Smith LH, Bennett JC: *Cecil Textbook of Medicine içinde*, 19th Ed. WB Saunders Company, 1992; s: 1530-35.
31. Kahaleh MB, Tinggui Y: Enhanced expression of high affinity interleukin-2 receptors in scleroderma: Possible role for IL-6. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 62: 97-102.

32. Clements PJ, Lachenbruch PA, Sterz M, et al: Cyclosporine in systemic sclerosis, *Arthritis Rheum* 1993; 36: 75-83.
33. Steen VD, Medsger TA Jr, Rodnan GP: D-Penicillamine therapy in progressive systemic sclerosis(Scleroderma) *Ann Intern Med* 1982; 97: 652-59.
34. Klippel JH, Gourley MF: Connective tissue disorders Rakel RE: *Conn's Current Therapy içinde*, WB Saunders Company s: 771-777.
35. Glassock RJ: Progressive systemic sclerosis. Massry SG, Glassock RJ: *Textbook of Nephrology içinde*, 3rd Ed. Williams, Wilkins, 1995; s: 827-829.
36. Kay NE, Douglas SD: Morphology of lymphocytes and plasma cells. Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman MA: *Hematology içinde*, 4th Ed. McGraw Hill Publishing Company 1991; s:905-18.
37. Whiteside TL, Kumagar Y, Roumm AD, et al: Suppressor cell function and T lymphocyte subpopulations in peripheral blood of patients with progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1983; 26: 841-47.
38. Kondo H, Rabin BS, Rodnan GP: Cutaneous antigen-stimulating lymphokine production by lymphocytes of patients with progressive systemic sclerosis (scleroderma). *J Clin Invest* 1976; 58: 1388-94.
39. Gustafsson R, Tötterman TH, Klareskog L, et al: Increase in activated T cells and reduction in supressor inducer T cells in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 1990; 49: 40-5.
40. Gupta S, Malaviya AN, Rajagogalan P, et al: Subsets of human T lymphocytes: Imbalance of T cell population in patients with progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 1979; 38:342-8.
41. Alarcon-Segoura D, Palacios R, De Kasek GJ: Human post-thymic precursor cells in health and disease: Immunoregulatory circuits of the peripheral blood mononuclear cells from patients with progressive systemic sclerosis. *J Clin Lab Immunol* 1981; 5: 143-8.

42. Keystone EC, Lau C, Gladman DD, et al: Immunoregulatory T cell subpopulations in patients with scleroderma using monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol* 1982; 48: 443-8.
43. Freundlich B, Jimenez A: Phenotype of peripheral blood lymphocytes in patients with progressive systemic sclerosis: Activated T lymphocytes and the effect of D-penicillamine therapy. *Clin Exp Immunol* 1987; 69: 375-84.
44. Degiannis D, Seibold JR, Czarnecki M, et al: Soluble and cellular markers of immune activation in patients with systemic sclerosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 56: 259-70.
45. Majewski S, Blaszczyk M, Wasik Maria: Natural killer cell activity of peripheral blood mononuclear cells from patients with various forms of systemic scleroderma. *Br J Dermatol* 1987; 116: 1-8.
46. Arend WP, Dayer JM: Cytokines and growth factors. Kelley WN, Harris ED Jr, Ruddy S, Sledge CB: *Textbook of Rheumatology içinde*, 3rd Ed WB Saunders Company Philadelphia 1993; s: 227-47.
47. LeRoy EC, Trojanowska MI, Smith EA: Cytokines and human fibrosis. *Eur Cytokine Netw.* 1990; 1: 215-9 (Abstract).
48. Needleman BW, Wigley FM, Stair RW: Interleukin-1, interleukin-2, interleukin-4, interleukin-6, tumor necrosis factor  $\alpha$ , and interferon- $\gamma$  levels in sera from patients with scleroderma. *Arthritis Rheum* 1992; 35:67-73.
49. Dinarello CA: Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991; 77: 1627-52.
50. Kahaleh MB: Vascular disease in scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 1990; 16: 53-73.
51. Sandborg CI, Berman MA, Andrews BS, et al: Interleukin-1 production by mononuclear cells from patients with scleroderma. *Clin Exp Immunol* 1985; 60: 294-302.

52. Kawaguchi Y: IL-1 $\alpha$  gene expression and protein production by fibroblasts from patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 1994; 97: 445-50.
53. Whicher JT, Gilbert AM, Westacott C, et al: Defective production of leucocytic endogenous mediator (interleukin 1) by peripheral blood leucocytes of patients with systemic sclerosis, systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and mixed connective tissue disease. *Clin Exp Immunol* 1986; 65: 80-9.
54. Sandborg CI, Berman MA, Andrews BS, et al: Increased production of an interleukin 1 (IL-1) inhibitor with fibroblast stimulating activity by mononuclear cells from patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 1986; 66: 312-19.
55. Engel E, Charley M, Steen V, et al: Soluble interleukin 2 receptors in diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 542 (Abstract).
56. Romero LI, Pincus SH: In situ localization of interleukin-6 in normal skin and atrophic cutaneous disease. *Int Arch Allergy Immunol* 1992; 99: 44-9 (Abstract).
57. Feghali CA, Bost KL, Boulware DW, et al: Mechanism of pathogenesis in scleroderma: Over production of interleukin-6 by fibroblast cultured from affected skin sites of patients with scleroderma. *J Rheumatol* 1992; 19: 1207-11 (Abstract).
58. Stuart RA, Littlewood AJ, Maddison AJ, et al: Elevated serum interleukin-6 levels associated with active disease in systemic connective tissue disorders. *Clin Exp Rheumatol* 1995; 13: 17-22 (Abstract).
59. Degiannis D, Seibold JR, Czarnecki, et al: Soluble interleukin-2 receptors in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 375-80.
60. Postlethwaite AE: Early immune events in scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 1990; 16: 125-139.
61. Chen Z, Silver RM, Ainsworth SK, et al: Association between fluorescent antinuclear antibodies, capillary patterns, and clinical features in scleroderma spectrum disorders. *Am J Med* 1984; 77: 812-21.



62. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al: The American rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 31: 315-24.
63. Barrera P, Boerbooms AM Th, Janssen EM, et al: Circulating soluble tumor necrosis factor receptors, interleukin-2 receptors, tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin 6 levels in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 1070-79.
64. Kantor TV, Friberg D, Medsger TA Jr, et al: Cytokine production and serum levels in systemic sclerosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 65: 278-85.
65. Kahaleh MB: Soluble immunologic products in scleroderma sera. *Clin Immunol Immunopathol* 1991; 58: 139-144.
66. Alocer VJ, Martinez RE, Alarcon S: Spontaneous production of and defective response to, interleukin 1 by peripheral blood mononuclear cells from patients with scleroderma. *Clin Exp Immunol* 1985; 59: 666-72.
67. Umehara H, Kumagai S, Murakami M, et al: Enhanced production of interleukin and tumor necrosis factor, by cultured peripheral blood monocytes from patients with scleroderma. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 893-897.
68. Schmidt J, Mizel S, Lohen B, et al: Interleukin-1: A potential regulator of fibroblast proliferation. *J Immunol* 1982; 128: 1277-1282.
69. Kawaguchi Y, Harigai M, Hara M, et al: Increased interleukin receptor, type I, at messenger RNA and protein level in skin fibroblasts from patients with systemic sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 184: 1504-10 (Abstract).
70. Newman PM, To SS, Robinson BG, et al: Effect of gold sodium thiomalate and its thiomalate component on the invitro expression of endothelial cell adhesion molecules. *J Clin Invest* 1994; 94: 1867-71.
71. Loetscher P, Dewald B, Baggiolini M, et al: Monocyte chemoattractant protein 1 and interleukin 8 production by rheumatoid synoviocytes. Effects of antirheumatic drugs. *Cytokine* 1994; 6: 162-70 (Abstract).

72. Yanni G, Nabil M, Farahat MR, et al: Intramuscular gold decreases cytokine expression and macrophage numbers in the rheumatoid synovial membrane. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 315-22.
73. Crestani B, Seta N, Bandt M, et al: Interleukin-6 secretion by monocytes and alveolar macrophages in systemic sclerosis with lung involvement. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 1260-5.
74. Takemura H, Suzuki H, Yoshizaki K, et al: Anti-interleukin 6 autoantibodies in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 940-3.
75. Bruns M, Herrmann K, Hausteil UF: Immunologic parameters in systemic sclerosis. *Int J Dermatol* 1994; 33: 25-32 (Abstract).
76. Koch AE, Kronfeld Harrington LB, Szekanecz Z, et al: In situ expression of cytokines and cellular adhesion molecules in the skin of patients with systemic sclerosis. Their role in early and late disease. *Pathobiology* 1993; 61: 239-46 (Abstract).
77. Rubin LA, Jay G, Nelson DL: The released interleukin-2 receptor binds interleukin 2 efficiently. *J Immunol* 1986; 137: 3841-44.
78. Campen DH, Horwitz DA, Quismoria FP Jr, et al: Serum levels of interleukin-2 receptors and activity of rheumatic diseases characterized by immune system activation. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 1358-64.
79. Symons JA, Wood NC, Di Giovine FS, et al: Soluble IL-2 receptor in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 1988; 141: 2612-18.
80. Famularo G, Procopia A, Giacomelli R, et al: Soluble interleukin-2 receptor, interleukin-2 and interleukin-4 in sera and supernatants from patients with progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 1990; 81: 368-72.
81. Nelson DL, Rubin LA, Kurman CC, et al: An analysis of the cellular requirements for the production of soluble interleukin-2 receptors in vitro. *J Clin Immunol* 1986; 6: 114-120.

82. Uziel Y, Krafchik BR, Feldman B, et al: Serum levels of soluble interleukin-2 receptor. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 898-901.
83. Sox HC Jr, Liang MH: The erythrocyte sedimentation rate. *Ann Intern Med* 1986; 104: 515-23.
84. Pinals RS, Masi AT, Larsen RA: Subcommittee for criteria of remission in rheumatoid arthritis of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee: Preliminary criteria for clinical remission in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1981; 24: 1308-1315.
85. Rubin LA: The soluble interleukin-2 receptor in rheumatic disease. *Arthritis Rheum* 33: 1145-48, 1990.
86. Gorla R, Airo P, Malagoli A, et al: CD4+ and CD8+ subsets: naive and memory cells in the peripheral blood of patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol* 1994; 13: 83-7 (Abstract).
87. Melendro EI, Saldade C, Rivero SJ, et al: T-cell populations in the peripheral blood of patients with connective tissue diseases as determined by flow cytometry using monoclonal antibodies. *Clin Immunol Immunopathol* 1983; 27: 340-47.
88. Umehara H, Kumagai S, Ishida H, et al: Enhanced production of interleukin-2 in patients with progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 401-7.
89. Maurer D, Felzmann T, Holter W, et al: Evidence for the presence of activated CD4 T cells with naive phenotype in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 1992; 87: 429-34.

Olgu no	Sistemik		Romatoid Artrit		Sağlam Kontrol	
	IL-1A	Skleroz IL-1B	IL-1A	IL-1B	IL-1A	IL-1B
1	1.73	6.70	0	1.05	0	40.50
2	4.16	9.54	0	0	0	0
3	17	7.48	0	0	0	14.19
4	0	4.12	0	0	14.92	0
5	0	6.96	0	56.50	7.63	0
6	0	0	0	0	5.55	0
7	0	9.28	0	0	3.47	0
8	0	0.51	0	3.35	13.18	0
9	6.94	24.25	0	0	13.12	13.93
10	0	0	0	0	12.14	0
11	0	0	0	5.16	17.35	0.25
12	0	0	0	0	0.69	18.83
13	13.53	158.67	0	22.18	1.73	0
14	0	0	4.16	1.80	4.16	4.12
15	0	4.38	1.38	0	6.1	12.50
16	4.51	14.96	0	2.89	0	0
17	0	13.15	0	0	7.98	0
18	0	0	0	5.16	9.71	0
19	1.73	5.67	0	6.45	0	11.86
20	0.34	4.64	13.18	0	0	11.61
21	0	48.50	2.42	3.35	7.64	14
22	0	8.25				
23	0	0				
24	4.51	7.99				
25	4.54	17.02				

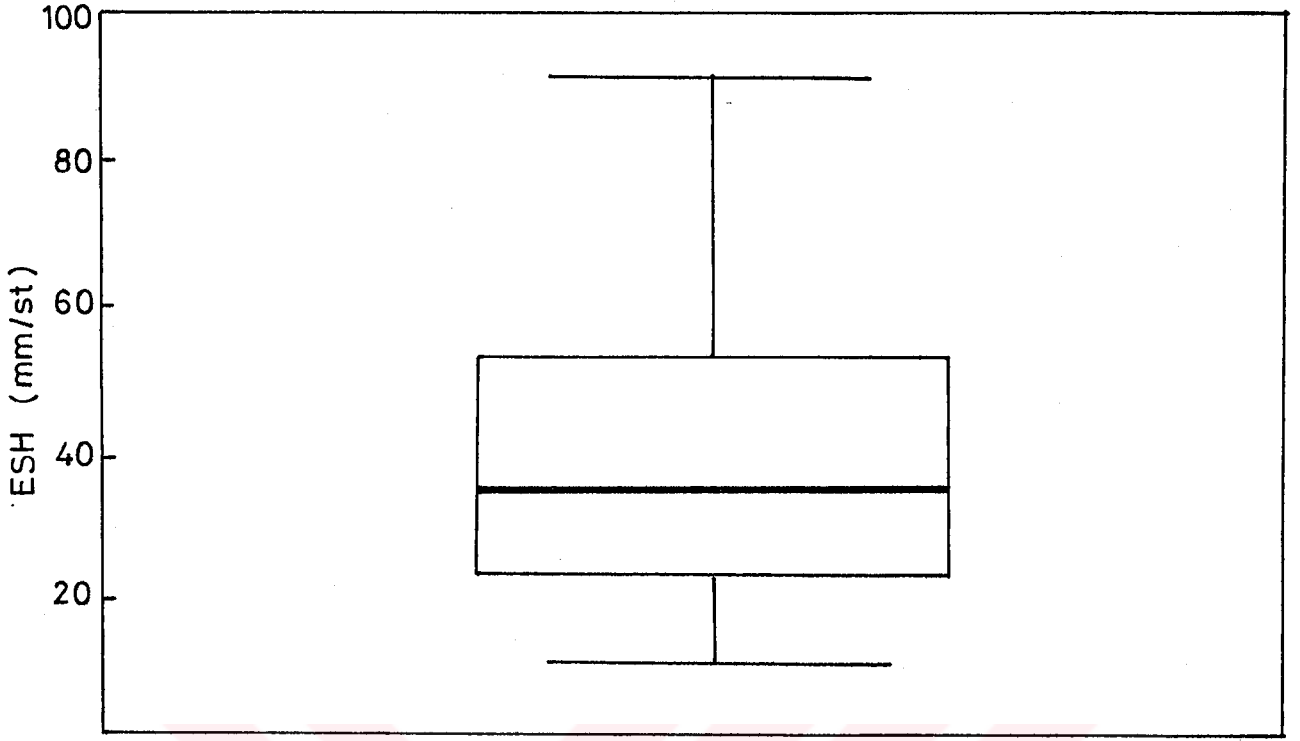
Tablo 10. SSC, RA hasta ve sağlam kontrollerde IL-1 $\alpha$  (IL-A) ile IL-1 $\beta$  (IL-B) değerleri (pg/ml)

Olgu no	Sistemik Skleroz		Romatoid Artrit		Sağlam Kontrol	
	IL-6	sIL-2R	IL-6	sIL-2R	IL-6	sIL-2R
1	101.68	13633.2	16.94	3545.68	31.04	1610.99
2	8.05	3116.59	145.48	5307.24	18.79	3831.75
3	8.05	3214.45	58.39	6835.42	23.99	1528.18
4	96.98	7889.3	15.10	986.16	16.27	1324.92
5	11.24	2649.85	116.45	5736.33	14.76	1663.68
6	21.31	3124.12	23.29	4923.31	16.44	880.77
7	20.30	2228.28	42.28	2860.64	21.81	865.72
8	2.34	4689.94	16.44	6188.01	27.85	1550.76
9	6.87	1339.98	46.98	1799.19	18.96	2777.83
10	18.12	4762.64	19.80	2973.56	19.80	925.94
11	4.86	5518.02	20.13	1053.92	15.60	1370.09
12	2.51	3989.84	36.24	3259.62	42.95	1400.20
13	412.11	543.01	241.46	941	14.09	692.57
14	0	963.58	167.80	2378.84	96.98	2145.48
15	6.37	3365.01	39.60	3568.27	24.02	1830.30
16	2.18	2424.01	150.18	4178.04	24.49	2853.11
17	308.24	3462.88	31.37	2296.04	31.37	2265.92
18	2.01	4659.83	14.09	1385.15	28.69	2062.67
19	3.18	1874.47	23.49	1836.83	14.93	1641.10
20	7.71	2687.49	19.12	2378.84	27.02	2160.53
21	159.57	6760.14	17.95	3154.23	12.24	2943.44
22	119.80	5028.70				
23	22.14	2687.49				
24	316.47	2725.13				
25	36	3756.47				

Tablo 11. SSC, RA hasta ve sağlam kontrollerde sIL-2R ile IL-6 değerleri (pg/ml)

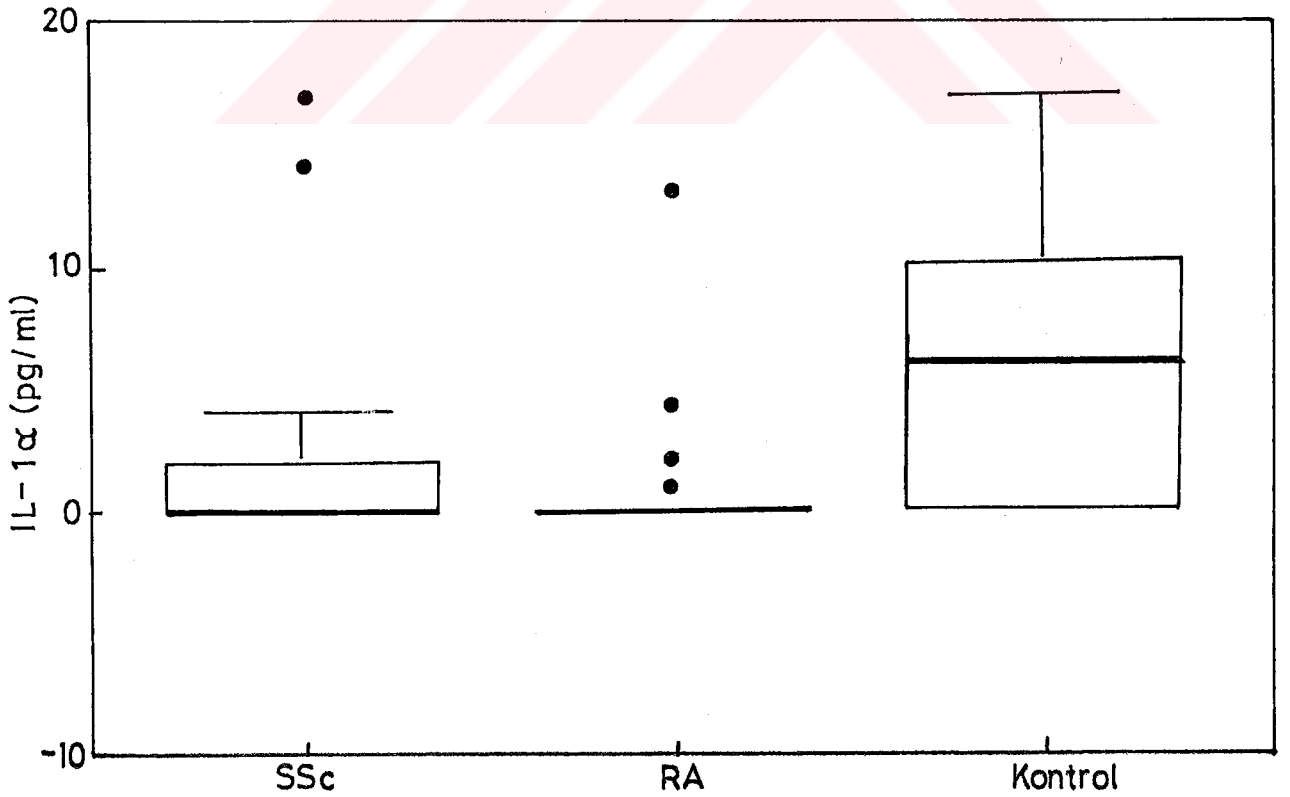
Olgu no	Sistemik Skleroz			Romatoid Artrit			Sağlam Kontrol		
	CD4	CD8	CD25	CD4	CD8	CD25	CD4	CD8	CD25
1	25.3	19	0	54.8	21.6	0.5	44.8	26.2	0
2	45.9	18.6	0	42.5	21.3	0	39.5	22.4	0
3	52.1	13.8	0	51.9	38.6	1.2	59.9	17.3	0
4	41.5	28.2	0.5	46.4	37.5	1.2	35.4	19.6	0
5	46.9	21.6	0.1	54.5	22.8	0	39.5	23.5	0
6	46.5	18.6	0.1	48.2	37.2	0	40.2	19.8	0
7	44.8	14.5	0	39.2	19.2	0.5	43.8	21.2	0
8	51	28.1	0.4	54.5	24.3	0.2	42.7	24.2	0
9	46.2	23.6	0.1	52.4	24	0.1	36.7	24.1	0
10	37.7	23.8	0	46.2	24.8	2.6	44.7	21	0
11	53	16.5	0	43.6	22.1	2.1	50.8	22.3	0
12	43	13.6	0	48.5	21.9	0	42.3	24.6	0.4
13	39.7	23.5	0	52.3	31.4	1.6	37.6	14.5	0
14	50.2	21.8	0	49.7	26.4	0	46.7	23.6	0
15	53.4	22.6	0	57.8	17.6	0.4	53.9	25.6	0
16	48.5	32.1	0	54	13.8	0	44.5	21.6	0
17	17.7	8.8	0	46.6	32.5	0	48.8	32.4	0
18	39.2	35.6	0	52.8	31.6	0	35.4	23.5	0
19	42.1	15.4	0.2	48.6	35.9	0	38.6	24.2	0
20	39.2	21.2	0	52.2	33.8	0.8	54.6	21.8	0
21	37.6	16.1	0.1	56.8	14.6	0	49.2	24.2	0
22	47	17.8	0						
23	43.1	27.3	0						
24	47.6	21.2	0.2						
25	39.2	49.8	0.1						

Tablo 12. SSC, RA hasta ve sağlam kontrollerde CD4, CD8 ve CD25 düzeyleri

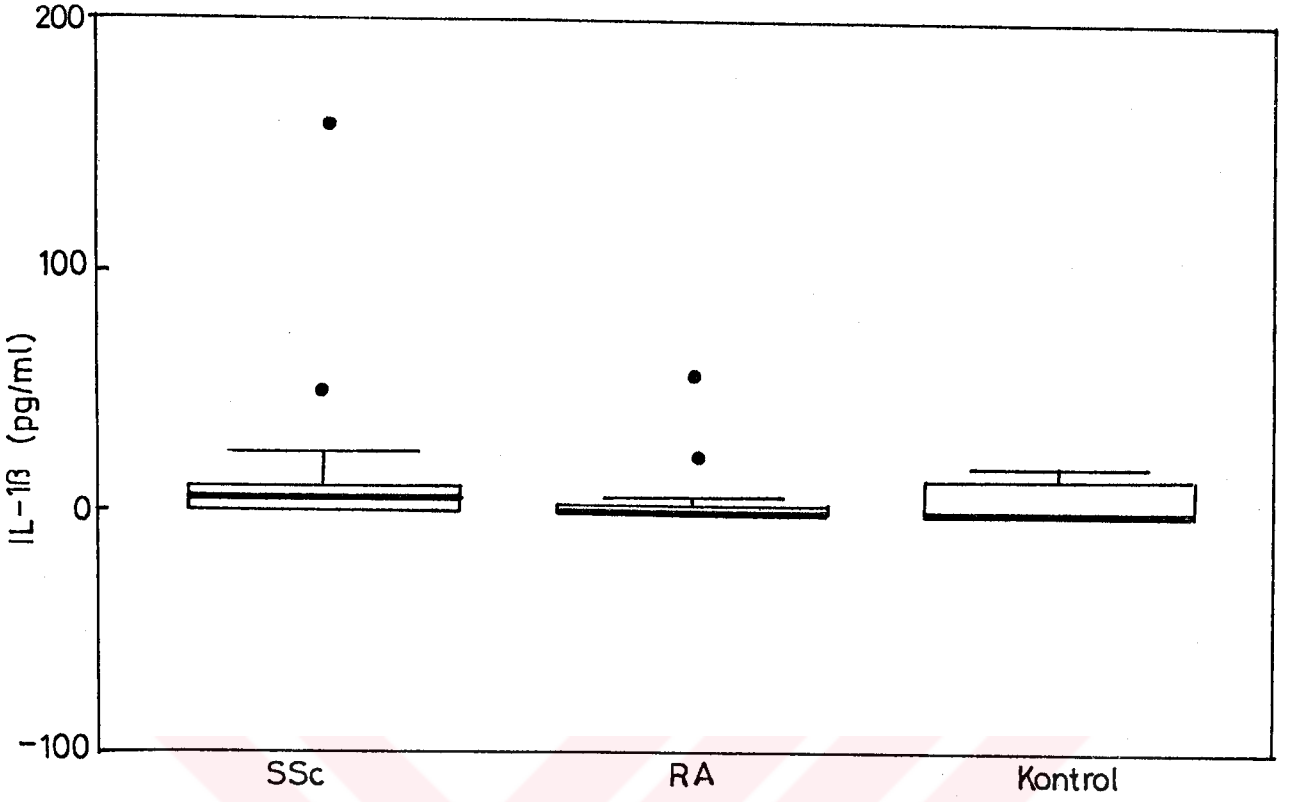


Grafik 1. Sistemik sklerozlu olgularda ESH düzeyleri

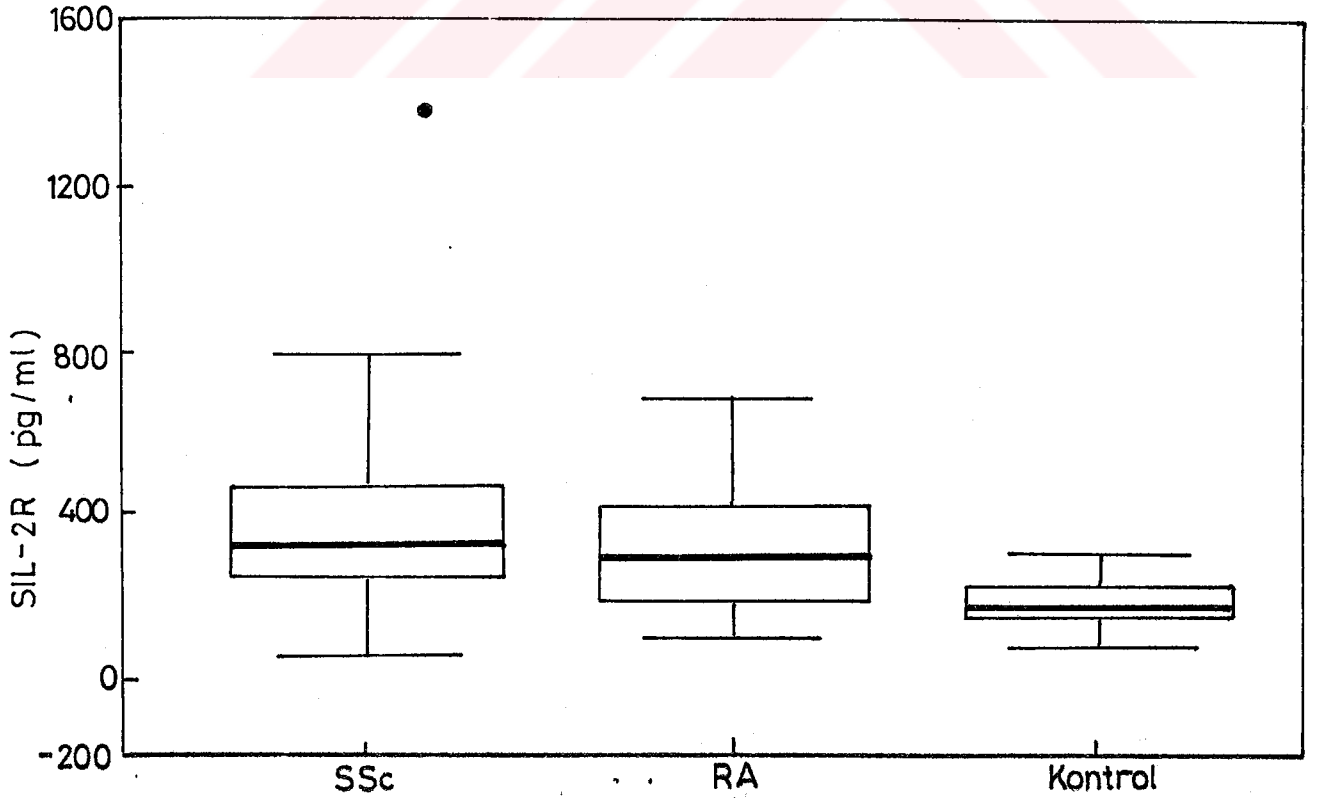
● = Ekstrem değerler gösterilmektedir



Grafik 2. Sistemik skleroz, romatoid artrit ve sağlıklı kontrollerde IL-1 $\alpha$  düzeyleri

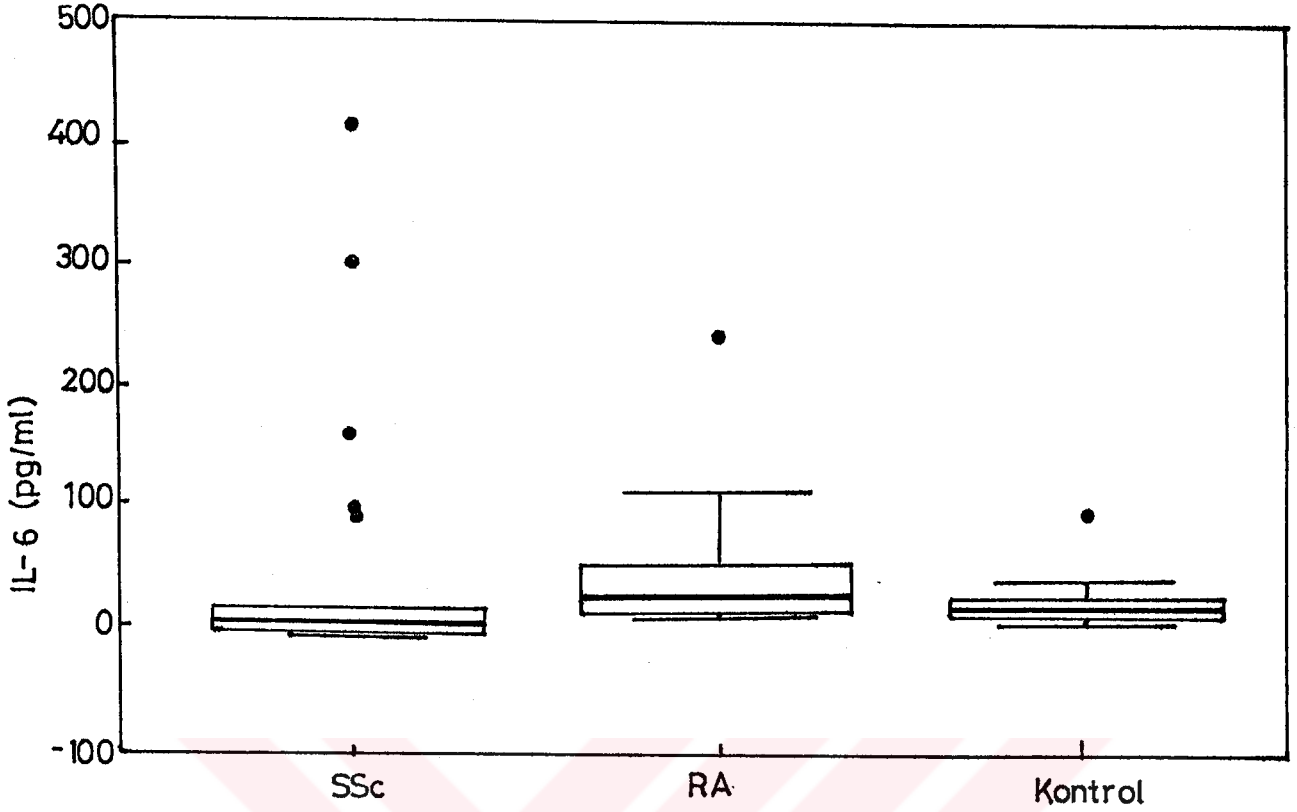


Grafik 3. Sistemik skleroz, romatoid artrit ve sağlıklı kontrollerde IL-1 $\beta$  düzeyleri

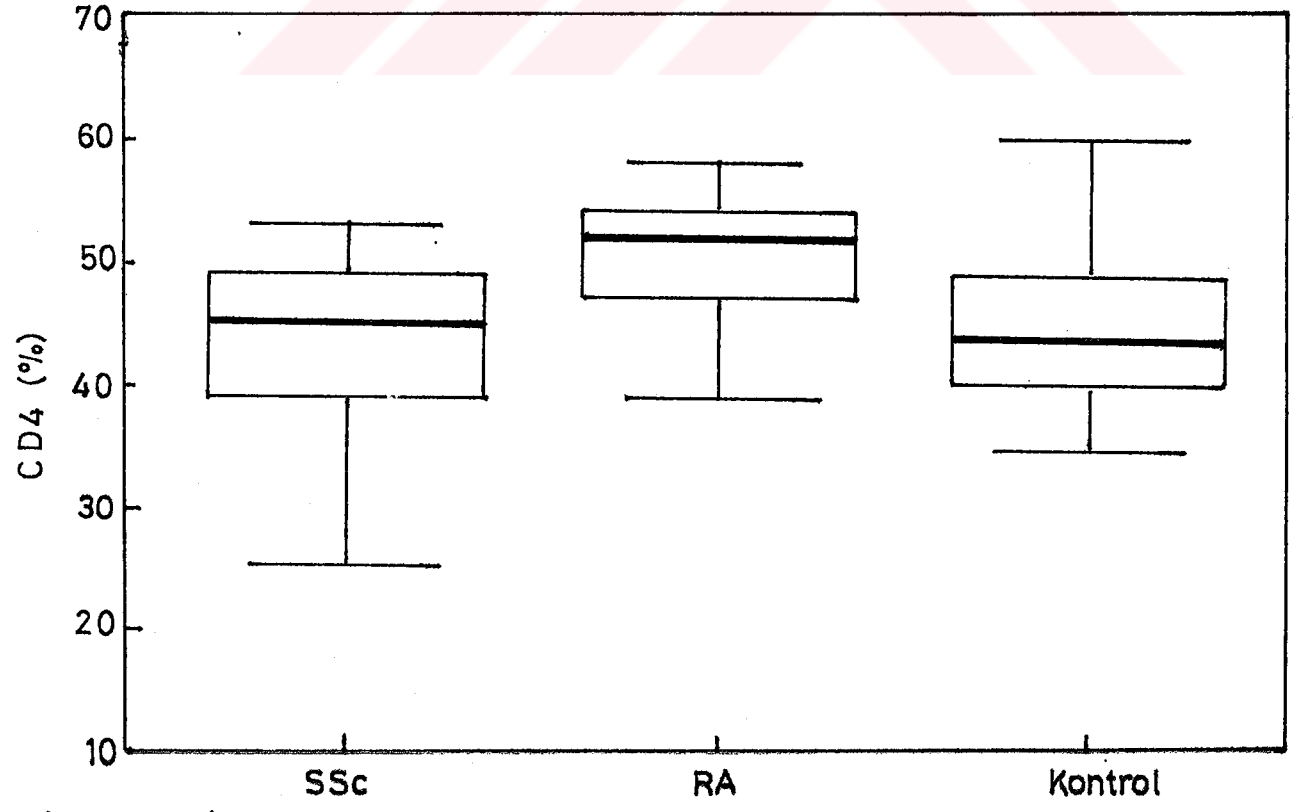


Grafik 4. Sistemik skleroz, romatoid artrit ve sağlıklı kontrollerde SIL-2R düzeyleri

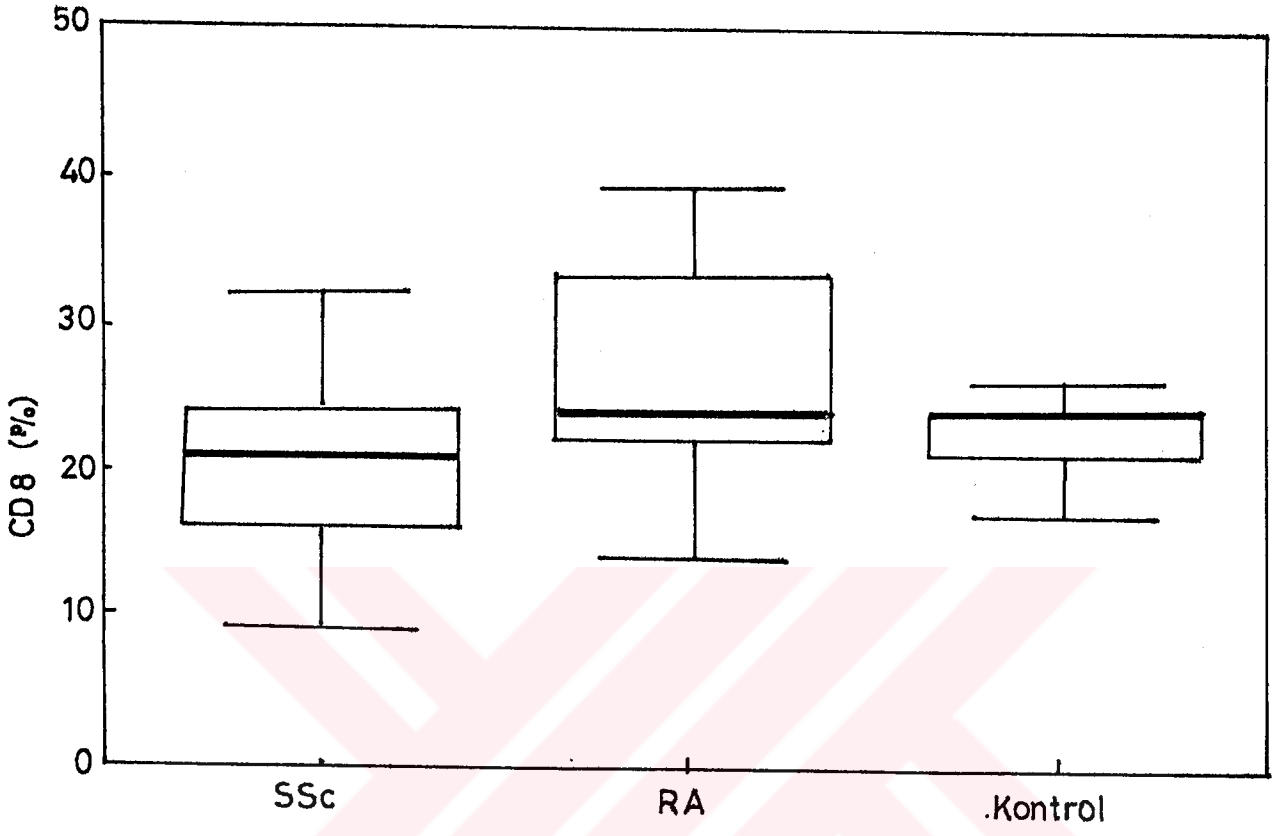




Grafik 5. Sistemik skleroz, romatoid artrit ve sağlıklı kontrollerde IL-6 düzeyleri



Grafik 6. Sistemik skleroz, romatoid artrit ve sağlıklı kontrollerde CD4 düzeyleri



Grafik 7. Sistemik skleroz, romatoid artrit ve sağlıklı kontrollerde CD8 düzeyleri