

TC.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**SKLERODERMALİ HASTALARDA PLAZMA VE TÜKÜRÜKTE  
SKLEROSTİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ  
Dr. Ali Çağrı ORAL

TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Emir DÖNDER

ELAZIĞ 2019

## DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ahmet KAZEZ

### DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN

### İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Emir DÖNDER \_\_\_\_\_ Danışman

### Uzmanlık Tezi Sınavı Jüri Üyeleri

\_\_\_\_\_  
.....

\_\_\_\_\_  
.....

\_\_\_\_\_  
.....

\_\_\_\_\_  
.....

\_\_\_\_\_  
.....

\_\_\_\_\_  
.....

## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Emir DÖNDER'e, eğitimimde büyük emekleri olan değerli hocalarım; Prof. Dr. Süleyman AYDIN, Dr. Öğretim Üyesi Nevzat GÖZEL'e, Dr. Öğretim Üyesi Erhan ÖNALAN'a, Uzman Dr. Ahmet KARATAŐ'a teşekkürlerimi sunarım. Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım ve birçok güzelliği birlikte paylaştığım asistan arkadaşlarıma, en içten teşekkürlerimi bir borç bilirim. Emek ve sevgileri ile bugünlere gelmeme vesile olan, destekleri ile her zaman yanımda olduklarını hissettiğim ve olacaklarını bildiğim sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.



## ÖZET

Sistemik skleroz (SSk), deri ve iç organların yaygın fibrozu ile giden kronik otoimmün inflamatuvar bir hastalıktır. SSk etyolojisi tam olarak aydınlatılamamasına rağmen, etyolojisinde genetik ve çevresel faktörler sorumlu tutulmaktadır. Patogenezi kesin olarak bilinmemektedir. Hastalığın kollajen sentezini etkileyen faktörler, kapiller değişiklikler ve immünojenik mekanizmalar arasındaki etkileşimler sonucu geliştiği düşünülmektedir. Sıklıkla genç kadınlarda görülmesi ve hastaların hayat kalitesini etkilemesi nedeniyle önemli psikososyal sorunlar eşlik etmektedir. SSk'da deride oluşan değişiklikler ve kontraktürler morbiditeyi, iç organ tutulumları ise hem morbiditeyi hem de mortaliteyi önemli ölçüde etkilemektedir.

Sklerostin molekülü SOST geninin glikopeptid yapıda bir ürünüdür, büyük ölçüde osteositler tarafından salgılanır. Aynı zamanda, renal ve vasküler hücrelerden de salgılanır. Sklerostin Wnt sinyal yolağında inhibitör olarak görev almaktadır. Wnt sinyal yolağı embriyonik kök hücre gelişiminde, kemik metabolizmasında ve normal yetişkin homeostasisinde rol oynadığı bilinmektedir.

Çalışmamızın amacı SSk hastalarında kan ve tükürükte sklerostin düzeylerinin belirlenmesi, sağlıklı gönüllülerle karşılaştırılması ve araştırılmasıdır. Literatürde SSk ile sklerostin arasında ilişki olduğunu gösteren yeterli çalışma yapılmamıştır. Sklerostinin SSk patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda 35 SSk'lı hasta ile 35 gönüllü sağlıklı grup karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuyla kıyaslandığında SSk'da kan ve tükürükte sklerostin düzeyi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ).

Sonuç olarak, kronik otoimmün bir hastalık olan SSk 'da sklerostin düzeyleri artmaktadır. Wnt yolağı inhibitörü olan sklerostinin, SSk patogenezinde bilinen bir rolü yoktur. Elde ettiğimiz bulguları doğrulamak için daha fazla katılımcının olduğu çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Sistemik skleroz, Sklerostin, Wnt yolağı

## ABSTRACT

### SCLEROSTIN LEVELS IN BLOOD AND SALIVA IN PATIENTS WITH SCLERODERMA

Systemic sclerosis (SSc) is a chronic autoimmune inflammatory disease characterized by extensive fibrosis of skin and visceral organs. Although the exact etiology of the SSc could not be clarified, genetic and environmental factors account for its etiology. The exact pathogenesis is unknown. The disease is thought to result from the factors affecting collagen synthesis, capillary changes and interactions between immunological mechanism. It is accompanied by significant psycho-social problems since it predominantly occurs in young women and affects the quality of life of patients. Skin changes and contractures in SSc substantially affect morbidity while visceral organ involvement substantially affects morbidity and mortality.

The sclerostin molecule is a glycopeptide product of the SOST gene and is primarily expressed by osteocytes. It is also expressed by renal and vascular cells. Sclerostin acts as an inhibitor in the Wnt signaling pathway. Wnt signaling pathway is known to play a role in the development of embryonic stem cells, bone metabolism and normal homeostasis in adults.

Our study aims to investigate and determine the sclerostin level in blood and saliva of SSc patients and to compare their levels with those of healthy volunteers. In the literature, a sufficient number of studies that demonstrate the association between SSc and sclerostin are not available. Sclerostin is thought to be able to play a role in the pathogenesis of SSc.

In our study, a group of 35 SSc patients was compared to a group of 35 healthy volunteers. The level of sclerostin in blood and saliva of the SSc group was found significantly higher than the control group ( $p < 0,001$ ).

In conclusion, the level of sclerostin increases in SSc that is a chronic autoimmune disease. Sclerostin, an inhibitor of Wnt signaling pathway, does not have a known role in the pathogenesis of SSc. Further studies involving more participants are needed in order to verify the findings of our study.

**Key words:** Systemic sclerosis, Sclerostin, Wnt signaling pathway

## İÇİNDEKİLER

<b>BAŞLIK SAYFASI</b>	<b>i</b>
<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vi</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Skleroderma	1
1.1.1. Epidemiyoloji	1
1.1.2. Etiyoloji	2
1.1.3. Patogenez	2
1.1.4. Genetik	3
1.1.5. Çevresel Faktörler	3
1.1.6. Vaskülopati	3
1.1.7. İmmün aktivasyon	4
1.1.8. Fibrozis	5
1.1.9. Tanı Kriterleri	6
1.1.10. Klinik Özellikler	8
1.1.10.1. Raynaud fenomeni (RF)	9
1.1.10.2. Cilt tutulumu	9
1.1.10.3. Gastrointestinal sistem tutulumu	10
1.1.10.4. Pulmoner tutulum	11
1.1.10.5. Kardiyak tutulum	11
1.1.10.6. Böbrek tutulumu	11
1.1.11. Sistemik Sklerozda Tedavi	12
1.2. WNT Sinyal Yolağı	14
1.2.1. Wnt/ $\beta$ -Katenin (Kanonik/Klasik) Yolağı	18
1.2.2. Wnt/Kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) Yolağı	20
1.2.3. Kanonikal Olmayan Wnt/PCP Yolağı	20

1.2.4. Wnt Sinyal Yolağında rol oynayan inhibitörler	20
1.2.4.1. Secreted Frizzled Related Proteins(sFRP) Ailesi	21
1.2.4.2. Dickkopf (Dkk) Ailesi	21
1.2.4.3. Sklerostin	21
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>23</b>
2.1. Çalışma ve Kontrol grubunun seçimi	23
2.2. Biyokimyasal ölçümler	23
2.3. İstatistiksel Analiz	23
2.4. Sklerostin çalışma yöntemi	24
<b>3. BULGULAR</b>	<b>25</b>
3.1. Serum Sklerostin Düzeyleri	25
3.2. Tükürük Sklerostin Düzeyleri	26
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>28</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>32</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>44</b>

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	1980 ACR skleroderma sınıflandırma kriterleri	6
<b>Tablo 2.</b>	ACR/EULAR 2013 skleroderma sınıflandırma kriterleri	7
<b>Tablo 3.</b>	ACR/EULAR 2013 skleroderma sınıflandırma kriterlerindeki öğelerin/alt öğelerin tanımları	8
<b>Tablo 4.</b>	Serum Sklerostin Düzeyleri	25
<b>Tablo 5.</b>	Tükürük Sklerostin Düzeyleri	26
<b>Tablo 6.</b>	Sistemik skleroz ve kontrol grubunun laboratuvar sonuçları	27



## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b> Serum Sklerostin Düzeyleri	25
<b>Şekil 2.</b> Tükürük Sklerostin Düzeyleri	26



## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ACR</b>	: Amerikan Romatoloji Koleji
<b>ANA</b>	: Anti-nükleer antikor
<b>BiP</b>	: Immunoglobulin heavy1chain1binding protein
<b>CK-1</b>	: Kazein kinaz-1
<b>CRD</b>	: Cystein-rich domain
<b>Dkk</b>	: Dickkopf
<b>Dvl</b>	: Disheveled
<b>EULAR</b>	: Avrupa Romatizma Birliği
<b>FZ, FZD</b>	: FRIZZLED
<b>GSK3-β</b>	: Glikojen Sentaz Kinaz 3-β
<b>İAH</b>	: İnterstisyel akciğer hastalığı
<b>LEF</b>	: Lymphoid enhancer-binding factor
<b>LRP5 - LRP6</b>	: Reseptörlere LDL reseptör ilişkili protein 5 ve 6
<b>LS</b>	: Lokal skleroz
<b>MKF</b>	: Metakarpofalangeal
<b>OST</b>	: Oligosakkaril 1 transferaz kompleksi
<b>PAH</b>	: Pulmoner arteriyel hipertansiyon
<b>PP2A</b>	: Protein Fosfataz 2A
<b>RF</b>	: Raynaud fenomeni
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>sFRP</b>	: Secreted frizzled related proteins
<b>SOST</b>	: Sklerostin geni
<b>SSk</b>	: Sistemik skleroz

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Skleroderma

Skleroderma, deri ve iç organların yaygın fibrozu ile seyreden inflamatuvar ve kronik otoimmün, bir hastalıktır (1). Skleroderma Yunanca skleras (sert veya endüre) ve derma (deri) sözcüklerinin birleşmesinden oluşmuştur. Skleroderma, ilk olarak Hipokrat tarafından “kalınlaşmış deri” olarak tanımlanmıştır (2). Carlo Curzio 1752 yılında Skleroderma’nın daha ayrıntılı açıklamasını yapmıştır. Daha sonra 1945 yılında Robert H. Goetz ilk defa skleroderma’nın sistemik bir hastalık olduğunu söylemiş ve “progresif sistemik skleroz” ifadesini kullanmıştır. Skleroderma sistemik skleroz (SSk) ve lokal skleroz (LS) olarak ikiye ayrılır. LS deriyi ve bazen de derin iç kısmındaki dokuları da tutar (2).

### 1.1.1.Epidemiyoloji

Ülkemizde sistemik skleroz hastalığının epidemiyolojisine dair bir çalışma ve veri bulunmamaktadır. Avustralya’nın güneyinde 1987–1993, 1993–1998 yılları arasında yapılan 2 çalışmada sırası ile sistemik skleroz prevalansı milyonda 208 ve milyonda 233 olarak görülmüştür (3, 4). 1987’de Japonya’da yapılan bir çalışmada ise prevalans milyonda 38 olarak görülmüş, Fransa ve Kuzey İngiltere’de yapılan çalışmalarda ise milyonda 158 ve 88 olarak görülmüştür (5, 6). Daha sonra yapılan çalışmalarda sistemik sklerozun prevalansının ve insidansının giderek arttığı gözlenmiştir (7, 8).

Yapılan bir çalışmada sistemik skleroz hastalığının siyah ırkta daha sık görüldüğü, daha agresif seyrettiği ve daha erken yaşta görüldüğü gösterilmiştir. Laing ve arkadaşları’nın Michigan’da yaptığı çalışmada insidansın siyah bayanlarda 22.5/yıl, beyaz bayanlarda ise 12.8/yıl olarak görülmüştür (9). Etnik kökene ve cinsiyete göre hastalığın başlangıç yaşı değişmektedir. Sistemik skleroz hastalığın çocukluk çağında daha az görülmekle birlikte, 5. dekatta insidansının en fazla olduğu görülmüştür. Yapılan çoğu çalışmalarda sistemik skleroz hastalığının kadınlarda daha fazla görüldüğü ve daha erken yaşta ortaya çıktığı bulunmuştur (10). Hastalığın Yunanistan’da ortalama teşhis yaşı kadınlarda 49.2±15.7 iken erkeklerde 58.9±13.5 olduğu görülmüştür (11). Steen ve ark. (15)’nin yaptığı çalışmada, kadın – erkek oranı 3.4/1 ve postmenopozal dönemde 2.4 /1 olarak bulunmuştur.

Sistemik skleroz hastalığında aile öyküsü önemli bir risk faktörü olarak görülmüştür (12). Son yapılan çalışmalarda monozigotik ve dizigotik ikizlerde her iki grup arasında oranlar benzer görülmüştür. Bundan dolayı genetik yatkınlıktan çok çevresel faktörlerin etkili olduğu düşünülmüştür (13).

Çevresel faktörlerin otoantikörlerin oluşumunda rol aldığına dair yayınlar mevcuttur. Örneğin uzun süre silikaya maruz kalanlarda mikrovasküler endotel hücreler, periferik mononükleer hücreler ve dermal fibroblastlar aktive olarak sistemik skleroz gelişimine neden olmaktadır (14, 15).

### **1.1.2. Etiyoloji**

Sistemik skleroz hastalığının etiyoloji tam olarak bilinmemesine rağmen genetik yatkınlık, çevresel faktörler, enfeksiyonlar hastalığın patojenik sürecini etkileyen olası nedenler arasında gösterilmektedir (17). Yapılan çalışmaların çoğunda genetik faktörlerin rolü öncelikli bir şekilde araştırılmıştır. Birinci derece akrabalarında SSk bulunan bireylerde, SSk gelişme olasılığının arttığı görülmüştür. Normal popülasyonlarda SSk gelişme riski % 0.026 dir, bu oran birinci derece yakınlarında SSk bulunan bireylerde % 2.6'ya kadar yükselmektedir (18). Tek ve çift yumurta ikizlerinde yapılan çalışmada, anti-nükleer antikor (ANA) konkordans oranı yüksek bulunmuş, tek yumurta ikizlerinde % 90 ve çift yumurta ikizlerinde % 40 bulunmuş, klinik konkordans oranı ise düşük (% 4.7) bildirilmiştir (19). Yapılan çalışmada SSk'ya yatkınlıkta değişik gen bölgesine yerleşik pek çok polimorfizmlerin varlığı rol almasına rağmen, hastalığın oluşumunda genetik faktörlerin tek başına sorumlu olmadığı gösterilmiştir (20, 25).

### **1.1.3. Patogenez**

Sistemik sklerozun patogenezini kesin olarak bilinmemekle birlikte, multifaktöriyel bir hastalıktır. Hastalığın kollajen sentezini etkileyen faktörler, fibrozis, kapiller (vaskülopati) değişiklikler ve immünolojik mekanizmalar arasındaki etkileşimler sonucu oluştuğu düşünülmektedir. İmmün sistemin aktivasyonu ve deri başta olmak üzere diğer organlarda görülen fibrozis klinik tablonun oluşumundan sorumludur.

#### **1.1.4. Genetik**

Sistemik sklerozda ailesel yatkınlık sık olmamakla birlikte, SSk'lu hasta yakınlarında otoantikör pozitifliği daha yüksek oranda görülmüştür (26). SSk'da yapılan genetik çalışmalarda, sağlıklı insanlar ile hastalar arasında 2000'den fazla farklı gen ekspresyonu olduğu görülmüş (1).

Sistemik skleroz ile ilişkisinin olduğu düşünülen genler Tip I interferon (INF), macrophage inhibitory factor, signal transducers and activators of transcription 4, B-cell scaVold protein with ankyrin repeats 1, protein tyrosine phosphatase non-receptor 22 dir (10, 27). SSk'da cilt tutulumunun yaygınlığı ve otoantikörler ile farklı gen bölgeleri arasındaki ilişkiyi ortaya çıkaran çalışmalar, bu hastalığın homojen bir hastalık olmadığını düşündürmektedir (10).

#### **1.1.5. Çevresel Faktörler**

Sistemik skleroz oluşumunda viral infeksiyonlar (helicobacter pylori, CMV, parvovirüs B19, EBV ve retrovirüsler), silika, organik solventler ve bazı kimyasal ilaçların yer aldığı öne sürülmüş ama hastalıkla ilişkileri tam belirlenememiştir (23, 24, 26, 28).

#### **1.1.6. Vaskülopati**

Sistemik sklerozun öncül bulgularından olan vaskülopati ile ilişkili Raynaud fenomeni (RF) ve kapilleroskopik anormallikler SSk'nın prelinik döneminde bile görülebilmektedir. Vaskülopati, endotelial hasar sonucunda oluşan, inflamatuvar hücrelerin adezyonuna ve migrasyonuna ve fibrointimal proliferasyonu sonucu epizodik vazospazmlar ile karakterize bir tabloya neden olmaktadır (14). Proliferasyonun nedeni tam olarak açıklanamamıştır, ancak dokularda iskemiye neden olmaktadır.

Endotel hasarın sistemik skleroz patogenezinin en başında olduğu düşünülmektedir ve mikrovasküler hasar hemen her hastada kapilleroskopik inceleme ile gösterilebilmektedir (29). Erken dönemde SSk'da perivasküler hücre infiltrasyonu vaskülitlerden farklı olarak damar duvarında değil daha çok damar duvarı çevresinde oluşmaktadır (11). SSk'da mikrovasküler alanda geç dönemde kapiller kayıp görülür, yeni damar oluşumu düzgün çalışmaz, kapiller kayıp

sonucunda dokularda meydana gelen hipoksik durum düzeltilemez. Bu hipoksik durum hastalığın karakteristik özelliği olan fibrozis gelişimine neden olan önemli faktörlerdendir (30-32). Vaskülopatinin sistemik sklerozda görülen renal krizde, PAH ve digital ülser gelişiminde esas etken olduğu düşünülmektedir (31, 32).

### **1.1.7. İmmün Aktivasyon**

Sistemik sklerozda immün aktivasyon patogeneizde önemli role sahiptir. Çünkü sistemik sklerozda da damar çevresinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve bu infiltrasyon yakınındaki fibroblastlarda belirgin artış gösteren kollajen ve ekstrasellüler madde sentezinde artış görülmektedir. Damar çevresindeki inflamatuvar hücrelerin büyük bölümünü makrofajlar ve T lenfositler oluşturmaktadır (9, 31, 33) SSk başlangıcında fibroze yol açan ana sitokinlerin IL-10, IL-13 ve transforming growth faktör  $\beta$  (TGF $\beta$ ) olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca hastalığın başlangıcında T helper-1 (Th1) hakimiyeti ön planda iken, fibrozisin geliştiği dönemde ise Th2 hakimiyetinin ön planda olduğu düşünülmektedir. SSk'lı hastaların derisinde IL-4, IL-6 ve IL-13 gibi sitokinler fibroblastları uyararak kollajen sentezini artırır (31-33).

Ayrıca pulmoner fibrozis gelişiminde önemli olan IL-4 ve IL-13'ün ise CD8+ T hücrelerinden üretildiği görülmüş ve IL-4'ün yeni Th2 tipinde lenfosit olgunlaşmasına da neden olarak inflamasyonun devamlılığını sağladığı düşünülmüştür. T lenfositler sitokinler dışında hücre etkileşimi ile CD40 aktivasyonuna neden olarak fibroblastları aktive edebilirler. Böylece aktive T hücreleri vasküler hasara yol açabilirler (31, 33).

Sistemik skleroz patogenezinde Th2 lenfositler dışında,  $\gamma/\delta$  T lenfositler ve Th17 hücrelerinin aktif rol aldıkları düşünülmektedir. Bununla birlikte regülatuar T (Treg) hücrelerinin sayı ve fonksiyonlarındaki azalmanın da immün cevabın oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir (12, 34).

Sistemik sklerozda fibroblastlarda, endotel hücrelerinde ve immün hücrelerde toll-like receptor (TLR) 3 ekspresyonunun arttığı görülmüş ve inflamasyonda TLR 3'ün apoptotik hücre kaynaklı moleküller (ribonükleoprotein) ile uyarılması sonrasında interferon- $\alpha$  aracılığı ile IL-1 $\beta$  üretiminin fibrozis ve immün sistemde oluşan değişimlere öncülük ettiği düşünülmüştür (35).

Sistemik sklerozda otoantikörlerin varlığı hüneral immün sistemin bu hastalıkta aktif olduğunu gösterir ve anti nükleer antikör (ANA) hastaların %90'ından fazlasında pozitif görölmektedir. Bununla birlikte anti sentromer antikör, anti topoizomeraz I antikör ve anti RNA polimeraz III antikörleri SSk'da hastalığın çeşitli tutulumlarına bağı pozitif görölmüştür (2, 14). SSk'da anti sentromer antikör pozitifliğinin; limitli hastalık formu ve pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) ile ilişkili, anti topoizomeraz I antikör pozitifliğinin; difüz hastalık ve interstisyel akciğer hastalığı (İAH) ilişkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca anti RNA polimeraz III antikör pozitifliğinin de SSk renal kriz gelişimi ile ilişkili olduğu düşünölmektedir ve bu üç antikörün aynı anda pozitifliği beklenen bir bulgu değildir (2, 14). SSk olan hastalarda endotel hasarına yol açabileceğı düşünölen anti-endotelial antikörlerin göröldüğü gösterilmiştir. Bu anti-endotelial antikörler, fibroblastları uyaran anti platelet-derived growth factor (PDGF) antikörleri, anti fibroblast antikörleridir (1, 15). Sistemik sklerozlu hastalarda bu antikörlerin yanı sıra Anti Th/To antikör, anti PM-Scl antikör, anti fibrilların antikörleri de pozitif görölmüştür, bu antikörlerin sistemik sklerozun tanı ve hastalık tutulumlarının belirlenmesinde fayda sağladığı gösterilmiştir (2, 36).

Kollajen doku hastalıklarında pozitif görölen anti nötrofilik sitoplazmik antikörler, anti kardiolipin antikörleri sistemik sklerozlu hastalarda pozitif görölebilmektedir (19).

### **1.1.8. Fibrozis**

Sistemik sklerozda fibrozis, dokularda kollajen artışı, ekstraselüler matriks artışı sonucu meydana gelir. SSk'da fibroblastlar uyarılması sonucunda  $\alpha$  smooth muscle actin ( $\alpha$  SMA) eksprese edilir. Trans diferansiyona uğrayan endotel, epitel, perisit, adiposit ve dolaşımdaki monositlerin miyofibroblastlara dönüştüğü düşünölmektedir (1).

Sistemik sklerozda deride tip I kollajen, tip III kollajen ve elastin fibrilleri başta olmak üzere kıkırdak ve kemik ile ilişkili kollajen lif modifikasyonları içeren fibrillerin birikimi görölmüştür (1, 9). TGF $\beta$  birçok hücre kaynaklı olabilmesine rağmen esas olarak makrofajdan sentez edilerek ve dokudaki inaktif TGF $\beta$ 'nın

integrinler ile aktif hale dönüşerek fibroblastlardan kollajen ve ekstraselüler matriks sentezinde artışına neden olmaktadır (1, 19, 20).

Sistemik sklerozda fibrozis sürecinde fibrotik dokunun kendisinde fibroblastları uyararak bu sürecin devamını sağladığı düşünülmektedir. Yine SSk'da vaskülopatinin dokuda hipoksiye neden olarak fibrozisi tetiklediği düşünülmektedir. (9, 19, 20). SSk'da fibrotik süreci etkileyen bir diğer faktör endotel hasarı sonrası aktive trombositlerden salınan serotonin, PDGF, oluşan trombin ve endotelin-1 (ET-1) dir (8, 19). Ayrıca peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) aktivitesindeki düşüklük, antifibrotik kapasitenin azalması fibrozis oluşumuna neden olan bir diğer faktördür (1, 20).

### 1.1.9. Tanı Kriterleri

Sistemik Skleroz tanısında 1980 yılında Amerikan Romatoloji Koleji (ACR) tarafından belirlenen kriterler kullanılmaktadır. Kesin tanı için 1 majör veya 2 minör kriter gereklidir. (37).

Ancak, bu kriterlerin erken SSk'lı hastalar için tanı koymadaki düşük sensitivitesi nedeniyle 2013 yılında ACR/European League Against Rheumatism (EULAR) ortak girişimi ile yeni sınıflandırma kriterleri yayınlanmıştır. Bu yeni kriterlerin 1980 ACR kriterlerine göre daha iyi bir performans gösterdiği ve tanı duyarlılığının eski kriterlere göre daha yüksek olduğu öne sürülmüştür (38).

**Tablo 1.** 1980 ACR skleroderma sınıflandırma kriterleri\*

Major kriter	Metakarpofalangeal veya metatarsofalangeal eklemlerin proksimalindeki deride sertlik (proksimal SSk)
Minör kriterler	1. Sklerodaktili 2. Dijital pitting skarlar veya dijital iskemiye bağlı parmak uçlarında yumuşak doku kaybı 3. Bibaziller pulmoner fibroz

\* Tanı için 1 majör veya 2 minör kriter gereklidir.

**Tablo 2.** ACR/EULAR 2013 skleroderma sınıflandırma kriterleri

Öge	Alt-öge(ler)	Puan <sup>†</sup>
Her iki el MKF eklemlerin proksimaline kadar uzanan deri kalınlaşması (yeterli kriter)	-	9
Parmaklarda deri kalınlaşması	Ödemli parmaklar	2
(sadece daha yüksek puan sayılır)	Sklerodaktili	4
Parmak uçlarında lezyonlar	Ülserler	2
(sadece daha yüksek puan sayılır)	Deprese skarlar	3
Telanjiyektazi	-	2
Anormal kapilleroskopi	-	2
PAH ve/veya İAH (maksimum skor 2)	PAH	2
	İAH	2
RF	-	3
SSk ilişkili otoantikör pozitifliği (maksimum skor 3)	Anti-sentromer	3
	Anti-topoizomeraz I	
	Anti-RNA polimeraz III	

\* Bu kriter seti, SSk çalışmasına dahil edilmesi düşünülen herhangi bir hastaya uygulanabilir. SSk benzeri hastalığı olan (nefrojenik sklerozan fibroz, jeneralize morfea, eozinofilik fasiyit, sklerodem diyabetikorum, skleromiksodem, eritromiyalji, porfiriya, liken skleroz, graft-versus-host hastalığı, diyabetik keriyotropati) veya parmakların korunduğu deri kalınlaşmasının saptandığı hastalara bu kriterler uygulanamaz.

† Total skoru  $\geq 9$  olan hastalar kesin SSk tanısı alır. Total skor, her bir kategorideki saptanan maksimum puanların toplamı ile belirlenir.

ACR: American College of Rheumatology, EULAR: European League Against Rheumatism, MKF: Metakarpofalangeal, İAH: İnterstisyel akciğer hastalığı, PAH: Pulmoner arteriyel hipertansiyon, RF: Raynaud fenomeni, SSk:Skleroderma, RNA: Ribonükleik asit

**Tablo 3.**ACR/EULAR 2013 skleroderma sınıflandırma kriterlerindeki öğelerin/alt öğelerin tanımları

Öğesi	Tanım
Deri kalınlaşması	Travma, yaralanma vb sonrası skarlaşmaya bağlı olmayan deride kalınlaşma veya sertleşme olmasıdır
Şiş ( <i>puffy</i> ) parmaklar	Genellikle parmaklarda yaygın, çukurlaşmayan ve eklem kapsülünün normal sınırlarının ötesine kadar uzanan yumuşak doku kitlesinde artış olmasıdır. Normal parmaklar, falanks ve eklem yapılarının dış hatlarını takip eden dokularla distale doğru incelik. Şiş parmaklarda şekil bozulur. Daktilit gibi diğer nedenlere bağlı değildir.
Parmak ucu ülserleri veya <i>pitting</i> skarlar	PIF eklem veya distalinde ülserler veya skarlar olup travmaya bağlı olduğu düşünülmektedir. Dijital <i>pitting</i> skarlar, travma veya eksojen nedenlerden ziyade iskemi sonucu parmak uçlarında gelişen deprese alanlardır
Telanjiektazi	Görünür, maküler, dilate, yüzeysel, basınca solan ama baskı kaldırıldığında yavaşça dolan kan damarlarıdır. SSk-benzeri paternde telanjiektaziler yuvarlak ve iyi sınırlı olan; ağız içinde, dudaklarda ve ellerin üzerinde bulunan ve/veya büyük mat-benzeri telanjiektazilerdir. Dilate yüzeysel damarlardan ve merkez arteriol ile hızla dolan spider anjiomadan ayırt edilebilir.
SSk ile uyumlu kapilleroskopi	Tırnak dibinde perikapiller hemoraji olsun veya olmasın genişlemiş kapiller ve/veya kapiller kayıp olup ayrıca kütikül üzerinde görülebilir
PAH	Standart tanımlara göre sağ kalp kateterizasyonu ile PAH tanısı konulmuştur
İAH	Yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi ya da akciğer grafisinde en belirgin bazallerde pulmoner fibroz görülmesi ve oskültasyonda <i>Velcro</i> rallerin de duyulmasıdır.
f	Konjestif kalp yetmezliği gibi başka bir nedene bağlı değildir. RF Bir hekim tarafından görülen veya hastanın ifade ettiği, soğuğa maruz kalma veya duygusal strese yanıt olarak solukluk, siyanoz ve/veya reaktif hiperemiden oluşan, parmaklarda ve sıklıkla ayak parmaklarında en az 2-faz renk değişimi söz konusudur (genellikle bir faz solukluktur).
SSk ilişkili otoantikorlar	Anti-sentromer antikor (veya ANA testinde görülen sentromer patern), anti-topoizomeras I antikor (anti-scl-70) veya anti-RNA polimeraz III antikorunun yerel laboratuvar standartlarına göre pozitif olmasıdır

### 1.1.10. Klinik Özellikler

Sistemik Skleroz'da hastalığın ilk bulgusu çoğunlukla Raynaud fenomeni ve el veya yüzde şişliktir. Ateş, SSk'nın klinik özellikleri arasında sayılmaz. SSk' da ateşin görülmesi buna neden olabilecek diğer nedenlerin düşünülmesini gerektirir. SSk'ya kilo kaybı, halsizlik ve yorgunluk hissi sıklıkla eşlik eder. SSk'da diffüz cilt tutulumu, böbrek yetmezliği, proteinüri, hematüri, plevral efüzyon bulunması ileri

yaşlarda hastalığın başlaması, anemi, yüksek eritrosit sedimentasyon hızı ve anormal EKG bulguları prognozun kötü olduğuna dair işaretlerdir (39).

#### **1.1.10.1. Raynaud Fenomeni (RF)**

Sistemik sklerozun genellikle ilk bulgusu RF'dir. Deri ve iç organ tutulumları, RF'nin hemen ardından veya ilerleyen dönemde ortaya çıkabilir. RF, soğuk ve stres gibi kolaylaştırıcı faktörlerle el ve ayak parmaklarında ve nadiren kulak, burun ve dilde ortaya çıkan trifazik renk değişiklikleridir. Ayrıca kalp, böbrek ve akciğer damarlarında da soğukla ortaya çıkan RF görülebilir (40, 41).

Raynaud fenomeni sırasıyla vazospazma bağlı solukluk, sonra siyanoz ve daha sonra da hiperemi şeklinde görülür. Bu trifazik renk değişikliğine ağrı, uyuşma ve yanma hissi eşlik edebilir. RF'de vazospazma bağlı olarak dijital iskemi, ülserasyonlar ve geniş gangrenler olabilir. Raynaud fenomeni, SSk'lı hastaların ilk görülen bulgularındandır ve yaklaşık %95' inde görülebilmektedir (39, 42, 43).

#### **1.1.10.2. Cilt Tutulumu**

Sistemik skleroz deride inflamatuvar (ödematöz), fibrotik (sklerotik) ve atrofik evreler ile seyreder. SSk'da hastalarda en önemli diyagnostik bulgu cildin sklerozudur; fakat hastaların % 5'inden daha azında deride tutulum olmadan tipik iç organ tutulumu ve laboratuvar bulgularının pozitifliğiyle ortaya çıkan vakalar mevcuttur. SSk'da derinin tutulumunda erken dönemde ödem, sonra kalınlaşma, dermal atrofi, telenjiektazi, ülserasyon, hiper-hipopigmentasyon, kalsifikasyon, pulpa atrofi ve deri eklerinin kaybı görülür (45).

Sistemik sklerozda deri tutulumunda inflamasyon evresinde parmaklar ve eller başta olmak üzere ön kol ve ayaklarda şişlik, ciltteki çizgilerin kaybı, ter ve yağ bezlerinin atrofi, deride kuruluk ve kaşıntıya neden olabilir. Cildin tutulumuna bağlı ciltte sertleşme ve pigmentasyon değişikliği oluşur. Bu durum boyun, omuz, göğüs üst kısmı, bel ve pantolon kemeri gibi basınca uğrayan alanlarda daha belirgindir (39).

Sınırlı SSk'da cilt tutulumu daha yavaş seyreder, genelde parmaklar, el ve yüz tutulumuyla sınırlı kalır. Diffüz kutanöz SSk'da ekstremiteler ve yüz tutulumunun yanısıra gövdede de tutulum olabilir. Cilt bulguları, daha şiddetli ve daha hızlı

seyreder; ayrıca göğüs cildinde sertliğin oluşması, iç organ tutulumuna işaret eder (46). Sistemik sklerozda cilt tutulumuna bağlı gittikçe kalınlaşan, parlak, gergin ve cilt altına yapışık hale gelen bir doku oluşur; bunun sonucunda kaslarda, tendonlarda ve eklemlerin hareketlerinde kısıtlılık oluşur ve el parmaklarında fleksiyon kontraktürleri gelişir (45).

Sistemik sklerozda genelde alın derisindeki çizgiler kaybolur, burun ve dudaklar incilir, dudaklarda dikine çizgiler meydana gelir, maske yüzü oluşur, ağız açıklığı azalır. Bununla beraber bu hastalarda tırnak, ter bezi ve kıl gibi deri eklerinin kaybı, ödem ve pigmentasyon değişiklikleri eşlik eder. Özellikle cildin basıya maruz kalan bölgelerinde daha belirgindir. Bu hastalarda boyun ekstansiyonda iken ciltte horizontal çizgilenmeler gelişir ve buna boyun işareti denilir.

Sistemik sklerozlu hastalarda cilt tutulumunun son aşaması olan atrofi aşamasında hasta işlevsellik açısından rahatlar. Çünkü derideki sertlik ve kalınlaşma azalmıştır ve hasta fonksiyonel olarak daha iyi duruma gelmiş olur. Bu hastalığın aktivitesinde azalma olduğunu gösterir, prognoz açısından olumlu bir göstergedir (37, 46).

Diffüz kutanöz SSk'lı hastalarda deride oluşan sertleşme hastalığın ilk 4 yılı içinde progresyon göstermektedir. Deri tutulumu olan sistemik sklerozlu hastalarda deri biyopsisinde görülebilecek en erken histopatolojik değişiklikler; ödem, kollajen fibrillerin dejenerasyonu, perivasküler lenfosit infiltrasyonudur. Bu hastalarda hareket kısıtlılığının ve derideki kalınlaşmanın asıl nedeni dermal kollajen doku artışı ve elastik dokudaki işlevsel gerilemedir. Hastalarda kollajen doku artışına rağmen fibroblastlarda proliferasyon görülmez.

Bu hastalarda ellerde ve el bileğinin ekstensör yüzlerinde, diz ve dirseklerde subkutanöz kalsinozis oluşabilir. Ayrıca telenjiektazi de daha çok yüz ve ellerde olmak üzere görülebilmektedir (37, 47, 48).

### **1.1.10.3. Gastrointestinal Sistem Tutulumu:**

Sistemik sklerozlu hastaların çoğunda gastrointestinal sistem (GİS) tutulumu görülür. SSk orofarenksten anüse kadar tüm GİS'in herhangi bir yerini tutabilir. GİS tutulumuna bağlı oluşan bulgular deri tutulumunun yaygınlığından ve şiddetinden

bağımsız olarak değişik şiddette görülebilir. GİS tutulumu olan hastalarda temel problem motilite bozukluğudur (49-51).

#### **1.1.10.4. Pulmoner Tutulum**

Sistemik sklerozlu hastalarda akciğer tutulumu morbidite ve mortalitenin en sık nedenidir. Bu hastalarda İAH ve PAH en sık birliktelik gösteren klinik bulgudur (52). Ayrıca İAH ve PAH bulguları yaygın deri tutulumu ve anti-scl-70 (topoizomeraz I) pozitifliği olanlarda daha erken görülür; ayrıca anti-sentromer antikör pozitifliği olan hastalarda İAH gelişme riski daha düşüktür (52, 53).

Pulmoner tutulumla ilgili olan değişiklikler bir kez görülmeye başlayınca genelde progresif karakter gösterir ve mortalite ile morbiditeyi ciddi şekilde etkiler (47, 54, 55).

#### **1.1.10.5. Kardiyak Tutulum**

Sistemik sklerozlu hastalarda kardiyak tutulum hastalığın kötü prognozlu olduğunu gösterir. Bu hastalar efor sonucu oluşan dispne, çarpıntı hissi ve göğüs ağrısı semptomlarıyla kliniğe başvurabilir. SSk'lı hastalarda yapılan otopsilerde perikard tutulum prevalansı %50'nin üzerindedir. Perikard tutulumu olmasına rağmen klinik olarak akut perikardit tablosuna nadiren rastlanır. Postmortem çalışmalarda hastaların büyük kısmında miyokarda fibrozis görülmesine rağmen klinikte konjestif kalp yetmezliği hastaların yalnızca %10'unda ortaya çıkar. Kardiyak tutulumu olan SSk'lı hastalarda perikardit, konjestif kalp yetmezliği, aritmi ve iletim bozuklukları görülen semptomlardandır (57, 58).

Sistemik sklerozlu hastaların elektrokardiyografik incelemelerinde hastaların %50 sine yakınında kalp blokları, atrial veya ventriküler aritmiler görülebilir. Aritminin görülmesi kötü prognoz işaretidir (59).

#### **1.1.10.6. Böbrek Tutulumu**

Sistemik sklerozda ilerleyici olmayan orta derecede glomerüler filtrasyon hızı azalması (%20-30) ve SSk renal krizi olmak üzere iki tip böbrek tutulumu görülebilir.

Sistemik sklerozda mikroanjiopatiye bağlı böbrek tutulumunun olması renal kriz tablosuna yol açabilir. Renal kriz tablosu, diffüz kutanöz SSk tanılı hastaların

yaklaşık % 10'unda genellikle hastalığın ilk yıllarında ortaya çıkar ve prognozu etkileyen önemli nedenlerden biridir.

Yapılan survey çalışmalarında, bütün SSk'lı hastaların yalnızca % 10'unda renal kriz gelişebileceği; renal krizde baş ağrısı, dispne, akciğer ödemi, görme bozukluğu, göz dibi bulgusu gibi malign hipertansiyon semptomlarının eşlik ettiği saptanmıştır.

Diffüz cilt tutulumu olan hastalarda genelde ağır böbrek tutulumu görülür. Renal kriz gelişme riski hastalığın ilk 4 yılı içinde hızlı ilerleyen deri kalınlaşması, açıklanamayan ve yeni gelişmiş anemisi olanlarda ve anti RNA polimeraz III bulunanlarda daha fazladır; kortikosteroid kullanan hastalarda bu risk daha fazladır. SSk'lı hastalarda deri tutulumu progresif seyrediyorsa bu hastalarda hiperreninemi ve hipertansif ensefalopatiyle birlikte malign hipertansiyon görülebilir. SSk'lı hastaların idrar tahlillerinde proteinüri ve mikroskopik hematüri görülebilir. Bu hastalar takibe alınıp tedavi edilmezse ileriki zamanlarda progressif böbrek yetmezliği ortaya çıkabilir. Bazen kan basıncında yükselme olmaksızın mikroanjiopatik hemolitik anemi bulguları tesbit edilebilir. Renal tutulumu olan SSk'lı hastaların anjiyografik incelemelerinde, renal arterler ve arteriollerde yaygın okluziv mikroanjiopati görülebilir; bu arter ve arteriollerin histopatolojik incelemesinde intimal hiperplazi ve damar duvarında fibrinoid nekroz görülebilir (60-62).

#### **1.1.11. Sistemik Sklerozda Tedavi**

Günümüzde SSk için uluslararası düzeyde kabul edilmiş bir tedavi protokolu bulunmamaktadır. Bu yüzden SSk tedavisinde, tutulan organ ve klinik bulgulara göre tedavi protokolü düzenlenmektedir (63).

Sistemik sklerozda deri tutulumunda D-penisilamin, interferon-gama, mikofenolat mofetil (MMF), siklofosamid, fotoferez, allojenik kemik iliği nakli gibi birçok tedavi protokolu mevcuttur. SSk deri tutulumunda kullanılan D-penisilamin tedavisi uzun yıllardır etkinliği konusunda tartışma yaratmıştır (64, 65). SSk'ya bağlı kaşıntıda nemiendirici, histamin 1 ve histamin 2 blokerleri, trisiklik antidepresanlar ile tedavi edilebilir. SSk'lı hastalarda kortikosteroidler renal krizi provoke edebilir ve azatioprin, klorambusil ve 5-florourasil gibi immünsüpresiflerin de fayda sağlamadığı düşünülmektedir (66, 67).

Sistemik sklerozda vasküler sistemin tutulumunda tedavideki amaç RF gelişme sıklığını azaltmak, iskemik, ülser lezyonların ortaya çıkmasını azaltmak ve oluşmuşsa iyileşmesini hızlandırmak ve damar hasarını yavaşlatmaktır. SSk'lı hastalarda RF gelişmesini engellemek için hastaların soğuk, stres ve sigara kullanımından kaçınmaları, ekstremitelerini sıcak tutmaları ve mecbur kalmadıkça vazospastik ilaç kullanmamaları gerekmektedir. RF gelişen hastaların tedavisinde dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokerleri, ACE inhibitörleri veya anjiotensin reseptör blokerleri gibi vazodilatatör ilaçların fayda sağladığı görülmüştür (63, 68).

Raynaud fenomeni gelişen hastalarda bunun yanında prazosin, prostaglandin E1 gibi prostaglandin analogları, dipiridamol, aspirin ve topikal nitratlar da tedavide fayda sağlayan yöntemlerdir. RF hastalarında tromboz ve kan akışının bozulduğu durumlarda, doku plazminojen aktivatörü, heparin ve ürokinaz kullanılabilir. Ayrıca bosentan endotelin reseptör antagonisti olarak dijital ülserlerin oluşumunu engeller ve sildenafilinde RF'li hastalarda etkili olduğu gösterilmiş ve PAH için onaylanmıştır (69, 70).

Gastroözefageal şikayetleri oluşan hastalarda, yatak baş kısmının yükseltilmesi, yastık kullanılması ve uygun diyet, sık ve az miktarda öğün tüketilmesi gibi yaşam şekli değişiklikleri fayda sağlamaktadır. Ayrıca proton pompa inhibitörleri kullanılabilir (63).

Sistemik skleroz pulmoner tutulumları, intertisyel akciğer hastalığı ve pulmoner arteriyel hipertansiyon olarak iki gruba ayrılır ve intertisyel akciğer tutulumu olan hastalarda immünsüpresif ilaçlar etkili olabilmektedir. Bu hastalarda randomize kontrollü çalışmalarda değerlendirilmiş olan tek immünsüpresif ilaç siklofosfamittir ve Avrupa Romatizma Birliği (EULAR) tarafından SSk hastalarında gelişen intertisyel akciğer fibrozunun tedavisinde önerilmiştir. Avrupa Romatizma Birliği, intertisyel akciğer fibrozu gelişen hastalarda siklofosfamidin oral 1-2 mg/kg/gün veya iv 600 mg/m<sup>2</sup>/ay dozlarında uygulanmasını, hastalık aktivitesi kontrol altına alındıktan sonra ise idame tedavisi olarak 2.5 mg/kg/gün dozunda azatioprin kullanımını önermektedir (63).

Pulmoner arteriyel hipertansiyon da oksijen ek tedavisi gerekebilir ve hem primer PAH'da hem de sekonder PAH da bosentan etkilidir. SSk'ya sekonder olan PAH hastalarında önemli klinik ve hemodinamik iyileşme sağlamaktadır (71).

Bosentan, sitaksentan (hepatotoksitesi mevcut) ve ambrisentan, güçlü bir vazokonstriktör ve düz kas mitojeni olan endotelin-1'in reseptör antagonistleridir. Diğer endotelin reseptör antagonistleri ise epoprostenol, treprostinil, beraprost ve iloprost gibi prostaglandin türevleri ve sildenafil ve tadalafil gibi fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri de kullanılabilen ilaçlardır (72). Yapılan bir çalışmada ise SSK ile ilişkili PAH'da varfarin verilmesinin tedavide önemli bir fayda sağlamadığı bildirilmiştir (73).

Sistemik sklerozda ciddi malign hipertansiyon ve hızlı ilerleyen böbrek yetmezliği bulguları ile seyreden renal kriz önemli derecede mortal olup, 1 ve 5 yıllık sağ kalım oranları sırasıyla % 15 ve % 10 olarak bildirilmiştir. Renal kriz tedavisinde ACE inhibitörleri ilk seçilecek ilaçlardır. Kaptopril ve enalapril, sağ kalım oranlarını önemli derecede arttırmış (1 ve 5 yıllık sağ kalım oranları sırasıyla, tedavi grubunda % 76 ve % 66, plasebo grubunda % 15 ve % 10 olarak belirlenmiştir) ve kalıcı diyalize gereksinim duyan hasta sayısını azaltmıştır (74).

Sistemik sklerozda oluşan miyozitte, kortikosteroidler ilk seçenektir; buna rağmen cevapsız olgularda metotreksat (MTX) ve azatiyopirin de tedavide kullanılabilir. SSK'lı hastalarda artralji, asetaminofen ve steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçlar ile giderilebilir (75).

## **1.2. WNT Sinyal Yolağı**

Wnt geni ilk defa 1982 yılında farelerde meme tümörü ile yapılan viral insersiyon mutasyonu çalışması esnasında protoonkogen olarak bulunmuş ve int-1 adını almıştır.

Sonraki yıllarda, Drosophila'da bulunan "wingless" geninin int11 geni ile diziliş ve fonksiyon açısından benzerlik gösterdiği görülmüş, 1991 yılında bu iki gen ismi birleştirilmiş ve bu gen literatüre Wnt geni olarak geçmiştir (76).

Ondokuz adet Wnt proteini insan ve farelerde tespit edilmiştir ve Wnt proteini sistein aminoasitinden zengindir. Wnt proteini gen ekspresyonunu, hücre proliferasyonu ve göçünü kontrol etmek için hücre yüzeyi reseptörleri tarafından yönetilen, sinyal iletim yollarını uyaran glikoproteinlerdir. Wnt sinyal yolağı etkisini 10 adet Frizzled reseptöründen birisi ile ve bu reseptörlere LDL reseptör ilişkili protein 5 ve 6 (LRP5 - LRP6) gibi koreseptörlerin eklenmesiyle gösterir (77).

Wnt proteinin hücre zarındaki reseptörüne bağlanmasıyla Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolu başlar. Sinyal yolunun başlamasında görev alan bu reseptörlerden “Frizzled proteini” ilk tanımlanandır. Frizzled proteini kodlayan FRIZZLED (FZ, FZD) geni ilk kez 1996 yılında bulunmuştur. Daha sonra yapılan araştırmalarla insan genomunda da 10 adet FZD geni (FZD1- FZD10) bulunmuştur. Frizzled proteinin hücre dışı kısmında kalan amino terminal (N-terminal) ucu, bir de sitozol içinde kalan karboksi terminal (C-terminal) ucu bulunmaktadır. C-terminal ucu hücre zarı içinde transmembran proteini olarak görev yapmaktadır. C-terminal ucunda 7 adet hidrofobik domain bulunmaktadır.

Frizzled reseptörünün N-terminal ucunda ise ekstrasellüler matrikse kadar uzanan, 10 adet sistein rezidüsünden oluşan, korunmuş, sisteince zengin bölge [cystein-rich domain (CRD)] bulundurmaktadır. Hücre dışında bulunan CRD bölgesi, Wnt proteinine yüksek affinite ile bağlandığı gösterilmiştir. Wnt sinyali oluşmasında, Wnt proteini ile ilk bağlantı oluşturan Fz reseptörünün N-terminalindeki CRD bölgesidir. Bu bağlanmayı takip eden reseptörde meydana gelen konformasyonel değişimler sonucu, reseptörün C-terminal ucu sitoplazmadaki biyomoleküllerle ilişki kurar. Bu yüzden bu bölge Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolunun başlamasında ve sinyalin hücre zarından sitoplazmaya aktarılmasında büyük bir öneme sahiptir.

LDL reseptör ilişkili protein 5/6 düşük yoğunluğa sahiptir ve lipoprotein reseptör ailesinin bir üyesidir. LRP5/6, Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolunun diğer reseptörü olan Fz reseptörü gibi hücre zarında bulunmaktadır. LRP5/6 reseptörü metabolizmanın düzenlenmesinde görev alırken diğer yandan Wnt ve Fz ile birlikte sinyalin başlaması için gerekli olan üçlü kompleksi oluşturur. LRP5/6 reseptörünün sinyal yolundaki esas amacı, Wnt proteininin Fz reseptörüne bağlanması sonucu oluşan ikili yapıya gidip bağlanarak üçlü bir kompleks oluşturmaktır. Bu sayede “Wnt-Fz” ikilisinin ko-reseptörü olarak davranmaktadır (78, 79). Wnt polipeptid zincirinin oluşumuyla birlikte, N-terminalinde bulunan hidrofobik sinyal dizileri ile endoplazmik retikuluma (ER) yönelir. Wnt, ER’de çeşitli posttranslasyonel modifikasyonlar geçirir, bu şekilde Wnt sinyal yolağında görev alacak hale gelmiş olur. Bu posttranslasyonel modifikasyonlar glikozilasyon ve lipid modifikasyonudur (80).

Wnt proteini glikozilasyon modifikasyonu için birçok şeker molekülü eklenebilen merkeze sahiptir. Wnt'nin bu merkezlerine, N bağlı oligosakkarid zincirler, ER zarında bulunan oligosakkaril 1 transferaz kompleksi (OST) yardımıyla hızlıca bağlanır (80, 81).

Diğer modifikasyon ise, Wnt yapısında bulunan korunmuş sistein rezidülerine palmitat isimli lipid grubunun eklenmesidir. ER zarında bulunan ve Porcupine [membranbound O1aciltransferaz family (MBOAT)] isimli transmembran proteini tarafından sağlanır. Hidrofilik yapıdaki Wnt, palmitat eklendikten sonra hidrofobik özellik kazanır (76, 80). Wnt lipid modifikasyonu ile hidrofobik özellik kazanmasının nedeni yapılan çeşitli araştırmalarda farklı şekillerde açıklanmıştır. Coudreuse ve Korswagen (80) çalışmalarında Wnt'nin hidrofobik özellik kazanmasının nedenini, sentezlendiği ER'den Golgi'ye ulaşmasının, Golgi'den sitoplazmaya gitmesi gereken yeri belirlemede önemli rol oynadığını ileri sürmektedirler. Bu yapılan çalışmalarda bu tür bir modifikasyonun Wnt'nin sinyal potansiyelini arttırdığını da ileri sürmektedirler. Lipid modifikasyonun Wnt'nin sinyal yolu üzerindeki etkisinin tam açıklanamadığını söyleyen araştırmacılar da vardır (82).

Coudreuse ve Korswagen'in (80) çalışmalarının sonucuna göre ise Wnt, ER zarındaki "Porcupine" transmembran proteinine bağlandığında Wnt'nin konformasyonunda değişiklik oluşmakta ve Wnt nin şeker eklenen yapıları açığa çıkmakta, bu şekilde OST'nin glikozilasyonu daha iyi yapmasına olanak sağlanmaktadır.

Yapılan tüm çalışmalara rağmen, Wnt'nin salgılanma olayında ve aktivitesinde önemli role sahip olan lipid modifikasyonu ile glikozilasyonu arasındaki ilişki tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (83).

Endoplazmik retikulum lümeni içinde bulunan BiP (immunoglobulin heavy1chain1binding protein) proteini Wnt proteininin son halini almasında büyük öneme sahiptir. Bu protein Wnt ile ER içinde birleşerek, Wnt'nin doğru bir biçimde katlanmasını sağlar ve böylelikle üç boyutlu bir yapı elde edilmiş olur (76, 84). Sonra bu Wnt proteini, ER'dan oluşturulan taşıyıcı veziküller içerisinde sitozole verilir ve sitozolden golgi kompleksine taşınır (76, 84). Wnt proteininin, golgi kompleksi içindeyken golgi kompleksinin trans yüzündeki zarında bulunan kargo reseptörüne

bağlanması, Wnt'nin uzak hedef hücreleri etkilemesinde önemli bir adımı oluşturur. Zarda transmembran proteini olan bu kargo reseptörü; Wntless (Wls)/Evnes (Evi) olarak bilinmektedir (80, 85). Wnt bu protein yapısına tutunarak, "Wnt1kargo reseptör kompleksini" oluşturur. Retromer kompleksi denilen ve sitozolde bulunan bir multiprotein, golgi organelinin trans yüzeyindeki zarında bulunan Wnt1kargo reseptör kompleksine bağlanır. Wnt1kargo reseptör1 retromer kompleks üçlüsü sitozole verilmek üzere golgi organelinin zarından tomurcuklanarak ayrılır. Wnt vezikülü bu kompleks yapıyı, içinde lipoprotein biyomolekülleri bulunan bir endozoma iletir. Wnt vezikül zarı ile endozom zarı birleşir ve Wnt endozom içine aktarılır. Bu aktarılma aşamasında retromer kompleksi sitozole verilirken, kargo reseptör endozom zarında kalır. Endozom zarında kalan kargo reseptörü tekrar kullanılmak için retromer kompleksi ile ilişki kurar ve tomurcuklanarak, golgi kompleksine gönderilir. Wnt endozom içinde lipoproteinlerle birleşir ve endozom zarının tomurcuklanmasıyla oluşan vezikül içinde sitozole salınır. Bu vezikül hücre zarına giderek, ekzositoz ile içeriğini hücre dışına salar (80, 81, 86).

Lipoprotein1 Wnt bileşiği ekstraselüler sıvıya aktarıldıktan sonra uzaktaki bir hedef hücreyi etkileyebilir. Wnt proteininin bu şekilde etki gösterebilmesinin nedeni, kendisine bağlanan lipoprotein molekülleri sayesinde olduğu ileri sürülmektedir (81, 82).

Yapılan çalışmalarda lipoproteinlerin yanı sıra, retromer protein kompleksi de uzaktaki hedef hücreyi etkileme mekanizmasında önemli bir role sahiptir. Çünkü yapılan çalışmalarda golgi kompleksinde bulunan, Wnt'nin retromer kompleksi olmadan endozoma ulaşamadığı görülmüştür. Bu nedenle, golgi kompleksinden sitozole verilen ve oradan da endozomla birleşmeksizin hücre zarına gidip, ekzositoz yoluyla Wnt dışarı atıldığı zaman, Wnt ancak yakındaki bir hedef hücreye bağlanabilmektedir (80, 81).

Ekzositozla hücrelerarası boşluklara aktarılan Wnt, glikozaminoglikanlar ile birleşir ve hedef hücre zarına ulaşır. Wnt, hedef hücrenin zarında yer alan, Frizzled (Fz) ve LRP5/6 (Low1 densitylipoproteinreceptor1 relatedprotein) reseptörlerine bağlanır (87-89).

Wnt proteinlerinin hücre büyümesi, hücre adezyonu, hücre hareketi ve farklılaşmasını düzenler. Ayrıca kök hücrelerinin özelleşmesinde ve birçok dokunun embriyonik gelişiminde önemli role sahiptirler (90).

Temel olarak 3 çeşit Wnt sinyal yolu vardır. Bunlar;

1. Wnt/ $\beta$ 1 katenin (Kanonik/Klasik) sinyal yolu
2. Wnt/ $Ca^{+2}$  (Kanonik olmayan) sinyal yolu
3. Wnt/Planar Hücre Polaritesi (PCP, Kanonik olmayan) sinyal yolu (91).

### **1.2.1. Wnt/ $\beta$ -Katenin (Kanonik/Klasik) Yolu**

Wnt  $\beta$ -katenin sinyal yolunun keşfinden günümüze kadar olan süreçte bu yolda görev alan moleküller, büyük ölçüde tanımlanmıştır. Wnt proteini Wnt yolunda ligand olarak görev alan moleküldür. Ligandın hedef hücrede bağlanacağı reseptörler ise frizzled (Fz) reseptörü ve Low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6 (LRP 5/6) yardımcı reseptördür. Bu sinyal yolu mekanizmasında hücre içi olaylarından sorumlu moleküller;  $\beta$ -katenin, Axin, Protein Fosfat 2A (PP2A), Dishevelled (Dvl), Kazein kinaz-1 (CK-1), Glikojen Sentaz Kinaz 3- $\beta$  (GSK3- $\beta$ ) enzimi, Adenomatöz Polipozis Koli (APC) proteindir. T-cell factor (TCF) ve Lymphoid enhancer-binding factor (LEF) hücresel cevabın oluşmasını sağlayan transkripsiyon faktörleridir (78, 79).

Ayrıca T-cell factor, Lymphoid enhancer-binding factor birçok önemli genin işlevi üzerine de etki etmektedir (92).

Wnt proteininin hedef hücre zarına ulaşarak, burada bulunan reseptörlerine (Fz ve LRP5/6) bağlanarak Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal mekanizması başlamaktadır. Wnt proteininin reseptörlerine (Fz ve LRP5/6) bağlanması ile hücre zarında başlatılan sinyalin sitozole aktarılması gerekmektedir, sinyalin aktarılması iki basamakta gerçekleşmektedir. Birinci basamak Dvl proteininin fosforillenmesi ile oluşur; sinyalin sitozole iletilmesindeki ikinci basamak ise LRP5/6 reseptörünün hücre içi kısmının fosforillenmesidir. Reseptörlerdeki konformasyonel değişimlerin etkisi ile gerçekleşen fosforillenme reaksiyonları ile hücre zarından sitoplazmaya aktarılan sinyalin hedefi, yıkıcı komplekstir (76, 82).

Bu kompleks yapı  $\beta$ -katenin proteininin yıkılmasından sorumlu olan yapıdır, Wnt sinyalinin başlamasından sonra inaktif hale geçer (93). Wnt Sinyalin sitozole

aktarılmasıyla bu yıkıcı kompleks dağılır ve bu şekilde  $\beta$ -katenin proteinini fosforilleme etkisi de ortadan kaldırılmış olur.

$\beta$ -katenin proteininin fosforillenmeyen bir kısmı hücre zarına gider. Hücre zarına ulaşan bu kısım burda hücre bağlantılarında görev almaya başlar (94, 95).

$\beta$ -katenin proteinin fosforillenmeyen kısmı, proteozomlar tarafından parçalanamaz, sitozolde birikir. Bu biriken  $\beta$ -katenin proteinin bir kısmı, çekirdek zarından çekirdek içine ulaşarak, burada bulunan transkripsiyon faktörlerini (TCF/LEF-1) aktive eder. Bu şekilde Wnt sinyal yolunun hedef genlerinin transkripsiyonu başlatılmış olur. Bu aktivasyonla, hem sinyal yolunda görev yapmakta olan proteinlerin transkripsiyonu gerçekleşmiş olur, hem de hücre siklusunda, proliferasyonda, farklılaşmada önemli rol oynayan genlerin transkripsiyonunun kontrolü sağlanmış olur (96).

Wnt proteini sinyal iletim mekanizması inaktif durumdayken hücre zarında bulunan reseptörlerine bağlanamaz. Bu yüzden sitoplazmada bulunan serbest haldeki Dvl proteini, hem de hücre zarında bulunan LRP5/6'nın hücre içi kısmı kinazlar tarafından fosforillenemez. Bu sayede fosforillenme reaksiyonlarıyla dağılan yıkıcı kompleks aktif durumda kalmış olur (94, 96).

$\beta$ -katenin proteini pozitif yüklü bir yapıya sahiptir, "APC-Axin-GSK3 $\beta$ -CKI" biyomoleküllerinden oluşan aktif durumdaki yıkıcı kompleks bu yapıya kuvvetli bir şekilde bağlanır (97).

$\beta$ -katenin proteinin, yıkıcı komplekse bağlanmasından sonra  $\beta$ -katenin proteini fosforillenir (98, 99).

Bu fosforillenme sonucu,  $\beta$ -katenin proteini kendisini parçalaması için proteozomlara götüreceği olan enzime ( $\beta$ -TrCP) tanıtılmış olur. Bu  $\beta$ -TrCP, fosforillenmiş  $\beta$ -katenin proteinini yıkıcı kompleksten ayırır sonra da parçalanması için proteozomlara taşır ve  $\beta$ -katenin proteini burada parçalanır.

Sonuçta çekirdeğe girecek  $\beta$ -katenin ortamda olmadığından sinyal yolunun hedef genlerinin transkripsiyonu baskılanmış olur. Bu durumda, Wnt sinyal yolu inaktif halde bulunmuş olacaktır; bu şekilde  $\beta$ -katenin proteini parçalandığından sitoplazmadan çekirdeğe giremez, Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolu inhibe olmuş olur (99).

### **1.2.2. Wnt/Kalsiyum (Ca<sup>+2</sup>) Yolağı**

Wnt/kalsiyum yolağında, bazı Wnt'lerin ve Fzd reseptörlerine bağlanması sonucunda endoplazmik retikulumdan hücre içine kalsiyum salınımına neden olduğuna, bu yolağın G-protein bağımlı olduğuna dair bulgular bulunmuştur (100,101).

Wnt'nin Fzd ile bağlanması sonucunda, trimerik G-proteini ile Dvl aktivasyonuna neden olur, bunun sonucunda fosfolipaz C (PLC) aktive olur. PLC ise fosfatidilinositol 4, 5-bisfosfat'ı (PIP<sub>2</sub>), diaçil gliserol (DAG) ve inositol trifosfat (IP<sub>3</sub>) moleküllerinin oluşmasını sağlar. İnositol trifosfat (IP<sub>3</sub>) hücre içi Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonunu artırır ve Ca<sup>2+</sup> ile DAG, omurgalı gastrulasyonu boyunca hücre adhezyonu ve doku ayrılmasını düzenlemek için protein kinaz (PKC $\alpha$ )'yı aktive eder, PKC $\alpha$  ise Cdc42'yi aktive eder (100, 102, 103).

### **1.2.3.Kanonikal Olmayan Wnt/PCP Yolağı**

Fzd ve Dvl aracılıklı PCP yolağı, c-Jun-Nterminal kinaz (JNK) ve Rho-ilişkili kinaz (Rho-kinaz) proteinlerinin aktivasyonunda görev alır, bu yolak heterotrimerik G proteinine bağımlı bir yolaktır (104).

Dishevelled, birbirine paralel ve birbirinden bağımsız iki yolağı aktive eder ve GTPaz'ların Rho ailesi üyelerinden RhoA ve Rac1 aktivasyonunu sağlar.

İlk yolak da Dvl ilişkili morfogenez 1 aktivatörü (Daam1) aracılığıyla Rho'ya sinyal iletir. Rho yolağında, Rho-ilişkili kinaz Rock'ın aktivasyonuna yol açar buda sito iskeletin yeniden düzenlenmesini sağlar (104).

İkinci yolaktaysa Rac proteinini aktive olur buda JNK aktivasyonunu sağlar (105). JNK1, JNK2 ve JNK3 olmak üzere 3 tipi memeli canlılarda bulunmaktadır. JNK yolağının epitelyal ve nöroepitelyal hücrelerin göçünü düzenlemektedir ve JNK1 embriyonik göz kapağı açıklılığının kapanmasında görev alır (106, 107).

### **1.2.4.Wnt Sinyal Yolağında Rol Oynayan İnhibitörler**

Ekstraselüler matrikste (ECM) bulunan çeşitli inhibitör moleküller, Wnt proteinlerinin frizzled (Fz) reseptörü ve Low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6 (LRP 5/6) kompleksine bağlanmasını önleyerek, sinyal yolağının

kontrollü şekilde inhibe edilmesini sağlar. Bu inhibitör molekülleri, sFRP ve Dkk protein aileleri ve sklerostin molekülüdür (108).

#### **1.2.4.1. Secreted Frizzled Related Proteins Ailesi**

Secreted frizzled related proteins (sFRP) ailesinde sFRP1, sFRP2, sFRP3, sFRP4, sFRP5, WIF1 (Wnt inhibitory factor11) molekülleri bulunmaktadır. Bu protein molekülleri Wnt reseptörlerine bağlanarak ya da direkt olarak Wnt ligandlarına bağlanarak Wnt'nin reseptörleri ile ilişki kurmasına engel olurlar (108).

#### **1.2.4.2. Dickkopf Ailesi**

Dickkopf (Dkk) ailesinde Dkk1, Dkk2, Dkk3ve Dkk4 olmak üzere 4 adet protein mevcuttur (108).

Dickkopf 1, Dkk2, Dkk3ve Dkk4 proteinleri direkt Wnt'ye bağlanmazlar, Wnt'nin ilişki kurduğu koreseptör olan LRP5/6'ya bağlanarak LRP/Fz/Wnt kompleksi oluşumunu engelleyerek, Wnt sinyalini inhibe ederler (109).

#### **1.2.4.3. Sklerostin**

Sklerostin molekülü SOST geninin bir ürünüdür, büyük ölçüde osteositler tarafından salınmasına rağmen preosteoklastlar tarafından da salgılanmaktadır. Sklerostin, sistin bağı içeren ve oldukça düzensiz amino ve karboksi uçlara sahip protein ailesinin atipik bir üyesidir Sklerostin'in görevi Wnt sinyal yolağını inhibe ederek kemik formasyonunu engellemektir. Bunu Low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6 (LRP 5/6)'ya bağlanıp, Wnt'nin bağlanmasını engelleyerek yaparlar. Sklerostin'in merkezi sistin bağı ve üç tane loop bölgesi içerir. Loop 1 ve 3 bölgeleri beta-tabakalardan oluşur ve bu tabakalar parmaklı yapıda kıvrımlıdır. Sklerostin molekülünün loop 2 bölgesi düzenli ve organize değildir. Loop 2 bölgesine bir ligand veya reseptör ile bağlandığında daha sıkı hale gelir. Sklerostin molekülünün Wnt sinyal yolağını inhibe etmesini engelleyen antikörler bunu loop 2'ye bağlanarak yaparlar.

Yeni çalışmalarda farklı Wnt protein sınıflarının varlığı saptandı. Bu Wnt proteinleri Wnt 1, 2, 6, 7a, 7b, 9a, 9b ve 10b' den oluşur.

Dickkopf 1; hem Wnt1 hem de Wnt2 proteinini inhibe ederken, Sklerostin yalnız Wnt2'yi inhibe eder. Buna göre Sklerostin, Wnt sinyal yolağını inhibe eden

moleküller içinde daha spesifik inhibisyon sağlarken, Dkk1'in Wnt sinyal yolağını daha geniş çapta ve yolağın her basamağını inhibe ettiği görülmüştür (110, 111).

Osteositlerden sklerostin molekülünün sentezlenmesi ve serum sklerostin seviyesindeki artışın en önemli düzenleyicisi kemik üzerindeki mekanik yüküdür. Çünkü immobilizasyonda yüksek SOST seviyesi ve buna bağlı azalmış kemik oluşumu görülmektedir (112, 113).

Sklerostin geninde (SOST) bir mutasyon olması durumunda sklerostin molekülünün azalması kemik kütlesinde artışa neden olur ve bunun sonucunda sklerostozise neden olur. Yine SOST geninde mutasyon sonucu baskılanma ile giden ve fenotipik olarak sklerostozise benzeyen Van Buchem hastalığı da görülebilir

Van Buchem hastalığında da yüksek kemik kütlesi görülür. Burdan anlaşılıyor ki mekanik yükün kalkması ile osteoporoz arasındaki en önemli bağlantıyı sklerostin molekülü sağlamaktadır (114).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'nın 23.02.2017 tarihli etik kurul onayı alınarak yapılmıştır.

### 2.1. Çalışma ve Kontrol Grubunun Seçimi

Çalışmaya, F.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Romatoloji Bilim Dalı polikliniklerine başvuran 35 SSk'lı hasta ile 30 sağlıklı gönüllü alındı. Sağlıklı kontrol grubu, İç Hastalıkları polikliniğine başvuran ve herhangi bir inflamatuvar ve vasküler hastalık tespit edilmeyen bireylerden oluşturuldu. Çalışmaya, 18 yaş altı hastalar, malignitesi olanlar, bilinen bir kalp hastalığı olanlar, hipertansiyonu olanlar, kronik organ yetmezliği (böbrek, karaciğer, kalp vs.) olanlar, aktif psikiyatrik hastalığı olanlar, sosyo-kültürel olarak iletişim güçlüğü olanlar ve gebeler dahil edilmedi.

### 2.2. Biyokimyasal Ölçümler

Katılımcıların yaşı, cinsiyeti, boyu, kilosu, sistolik ve diyastolik kan basınçları kaydedildi. Glukoz, üre, kreatinin, AST, ALT, total kolesterol, LDL, HDL ve eritrosit sedimentasyon hızı rutin olarak bakıldı. Bu verilere katılımcıların dosyasından ulaşıldı.

Katılımcılardan oturur pozisyonda sol antekübital venden 4 ml kan ve 4 ml tükürük örneği alındı. Kan örnekleri EDTA'lı tüpe konulup, hafifçe sallanarak buz aküleri içerisinde vakit kaybedilmeden biyokimya laboratuvarına transfer edildi. Burada, soğuk santrifüjde (4 °C) 3500 devirde 10 dakika çevirilerek plazma elde edilecek ve aprotininin ihtiva eden ependorflara alınarak -20 °C'de çalışılacağı güne kadar muhafaza edildi.

Tükürük örnekleri de aprotininli tüplere alınıp, aynı şartlarda santrifüj edildi ve çalışma gününe kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

### 2.3. İstatistiksel Analiz

Sklerostin düzeyleri floresan ELISA yöntemi kullanılarak analiz edildi. Elde edilen sonuçlar bilgisayar ortamında SPSS-22 programı yardımıyla değerlendirildi.

Veriler; tanımlayıcı istatistik yöntemleri, Student's t-testi, eşdeğerleri ve varyans analizi kullanılarak analiz edildi.  $P < 0.05$  anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

#### **2.4. Sklerostin Çalışma Yöntemi**

Katılımcılardan oturur pozisyonda sol antekübital venden 4 ml kan ve 4 ml tükürük örneği proteaz inhibitörünü içeren (aprotinin) tüplere alındı. Soğutmalı santrifüjde (4 °C) 4000 devirde 10 dk santrifüj edilerek elde edilen serum örnekleri ependorf tüplere aktararak -80 °C'de çalışılacağı güne kadar muhafaza edildi. Tükürük örnekleri de aprotininli tüplere alınıp, 4000 devirde 10 dk santrifüj edildi ve çalışma gününe kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Serum ve tükürük örneklerinde Sklerostin (SOST) düzeyleri, (Human Sclerostin; Katalog no: 201-12-5418 Sunred Biological Technology Co., Ltd, Shanghai, CHINA), Elisa yöntemiyle kit kataloglarında belirtilen çalışma prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Human Sklerostin elisa kitinin ölçüm aralığı: 0,2-60 ng/mL, Intra-Assay: CV değeri <10%, Inter-Assay: CV değeri <12 %, Sensitivitesi 0,175 ng/mL idi. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, USA), absorbans okumalarında Chromate, Microplate Reader P4300 cihazı (Awareness Technology Instruments, USA) kullanıldı. Test sonuçları ng/mL olarak verildi. Tükürük numunelerinde Sklerostin kitinin Sklerostini ölçmesi Aydın tarafından yayınlanan prosedüre göre test edilerek kitin tükürük numunelerinde de ölçüm yaptığı belirlenmiştir (115).

### 3. BULGULAR

#### 3.1.Serum Sklerostin Düzeyleri

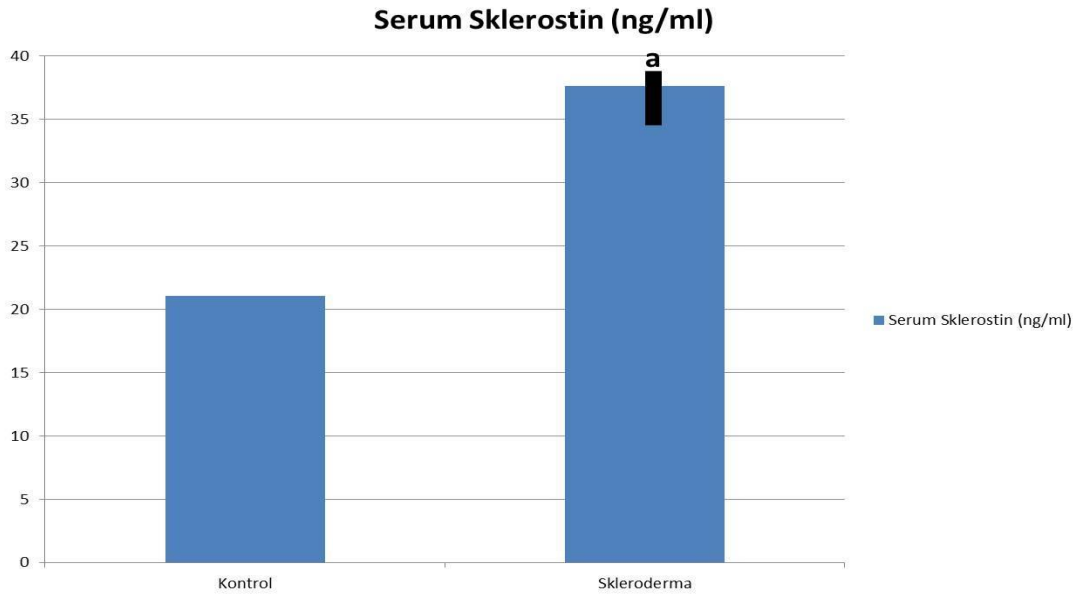
Tüm gruplara ait serum sklerostin düzeyleri değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubuyla kıyaslandığında SSK'lı hasta grubunda serum sklerostin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak bulundu. ( $p<0.001$ ). Tablo 4, Şekil 5.

**Tablo 4.** Serum Sklerostin Düzeyleri

GRUP	Serum Sklerostin Düzeyleri
Kontrol	21, 03±15, 15
Sistemik skleroz	37, 62±20, 59 <sup>a</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, ( $p<0.05$ ).



**Şekil 1.** Serum Sklerostin Düzeyleri

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. <sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında ( $p<0.05$ ).

### 3.2. Tükürük Sklerostin Düzeyleri

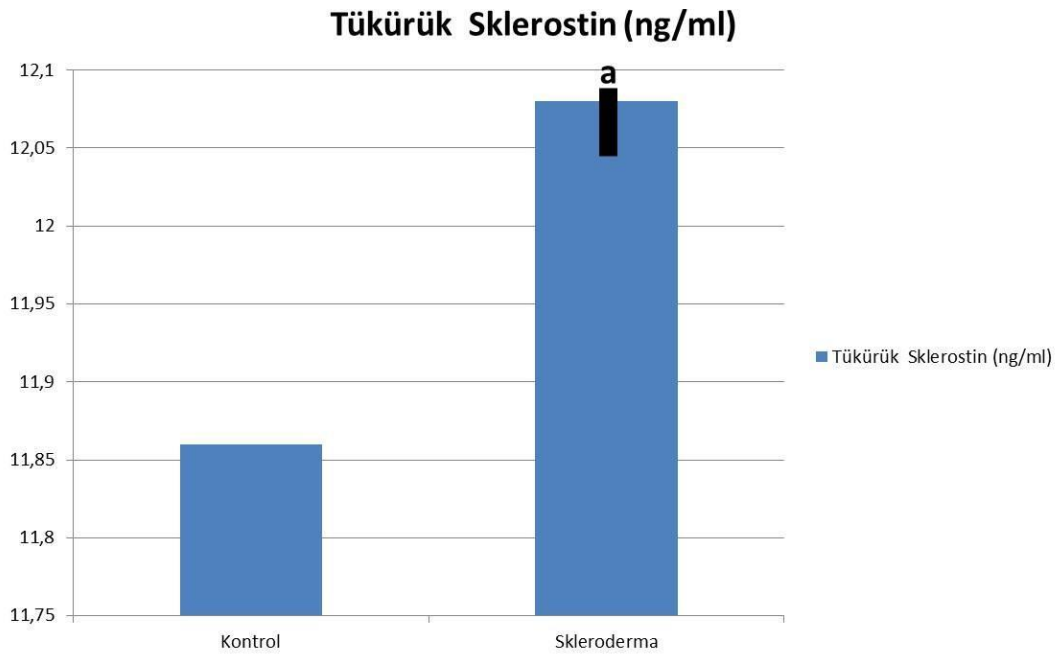
Tüm gruplara ait tükürük sklerostin düzeyleri değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; Kontrol grubuyla kıyaslandığında SSk'lı hasta grubunda tükürük sklerostin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak bulundu ( $p<0.001$ ), Tablo 5, Şekil 2.

**Tablo 5.** Tükürük Sklerostin Düzeyleri

GRUP	Tükürük Sklerostin Düzeyleri
Kontrol	11, 86±5, 62
Sistemik skleroz	12, 08±4, 62

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, ( $p<0.001$ ).



Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, ( $p<0.001$ ).

**Şekil 2.** Tükürük Sklerostin Düzeyleri

**Tablo 6.** Sistemik skleroz ve kontrol grubunun labaratuvar sonuçları

	<b>KONTROL GRUBU</b>	<b>SİSTEMİK SKLEROZ GRUBU</b>	<i>p*value</i>
<b>GLUKOZ(mg/dl)</b>	89, 94±10, 11	99, 89±30, 61	0, 073
<b>AST (U/L)</b>	20, 40±10, 45	24, 34±14, 7	0, 21
<b>ALT(U/L)</b>	22, 03±13, 27	20, 89±11, 43	0, 7
<b>ÜRE (mg/dl)</b>	24, 6±7, 6	32, 85±12, 8	0, 02
<b>KREATİN (mg/dl)</b>	0, 66±0, 15	0, 71±0, 15	0, 173
<b>HBG(g/dl)</b>	12, 7±1, 63	12, 7±1, 24	0, 813
<b>HTC %</b>	39, 06±4, 1	39, 83±4, 1	0, 44

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

#### 4. TARTIŞMA

Yaptığımız bu çalışmada, SSk hastalarında inflamasyon ve fibrojeniz gibi patolojik süreçlerde serum sklerostin düzeyinin hastalığın patogeneziyle ilişkisi olup olmadığı araştırıldı.

Sistemik skleroz; cilt ve iç organların yaygın fibrozisi ile karakterize, kronik inflamatuvar sistemik bir hastalıktır. SSk'nın en belirgin özelliği cildin fibrozisinin olmasının yanı sıra, inflamatuvar, fibrotik ve vasküler değişiklikler gastrointestinal sistem, böbrek, akciğer ve kalp gibi iç organlarda da görülebilmektedir. Sistemik skleroz genç kadın popülasyonunda daha sık görülmektedir. SSk'daki değişiklikler, kontraktürler morbiditeyi ve hayat kalitesini olumsuz yönde etkilemekte; iç organ tutulumları ise hem morbiditeyi hem de mortaliteyi önemli ölçüde etkilemektedir. Ancak günümüzde SSk'nın patogeneziyle ilgili tartışmalar hala sürmektedir.

Sklerostin molekülü SOST geninin glikopeptid yapıda bir ürünüdür, büyük ölçüde osteositler tarafından salgılanır. Sklerostin Wnt sinyal yolağının inhibitörüdür. Wnt sinyal yolağının embriyonik kök hücre gelişiminde, kemik metabolizmasında ve normal yetişkin homeostasisinde rol oynadığı bilinmektedir.

Mödder ve arkadaşları (116) 362 kadın ve 318 erkek üzerinde yaptığı bir çalışmada serum sklerostin düzeylerinin erkeklerde kadınlara oranla daha yüksek olduğunu ve sklerostin seviyesinin kadın ve erkekte yaşla pozitif ilişkili olduğunu göstermiştir. Bhattoa ve arkadaşlarının (117) yaptığı çalışmada 50 yaş üstündeki macar erkeklerinde; yaşı 50-59 arası olan 98 erkekle, yaşı 59 dan büyük olan 96 erkek kıyaslanmış ve yaşla sklerostin düzeyinin arttığı görülmüş. Bu durum erkeklerde daha yüksek kemik kütlelerinin olması ve bu kemik kütlesiyle doğru orantılı olarak daha fazla osteosit olması; dolayısıyla daha fazla sayıdaki osteositin daha fazla sklerostin molekülü salgılanması şeklinde açıklanabilir. Yaptığımız çalışmada SSk hastalarının daha çok genç bayanlarda görülmesi, polikliniğimize başvuran erkek hasta sayısının az olması nedeniyle daha geniş popülasyondaki SSk'lı erkek hasta üzerinde araştırma yapma imkanımız kısıtlıydı.

Thambiah ve arkadaşlarının (118) yaptığı çalışmada diyalize girmeyen evre-3, evre-4 ve yaş ortalaması 57 olan, 77 hasta seçilmiş. Sklerostin düzeyinin yaşla arttığı, GFR düzeyiyle negatif ilişkili olduğu ve KMY ile pozitif ilişkili olduğu

görülmüş. SSk'da renal tutulum olabileceği için bu açıdan çalışmamızda sklerostinle pozitif ilişkili olması bu durumu açıklayabilir

Ardawi ve arkadaşlarının (119) yaptığı çalışmada 707 postmenopozal kadında sklerostinin KMY ve diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak fraktür açısından risk teşkil ettiği gösterilmiştir. Xu ve ark. (120) tarafından 650 postmenapozal kadında sklerostin seviyeleri ölçülmüş ve osteoporoz olan grupta olmayan gruba göre sklerostin seviyeleri yüksek bulunmuştur. Sklerostin molekülünün, osteoblast membranındaki reseptörüne bağlanarak, hücre içi sinyal iletim kaskatı üzerinden osteoblastik kemik oluşumunu inhibe edici etkisi mevcuttur. Bu durum; osteoporozu olan kadın hasta grubunda daha fazla kemik kaybını engellemek için sklerostin düşüklüğünü açıklayabilir. SOST geninin kemik doku dışında, artiküler kondrositlerde de olduğu gösterilmiştir. Kemik mineralizasyon yoğunluğu azaldıkça artan lokal mekanik baskı; kemik oluşumunu artırmak ve kemik rezorpsiyonunu azaltmak üzere sklerostin seviyelerinin down regülasyonuna yol açabilir. Bizim çalışma grubumuz daha çok etiyojijle uyumlu olarak genç kadın hastalardan oluşturulmuş olup, takiplerde kemik ölçümü yapılmamış, ancak genç kadın hastalarda kan ve tükürük sklerostin düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur.

Gifre ve arkadaşlarının (121 ) yaptığı çalışmada bir yıl boyunca steroid tedavisi alan 25 Romatoid artritli hastada, sklerostin seviyesinde tedavi öncesine göre değişiklik olmamıştır. Kortikosteroid kullanımı kemik kaybına yol açabilmesine rağmen bu çalışmada fark görülmemiştir.

Novo Rodriguez ve arkadaşlarının (122) yaptığı çalışmada 46 kardiyovasküler hastalığı olan hastada serum sklerostin konsantrasyonlarının mortalite ile ilişkili olduğu ve mortalitede daha belirleyici olduğu bulunmuştur. Bu da sklerostin molekülünün embriyonik kök hücre gelişimi ve kemik mineralizasyonu dışında da hala açıklanmamış etkileri olduğunu gösterir. SSk'lı hastalarda da multi organ (kalp, böbrek, akciğer...) tutulumunun olması sklerostin molekülünün anlamlı yüksek olmasını açıklayabilir. Yaptığımız çalışma da bunu desteklemektedir.

Taylan ve arkadaşlarının (123) yaptığı çalışmada sistemik skleroz tanısı olan 46 hasta ile 30 sağlıklı kontrol grubunun kıyaslandığı çalışmada sklerostin seviyeleri kontrol grubuyla benzer çıkmıştır. Bizim çalışmamızda ise SSk hastalarında

sklerostin anlamlı yüksek bulundu. Bu yönden çalışmamız bu çalışmadan farklı sonuçlar elde etmiştir.

Solmaz ve arkadaşlarının (124) yaptığı çalışmada 97 ankilozan spondilit hastasıyla, 48 sağlıklı kontrol grubu karşılaştırılmış ve serum sklerostin seviyesi ankilozan spondilit hasta grubunda düşük bulunmuştur. Fernandez ve arkadaşlarının (125) yaptığı çalışmada ise 38 sistemik lupus eritramatozus (SLE) hastası, 20 crohn hastası, 8 SSk olan hasta ile 20 sağlıklı birey karşılaştırılmış. SLE ve SSk olan hastaların sklerostin düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna benzer çıkmıştır. Bu durum kemik mineralizasyonunda rol oynayan Wnt yolunun ve bu yolak inhibitörlerinden olan sklerostin molekülünün, deri fibrozisi ve iç organ tutulumu olan ama kemik tutulumu ön planda olmayan SSk'da etkilenmemesini açıklayabilir. Yaptığımız çalışmada ise SSk'da sklerostin anlamlı yüksek bulundu. Bu yönden farklılık içermektedir.

Çalışmamızda, tanı almış ve tedavi başlanmış SSk'lı hastalarda Wnt yolunun doğal inhibitör proteinlerinden olan sklerostin molekül düzeylerinin nasıl değiştiğini inceledik. Son yıllarda kemik metabolizmasında önemli bir yere sahip olan ve kronik inflamatuvar hastalıklarda (örnek: sistemik lupus eritramatosuz, romatoid artrit gibi) rol oynayan Wnt yolunda görevli olan sklerostin molekülünün SSk tanısı almış hastalarda nasıl etkilendiğini gösteren yeterli literatür bulunmamaktadır. Yaptığımız bu çalışma bu açıdan yapılan ilk çalışmalardandır. Çalışmamızda, tanı almış SSk'lı hastalarda sklerostin düzeyleri, sağlıklı gruba karşılaştırılmış. SSk tanısı alıp tedavi altındaki hastalarla, herhangi bir hastalık öyküsü olmayan ve ilaç kullanımı olmayan sağlıklı gönüllüler karşılaştırılmıştır. SSk tanısı almış hastalarla kontrol grubu arasında sklerostin glikopeptidi ölçümünde anlamlı fark bulunmuştur. Bu açıdan çalışmamızın sonuçları Fernandez ve arkadaşları (125), Taylan ve arkadaşlarının (123) SSk'lı hastalar üzerinde yaptığı çalışmalarla farklı sonuçlar oluşturmaktadır. Bu iki çalışmada sınırlı sayıda SSk'lı hasta popülasyonunun olması çalışmamızla farklı sonuçlar çıkmasını açıklayabilir. Ya da kendi çalışmamızın da geniş bir popülasyonda yapılmamış olması, seçtiğimiz SSk'lı hasta grubunun çoğunluğunu kadın popülasyonunun oluşturması, hastalarımızın glukokortikoid tedavisi almış olmaları buna bağlı osteoporoz gelişmiş olma ihtimali sklerostinin anlamlı yüksek çıkmasını açıklayabilir.

Yaptığımız çalışmamızda elde edilen kan ve tükürükteki sklerostin seviyesinin sonuçları; erkeklerde, kadınlara oranla daha fazla görülmezken bunun nedeni çalışmamızdaki SSk'lı erkek hasta sayısının çok az oluşu, erkek ve kadın arasındaki kemik mineralizasyon yoğunluğu, kemik kütlelerinin farklı olması veya geniş popülasyonda çalışma yapmamış olmamız şeklinde açıklanabilir. Bu nedenle SSk hastalarında sklerostin düzeylerinin hastalıkla ilişkisini araştırıp biomarker olarak kullanılıp kullanılmayacağını saptamak için daha kapsamlı erkek popülasyonu ve daha geniş yaş aralığını da içine alan araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Yaptığımız bu çalışmada birtakım kısıtlılıklar mevcuttur. SSk tanısı olup tedavi altındaki hastaların çoğunluğunun kadın popülasyonu olması, SSk 'lı hasta yaş grubunun KMY için endikasyon taşımaması ve dual-energy x-ray absorptiometry (DEXA)'da düşük doz radyasyon olmasına rağmen etik açıdan uygun olmaması nedeniyle hastalara ve kontrol grubuna KMY ölçümü yapılamadı. Bu nedenle SSk'lı hastaların KMY ve kan, tükürükteki sklerostin seviyesi ile kontrol grubunun KMY ve kan, tükürükteki sklerostin seviyesi arasındaki ilişki direkt olarak karşılaştırılmamıştır. Yine SSk tanısı almış olup tedavi altındaki hastaların tedaviden önceki sklerostin seviyelerinin kan ve tükürükte seviye değerlerinin ölçülmemiş olması da çalışmamızın bir kısıtlılığı olarak görülebilir.

Sistemik sklerozlu hastaların tedavisindeki kortikosteroid kullanımı bu hastalarda kemik kaybına yol açabilir bu da çalışmamızdaki kısıtlılıklardan bir tanesidir.

Sonuç olarak yaptığımız bu çalışmada, SSk tanısı almış olup tedavi altındaki hastaların kan ve tükürükteki sklerostin seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Yine de bu konuda daha büyük popülasyonlarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç olup, günümüzdeki SSk hastaları için uluslararası düzeyde kabul edilmiş bir tedavi protokolünün olmamasından dolayı SSk hastalarının aldığı tedavi, tutulan organ ve klinik bulgulara göre alt gruplarıyla değerlendirilmeleri daha uygun olacaktır.

## 5. KAYNAKLAR

1. Varga J, Abraham D. Systemic sclerosis: a prototypic multisystem fibrotic disorder. *J Clin Invest* 2007; 117: 557–567.
2. David M. A case of scleroderma mentioned by Hippocrates in his aphorisms. *Korot* 1981; 8: 61-63.
3. Wynn TA. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. *J Clin Invest* 2007; 117: 524–529.
4. Wang KX, Denhardt DT. Osteopontin: role in immune regulation and stress responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008; 19: 333–345.
5. Anborgh PH, Mutrie JC, Tuck AB, Chambers AF. Pre- and post-translational regulation of osteopontin in cancer. *J Cell Commun Signal* 2011; 5: 111–122.
6. Ashkar S, Weber GF, Panoutsakopoulou V, Sanchirico ME, Jansson M, Zawaideh S, et al. Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cellmediated) immunity. *Science* 2000; 287: 860–864.
7. Zheng W, Li R, Pan H, He D, Xu R, Guo TB, et al. Role of osteopontin in induction of monocyte chemoattractant protein 1 and macrophage inflammatory protein 1beta through the NF kappaB and MAPK pathways in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 1957–1965.
8. Lenga Y, Koh A, Perera AS, McCulloch CA, Sodek J, Zohar R. Osteopontin expression is required for myofibroblast differentiation. *Circ Res* 2008; 102: 319-327.
9. Sharma A, Singh AK, Warren J, Thangapazham RL, Maheshwari RK. Differential regulation of angiogenic genes in diabetic wound healing. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 2323–2331
10. Varga J, Pasche B. Transforming growth factor as a therapeutic target in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol* 2009; 5: 200–206.
11. Rittling SR. Osteopontin in macrophage function. *Exp Rev Mol Med* 2011; 13: 15.

12. Gardner H, Shearstone JR, Bandaru R, Crowell T, Lynes M, Trojanowska M, et al. Gene profiling of scleroderma skin reveals robust signatures of disease that are imperfectly reflected in the transcript profiles of explanted fibroblasts. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1961–1973.
13. Lorenzen JM, Krämer R, Meier M, Werfel T, Wichmann K, Hoepfer MM, et al. Osteopontin in the development of systemic sclerosis—relation to disease activity and organ manifestation. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49: 1989–1991.
14. Wu M, Schneider DJ, Mayes MD, Assassi S, Arnett FC, Tan FK, et al. Osteopontin in Systemic Sclerosis and Its Role in Dermal Fibrosis. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 1605–1614.
15. Mayes MD. Scleroderma epidemiology. *Rheum Dis Clin North Am* 1996; 22: 751-764
16. Abraham DJ, Varga J. Scleroderma: from cell and molecular mechanisms to disease models. *Trends Immunol* 2005; 26: 587-595.
17. Koca SS, Ozgen M, Isik A. Sistemik skleroz etiyopatogenezi RAED Dergisi 2012; 4: 39-46.
18. Arnett FC, Cho M, Chatterjee S, Aguilar MB, Reveille JD, Mayes MD. Familial occurrence frequencies and relative risks for systemic sclerosis (scleroderma) in three United States cohorts. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1359-1362.
19. Feghali-Bostwick C, Medsger TA, Wright TM. Analysis of systemic sclerosis in twins reveals low concordance for disease and high concordance for the presence of antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1956-1963.
20. Romano E, Manetti M, Guiducci S, Ceccarelli C, Allanore Y, Matucci-Cerinic M. The genetics of systemic sclerosis: An update. *Clin Exp Rheumatol* 2011; 29: 75-86.
21. Nietert PJ, Silver RM. Systemic sclerosis: environmental and occupational risk factors. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 520-526.
22. Veltman G, Lange CE, Jühe S, Stein G, Bachner U. Clinical manifestations and course of vinyl chloride disease. *Ann N Y Acad Sci* 1975; 246: 6-17.

23. Randone SB, Guiducci S, Cerinic MM. Systemic sclerosis and infections. *Autoimmun Rev* 2008; 8: 36-40.
24. Jimenez SA, Artlett CM. Microchimerism and systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17: 86-90.
25. Artlett CM, Smith JB, Jimenez SA. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1186- 1191.
26. Krieg T, Abraham D, Lafyatis R. Fibrosis in connective tissue disease: the role of the myofibroblast and fibroblast-epithelial cell interactions. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: 4.
27. Postlethwaite AE, Shigemitsu H, Kanangat S. Cellular origins of fibroblasts: possible implications for organ fibrosis in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16: 733–738.
28. Wang KX, Denhardt DT. Osteopontin: role in immune regulation and stress responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008; 19: 333–345.
29. Anborgh PH, Mutrie JC, Tuck AB, Chambers AF. Pre- and post-translational regulation of osteopontin in cancer. *J Cell Commun Signal* 2011; 5: 111–122.
30. Denton CP, Black CM. Scleroderma-clinical and pathological advances. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004; 18: 271-290.
31. Ashkar S, Weber GF, Panoutsakopoulou V, Sanchirico ME, Jansson M, Zawaideh S, et al. Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cellmediated) immunity. *Science* 2000; 287: 860–864.
32. Zheng W, Li R, Pan H, He D, Xu R, Guo TB, et al. Role of osteopontin in induction of monocyte chemoattractant protein 1 and macrophage inflammatory protein 1beta through the NF kappaB and MAPK pathways in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 1957–1965.
33. Liaw L, Birk DE, Ballas CB, Whitsitt JS, Davidson JM, Hogan BLM. Altered wound healing in mice lacking a functional osteopontin gene (spp1). *J Clin Invest* 1998; 101: 1468–1478.

34. Chang PL, Harkins L, Hsieh YH, Hicks P, Sappayatosok K, Yodsanga S, et al. Osteopontin expression in normal skin and non-melanoma skin tumors. *J Histochem Cytochem* 2008; 56: 57–66.
35. Lorenzen JM, Krämer R, Meier M, Werfel T, Wichmann K, Hoepfer MM, et al. Osteopontin in the development of systemic sclerosis—relation to disease activity and organ manifestation. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49: 1989–1991.
36. Mayes MD, Lacey JV, Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B, Laing TJ, Schottenfeld D. Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2246- 2255.
37. Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1980; 23: 581- 590.
38. 2013 Classification Criteria For Systemic Sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: 1747-1755.
39. Bolster MB, Silver RM. Clinical features of systemic sclerosis. *Rheumatology, Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weibblatt ME, Weisman MH. (eds) Rheumatology Mosby 2008: 1375-1380.*
40. Kahaleh MB. Raynaud phenomenon and the vascular disease in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16: 718-722.
41. Herrick AL. Hutchinson, C. Vascular imaging. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004; 18: 957-979.
42. Chandran G, Smith M, Ahern MJ, Roberts-Thomson PJ. A study of scleroderma in South Australia: prevalence, subset characteristics and nailfold capillaroscopy. *Aust NZ J Med* 1995; 25: 688-694.
43. Cutolo M, Grassi W, Matucci CM. Raynaud's phenomenon and the role of capillaroscopy. *Arthritis Rheum* 2003; 11: 3023-3030.

44. Fiori G, Amanzi L, Moggi Pignone A, Braschi F, Matucci-Cerinic M. The treatment of skin ulcers in patients with systemic sclerosis. *Reumatismo* 2004; 56: 225-234
45. Krieg T, Takehara K. Skin disease: a cardinal feature of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48: 14-18.
46. Daoussis D, Antonopoulos I, Liossis SN, Yiannopoulos G, Andonopoulos AP. Treatment of systemic sclerosis-associated calcinosis: a case report of rituximab-induced regression of CREST-related calcinosis and review of the literature. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 2012; 41: 822-829.
47. Steen VD, Medsger TA. Improvement in skin thickening in systemic sclerosis associated with improved survival. *Arthritis and Rheumatism* 2001; 44: 2828-35.
48. Domsic RT, Rodriguez-Reyna T, Lucas M, Fertig N, Medsger TA. Skin thickness progression rate: a predictor of mortality and early internal organ involvement in diffuse scleroderma. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2011; 70: 104-109.
49. Gyger G, Baron M. Gastrointestinal manifestations of scleroderma: recent progress in evaluation, pathogenesis, and management. *Current Rheumatology Reports* 2012; 14: 22-29.
50. Forbes A, Marie I. Gastrointestinal complications: the most frequent internal complications of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48: 36-39.
51. McMahan ZH, Hummers LK. Systemic sclerosis-challenges for clinical practice. *Nature reviews Rheumatology* 2013; 9: 90-100.
52. Dick T, Mierau R, Bartz-Bazzanella P, Alavi M, Stoyano va-Scholz M, Kindler J, et al. Coexistence of anti-topoisomerase I and anti-centromere antibodies in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 121-127.
53. Chang B, Wigley FM, White B, Wise RA. Scleroderma patients with combined pulmonary hypertension and interstitial lung disease. *J Rheumatol* 2003; 30: 2398-2405.
54. Oldfield V, Lyseng-Williamson KA. Bosentan: a review of its use in pulmonary arterial hypertension and systemic sclerosis. *Am J Cardiovasc Drugs* 2006; 6: 189-208

55. De Santis M, Bosello S, La Torre G. Functional, radiological and biological markers of alveolitis and infections of the lower respiratory tract in patients with systemic sclerosis. *Respiratory Research* 2005; 6: 96-97.
56. Allanore Y, Borderie D, Meune C. N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a diagnostic marker of early pulmonary artery hypertension in patients with systemic sclerosis and effects of calcium-channel blockers. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3503-3508.
57. Galie N, Hoeper MM, Humbert M. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *The European Respiratory Journal: Official Journal of The European Society for Clinical Respiratory Physiology* 2009; 34: 1219-1263.
58. Kahan A, Coghlan G, McLaughlin V. Cardiac complications of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48: 45-48.
59. Maione S, Cuomo G, Giunta A. Echocardiographic alterations in systemic sclerosis: a longitudinal study. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 2005; 34: 721-727.
60. Steen VD, Medsger TA. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2437-2444.
61. Traub YM, Shapiro AP, Rodnan GP, Medsger TA, McDonald RH Jr, Steen VD, et al. Hypertension and renal failure (scleroderma renal crisis) in progressive systemic sclerosis. Review of a 25-year experience with 68 cases. *Medicine (Baltimore)* 1983; 62: 335-352.
62. Almeida I, Faria R, Vita P, Vasconcelos C. Systemic sclerosis refractory disease: from the skin to the heart. *Autoimmunity Reviews* 2011; 10: 693-701.
63. Kowal-Bielecka O, Landewé R, Avouac J. EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR). *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 620-628.
64. Clements PJ, Furst DE, Wong WK. High-dose versus low-dose D-penicillamine in early diffuse systemic sclerosis: analysis of a two-year, double-blind, randomized, controlled clinical trial. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1194- 1203.

65. Furst DE, Clements PJ. D-penicillamine is not an effective treatment in systemic sclerosis. *Scand J Rheumatol* 2001; 30: 189-191.
66. Casas JA, Saway PA, Villarreal I. 5-fluorouracil in the treatment of scleroderma: a randomised, double blind, placebo controlled international collaborative study. *Ann Rheum Dis* 1990; 49: 926-928.
67. Furst DE, Clements PJ, Hillis S. Immunosuppression with chlorambucil, versus placebo, for scleroderma. Results of a three-year, parallel, randomized, double-blind study. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 584-593.
68. Czirják L. Practical approach to the therapy of systemic sclerosis. *Z Rheumatol* 2004; 63: 451-456.
69. Fries R, Shariat K, von Wilmowsky, Böhm M. Sildenafil in the treatment of Raynaud's phenomenon resistant to vasodilatory therapy. *Circulation* 2005; 112: 2980-2985.
70. Badesch DB, Hill NS, Burgess G, Rubin LJ, Barst RJ, Galiè N, Simonneau G. Sildenafil for pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease. *J Rheumatol* 2007; 34: 2417-2422.
71. Sitbon O, Badesch DB, Channick RN, Frost A, Robbins IM, Simonneau G, et al. Effects of the dual endothelin receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary arterial hypertension: a 1-year follow-up study. *Chest* 2003; 124: 247-254.
72. Lee SH, Rubin LJ. Current treatment strategies for pulmonary arterial hypertension. *J Intern Med* 2005; 258: 199-215.
73. Johnson SR, Granton JT, Tomlinson GA, Grosbein HA, Le T, Lee P, et al. Warfarin in Systemic Sclerosis-associated and Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. A Bayesian Approach to Evaluating Treatment for Uncommon Disease. *J Rheumatol* 2012; 39: 276-285
74. Steen VD. Scleroderma renal crisis. *Rheum Dis Clin North Am* 2003; 29: 315-333.

75. Steen VD, Medsger TA. Case-control study of corticosteroids and other drugs that either precipitate or protect from the development of scleroderma renal crisis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1613-1619.
76. Nusse R, Varmus HE. Wnt genes. *Cell* 1992; 69: 1073-1087.
77. Ilyas M. Wnt signalling and the mechanistic basis of tumour development. *J Pathol* 2005; 205: 130-144.
78. Dönmez HG, Demirezen Ş, Beksaç MS. WNT/Beta-Katenin Sinyal Yolunun Sitoplazmik Biyomolekülleri. *Deu Med J* 2011; 25: 189-199.
79. Can A. Moleküler Hücre Biyolojisine Kısa Bakış. Can A, Editor. Kök Hücre Biyolojisi, Türleri ve Tedavide Kullanımları. Ankara: Akademisyen Tıp Kitabevi, 2014.
80. Coudreuse D, Korswagen HC. The making of Wnt: new insights into Wnt maturation, sorting and secretion. *Development* 2007; 134: 3-12.
81. Hausmann G, Bänziger C, Basler K. Helping Wingless take flight: how WNT proteins are secreted. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 331-336.
82. Mikels AJ, Nusse R. Wnts as ligands: processing, secretion and reception. *Oncogene* 2006; 25: 7461-7468.
83. Komekado H, Yamamoto H, Chiba T, Kikuchi A. Glycosylation and palmitoylation of Wnt-3a are coupled to produce an active form of Wnt-3a. *Genes Cells* 2007; 12: 521-534.
84. Kitajewski J, Mason J, Varmus HE. Interaction of Wnt-1 proteins with the binding prote in BiP. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 784-790.
85. Ching W, Nusse R. A dedicated Wnt secretion factor. *Cell* 2006; 125: 432-433.
86. Kritikou E. Membrane trafficking: endurance of the weakest signal. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008. 9; 742-743.
87. Wend P, Holland JD, Ziebold U, Birchmeier W. Wnt signaling in stem and cancerstem cells. *Semin Cell Dev Biol* 2010; 21: 855-863.

88. Ken M, Cadigan, Liu I.Y. 2006. Wnt signaling: complexity at the surface. *J Cell Sci* 119; 395-402.
89. Chen X, Yang J, Evans PM, Liu C. Wnt signaling: the good and the bad. *Acta Biochim Biophys Sin* 2008; 40; 577-594.
90. Prunier C, Hocevar BA, Howe, PH. Wnt signaling: physiology and pathology. *Growth Factor* 2004; 22; 141-150.
91. Huelsken JB, Rens J. The Wnt signalling pathway. *J Cell Sci* 2002; 115; 3977-3978.
92. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell* 2006; 127: 469-480.
93. Xing Y, Clements WK, Kimelman D, Xu W. Crystal structure of a beta-catenin/axin complex suggests a mechanism for the beta-catenin destruction complex. *Genes Dev* 2003; 17: 2753-2764
94. Wu G, Huang H, Garcia Abreu J, He X. Inhibition of GSK3 phosphorylation of beta-catenin via phosphorylated PPPSPXS motifs of Wnt coreceptor LRP6. *PLoS One* 2009; 4: 4926.
95. Kemler R. From cadherins to catenins: cytoplasmic protein interactions and regulation of cell adhesion. *Trends Genet* 1993; 9: 317-321.
96. Brembeck FH, Rosário M, Birchmeier W. Balancing cell adhesion and Wnt signaling, the key role of beta-catenin. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16: 51-59.
97. Maher MT, Flozak AS, Stocker AM, Chenn A, Gottardi CJ. Activity of the  $\beta$ -catenin phosphodestruction complex at cell-cell contacts is enhanced by cadherin-based adhesion. *J Cell Biol* 2009; 186: 219-228.
98. Verheyen EM, Gottardi CJ. Regulation of Wnt/betacatenin signaling by protein kinases. *Dev Dyn* 2010; 239: 34-44.
99. Aberle H, Bauer A, Stappert J, Kispert A, Kemler R. Beta-catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway. *EMBO J* 1997; 16: 3797-3804.

100. Kühl M, Sheldahl LC, Park M, Miller JR, Moon RT. The Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathway: a new vertebrate Wnt signaling pathway takes shape. *Trends Genet* 2000; 16: 279- 283.
101. Widelitz R. Wnt signaling through canonical and non-canonical pathways: Recent Progress. *Growth Factors* 2005; 23: 111-116.
102. Fanto M, McNeill HJ. Planar polarity from flies to vertebrates. *Cell Sci* 2004; 117: 527-533.
103. Komiya Y, Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis* 2008; 4: 68-75.
104. Veeman MT, Axelrod JD, Moon RT. A second canon: Functions and mechanisms of beta-catenin-independent wnt signaling. *Developmental Cell* 2003; 5: 367-377.
105. Boutros M, Mlodzik M. Dishevelled: at the crossroads of divergent intracellular signaling pathways. *Mechanisms of Development* 1999; 83: 27-37.
106. Kuan CY, Yang DD, Roy DRS. The Jnk1 and Jnk2 protein kinases are required for regional specific apoptosis during early brain development. *Neuron* 1999; 22: 667-676.
107. Weston CR, Wong A, Hall JP. JNK initiates a cytokine cascade that causes Pax2 expression and closure of the optic fissure. *Genes & Development* 2003; 17: 1271-1280.
108. Kawano Y, Kypta RJ. Secreted antagonists of the Wnt signaling pathway. *Cell Sci* 2003; 116: 2627-2634.
109. MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell* 2009; 17: 9-26.
110. Wong GT, Gavin BJ, McMahon AP. Differential transformation of mammary epithelial cells by wnt genes. *Molecular and Cellular Biology* 1994; 14: 6278-6286.
111. Sokol S, Christian JL, Moon RT. Injected Wnt RNA induces a complete body axis in xenopus embryos. *Cell* 1991; 67: 741-752.

112. Baron R, Rawadi G. Minireview: targeting the Wnt/ beta-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology* 2007; 148: 2635–2643.
113. Paszty C, Turner CH, Robinson MK 2010 Sclerostin: a gem from the genome leads to bone-building antibodies. *J Bone Miner Res* 25: 1897– 1904.
114. Maurizio Rossini, Davide Gatti, Silvano Adami. Involvement of WNT/b catenin Signaling in the Treatment of Osteoporosis. *Calcified Tissue International* 2013; 93: 121-132.
115. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides* 2015; 72: 4-15.
116. Mödder UI, Hoey KA, Amin S, McCready LK, Achenbach SJ, Riggs BL, Melton LJ, Khosla S. Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. *J Bone Miner Res* 2011; 26: 373-379.
117. Bhattoa HP, Wamwaki J, Kalina E, Foldesi R, Balogh A, Antal-Szalmas P. *J Bone Miner Metab* 2013; 31: 579-584.
118. Thambiah S, Roplekar R, Manghat P, Fogelman I, Fraser WD, Goldsmith D, Hampson G. Circulating sclerostin and Dickkopf-1 (DKK1) in predialysis chronic kidney disease (CKD): relationship with bone density and arterial stiffness. *Calcif Tissue Int* 2012; 90: 473-480.
119. Ardawi MS, Rouzi AA, Al-Sibiani SA, Al-Senani NS, Qari MH, Mousa SA. High serum sclerostin predicts the occurrence of osteoporotic fractures in postmenopausal women: the Center of Excellence for Osteoporosis Research Study. *J Bone Miner Res* 2012; 27: 2592-602.
120. Xu XJ, Shen L, Yang YP, Lu FR, Zhu R, Shuai B, et al. Serum sclerostin levels associated with lumbar spine bone mineral density and bone turnover markers in patients with postmenopausal osteoporosis. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126: 2480- 2484.
121. Gifre L, Ruiz-Gaspà S, Monegal A, Nomdedeu B, Filella X, Guañabens N, Peris P. Effect of glucocorticoid treatment on Wnt signalling antagonists (sclerostin and Dkk-1) and their relationship with bone turnover. *Bone* 2013; 57: 272-276.

- 122.** Novo-Rodríguez C, García-Fontana B, Luna-Del Castillo JD, Andújar-Vera F, Ávila-Rubio V, García-Fontana C. Circulating levels of sclerostin are associated with cardiovascular mortality. *PLoS One* 2018; 13: 0199504.
- 123.** Taylan A, Birlik M, Kenar G, Toprak B, Gundogdu B, Gurler O, et al. Osteoprotegrin interacts with biomarkers and cytokines that have roles in osteoporosis, skin fibrosis, and vasculopathy in systemic sclerosis: a potential multifaceted relationship between OPG/RANKL/TRAIL and Wnt inhibitors. *Mod Rheumatol* 2018; 13: 1-16.
- 124.** Evaluation of periostin and factors associated with new bone formation in ankylosing spondylitis: Periostin may be associated with the Wnt pathway. *Int J Rheum Dis* 2018; 21: 502-509.
- 125.** Fernández-Roldán C, Genre F, López-Mejías R, Ubilla B, Mijares V, Cano DS, Sclerostin serum levels in patients with systemic autoimmune diseases. *Bonekey Rep* 2016; 5: 775.

## 6. ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Arıcak/Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladıktan sonra, 2007'de Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde üniversite eğitimime başladım, 2013 yılında mezun oldum.

2015 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD'de ihtisas eğitimime başladım. Halen eğitime burada devam etmekteyim. Evli bir çocuk babasıyım.

