



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İSTANBUL ANADOLU GÜNEY KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ
KARTAL DR. LÜTFİ KIRDAR
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

SJÖGREN HASTALIĞINDA LEPTİNİN ROLÜ

Dr. MUSTAFA ERDOĞAN

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL-2015



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İSTANBUL ANADOLU GÜNEY KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ
KARTAL DR. LÜTFİ KIRDAR
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

SJÖGREN HASTALIĞINDA LEPTİNİN ROLÜ

Dr. MUSTAFA ERDOĞAN

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

TEZ DANIŞMANI

Uz. Dr. MEHMET ENGİN TEZCAN

İSTANBUL-2015

TEŞEKKÜR

*Eğitim süremiz boyunca bizimle yakından ilgilenen, eğitimde gelişim için bizi sürekli teşvik eden kliniğimiz Eğitim Sorumlusu **Doç. Dr. Mehmet ALIUSTAOĞLU**'na,*

*Tezimi hazırlama süresince gece - gündüz bana destek olan, mesleki ahlak ve çalışkanlıkta örnek aldığım tez danışmanım **Dr. Mehmet Engin TEZCAN**'a*

*Tezimi hazırlamamda büyük emeği olan, tüm gayreti ve özeni ile bana yardım eden patoloji uzmanımız **Dr. Kayhan BAŞAK**'a*

*Tüm sorunlarımızda bize çözüm sunmaya gayret eden **Dr. Mustafa TEKÇE** ve **Prof. Dr. Özcan KESKİN**'e ,*

*Bize sağladığı bilimsel katkılar ve örnek hekimlikleri ile emekleri unutulmayacak; **Dr. Seydahmet AKIN, Dr. Güven YILMAZ, Dr. Emine GÜLTÜRK** ve **Dr. Kadriye AYDIN TEZCAN** başta olmak üzere tüm uzmanlarımıza,*

*Dostlukları ile zorlu eğitim sürecini kolaylaştıran, yanlarında bulunmaktan ve birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım, bana aile ortamında hissettiren; **Dr. Semih KEÇİCİ, Dr. Savaş Volkan KIŞIOĞLU, Dr. Salih KILIÇ, Dr. Günden DEĞER** ve tüm asistan arkadaşlarıma,*

*Öğütleri ve samimiyeti ile bize dört yıl boyunca ablalık yapan **Asiye POLAT**'a ve kliniğimizin tüm çalışanlarına,*

*VE eğitimim adına onları ihmalime katlanan, desteklerini hissettiğim için zorluklara katlanabildiğim, onların mutluluğu ile motive olduğum canım **AİLEM**'e sonsuz teşekkürlerimi iletiyorum ve sizle tanışmak ve çalışmak nasip olduğu için şükrediyorum.*

Dr. Mustafa ERDOĞAN

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Sjögren Sendromu Tanı Kriterleri	2
2.2 Sjögren Sendromu Epidemiyolojisi	5
2.3 SH Otoantikorları ve Etyopatogenezi	5
2.4 Sjögren Hastalığı Kliniği	7
2.4.1 Oral ve Göz Tutulumu	8
2.4.2 Ekstraglandüler-Sistemik Tutulum	9
2.5 Sjögren Hastalığı Tedavisi	10
2.5.1 Glandüler Tutulum Tedavisi	10
2.5.2 Ekstraglandüler Tutulum Tedavisi	11
2.6.1 Genel Bilgiler	12
2.6.2 Leptinin Fonksiyonları	14
2.6.3 İmmün Sistem ve Romatolojik Hastalıkarda Leptinin Yeri	15
2.6.4 Minör tükürük bezi ve leptin	16
3. MATERYAL VE METOD	17
3.1 Materyal	17
3.2 Metod	18
3.2.1 Tükürük bezi biopsisi	18
3.2.2 Patolojik Değerlendirme	18
3.2.2 Hastalık Aktivitesinin Değerlendirilmesi	23
3.2.3 İstatistiksel Yöntemler	24
4. BULGULAR	25
4.1 Hastaların Genel ve Demografik Özellikleri	25
4.2 Hastaların Semptom ve Bulguları	25
4.3 Hastaların Laboratuvar Sonuçları	26
4.4 Patolojik Değerlendirme Sonuçları	28
4.4.1 Minör Tükürük Bezi Fokus Skorlaması	28
4.4.2 Leptin ile Minör Tükürük Bezinin İmmünohistokimyasal Boyanması	28
4.4.3 Leptin Boyanma ve Fokus Skoru	29
5. TARTIŞMA	34

6. ÖZET	38
7. SUMMARY	39
8. KAYNAKLAR	40



TABLolar

Tablo 2.1 Amerikan-Avrupa Uzlaşma Grubunun Kriterleri

Tablo 2.2 ACR SH Tanı Kriterleri

Tablo 2.3 SH'da tanı anında ve 10 yıllık takip sonrası klinik bulguları(35)

Tablo 2.4 Serum leptin seviyesi üzerine önemli etkisi olan faktörler

Tablo 3.1 Doku takip işlemi süreleri

Tablo 3.2 SSDAI Skorlaması

Tablo 4.1 Hastaların genel özellikleri ve kronik hastalıkları

Tablo 4.2 Hastaların semptom ve bulguları

Tablo 4.3 Hastalıkla ilişkili laboratuvar sonuçları

Tablo 4.4 Diğer laboratuvar sonuçları

Tablo 4.5 Hastaların minör tükürük bezi patoloji sonuçları

Tablo 4.6 Asiner boyanma ve fokus skoru

Tablo 4.7 Duktal boyanma ve fokus skoru

Tablo 4.8 Stromal boyanma ve fokus skoru

Tablo 4.9 Total leptin boyanma ve fokus skoru

Şekil 4.4 Fokus skoruna göre leptin ile total boyanma

ŞEKİLLER

Şekil 2.1 Sjögren hastalığı patogenezi

Şekil 2.2 Leptinin metabolik etkileri

Şekil 4.1 Fokus skoruna göre leptin ile asiner boyanma

Şekil 4.2 Fokus skoruna göre duktal alanda leptin boyanma

Şekil 4.3 Fokus skoruna göre leptin ile stromal boyanma

Şekil 4.4 Fokus skoruna göre leptin ile total boyanma

RESİMLER

Resim 3.1 x400 büyütme, leptin ile minör tükürük bezinde asiner, duktal, stromal alanda yaygın boyanma

Resim 3.2 x400 büyütme, leptin ile minör tükürük bezinde asiner ve duktal alanda orta, stromal alanda yaygın boyanma

Resim 3.3 x400 büyütme, leptin ile minör tükürük bezinde asiner ve duktal alanda yaygın, stromal alanda hafif boyanma

Resim 3.4 X200 büyütme, leptin ile minör tükürük bezinde asiner ve duktal alanda boyanma yok, stromal alanda hafif boyanma

KISALTMALAR

ACR:	American College of Rheumatology
AECG:	The American European Consensus Group
AgRP:	Agouti-related protein
ANA:	Anti nukleer antikor
BT:	Bilgisayarlı tomografi
CART:	Cocaine- and amphetamine-regulated transcript
DM:	Diabetes Mellitus
ESDAI:	Eular sjögren syndrome disease activity index
ESSPRI:	The Eular SS patient-related index
EULAR:	The European League Against Rheumatism
FS:	Fokus Skoru
GCSF:	Glikolize peptid coloni stimulating factor
GÖRH:	Gastroösefajiyal reflü hastalığı
HCV:	Hepatit C virüs
HP:	Helicobacter Pylori
HT:	Hipertansiyon
IFN- γ :	İnterferon gamma
IL:	İnterlökin
MRG:	Manyetik rezolüsyonlu grafi
NK:	Natural Killer
NPY:	Nöropeptid-Y
OB-R:	Leptin reseptörü
OBS:	Oküler Boyanma Skoru
PBS:	Primer biliyer siroz
RA:	Romatoid artrit
RF:	Romatoid faktör
RTA:	Renal tubuler asidoz
SH:	Sjögren hastalığı
SLE:	Sistemik lupus eritematozus
SSDAI:	Sjögren Syndrome Disease Activity Index
Th1:	T helper 1
Th2:	T helper 2
TNF:	Tümör nekrozis faktör
USG:	Ultrasonografi
VKİ:	Vücut kitle indeksi

1. GİRİŞ

Sjögren hastalığı(SH), ekzokrin bezlerde lenfositik infiltrasyonun gözlemlendiği, ağız ve göz kuruluğu semptomlarının ön planda olduğu sistemik bir hastalıktır (1,2). Hastalığın patogenezi tam olarak açıklanamamaktadır. Multifaktöryel tetikleyicilerin, genetik yatkınlığı olan bireylerde, hastalığın açığa çıkmasına yol açabileceği düşünülmektedir. Ek olarak, hastalığın endokrin sistemin üyesi olan tükürük bezlerinde ortaya çıkışı, olayın nöroendokrin ve immün sistemin etkileşiminden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir(3).

Leptin, *obese* geni tarafından kodlanan, enerji dengesinde rolü olduğu tespit edilen bir moleküldür. Glikolize peptid coloni stimulating factor (GCSF) ve gp 130 için de reseptörler içeren Sınıf 1 sitokin reseptör ailesinin bir üyesi olan leptin reseptörü(OB-R) ise, *dibates(db)* geninin ürünüdür. Leptinin immün sistemdeki ana rolü proinflamatuvar sitokin etkisi göstermesidir (8-10). Leptinin, T lenfosit yanıtı üzerinde spesifik etkisi olduğu, *T helper 1* (Th1) ve *T helper 2* (Th2) tarafından sitokin üretimini artırdığı tespit edilmiştir(11). Ayrıca, leptin reseptörü hayvan ve insanların immün hücre yüzeylerinde de gösterilmiştir(11,12).

Bu çalışmada, leptin molekülünün SH'daki rolünü araştırmak amacıyla, SH ön tanısı ile alınmış olan minör tükürük bezi biyopsilerinde immünohistokimyasal olarak leptin varlığı ve tükürük bezindeki dağılımı incelenmiş ve SH ön tanısı ile araştırılan, fakat hastalık tespit edilmeyen bireylerden alınmış tükürük bezi biyopsileri ile karşılaştırılmıştır.

Literatürde, SH'da serum leptin düzeyleri hakkında bilgi içeren çalışmalar olmakla beraber bizim tespit edebildiğimiz kadarıyla tükürük bezinde leptin varlığını değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

Sjögren sendromu, esas olarak ekzokrin bezlerin etkilendiği, tükürük ve gözyaşı salgısının azalması ile seyreden sistemik otoimmün bir hastalıktır(2). Tutulan bezlerde fokal lenfositik infiltrasyon gözlenmektedir. Herhangi bir otoimmün hastalıkla beraber olmadığında primer SH olarak isimlendirilir. Hastalık organ spesifik özellik gösterebildiği gibi, ekstraplandüler bulgularla da ortaya çıkabilir(13,14). Ekstraplandüler tutulumda deri, akciğer, kalp, böbrek, santral ve periferik sinir sistemi, hematopoetik sistem tutulumu ve lenfoproliferatif hastalıklar gözlenebilmektedir(1). Hastalığın sınıflaması klinik pratikte 2002 yılından bu yana 'The American European Consensus Group(AECG)' sınıflama kriterlerine göre yapılmaktaydı. 2014 yılından itibaren, American College of Rheumatology(ACR) tarafından önerilen sınıflama kriterleri kullanılmaktadır. Hastalığın aktivitesini değerlendirmek için de The European League Against Rheumatism(EULAR) çatisı altında Eular sjögren syndrome disease activity index(ESDAI) ve Eular SS patient-related index(ESSPRI) olmak üzere iki adet skorlama oluşturulmuştur(15). Hastalığın tedavisinde topikal ajanlar, steroid, non-steroidal antiinflamatuvarlar ve immünsupresif ajanlar kullanılabilir(16).

2.1 Sjögren Sendromu Tanı Kriterleri

SS tanısı için, 1965 yılından bu yana 12 sınıflama önerilmiştir. 2002 yılından bu yana, tıp camiasında Amerikan-Avrupa Uzlaşma Grubu kriterleri kabul görmektedir(17). Bu kriterler Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1 Amerikan-Avrupa Uzlaşma Grubunun Tanı Kriterleri

I. Oküler belirtiler, aşağıdaki sorulardan en az birine olumlu yanıt:

1. En az üç aydır, günlük, inatçı, sıkıntılı kuru göz şikayetiniz var mı?
2. Gözlerde tekrarlayan kum veya çakıl hissi var mı?
3. Günde en az 3 kez suni gözyaşı kullanıyor musunuz?

II. Oral belirtiler, aşağıdaki sorulardan en az birine olumlu yanıt:

1. En az üç aydır, günlük ağız kuruluğu hissi var mı?
2. Yetişkin olarak tekrarlayan ve inatçı tükürük bezi şişliği var mı?
3. Kuru gıdaları yutarken sık sık sıvı içecek içmeniz gerekiyor mu?

Tablo 2.1(devamı) Amerikan-Avrupa Uzlaşma Grubunun Tanı Kriterleri

III. Oküler belirtiler, göz tutulumu nesnel kanıtı olarak aşağıdaki iki testten en az biri için olumlu bir sonuç bulunması:

1. Anestezi olmadan yapılan Schirmer testi sonucu, (5 dakika \leq 5 mm)
2. Rose Bengal testi puanı veya diğer göz boya testleri skoru (\geq 4 van Bijsterveld puanlama sistemine göre)

IV. Histopatoloji:

Minör tükürük bezinde (normal asinüs görünümü ile tespit edilen), uzman histopatolog tarafından gözlenen, fokal lenfositik siyaloadenit gözlenmesi. Fokus skorunun \geq 1 olması gerekmektedir. Fokus skoru normal görünümlü asinüs dokusuna komşu 4 mm² bez dokusunda en az 50 lenfositin oluşturduğu odak sayısıdır.

V. Tükürük bezi tutulumu:

Tükürük bezi tutulumu objektif delili olarak, aşağıdaki tanısal testlerin en az biri için olumlu bir sonuç gözlenmesi

1. Stimule edilmemiş tükürük miktarı (15 dakika \leq 1,5 ml)
2. Parotis sialografisinde, ana kanallarda tıkanıklık olmadan diffüz sialektasis (pункtat, kaviter veya destrüktif patern)
3. Tükürük bezi sintigrafisinde gecikmiş uptake, azalmış tükürük konsantrasyonu, gecikmiş atılım gözlenmesi

VI. Otoantikolar: Aşağıdaki otoantikoların serumda pozitifliği

1. Ro (SSA) ve La (SSB) antijenlerine karşı antikoların veya her ikisinin pozitifliği

Primer SH tanısı için, serolojinin veya histolojinin en az birinin pozitif olması koşulu ile 6 maddeden herhangi 4'ünün pozitif olması veya objektif kriterler olan III, IV, V, VI maddelerinden herhangi 3'ünün pozitif olması gerekmektedir. SH dışlama kriterleri ise boyun ve baş bölgesine radyoterapi alınmış olması, hepatit C enfeksiyonu, AIDS hastalığı, süregelen lenfoma varlığı, sarkoidoz, graft versus host hastalığı, yarılanma ömrünün 4 katından daha az süredir antikolinergik ilaç kullanılmasıdır. Kesin tanısı konmuş diğer bir bağ dokusu hastalığı veya SH ile ilişkili hastalık varlığında I. veya II.

madde pozitifliği olduğu halde, III, IV, V. maddelerden herhangi 2'sinin pozitif olması ikincil SH tanısını koydurmaktadır.

AAUG kriterleri, şu nedenlerden dolayı eleştirilmektedir:

- 1) Subjektif semptomlar içermektedir
 - Kuru göz kuru ağızlı hastaları yanlışlıkla kapsayabilir
 - Asemptomatik hastaları yanlışlıkla kapsayabilir
- 2) Düşük spesifiteli fizyolojik ölçekler içermektedir
 - Uyarılmamış tükürük akışı, anestezişiz Schirmer testi, tükürük sintigrafisi gibi
- 3) Tanısal olmayan objektif alternatif testleri içermektedir
 - Schirmer testi, Oküler Leke Testi yerine kullanılabilir. Halbuki, bu iki testin sensitivitesi ve spesifitesi çok farklıdır.
- 4) Çok fazla ölçüt vardır, tümünün hastaya uygulanması maddi ve fiziksel zorluklara yol açabilir(18).

2012 yılında ACR tarafından yukarıdaki eleştiriler eşliğinde alternatif bir sınıflama kriteri önerilmiştir(18). Bu sınıflama Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2 ACR SH Tanı Kriterleri

Aşağıdaki 3 maddeden en az 2 tanesinin olması:

- **Anti-SSA/Ro ve/veya Anti-SSB/La veya (pozitif Romatoid Faktör ve $\geq 1:320$ titreli ANA)**
- **Dudak tükürük bezi biyopsisinde fokus skoru(FS) ≥ 1 fokus/4 mm² olmak üzere fokal lenfositik sialadinit olması**
- **Kuru göz ile birlikte ≥ 3 Oküler Boyanma Skoru (OBS) (Glokom için günlük göz damlası kullananlar, son 5 yıl içinde kornea veya göz kapağı cerrahisi geçirenler hariç) olması.**

Tablo 2.2(devamı) ACR SH Tanı Kriterleri

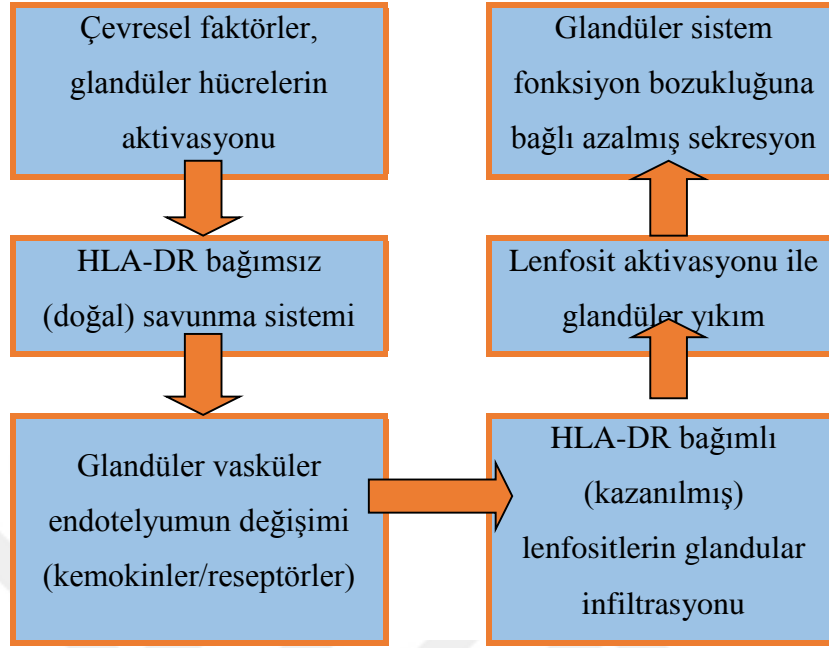
Tanı öncesinde aşağıdakilerden herhangi birinin olmaması:
• Baş ve Boyun bölgesine radyoterapi
• Hepatit C virüs (HCV) enfeksiyonu
• Kazanılmış immün yetmezlik sendromu
• Sarkoidoz
• Amiloidoz
• Graft-versus host hastalığı
• IgG4 ilişkili hastalık

2.2 Sjögren Sendromu Epidemiyolojisi

Primer SH'nın, prevalansı yaklaşık % 0,5'tir. Kadınlarda daha sık gözlenmektedir. Kadın, erkek oranı dokuza bir olarak bulunmuştur ve bu oran bölgesel farklılık göstermektedir(19-21). SH, sistemik lupus eritematozus ve progressive sistemik skleroz ile beraber en sık gözlenen romatolojik hastalıklardandır(22). Hastalığın prevalansı kullanılan tanı kriterine göre değişmektedir. Örnek olarak, Birlik ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SH prevalansı Avrupa ve AAUG kriterlerine göre sırasıyla; 0.35(0.10-0.45) ve 0.21(0.03-0.29) saptanmıştır(27). Kabasakal ve arkadaşlarının çalışmasında ise bu oranlar sırasıyla 0.56(0.92-2.66) ve 0.72(0.33-1.57) bulunmuştur(27). SH'nın ortalama ortaya çıkış yaşı 4. ve 5. dekata denk gelmektedir. 6. ve 7. dekatta ortaya çıkması da nadir değildir(25,26). Çocuklarda ise 2000-2010 yılları arasında yalnızca 81 vaka bildirilmiştir(27).

2.3 SH Otoantikörleri ve Etyopatogenezi

Hastalığın patofizyolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Patogeneizde multiple genetik ve genetik olmayan faktör rol almaktadır. Genetik alt yapısı olanlarda, çevresel faktörler inflamasyonu tetiklemekte ve hastalık sürecini başlatmaktadır(3).



Şekil 2.1 SH Patogenezi

Patogenezde ilk basamağı, glandüler vasküler endotelyal, glandüler epitel hücreler veya bu hücrelerden daha alt tabakada bulunan, stromal veya dendritik hücrelerin aktivasyonu oluşturmaktadır(28). Salgı bezine lenfosit göçünü arttıran adhezif proteinlerin artışı ve lenfosit ve dendritik hücrelerin beze yerleşmesinde rolü olan kemokinlerin salgılanması kritik rol oynamaktadır(29). Etkilenen dokulardaki dendritik hücre anormalliklerinin de katkısıyla sağlanan lenfosit aktivasyonu; interferon gamma(IFN- γ), interlökin(IL)- 17, B-hücre aktive edici faktör ve karakteristik otoantikörlerin üretimine neden olmaktadır(30).

Patogenezde suçlanan toll ve toll benzeri reseptörleri kullanan başlıca çevresel faktörlerin, bezin viral enfeksiyonları ve HLA bağımsız doğal bağışıklık sistemini tetikleyen bez dışı bölgelerin enfeksiyonları olduğu düşünülmektedir. Bu mekanizma ile lenfosit göçüne yol açan adhezif moleküllerin ve kemokinlerin üretimi tetiklenmektedir. Migrasyon ve yerleşme safhası ise doğal bağışıklık sistemi sayesinde olmaktadır. Ayrıca kazanılmış bağışıklık mekanizmaları devreye girererek, otoantikörleri ve hafıza lenfositlerini aktive etmektedir. Ekstragalndüler visseral organ tutulumlarına da lenfosit infiltrasyonları veya oluşan otoantikörler yol açmaktadır(3). Kazanılmış ve doğal bağışıklık sistemleri, birbirlerine kostimulasyon yapabilirler(31).

SH patogenezi, özetle başlatıcı faktör sayesinde bez hücrelerinde hücresel nekroz veya apopitoz ile hücre yüzeylerinde SS-A protein sunumu, hasarlı bezden salınan sitokinler ile lenfositlerin ve dendritik hücrelerin beze göçü ve yerleşmesi, T-helper lenfosit yardımı ile HLA-DR pozitif B-lenfositler tarafından SS-A proteinine karşı antikor salgılanması, SS-A içeren immunkompleks oluşumu ve bez içindeki dendritik hücrelerin toll reseptörlerine bu kompleksin bağlanması ve dendritik hücrelerden IF-1 salgılanmasıyla lenfosit göçü ve yerleşmesinin artması ve sonuç olarak bezde apopitoz ve hasar oluşmasıdır. Tüm bu sürecin ortaya çıkabilmesi için SS-A proteinine karşı antikor oluşturabilecek ve SS-A içeren yanıt açığa çıkarabilecek genetik yatkınlığın olması gerekmektedir.

Genelde salgı bezlerinde kısmi ve bölgesel hasar gözlenmesi beklenir. Ancak hasarlı bezden salınan lokal sitokinler, metalloproteinazlar ve otoantikorlar nedeniyle sağlam bezin çalışması da etkilenebilir(32).

2.4 Sjögren Hastalığı Kliniği

SH çoğu hasta görece olarak iyi huylu ve yavaş bir seyir gösterir(33). İlk bulgular non-spesifik olabilir. İlk bulguların ortaya çıkışı ile semptomların tamamen gelişmesi arasında geçen süre genellikle 6 yılı bulmaktadır(34).

Tablo 2.3 SH'da tanı anında ve 10 yıllık takip sonrası klinik bulguları(35)

	Tanı anında prevalans(%)	Takipte prevalans(%)
Glandular hastalık		
Ağız kuruluğu (Kserostomi)	90	92
Göz kuruluğu	95	95
Parotid bezi büyümesi	49	53
Gland dışı tutulum		
Artralji/artrit	70	75
Raynaud fenomeni	41	48
Akciğer tutulumu	23	29

Tablo 2.3(devamı) SH'da tanı anında ve 10 yıllık takip sonrası klinik bulguları(35)

Böbrek tutulumu		
İnterstisyel nefrit	7	9
Glomerülonefrit	0.4	2
Karaciğer tutulumu		
Periferel nöropati	1	2
Myozit	1	1
Santral sinir sistemi tutulumu		
Lenfoma	2	4

2.4.1 Oral ve Göz Tutulumu

Egzokrin bez tutulumunun esas bulgusu kuru göz (keratokonkuktivitis sikka) ve ağız kuruluğu (kserostomi) olmakla birlikte, başka bulgular ile de ortaya çıkabilir.

Kerakonjiktivitis sicca, kuru gözün (kseroftalmi) SH ile özdeşleşmiş adıdır. Bu durum lakrimal bezlerin lenfositik infiltrasyonu nedeniyle oluşur. Hastalar gözde tahriş, batma hissi, yabancı cisim hissinden yakınır. Ciddi keratokonjiktivitis sicca ile beraber, korneal abrazyon ve korneal erime de meydana gelebilir(3). Blefarit, herpetik keratit, konjuktivit, bleferospazm ve anterior üveit ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Göz kuruluğunun ikincil nedenleri de dışlanmalıdır(36).

Kseroftalmi, minör tükürük bezlerinin hasarı sonucu ortaya çıkar. Ağızda kuruma, katı gıdaları sıvı almadan yutamama ve konuşma güçlüğü ortaya çıkmaktadır. Hastalarda oral kandidiazis de görülebilir. Diş ve dişeti hastalıkları genel popülasyona göre daha sık oluşmaktadır. Ağız kuruluğu, minör tükürük bezleri tamamen yıkıma uğramasa bile oluşabilir. Yıkıma uğramamış bezlerin sinirsel uyarımı devam ederken(37) ve hatta muskarinik reseptör sayısının upregüle olmasına rağmen kuru göz gözlenebilmektedir(38). Hasar ortaya çıktığında, lenfosit aracılığı ile salınan sitokinler, otoantikolar, metalloproteinazlar, asetilkolinin normal salınımını ve salgı ünitelerinin asetilkoline yanıtını bozarak salgı kalitesini ve miktarını etkilemektedir. Az ve viskozitesi artmış salgı nedeni ile mukozalarda, kronik inflamasyon oluşmaktadır(39).

Hastalarda tükürük salgısının, gastrik asidi nötralize etme özelliğinin ortadan kalkmasına bağlı, gastroösefajiyal reflü hastalığı (GÖRH) ortaya çıkabilir. Üst solunum yolu benzeri semptomlar oluşabilir(40). Tükürük bezlerinde şişme, beklenen bir bulgu olmakla birlikte, ani şişmelerde; enfeksiyon ve topluma göre SH'da sıklığı artmış olması nedeni ile lenfoma akla gelmelidir. Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezolüsyonlu grafi (MRG) ve deneyimli radyoloğun bulunduğu merkezlerde USG, bu durumların ayırıcı tanısında faydalı olacaktır(41).

2.4.2 Ekstraglandüler-Sistemik Tutulum

Bağ dokusu hastalıkları ortak klinik bulgular taşıyabilir. SH'nın ekstraglandüler bulguları Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) ile benzerlik gösterebilmektedir.

Hastalarda kriyoglobulinemi ve/veya hiperglobulinemi zemininde oluşan damar duvarının neden olduğu palpable veya nonpalpable purpura başlıca cilt bulgusudur. Orta çaplı damarlarda nekrotizan vaskülit, arteriyel veya venöz tromboz ve ürtikeryal vaskülit görülebilir. Bazı hastalarda, vitiligo, deri kuruluğu, alopesi ve deri lenfoması da görülebilmektedir(42,43).

SLE ve romatoid artritteki (RA) gibi simetrik artralji veya artrit olmaktadır. Asimetrik tutulum veya monartrit olması halinde diğer nedenler, özellikle kristal artropatiler ve enfeksiyöz artritler, mutlaka düşünülmelidir(44). Miyalji ve kas kuvvetsizliği de hastalık seyrinde gözlenebilir(45).

İnterstisyel pnömoni ve trakeobronşiyal kuruluk en sık tespit edilen pulmoner patolojilerdir(46). SH olanlarda, mukoza bağımlı lenfoid doku lenfoması ve diğer lenfomalar da gözlenebilmektedir(47).

Kardiyovasküler tutulum en çok perikardit ve pulmoner hipertansiyon şeklinde ortaya çıkmaktadır(48). Hastalarda kardiyak otonom nöropati, anti-SS antikoru pozitif annelerin bebeklerinde ise konjenital kalp bloğu oluşabilmektedir(49).

İntertisyel nefrit hastalığın en sık görülen renal tutulum şeklidir(50). Tüblopati zemininde, hipokalemik paralizi(27), nefrolitiazis ve osteomalazi de oluşabilir(50). İntertisyel sistit ve mesane epitel hücrelerinde muskarinik kolinerjik reseptörlere karşı oluşmuş otoantikolar diğer üriner sistem bulgularıdır(52,53).

Gastrointestinal sistemde, özellikle ösefajial disfonksiyon ve mide antrumunda atrofik değişiklikler gözlenebilir(3). Mukoza ilişkili lenfositik tutulumu yol açabileceği için Helicobacter Pylori (HP) taraması ve eradikasyonu önerilmektedir. Hastalığın, primer biliyer siroz (PBS) ve çölyak hastalığı ile birlikteliği bildirilmiştir(54).

Otoimmün tiroidit ve hipotiroidi SS' da artmış sıklıkta görülmektedir(55).

Lenfoproliferatif hastalık görülme sıklığı, topluma göre kırk kat artmıştır(56). En sık, marginal zon B lenfoma görülmektedir(57). Parotis bezinde büyüme, bölgesel/yaygın lenfadenopati, hepatosplenomegali, pulmoner infiltratlar, vaskülit ve hipergamoglobulinemi (özellikle monoklonal) varlığı özellikle yüksek sedimentasyon hızına eşlik ettiğinde lenfoma şüphesi artmaktadır(3). Santral sinir sistemi, kranial nöropati, miyelopati ve periferik nöropati olam üzere SH olanların %20'sinde nörolojik tutulum gözlenmektedir. Duyusal nöropati en sık gözlenen tutulumdur ve epinöral inflamasyon nedeniyle oluşmaktadır(58,59). Asimetrik motor ve duysal nöropati küçük ve orta boy damar vaskülitine işaret etmektedir(42). Demiyelinizan hastalık ve iskemik nöropati de görülebilir(60). Nörolojik tutulum, akut ve kronik seyirli olabilir. SH olanlarda, santral sinir sistemi tutulumu en çok multiple skleroz ile karışmaktadır(58).

2.5 Sjögren Hastalığı Tedavisi

SH' da, tedavi tutulum derecesi ve tutulum olan organa göre değişmektedir.

2.5.1 Glanduler Tutulum Tedavisi

Tükürük ve gözyaşı bezi fonksiyon bozukluğu, topikal ya da sistemik tedavi ile tedavi gerektirebilir(61). Hastalar uygun miktarda sıvı almalı, kuru, sıcak ve rüzgarlı ortamlardan sakınmalı ve sigara içmemelidir. Antikolinergik etkili ilaçlardan mümkün olduğunca sakınılmalıdır.

Hafif göz kuruluşunda, koruyucu içermeyen suni gözyaşı faydalı olabilir. Daha ciddi semptomlar olduğunda ek olarak jel formunda suni gözyaşı kullanılabilir. Gözde inflamasyonu baskılamak için, kısa süreli topikal steroid, daha uzun süreli topikal siklosporin(%0.05) ya da keten tohumu yağı ile besin desteği denenebilir. Gözyaşı kanalının tıkanması ya da sistemik sekresyon artırıcı ajanlar, gözyaşı miktarını artırabilir. Diğer tedavi seçenekleri olarak; otolog serum damlaları, skleral protezler, nemlendirici gözlük ve nadiren

de cerrahi (parsiyel tarsorrafi) düşünülebilir. Blefarit varsa, göz kapağı temizliği ve pansumanı, gerekirse de sistemik tetrasiklin uygulanabilir.

Ağız kuruluğu için sık aralıklarla su içme, karbonhidratlı ve şekerli içeceklerden sakınma gereklidir. Şekersiz ve/veya ksilitol içeren sakız ya da pastil tükürük sekresyonunu artırabilir. Yapay tükürük salgısı, jel veya spreyle etkili olabilir(34). M3 reseptör antagonisti pilokarpin ve sevimelin salgı üretimini artırarak, ağız ve göz kuruluğunu azaltabilir ancak yan etkileri uzun süreli kullanımı kısıtlayabilir. Ayrıca bu ilaçlar dar açılı glokom, irit ve astımı olanlarda kullanılmamalıdır. 3-6 ay aralıklarla diş hekimi muayenesi yapılmalı ve çürük için gerekli önlemler alınmalıdır(62). Oral kandida tedavisi için lokal tedavi genellikle yeterli olmaktadır. Ancak nistatin içeren süspansiyonlar çoğunlukla şeker içerdiğinden bundan sakınılmalı ve yapay tatlandırıcı içeren oral solüsyonlar tercih edilmelidir. Vajinal kandida için nistatin vajinal tablet kullanılabilir. Oral immünmodülatör ya da immünsupresif tedavilerin lokal semptomlar üzerine etkisi gösterilememiştir. Steroid tedavisinin parotis ödeminde etkisi olabilir ancak uzun süre kullanımı, yan etkiler nedeni ile önerilmemektedir(63).

Biyolojik ajanların, spesifik immün yollarındaki rolü ve mevcut romatizmal hastalıklardaki başarısı göz önünde bulundurulunca faydalı olma potansiyelleri mevcuttur(34). Tümör nekrozis faktör(TNF) antagonisti infliximab ve etanerceptin kısa süreli plasebo kontrollü çalışmalarda faydası gösterilememiştir(64,65). Rituksimabın, bez fonksiyonları korunmuş hastalarda tükürük salgısını artırabileceği tükürük bezi ve gözyaşı bezi şişliğini azaltabileceği bulunmuştur(66,67).

Vajinal kuruluk için nemlendirici ve lubrikan ajanlar, topikal östrojen faydalı olabilir. Vulvar kuruluk için nemlendirici krem ve vitamin E içeren yağlar faydalı olabilir(34).

2.5.2 Ekstraglanduler Tutulum Tedavisi

Artrit için öncelikle hidrosiklorokin tedavisi önerilmektedir. Daha ciddi hastalıkta ise düşük doz steroid, metotreksat, leflunomid, TNF antagonisti veya rituksimab verilebilir(34).

Halsizik, multidisipliner tedavi gerektirebilir çünkü eşlik eden depresyon, fibromyalji ve uyku bozuklukları olabilir. Hidrosiklorokin, bu amaçla sıklıkla kullanılmaktadır. Sedimantasyon hızında, immünglobulin seviyesinde düşüş gözlenmiş

ancak klinik etkisi belirsizdir(34). Rituksimab ise, randomize klinik bir çalışmada halsizliği azaltmada etkili bulunmuştur(68).

Distal renal tubuler asidoz (RTA) durumunda oral bikarbonat ve sitrat başlanmalıdır. Böbrek yetmezliği veya proteinüri gelişen hastalar böbrek biyopsisi ile değerlendirilmelidir. İnterstisyel nefrit veya glomerülonefrit durumunda steroid tedavisi başlanmalıdır. Kriyoglobunemik nefrit varsa, immünsüpresif tedavi gerekebilir(34).

SH'da eğer zorlu vital kapasite (>%75) veya difüzyon kapasitesi (>%65) düşmemişse interstisyel akciğer hastalığı tedavi gerektirmez. Lenfoid interstisyel pnömoni veya organize pnömoni durumunda ise steroid ilk tedavi seçeneğidir. Steroid tedavisi tek başına başarısız olursa azatioprin, mikofenolat mofetil veya siklofosfamid etkili olabilir(69).

Periferik veya santral vaskülitik olmayan nöropatilerin tedavisinde trisiklik antidepresanlar, gabapentin, pregabalin, karbamazepin etkili olabilir. Yanıt alınmazsa intravenöz immünglobulin tedavisi faydalı olabilir(70). Vaskülitik tutulum ise steroid ve siklofosfamid ile tedavi edilmelidir. Rituksimab siklofosfamide alternatif olabilir(34). Cilt vaskülitisi hafif aralıklı purpura şeklinde ise tedavi gerekli olmayabilir. Koruyucu çoraplar ve ayakta uzun durmamanın faydası olabilir. Daha ciddi tutulumlar için steroid başlanmalıdır. Hidroksiklorokin, kolşisin, dapson, metotreksat, azatioprin ve mikofenolat mofetil steroid tedavisi dozunu azaltmak için kullanılabilir(34). Ritüksimab, kriyoglobunemik vaskülit için giderek daha fazla kullanılmaktadır. Siklofosfamid, tedaviye dirençli veya daha ciddi vakalar için saklanmalıdır(34).

2.6 Leptin

2.6.1 Genel Bilgiler

Leptin, Türkçe karşılığı zayıf olan latince "Leptos" kelimesinden türemiştir. 16-kD'luk *Obese (ob)* geni tarafından kodlanan glikolize peptid yapıda bir hormondur(71). Kromozomal 7q31.2 bölgesinde kodlanan *Ob* geninin nadir homozigot mutasyonu artmış iştah, obezite, insülin direnci, hipotalamik hipogonadizm, tiroid ve büyüme hormonu aksında bozulma ve immün baskılanmaya neden olmaktadır(71,72). Leptin, moleküler olarak interlökin-6 (IL-6), IL-11, IL-12 ve granülosit koloni uyarıcı faktör (GKUF) ile benzer bir yapıya sahiptir(73,74).

Leptin, esas olarak farklılaşmış adipositlerden olmak üzere yağ dokusundan salgılanır. Dolaşımdaki leptin ve yağ dokudaki leptin mRNA ekspresyonu vücut kitle indeksi

ve vücut yağ miktarı ile orantılıdır. Yağ doku dışında bağırsak, plasenta, meme gastrik fundik epitelyum, iskelet kası ve beyinden de leptin salgılanabilmektedir(73,74).

Leptin salınımında, gıda alımı esas rolü oynamakla birlikte çeşitli hormonlar ve moleküller de rol almaktadır. Kadınlarda, seviyesi daha yüksek bulunmaktadır. Bu durumun, bazı hastalıkların kadınlarda daha sık olması ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir(75). Akut enfeksiyon ve sepsis gibi durumlarda, TNF- α , IL-6 ve IL-1 β 'nin etkisiyle leptin üretimi artar(73,76). Tablo 2.4'te serum leptin seviyesinde etkisi olan faktörler gösterilmiştir.

Leptin reseptörü (OB-R), diabetes(*db*) geninin ürünüdür. Bu reseptör, IL-6, granülosit koloni uyarıcı faktör (GKUF) ve gp130 reseptörlerini de içeren sınıf 1 sitokin reseptör süperailisinin bir üyesidir(8). Altı çeşit leptin reseptörü [OB-Rb(uzun izoform), OB-Ra, OB-Rc OB-Rd OB-Rf(kısa izoformlar), OB-Re(çözünebilir izoform)] tanımlanmıştır(77).

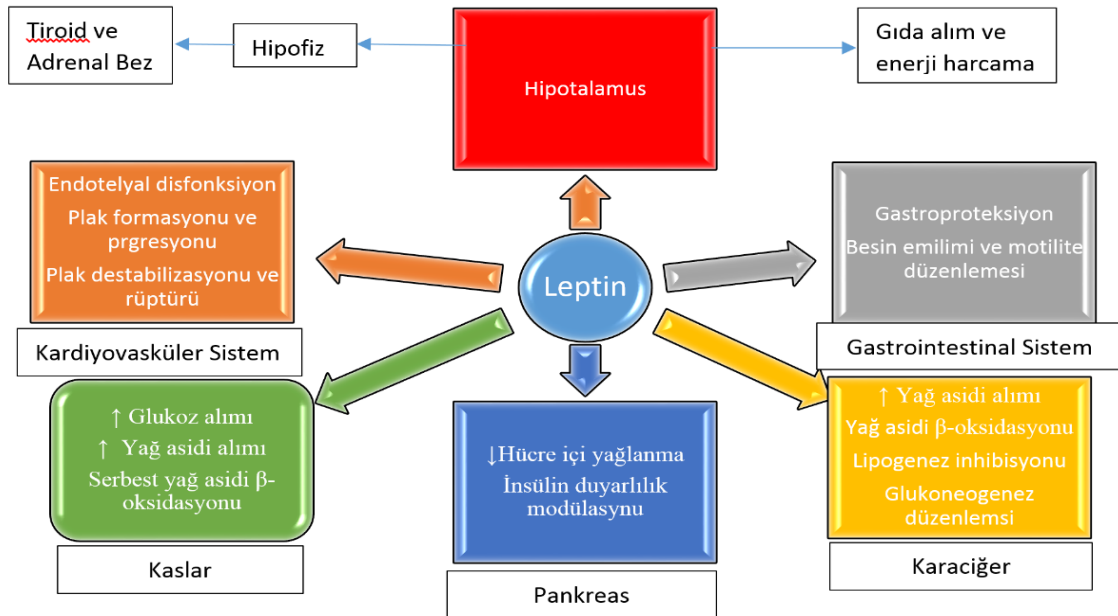
Tablo 2.4 Serum leptin seviyesi üzerine önemli etkisi olan faktörler

Artmış leptin üretimi	Azalmış leptin üretimi
Obezite	Uzamış kilo kaybı
Hiperalimentasyon	Akut açlık
İnsülin direnci	Ketokolaminler(β 3 reseptör)
Glukokortikoidler	Androjenler
Östrojen	Serbest yağ asitleri
Sitokinler	Büyüme hormonu
Kronik inflamasyon	PPAR- γ antagonistleri(tiazolidindiolar)

VADACCA, Marta, et al. Leptin in immuno-rheumatological diseases. Cellular & molecular immunology, 2011, 8.3: 203-212.

2.6.2 Leptinin Fonksiyonları

Leptin, esas olarak enerji dengesinin düzenlenmesi olmak üzere birden fazla fonksiyona sahiptir.(Şekil 2.2) Leptin OB-Rb üzerinden hipotalamik nöronlara etki eder. Bu bağlanma cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) internöronları ve inhibitör nöropeptid-Y (NPY) ve agouti-related protein (AgRP) internöronlarını etkileyerek iştah ve enerji harcamasını düzenler. Ayrıca hipotalamus-hipofiz-tiroid ve hipotalamus-hipofiz-adrenal bez aksına etki eder. Leptinin kardiyovasküler sistemi üzerine de etkileri bulunmaktadır. İmmün hücre birikimi ve endotel aracılı vazodilatasyon yoluyla endotel disfonksiyonuna yol açar. Ayrıca endotelial plak oluşumu, plak stabilizasyonunun bozulması ve tromboz oluşumuna katkı sağlamaktadır(78-81). Leptin düz kazlar, pankreas ve karaciğer üzerine etki ederek glukoz ve serbest yağ asitlerinin hücreye alımını ve yağ asidi β -oksidasyonunu artırır. Karaciğerde lipogenezi inhibe eder ve glukoneogenezi düzenler. Dokuların insülin sensitivitesi üzerine etki eder. Gastrointestinal sisteme etki ederek, enerji dengesinin sağlanmasında rol alır(81,10-12). Şekil 2.2’de Leptinin metabolik etkileri gösterilmektedir.



Şekil 2.2 Leptinin metabolik etkileri

2.6.3 İmmün Sistem ve Romatolojik Hastalıklarda Leptinin Yeri

Leptin yapısal olarak IL-2 ve IL-12'nin de yer aldığı "uzun zincir helikal sitokin ailesi" ile benzeşmektedir. Leptin reseptörlerinden OB-Rb ise, IL-6, lökosit inhibitör faktör ve granülosit koloni uyarıcı faktör reseptörlerini de barındıran "sınıf 1 sitokin reseptör ailesi" ile benzer yapıdadır. Bu reseptör insan immün sistem hücrelerinde gösterilmiştir(8,10-12).

Leptin hem doğal hem de kazanılmış immün sistem üzerinde etki gösterir. Leptinin doğal immün sistemdeki esas rolü; monosit/makrofaj hücrelerinde proliferasyonu ve fagositozu, nötrofillerin kemotaksisini artırması ve serbest oksijen radikallerinin salınımını ve *Natural Killer* (NK) hücrelerini aktive etmesidir(82).

Leptin naif T hücrelerin proliferasyonunu ve bu hücrelerden IL-2 sekresyonunu artırır. Tek başına lenfoid hücrelerin proliferasyonunu uyaramasa da diğer uyarıcı faktörlerin etkisini artırır(11,12).

Hayvan modellerinde leptin reseptör mutasyonun timüs boyutunda ve sellülaritesinde azalmaya neden olduğu ve T-hücre aracılı bağışıklıkta azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Bu durum azalmış otoimmün olaylar ve inflmasyonla sonuçlanmakta, ancak artmış bakteriyel ve viral enfeksiyon duyarlılığına neden olmaktadır(83).

Benzer şekilde kojenital leptin eksikliği olan çocuklarda enfeksiyona bağlı ölümler sık olmaktadır(84).

Fare modellerinde leptin eksikliği ya da reseptör defekti olanlarda, otoimmünite daha az gözlenmiştir(83).

SLE'de yapılan çalışmalarda ortalama serum leptin seviyeleri farklı bulunmakla beraber, SLE olmayan normal kontrol gruplarından anlamlı olarak yüksek saptanmıştır(85-87). Ayrıca hastalık aktivite indeksi ile leptin arasında, korelasyon saptanan(85) ve saptanmayan(87) çalışmalar bulunmaktadır. SLE'de leptin seviyeleri cinsiyet, yaş ve vücut kitle indeksinden(VKİ) bağımsız olarak daha yüksek bulunmuştur(85).

Romatoid artrit(RA), sinoviyal dokunun sistemik inflamatuvar bir hastalığıdır. İmmün aracılı artrit oluşturulan farelerden leptin reseptör defekti olanlarda artrit daha hafif seyretmektedir(88). RA hastalarında, serum leptin seviyeleri kontrol gruplarından daha yüksek seyretmektedir(89).

42 SH olan hasta ile yapılan bir çalışmada, serum leptin seviyeleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmakla beraber, bu durumun metabolik sendrom ve kardiyovasküler risk faktörleri ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir(90).

2.6.4 Minör tükürük bezi ve leptin

Leptin ve leptin reseptörü immünohistokimyasal olarak adipoz doku, santral sinir sistemi, plasenta, kalp, gastrointestinal sistem başta olmak üzere farklı dokularda gösterilmiştir. Bu dokularda proliferasyon, atrofi, immün düzenleme gibi çeşitli rolleri olduğu gösterilmiştir(91-94). Minör tükürük bezi ve diğer tükürük bezlerinde leptin ve reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir(95,96). Leptinin minör, submandibuler ve parotid tükürük bezinde benzer dağılımda olduğu gösterilmiştir(96). Leptinin tükürük bezinden aktif olarak salındığı, otokrin etki gösterdiği, ayrıca oral kavitede keratinosit proliferasyonu üzerine etki gösterdiği bulunmuştur(96). Hiperleptinemi durumunda tükürük bezinin ağırlığında azalma olduğu gösterilmiştir(97).

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

Çalışmaya, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Romatoloji Bölümü polikliniğine 01.01.2013 ile 31.12.2014 tarihleri arasında başvuran SH ön tanısı ile minör tükürük bezi biyopsisi yapılmış 43 hasta alınmıştır. SH sınıflama kriterlerini uyan, 24 hasta çalışma grubu olarak belirlenirken, geri kalan 19 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Tükürük bezi biopsisi, subjektif ve/veya objektif, ağız ve/veya göz kuruluşu bulunan hastalarda, aşağıdaki koşullardan herhangi birinin olması durumunda yapılmıştır:

- 1) ANA ve RF pozitifliği
- 2) SSA ve/veya SSB pozitifliği
- 3) Sedimentasyon değerinde diğer nedenlerle açıklanamayan yükseklik
- 4) Beyaz küre ve/veya trombosit değerlerinin normal sınırların altında bulunması
- 5) Parankimal organlarda, laboratuvar, patoloji veya görüntüleme yöntemi ile tespit edilmiş inflamatuvar hasar varlığı
- 6) Periferik veya santral nöropati
- 7) Tekrarlayan tükürük bezi şişliği
- 8) Artrit varlığı
- 9) Hastada, diğer nedenlerle açıklanmayan konstitusyonel semptomların bulunması.

Hastaların tüm laboratuvar testleri, demografik özellikleri, özgeçmiş bilgileri, eşlik eden semptom ve bulguları retrospektif olarak hasta dosyalarından temin edilmiştir. Minör tükürük bezi biyopsileri Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü tarafından yeniden değerlendirilmiştir. Chisholm-Mason evrelerine (99) göre fokus skoru belirlenmiş ve leptin boyamaları yapılmıştır. Hastaların verileri SH olan ve olmayan olmak üzere iki grup arasında kıyaslanmıştır

Çalışmaya dahil etme kriterleri:

- 1) 2012 yılında ACR sınıflama kriterlerine (18) göre SH tanısı almış olmak
- 2) Tanı sırasında tükürük bezi biopsisi yapılmış olmak
- 3) Sistemik skleroz, sarkoidoz gibi tükürük bezini tutabilecek diğer hastalıkların olamaması

3.2 Metod

3.2.1 Tükürük bezi biopsisi

Tüm biopsiler, Friedman ve arkadaşlarının tanımladığı modifiye minimal invazif teknik ile yapılmıştır(100). Bu metoda göre, alt dudakda, minör tükürük bezleri elle palpe edilerek tespit edilmiştir. Takiben tespit edilen bölge, lokal anestezi prilocaine ile 30 gauge şırınga kullanılarak uyuşturulmuştur. Glandular tükürük bezleri komşuluğundan, alt dudak mukozasına 1-2 mm'lik insizyon yapılmıştır. Takiben tükürük bezlerinin, basınç uygulaması ile çıkması sağlanmıştır. Neşter ile tükürük bezleri eksize edilerek işlem tamamlanmıştır. İşlem sonrası, elde edilen tükürük bezleri formol ile fikse edilmiştir.

3.2.2 Patolojik Değerlendirme

Dokular %10 formaldehit solusyonu içinde patoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Bir günlük fiksasyondan sonra dokular takip işlemine alınmıştır.

Dokuların takibi ve kesitlerin hazırlanması için gereken işlemler 7 aşamada gerçekleştirilir.

3.2.1.1 Fiksasyon

Tespit işlemi ile dokudaki hücreler ölür ve hücrelerin esas yapısını oluşturan proteinler hızla buldukları yerde çöker. Tespitin amacı; hücreyi otoliz ve bakteri sindiriminden korumak, hücre içeriklerinin kaybını önlemek, hücre membranını geçirgen hale getirmektir. Böylece incelenecek doku canlı halindeki mikroanatomik yapıları ve yapısındaki moleküler bileşenlerin biokimyasal özellikleri aslına en yakın şekilde korunur. Yüzde10'luk formalin ile fiksasyondan sonra dokular dehidatasyon için doku takibene alındı.

3.2.1.2 Doku Takibi

Doku takibi Leica ASP300 marka cihaz ile otomatik olarak yapıldı. Cihazdaki takip işlemi sırasında dokular sırası ile belirtilen solusyonlarda, belirtilen sürelerde bekletilerek takip işlemi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.1 Doku takip işlemi süreleri

Formol (%10)	45 dakika	Fiksasyon
Formol(% 10)	45 dakika	
Alkol (% 50)	60 dakika	Dehidrasyon
Alkol (% 70)	60 dakika	
Alkol (%96)	60 dakika	
Alkol (%96)	60 dakika	
Alkol (%96)	60 dakika	
Ksilol	60 dakika	Saydamlaştırma
Ksilol	60 dakika	
Parafin	60 dakika	Parafinizasyon
Parafin	60 dakika	
Parafin	75 dakika	

3.2.1.3 Saydamlaştırma

Dokuların, mikrotomda birkaç mikron kalınlığında kesilebilmesi için, sertleştirme işlemi uygulanmalıdır. Sertleştirici maddeler su içeren dokulara infiltre olamazlar. Bu amaçla önce doku içindeki su alınıp, yerine alkol, alkol alınıp yerine ksilol (saydamlaştırma) son olarakda ksilol alınıp yerine parafin geçirilir (parafinizasyon). Saydamlaştırıcı ajan olarak dehidratasyon maddesini (Alkol) temizleyen sertleştirici madde ile geçimli olan maddeler seçilir (Ksilol). Bu aşamada dokudaki alkol Ksilol ile yer değiştirir. Ksilol yağları eritir dokuyu saydamlaştırır.

3.2.1.4 Parafinizasyon

Daha sonra dokular erimiş parafin içine alındığında Ksilol ile parafin yer değiştirir ve parafin doku içine infiltre olur.

3.2.1.5 Blok hazırlama

Kesilebilir sertlik kazanmış dokular bu aşamadan sonra kesilecek yüzleri alt tarafta gelecek şekilde erimiş parafin içine gömülerek bloklar oluşturuldu. Bloklama Leica EG1160 marka blok döküm terminalinde yapıldı. Parafin bloklar soğutuldu.

3.2.1.6 Kesit hazırlama

Parfin bloklardan Leica RM2125RT marka mikrotom ile 3-5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesit sonrası dokularda kalan parafinlerin uzaklaştırılması için kesitler etüvde bekletildi. Daha sonraki aşamada kalan tüm parafini temizlemek kesitler için ksilolde bekletildi.

3.2.1.7 Boyama

Boyama işlemi Leica ST5010 Autostainer AXL marka otomatik boyama cihazı ile yapıldı ve dokular hematoksilen-eozin boyası ile boyandı.

Hematoksilen-eozin boyama yöntemi.

Lamların deparafinizasyonu

Aseton 30 saniye

Alkol 30 saniye

Alkol 30 saniye

Yıkama 30 saniye

Hematoksilen 3.5 dakika

Yıkama

Lityum karbonat 6 saniye

Yıkama- eozin 20 saniye

Yıkama

Alkol 30 saniye

Alkol 30 saniye

Alkol 30 saniye

Aseton 30 saniye

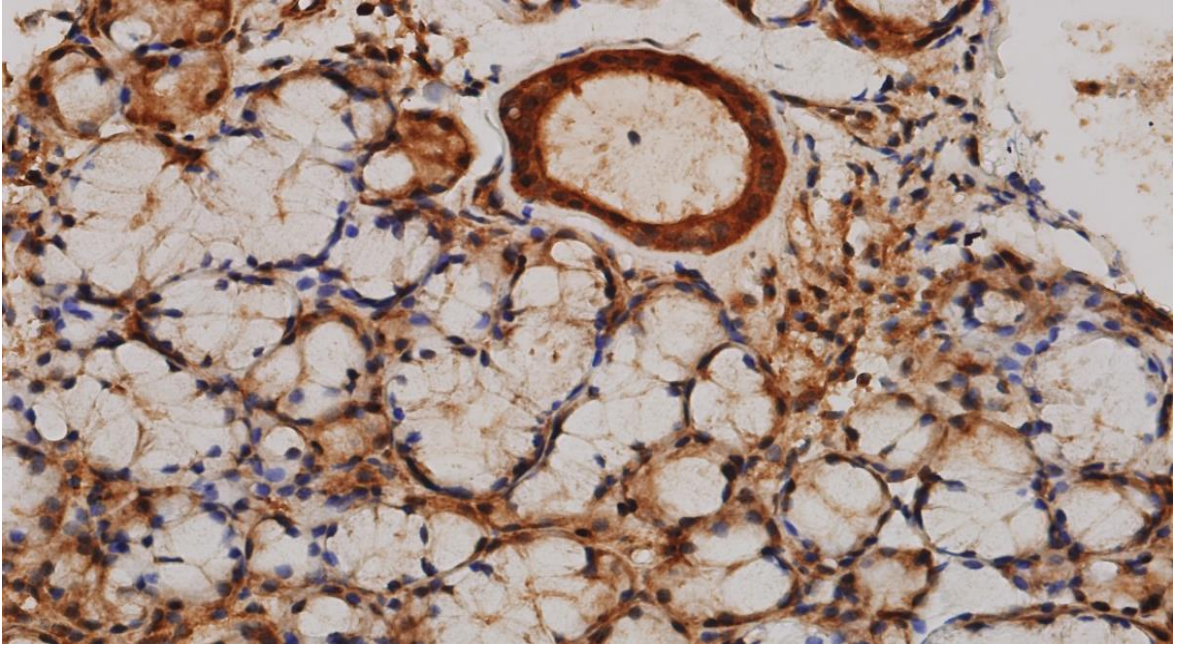
Hematoksilen-eozin boyaması ile hücrelerin sitoplazması pembe, çekirdekleri mavi-mor renge boyanır.

İmmünohistokimyasal Leptin (Bio-Rad AbD Serotec, Oxford, UK, Dilüsyon 1:300) boyaması Leica marka BondMax otomatik boyama cihazı tam otomatik olarak yapıldı.

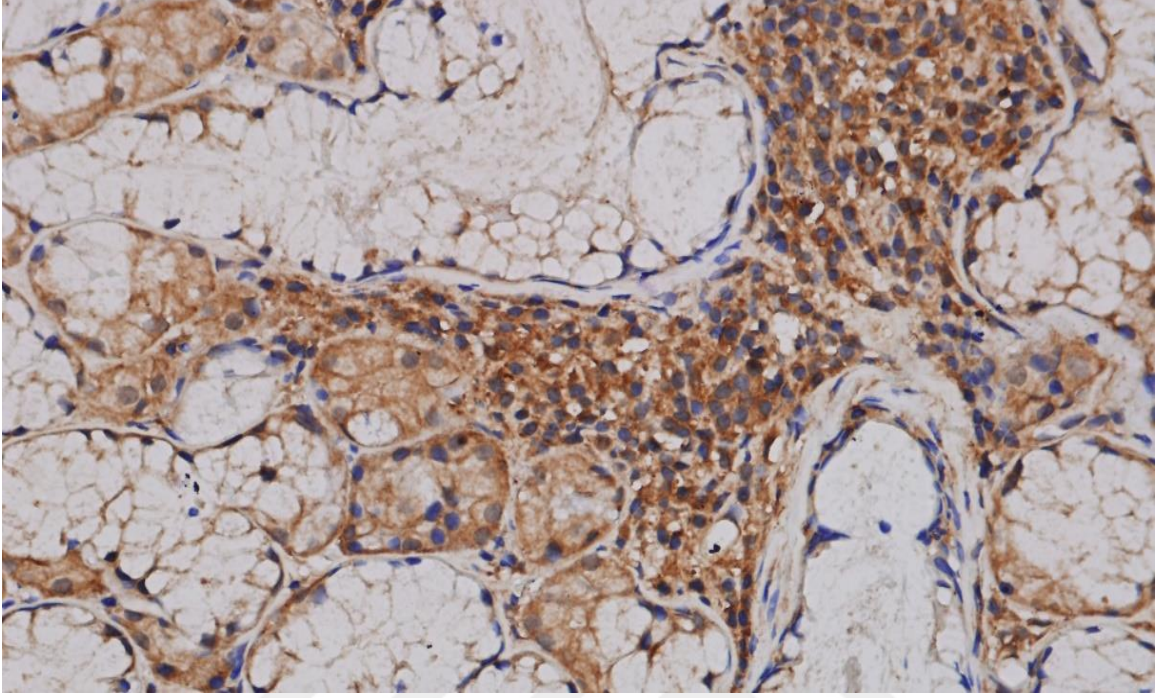
Hazırlanan lamlar Olympus BX53 marka mikroskop ile değerlendirildi. Her bir biyopside histolojik olarak minör tükürük bezinde asinilerin durumu, stromal fibrozis ve fokus değerlendirildi. Asinilere komşu en az 50 lenfosit içeren gruplar 1 fokus olarak değerlendirildi.

Leptin immünohistokimyasal boyamasının değerlendirilmesinde her bir olgu için asini epitelinde, duktus epitelinde ve stromada olmak üzere 3 ayrı skor verildi;

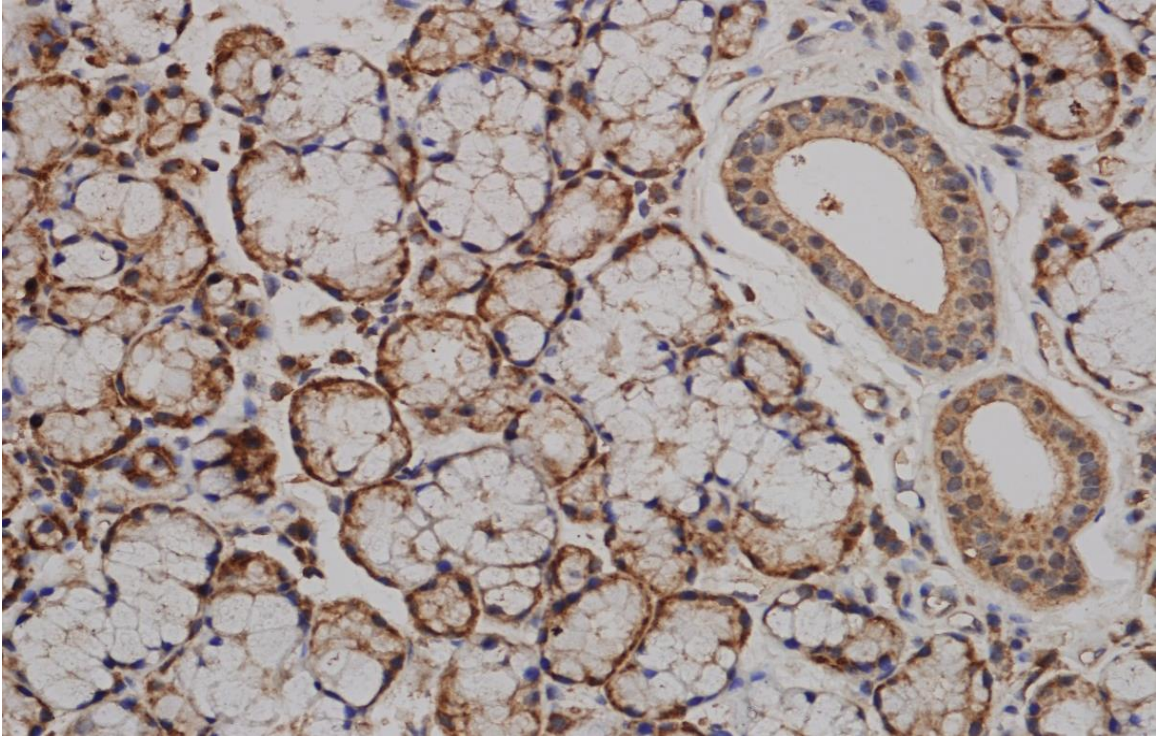
- i. Boyanma yoksa skor:0(boyanma yok),
- ii. Bir odakta birkaç hücrede ise skor:1(fokal boyanma),
- iii. Birden fazla odakta az sayıda ise skor:2(orta boyanma),
- iv. Yaygın boyanma varsa skor:3(yaygın boyanma),
- v. Üç odaktaki skorların toplamı ise, “total leptin boyanma” olarak kabul edildi.
 - ❖ Boyanma özellikleri ve skorlamaları aşağıda resimler ile gösterilmiştir.



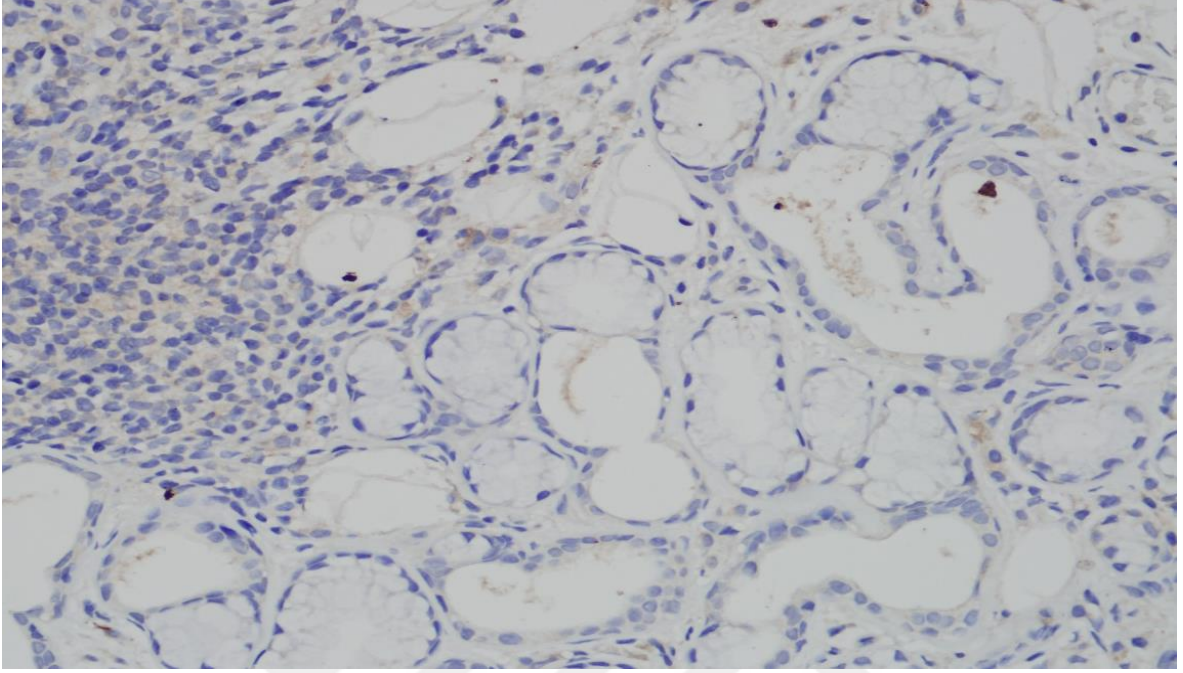
Resim 3.1 x400 büyütme, leptin ile minör tükürük bezinde asiner, duktal, stromal alanda yaygın(skor 3) boyanma



Resim 3.2 x400 büyütme, leptin ile minör tükürük bezinde asiner ve duktal alanda orta(skor 2), stromal alanda yaygın(skor 3) boyanma



Resim 3.3 x400 büyütme, leptin ile minör tükürük bezinde asiner ve duktal alanda yaygın(skor3), stromal alanda fokal (skor1) boyanma



Resim 3.4 X200 büyütme, leptin ile minör tükürü bezinde asiner ve duktal alanda boyanma yok(skor 0), stromal alanda fokal(skor 1) boyanma

3.2.2 Hastalık Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Hastaların hastalık aktiviteleri, Vitali ve arkadaşlarının oluşturdukları olan *Sjögren Syndrome Disease Activity Index (SSDAI)* kullanılarak değerlendirildi. SSDAI bileşenleri tablo 3.2’de gösterilmiştir. SSDAI>5 ise hastalık aktif kabul edilmektedir(98).

Tablo 3.2 SSDAI Skorlaması

Madde	Puan
Konstitüsyonel Sendrom	
Ateş	1
Halsizlik	1
Halsizlikte değişme	1
Tükürük Bezi Şişliğinde Değişme	3
Eklem semptomları (herhangi bir)	2
Artrit	
Artralji	

Tablo 3.2 SSDAI skorlaması(devamı)

Hematolojik Özellik	
Lökopeni/Lenfopeni	1
Lenf nod/dalak büyümesi	2
Plevrapulmoner Semptomlar(herhangi bir)	
Plörezi	
Pnömoni(Segmental ve interstisyel)	
Vaskülitte değişme	3
Aktif renal tutulum(herhangi biri)	
Yeni gelişen veya kötüleşen proteniüri	
Serum kreatininde artış	
Yeni gelişen veya kötüleşen nefrit	
Periferal nöropati	1

3.2.3 İstatistiki Yöntemler

İstatistiki verilerin değerlendirmesi Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versiyon 17 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu analitik yöntemlerle (Shapiro-Wilk) incelendi. Kategorik verilerin değerlendirmesi için Pearson ki-kare testi ve Fischer's kesin ki-kare testi kullanıldı. Sayısal veriler parametrik dağılım gösteriyorsa student t test, nonparametrik dağılım gösteriyorsa Mann-Whitney-U testi ile değerlendirildi. Normal dağılımayan değişkenler ortanca değeri ile normal dağılan değişkenler ise ortalama değeri ile verilmiştir. Parantez içinde minimum-maksimum veya standart sapma değerleri belirtilmiştir. İstatiksel olarak anlamlılık p 0.05'den küçük ise kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Hastaların Genel ve Demografik Özellikleri

Çalışma grubu olarak klinik ve patolojik olarak SH ile uyumlu olan 24 hasta, kontrol grubuna ise SH ön tanısı ile biyopsi yapılmış olan, hastalık kriterlerini karşılamayan ve patolojik olarak SH ile uyumlu olmayan 19 hasta alındı. Çalışmaya alınan hastaların %95.3'ü(41/43) kadındır. Çalışmaya alınan iki erkek hasta da kontrol grubunda yer alıyordu. Hastaların genel özellikleri ve eşlik eden kronik hastalıkları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1 Hastaların genel özellikleri ve kronik hastalıkları

	Sjögren + (n=24)	Sjögren – (n=19)	p
Median Yaş	49.5(24-78)	53(31-77)	0.732
Sigara			0.026
Yok	20(%83.3)	9(%47.4)	
Var	1(%4.2)	5(%26.3)	
Bırakmış	1(%4.2)	3(%15.8)	
DM			0.153(Fisher's Exact Test)
Yok	23(%95.8)	15(%78.9)	
Var	1(%4.2)	4 (%21.1)	
HT			0.477(Fisher's Exact Test)
Yok	20(%83.3)	14(%73.7)	
Var	4(%16.7)	5 (%26.3)	
Hipotiroidi			1(Fisher's Exact Test)
Yok	20(%83.3)	15(%78.9)	
Var	4(%16.7)	4 (%21.1)	

Not: DM: Diabetes Mellitus, HT: Hipertansiyon

4.2 Hastaların Semptom ve Bulguları

Çalışma ve kontrol grubunda, ağız kuruluğu; %33.3 (8/24) ve %47.4 (9/19), göz kuruluğu; %25(6/24) ve %47.4(9/19), tükürük bezi şişliği %83.3(20/24) ve %89.5 (17/19) oranında pozitif saptanmıştır. Bu semptomlar açısından, çalışma ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır(p=0.455, p=0.140, p=1). Diğer semptom ve bulgular Tablo 4.2' de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 Hastaların semptom ve bulguları

	Çalışma Grubu(n=24)	Kontrol Grubu(n=19)	p
Ağız Kuruluğu			0.455
Yok	8(%33.3)	9(%47.4)	
Var	13(%54.2)	9(%47.4)	
Göz kuruluğu			0.140
Yok	6(%25)	9(%47.4)	
Var	16(%66.7)	9(%47.4)	
Artralji			0.756(Fisher's Exact Test)
Yok	11(%45.8)	10(%52.6)	
Var	12(%50)	8(%42.1)	
Artrit			0.679(Fisher's Exact Test)
Yok	19(%79.2)	16(%84.2)	
Var	4(%16.7)	2 (%10.5)	
Tükürük Bezi Şişliği			1(Fisher's Exact Test)
Yok	20(%83.3)	17(%89.5)	
Var	2(%8.3)	1(%5.3)	
Vaskülitik cilt döküntüsü			1(Fisher's Exact Test)
Yok	17(%70.8)	14(%73.7)	
Var	5(%20.8)	4(%21.1)	
Raynaud Fenomeni			0.355(Fisher's Exact Test)
Yok	18(%75)	17(%89.5)	
Var	4(%16.7)	1(%5.3)	
Oral Aft			0.705(Fisher's Exact Test)
Yok	18(%75)	13(%68.4)	
Var	4(%16.7)	5(%26.3)	
Proteinüri			1(Fisher's Exact Test)
Yok	22(%91.7)	15(%78.9)	
Var	1(%4.2)	1(%5.3)	
Halsizlik			0.476(Fisher's Exact Test)
Yok	16(%66.7)	15(%78.9)	
Var	6(%25)	3(%15.8)	

4.3 Hastaların Laboratuvar Sonuçları

Çalışma ve kontrol gurubunda, SS-A pozitifliği; %12.5(3/24) ve %21.1(4/19), SS-B pozitifliği; %50 (12/24) ve %63.2 (12/19), antinükleer antijen(ANA) pozitifliği; %54.2 (13/24) ve %52.6(10/19) saptanmış olup aralarındaki fark her üç test için de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.(p=1, p=1, p=0.97). Hastalıkla ilişkili test sonuçları tablo 4.3' te gösterilmiştir. Diğer tüm laboratuvar sonuçları ise tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3 Hastalıkla ilişkili laboratuvar sonuçları

	Çalışma Grubu(n=24)	Kontrol Grubu(n=19)	p
RF pozitifliği			0.681(Fisher's Exact Test)
Yok	16(%66.7)	10(%52.6)	
Var	6(%25)	2(%10.5)	
ANA pozitifliği			0.970
Yok	13(%54.2)	10(%52.6)	
Var	8(%33.3)	6(%31.6)	
SS-A Pozitifliği			1(Fisher's Exact Test)
Yok	10(%41.7)	12(%63.2)	
Var	3(%12.5)	4(%21.1)	
SS-B Pozitifliği			1(Fisher's Exact Test)
Yok	12(%50)	12(%63.2)	
Var	1(%4.2)	1(%5.3)	

Not: ANA: Anti-nükleer Antikor, RF: Romatoid Faktör

Tablo 4.4 Diğer laboratuvar sonuçları

	Çalışma (n=24)	Kontrol (n=19)	p
Lökosit (x10⁶/L)	6772(±1896)	6852(±1821)	0.524
Nötrofil (x10⁶/L)	3870(±1424)	42218(±1589)	0.556
Lenfosit (x10⁶/L)	2170(±537)	1989(±774)	0.191
Nötrofil/Lenfosit Oranı	1.79(±0.47)	2.37(±1.27)	0.192
Platelet Sayısı (x10⁶/L)	291380(±113356)	277500(±105304)	0.759
Hb(gr/dL)	12.3(±1.6)	12.7(±1.34)	0.936
Kreatinin (mg/dL)	0.72(±0.37)	0.63(±0.22)	0.372
ALT (ünite/L)	18.5(±8.4)	22(±13)	0.454
GGT (ünite/L)	26.3(±25.2)	31(±18)	0.405
Sedim (mm/saat)	32(±24.9)	31(±27)	0.714
CRP(MEDIAN) (mg/L)	3.2(1.8-18)	4.7(2-51)	0.148

Not: ALT: Alanin amino transferaz, CRP: C reaktif protein, GGT: Gamma glutamil transferaz, Hb: Hemoglobulin

4.4 Patolojik Değerlendirme Sonuçları

4.4.1 Minör Tükürük Bezi Fokus Skorlaması

Çalışma grubundaki hastaların, minör tükürük bezi biyopsisinde Chisholm-Mason sınıflamasına (99) göre fokus skoru %25’inde (6/24) 1, %50’sinde (12/24) 2, %25’inde (6/24) ≥ 3 saptanmıştır.

4.4.2 Leptin ile Minör Tükürük Bezinin İmmünohistokimyasal Boyanması

Asiner alanda; çalışma grubunda, en fazla, fokal boyanma (%41.7) tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise; en fazla, fokal boyanma (%36.8) ve orta boyanma (%36.8) tespit edilmiştir. İki grup arasında leptin ile asiner boyanma açısından fark anlamlı bulunmamıştır.(p=0.827)

Duktal alanda; çalışma grubunda, en fazla orta boyanma (%37.5) tespit edilmiştir. Kontrol grubunda da benzer şekilde en fazla orta boyanma (%42.1) tespit edilmiştir. İki grup arasında, leptin ile duktal boyanma açısından fark anlamlı bulunmamıştır.(p=0.577)

Stromal alanda; çalışma grubuna, en fazla fokal boyanma (%50), tespit edilmiştir. Kontrol grubunda da benzer şekilde en fazla orta boyanma (%57.9) tespit edilmiştir. İki grup arasında, leptin ile stromal boyanma açısında fark anlamlı bulunmamıştır.(p=0.351)

Patolojik değerlendirme sonuçları Tablo 4.5’ te gösterilmiştir.

Tablo 4.5 Hastaların minör tükürük bezi patoloji sonuçları

	Çalışma Grubu(n=24)	Konntrol grubu(n=19)	p
Foku Skoru			
1	6(%25)		0
2	12(%50)		
≥ 3	6(%25)		
Leptin Asiner Boyanma			
Yok	2(%8.3)	3(%15.8)	0.827
Fokal	10(%41.7)	7(%36.8)	
Orta	8(%33.3)	7(%36.8)	
Yaygın	4(%16.7)	2(%10.5)	

Tablo 4.5 (devamı) Hastaların minör tükürük bezi patoloji sonuçları

	Çalışma Grubu(n=24)	Konntrol grubu(n=19)	p
Leptin Duktal Boyanma			
Yok	2(%8.3)	3(%15.8)	0.577
Fokal	5(%20.8)	5(%26.3)	
Orta	9(%37.5)	8(%42.1)	
Yaygın	8(%33.3)	3(%15.8)	
Leptin Stromal Boyanma			
Yok	1(%4.2)	0	0.351
Fokal	12(%50)	11(%57.9)	
Orta	3(%12.5)	5(%26.3)	
Yaygın	8(%33.3)	3(%15.8)	

4.4.3 Leptin Boyanma ve Fokus Skoru

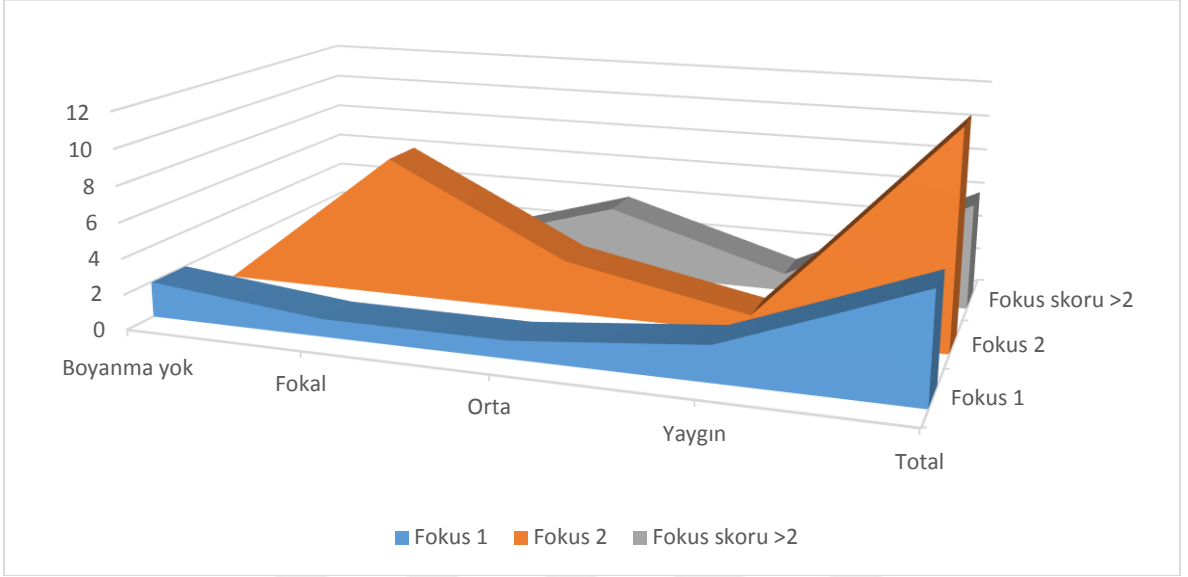
SH tanısı olan 24 hastanın, tükürük bezi biopsisi fokus skoru ile tükürük bezinin asiner, duktal, stromal ve total leptin boyanması arasındaki ilişki incelendi.

Fokus skoru ve asiner leptin boyanma ilişkisi Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Fokus skoru ile asiner boyanma arasında anlamlı ilişki saptandı.(p=0.034)

Tablo 4.6 Asiner boyanma ve fokus skoru

	Asiner boyanma					Total
	Boyanma yok	Fokal	Orta	Yaygın		
Fokus Skoru						
Fokus 1	2	1	1	2	6	
Fokus 2	0	8	3	1	12	
Fokus skoru >2	0	1	4	1	6	
Total	2	10	8	4	24	

*p=0.031



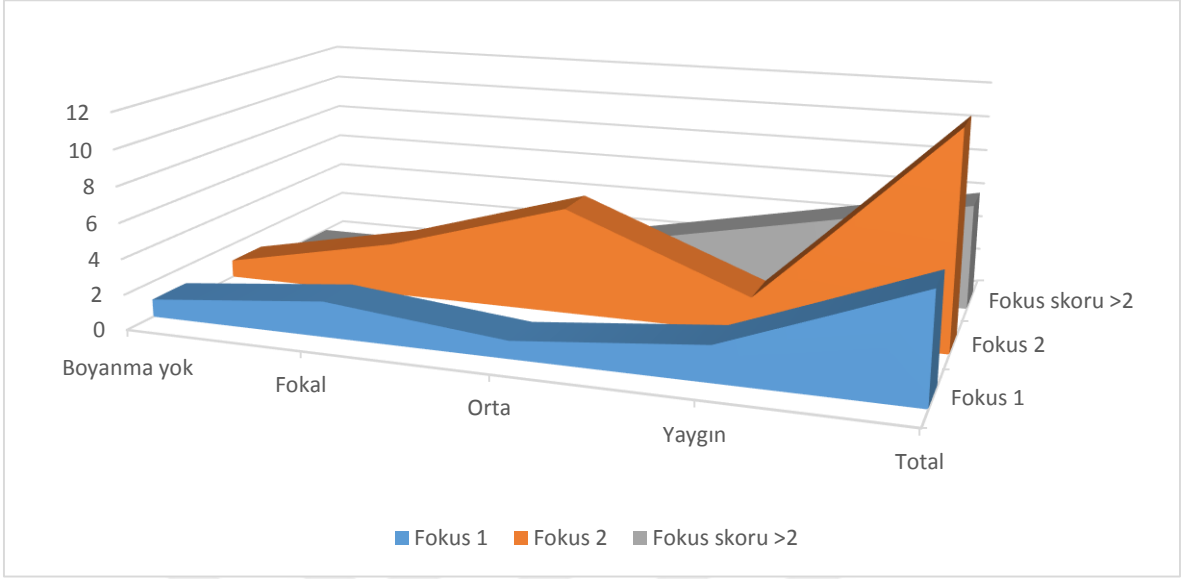
Şekil 4.1 Fokus skoruna göre leptin ile asiner boyanma

Fokus skoru ve duktal leptin boyanma ilişkisi Tablo 4.7’de gösterilmiştir. Fokus skoru ile duktal boyanma arasında anlamlı ilişki saptanmadı.(p=0.319)

Tablo 4.7 Duktal boyanma ve fokus skoru

		Duktal boyanma				
		Boyama yok	Fokal	Orta	Yaygın	Total
Fokus Skoru	Fokus 1	1	2	1	2	6
	Fokus 2	1	3	6	2	12
	Fokus skoru >2	0	0	2	4	6
	Total	2	5	9	8	24

*p=0.319



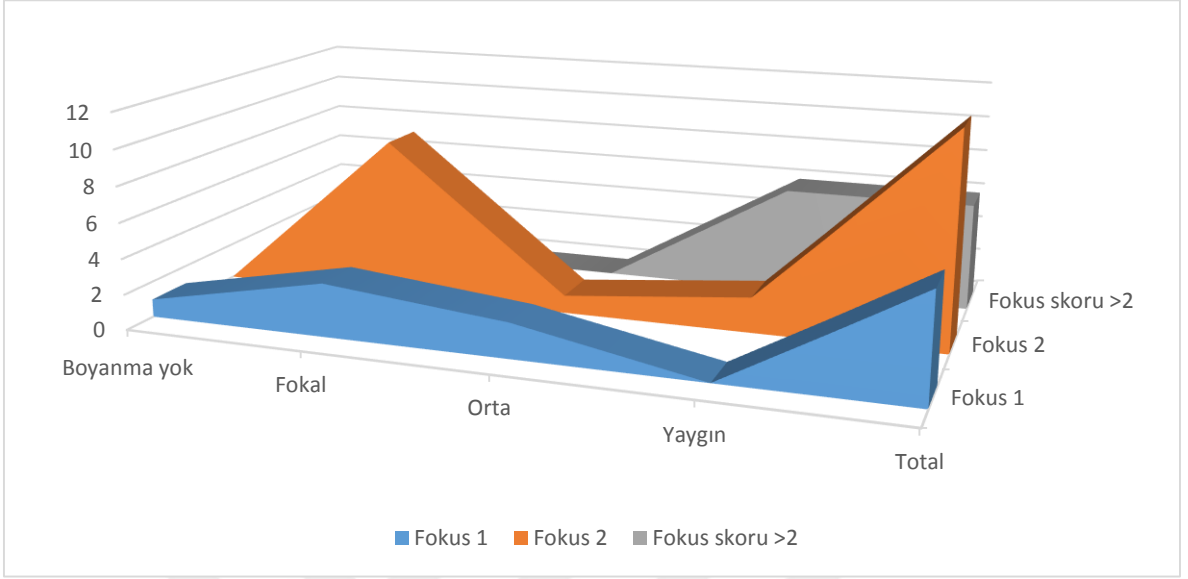
Şekil 4.2 Fokus skoruna göre duktal alanda leptin boyanma

Fokus skoru ve stromal leptin boyanma ilişkisi Tablo 4.8’de gösterilmiştir. Fokus skoru ile stromal boyanma arasında anlamlı ilişki saptandı.(p=0.001)

Tablo 4.8 Stromal boyanma ve fokus skoru

		Stromal boyanma				
		Boyanma yok	Fokal	Orta	Yaygın	Total
Fokus Skoru	Fokus 1	1	3	2	0	6
	Fokus 2	0	9	1	2	12
	Fokus skoru >2	0	0	0	6	6
	Total	1	12	3	8	24

*p=0.001



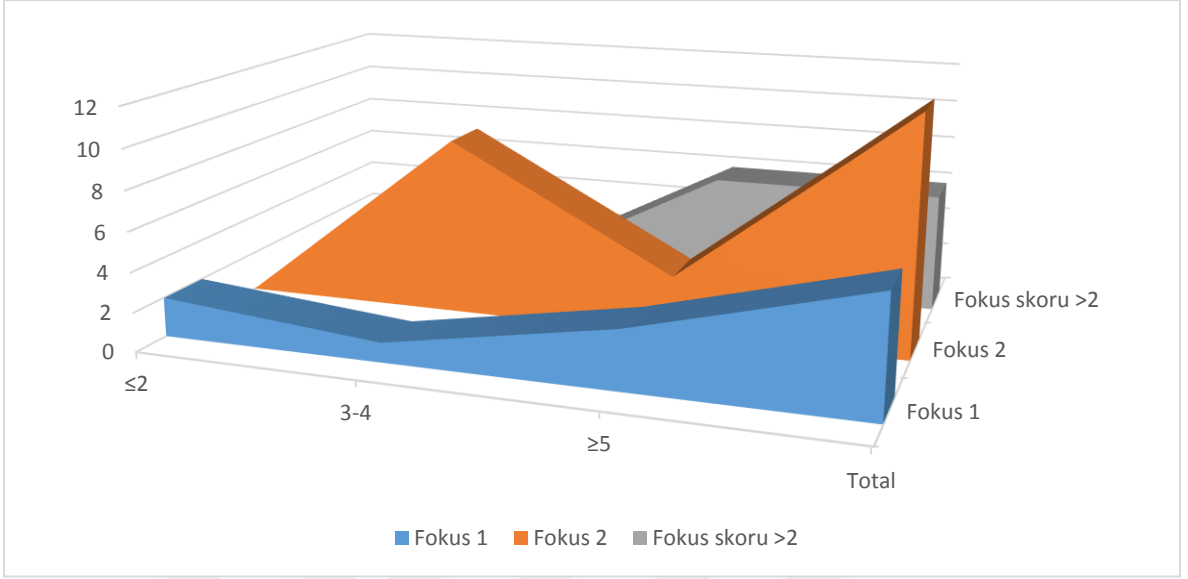
Şekil 4.3 Fokus skoruna göre leptin ile stromal boyanma

Fokus skoru ve total leptin boyanma ilişkisi Tablo 4.9'da gösterilmiştir. Fokus skoru ile total boyanma arasında anlamlı ilişki saptandı.(p=0.02)

Tablo 4.9 Total leptin boyanma ve fokus skoru

		Total Leptin Boyanma			Total
		≤2	3-4	≥5	
Fokus Skoru	Fokus 1	2	1	3	6
	Fokus 2	0	9	3	12
	Fokus skoru >2	0	0	6	6
	Total	2	10	12	24

*p=0.02



Şekil 4.4 Fokus skoruna göre leptin ile total boyanma

SH'da SSDAI skoru hesaplandı. Hastaların, ortalama SSDAI skoru 1.67 ± 1.44 saptandı. SSDAI skoru sadece bir hastada beşin üstünde bulundu. SH da tükürük bezi fokus skoru, tükürük bezi yapılarının leptin ile boyanma derecesi ve SSDAI skoru arasında ilişki değerlendirildi. Asiner bölgede yaygın leptin boyanması gözlenen hastalarda SSDAI skoru daha yüksek tespit edildi. ($p < 0.05$)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, otoimmün hastalıklarda serum düzeyi arttığı gösterilen(85-90) leptin molekülünün, Sjögren hastalığında doku düzeyindeki etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, SH tanısı olan hastalarla, kontrol grubundaki bireylerin minör tükürük bezi biyopsileri, immünohistokimyasal olarak leptin ile boyanmıştır. Sjögren hastaları ve kontrol grubu; genel özellikleri, eşlik eden hastalıkları, semptom ve bulguları, hastalıkla ilgili ve genel laboratuvar sonuçları, minör tükürük bezi asiner, duktal ve stromal alanların leptin ile boyanması açısından karşılaştırılmış ve iki grup arasında bu özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durumu, her iki grup için de tükürük bezi biopsisi yapılma endikasyonlarının aynı olmasının açıklayabileceği düşünülmüştür.

Çalışma sonuçlarına göre; SH olan hastaların tükürük bezlerinde leptin boyanması, SH olmayanlarla farklılık göstermemiştir. Ancak SH olan hastalardan, fokus skoru ikinin üzerinde olan hastalar ile fokus skoru ikiden küçük hastalar ve kontrol grubu arasında stromal ve asiner alanların leptin boyanması açısından farklılık bulunmuştur ($p=0.031, p=0,01$). Fokus skoru ikinin üzerinde olan hastalarda, leptin ile yaygın boyanma asiner ve stromal alanda daha fazla olmaktadır. Bu boyanmanın özellikle stromal alanda daha belirgin olduğu görülmüştür.

Bohlender ve arkadaşlarının sağlıklı insanlardan alınan biyopsiler ile yaptığı bir çalışmada, leptinin tüm tükürük bezi biyopsilerinde benzer boyandığı, bezin tüm alanlarında boyanmanın olduğu saptanmıştır. Ayrıca, tüm tükürük bezi dokusunda leptin reseptörleri de bulunmuştur. Bu çalışma, leptinin otokrin etki gösterdiğini düşündürmektedir(96). Bizim çalışmamızda, sağlıklı bireylerde ve fokus skoru ikinin altında olan Sjögren hastalarında; asiner, duktal, stromal alanlarda leptin boyanmasının benzer olduğu bulunmuşken, fokus skoru ikinin üzerinde olanlarda asiner ve stromal alan leptin boyanmasının hem kontrol grubu ile hem de fokus skoru ikinin altında olanlar ile farklılık gösterdiği bulunmuştur ($p=0.031, p=0,01$).

Leptin, hem doğal hem de kazanılmış immün sistem üzerinde etki gösterir. Leptin, monosit/makrofaj hücrelerinde proliferasyonu ve fagositozu, nötrofillerin kemotaksisini ve serbest oksijen radikallerinin salınımını artırır ve NK hücrelerini aktive eder(82). Leptin, naif T hücrelerin proliferasyonunu ve bu hücrelerden IL-2 sekresyonunu artırır. Tek başına

lenfoid hücrelerin proliferasyonunu uyarmasa da diğer uyarıcı faktörlerin etkisini artırır(11,12).

Hayvan modellerinde leptin reseptör mutasyonunun timüs boyutunda, sellülaritesinde ve T-hücre aracılı bağışıklıkta azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Bu durum azalmış otoimmün olaylar ve inflmasyonla sonuçlanmakta ancak artmış bakteriyel ve viral enfeksiyon duyarlılığına neden olmaktadır(83).

Fare modellerinde, leptin eksikliği ya da reseptör defekti olanlarda, otoimmünite daha az gözlenmiştir(83).

Vadacca ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SLE hastalarında leptin sağlıklı bireylerden yüksek bulunmuş ve hastalık aktivite indeksi ile arasında korelasyon tespit edilmiştir(85). Chung ve arkadaşları(86) ve Garcia-Gonzalez ve arkadaşlarının(87) yaptığı çalışmalarda da benzer şekilde leptin seviyeleri yüksek saptanmıştır.

Busso ve arkadaşlarının çalışmasında, deneysel RA fare modellerinde, leptin reseptör defekti olanlarda artritinin daha hafif seyrettiği görülmektedir(88).

Vadacca ve arkadaşları ise, SH olanlarda; serum leptin seviyelerinin normalden daha yüksek olduğunu ve bu durumun kardiyovasküler risk faktörleri ile ilişkili olduğunu tespit etmiştir(90).

Tüm bu çalışmalar leptinin immün sistem üzerinde ve otoimmün hastalıklarda etkisi olabileceğini düşündürmektedir. SH'da da serum leptin seviyeleri yüksek bulunmakla beraber, tükürük bezinde leptin boyamasının yapıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda, fokus skoru daha yüksek olanlarda, daha yaygın leptin boyanmasının olması, hastalığın patolojik olarak daha belirginleştiği ileri evrelerde, tükürük bezinde leptinin; otokrin olarak inflamasyonu tetiklemesi veya hastalığın ilerlemesi ile tükürük bezinde artan inflamasyona bağlı birikimi ile açıklanabilir. Özellikle, SH'da tükürük bezi tutulumunda rol alan inflamatuvar hücrelerin, kemotaksisinde ve aktivasyonunda lokal olarak rol oynayabileceği, artan inflamasyon ve salınan serbest oksijen radikalleri ile tükürük bezinde hasar meydana gelmesine yol açabileceği ve ilerleyen evrelerde timusdakine benzer şekilde tükürük bezi ağırlığında azalmaya yol açabileceği düşünülebilir. Leptinin, tükürük bezi üzerindeki etkisinin belirlenmesi için düşük fokus skorlu Sjögren hastalarının prospektif gözlemi ve tekrarlayan tükürük bezi biopsisi yapılarak, leptin boyaması ile, hastalığın ilerlemesi arasında ilişki olup

olmadığının incelenmesinin uygun olacağı düşünülmektedir. Ayrıca, deneysel leptin reseptör defekti veya leptin eksikliği olan hayvan modellerinde tükürük bezi biyopsilerinin, leptin boyanması ile değerlendirilmesi de bu konuda fikir verebilir. Sonuç olarak, leptinin otokrin etkisi ile tükürük bezi hasar patogenezinde rol oynadığının tespiti, SH'a bağlı bez tutulumuna bağlı kuruluk semptomlarının ilerlemesinin engellenmesi için hedef tedavi molekülü olmasına yol açabilir.

SSDAI skoru ile tükürük bezinde leptinin asiner boyanma, dereceleri arasında farklılık saptanması, ancak stromal boyanmada bu farkın saptanmaması, hastalığın sistemik tutulumu ile asiner alanda leptin boyanması arasında ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Ancak mevcut bulgular, neden-sonuç ilişkisi ortaya koymaktansa, asinüs bölgesinde daha fazla leptin birikimine yol açan çevresel veya genetik faktörlerin, hastalığın daha ağır seyretmesine yol açan çevresel veya genetik faktörlerle benzer olduğunu düşündürebilir. SSDAI skoru >5 üzerinde olan veya sistemik tutulumu olan hastalarda da yapılacak çalışmalarda benzer sonuçlar elde edilebilirse, tükürük bezi leptin boyanması SH için prognoz belirteci olarak değerlendirilebilir. Sonuç olarak, SH'da tükürük bezinde leptin boyanmasının, hastalığın ilerleyen dönemlerinde stromal ve asiner bölgelerde arttığı bulunmuştur. Bu durumun hastalık patogenezinde rolünün olup olmadığı, tedavideki muhtemel rolü ve prognoz belirteci olabilirliliğinin daha kapsamlı çalışmalarla araştırılmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

Sonuçlar ve Öneriler:

- 1) Sjögren hastalığında tükürük bezinde, ilerleyen hastalık evresinde stroma ve asiner bölge leptin boyanmasının arttığı tespit edilmiştir
- 2) Sjögren hastalığında hastalık aktivitesi ile tükürük bezinde asiner bölge leptin boyanması arasında ilişki saptanmıştır.
- 3) Leptin boyama ile birlikte leptin reseptörünün de gösterilmesi leptinin SH'daki otokrin rolünü daha net ortaya koyabilir.
- 4) SSDAI skoru yüksek olan ve organ tutulumu olanlarda bu çalışmanın yapılması leptinin prognoz belirteci olarak rolünü ortaya koyabilir.

- 5) Tükürük bezi dışı organ tutulumu olan Sjögren hastalarında, tutulan dokulardan alınan biyopsilerde, leptin boyanmasının değerlendirilmesi ile, leptinin Sjögren hastalığında lokal etkisi belirlenebilir.
- 6) Leptinin otokrin rolünün tespti halinde, tedavideki rolünün araştırılmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir.



6. ÖZET

Sjögren hastalığı(SH), ekzokrin bezlerde lenfositik infiltrasyonun gözlendiği, ağız ve göz kuruluğu semptomlarının ön planda olduğu sistemik bir hastalıktır. Hastalığın patogenezinde multifaktöryel tetikleyicilerin rol oynadığı düşünülmektedir. Leptin, peptid yapıda endojen bir moleküldür. Başlıca metabolik süreçlerde rol almakla birlikte, immün sistemde etkili olduğu da gösterilmiştir. SLE, RA, SH gibi immüno-romatolojik hastalıklarda serum leptin seviyelerinin, sağlık kontrollere göre arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, hem insanlarda, hem hayvan modellerinde hastalığın aktivitesi ve/veya ciddiyeti ile leptin seviyesi arasında korelasyon bulunan çalışmalar vardır. İngilizce ve Türkçe literatürde tespit edebildiğimiz kadarıyla SH’da, ekzokrin bezlerde leptin boyanması ile yapılan çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, SH ön tanısı ile biyopsi alınan, patolojik olarak SH ile uyumlu 24 ve uyumlu olmayan 19 hastanın minör tükürük bezlerinde leptin boyanması yapıldı. Her iki grup; asiner, duktal, stromal alanda leptin boyanması açısından kıyaslandı. Ayrıca, SH grubu, fokus skoru, hastalık aktivitesi ve leptin ile boyanma açısından ayrıca değerlendirildi. Çalışma sonuçlarına göre, çalışma ve kontrol grubu arasında leptin boyanması ve diğer genel özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak fokus skoru yüksek(>2) olan hastalar hem kontrol grubu hem de fokus skoru düşük(≤ 2) olan bireyler asiner, stromal ve total leptin boyanması açısından farklılık gösterdi. Fokus skoru yüksek olanlarda daha yaygın leptin boyanması olduğu gözlemlendi. Ayrıca, asiner boyanma derecesi ile SSDAI skoru arasında ilişki bulundu. Yaygın asiner boyanma olan grupta diğerlerine göre SSDAI skoru daha yüksek tespit edildi ($p < 0.05$). Fokus skoru daha yüksek olanlarda, daha yaygın leptin boyanmasının olması, hastalığın patolojik olarak daha belirginleştiği ileri evrelerde, leptinin daha belirgin rolünün olabileceğini düşündürmektedir. Leptin özellikle, SH’da bez tutulumunda rol alan hücrelerin kemotaksisinde ve aktivasyonunda lokal olarak rol oynayabilir. Daha ileri çalışmalarda, leptinin otokrin etkisi ile tükürük bezi hasar patogenezinde rol oynadığının tespiti, SH’a bağlı bez tutulumuna bağlı kuruluk semptomlarının ilerlemesinin engellenmesi için hedef tedavi molekülü olmasına yol açabilir.

7. SUMMARY

Sjogren's disease (SD) is identified as a systemic disease particularly manifesting dryness in eyes and oral cavity; microscopic evaluation of these organs demonstrates lymphocytic infiltration. SD is thought have pathogenesis linked to multiple stimulators. Leptin, an endogenous peptide, involves in various metabolic processes as well as influence immune system. Increased serum leptin levels is observed in patients with autoimmune diseases such as SD, systemic lupus erythematosus, or rheumatoid arthritis when compared to healthy controls, moreover, animal models and human studies suggest leptin levels and disease progression and/or severity. To our knowledge, immunohistochemical evaluation of leptin in exocrine glands of SD patients has not been reported in English and Turkish literature. In the present study, leptin immunostain was applied to the biopsy samples taken from the patients with SD preliminary diagnosis; 24 of them had pathologic findings consistent with SD, whereas 19 of them had not. Acinar and ductal structures of the exocrine glands were evaluated in both groups. SD group was also assessed for focus score, disease progression and leptin immunostain. Study and control groups were not statistically different when compared for leptin stainin and general features. There were different patterns in acinar, stromal and total leptin staining between the patients with high focus score (>2) and with low focus score (≤ 2). High focus score was associated with more diffuse leptin staining, moreover, correlation between acinar staining level and SSDAI. Diffuse acinar staining had higher SSDAI scores when compared to patients with low SSDAI scores ($p < 0.05$). Relationship with more diffuse leptin staining and higher focuse score may indicate that leptin may take more significant role in advanced disease. Leptin may locally stimulate chemotaxis and activation of inflammatory cells infiltrating glands in SD. Further studies aimed to understand autocrine effect of leptin and detect its role in SD's gland injury pathogenesis may help developing targeted therapies against progression of symptoms related to dryness and related symptoms.

8. KAYNAKLAR

- 1.CHISHOLM, D. M.; MASON, D. K. Labial salivary gland biopsy in Sjögren's disease. *Journal of clinical pathology*, 1968, 21.5: 656-660.
- 2.DANIELS, T. E.; FOX, P. C. Salivary and oral components of Sjogren's syndrome. *Rheumatic diseases clinics of North America*, 1992, 18.3: 571-589.
- 3.FOX, Robert I. Sjögren's syndrome. *The Lancet*, 2005, 366.9482: 321-331.
- 4.ZHANG, Yiying, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *nature*, 1994, 372.6505: 425-432.
- 5.CAMPFIELD, L. Arthur, et al. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*, 1995, 269.5223: 546-549.
6. HALAAS, Jeffrey L., et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*, 1995, 269.5223: 543-546.
- 7.PELLEYMOUNTER, Mary Ann, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*, 1995, 269.5223: 540-543.
- 8.TARTAGLIA, Louis A., et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, 1995, 83.7: 1263-1271.
- 9.FRIEDMAN, Jeffrey M. Obesity: Causes and control of excess body fat. *Nature*, 2009, 459.7245: 340-342.
- 10.FERNÁNDEZ-RIEJOS, Patricia, et al. Role of leptin in the activation of immune cells. *Mediators of inflammation*, 2010, 2010.
- 11.LORD, Graham M., et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*, 1998, 394.6696: 897-901.
- 12.MATARESE, Giuseppe; MOSCHOS, Stergios; MANTZOROS, Christos S. Leptin in immunology. *The Journal of Immunology*, 2005, 174.6: 3137-3142.
- 13.CERVERA, R., et al. Antiphospholipid antibodies in primary Sjogren's syndrome: prevalence and clinical significance in a series of 80 patients. *Clinical and experimental rheumatology*, 1996, 15.4: 361-365.

14. SKOPOULI, Fotini N., et al. Clinical evolution, and morbidity and mortality of primary Sjögren's syndrome. In: *Seminars in arthritis and rheumatism*. WB Saunders, 2000. p. 296-304.
15. FAZAA, Alia, et al. Classification criteria and treatment modalities in primary Sjögren's syndrome. *Expert review of clinical immunology*, 2014, 10.4: 543-551.
16. RAMOS-CASALS, Manuel, et al. Treatment of primary Sjögren syndrome: a systematic review. *Jama*, 2010, 304.4: 452-460.
17. VITALI, C., et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Annals of the rheumatic diseases*, 2002, 61.6: 554-558.
18. SHIBOSKI, S. C., et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: A data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance Cohort. *Arthritis care & research*, 2012, 64.4: 475-487.
19. BOWMAN, S. J., et al. Estimating the prevalence among Caucasian women of primary Sjögren's syndrome in two general practices in Birmingham, UK. *Scandinavian journal of rheumatology*, 2004, 33.1: 39-43.
20. FOX, Robert I.; TORNWALL, Jyrki; MICHELSON, Paul. Current issues in the diagnosis and treatment of Sjögren's syndrome. *Current opinion in rheumatology*, 1999, 11.5: 364-371.
21. PATEL, Ruchika; SHAHANE, Anupama. The epidemiology of Sjögren's syndrome. *Clinical epidemiology*, 2014, 6: 247.
22. PILLEMER, Stanley R., et al. Incidence of physician-diagnosed primary Sjögren syndrome in residents of Olmsted County, Minnesota. In: *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier, 2001. p. 593-599.
23. BIRLIK, M., et al. Prevalence of primary Sjögren's syndrome in Turkey: a population-based epidemiological study. *International journal of clinical practice*, 2009, 63.6: 954-961.
24. KABASAKAL, Y., et al. The prevalence of Sjögren's syndrome in adult women. *Scandinavian journal of rheumatology*, 2006, 35.5: 379-383.

25. BOTSIOS, Costantino, et al. Elderly onset of primary Sjögren's syndrome: Clinical manifestations, serological features and oral/ocular diagnostic tests. Comparison with adult and young onset of the disease in a cohort of 336 Italian patients. *Joint Bone Spine*, 2011, 78.2: 171-174.
26. GARCIA-CARRASCO, M., et al. Primary Sjögren's syndrome in the elderly: clinical and immunological characteristics. *Lupus*, 1999, 8.1: 20-23.
27. DE SOUZA, Thayse Rodrigues, et al. Juvenile Sjögren syndrome: distinctive age, unique findings. *Pediatric dentistry*, 2012, 34.5: 427-430.
28. TAPINOS, N. I., et al. Sjögren's syndrome: autoimmune epithelitis, 1999, 127-134.
29. XANTHOU, Georgina, et al. "Lymphoid" chemokine messenger RNA expression by epithelial cells in the chronic inflammatory lesion of the salivary glands of Sjögren's syndrome patients: Possible participation in lymphoid structure formation. *Arthritis & Rheumatism*, 2001, 44.2: 408-418.
30. MA-KRUPA, Wei, et al. Activation of arterial wall dendritic cells and breakdown of self-tolerance in giant cell arteritis. *The Journal of experimental medicine*, 2004, 199.2: 173-183.
31. SANTIAGO-RABER, Marie-Laure, et al. Type-I interferon receptor deficiency reduces lupus-like disease in NZB mice. *The Journal of experimental medicine*, 2003, 197.6: 777-788.
32. KONTTINEN, Yrjö T. KASNA-RONKAINEN, Lea. Sjögren's syndrome: viewpoint on pathogenesis. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 2002, 31.2: 15-27.
33. PAVLIDIS, N. A.; KARSH, J.; MOUTSOPOULOS, H. M. The clinical picture of primary Sjögren's syndrome: a retrospective study. *The Journal of rheumatology*, 1981, 9.5: 685-690.
34. HOCHBERG, Marc C. *Rheumatology, Sixth Edition, Volume Two*, Mosby Ltd. 2015.
35. SKOPOULI, Fotini N. et al. Clinical evolution, and morbidity and mortality of primary Sjögren's syndrome. In: *Seminars in arthritis and rheumatism*. WB Saunders, 2000. p. 296-304.

- 36.PFLUGFELDER, S. C. Differential diagnosis of dry eye conditions. *Advances in dental research*, 1996, 10.1: 9-12.
- 37.KONTTINEN, YRJÖ T., et al. Peptide-containing nerves in labial salivary glands in sjögren's syndrome. *Arthritis & Rheumatism*, 1992, 35.7: 815-820.
- 38.BEROUKAS, Dimitra, et al. Up-regulation of M3-muscarinic receptors in labial salivary gland acini in primary Sjögren's syndrome. *Laboratory investigation*, 2002, 82.2: 203-210.
- 39.BERGDAHL, Jan; BERGDAHL, Maud. Environmental illness: evaluation of salivary flow, symptoms, diseases, medications, and psychological factors. *Acta Odontologica*, 2001, 59.2: 104-110.
- 40.BELAFSKY, Peter C.; POSTMA, Gregory N. The laryngeal and esophageal manifestations of Sjögren's syndrome. *Current rheumatology reports*, 2003, 5.4: 297-303.
- 41.YOUSEM, David M.; KRAUT, Michael A.; CHALIAN, Ara A. Major Salivary Gland Imaging 1. *Radiology*, 2000, 216.1: 19-29.
- 42.RAMOS-CASALS, Manuel, et al. Cutaneous vasculitis in primary Sjögren syndrome: classification and clinical significance of 52 patients. *Medicine*, 2004, 83.2: 96-106.
- 43.ROGUEDAS, A. M., et al. Cutaneous manifestations of primary Sjogren's syndrome are underestimated. *Clinical and experimental rheumatology*, 2003, 22.5: 632-636.
- 44.PEASE, C. T., et al. The arthropathy of Sjögren's syndrome. *Rheumatology*, 1993, 32.7: 609-613.
- 45.LINDVALL, Bjorn, et al. Subclinical myositis is common in primary Sjögren's syndrome and is not related to muscle pain. *The Journal of rheumatology*, 2002, 29.4: 717-725.
- 46.QUISMORIO JR, Francisco P. Pulmonary involvement in primary Sjogren's syndrome. *Current opinion in pulmonary medicine*, 1996, 2.5: 424-428.
- 47.CONSTANTOPOULOS, S. H.; TSIANOS, E. V.; MOUTSOPOULOS, H. M. Pulmonary and gastrointestinal manifestations of Sjogren's syndrome. *Rheumatic diseases clinics of North America*, 1992, 18.3: 617-635.

48. GYNGOSI, Mariann, et al. Cardiac manifestations in primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis*, 1996, 55: 450-454.
49. ANDONOPOULOS, A. P., et al. Autonomic cardiovascular neuropathy in Sjogren's syndrome. A controlled study. *The Journal of rheumatology*, 1998, 25.12: 2385-2388.
50. GAMRON, S., et al. Mesangial nephropathy in Sjögren's syndrome. *Scandinavian journal of rheumatology*, 2000, 29.1: 65-67.
51. SIAMOPOULOS, K. C.; ELISAF, M.; MOUTSOPOULOS, H. M. Hypokalaemic paralysis as the presenting manifestation of primary Sjögren's syndrome. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 1994, 9.8: 1176-1178.
52. FULOP, Milford; MACKAY, Meggan. Renal tubular acidosis, Sjögren syndrome, and bone disease. *Archives of internal medicine*, 2004, 164.8: 905-909.
53. BEROUKAS, Dimitra, et al. Subcellular distribution of aquaporin 5 in salivary glands in primary Sjögren's syndrome. *The Lancet*, 2001, 358.9296: 1875-1876.
54. SHEIKH, Shahzad H.; SHAW-STIFFEL, Thomas A. The gastrointestinal manifestations of Sjogren's syndrome. *The American journal of gastroenterology*, 1995, 90.1: 9-14.
55. TEKTONIDOU, M. G., et al. Presence of systemic autoimmune disorders in patients with autoimmune thyroid diseases. *Annals of the rheumatic diseases*, 2004, 63.9: 1159-1161.
56. KASSAN, STUART S., et al. "Increased risk of lymphoma in sicca syndrome." *Annals of internal medicine* 89.6 (1978): 888-892.
57. ROYER, Bruno, et al. Lymphomas in patients with Sjögren's syndrome are marginal zone B-cell neoplasms, arise in diverse extranodal and nodal sites, and are not associated with viruses. *Blood*, 1997, 90.2: 766-775.
58. DELALANDE, Sophie, et al. Neurologic manifestations in primary Sjögren syndrome: a study of 82 patients. *Medicine*, 2004, 83.5: 280-291.
59. GRANT, Ian A., et al. Peripheral neuropathy associated with sicca complex. *Neurology*, 1997, 48.4: 855-892.
60. ROSIER, D. H., et al. Ischemic optic neuropathy and high-level anticardiolipin antibodies in primary Sjogren's syndrome. *Lupus*, 1995, 4.2: 155-157.

- 61.RAMOS-CASALS, Manuel, et al. Topical and systemic medications for the treatment of primary Sjögren's syndrome. *Nature Reviews Rheumatology*, 2012, 8.7: 399-411.
- 62.WU, Ava J. Optimizing dry mouth treatment for individuals with Sjögren's syndrome. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 2008, 34.4: 1001-1010.
- 63.PIJPE, J., et al. Progression of salivary gland dysfunction in patients with Sjögren's syndrome. *Annals of the rheumatic diseases*, 2007, 66.1: 107-112.
- 64.MARIETTE, Xavier, et al. Inefficacy of infliximab in primary Sjögren's syndrome: results of the randomized, controlled Trial of Remicade in Primary Sjögren's Syndrome (TRIPSS). *Arthritis & Rheumatism*, 2004, 50.4: 1270-1276.
- 65.SANKAR, Vidya, et al. Etanercept in Sjögren's syndrome: A twelve-week randomized, double-blind, placebo-controlled pilot clinical trial. *Arthritis & Rheumatism*, 2004, 50.7: 2240-2245.
- 66.PIJPE, J., et al. Rituximab treatment in patients with primary Sjögren's syndrome: an open-label phase II study. *Arthritis & Rheumatism*, 2005, 52.9: 2740-2750.
- 67.SEROR, Raphaële, et al. Tolerance and efficacy of rituximab and changes in serum B cell biomarkers in patients with systemic complications of primary Sjögren's syndrome. *Annals of the rheumatic diseases*, 2007, 66.3: 351-357.
- 68.DASS, Shouvik, et al. Reduction of fatigue in Sjögren syndrome with rituximab: results of a randomised, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Annals of the rheumatic diseases*, 2008, 67.11: 1541-1544
- 69.DE LAURETIS, Angelo; VEERARAGHAVAN, Srihari; RENZONI, Elisabetta. Review Series: Aspects of Interstitial lung disease: Connective tissue disease-associated interstitial lung disease: How does it differ from IPF? How should the clinical approach differ?. *Chronic respiratory disease*, 2011, 8.1: 53-82.
- 70.RIST, Stéphanie, et al. Experience of intravenous immunoglobulin therapy in neuropathy associated with primary Sjögren's syndrome: a national multicentric retrospective study. *Arthritis care & research*, 2011, 63.9: 1339-1344.
- 71.ZHANG, Yiying, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *nature*, 1994, 372.6505: 425-432.

72. BAUMANN, Heinz, et al. The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996, 93.16: 8374-8378.
73. LAM, Q. L.; LU, Liwei. Role of leptin in immunity. *Cell Mol Immunol*, 2007, 4.1: 1-13.
74. CONSIDINE, Robert V., et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *New England Journal of Medicine*, 1996, 334.5: 292-295.
75. LAGO, Francisca, et al. The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine & growth factor reviews*, 2007, 18.3: 313-325.
76. SARRAF, Pasha, et al. Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia. *The Journal of experimental medicine*, 1997, 185.1: 171-176.
77. STOFKOVA, A. Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. *Endocrine regulations*, 2009, 43.4: 157-168.
78. VADACCA, Marta, et al. Leptin in immuno-rheumatological diseases. *Cellular & molecular immunology*, 2011, 8.3: 203-212.
79. BASTARD, Jean-Philippe, et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *European cytokine network*, 2006, 17.1: 4-12.
80. GUZIK, T. J.; MANGALAT, D.; KORBUT, R. Adipocytokines novel link between inflammation. *J. Physiol. Pharmacol*, 2006, 4: 505-528.
81. SCHWARTZ, Michael W., et al. Central nervous system control of food intake. *Nature*, 2000, 404.6778: 661-671.
82. LA CAVA, Antonio; MATARESE, Giuseppe. The weight of leptin in immunity. *Nature Reviews Immunology*, 2004, 4.5: 371-379.
83. FANTUZZI, Giamila; FAGGIONI, Raffaella. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *Journal of leukocyte biology*, 2000, 68.4: 437-446.
84. FANTUZZI, Giamila. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2005, 115.5: 911-919.

- 85.VADACCA, Marta, et al. Adipokines and systemic lupus erythematosus: relationship with metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *The Journal of rheumatology*, 2009, 36.2: 295-297.
- 86.CHUNG, Cecilia P., et al. Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis. *Lupus*, 2009, 18.9: 799-806.
- 87.GARCIA-GONZALEZ, Araceli, et al. Serum leptin levels in women with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology international*, 2002, 22.4: 138-141.
- 88.BUSSO, Nathalie, et al. Leptin signaling deficiency impairs humoral and cellular immune responses and attenuates experimental arthritis. *The Journal of Immunology*, 2002, 168.2: 875-882.
- 89.OTERO, M., et al. Changes in plasma levels of fat-derived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 2006, 65.9: 1198-1201.
- 90.VADACCA, Margiotta, et al. Leptin in patients with Sjogren's syndrome and systemic lupus erythematosus: relationship with metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *Proceeding of the 7th International Congress on Autoimmunity*; 2010 May 5-9; Lubijana, Slovenia
- 91.KAWAI, Motoyuki, et al. The placenta is not the main source of leptin production in pregnant rat: gestational profile of leptin in plasma and adipose tissues. *Biochemical and biophysical research communications*, 1997, 240.3: 798-802.
- 92.BADO, André, et al. The stomach is a source of leptin. *Nature*, 1998, 394.6695: 790-793.
- 93.PURDHAM, Daniel M., et al. Rat heart is a site of leptin production and action. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2004, 287.6: H2877-H2884.
- 94.WILKINSON, Michael; MORASH, Barbara; UR, Ehud. The brain is a source of leptin. *Frontiers of hormone research*, 2000, 26: 106-120.
- 95.DE MATTEIS, R., et al. Intralobular ducts of human major salivary glands contain leptin and its receptor. *Journal of anatomy*, 2002, 201.5: 363-370.

96. BOHLENDER, J., et al. Differential distribution and expression of leptin and the functional leptin receptor in major salivary glands of humans. *Journal of endocrinology*, 2003, 178.2: 217-223.
97. HIGA, Moritake, et al. Atrophic change of rat salivary gland during adenovirus-induced hyperleptinemia. *Biochemical and biophysical research communications*, 2002, 291.3: 675-679.
98. VITALI, Claudio, et al. "Sjögren's Syndrome Disease Damage Index and disease activity index: scoring systems for the assessment of disease damage and disease activity in Sjögren's syndrome, derived from an analysis of a cohort of Italian patients." *Arthritis & Rheumatism* 56.7 (2007): 2223-2231.
99. CHISHOLM DM, et al. Labial salivary gland biopsy in Sjögren's syndrome. *J Clin Pathol* 1968;21:656-60
100. J FRIEDMAN, J. A.; MILLER, E. B.; HUSZAR, M. A simple technique for minor salivary gland biopsy appropriate for use by rheumatologists in an outpatient setting. *Clinical rheumatology*, 2002, 21.4: 349-350.