



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**DENEYSEL AKCİĞER FİBROZİSİ MODELİNDE
ÜROTENSİN 2 ANTAGONİSTİ OLAN
PALOSURAN'IN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. İbrahim Halil TÜRKBEYLER
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Ahmet Mesut ONAT

Ocak-2011

**T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL AKCİĞER FİBROZİSİ MODELİNDE
ÜROTENSİN 2 ANTAGONİSTİ OLAN
PALOSURAN'IN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. İbrahim Halil TÜRKBEYLER
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ahmet Mesut ONAT**

Ocak-2011

I. ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, azim, deneyim, meslek sevgisi ile bana örnek olan ve eğitimime büyük emeği geçen İç Hastalıkları AD Öğretim Üyeleri saygıdeğer hocalarıma teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıları ve tez çalışmam sırasında sabır, özveri ve bilimsel desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Ahmet Mesut ONAT'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi hazırlama sürecinde her zaman yanımda olan, bu zorlu süreçte bana destek olan Uzman Dr. Yavuz Pehlivan'a, Uzman Dr. Tuncer Demir'e, laboratuvar çalışmalarında desteklerinden dolayı Doç. Dr. Seyithan Taysi'ye, Yrd. Doç. Dr. Ediz Tutar'a ve daha adını sayamadığım Fizyoloji, Biyokimya ve Patoloji ABD tüm öğretim üyeleri ve çalışanlarına teşekkür ederim.

İhtisas sürem boyunca güzel bir uyum içinde çalıştığım tüm araştırma görevlisi, hemşire ve klinik çalışanlarına teşekkür ederim.

Küçük dünyalarında emekleriyle büyütüp okuttukları, yeni ufuklar açtıkları, oğullarından desteklerini hiç eksik etmeyen annem ve babama, her zaman yanımda olan, kahrımı çeken, iyi günü ve kötü günü paylaştığım sevgili eşim ve oğluma sonsuz teşekkür ederim.

Dr. İbrahim Halil TÜRKBEYLER

Gaziantep, 2011

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ	I
II. İÇİNDEKİLER	II
III. ÖZET	V
IV. ABSTRACT	VI
V. KISALTMALAR	VII
VI. TABLO LİSTESİ	IX
VII. ŞEKİL LİSTESİ	X
VIII. RESİM LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sistemik Skleroz (Skleroderma)	3
2.1.1. Epidemiyoloji	3
2.1.2. Etyoloji	4
2.1.3. Sistemik Skleroz Patofizyolojisi	6
2.1.3.1. Endotelinler	6
2.1.3.2. Hatalı Damar Yapımı	6
2.1.3.3. Damarsal Sitotoksik Faktörler	7
2.1.3.4. Adezyon Molekülleri	7
2.1.3.5. İmmunolojik Aktivite	7
2.1.3.6. Otoantikorlar	8
2.1.4. Klinik Tanımlama	9
2.1.4.1. Tanı Kriterleri	9
2.1.5. Sınıflandırma	10
2.1.6. Klinik Bulgular	11
2.1.6.1. İnterstisyel Akciğer Hastalığı	11
2.1.6.2. Böbrek	12
2.1.6.3. Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon (PAH)	13
2.1.6.4. Gastrointestinal Sistem	13
2.1.6.5. Kalp	14
2.1.6.6. Karaciğer	14

2.1.6.7. Cilt Bulguları	14
2.1.6.8. Raynaud Fenomeni	15
2.1.6.9. Kas-İskelet Sistemi	15
2.1.6.10. Diğer Klinik Problemler	16
2.1.7. Tedavi	16
2.1.7.1. Pulmoner Fibrozis	16
2.1.7.2. Cilt Tutulumu ve Erken Yaygın Hastalık	17
2.1.7.3. Raynaud Fenomeni	18
2.1.7.4. Pulmoner Hipertansiyon	19
2.1.7.5. Gastrointestinal Tutulum	20
2.1.7.6. Renal Kriz	20
2.1.7.7. Yaygın Organ Tutulumu	21
2.1.7.8. Kök Hücre Nakli	21
2.1.8. Ürotensin-II	21
2.1.8.1. Kardiyovasküler Sisteme Etkisi	22
2.1.8.2. Renal Sisteme Etkisi	23
2.1.8.3. Pulmoner Hipertansiyona Etkisi	23
2.1.8.4. Diğer Etkileri	24
2.1.9. Akciğer Fibrozisi Deneysel Hayvan Modeli	24
2.1.10. TGF- β	26
2.1.11. Palosuran	26
2.1.12. Bleomisin	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Deney Hayvanları	28
3.1.1. Deney Grupları	28
3.2. Yapılan İşlemler	29
3.3. Histopatolojik İnceleme	31
3.3.1. Akciğer fibrozisinin derecelendirilmesi	31
3.4. Kan Plazma Endotelin-1 Ölçümü	32
3.5. Kan Plazma Ürotensin-II Ölçümü	33
3.6. Kan Plazma TGF- β 1 Ölçümü	34
3.7. İstatistiksel Analiz	35

4.BULGULAR	36
4.1. Fibrozis Skorları	36
4.2. Ürotensin 2 Düzeyleri	37
4.3. Endotelin-1 Düzeyleri	38
4.4. TGF- β 1 Düzeyleri	39
4.5. Fibrozis Skorları ile ET-1, U-II ve TGF- β 1 Düzeyleri Arasındaki İlişki	39
5.TARTIŞMA	41
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER	49
7.KAYNAKLAR	50
8.EKLER	68

III. ÖZET

DENEYSEL AKCİĞER FİBROZİSİ MODELİNDE ÜROTENSİN 2 ANTAGONİSTİ'NİN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. İbrahim Halil TÜRKBEYLER

Uzmanlık Tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Ahmet Mesut ONAT

Kasım 2010, 68 sayfa

Sistemik skleroz (SSk), deri ve iç organlarda yaygın fibrozis ile karakterize bir hastalıktır. Akciğer en sık tutulan organlardan birisidir ve tedaviye rağmen en sık mortalite nedenidir. Çalışmamız son yıllarda fibrozis patogenezinde önemli bir medyatör olduğu gösterilen ürotensin-II'nin (U-II), akciğer fibrozisi oluşturulan hayvan modelinde düzeylerini belirlemek, U-II düzeyleri ile fibrozis skorları ve fibrozis göstergeleri olan endotelin-1 (ET-1), transforming growth faktör-β1 (TGF-β1) arasındaki ilişkiyi belirlemek, son olarak oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde U-II antagonisti olan palosuranın etkinliğini araştırmak amacıyla planlandı.

Çalışmaya Wistar tipi erkek ratlar alındı. Kontrol grubuna (n:10), intratrakeal salın, akciğer fibrozisi oluşturulan hasta grubuna (n:10) intratrakeal bleomisin, tedavi grubuna ise (n:10) intratrakeal bleomisin ve gavaj ile palosuran verildi. Çalışma ondördüncü günde sonlandırılmış olup, patolojik ve biyokimyasal işlemler için örnekler alınmıştır.

Çalışmanın sonucunda; U-II düzeyi (ng/ml) kontrol grubunda 2.957 ± 0.159 , hasta grubunda 3.188 ± 0.122 , tedavi grubunda 2.970 ± 0.165 saptandı ($p=0.002$). ET-1 düzeyi (pg/ml) kontrol grubunda 4.486 ± 0.376 , hasta grubunda 9.086 ± 1.850 , tedavi grubunda 4.486 ± 0.376 saptandı ($p<0.001$). TGF-β1 (ng/ml) düzeyi kontrol grubunda 73.143 ± 9.96 , hasta grubunda 84.81 ± 4.73 , tedavi grubunda 77.86 ± 5.77 saptandı ($p=0.006$). Fibrozis skorları kontrol grubunda 0.7 ± 0.48 hasta grubunda 4.4 ± 1.34 , tedavi grubunda 3.2 ± 0.63 saptandı ($p<0.001$). Akciğer fibrozisi oluşturulan grupta fibrozis skorları ile UT-II, ET-1 ve TGF-β1 arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

Sonuç olarak, son yıllarda fibrozis ile ilişkisi ortaya konulan UT-II'nin SSk akciğer fibrozis modelinde önemli bir medyatör olduğu ve U-II antagonisti olan palosuranın yeni bir tedavi seçeneği olarak akciğerde fibrozisi engelleyebileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Skleroderma, Akciğer fibrozisi, Ürotensin-II antagonisti, Palosuran

IV. ABSTRACT

THE EFFICIENCY OF UROTENSIN 2 ANTAGONIST IN AN EXPERIMENTAL LUNG FIBROSIS MODEL

Dr. İbrahim Halil TURKBEYLER

Residency Thesis, Department of Internal Medicine

Supervisor: Associate. Prof. Dr. Ahmet Mesut ONAT

November 2010, 68 pages

Systemic Sclerosis (SSc) is a disease characterized by skin and internal organ involvement. Interstitial lung disease is the prominent reason for mortality and there is still any satisfactory treatment. The pathogenesis of the lung pathology is not clearly demonstrated. Urotensin-II (U-II) is a new peptide with angiogenic and pro-fibrotic features and we found this cytokine elevated and positively correlated with another important cytokine Endothelin-1(ET-1) in a previous study in our clinic in SSc patients. Therefore we aimed to evaluate the antagonism of U-II with Palosuran in an animal model and we planned to measure U-II, ET-1 and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and their association with lung fibrosis.

Thirty wistar type male rats included in to the study and they were divided in 3 groups (control group, bleomycin induced lung fibrosis group, palosuran treated group).

The U-II level (ng/ml) was 2.957 ± 0.159 in control group, 3.188 ± 0.122 in patient group and 2.970 ± 0.165 in treatment group ($p=0.002$). ET-1 level (pg/ml) was 4.486 ± 0.376 in control group, 9.086 ± 1.850 in patient group and 4.486 ± 0.376 in treatment group ($p<0.001$). TGF- β 1 (ng/ml) level was 73.143 ± 9.96 in control group, 84.81 ± 4.73 in patient group and 77.86 ± 5.77 in treatment group ($p=0.006$). Finally, the fibrosis score was 0.7 ± 0.48 in control group, 4.4 ± 1.34 patient group and 3.2 ± 0.63 in treatment group ($p<0.001$). There is a statistically significant positive relationship between fibrosis scores and U-II, ET-1 and TGF- β 1 levels of an experimental lung fibrosis model.

Consequently, it is thought that U-II is an important mediator in lung fibrosis model and its antagonism with palosuran could be a new treatment choice in interstitial lung fibrosis.

Key words: Scleroderma, Lung Fibrosis, Urotensin-II antagonist, Palosuran

V. KISALTMALAR

SSk	: Sistemik skleroz
U-II	: Ürotensin-II
ET-1	: Endotelin 1
TGF-β1	: Dönüştürücü büyüme faktörü
BLM	: Bleomisin
İPF	: İnterstisyel pulmoner fibrozis
ACA	: Antisentromer antikor
ACE	: Anjiotensin konverting enzim
eNOS	: Nitrik oksit sentataz
ICAM-1	: Hücrelerarası adezyon molekülü-1
VCAM-1	: Damar hücre adezyon molekülü-1
ELAM-1	: Endotelyal lökosit adezyon molekülü-1
Scl-70	: Topoizomeraz I
ACR	: American College of Rheumatology
SLE	: Sistemik lupus eritomatozus
RA	: Romatoid artrit
NSIP	: Nonspesifik interstisyel pnömoni
PAH	: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon
Rf	: Raynaud fenomeni
CYC	: Siklofosfamid
YRBT	: Yüksek rezülasyonlu bilgisayarlı tomografi
MTX	: Methotreksat
DLCO	: Karbon monoksit difüzyon kapasitesi
D-Pen	: D-Penisillamin
IVIg	: İntravenöz immunoglobulin
PINP	: Prokollojen tip I N-terminal propeptit
NAC	: N-asetilsistein
PDE5	: Fosfodisteraz tip 5
ATG	: Anti timosit globulin
MMF	: Mikofenolat mofetil

HSCT	: Kök hücre nakli
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör- α
PBS	: Fosfatla tamponlanmış steril salin
HE	: Hematoksilen-Eozin
MT	: Masson Trichrom
VEGF	: Anjiyogenik faktör
PDGF	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PPARs	: Peroxisome proliferator-activated reseptörler
CTGF	: Bağ doku büyüme faktörü
MMP-1	: Matriks metalloproteinaz 1

VI. TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1. ACR Sistemik Skleroz Tanı Kriterleri	9
Tablo 2. Limitli ve Diffüz Sistemik Skleroz Arasındaki Klinik Farklılıklar	10
Tablo 3. Sistemik Sklerozun Sınıflandırılması	11
Tablo 4. Gruplar arasındaki fibrozis skorlarının karşılaştırılması	36
Tablo 5. Gruplar arasındaki plazma U-II düzeylerinin karşılaştırılması	38
Tablo 6. Gruplar arasındaki plazma ET-I düzeylerinin karşılaştırılması	38
Tablo 7. Gruplar arasındaki plazma TGF β 1 düzeylerinin karşılaştırılması	39
Tablo 8. Fibrozis Skorlaması ile ET-1, U-II ve TGF- β 1 Düzeyleri arasındaki İlişki	40

VII. RESİM LİSTESİ

	Sayfa
Resim 1. Boyun orta hat kesisi ile trakeaya ulaşılması	30
Resim 2. İntratrakeal ilaç infüzyonu	30
Resim 3. İntratrakeal ilaç infüzyonu sonrasında bu bölgenin sütüre edilmesi	30
Resim 4. İntrakardiyak kan alınması	30
Resim 5. Akciğer fibrozisi oluşturulan grubun makroskopik görünümü	30
Resim 6. Akciğer fibrozisi oluşturulup Palosuran ile tedavi edilen grubun makroskopik görünümü	30
Resim 7. Çalışma sonunda örneklerinin sınıflandırılması	31
Resim 8. Kontrol grubunun akciğer histopatolojik görüntüsü	37
Resim 9. BLM grubunun akciğer histopatolojik görüntüsü	37
Resim 10. Palosuran grubunun akciğer histopatolojik görüntüsü	37

VII. ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. Palosuran'ın kimyasal formülü	27
Şekil 2. Rho-Kinaz yolunun çeşitli dokular üzerindeki etkileri	45

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sistemik Skleroz (SSk); ciltte ve iç organlarda kollajen doku birikimi, mikrovasküler damar tıkanıklığı, küçük arterlerin tutulumu ile karakterize, etyolojisi tam olarak bilinmeyen multisistemik bir hastalıktır (1).

Etyolojisinde suçlanan başlıca faktörler arasında: genetik, çevresel, immünolojik ve enfeksiyöz faktörler sayılabilir. Patogenezinde göze çarpan ana bozukluklar ise yaygın fibrozis, vaskülopati ve immün sistem aktivasyonudur. Patogenezi tek bir hipotez ile açıklanamayan SSk'nın hem diffüz hem de limitli tipinin erken ve geç döneminde; cilt, dolaşım sistemi, sinoviyum, kas iskelet sistemi, gastrointestinal sistem, kalp, akciğer ve böbreklerde fibroze bağlı değişiklikler yaparak morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır (2). Tedavi ile ilgili sorunların en önemli nedenlerinden birisi, hastalığın etyolojisinin tam olarak aydınlatılmamış olmasıdır. Etyopatogenezin açıklanmasına yönelik yapılan çalışmalarda elde edilen yeni bilgilerle yeni tedavi seçeneklerinin gelişmesi sağlanacaktır.

Ürotensin-II (U-II), ilk kez 30 yıl önce teleost isimli balığın nörosekretuar sisteminden izole edilmiş çok kuvvetli bir vazokonstriktör hormondur (3). U-II, vasküler yapılar üzerinde potent mitojenik, pro-inflamatuar ve pro-oksidatif özelliklere sahiptir. U-II'nin özellikle kardiyovasküler ve renal hastalıkların patofizyolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir (4). Son yapılan bazı çalışmalarda U-II'nin fibrozis ile giden hastalıklarda profibrotik özellikleri ile rol oynadığı gösterilmiştir (5). Bu profibrotik özellikleri transforming growth faktör (TGF- β 1) ve RhoA Kinaz üzerinden oluşabileceği düşünülmektedir. Pehlivan ve arkadaşları, 55 SSk hastası ve 30 kişilik kontrol grubu ile kliniğimizde yapmış olduğu uzmanlık tezinde; yaygın fibrozis ile giden SSk hastalarının U-II düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğunu bulmuşlardır (6). Bir U-II antagonisti olan SB-611812 ile yapılan bir çalışmada ise; bu ajanın miyokardiyal fibrozisi ve kollajen oluşumunu önlediği gösterilmiştir (7).

Sklerodermada, hastalık patogenezinin daha iyi anlaşılması ve olası yararlı tedavi yöntemlerinin belirlenmesi için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Oluşturulan bu hayvan modellerinde tanı, klinik bulgular ve doku fibrozisinin kanıtlanması ile konulmaktadır. Bleomisin (BLM) ile oluşturulan akciğer fibrozis modeli hastalığın aşamalarını ve akciğer yapısı ile fonksiyonunu açıklığa kavuşturmak için kullanılan en önemli modeldir (8).

Sklerodermada akciğer tutulumu, en sık görülen iç organ tutulumlarından bir tanesi olup genellikle interstisyel pulmoner fibrozis (İPF) şeklindedir. Pulmoner fibrozisin erken tanı ve tedavisi mortalite ve morbidite açısından çok önemlidir. Pulmoner fibrozis prevalansı, tanının akciğer grafisi, tomografi ya da solunum fonksiyon testleriyle konulmasına göre %33-90 arasında değişmektedir (9). Sklerodermaya ikincil olarak gelişen akciğer fibrozisinde günümüzde uygulanan siklofosfamid ve steroid tedavileri ile yeterince yüz güldürücü sonuçlar elde edilememektedir (10). Bu yüzden SSk hastalarında, akciğer tutulumu tedavi hedeflerinin başında yer almaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamız; oluşturduğumuz deneysel akciğer fibrozisi hayvan modelinde U-II düzeylerini belirlemek ve bu U-II düzeyleri ile patolojik olarak fibrozis skorlarını ve fibrozis göstergeleri olan TGF- β 1, endotelin-1 düzeyleri arasındaki korelasyonu araştırmak ve son olarak yakın zamanlarda geliştirilmiş olan, UT-II antagonisti palosuranın, deneysel olarak oluşturulan akciğer fibrozisinde patolojik olarak fibrozis skorları üzerindeki ve fibrotik süreç göstergeleri olan sıçan plazma ürotensin-II, endotelin-1 ve TGF- β 1 düzeyleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sistemik Skleroz (Skleroderma)

Sistemik skleroz (SSk) ya da diğerk adıyla skleroderma nadir rastlanılan, etyolojik nedeni tam olarak bilinmeyen, mikrovasküler hasar, deri ve iç organlarda aşırı kollajen depolanmasıyla karakterize bir hastalıktır (11-14). İlk skleroderma benzeri hastalık 1753 yılında Curzio tarafından rapor edilmiştir. Bundan yaklaşık 100 yıl sonra 1847 de Gintrac en belirgin olarak etkilenen organın deri olduğu skleroderma terimini tanımlamıştır. İç organlarda da yaygın tutulum olduğu, 20. yüzyılın ikinci yarısında tanımlanmıştır.

2.1.1. Epidemiyoloji

Ülkemizde SSk hastalığının epidemiyolojisine yönelik henüz bir çalışma yoktur. SSk prevalans ve insidansı Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalarda çok geniş bir aralıkta bulunmuştur. 1947-1968 yılları arasında yıllık her 1 milyon erişkin için 2,7 vaka bildirilirken (15) 1990 yılında yapılan başka bir çalışmada prevalansı 67 ila 265 her 100.000 insan için bulunmuştur. Bu rakam daha önceki raporlara göre 4,9 ila 19,2 kat daha yüksek bulunmuştur (16). Yapılan çalışmalarda 1971 den 1996 yılına kadar hastalığın insidansında belirgin artış olduğu gösterilmiştir. Bu artışın geçen zamanda hastalığın tanı kriterlerinin değişmesine, erken tanı ve organ spesifik tedavilerin başlanmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Yaş sklerodermanın alt tipine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Lineer skleroderma daha çok 18 yaş altında gözlenirken SSk 30-50 yaş arasında görülmektedir (17). Taylandlı hastalarda Scl-70 antikorları antisentromer antikorlarına (ACA) göre daha fazla gözlenmiştir. Amerika'da, Afrikan Amerikalılar ve hispaniklerde asyalılara göre daha fazla yaygın cilt tutulumu, ciltte pigment değişiklikleri, parmak ülserleri, pulmoner hipertansiyon ve çoğunun beyazlara göre daha sosyodemografik olarak daha düşük seviyede olduğu belirlenmiştir.

Yine aynı çalışmada beyazlarda daha yüksek oranda ACA bulunurken Afrikan Amerikalılarda anti-RNP ve anti-fibrilların antikoru daha yüksek bulunmuştur (18). Fibrillin-1'e karşı oluşan antikoru değişik etnik gruplarda değişik antijenik epitoplarda gösterilmiştir (19). Seyrek olarak monozigot ikizlerde skleroderma rapor edilmiştir (20). Yine nadir olarak ailesel skleroderma bildirilmiştir (21). Yapılan kohort çalışmalar pozitif aile öyküsü olanların skleroderma için güçlü bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (22). Çevresel etmenlerin otoantikoru oluşunda rol aldığına dair yayınlar vardır. Uzun süren silikaya maruziyet sonucunda mikrovasküler endotel hücreleri, periferik mononükleer hücreler ve dermal fibroblastlar aktive olmaktadır. Silikaya maruz kalanlarda skleroderma sıklığı artmıştır (23,24).

Maureen D. Mayes ve arkadaşlarının (15) 1989-1991 yılları arasında Detroit ve çevresinde 706 skleroderma hastası üzerinde bir araştırmada yapmıştır. Hastalığın prevalansı her 1 milyon erişkin için 246 vaka olarak (%95 güven aralığı) kadın erkek oranı 4,6:1,0, yaş ortalaması her iki cins içinde 46 ± 15.8 olarak bulunmuş. İnsidansı her yıl 1 milyon erişkin için 19,3 (%95 güven aralığı) olarak bulunmuş. Cinsiyet ve ırka göre yapılan hesaplamalarda kadınların erkeklere, siyahların ise beyazlara belirgin üstün olduğu gözlenmiştir. Siyahların beyazlara göre daha genç olduğu tespit edilmiş. Ortalama yaşam süresi ise 11 yıl bulunmuş. Tanı alan hastaların %77.9'u 5 yıl, %55.1'i 10 yıl, %37.4'ü 15 yıl, %26.8'i 20 yıl yaşamış. Kadınların yaşam süreleri erkeklere göre daha uzun olduğu gözlenmiştir. Serolojik olarak ise test edilen hastaların %22.1'inde ACA pozitif bulunurken, anti-Scl-70 % 19,6 hastada pozitif bulunmuştur.

2.1.2. Etyoloji

Hastalığın etyolojisi tam bilinmemektedir. Ancak genetik ve çevresel faktörlerin etyolojide yeri olduğu bilinmektedir.

a) Genetik Faktörler: Genetik faktörler hastalığın ortaya çıkışından tamamen sorumlu değildir, ancak genetik yatkınlık tetikleyici olabilir (25). SSk'nın etyolojisinde genetik faktörlerin olduğu değişik çalışmalarda gösterilmiştir (26). Bazı SSk hastalarında genetik polimorfizmler gösterilmiştir. Bunlar Anjiyotensin konverting enzim (ACE), Nitrik oksit sentataz (eNOS), B hücre yüzey proteini ve antijen reseptörü (CD19) ve PTPN22'dir (27,28).

Antisentromer ve antitopoizomeraz antikorları bulunan SSk hastaları ile PTPN22 geni polimorfizmi arasında bir ilişki bulunmuştur (29). Bağ dokusu büyüme faktörü, hastalardan elde edilen biyopsi örneklerinde ve hastaların derilerinden elde edilen fibroblast kültürlerinde de artmış olarak bulunmuştur (30,31).

b) Enfeksiyon Ajanları: Sitomegalovirus, hücreler üzerindeki etkileri ile vasküler, fibrotik ve immunolojik değişikliklere çeşitli hücreleri etkileyerek neden olmaktadır. B. Burgdorferi enfeksiyonu ile lokalize SSk arasında bir ilişki olduğu iddia edilmiştir (32).

c) Çevresel Faktörler: Birçok çevresel ajanın SSk'ya neden olabileceği söylenmiştir. Silika tozlarına maruz kalan taş işçilerinde SSk sıklığının arttığı yine benzer kümelenme Güney Amerika'daki altın madeni işçilerinde ve Amerika'daki kömür madeni işçilerinde görülmektedir (33,34). Petrol kaynaklı toksik maddeler ve vinil klorid maruziyetinin SSk benzeri sendromlara yol açabileceği söylenmektedir. Bu maddeye maruziyet vasküler değişikliklere (raynaud fenomeni, telenjektazi, tırnak dibi kapiller değişiklikler) neden olurken, deri değişikliklerine neden olmamaktadır (35). 1980'li yılların sonlarında L-triptofan maruziyeti toksik epidemik SSk benzeri hastalık olan eozinofil myalji sendromu meydana getirmiştir. Bu maddeye maruz kalan kişilerde nöropati ve myopatik özellikleri olan deri sertleşmesi olmaktadır (36).

d) İlaçlar: Çeşitli ilaçların SSk benzeri sendrom gelişmesiyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Bleomisin hayvan deneylerinde deri ve akciğerde fibrozise yol açtığı bilinmektedir. Bleomisinli kemoterapi alan bazı hastalarda SSk vakalarının geliştiği görülmüştür (37). SSk benzeri hastalığa yol açabilecek potansiyel diğer ilaçlar; pentozasin, kokain ve taxan gurubu kemoterapötik ilaçlardır (38).

e) Mikroşimerizm: Kadınlar doğumdan sonra yıllar boyunca fetal orjinli immunolojik kök hücrelerini barındırırlar. SSk'lı kadın hastalarda bazı fetal hücrelerin sağlıklı kadınlara göre artmış olduğu gösterilmiştir. Yine SSk'lı erkek çocuğu olan hastaların otopsi materyallerinin incelenmesinde en az bir organlarında erkek kökenli hücrelere rastlanılmıştır (39).

2.1.3. Sistemik Skleroz Patofizyolojisi

SSk; ciltte ve iç organlarda kollajen doku birikimi, mikrovasküler damar tıkanıklığı küçük arterlerin tutulumu ile karakterize, etyolojisi tam olarak bilinmeyen multisistem bir hastalıktır. Skleroderma patogenezi karmaşık ve hala anlaşılammıştır. İmmun aktivasyon, vasküler yetmezlik, hücre dışı matriksin aşırı sentezlenmesi, yapısal normal kollajen dokunun artması bu hastalığın gelişiminde önemlidir. Bu mekanizma hücre-hücre, hücre-sitokin ve hücre-matriks arası ilişkiler sonucu olduğu düşünülmüştür (1). Bu patojenik faktörler SSk hastalarının kliniğinin oluşmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir. SSk patogenezinde en fazla üzerinde durulan hipotez ise; aktive fibrojenik fibroblastların bu hastalıkta efektör hücreler olduğu düşünülerek, immunolojik yanıtlar ve vasküler değişiklikler üzerinde durulmuştur (40).

2.1.3.1. Endotelinler

Endotelin bilinen en potent vazokonstrüktördür ve fibrojenik etkisiyle SSk patogenezinde en önemli potansiyel etkiye sahiptir (41). Endotelin SSk vasküler fonksiyon bozukluğuna ve fibrotik lezyon gelişmesine neden olur; yapılan çalışmalarda SSk hastalarında kontrol gruplarına göre ET-1 düzeyi daha yüksek bulunmuştur (42,43). ET-1 bazal salınımı endotelial hücre yetmezliği ve fibroblast aktivasyonu arasında erken bir bağlantı kurulmasını sağlar. SSk hastalarında; minimal fibrotik değişikliklerle giden primer damar hastalığı, pulmoner hipertansiyon veya yaygın fibrotik değişikliklerle giden alt gruplarında yapılan çalışmalarda dolaşan ET-1 düzeyinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur (44).

2.1.3.2. Hatalı Damar Yapımı

Endotelial hücre öncüllerinin dolaşımdaki yetersizliği, hücrelerin çoğalmasındaki yetersizlik ve endotel hücre olgunlaşmasındaki bozukluk SSk hastalığının patogenezinde önemli olabilir. SSk hastalarında sağlıklı bireyler ve diğer romatizmal hastalıklara göre dolaşan endotelial hücre öncülleri anlamlı olarak az bulunurken; vaskülojenik potansiyeli olan hücre yüzey markerleri (CD34, CD133, damar endotel büyüme faktör tip 2) kontrol gruplarına göre SSk hastalarının hücre kültürlerinde daha az olduğu gözlenmiştir. Paradoks olarak SSk hastalarında sağlıklı kontrollere göre birçok anjiogenik faktör anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (45).

2.1.3.3. Damarsal Sitotoksik Faktörler

SSk hastalarında %20-30 oranında dolaşan anti endotelial hücre antikorları tespit edilmiştir. Bu antikorların endotel hücrelerinin apoptozuna neden olduğunu destekleyen çalışmalar mevcuttur (46). Skleroderma hastalığında PDGF gibi büyüme faktörleri önemli rol oynamaktadır. PDGF endotel hücrelerinden aktive komplement salınımına neden olur. Aktive komplement ve komplement reseptör düzeyi hastalığın kliniğinde önemli olduğu düşünülmektedir. Erken ve geç dönem SSk hastalarının tutulan cilt damarlarında immunhistokimyasal olarak membran atak kompleksinin (C5a-C5aR) arttığı gösterilmiştir (47).

2.1.3.4. Adezyon Molekülleri

Sitokinler, inflamasyona bağlı faktörler, damar endotel yetmezliği gibi nedenlere bağlı olarak; hücrelerarası adezyon molekülü-1(ICAM-1), damar hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), endotelial lökosit adezyon molekülü-1 (ELAM-1) gibi adezyon molekülleri artar. SSk hastalarının cilt tutulumu olan bölgedeki küçük damarlarında beta-1 integrin düzeyinin inflamatuvar hücrelerle uyumlu olarak arttığı gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada beta-2 integrin, ELAM-1 ve ICAM-1 düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Bu etkileşim sonucunda adezyon, endotel ve hücrelerarası boşluğa hücre göçü başlar. SSk hastalarında ise hem hücre yüzey adezyon moleküllerinde hem de bu moleküllerin dolaşımdaki miktarlarında artış saptanmıştır (48). Sklerodermada tanısal amaçlı hastaların periferik kan hücrelerindeki bazı adezyon moleküllerinin mRNA'larındaki artış kullanılabileceği düşünülmektedir. P-selektin ligandlarını kodlayan (SELPLG) genin salınımindaki artış, von Willebrand Faktör reseptörlerini kodlayan genler (ITGA2B ve GP1BB) SSk hastaları ve sağlıklı bireylerin ayırımında kullanılmıştır. SSk hastalarının periferik kanlarında birçok biyolojik yollar incelenmiştir. Bunların değişkenleri protein kinaz 2 beta ve mitojen aktive eden protein kinaz sinyalidir (49).

2.1.3.5. İmmunolojik Aktivite

Endotel hücrelerinin aktivasyonu sonrasında; adezyon moleküllerinde ve lökositlerin damar dışına göçünde artış, ciltaltı tutulum ve iç organ tutulumu SSk hastalığının patogeneğinde önemli olabilir.

Nitekim bunu destekleyen çalışmalar mevcuttur. SSk erken inflamatuvar dönemindeki mononükleer hücre infiltrasyonu endotel hücrelerine bağlanmadaki artış arasında korelasyon vardır (50). SSk hastalarının lenfositlerinin alt gruplarında (aktive, sitotoksik T hücreleri), NK hücreleri, yardımcı T hücreler, endotele artmış oranda yapışma eğilimindedirler. Bu teoriye göre bahsi geçen alt grup lenfositler dolaşımdan elimine olurlar ve oldukça geçirgen olan endotele kemotaktik güçlerinde etkisiyle yapışma yönünde hareket ederler (51). SSk'de erken dönemde perivasküler alanda ödem gelişir. Klinik olarak hastalık ilerledikçe dermis içine inflamatuvar hücreler infiltre olur ve trombositler damarlara yapışır. Sonuç olarak ciltte fibroziste artış, damar cidarında bozulma başlar. Bu durum mononükleer hücrelerin endotel hücre disfonksiyonunda, fibroblast artışında ve kollajen sentezinde artışa neden olduğunu düşündürmektedir (52).

2.1.3.6. Otoantikolarlar

SSk hastalarının yaklaşık %75'inde dolaşan otoantikokorlardan bir veya daha fazlası bulunur. Bunlar topoizomeraz I (Scl-70), sentromer antijenler, fibrillarin, RNA polimeraz, PM-Scl, RNA I,II ve III (53-55). Bununla birlikte bu testlerin duyarlılıkları düşüktür. Scl-70 antikokorları SSk için oldukça özgüldür (%98-100) ve interstisyel akciğer tutulumu için yüksek risk göstergesidir. Yüksek konsantrasyonlar aynı zamanda daha fazla cilt tutulumu ve hastalık aktivitesi ile korele bulunmuştur (56). Antisentromer antikokorlar (ACA) ise sınırlı cilt tutulumu ile ilişkilidir (20). Bu otoantikokorların üretimini başlatan uyarıcı sistem henüz tam olarak bilinmemektedir. Bir ihtimal bu antikokorların hedefleri olan antijenler bakır, demir gibi spesifik metaller ve reaktif oksijen türleri aracılığı ile oluşabilmektedir. Metallerin tutulumu sonucunda SSk hastalığının tedavisinde kullanılan D-penisillamin gibi metal şelatörlerinin kullanımı açıklanabilir (57). Bir diğer ihtimal ise bu antikokorların enfeksiyonlara cevap olarak, oluşan antijenlere moleküler benzerlikten dolayı çapraz reaksiyon sonucu gelişmesidir. Bir çalışmada sitomegalovirüs ve SSk'da oluşan antikokorların endotel hücreleri yüzey protein komplekslerinin ilişkilerinden dolayı apoptozise neden olduğu gösterilmiştir (58). Otoantikokorlar fibroblast ilişkisinde SSk patogenezinde rol alabilir.

Yapılan bir çalışmada 69 skleroderma hastası, 30 sarkoidoz ve 50 sağlıklı bireyde SSK grubunda yüksek bulunan anti-fibroblast antikorlarının; fibroblast yüzey antijenlerini aktive ederek, fibroblastlara bir uyarıcı etki yaptığı gösterilmiştir (59).

2.1.4. Klinik Tanımlama

2.1.4.1. Tanı Kriterleri

Sistemik Sklerozun epidemiyoloji ve doğal gidişine göre iki ana alt tipi mevcuttur. American College of Rheumatology (ACR) tarafından 1980 yılında sınıflandırmayı daha iyi ortaya koyabilmek için yapılan çok merkezli çalışmanın ardından tanı kriterleri oluşturulmuştur. Bu sınıflandırmada majör kritere ilaveten iki minör kriterin varlığı gerekmektedir (Tablo 1). Hastaların semptomlarının iki yıldan daha az sürmesi şartı arandığı için pek çok limitli skleroderma hastası tanımlamanın dışına çıkmaktadır. Skleroderma hastalarının %97'sinde bir majör ve iki veya daha fazla minör kriter bulunurken, limitli skleroderma için bu kriterlerin sensitivitesi %69'dur. Sistemik lupus eritematozus (SLE), polimiyozit/dermatomyozit ya da romatoid artrit (RA) hastalarının sadece %2'sinde bu kriterler bulunmaktadır. Ancak bu kriterler içerisine ve giderek artan bilgiler ışığında serolojik ve diğer bazı laboratuvar bulgularının o dönem için eklenemediği de unutulmamalıdır (60).

Tablo 1. ACR Sistemik skleroz tanı kriterleri

<p>Majör Kriter</p> <p>Parmaklarda ve metakarpofalengeal ya da metatarsofalengeal eklemlerin proksimalinde ciltte simetrik kalınlaşma, sertleşme ve indurasyon bulunmasıdır. Bu değişiklikler ekstremitelerin tümünü, yüz, boyun ve gövdeyi etkileyebilir. (%91 duyarlılık ve %99'dan fazla özgüllük)*</p> <p>Minör Kriterler</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Sklerodaktili 2. Dijital 'pitting' skar ya da pulpa atrofisi 3. Bibaziller pulmoner fibrozis

*Lokalize skleroderma veya psödoskleroderma hariç

2.1.5. Sınıflandırma

Uzun süre önce tanımlanan CREST (kalsinozis, Raynaud fenomeni, özefagus dismotilitesi, sklerodaktili ve telenjiyektazi) sendromunun, yine uzun süre SSk'den farklı bir kavram olduğu düşünülmüş ve bu hastalığa ait 5 özelliği sağlamayan hastalar ekarte edilmiştir (61). Diffüz skleroderma tanısı konulan hastaların ileri dönemde bu 5 bulguyu da geliştirebilmeleri nedeniyle isimlendirmede karışıklıklar yaşanmıştır. Zamanla saptanan antisentromer ve antitopoizomeraz gibi sklerodermaya özgü antikolar sayesinde ve klinik tablolarındaki farklılıkların ayırd edilmesi ile ilk kez 1988 yılında diffüz ve limitli skleroderma ifadeleri kullanılmıştır (62). Limitli ve diffüz SSk arasındaki klinik farklılıklar Tablo 2'de görülmektedir.

Tablo 2. Limitli ve diffüz sistemik skleroz arasındaki klinik farklılıklar

Limitli skleroderma	Diffüz skleroderma
<ul style="list-style-type: none"> • Raynaud erken başlar. • Pafi ödem, geçici veya kalıcıdır. • Hafif artralji ve halsizlik. Tendon krepitasyonu yoktur. • Cilt kalınlaşması geç olur, ellerde ve yüzde kısıtlıdır. • Telenjiyektaziler ve kalsinozis sıktr. Erken dönemde olur. • Ciddi pulmoner hipertansiyon olur. • Özefagus tutulumu olur. • Parmak uçlarında iskemi • Antisentromer antikör 	<ul style="list-style-type: none"> • Raynaud yeni veya geç başlar. • Eller ve ayaklar ödemlidir. • Halsizlik akut başlar. Ciddi artralji ve tendon krepitasyonu • Cilt kalınlaşması erkendir, yukarıya ekstremitelere ve gövdeye doğru ilerler. • Telenjiyektaziler ve kalsinozis ileri dönemde oluşur. • Ciddi pulmoner fibrosis olur. • Özefagus tutulumu, bazı intestinal sorunlar görülür. • Proksimal interfalangeal eklem dorsumlarında ve parmak uçlarında iskemi • Kardiyomyopati ve aritmiler • Renal kriz • Anti-Scl-70 • Anti-RNA-polymerase III

Ancak SSk'un bu iki temel alt grubu dışında 3 alt grubu daha vardır ve böylece SSk 5 alt grupta incelenir (Tablo 3).

Tablo 3. Sistemik sklerozun sınıflandırılması

- **Diffüz skleroderma:** Yüzde, distal-proksimal ekstremitelerde ayrıca gövdede cilt tutulmuştur.
- **Limitli skleroderma:** Cilt kalınlaşması dirsek ve diz altındadır, yüz ve boyun da tutulabilir. CREST sendromu da limitli sklerodermadır.
- **Sine skleroderma:** Vasküler tutulum ve organ tutulumuna seroloji de eşlik eder, ama klinik olarak belirgin cilt tutulumu yoktur.
- **Çakışma sendromu (overlap):** SSk'un tüm bulguları karşılanırken; SLE, RA veya inflamatuvar kas hastalıklarının da özellikleri eklenir.
- **Ayrırdedilemeyen (undiferansiyel) kollajen doku hastalığı:** Raynaud fenomeni ile beraber SSk'un klinik ve/veya laboratuvar özellikleri eşlik eder. Bunlar sklerodermaya özgü antikorların varlığı, anormal tırnak yatağı kapilleroskopisi, parmak ödemi ve iskemik zedelenme şeklinde olabilir.

2.1.6. Klinik Bulgular

Sistemik Skleroz; spesifik iç organ tutulumu olan, kronik-katabolik bir süreçte cilt problemlerinin sistem tutulumlarına farklı kombinasyonlarda eşlik ettiği geniş bir semptomlar tablosudur. Halsizlik, çabuk yorulma ve gastrointestinal sistem tutulumu, kilo kaybı, sıkça görülen bulgulardır. Hastaların çoğunda SLE ve RA'da olduğu gibi, sistemik semptomlarda alevlenme ve yatışma periyodları gözlenir. Hastalığın nadir görülmesi, nedeninin tam bilinmiyor olması, etkili tedavinin yokluğu ve hastalığa bağlı kozmetik problemler hastaları psikolojik olarak etkileyen önemli faktörlerdir (63).

2.1.6.1. İnterstisyel Akciğer Hastalığı

Gastrointestinal sistemden sonra en sık tutulan organ akciğerlerdir. Sıklıkla, prekapiller vasküler hastalığa bağlı pulmoner hipertansiyon ve interstisyel akciğer hastalığı olmak üzere iki tip tutulum izlenmektedir (64). İnterstisyel akciğer hastalığı sklerodermanın hem diffüz, hem de sınırlı tipinde en sık rastlanılan pulmoner tutulum tipidir.

Prevelansı, tanının akciğer grafisi, tomografi ya da solunum fonksiyon testleriyle konulmasına göre %33–90 arasında değişmektedir (9). Postmortem çalışmalarda %70 oranında akciğer fibrozisine rastlanılmaktadır. En sık rastlanan histopatolojik patern nonspesifik interstisyel pnömonidir (NSIP). Bouros ve ark. 80 sklerodermalı akciğer biyopsisini içeren bir seride %78 oranında NSIP olduğunu göstermişlerdir. Sklerodermada organlardaki tutulumla otoantikör salınımı arasında da güçlü bir bağlantı olduğu düşünülmektedir. Scl-70 pozitifliği fibrozan alveolitin güçlü bir belirteci iken, antisentromer antikörler ise akciğer fibrozisi için negatif, pulmoner vasküler hastalık ve pulmoner hipertansiyon için pozitif belirteçtir (65).

Sklerodermada, akciğerlerde fibroblastlar tarafından artmış kollajen yapımı söz konusudur. Hastalığın erken dönemlerinde, akciğer hasarı başlamadan önce alveollerde immun ve inflamatuvar hücre birikimi olmaktadır ve bu fibrotik olayın ilk basamağıdır. Sklerodermada alveolit; alveoler makrofaj, lenfosit, nötrofil ve eozinofillerin birikimiyle karakterizedir. İnflamatuvar hücreler, proteolitik enzimler ve reaktif oksidanlar salgılayarak akciğer dokusunda hasarlanmaya neden olurlar ve tamir mekanizmaları uyarılır. İyileşme fibrozis ile olmaktadır. Yine ortama salınan sitokinlerin etkisiyle fibroblastlar myofibroblastlara dönüşmektedir. Akciğer fibrozisinin erken aşamaları, intersitisyumda α -aktin pozitif miyofibroblastların indüklenmesi ve düzensiz şekilli alveoler kapillerin artışıyla birlikte mikrovasküler endotelial hücre sayısında artış ile karakterlidir. Fibrozis, son dönem akciğer hastalığına doğru ilerledikçe myofibroblastlar ve kapiller endotelial hücreler azalmaktadır. İntersitisyumda gelişen fibrozise bağlı alveolokapiller gaz değişim mebranı da etkilenmekte ve yeterli derecede gaz diffüzyonu olamamaktadır. Bu da diffüzyon kapasitesinde azalma ve parsiyel oksijen basıncında düşme olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.1.6.2. Böbrek

SSk renal krizi malign hipertansiyon ve hızlı ilerleyen böbrek yetmezliği ile görülür. Scl-70 ve anti RNA polimeraz III antikörleri ile birlikteliği sıktır. SSk hastalarında önceleri önemli bir mortalite nedeni iken ACE inhibitörlerinin kullanımı ile mortalitede önemli bir azalma gözlenmiştir (66).

2.1.6.3. Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon (PAH)

Kollajen doku hastalıklarında artmış oranda pulmoner arteriyel hipertansiyon gözlenmektedir. Küçük pulmoner arterlerin tutulumu mevcuttur. Kollajen doku hastalıklarının önemli bir acil ve mortalite nedenidir. Fransa’da yapılan bir çalışmada tüm kollojen doku hastalıklarında %15 oranında PAH gözlenirken bunların %76’sının SSk hastaları olduğu görülmüştür (67). Yapılan başka bir çalışmada interstisyel akciğer hastalığı olan hastalarda %12 oranında bulunmuştur (68).

2.1.6.4. Gastrointestinal Sistem

Sklerodermada da en sık tutulan organ özefagustur. Hastalık süreci boyunca hastaların yaklaşık %80’inde özefagus disfonksiyonu gelişir. Normal itici peristalsis kaybı, katı gıdaların özefagusta takılmasına yol açar. Alt özefajiyal sfinkterin tam kapanamaması sonucu gastroözefajiyal reflü ve peptik özefajit gelişebilir (69,70).

Hastalığın CREST varyantında dudak ve yanak mukozasında telenjektaziler mevcuttur. Bazı hastalarda temporomandibular eklem tutulumu ağız açıklığını daha da azaltabilir. Muköz membran ve dil papillalarında gelişen atrofi tat duyusunda bozulmaya yol açabilir. Ağız açıklığında azalma gibi mekanik engellerle birlikte, eşlik eden Sjögren sendromu ağız hijyeninin korunmasını zorlaştırır (69).

SSk’de gastrik atoni ve dilatasyon görülebilmekle birlikte sindirim sisteminin diğer bölgelerine göre mide nadiren tutulur. Nadiren, özellikle limitli formda distal özefagus, mide ve gastrointestinal traktusun diğer bölgelerinde telenjektazilerden kaynaklandığı düşünülen ciddi kanamalar gelişebilir.

Hastaların bir kısmında ciddi şişkinlik, abdominal kramplar ve ishal atakları ile seyreden barsak yakınmaları ön planda görülür. Tek başına ya da ishalle dönüşümlü olarak ortaya çıkan kabızlık, kolon tutulumunun belirtisi olabilir. Kolonun muskularis tabakasında gelişen ‘patchy atrofi’, genellikle transvers ve inen kolonun antimezenterik kenarında sklerodermaya özgü geniş ağızlı divertikül gelişimine yol açar. Genellikle sorun yaratmaz, nadiren perforasyon ya da fekal materyalin sıkışması ile obstrüksiyon gelişebilir (71).

2.1.6.5. Kalp

SSk hastalarında miyokard tutulumuna bağlı kalp tutulumu olmaktadır. Vazospazma bağlı olarak miyokard perfüzyonunda azalma, sonrasında fonksiyonlarında bozulma gelişir. Takip eden sürede arterlerin strüktürel lezyonları sonucunda geri dönüşümsüz hale gelir. Klinik olarak miyokardial tutulum bulguları ortaya çıktığı zaman prognozu etkiler. Yapılan çalışmalarda konvansiyonel ekokardiografilerde sol ventrikül kontraksiyonunda azalma, yaklaşık % 40'ında sol ventrikül gevşemesinde anormallik, kapaklarda yetmezlik ve sağ ventrikül yetmezlik bulguları saptanmıştır (72).

2.1.6.6. Karaciğer

Limitli form sklerodermalı bazı kadın hastalarda, genellikle Sjögren sendromu ile birlikte primer biliyer siroz gelişir. Bu hastalarda yüksek serum alkalen fosfataz aktivitesi ile birlikte kaşıntı ve sarılık gözlenir. Karaciğerde nodüler dejeneratif hiperplazi de bildirilmiştir (73).

2.1.6.7. Cilt Bulguları

Limitli kutanöz formda, cilt değişiklikleri parmaklar, el ve yüzde kısıtlanırken; diffüz formda en distal kısımlardan başlayan cilt tutulumu değişken bir hızla ön kol, üst kol, uyluklar, göğüs ön-üst bölümü ve karın bölgesine yayılır. Etkilenen cilt parlak, gergin, kalınlaşmış ve cilt altı dokuya sıkıca yapışıktır. Bu dönemde dermis belirgin bir şekilde kalınlaşmış, epidermis ise incelmıştır. Bu durum cilt kırışıklıklarının kaybolmasına, kılların dökülmesine, derinin terleme ve yağlanmasında azalmaya yol açar. Yüz görünümü karakteristik olarak hareketsiz ve ifadesizdir. Dudaklar ince ve radial kırışıklıklarla çevrilidir, ağız açıklığı azalmıştır (mikrostomia). Birkaç yıl sonra cilt yumuşama eğilimine girer (atrofik faz). Bu dönemde en dikkat çekici bulgu, parmak ve yüzde gelişen yaygın dilate kapiller luplar ve venüllerden oluşmuş telenjiektazilerdir.

Cilt tutulumunun seyri, iki majör form arasında belirgin farklılık gösterir. Limitli formda cilt tutulumu organ tutulumu ile korelasyon göstermez ve yıllar sonra cilt kalınlaşması ya tamamen düzelir ya da minimal düzeyde kalır. Diffüz formda cilt kalınlaşması erken dönemde hızla artar ve 1-2 yılda en yüksek düzeye ulaşır, eklem kontraktürleri ve iç organ tutulumu ile pozitif korelasyon gösterir. Cilt kalınlaşmasının yaygınlığı, organ tutulumu ile ilişkisi nedeni ile prognoz açısından önemlidir.

Maksimal cilt kalınlaşması geliştikten sonra, ciltte yavaş fakat farkedilir bir düzelme olur. Ciltteki düzelme hemen her zaman göğüs ön duvarı, karın cildi gibi son etkilenen alanlarda başlar (63).

2.1.6.8. Raynaud Fenomeni

Raynaud fenomeni (Rf), sklerodermalı hastaların yaklaşık olarak %90'ında hastalığın ilk bulgusu olarak ortaya çıkar ve bu hastaların hemen hemen tümünde yıllar veya dekatlar sonra hastalığın limitli formu gelişir. Diffüz formda hastalığın başlangıç bulgularını; sıklıkla ellerde diffüz şişlik, ciltte kalınlaşma, artrit ve spesifik iç organ tutulumu oluşturmaktadır. Bu bulgular Rf ile eş zamanlı olarak ya da Rf geliştikten sonra 1-2 yıl içinde ortaya çıkar. Nadiren bir grup hastada Rf hiç gelişmez (74).

Rf'li hastalarda parmak uçlarında pitting skar bırakarak iyileşen, küçük iskemik nekroz ya da ülserasyonlar sık görülür. Parmakların distalinde gangren gelişebilir. Soğuk ya da emosyonel strese karşı normal vazokonstriktör yanıt, anatomik tıkanıklığın varlığında arteriyel lümende tam ya da tama yakın tıkanıklık oluşmasına yol açar. Primer Rf'de dijital iskemiyi takiben gelişen reaktif hiperemi, sklerodermalı hastalarda görülmez. Buradan, hastalarda gelişen doku iskemilerinin geri dönüşümsüz olduğu yorumu yapılabilir (75).

2.1.6.9. Kas-İskelet Sistemi

El küçük eklemlerinde, el bileklerinde, diz ve ayak bileklerinde yaygın artralji ve sabah tutukluğu erken dönem sklerodermada tipik olarak görülen semptomlardır ve bazen erken romatoid artrit düşündürülebilir. Klinik olarak sinovit sık görülmesine de bazı hastalarda eroziv artropati gelişebilir (76).

Fleksör tenosinovit el bileğinde karpal tünel sendromu gelişmesine yol açabilir. Fleksiyon kontraktürleri kısmen tendinöz ya da periartiküler fibrozis ve kısalmadan kaynaklanır. Özellikle parmak, el bilek, dirsek ve ayak bileklerinde yaygın olarak gelişen kontraktürler, diffüz formda hastalık başladıktan sonra birkaç ay içinde belirgin hale gelir (77,78). Olguların çoğunda eklem kontraktürü ya da kronik hastalığa bağlı olarak kasların kullanılmaması sonucunda iskelet kasında kuvvetsizlik ve atrofi gelişir. Hastaların yaklaşık %20'sinde primer myopati mevcuttur.

Hastaların bir kısmında ise daha belirgin olarak polimiyozitin elektrofizyolojik, biyokimyasal ve patolojik kanıtları ile karakterli kas güçsüzlüğü gelişebilir. Bu grup polimiyozit-skleroderma çakışma sendromu adı altında değerlendirilir (77,78).

2.1.6.10. Diğer Klinik Problemler

Kuru göz ve ağızda kuruluk hissi de SSk'lı hastaların yaygın şikayetlerindedir. Minor tükürük bezi biyopsilerinde genellikle fibrozis saptanır, Sjögren sendromunun tipik bulgusu olan lenfosit agregasyonu görülmez (79). Skleroderma genellikle merkezi sinir sistemini tutmaz ve tutulum varsa başka nedenler araştırılmalıdır. Tek istisna trigeminal nevraljidir ve bu durum ilk önce yüzde uyuşma ve daha sonra yüzde ağrı ile ortaya çıkabilir. Mikrovasküler hastalığa bağlı olarak gelişen anormal nöral fonksiyon sindirim sisteminin erken dönem bulgularını açıklayabilir. Hipotiroidi tiroid fibrozisine bağlı olarak veya otoimmün tiroidit sonucu oluşabilir (73).

SSk hastalarının yaklaşık %50'sinde depresyon semptomları saptanmıştır. SSk'lı hastalarda seksüel disfonksiyon sıklıkla görülür. Erkek hastalarda impotans genellikle nörovasküler hastalığa sekonderdir, ancak organik olmayan fonksiyon bozukluğu da araştırılmalıdır. Normal insanlarla karşılaştırıldığında SSk hastalarında gebe kalmakta güçlük ve infertilite daha sık görülür. Spontan düşük, preterm veya düşük kilolu bebek oranı yüksektir. Gebeliğin hastalığın seyrini ağırlaştırıcı etkisi saptanmamıştır, fakat gebelik sırasında SSk'ya bağlı sindirim ve dolaşım sistemi tutulumu şiddetlenebilir (73).

Bir araştırmada SSk hastalarında standart yaşa göre kanser insidansı beklenenden 2,1 kat fazla saptanmıştır. Yaşlı hastalar ve antitopoizomeraz antikoru pozitif olanlarda kanser riski yüksek bulunmuştur (80). Büyük ihtimalle pulmoner fibrozis ile ilişkili olarak akciğer kanseri oranı artmıştır.

2.1.7. Tedavi

2.1.7.1. Pulmoner Fibrozis

Pulmoner fibrozis ve PAH skleroderma hastalarında en sık ölüm nedendir. Pulmoner fibrozisin erken tanı ve tedavisi mortalite ve morbidite açısından önemlidir. Yapılan bir çalışmada siklofosfamid (CYC) oral veya infüzyon şeklinde prednizon ile kombine edilmiştir.

Alveolar fibrozisin eşlik ettiği 16 skleroderma hastasının katıldığı çalışmada 8 hasta aylık olarak intravenöz CYC (750 mg) 12 ay boyunca, aynı periyotta diğer gruba oral CYC (2-2.5 mg/kg/gün), 10 mg oral prednison ile birlikte verilmiş; hastalara başlangıçta, 6 ve 12 ay sonra yüksek rezüstasyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT) çekilmiş sonuç olarak aylık intravenöz kullanan grupta tedavinin daha etkin olduğu gözlenmiştir (81).

Yapılan başka bir çalışmada akciğer tutulumu olan skleroderma hastalarına 4 haftada bir olmak üzere toplam 6 kür intravenöz metilprednizolon (10 mg/kg) ve intravenöz CYC (15 mg/kg) verilmiş. Cilt tutulumu, YRBT ve akciğer fonksiyon testleri başlangıç değerlerine göre karşılaştırıldığında; Modifiye Rodnan cilt skorunda %35 iyileşme, YRBT skorunda iyileşme ve DLCO ve akciğer hacimlerinin ilk 12 ay stabil seyrettiği gözlenmiştir (82).

Skleroderma hastalığına bağlı akciğer tutulumu olan son dönem akciğer hastalığı olan 9 hastaya, akciğer nakli yapılmış, skleroderma dışı akciğer hastalarına yapılan nakillerle karşılaştırıldığında nakil sonrası yaşam süreleri, akut rejeksiyon, infeksiyon ve serum kreatinin açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (83).

2.1.7.2. Cilt Tutulumu ve Erken Yaygın Hastalık

Erken yaygın skleroderma hastalığının kanıtlanmış bir tedavisi yoktur. Yapılan çok merkezli, randomize, plasebo kontrollü, çift kör bir çalışmada 71 hastanın 35 tanesine haftalık maksimum 35 mg oral methotreksat (MTX) ve diğer gruba plasebo 12 ay boyunca verilmiş. Çalışma başlangıcında istatistiksel olarak her 2 grup arasında cilt tutulumu, karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DLCO) arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Çalışma sona erdiğinde sonuçlar hafifçe MTX kullanan grup lehine bulunmuştur (84). Siklosporin ve takrolimus ağırlıklı olarak T hücreler üzerine etkili immünmodülatuar ilaçlardır. Bu ilaçlarla tedavi olan birtakım skleroderma hastalarının ciltlerinde sıkılaşıma gözlenmiştir. Bununla birlikte bugüne kadar rutin klinik kullanımına dair bir yayın yoktur. 16 skleroderma hastasının bulunduğu bir çalışmada ciltlerinde yumuşama gözlenmiş ancak yan etkiler nedeniyle ilaç dozlarında sınırlama ya da ilacın tamamen kesilmesi gerekmiştir. Sekiz skleroderma hastasının bulunduğu hasta grubuna ise takrolimus verilmiş ancak bu grupta da gerek hastalığın ilerlemesi gerekse ilacın yan etkilerinden dolayı kesilmek zorunda kalmış (85).

Yüksek doz D-Penisillamin (D-Pen) kullanımının ciltte belirgin yumuşama, renal kriz sıklığında azalma ve yaşam kalitesinde iyileşme olduğu hipotezi mevcuttur. Yapılan bir çalışmada 134 skleroderma hastası yüksek doz D-Pen (750-1000 mg/gün) ve düşük doz D-Pen (125 mg/günaşırı) alanlar olarak karşılaştırılmış. Hastalar cilt skoru, renal kriz sıklığı ve mortalite açısından yaklaşık 4 yıl boyunca takip edilmiş. Sonuçta yüksek doz alan grupta düşük doz alan grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yüksek doz alan grupta yan etkiler daha sık gözlenmiş olup doz azaltımına neden olmuştur. Sonuç olarak 125 mg/günaşırıdan daha fazla D-Pen kullanımının bir üstünlüğü olmadığı gözlenmiştir (86).

İntravenöz immunoglobulin (IVIg) kullanımı hakkında çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Yapılan az sayıdaki çalışmalarda da vaka sayısı azdır. Yapılan 15 skleroderma hastasının bulunduğu bir çalışmada hastalara 3-6 ay boyunca 2gr/kg IVIg verilmiştir. Hastaların 5 tanesi sınırlı skleroderma 10 tanesi yaygın skleroderma nedeniyle takip edilmiş. Çalışma sonunda Modifiye Rodnan cilt skorunda anlamlı azalma ($p<0.001$), kendini iyi hissetme ve yaşam kalitesinde anlamlı değişiklik gözlenmiştir ($p=0.03$)(87).

2.1.7.3. Raynaud Fenomeni

Birçok skleroderma hastasında idiyopatik Raynaud Fenomeninden (RF) daha ağır bir RF vardır. Yapılan bir metaanaliz çalışmasında skleroderma hastalarında RF tedavisi için kalsiyum kanal blokerlerinin etkileri incelenmiş. Sonuç olarak kalsiyum kanal blokerleri skleroderma hastalarındaki RF tedavisinde atakların sıklığında ve şiddetinde etkin bulunmakla beraber daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır (88). Anjiotensin II reseptör tip 1 antagonisti olan losartan ile nifedipin karşılaştırmalı bir çalışmada 25 primer RF ve 27 sklerodermaya sekonder RF hastası karşılaştırılmış. Serumda çözülebilir adezyon molekülleri, endotelin-1, fibrinojen, von Willebrand faktör ve prokollojen tip I N-terminal propeptit (PINP) bakılmış. Her iki grupta RF şiddetinde azalma olmuş ancak losartan alan grupta daha fazla azalma gözlenmiş ($p<0.05$). Losartan alan grupta RF sıklığında azalma gözlenmiş ($p<0.01$). Sonuç olarak kısa dönem RF tedavisinde losartan etkili bulunmuştur (89).

Alfa-1 inhibitörü olan prazosin ile plesebo karşılaştırmalı iki randomize kontrollü çalışmada; prazosinin pleseboya göre belirgin olarak sklerodermaya sekonder RF tedavisinde etkili olduğu gözlenmiştir (88).

İloprost kimyasal olarak stabil bir prostosiklin analogudur. Sklerodermaya bağlı RF üzerine etkileri Cochrane kontrollü çalışmalar analiz edilmiştir (90). Bütün randomize kontrollü çalışmalarda prostosiklin analogları plesebo ile karşılaştırılmış. Sonuç olarak intravenöz iloprost kullanımının sklerodermaya sekonder RF sıklığında ve şiddetinde parmak ülserlerinde belirgin azalma olduğu gözlenmiştir.

N-asetilsistein (NAC) ile yapılan 22 sklerodermaya sekonder RF hastasının katıldığı çalışmada 2 saatlik 150 mg/kg yükleme dozundan sonra 15 mg/kg/saat 5 gün boyunca NAC infüzyonu uygulanmış sonuçta RF ataklarının şiddetinde ve sayısında ve parmak ülserlerinde belirgin azalma gözlenmiştir (91).

2.1.7.4. Pulmoner Hipertansiyon

Epoprostenol vasküler endotel tarafından salınan güçlü, kısa etkili trombosit agregasyonunu engelleyen bir maddedir. Epoprostanolun pulmoner hipertansiyon hastalarında egzersiz kapasitesini arttırdığı kardiyopulmoner hemodinamide iyileşme sağladığı, yaşam kalitesini arttırdığı ve süresini uzattığı gösterilmiştir (92). İnhalasyonla iloprost, pulmoner hipertansiyon (PAH) yönetiminde selektif vasodilatör olarak dikkate alınması gerektiği vurgulanmıştır (93). İnhalasyonla iloprost tedavisi hemodinamik ve fiziksel fonksiyonlarda iyileşme yönünde PAH hastalarında ve ilerleyici sağ kalp yetmezliği olan hastalarda etkin bir tedavi gibi görünmektedir.

Prostasiklin analogu olan treprostonil SLE, skleroderma, bağ dokusu hastalıkları ve çakışma sendromlarının bulunduğu 90 tane PAH hastasına uygulanmıştır. Tedavi sonrasında PAH görülen konnektif doku hastalarının egzersiz kapasitelerinde, PAH semptomlarında ve hemodinamilerinde iyileşme gözlenmiştir (94).

Beraprost ilk oral prostosiklin analogu olup 2 çalışmada idiyopatik PAH hastalarında kullanılmış egzersiz kapasitesinde artış gözlenirken hemodinamik değişiklik gözlenmemiştir (95). Skleroderma hastalarında pulmoner fonksiyonların ölçüldüğü diğer bir çalışmada karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DLCO) %95' ten daha az olan 17 hastaya 12 ay boyunca uygulanmış sonuçta DLCO değerlerinin daha iyi olduğu, pulmoner damar basıncının azaldığı gözlenmiştir (96).

ET-1 güçlü bir endojen vazokonstriktördür ve pulmoner hipertansiyon etyolojisinde önemli bir yer tutmaktadır. ET-1 endotelyal aktivasyon, hücre proliferasyonu ve fibroze neden olarak vazokonstriksiyona neden olduğu düşünülmektedir. Dual etkili endotelin reseptör antagonisti olan bosentan pulmoner hipertansiyon tedavisinde onaylanan ilk oral ilaçtır. Primer veya sklerodermaya bağlı PAH hastalarında yapılan randomize çift kör plesebo kontrollü çalışmalarda bosentan (62.5-250 mg/günde iki kez) tedavisinin hemodinamiyi, egzersiz kapasitesini iyileştirdiği gözlenmiştir (97,98).Yapılan başka bir çalışmada semptomları son derece ağır, egzersiz toleransı düşük olan hastalarda ilk tercih olarak bosentan kullanımının yaşam süresini uzattığı ve yaşam kalitesini arttırdığı gözlenmiştir (99).

Fosfodisteraz tip 5 (PDE5) inhibitörlerinin PAH tedavisinde etkili olabileceği öngörülmüştür. İdiopatik yada kollojen doku hastalıklarına bağlı fonksiyonel sınıf III 26 hastanın bulunduğu sildenafil (PDE5 inhibitörü) ile bosentan karşılaştırılmış. Hastalara sildenafil (50 mg/günde iki kez ilk 4 hafta sonrasında günde üç kez) bosentan (62.5 mg/günde iki kez ilk 4 hafta sonrasında 125 mg/günde iki kez) 16 hafta boyunca izlenmiş sonuçta iki grup arasında kardiyak fonksiyonlar, Borg dispne indeksi, sağ ventrikül kitlesi karşılaştırılmış ve anlamlı farklılık bulunamamıştır. Sildenafil alan grupta bir hastada ani ölüm gerçekleşmiştir (100).

2.1.7.5. Gastrointestinal Tutulum

Kronik intestinal psödo-obstriksiyon skleroderma hastalarında nadir görülen bir durumdur. Yönetimi son derece zordur. Gastrik motilite düzenleyici domperidon, sisapirid, eritromisin gibi ilaçlar kullanılabilir. Yapılan bir çalışmada 3 skleroderma gastrointestinal tutulumu olan hastaya subkutan oktreotit verilmiş etkili olduğu gözlenmiştir (101).

2.1.7.6. Renal Kriz

Skleroderma hastalığının bir komplikasyonu olan renal kriz anjiyotensin konverting enzim inhibitörleri (ACE) ile tedavi edilmiştir. Uzun dönem sonuçları henüz bilinmemektedir. Prospektif kohort çalışmada sklerodermaya bağlı renal krizi olan 145 hasta da ACE inhibitörleri kullanılmış ve renal krizi olmayan 662 skleroderma hastası ile takip edilmiştir.

Renal kriz olan hastalar 4 grupta; dialize hiç alınmayan, geçici olarak dialize alınan, kalıcı olarak dialize alınan ve erken ölüm şeklinde incelenmiş. 5-10 yıllık takip sonucunda sadece hastaların %61'i hiç dialize girmemiş ya da geçici dialize girmiş, %39'u kalıcı dializ yada erken ölümle sonuçlanmıştır (102).

2.1.7.7. Yaygın Organ Tutulumu

Yaygın organ tutulumu olan 13 skleroderma hastasının bulunduğu pilot bir çalışmada hastalara 5 gün boyunca anti timosit globulin (ATG) sonrasında da 12 ay boyunca mikofenolat mofetil (MMF) verilmiş; sonuçta cilt skorunda belirgin azalma ($p<0.01$), el kontraktürlerinde ilerleme, hastalığın sistemik bulgularında gerileme gözlenmiş. Çalışma esnasında bir hasta renal kriz gelişmesi sonucu ölmüş, 5 hastada ATG sonrası serum hastalığı artaya çıkmış kortikosteroidlerle kontrol altına alınmıştır. ATG ve MMF skleroderma hastalığında iyi bir kombinasyon gibi gözükmektedir. Daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır (103).

2.1.7.8. Kök Hücre Nakli

Yeni gelişmeler skleroderma hastalarında kök hücre nakillerinin (HSCT) olumlu sonuçlar verebileceğini göstermektedir. EBMT/EULAR çalışmalarının uzun dönem sonuçları açıklanmıştır. Sadece skleroderma hastaları HSCT ile tedavi edilmiş Avrupa faz I-II çalışmaları 1996–2002 yılları arasında takip sonuçları açıklanmıştır. HSCT yapılan 57 hastada nakil sonrası ortalama 22.9 (4.5-81.1) ay sonrası parsiyel (n=32) veya tam (n=14) yanıt oranı %92 yanıt alınamayanların oranı ise %8 bulunmuştur. Parsiyel ya da tam yanıt alınan hastaların %35' i HSCT 10 (2.2-48.7) ay sonrası relaps gelişmiştir. Bu sonuçlara göre ileriye dönük daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır (104).

2.1.8. Ürotensin-II

Ürotensin-II şu ana kadar bilinen en kuvvetli vazokonstriktör peptittir. Kuvvetli vazokonstriktör olduğu bilinen endotelin-1'den daha kuvvetli bir vazokonstriktördür. Ürotensin-II ilk kez balıkların spinal kordlarından izole edilmiştir ve somatostatin ile benzer peptik sekansına sahiptir.

Biyolojik aktiviteden sorumlu tutulan C-terminal siklik hegzapeptid yapısı (Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys) insanlarda, domuzlarda, maymunda ve ratlarda bulunmaktadır. N terminal ucu, uzunluk ve sekans olarak memelilerde farklı özellikler gösterir. İnsan U-II peptidi büyük bir öncül molekül olan pre-pro U-II molekülünden üretilir. Bu molekülün mRNA'sı vasküler endotel, kalp, lökosit, beyin, spinal kord, böbrek, karaciğer, adrenal bezler, hipofiz, dalak, lökositler, incebağırsak, kolon, plasenta ve diğer dokularda izole edilmiştir. U-II reseptörü vasküler endotel, myokard, beyin, düz kaslar ve iskelet kaslarında, adrenal glandlarda, tiroide, böbrek korteksinde bulunmaktadır (105,106).

Plazma U-II düzeyleri konjestif kalp yetmezliği, hipertansiyon, KAH, diyabet, metabolik sendrom gibi kardiyovasküler hastalıklar ile korelasyon göstermektedir. Yine kronik bobrek yetmezliği, siroz ve portal hipertansiyonda da plazma U-II düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (107). Farklı etkilerinin varlığı gösterilmesine rağmen, bu peptidin rolü halen net olarak bilinmemektedir.

2.1.8.1. Kardiyovasküler Sisteme Etkisi

Ürotensin-II (U-II), endotelin-1'e göre arterler üzerinde 50 kat venler üzerinde de 10 kat daha fazla vazokonstrüktör etkiye sahiptir. Ancak klinik olarak etki endoteline verilen cevabın yaklaşık %30'u kadardır. Bu da muhtemelen hedef organdaki reseptör sayısına bağlıdır. İn vitro çalışmalarda U-II, arteryel kontraksiyon üzerine büyük etki gösterirken venöz tonüs üzerine hemen hiç etkili değildir. U-II'nin vasküler yataktaki etkileri damarın cinsine, boyutuna göre değişmekte olup insan ve hayvanlarda farklı özellikler gösterebilmektedir (106,107).

U-II'nin kalpte koroner vazokonstrüksiyon, refleks taşikardi, fibrozis ve kardiyomiyozitlerde hipertrofiye yol açtığı saptanmıştır (108). Hipertansif ve normotansif hastalar üzerinde yapılan küçük pilot bir çalışmada hipertansif hastalarda serum U-II düzeyleriyle kan basıncı arasında pozitif bir korelasyon izlenmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada normotansif bireylere göre hipertansiflerde plazma U-II düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur (108,109).

Aterosklerotik karotid arterlerde ve aortada U-II'nin ekspresyonu artmıştır. U-II'nin artmış ekspresyonunun, aterosklerotik plak gelişimini hızlandıran damar düz kas proliferasyonuna yol açtığı öne sürülmüştür.

Ayrıca lokal olarak salınan U-II'nin koroner vazokonstriksiyona ve miyokardiyal iskemiye yol açtığı gösterilmiştir (108,110).

U-II, kalp yetmezliğinde rol oynadığı düşünülen çok sayıda molekülden biridir. Son dönem kalp yetmezliği olan hastalarda kardiyomiyozitlerde U-II'nin ekspresyonunun ve reseptörünün arttığı ifade edilmiştir (110,111). Bunun yanı sıra diyastolik kalp yetmezliğinde U-II seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur. Burada dikkati çeken bir nokta U-II'nin normal sağlıklı bireylerde cilt damarlarında vazokonstrüksiyon, kalp yetmezlikli hastalarda ise vazodilatasyona yol açmasıdır; bu da muhtemelen kalp yetmezlikli hastalarda endotel disfonksiyonu da bulunduğundan U-II'nin vazokonstrüksiyon etkisinin ortaya çıkmamasına bağlıdır (110,112).

2.1.8.2. Renal Sisteme Etkisi

İzole edilen balıklarda U-II sodyum transportu, glukoz ve lipid metabolizması üzerine etkili bulunmuştur. U-II'nin tübüloglomerüler geri besleme ve glomerüler filtrasyon hızının (GFR) refleks kontrolü ile GFR'nin regülasyonunda rol oynayabilmektedir (113). Böbrekte U-II vazodilatör ve natriüretik etkiye sahiptir. İdrar U-II seviyeleri ile kan basıncı arasında bir korelasyon saptanmamıştır, ancak esansiyel hipertansyonu olanlarda ve glomerüler hastalıkla birlikte hipertansyonu olanlarda idrar U-II düzeyi daha yüksek olarak bulunmuştur. Bunun yanısıra glomerüler bozukluğu olup normotansif olanlarda U-II seviyesi normal bulunmuştur. İnsanlarda idrar U-II konsantrasyonu renal disfonksiyonu olup diyalize girmeyenlerde seruma göre 2 kat; hemodiyaliz hastalarında ise plazmadan 3 kat daha yüksek bulunmuştur (114). Yine Tip 2 diyabetli hastalarda plazma ve idrar U-II seviyeleri renal fonksiyonları bozuk olanlarda normal olanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Diabetik nefropatide tübüler epitel hücrelerde U-II ekspresyonunda dramatik artışlar gözlenmiştir (115,116).

2.1.8.3. Pulmoner Hipertansiyona Etkisi

Pulmoner hipertansiyonun progresyonunda ve başlangıcında endotel disfonksiyonu bulunması nedeniyle U-II'nin vazokonstriktif etkisine bağlı olarak patogeneizde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Pulmoner hipertansiyonlu ratlarda endotel ve düz kas hücrelerinde U-II benzeri immünreaktivite artmıştır (117).

Pulmoner hipertansiyonu ve sağ ventrikül hipertrofisi olan hipoksik ratlarda sağ ventrikül U-II reseptörlerinde artış izlenmiştir. Bugün itibariyle U-II'nin pulmoner hipertansiyon üzerindeki etkileri hususunda çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Ancak endotelin-1 antagonisti olan bosentan pulmoner hipertansiyonda etkili olarak kullanılmaktadır bu konuda U-II üzerindeki çalışmalar henüz sonuçlanmamıştır (118,119).

2.1.8.4. Diğer Etkileri

Bunun dışında beyin, spinal kord ve motor nöronlarda U-II reseptörleri ve U-II benzeri immün reaktivite saptanması U-II'nin santral sinir sistemindeki muhtemel rolünü göstermektedir. Diyabet hastalarında plazma ürotensin II seviyelerinin yüksekliği kan glukoz seviyesinden bağımsızdır. Yine karaciğer sirozuna bağı portal hipertansif hastalarda da ürotensin seviyeleri atmış olarak bulunmuştur. Ayrıca TSH ve prolaktin düzeyi üzerine etkileri ve pankreastan insülin salınımını attırdığı, tespit edilen diğer bulgulardır (120-122).

Ürotensin vücutta pek çok dokuda farklı etkileri bulunan bir peptittir. Ancak temel olarak etkileri kardiyak, renal ve vasküler sistem üzerinedir. Vasküler sistem üzerindeki etkilerindeki değişkenlik tam olarak açıklanamasa bile endoteldeki disfonksiyondan kaynaklanabileceği öngörülmüştür. Ancak henüz çalışmaların yeterli düzeyde olmayışı ve molekülünde klinik çalışmalardaki kullanımının kısmen yeni olması nedeniyle patofizyolojik etkileri tam olarak anlaşılabilmiş değildir.

2.1.9. Akciğer Fibrozisi Deneysel Hayvan Modeli

SSk doku fibrozu, vaskülopati ve immün sistem aktivasyonu ile karakterize, multisistemik kompleks bir hastalıktır. SSk de etiyolojinin bilinmemesi nedeniyle, hastalık patogenezinin daha iyi anlaşılması ve olası yararlı tedavi yöntemlerinin belirlenmesi için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Uygun hayvan modellerinin belirlenmesi, bu dirençli romatizmal hastalığın daha iyi anlaşılmasını sağlayacak ve sonuçta yeni tedavi protokollerinin belirlenmesi ve sağkalım verilerinde iyileşmeye yol açabilecektir. Bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozis modeli hastalığın aşamalarını ve akciğer yapısı ile fonksiyonunu açıklığa kavuşturmak için kullanılan en önemli modeldir.

Bleomisin (BLM), streptomyces verticillus türünden elde edilmiş antitümöral etkili bir antibiyotiktir (123). Akciğer, böbrek, periton ve lenf sisteminde yüksek oranda konsantre olduğu gösterildiği için deri kanserleri, baş boyun kanserleri, uterus kanseri, serviks kanseri, hodgkin hastalığı, retikülosarkom, lenfosarkom, embriyonel hücreli koriokarsinom ve teratokarsinomun tedavisinde kullanılır. Bleomisin intratrakeal uygulanmadan kısa bir süre sonra inflamatuvar ve fibrotik reaksiyon oluşturmaya başlar. İnflamasyon ve fibrozis intratrakeal bleomisin uygulamasından ortalama 9 gün sonra ortaya çıkmaktadır. BLM, bleomisin/demir kompleksi oluşturarak moleküler oksijeni, süperoksit ve hidroksil radikallerine dönüştürür. Bu da DNA' da iplikcik kırılmalarına ve DNA/RNA/protein sentezinde (transkripsiyon ve translasyon basamakları) hasara sebep olarak anti/neoplastik etki gösterir (124). Bleomisini inaktive eden hidrolaz enziminin akciğer dokusunda diğer dokulara oranla çok düşük düzeyde bulunmasından dolayı yan etki olarak özellikle akciğerlerde yaygın fibrozis ve interstisyel pnömoni oluşturur (125). Bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisinin patofizyolojisinde iki faz vardır. Erken inflamatuvar fazda, interstisyel ve alveolar alanlara makrofaj, nötrofil ve lenfosit infiltrasyonu olurken, ikinci fazda fibrozis gelişir (126). Reaktif oksijen radikalleri ve proteazlar genellikle bu inflamatuvar hücrelerden salgılanarak akciğer dokusunda hasar oluşturur ve onarım sürecinde aşırı fibrozis gelişir. BLM'nin süperoksit ve hidroksil radikallerini içeren reaktif oksijen ürünlerini ürettiği bilinmektedir. Bu ürünler akciğer dokusunda DNA hasarı, lipid peroksidasyonu, akciğer prostaglandin sentezi ve yıkımında değişikliklere neden olur ve akciğerde kollajen sentezi artar. BLM uygulandıktan sonra sitokin disregülasyonu ve inflamasyon gelişir, fibroblastlar aktifleşir ve kollajen üretimi uyarılırken, kollajen yıkımı inhibe olur (8). Yara ve arkadaşlarının çalışmasında, farelere intratrakeal BLM uygulamasıyla akciğerde yedinci gün hidroksiprolin birikiminin başladığı ve 28. günde maksimum düzeye çıktığı bildirilmiştir (127). Bleomisinin indüklediği akciğer hastalığının patogenezinde; Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), IL-1, IL-5, IL-6, platelet derived growth factor (PDGF) ve çeşitli kemokin sitokinler gibi çok çeşitli sitokinler rol oynarlar. TGF- β , IL-1 ve TNF- α bu tip hasarda rol oynayan önemli örneklerdir.

Bleomisinle tedavi edilen farelerde TGF- β mRNA alveolar makrofajlarda birikirler; anti TGF- β antikorlarının uygulanması ilaç indüklü pulmoner cevapları

minimize eder. Benzer olarak bleomisin duyarlı IL-1 ve TNF- α artmış miktarda üretilir ve IL-1 reseptör antagonistleri, anti-TNF antikoru ve çözünür TNF reseptörleri bleomisin indüklü pulmoner fibrozisi azaltır. Bleomisin uygulamasını takiben gelişen hasar, inflamasyon ve sitokin disregülasyonunun sonucu olarak fibroblastlar aktive olur. Fibroblast ve miyofibroblast üretimi artar, kollejen degradasyonu inhibe olduğunda kollejen üretimi artar ve fibrozis gelişir. Sonuçta sitotoksik ilaç indüklü pulmoner hasarın görüntüsü interstisyel inflamasyon ve fibrozistir (128).

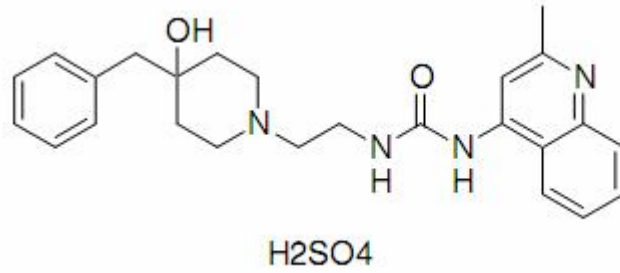
2.1.10. TGF- β

TGF- β ailesi gelişimi çok yönlü kontrol eden ekstrasellüler büyüme faktörlerinin büyük bir grubudur. Organizmanın tüm dokularının gelişiminde, homeostazisinde ve onarımında çok önemli rol oynayan TGF- β ailesi, yapısal olarak ilişkili çok sayıda polipeptid büyüme faktörleri içerir, bunların her biri hücre proliferasyonu, farklılaşması, motilitesi, adezyonu ve ölümü gibi hücresel süreçleri düzenleme yeteneğine sahiptir (129). TGF- β sinyal iletim yolundaki değişiklikler insanlarda görülen birçok hastalıkta bildirilmiştir. Büyüme inhibitörü yanıtının TGF- β 'ya iletiminin eksikliği kanser hücrelerinde sıklıkla görülen bir durumdur ve TGF- β aktivitesinin artışı akciğer, böbrek, karaciğer ve diğer organlarda dokular arasındaki matriks materyalinin aşırı bir şekilde artışı ile karakterize fibrotik hastalıklarda merkezi bir rol oynar (130,131).

2.1.11. Palosuran

Palosuran (ACT-058362; 1-[2-(4-benzyl-4-hydroxy-piperidin-1-yl)-ethyl]-3-(2-methyl-quinolin-4-yl)-üre sulfat tuzu) ; peptid yapıda olmayan, oral olarak aktif olan, selektif ve yarışmalı olarak aktivite gösteren UT-II reseptör antagonistidir (Şekil 1). Palosuran çok hızlı absorbe olur. Plazma konantrasyon eğrisi enterohepatik sıklusa bağlı olarak 2 pik yapar. Görülen terminal eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 20 saat olmasına rağmen 12 saat sonra plazma palosuran düzeylerinin düştüğü görülmektedir. Bu nedenden dolayı günde 2 doz şeklinde verilmesi önerilmektedir.

Patricia N. Sidharta ve arkadaşları (132) yaptıkları çalışmada palosuranın farmakodinamik ve farmakokinetik etkileri sağlıklı erkekler üzerinde araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda palosuranın ciddi bir yan etkisi saptanmamıştır.



Şekil 1. Palosuran'ın kimyasal formülü

2.1.12. Bleomisin

Bleomisin lenfoma, germ hücreli tümör ve baş-boyun kanserleri gibi çeşitli malignensilerin tedavisinde kullanılan sitotoksik bir antibiyotiktir. İlaç deri ve akciğerlerde birikir; major toksisitesini de bu organlar üzerinde gösterir. Kullanımının sınırlı olması onun potansiyel pulmoner toksisitesinden kaynaklanır. Bleomisinin indüklediği akciğer hasarının toplam insidansı %3'ten %40'a kadar değişir. Bu ilacı alan hastaların %1-2'si pulmoner toksisite sonucu hayatlarını kaybederler (128). Diğer çoğu kemoteropatiklerden farklı olarak BLM ile ilişkili pulmoner toksisite, hasarlanma mekanizması, inflamasyon hayvan modellerinde yaygın olarak çalışılmıştır. Bütün ilaç indüklü bozukluklarda uygulanabilir olmamasına rağmen bleomisin kemoteropatiklerin akciğeri nasıl hasarladığına dair iyi bir model teşkil eder. Bleomisinin neden olduğu akciğer hasarı oksidan bağımlı gibi görünmektedir. Bleomisinin süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen metabolitleri oluşturduğu bilinmektedir. Bu reaktif türler DNA hasarı, lipid peroksidasyonu, akciğer prostoglandin sentezinde değişiklikler, degradasyon ve akciğer kollejen sentezinde artış gibi birçok etkisi vardır. Hasarın major alanı tip1 alveolar epitelyal hücreler ve pulmoner kapiller endotelyal hücrelerdir. Alveolar epitellerdeki tip1 pnömosit hasarını tip 2 pnömosit hiperplazisi ve displazisi izler. Hava kirliliği gibi inhalasyon toksinlerinin neden olduğu akciğer hasarına göre sitotoksik ilaç indüklü akciğer hasarında tamir süreci daha geç işler. Sonuçta önce granüositlerin, sonra da lenfosit, eozinofil ve plazma hücreleriyle infiltrasyon, inflamasyon ve sitokin salınımı ve fibrozis ile sonuçlanır (125-127).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, deneysel olarak oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde U-II düzeylerini belirlemek, bu U-II düzeyleri ile patolojik olarak fibrozis skorlarını ve fibrotik süreç göstergeleri olan ET-1, TGF- β 1 arasındaki ilişkiyi araştırmak ve son olarak oluşturulan bu deneysel akciğer fibrozisi modelinde U-II antagonisti olan palosuranın etkinliğini araştırmak amacıyla planlanmıştır. Çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 09.2009 tarihi 10 sayılı yazısı ile etik kurulu yönergesindeki ilkelere uygunluk açısından etik onay alınarak yürütölmüştür.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarından temin edilen Wistar tipi 30 adet erkek rat kullanıldı. Standart rat kafeslerinde optimal şartlarda 16 gün su ve standart pellet yem verildi. Kafesleri, yatakları, yiyecek ve suları kullanılmadan önce sterilize edildi, oda sıcaklığı 24–27°C arasında tutulup, 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ışıklar ayarlandı. Deneye başlamadan önce ratlar tartıldı ve ağırlıkları 250 g'ı geöenler rastgele alınarak 10'arlı üç gruba ayrıldı.

3.1.1. Deney Grupları

Grup 1 (n=10, kontrol grubu): Bu gruptaki ratlara intratrakeal fosfatla tamponlanmış steril salin (PBS) uygulamadan iki gün önce (-2. gün) distile su 10 mg/kg/gün peroral başlandı ve deney süresince uygulamaya devam edildi. Sıfırncı gün intratrakeal olarak tek doz 0.2 mL PBS verildi.

Grup 2 (n=10, BLM grubu):Bu gruptaki ratlara -2. günde distile su 10 mg/kg/gün peroral başlandı ve deney süresince uygulamaya devam edildi.

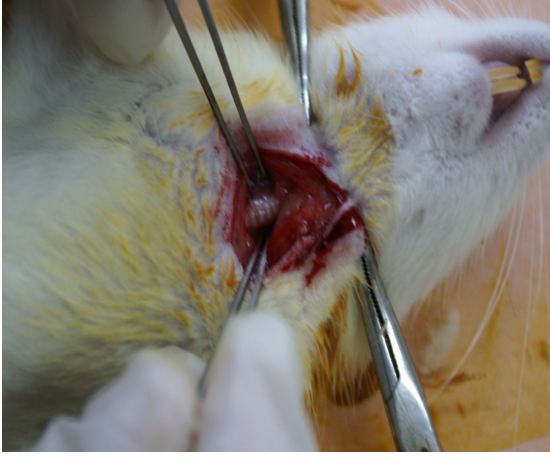
Sıfırncı günde intratrakeal BLM (Bleocin; bleomycin hydrochloride; Nippon Kayaku Co. Ltd. Tokyo, Japonya) 0.2 mL PBS içinde çözdürülerek 7.5 U/kg şeklinde tek doz yapıldı (1).

Grup 3 (n=10, Palosuran grubu): Bu gruptaki ratlara -2. günde palosuran daha önceki çalışmalar ve ilaç prospektüsü incelenerek (Actelion Pharmaceuticals Ltd.) 300 mg/kg/gün dozunda peroral başlandı ve deney süresince uygulamaya devam edildi. Sıfırncı günde intratrakeal BLM (Bleocin; bleomycin hydrochloride; Nippon Kayaku Co. Ltd. Tokyo, Japonya) 0.2 mL PBS içinde çözdürülerek 7.5 U/kg şeklinde tek doz yapıldı (1).

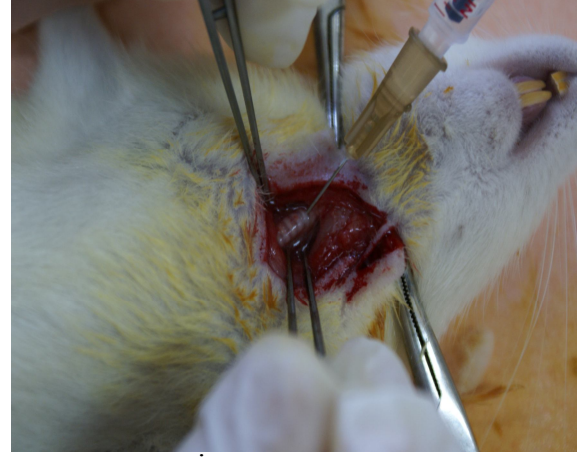
3.2. Yapılan İşlemler

Tüm ilaç uygulamaları her sabah aynı saatte (08.00'de) yapıldı. İntratrakeal BLM ve PBS uygulaması anestezi altında yapıldı. Anestezi için 1mg/kg xyalzine ile 0.5 mL/kg dozunda ketamin aynı enjektöre çekilerek intraperitoneal olarak uygulandı. Daha sonra ratların refleksleri kontrol edilerek anesteziye girmeleri beklendi. Bu sürede BLM'nin 15 U'lik flakon formu PBS içinde çözdürüldü.

Anestezi altındaki ratların boyun ön bölgesi orta hat kesisiyle açıldı, cilt altı dokular klemp yardımıyla dikkatlice ekarte edilerek trakeaya ulaşıldı (Resim1). Trakea içerisine 100 U'lik insülin enjektörüyle girilerek BLM uygulaması yapıldı (Resim 2), BLM'nin akciğere tam ulaşabilmesi için ratların kafa kısmı yukarı kaldırılarak 30 saniye kadar beklendi. Kontrol grubuna da aynı şekilde ve aynı miktarda PBS verildi. İşlem bittikten sonra kesi bölgesi suturele kapatılarak (Resim 3), infeksiyon gelişmemesi yönünden günlük antiseptik batikon solüsyonuyla silinerek yara bakımı yapıldı. Çalışmanın sonunda etik kurallara uyularak uyutulan ratların direkt kalplerinden kan örnekleri alındı (Resim 4). Uyutulduktan hemen sonra sol akciğer %10 formaldehit içerisinde fikse edilerek doku kesitleri hazırlandı (Resim 5,6,7).



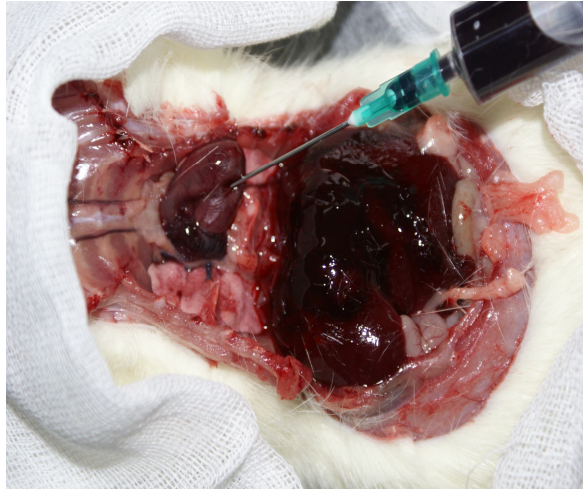
Resim 1. Boyun orta hat kesisi ile trakeaya ulaşılması



Resim 2. İntratrakeal ilaç infüzyonu



Resim 3. İntratrakeal ilaç infüzyonu sonrasında bu bölgenin sütüre edilmesi



Resim 4. İntrakardiyak kan alınması



Resim 5. Akciğer fibrozisi oluşturulan grubun makroskopik görünümü



Resim 6. Akciğer fibrozisi oluşturulup Palosuran ile tedavi edilen grubun makroskopik görünümü



Resim 7. Çalışma sonunda örneklerinin sınıflandırılması

3.3. Histopatolojik İnceleme

Sol akciğer %10 formalin solüsyonunda fikse edilip parafin blok haline getirildi ve 3 µ kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitler Hematoksilen-Eozin (HE) ve fibrozisin değerlendirilmesi için Masson Trichrom (MT) boyasıyla boyandı. Fibrozisin derecelendirilmesi; MT ile boyalı kesitlerde x100'lük büyütmede rastgele seçilen 10 alanda Ashcroft skorlamasına göre 0–8 arasında derecelendirildi (133). Mikroskopik inceleme kör olarak yapıldı.

3.3.1. Akciğer fibrozisinin derecelendirilmesi

Derece Histolojik özellik

Grade 0: Normal akciğer

Grade 1: Alveoler ya da bronşiyal duvarda minimal fibröz kalınlaşma

Grade 2–3: Akciğer yapısında hasar olmaksızın duvarda orta derecede fibröz kalınlaşma

Grade 4–5: Akciğer yapısında hasarla birlikte artmış fibrozis, fibröz bant formasyonu veya küçük fibröz kitleler

Grade 6–7: Şiddetli hasar ve geniş fibrozis

Grade 8: Total fibröz obliterasyon (133)

3.4. Kan Plazma Endotelin-1 Ölçümü

Ön hazırlık: Standartlar ve kontroller kullanıma hazırdır. Yıkama tamponu 1/20 oranında distile su ile sulandırıldı. Endotelin Stok hücre kültüründen seri dilüsyonlar hazırlandı (10/5/2.5/1.25/0.625 fmol/ml). Serumlar alındıktan hemen sonra kuru buza yerleştirildi ve santrifüj edildi. Lipemik ve hemolizli numuneler çalışmaya alınmadı. Serumlar sadece bir kere çözdürüldü. Çalışmaya başlamadan önce numuneler vortekslendi. Sonucu yüksek seviyede çıkabilecek numuneleri dilüe edebilmek için %0.9 sodyum klorid solüsyonu hazırlandı.

Test Çalışma Protokolü: Tüm reaktifler ve serumlar test çalışılmaya başlamadan önce oda ısısına (18–26°C) getirildi. Blank, standart, kontrol ve serumların çalışmadaki sırası belirlendi. Mikrotitre plat stripleri çıkarıldı ve ilk gode blank oluşturmak üzere ayrıldı. Blank dışındaki tüm godelere 50 mikrolitre standart/numune/kontroller vortekslendikten sonra pipetlendi. Üzerine 200 mikrolitre deteksiyon antikor (AB), blank dışında tüm godelere nazikçe pipetlendi. Mikrotitre plat striplerinin üzeri kapatıldı ve oda ısısında gece inkübasyonuna bırakıldı (20 saat). İnkübasyon sonrasında, tüm solüsyonlar aspire edildi. 300 mikrolitre dilüe edilmiş yıkama tamponu pipetlendi, ortalama bir dakika beklendi ve yıkama tamponu boşaltıldı. Son damla havlu kağıda çırpılarak boşaltıldı. Bu işlem beş kere tekrarlandı. Tüm godelere 200 mikrolitre konjugat pipetlendi. Mikrotitre plate striplerinin üzeri kapatıldı ve oda ısısında bir saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, tüm solüsyonlar aspire edildi. 300 mikrolitre dilüe edilmiş yıkama tamponu pipetlendi, ortalama bir dakika beklendi ve yıkama tamponu boşaltıldı. Son damla havlu kağıda çırpılarak boşaltıldı. Bu işlem beş kere tekrarlandı. Tüm godelere 200 mikrolitre substrat pipetlendi. Mikrotitre plat striplerinin üzeri kapatıldı ve oda ısısında 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Tüm godelere 50 mikrolitre stop solüsyonu pipetlendi. Hafifçe çalkalandı. İlk yarım saat içerisinde elisa okuyucusuyla 450-620 nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü.

Sonuçların Hesaplanması: Blank absorbansı tüm değerlerden çıkartıldı. Standart değerleri kullanılarak grafik kağıdı üzerinde standart eğrisi elde edildi. Hasta numunesi absorbansı eğriye yerleştirilerek fmol/ml biriminden değeri elde edilir.

3.5. Kan Plazma Ürotensin-II Ölçümü

Ön Hazırlık: Alınan numuneler EDTA içeren 2 ml'lik tüplere alındı. Numuneler, aprotinin içeren (0.6 TIU/ml kan) santrifüj tüplerine aktarıldı. 4°C'de 15 dakika 1600 g'de santrifüj edildi. Numuneler ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu: 1 ml plazmaya, 1 ml Tampon A ilave edildi. 4°C'de 20 dakika 14000 g'de santrifüj edildi. C18 içeren SEP-COLUMN, 1 ml tampon B ile bir kere ve sonrasında 3 ml tampon A ile 3 kere yıkanarak dengelendi. Dengelenmiş C18 içeren SEP-COLUMN'a asidifiye edilmiş plazma yüklendi. 3 ml'lik tampon A ile kolon iki kere yıkandı. 3 ml'lik tampon B ile protein elüye edildi. Elüye edilmiş protein evapore ettirildi ve Speedvac ile kuru hale getirildi. Tampon kullanılarak kuru haldeki protein sıvı forma dönüştürüldü. İşlem tamponu distile su kullanılarak 20 kat dilüye edildi. Hiç kristal kalmadığı kontrol edildi. 1 ml standart peptit, 1 ml işlem tamponu ile dilüye edildi. Bu stok solüsyonun konsantrasyonu 1000ng/ml'dir. 10 dakika oda ısısında bekletildi. 5 kere 1/10 oranında seri dilüsyon uygulandı. 100, 10, 1, 0,1, 0.01 ng/ml konsantrasyonunda standartlar elde edildi. Primer antiserum 5 ml işlem tamponu ile sulandırıldı. 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve karıştırıldı. Biotinylate peptit 5 ml işlem tamponu ile sulandırıldı. 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve karıştırıldı. Pozitif kontrol 200 mikrolitre işlem tamponu ile sulandırıldı. 5 dakika oda ısısında bekletildi ve karıştırıldı.

Test Çalışma Protokolü: Birinci gode Blank olarak ayrıldı. İkinci godeye 50 mikrolitre işlem tamponu total bağlayıcı gibi pipetlendi. Sonra sırayla daha önceden seri dilüsyonları yapılmış 50 mikrolitre peptit standart pipetlendi. 50 mikrolitre pozitif kontrol pipetlendi. Kalan diğer godelere 50 mikrolitre hazırlanmış hasta numuneleri pipetlendi. Blank hariç tüm godelere 25 mikrolitre dilüe edilmiş primer serum ilave edildi. Blank hariç tüm godelere 25 mikrolitre dilüe edilmiş biotinyl peptit ilave edildi. Plate'in üstü kaplanarak 2 saatlik oda inkubasyonuna bırakıldı. İnkubasyon sırasında 300 rpm orbital sallanmaya tabi tutuldu. İki saat inkubasyon sonrasında, tüm solüsyonlar aspire edildi. 350 mikrolitre dilüye edilmiş işlem tamponu pipetlendi, ortalama bir dakika beklendi ve yıkama tamponu boşaltıldı. Son damla havlu kağıda çarpılarak boşaltıldı. Bu işlem beş kere tekrarlandı. 12 mikrolitre SA-HRP, 12 mikrolitre dilüe edilmiş işlem tamponu ile sulandırıldı. 100 mikrolitre dilüye edilmiş SA-HRP tüm

godeler pipetlendi. Plate'in üstü kaplanarak 1 saatlik oda inkubasyonuna bırakıldı. İnkubasyon sırasında 300 rpm orbital sallanmaya tabi tutuldu.

Bir saat inkubasyon sonrasında, tüm solüsyonlar aspire edildi. 350 mikrolitre dilüe edilmiş işlem tamponu pipetlendi, ortalama bir dakika beklendi ve yıkama tamponu boşaltıldı. Son damla havlu kağıda çırpılarak boşaltıldı. Bu işlem beş kere tekrarlandı. 100 mikrolitre TMB substat tüm godelere pipetlendi. Plate'in üstü kaplanarak 1 saatlik oda inkubasyonuna bırakıldı. İnkubasyon sırasında 300 rpm orbital sallanmaya tabi tutuldu ve ışıktan korundu. 100 mikrolitre 2N HCl pipetlenerek reaksiyon durduruldu. Kibarca karıştırıldıktan sonra 450 dalga boyunda okutulurak sonuçlar elde edildi.

3.6. Kan Plazma TGF- β 1 Ölçümü

Ratlardan alınan kan örnekleri yaklaşık bir saat pıhtılaşmanın gerçekleşmesi için oda sıcaklığında bekletildi. Numuneler 20 dakika 2000 g de santrifüj edildikten sonra porsiyonlara ayrılarak, çalışmanın yapılacağı tarihe kadar -70°C 'de saklandı. TGF- β 1 Konsantrasyonları TGF β ELİSA kit Mouse/Rat (R.D Sistem) kullanılarak ölçüldü. Bu kit kantitatif sandviç prensibine dayanan enzim immünassay testidir. Plazma örnekleri test edilmeden önce 40 μL seruma 10 μL 1 N HCL eklendi, iyice karıştırıldı ve oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra asidifiye örnek 8 μL 1,2 N NaOH/ 0,5 M HEPES ile nötralize edildi ve iyice karıştırıldı. Ölçüm öncesi aktive edilmiş örnekler kalibrasyon dilüent ile seyreltildi. Her bir kuyucuk TGF- β 1 spesifik monoklonal antikorlar ile kaplanmış. Stantardlar, kontrol ve örnekler kuyucuklara pipetlendi ve TGF- β 1 ler immobilize antikorlar aracılığıyla bağlanmıştır. Bağlanmamış örnekler yıkama sonrası uzaklaştırılmıştır.

TGF- β 1 spesifik enzim bağlı poliklonal antikorlar kuyucuklara eklenerek ilk inkübasyon süresince TGF- β 1 immobilize oldu. Yıkamayı takiben bağlanmamış antikor-enzim reaktifleri uzaklaştırıldı. Kuyucuklara substrat eklendi ve başlangıçtaki bağlı TGF- β 1 miktarlarına göre renk değişimleri gözlemlendi. Renk değişimi gözlenecek kadar zaman geçtikten sonra stop solüsyon eklendi ve 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucuda okutturularak, elde edilen optik dansitite (OD) standart değerleriyle kıyaslanarak TGF- β 1 miktarları belirlendi.

3.7. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizinde değerler ortalama±standart deviasyon şeklinde ifade edildi. $p<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İki den fazla grubun değerlerinin karşılaştırılmasında nonparametrik Kruskall-Wallis analizi kullanıldı. Anlamlı çıkan sonuçlarda iki grubun birbiriyle karşılaştırılmasında ise Mann-Witney U Testi kullanıldı. Farklı parametreler arasındaki korelasyonun araştırılmasında Pearson Korelasyon Analizi kullanıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışma, deneysel olarak oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde U-II düzeylerini belirlemek, bu U-II düzeyleri ile patolojik olarak fibrozis skorlarını ve fibrotik süreç göstergeleri olan ET-1, TGF- β 1 arasındaki ilişkiyi araştırmak ve son olarak oluşturulan bu deneysel akciğer fibrozisi modelinde U-II antagonisti olan palosuranın etkinliğini araştırmak amacıyla planlanmıştır. Çalışma ondördüncü günde sonlandırılmış olup, patolojik ve biyokimyasal işlemler için örnekler alınmıştır.

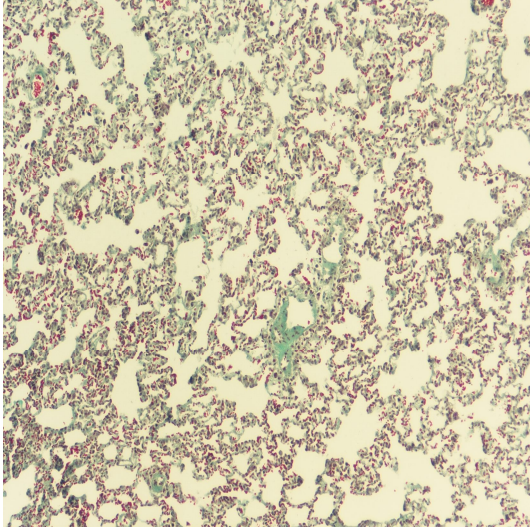
4.1. Fibrozis Skorları:

Çalışmanın sonunda kontrol grubu, bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulan hasta grubu ve bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulup U-II antagonisti olan palosuran ile tedavi edilen 3 grubun fibrozis skorları karşılaştırıldı. Fibrozis skorlamasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p < 0.001$). İkişerli olarak kontrol grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda fibrozis skorları kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p < 0.001$) (Resim 8,9). Palosuran grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; palosuran grubunda BLM grubuna göre fibrozis skorları istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p = 0.024$) (Resim 9,10) (Tablo 4).

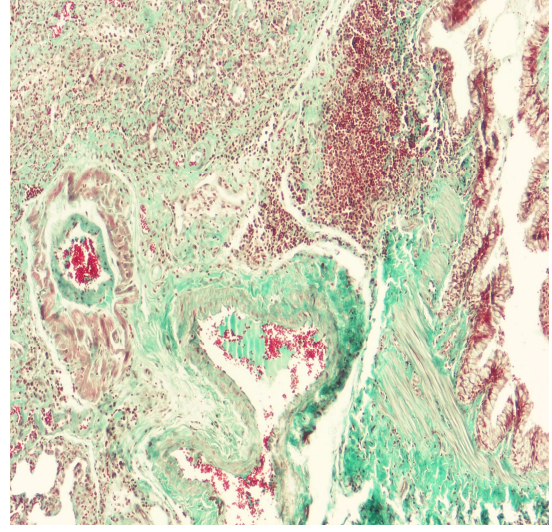
Tablo 4. Gruplar arasındaki fibrozis skorlarının karşılaştırılması

Gruplar	n	Fibrozis Evrelemesi X \pm SD	p
Kontrol Grubu	10	0.700 \pm 0.483 ^a	0.001
Hasta Grubu	10	4.400 \pm 1.349 ^b	
Tedavi Grubu	10	3.200 \pm 0.632 ^c	

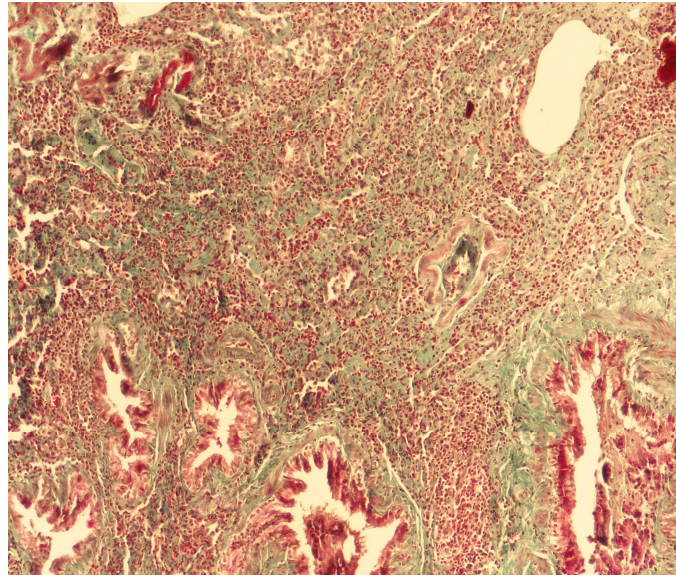
a,b,c: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p < 0.05$).



Resim 8. Kontrol grubunun akciğer histopatolojik görüntüsü (MT, x 100)



Resim 9. BLM grubunda belirgin doku iltihabi hücre infiltrasyonu, alveollerde kistik genişleme ve duvar harabiyeti



Resim 10. Palosuran grubunda alveollerde daha az duvar harabiyeti, daha hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve alveollerde daha az fibröz doku artışı (MT, x100)

4.2. Ürotensin 2 Düzeyleri:

Deneyin sonunda ondördüncü günde kontrol grubu, bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulan hasta grubu ve bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulup U-II antagonisti olan Palosuran ile tedavi edilen 3 grubun kan U-II düzeyleri karşılaştırıldı. Gruplar arasında U-II düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p=0.002$).

İkişerli olarak kontrol grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.002$). Palosuran grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; palosuran grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.003$) (Tablo 5).

Tablo 5. Gruplar arasındaki serum U-II düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar	n	Ürotensin-II Düzeyi X±SD (ng/ml)	p
Kontrol Grubu	10	2.957±0.159 ^a	0.002
Hasta Grubu	10	3.188±0.122 ^b	
Tedavi Grubu	10	2.970±0.165 ^a	

a,b: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p<0.005$).

4.3. Endotelin-1 düzeyleri:

Deneyin sonunda ondördüncü günde kontrol grubu, bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulan hasta grubu ve bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulup U-II antagonisti olan palosuran ile tedavi edilen 3 grubun kan ET-1 düzeyleri karşılaştırıldı. Gruplar arasında ET-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p<0.001$). İkişerli olarak kontrol grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.001$). Palosuran grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; palosuran grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p<0.001$) (Tablo 6).

Tablo 6. Gruplar arasındaki serum ET-I düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar	n	Endotelin 1 Düzeyi X±SD (pg/ml)	p
Kontrol Grubu	10	4.458±0.583 ^a	0.001
Hasta Grubu	10	9.086±1.850 ^b	
Tedavi Grubu	10	4.486±0.376 ^a	

a,b: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p<0.005$).

4.4. TGF- β 1 Düzeyleri:

Deneyin sonunda ondördüncü günde kontrol grubu, bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulan hasta grubu ve bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulup U-II antagonisti olan Palosuran ile tedavi edilen 3 grubun kan TGF- β 1 düzeyleri karşılaştırıldı. Gruplar arasında TGF- β 1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p=0.006$). İkişerli olarak kontrol grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.016$). Palosuran grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; palosuran grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.013$)(Tablo 7).

Tablo 7. Gruplar arasındaki serum TGF - β 1 düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar	n	TGF- β 1 Düzeyi X \pm SD (ng/ml)	p
Kontrol Grubu	10	73.143 \pm 9.96 ^a	0.006
Hasta Grubu	10	84.81 \pm 4.73 ^b	
Tedavi Grubu	10	77.86 \pm 5.77 ^a	

a,b: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p<0.005$).

4.5. Fibrozis Skorları ile ET-1, U-II ve TGF- β 1 Düzeyleri Arasındaki İlişki:

Deneyin sonunda ondördüncü günde bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulan grupta ET-1 düzeylerinde artış ile fibrozisdeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı ($p=0.001$, $r=0.652$) (Tablo 8).

Deneyin sonunda ondördüncü günde bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulan grupta U-II düzeylerinde artış ile fibrozisdeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı ($p=0.001$, $r=0.562$) (Tablo 8).

Deneyin sonunda ondördüncü günde bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulan grupta TGF- β 1 düzeylerinde artış ile fibrozisdeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı ($p=0.008$, $r=0.476$) (Tablo 8).

Deneyin sonunda ondördüncü günde bleomysin ile akciğer fibrozisi oluşturulan grupta Endotelin-1 düzeylerinde artış ile Ürotensin 2 artış arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı ($p=0.001$, $r=0.607$) (Tablo 8).

Tablo 8. Fibrozis Skorlaması ile ET-1, U-II ve TGF- β 1 Düzeyleri Arasındaki İlişki

	Endotelin-1		Ürotensin-II		TGF- β 1	
	r	p	r	p	r	p
Fibrozis	0.652	0.001	0.562	0.001	0.476	0.008
Endotelin-1	-	-	0,607	0.001	0.387	0.035
Ürotensin-II	0.607	0.001	-	-	0.289	0.121
TGF- β 1	0.387	0.035	0.289	0.121	-	-

5. TARTIŞMA

Sistemik Sklerozis (SSk), etyolojisi tam olarak bilinmeyen, kronik, progresif olarak seyreden, şiddetli cilt ve iç organ fibrozisi ile karakterize, mikrovasküler yapılarda, hücrel ve hümoral immünitede bozukluğa yol açan otoimmün bir hastalıktır (134). Etyolojisinde; başta genetik faktörler ve enfeksiyöz nedenler olmak üzere çevresel ve immünolojik faktörler yer almaktadır. Patogenezinde göze çarpan ana bozukluklar ise; yaygın fibrozis, vaskülopati ve immün sistemin aktivasyonudur (2). Fibrozis ve vasküler değişikliklerin özellikle kalp ve akciğer üzerindeki etkilerine bağlı olarak, bu hastalığın morbidite ve mortalitesi artmaktadır.

Sklerodermada mortalitenin en önemli nedeni akciğerlerde gelişen yaygın interstisyel fibrozistir. Pulmoner fibrozisin erken tanı ve tedavisi mortalite ve morbidite açısından çok önemlidir. Pulmoner fibrozis prevalansı, tanının akciğer grafisi, tomografi ya da solunum fonksiyon testleriyle konulmasına göre %33–90 arasında değişmektedir (9). Sklerodermaya ikincil olarak gelişen akciğer fibrozisinde günümüzde uygulanan siklofosamid ve steroid tedavileri yeterince yüz güldürücü sonuçlar vermemektedirler. Yeni tedavi hedef ve yöntemlerinin belirlenebilmesi için planladığımız skleroderma/akciğer fibrozisi modelinde U-II, ET-1, TGF- β 1 düzeylerinin belirlenmesi ve U-II, ET-1, TGF- β 1 düzeyleri ile fibrozis arasındaki ilişkinin incelenmesi ve oluşturulan bu deneysel akciğer fibrozisi modelinde U-II antagonisti olan Palosuran'ın etkinliğinin araştırılması planlandı. Çalışmamızda intratrakeal BLM uygulamasının akciğerde fibrozis oluşturduğu ve TGF- β 1, ET-1 ve U-II düzeylerinde artışa neden olduğu görüldü. Palosuran tedavisinin akciğer fibrozisini geriletmediği, TGF- β 1, ET-1 ve U-II düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı derecede baskıladığı belirlendi. Ayrıca fibrozis oluşturulan grupta fibrozis skorları ile TGF- β 1, ET-1 ve U-II düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

Fibrozis, çeşitli dokularda hipertrofi veya skar oluşumu ile birlikte kollajen içeren artmış ekstraselüler matriks birikimi olarak tanımlanır.

Kronik enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, allerjik hastalıklar, kimyasal uyarılar, radyasyon ve doku hasarı gibi kronik inflamatuvar reaksiyonların bir sonucu olarak oluşabilmektedir. Fibroziste anahtar hücreler miyofibroblastlardır. Miyofibroblastlar primer kollajen üreten hücrelerdir. Miyofibroblastlar; lenfosit ve makrofajlardan köken alan parakrin uyarılarla, miyofibroblastlardan sekrete edilen otokrin faktörlerle veya Toll like reseptörler gibi fibroblastlar üzerinden aktive olan çeşitli mekanizmalarla aktive olabilirler. Sitokinler (IL-13, IL-21, TGF- β 1), kemokinler (MCP-1, MIP-1 β), anjiyogenik faktör (VEGF), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), peroxisome proliferator-activated reseptörler (PPARs), akut faz proteinleri, kaspazlar ve renin–anjiyotensin–aldosterone sistemi (ANG-II) komponentlerinin günümüzde artık fibroziste önemli regülatörler oldukları bilinmektedir (135).

SSk hastalarında artmış fibroblast oluşumu miyofibroblastların TGF- β 1 ile aktivasyonu sonucunda oluşmaktadır. Bununla birlikte SSk hastalarında miyofibroblast aktivasyonunda otoantikor üretimini ve bağ doku büyüme faktörü (CTGF) oluşumunu stimüle eden ve CMV gibi virüsleri de içeren TGF β /SMAD3-bağımsız mekanizmalarının da etkin olduğu düşünülmektedir (136). Epigenetik değişikliklerde SSk hastalarında miyofibroblast aktivasyonuna katkıda bulunabilirler (137). Günümüzde B hücrelerinin de otoantikor üretimi ve IL-6 sekresyonu ile iyi bilinen fibroblast growth faktörlerinden olduğu bilinmektedir (138). Th2-tipi sitokinlerin fibrozis üzerine etkileri hakkındaki araştırmalar ise devam etmektedir (139,140).

Skleroderma hastalarında akciğer fibrozisi, alveol epitelinin hasarlanması ile başlar, epitel hücre membranları bütünlüğünü kaybeder, çeşitli inflamatuvar hücreler ortaya çıkar. Bunu matriks komponentlerinin aşırı ekspresyonu ve depolanması izler. Hasar sonucu ortaya çıkan inflamatuvar yanıt fibrozis gelişimi ve bir takım yapısal değişikliklerle sonuçlanır. Hasar sınırlıysa kollajen birikimi ve fibrozise gidişin geri dönüşlü olması mümkündür. Hasar devam ederse inflamatuvar hücreler ve proliferen epitel hücrelerinden salınan proinflamatuvar ve profibrotik sitokinlerle ve matriks komponentlerince sürdürülen onarım süreci devam eder. Bu da fibroblast proliferasyonu, düzensiz kollajen depolanmasıyla sonlanır. Kronik dönemde interstisyel ve intraalveoler fibrozis oluşur (141).

BLM'nin süperoksit ve hidroksil radikallerini içeren reaktif oksijen ürünlerini ürettiği bilinmektedir. Reaktif ürünlerin üretimi akciğer dokusunda DNA hasarı, lipid peroksidasyonu, akciğer prostoglandin sentezi ve yıkımında değişikliklerle sonuçlanır ve akciğerde kollajen sentezi artar. BLM uygulandıktan sonra sitokin dengesi bozulur ve inflamasyon gelişir, fibroblastlar aktiveleşir ve kollajen üretimi uyarılırken, kollajen yıkımı inhibe olur (8).

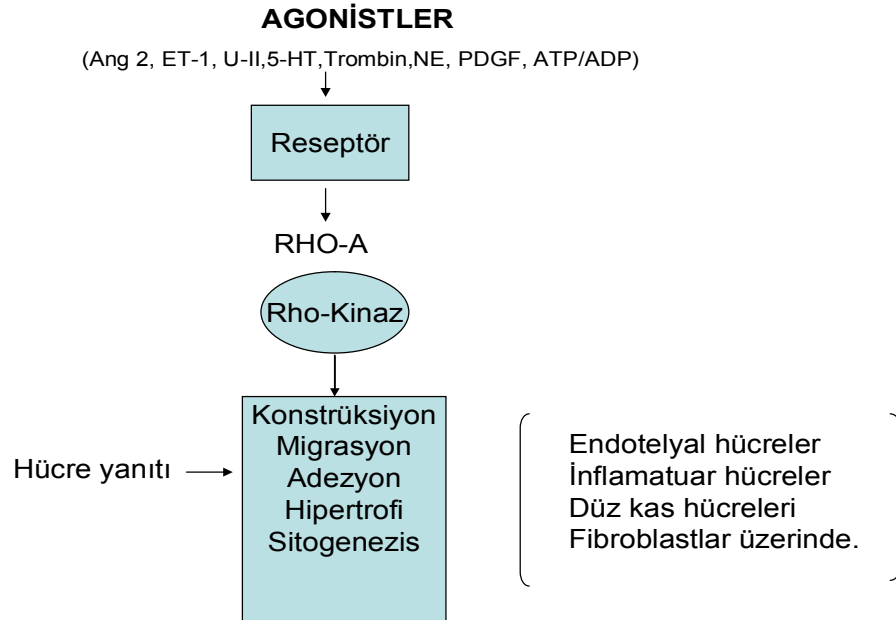
Bir polipeptid sitokin olan TGF- β 1'in makrofajlar ve fibroblastlar üzerinde stimülatör ve mitojenik etkileri vardır. TGF- β 1 aktivitesinin artışı akciğer, böbrek, karaciğer ve diğer organlarda dokular arasındaki matriks materyalinin aşırı bir şekilde artışı ile karakterize fibrotik hastalıklarda merkezi bir rol oynar. TGF- β 1, peritoneal yapışıklıklarda, pulmoner ve intestinal fibrozisde, karaciğer sirozunda glomerulonefritlerde ve cilt skarları gibi fibrozis ile giden hastalıklarda önemli bir mediatör olarak rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda fibrozis ile giden durumlarda TGF- β 1'in arttığı ve TGF- β 1'in supresyonu ile fibrotik doku formasyonunun önlenildiği gösterilmiştir (142). TGF- β 1 reseptörlerinin fibroblastlar üzerinden etki göstererek SSk patogenezinde etkili olduğu gösterilmiştir. SSk hastalarında erken dönem doku lezyonlarında ve bronkoalveolar lavaj sıvılarında TGF- β 1 düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. SSk hastalarından alınan cilt örneklerinden oluşturulan fibroblast kültürleri ile normal kontrol fibroblast kültürlerinde TGF- β 1 reseptör ekspresyonu karşılaştırıldığında SSk hasta grubunda ekspresyonun 2 kattan daha yüksek olduğu saptanmıştır (143). TGF- β 1 yüksekliği SSk'nın lokalize formları olan morfea ve lineer SSk'da da gözlenmiştir (144). Yakın zamanlarda yapılan hayvan modelleri ile cilt ve akciğer fibrozisinde TGF- β 1'in kritik rolü açığa çıkmıştır (145). Çalışmamızda da TGF- β 1 düzeyi akciğer fibrozisi modelinde anlamlı olarak yüksek bulundu. Bununla birlikte palosuran ile tedavi edilen grupta TGF- β 1 düzeyi anlamlı olarak düşük saptandı. Ayrıca bleomisin ile fibrozis oluşturulan hasta grubunda fibrozis ile TGF- β 1 arasında anlamlı pozitif bir korelasyon vardı. Bu sonuçlarda daha önce yapılan çalışmalarda TGF- β 1'in fibrozis ile ilişkisinin, akciğer fibrozis modelinde de mevcut olduğu ve palosuran tedavisi ile hem fibrozisin hem de TGF- β 1'in anlamlı olarak gerilediği görülmüştür.

Endotelin 1980'li yılların sonlarına doğru bulunan vücut sıvılarından saflaştırılmış bir hormondur (146).

ET-1 insan vücudunda önemli miktarda bulunup başta endotel hücreleri olmak üzere epitel hücreleri, kemik iliği mast hücreleri, makrofajlar, polimorfonükleer lökositler, kardiyomiyositler ve fibroblastlar tarafından salınmaktadır (147). ET-1 salınımı başlıca hipoksi, soğuğa maruziyet, anjiyotensin-II, büyüme faktörü, TGF- β 1 gibi sitokinler tarafından stimüle olurken, nitrik oksit, prostasiklin, natriüretik peptit ve artmış kan akımı tarafından inhibe edilir (148,149).

Sistemik skleroz hastaları ile yapılan çalışmalarda; potent bir vazokonstriktör olan ET-1 seviyesi yüksek bulunmuştur (150,151). Aynı araştırmacı tarafından SSk'da ET-1'in fibroblastları uyararak fibrozise neden olduğu ifade edilmiştir (151). SSk'lı hastalarda bakılan ET-1 seviyesi diffüz tipte limitli tipe göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (152,153). Başka bir çalışmada ise; ET-1 seviyesi SSk hastalarında yüksek bulunmuş ve ET-1 düzeyi ile deri fibrozisi ve hastalık süresi arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Aynı hastalarda iç organ tutulumu olanlarda ET-1 düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir (153).

ET-1 reseptör antagonisti olan bosentan, antifibrotik özelliklerinden dolayı pulmoner fibrozis tedavisindeki etkinliği ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmalardan; çok merkezli yapılan bir çalışmada 158 adet pulmoner fibrozisli hasta randomize olarak plasebo ve bosentan grubu olarak ayrılmış ve 1 yıl boyunca takip edilmişlerdir. Primer sonlanım noktasında 6 dakika yürüme testi ile değerlendirilen hastalarda egzersiz kapasitesinde anlamlı farklılık saptanmamıştır (154,155). Ancak bosentanın ölüme kadar geçen süreyi uzattığına veya hastalığın progresyonunu geciktirdiğine yönelik bir eğilim oluşmuştur (154). Çok merkezli yapılan bir başka çalışma ise; bosentanın erken pulmoner fibrozisde etkinliğini araştırmak amacıyla devam etmektedir. En son yapılan farklı bir çalışmada ise; bosentanın SSk'ya ikincil gelişen akciğer fibrozisinde etkinliği gösterilememiştir (156). Çalışmamızda da akciğer fibrozisi oluşturulan grupta ET-1 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Palosuran ile tedavi grubunda ise hasta koluna göre ET-1 düzeyleri anlamlı olarak düşük saptandı. Ayrıca ET-1 ile U-II ve fibrozis skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı. Bu sonuçlar doğrultusunda; ET-1 ve U-II'nin fibrozis yapıcı mekanizmalarının RhoA kinaz yolu üzerinden vazkonstriksiyon, hipertrofi ve fibroblast aktivasyonu sonucunda oluşabileceği düşünülmüştür (Şekil 2).



Şekil 2. Rho-Kinaz yolunun çeşitli dokular üzerindeki etkileri. J. Cardiovasc Pharmacol, Vol 30, No:3, 2002 den sadeleştirme yapılarak hazırlanmıştır.

Ürotensin-II, ET-1'den çok daha kuvvetli olan vazokonstriktör bir hormondur. İlk kez balıkların spinal kordlarından izole edilmiştir ve somatostatin ile benzer peptik sekansına sahiptir. U-II vucutta pek çok dokuda farklı etkileri bulunan bir peptittir. Ancak temel olarak etkileri kardiyak, renal ve vasküler sistem üzerindedir (157).

Daha önceki yapılan çalışmalarda vazokonstriktör ajanlar olan ET-1 ve Angiyotensin-II'nin miyokard hasarı sonucunda ortaya çıkan kardiyak yeniden düzenlemede, hipertrofi ve fibrozis sürecinde önemli rolleri olduğu gösterilmiştir. Tzanids ve arkadaşları buradan yola çıkarak ET-1 ve Angiyotensin-II gibi vazokonstriktör bir ajan olan U-II'nin kardiyak remodeling, hipertrofi ve fibrozis üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada U-II'nin yenidoğan kardiyak fibroblastlarını stimüle ettiği ve belirgin derecede prokollajen 1-3, fibronektin gen transkripsiyonunu arttırdığı ve bu artışın kollajen sentezi (hidroksiprolin) ile korele olduğunu göstermişlerdir.

Aynı çalışmada oluşturulan deneysel hayvan kalp yetmezliği modelinde remodeling sürecinde U-II düzeyi ve U-II geni reseptör ekspresyon düzeylerinin %75 oranında arttığını bulmuşlardır (109). Hong Wang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise; insan umbilikal ven endotel hücrelerinde U-II artışı ile kollajen-1 gen transkripsiyonunun arttığı ve buna ters yönde matriks metalloproteinaz 1 (MMP-1) gen ekspresyonunun azaldığını göstermişlerdir. Bu olayda MAPKp42/44 inhibisyonu ile kollajen-1 gene transkripsiyonu azalması MMP-1 gen ekspresyonu artışı olması üzerine MAPKp42/44 hücre içi sinyal yolağının bu olayda etkili olabileceğini belirtmişlerdir (158). Yong-gang ZHANG ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, U-II'nin, kardiyak hipertrofi ve fibrozis yapıcı özellikleri ile bilinen isoproterenole kardiyak hipertrofi ve fibrozisde sinerjistik etki gösterdiğini bulmuşlardır. Ayrıca bu çalışmada isoproterenol ile fibrozis oluşturulan grupta miyokardiyal Angiotensin-II ve U-II artışı gözlenmiştir. Fibrozisin oluş mekenizması açıklanamamakla birlikte bu olayı kardiyomiyosit hipertrofisi ve IL-6 gibi sitokinlerin üzerinden stimüle ettiğini öne sürmüşlerdir (159). Ürotensinin karaciğer üzerine etkisini araştıran William Kemp ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, U-II infüzyonunun portal basıncı ve karaciğer fibrozisini arttırdığını göstermişlerdir. Ayrıca yüksek doz kronik U-II infüzyonu uygulanan grupta portal basınç artışı ve fibrozis artışı ile beraber TGF- β 1, PDGF-B, hidroksiprolin düzeylerinin de istatistiksel olarak anlamlı olarak arttığını saptamışlardır (160). Böbrek fibrozisi, diyabet ve U-II arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla Lin Tian ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise; diyabet oluşturulan ratlarda U-II düzeyinin kontrol grubuna göre arttığını tesbit etmişlerdir. Artan U-II düzeyleri ile korele olarak TGF- β 1 ekspresyonunun, böbrekte fibronektin ve kollajen birikiminin ve böbrek fonksiyon bozukluğunun arttığını göstermişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda otokrin ve/veya parakrin mekanizmalar ile U-II'nin TGF- β 1 üzerinden kalsiyum bağımlı olarak renal fibrozisi arttırabileceğini ileri sürmüşlerdir (161). Dai HY ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada U-II'nin fibrozis yapıcı mekanizması üzerinde TGF- β 1'in etkilerini araştırmışlardır. Tip-1, tip-3 kollajen mRNA ekspresyonuna ve hidroksiprolin düzeyini analiz etmişler ve çalışmanın sonucunda U-II'nin kardiyak fibroblastlarda TGF- β 1'in gen ekspresyon düzeyini zaman bağımlı olarak arttırdığını tespit etmişlerdir.

Çalışmanın devamında ise; U-II antagonisti olan urantide verilen grupta TGF- β 1 gen ekspresyonunun artışının olmadığı görülmesi üzerine fibrozis oluşum mekanizmasında U-II'nin kardiyak fibroblastlar üzerindeki profibrotik etkilerinin olduğu ve bu etkilerinin TGF- β 1 üzerinden düzenlenebileceğini ileri sürmüşlerdir (162).

Daha önce kliniğimizde Pehlivan'ın 55 SSk hastası ve 30 kişilik benzer yaş ve cinsiyetteki sağlıklı kontrol grubu ile yapmış olduğu uzmanlık tezinde yaygın fibrozis ile seyreden hastaların U-II ve ET-1 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada ET-1 ile U-II arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (6). Lavinia Tran ve arkadaşları (163) normal ratlarda kronik U-II infüzyonunun etkilerini araştırdıkları çalışmanın sonucunda; yapılan ekokardiografik kontrolde U-II infüzyonu uygulanan ratlarda diastolik disfonksiyon olduğu ve bunun da istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gösteren kollajen düzeyinin ve sol ventrikülde oluşan fibrozisten kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Yine bu çalışmada ROCK inhibitörü olan GSK-576371 uygulanan grupta U-II'nin kardiyak fibrozisi stimüle edici etkisinin baskılandığı görülmüştür. Bu sonuca göre; U-II'nin profibrotik etkilerinin ROCK yolağı üzerinden oluşabileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada da akciğer fibrozisi oluşturulan grupta U-II düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Ayrıca palosuran ile tedavi edilen grupta ise hasta koluna göre U-II düzeyleri anlamlı olarak düşük olduğu saptandı. Ayrıca U-II ile patolojik olarak fibrozis skorları ve ET-1 arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı. Ayrıca yine bu çalışmada fibrozis oluşturulan grupta TGF- β 1 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek, palosuran ile tedavi edilen grupta ise TGF- β 1 düzeyleri hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük saptanmasına rağmen, U-II ile TGF- β 1 arasında istatistiksel olarak pozitif bir korelasyon saptanmamıştır. Bu durum U-II ve TGF- β 1'in farklı yollar üzerinden (birinin Rho-Kinaz yolu üzerinden diğerinin ise SMAD yolu üzerinden) etki göstermesine bağlı olabileceği şeklinde düşünülmüştür.

Rho/Rho-Kinaz Yolağı, G proteini ile ilişkili reseptörleri aktive eden çeşitli agonistlere (Ang-II, 5-HT, Trombin, ET-1, PDGF, U-II gibi) yanıt olarak aktive olan bir hücre içi sinyal iletim yoludur. Rho, başlıca aktin hücre iskeletinin organizasyonunun düzenlenmesinde, hücre göçü, hücre adezyonu ve sitokinez gibi çok çeşitli hücreyel olayın kontrolünde rol oynar.

Rho ailesinin üyelerinin, aktinin yeniden şekillenmesinde ve farklı yönlerinin düzenlenmesindeki rolü, ilk olarak fibroblast büyüme faktörü uyarısına yanıt çalışmaları ile açığa çıkarılmıştır. Rho ile etkileşen ve aktive olan Rho-kinaz, düz kas kasılması, hücre büyümesi, adezyonu, migrasyonu, fibroblast aktivasyonu, motilitesi, gen ekspresyonu ve apoptozu de içeren farklı hücresel fonksiyonlara aracılık eder (164,165). Çalışmamızda da fibrozis ile U-II ve ET-1 arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu saptandı. U-II ve ET-1'in muhtemelen aynı yolak yani Rho-kinaz aktivasyonu üzerinden hücre büyümesi ve fibroblast aktivasyonu ile beraber fibrozis oluşturabileceği düşünülmüştür.

Yapılan bu çalışmalar ışığında; U-II nin kalp, böbrek ve karaciğerde profibrotik özelliğinin olabileceği ve U-II'nin fibrozis yapıcı bu özelliklerinin oluşumunda TGF- β 1 ve Rho-Kinaz yolağının önemli mediyatör ve yolaklar olduğu da görülmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda U-II ile akciğer fibrozisi arasındaki ilişki ile ilgili herhangi bir çalışma bulunamadı. U-II'nin RhoA Kinaz yolu üzerinden hipertrofi ve proliferasyon olayları sonucunda fibroblast aktivasyonu ile birlikte fibroziste hedef bir mediyatör olabileceği düşünülmüştür. Farklı sonuçlar olmakla birlikte ET-1 reseptör antagonisti olan bosentanin akciğer fibrozisi üzerindeki etkinliğinin araştırılması klinik araştırmalar düzeyinde devam etmektedir. Çalışmamız; klinik araştırma düzeyinde devam eden akciğer fibrozisinde kullanılan bosentana destek olmakla birlikte, U-II' nin akciğerde profibrotik bir mediyatör olduğunu ve U-II antagonisti olan palosuranın akciğerde antifibrotik bir ajan olarak kullanılabileceğini gösteren ilk çalışma olması nedeniyle önem kazanmaktadır. SSk'da günümüzde en sık mortalite sebebi pulmoner sebeplere bağlı oluşmaktadır. Patogenezde ortaya çıkarılan yeni medyatörler, mortalitesi ve morbiditesi yüksek olan ve henüz kesin tedavisi mümkün olmayan bu hastalıkta tedavide yeni birer umut olacaktır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Sıçanlara intratrakeal bleomisin uygulanması sonucunda ondördüncü günde sıçanlarda patolojik olarak akciğer fibrozisi oluşturulmuştur.
2. Akciğer fibrozisi oluşturulan sıçanların serum UT-II ($p=0.002$), ET-1 ($p<0.001$) ve TGF- β 1 ($p=0.016$) düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Böylece UT-II'ninde, ET-1 ve TGF- β 1 gibi fibrozis ile giden hastalıklarda yükselebileceği anlaşılmıştır.
3. Oluşturulan akciğer fibrozisi sıçan modelinde, serum UT-II düzeyleri ile, patolojik olarak fibrozis skorları ($p=0.001$, $r=0.562$) ve ET-1 ($p=0.001$, $r=0.607$) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı.
4. Oluşturulan akciğer fibrozisi sıçan modeline, UT-II antagonisti olan palosuran uygulanması sonucunda, patolojik olarak fibrozis skorlarında gerileme ($p=0.003$), biyokimyasal olarak fibrotik süreç göstergeleri olan ET-1 ($p<0.001$) ve TGF- β 1 ($p=0.013$) serum düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptandı.
5. UT-II'nin SSk akciğer fibrozisinde önemli bir mediyatör olabileceği anlaşılmıştır.
6. Günümüzde kesin tedavisi henüz mümkün olmayan SSk akciğer fibrozisinde UT-II antagonisti olan palosuran yeni bir tedavi ajanı olabilir. Bunun için daha ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Black CM. The aetiopathogenesis of systemic sclerosis: Thick skin-thin hypotheses. The Parkes Weber Lecture. JR Coll Physicians. 1995; 29:119-30.
2. White B. Immunopathogenesis of systemic sclerosis. Rheum Dis Clin North Am. 1996;22(4):695-708.
3. Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Orphan-receptor ligand human urotensin II: Receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. Br J Pharmacol. 2000;131:441-446.
4. Zhu YC, Zhu YZ, Moore PK. The role of urotensin II in cardiovascular and renal physiology and diseases. Br J Pharmacol. 2006;148:884-901.
5. Zhang YM, Liu WJ, Shi YZ, Gao YF, Wang LL, Chen MX. Expressions of urotensin II and its receptor in pulmonary arteries in rats with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi. 2008;31:37-41.
6. Pehlivan Y. Sistemik sklerozlu hastaların klinik özellikleri ile endotelin-1 ve ürotensin-II düzeyleri arasındaki ilişki. Uzmanlık Tezi, Gaziantep Üniv. Tıp Fak. İç Hastalıkları AD, Gaziantep 2008 (yayınlanmamış).
7. Nicolas B, Julia P, Wisam R, Eliot H. Urotensin-II receptor blockade with SB-611812 attenuates cardiac remodeling in experimental ischemic heart disease. Peptides. 2006;27:2919–26.
8. Sleijfer S. Bleomycin-induced pneumonitis. Chest. 2001;120:617–24.

9. Charabaty S, Steen V. Pulmonary Complications Are the Leading Causes of Scleroderma-Related Death. *Managing Lung Involvement Systemic Sclerosis. J Musculoskel Med.* 2006;23:575-581.
10. White B, Moore WC, Wigley FM, Xiao HQ, Wise RA. Cyclophosphamide is associated with pulmonary function and survival benefit in patients with scleroderma and alveolitis. *Ann Intern Med.* 2000;132(12):947-54.
11. Gilliland BC, Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL. Systemic sclerosis (scleroderma) In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 15th ed. USA: McGraw-Hill Comp. Inc, 2001:1937–1945.
12. Atikcan G, Atalay F, Ernam D. Konnektif Doku Hastalıkları. Erdoğan Y, Samurkaşoğlu B, editörler. *Diffüz Parankimal Akciğer hastalıkları.* Ankara: Mesut Matbaacılık Sanayi Ticaret Limited Şirketi, 2004:195–224.
13. Oksel F, Doğanavşargil E, Gümüşiş G, editörler. *Klinik Romatoloji El Kitabı.* İzmir: İzmir Güven Kitapevi, 2003:281-299.
14. Van Laar JM, Stolk J, Tyndall A. Scleroderma Lung Pathogenesis, Evaluation and Current Therapy. *Drugs.* 2007;67(7):985-996.
15. Mayes MD, Lacey JV Jr, Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B. Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum.* 2003;48:2246-55.
16. Maricq HR, Weinrich MC, Keil JE, Smith EA, Harper FE, Nussbaum AI, et al. Prevalence of scleroderma spectrum disorders in the general population of South Carolina. *Arthritis Rheum.* 1989;32:998–1006.
17. Keng Chen, Adrian S, Stephen S. Epidemiology and pathogenesis of scleroderma. *Aust J Dermatol.* 2003;44:1-9.
18. Reveille JD, Fischbach M, McNearney T, Friedman AW, Aguilar MB, Lisse J, et al. GENISOS Study Group. Systemic sclerosis in 3 US ethnic groups: a comparison of clinical, sociodemographic, serologic, and immunogenetic determinants. *Semin Arthritis Rheum.* 2001;30:332-46.

19. Tan FK, Arnett FC, Reveille JD, Ahn C, Antohi S, Sasaki T, et al. Autoantibodies to fibrillin 1 in systemic sclerosis: ethnic differences in antigen recognition and lack of correlation with specific clinical features or HLA alleles. *Arthritis Rheum.* 2000;43:2464-71.
20. De Keyser F, Peene I, Joos R, Naeyaert JM, Messiaen L. Occurrence of scleroderma in monozygotic twins. *J Rheumatol.* 2000;27:2267-9.
21. Roberts-Thomson PJ, Jones M, Hakendorf P, Kencana Dharmapatni AA, Walker JG, MacFarlane JG, et al. Scleroderma in South Australia: epidemiological observations of possible pathogenic significance. *Intern Med J.* 2001;31:220-9.
22. 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;44:1359-62.
23. Hausteil UF, Anderegg U. Silica induced scleroderma: Clinical and experimental aspects. *J. Rheumatol.* 1998;25:1917–26.
24. Englert H, Small-McMahon J, Davis K, O'Connor H. Male systemic sclerosis and occupational silica exposure-a population-based study. *Aust NZ J Med.* 2000;30:215-22.
25. Hamamdžić D, Harley RA, Hazen-Martin D, LeRoy EC. MCMV induces neointima in IFN-gammaR^{-/-} mice: intimal cell apoptosis and persistent proliferation of myofibroblasts. *BMC Musculoskelet Disord.* 2001;2:3-11.
26. Arnett FC, Howard RF, Tan F, Moulds JM, Bias WB, Durban E, et al. Increased prevalence of systemic sclerosis in a native American tribe in Oklahoma. Association with an Amerindian HLA haplotype. *Arthritis Rheum.* 1996;39:1362-1370.
27. Silman, A, Hochberg, M. *Epidemiology of the Rheumatic Diseases.* Oxford Univ Press, 1993:192-99.

28. Laing TJ, Gillespie BW, Toth MB, Toth MB, Mayes MD, Gallavan RH Jr, et al. Racial differences in scleroderma among women in Michigan. *Arthritis Rheum.* 1997;40:734-742.
29. Gourh P, Tan FK, Assassi S, Ahn S, McNearney TA, Fischbach M, et al. Association of the PTPN22 R620W polymorphism with anti-topoisomerase-I and anticentromere antibody-positive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2006;54:3945-53.
30. 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.
31. Chen Y, Shi-Wen X, van Beek J, Kennedy L, McLeod M, Renzoni EA, et al. Matrix contraction by dermal fibroblasts requires transforming growth factor-beta/activin-linked kinase 5, heparan sulfate-containing proteoglycans, and MEK/ERK: Insights into pathological scarring in chronic fibrotic disease. *Am J Pathol.* 2005;167:1699-1711.
32. Bramwell B. Diffuse scleroderma: Its frequency; its occurrence in stonemasons; its treatment by fibrolysin-elevations of temperature due to fibrolysin injections. *Edinburgh Med J.* 1914;12:387.
33. Rodnan GP, Benedek TG, Medsger TA Jr, Cammarata RJ. The association of progressive systemic sclerosis (scleroderma) with coal miners' pneumoconiosis and other forms of silicosis. *Ann Intern Med.* 1967;66:323-334.
34. Silman AJ, Jones S. What is the contribution of occupational environmental factors to the occurrence of scleroderma in men? *Ann Rheum Dis.* 1992;51:1322-1324.
35. Tabuenca JM. Toxic-allergic syndrome caused by ingestion of rapeseed oil denatured with aniline. *Lancet.* 1981;2:567-568.

36. Varga J, Heiman-Patterson TD, Emery DL, Griffin R, Lally EV, Uitto JJ, et al. Clinical spectrum of the systemic manifestations of the eosinophilia-myalgia syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 1990;19:313-328.
37. Finch WR, Rodnan GP, Buckingham RB, Prince RK, Winkelstein A. Bleomycin-induced scleroderma. *J Rheumatol.* 1980;7:651-659.
38. De Angelis R, Bugatti L, Cerioni A, Del Medico P, Filosa G. Diffuse scleroderma occurring after the use of paclitaxel for ovarian cancer. *Clin Rheumatol.* 2003;22:49-52.
39. Artlett CM, Cox LA, Jimenez SA. Detection of cellular microchimerism of male or female origin in systemic sclerosis patients by polymerase chain reaction analysis of HLA-Cw antigens. *Arthritis Rheum.* 2000;43:1062-1067.
40. Sollberg S, Mauch C, Eches B, Krieg T. The fibroblast in systemic sclerosis. *Clin Dermatol.* 1994;12:379.
41. Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995;333(6):356-63.
42. Yamane K, Miyauchi T, Suzuki N, Yuhara T, Akama T. Significance of plasma endothelin-1 levels in patients with SSc. *J Rheumatol.* 1992;19:1566-71.
43. Vancheeswaran R, Magoulas T, Efrat G, Wheeler-Jones C. Circulating endothelin-1 levels in systemic sclerosis (SSc) subsets-A marker of fibrosis or vascular dysfunction? *J Rheumatol.* 1994;21:1838-44.
44. Sollberg S, Mauch C, Eches B, Krieg T. The fibroblast in systemic sclerosis. *Clin Dermatol.* 1994;12:379-86.
45. Kuwana M, Okazaki Y, Yasuoka H, Kawakami Y, Ikeda Y. Defective vasculogenesis in systemic sclerosis. *Lancet.* 2004;364:603-16.
46. Worda M, Sgonc R, Dietrich H, Niederegger H, Sundick RS, Gershwin ME, Wick G. In vivo analysis of the apoptosis-inducing effect of anti-endothelial cell antibodies in systemic sclerosis by the chorionallantoic membrane assay. *Arthritis Rheum.* 2003;48:2605-09.

47. Sprott H, Muller-Ladner U, Distler O, Gay RE, Barnum SR, Landhaler M, Scholmerich J, Lang B, Gay S. Detection of activated complement complex C5b-9 and complement receptor C5a in skin biopsies of patients with systemic sclerosis (scleroderma). *J Rheumatol.* 2000;27:402-14.
48. Sollberg S, Peltonen J, Uitto J, Jimenez SA. Elevated expression of beta 1 and beta 2 integrins, intercellular adhesion molecule 1, and endothelial leukocyte adhesion molecule 1 in the skin of patients with systemic sclerosis of recent onset. *Arthritis Rheum.* 1992;35:290-8.
49. Tan FK, Zhou X, Mayes MD, Gourth P, Guo X, Marcum C, et al. Signatures of differentially regulated interferon gene expression and vasculotrophism in the peripheral blood cells of systemic sclerosis patients. *Rheumatology.* 2006;45:694-702.
50. Rudnicka L, Majewski S, Blaszyk M, Skiendzielewska A, Makiela B. Adhesion of peripheral blood mononuclear cells to vascular endothelium in patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum.* 1992;35:771-5.
51. [Besliu AN](#), [Banica LM](#), [Lonescu R](#), [Predeteanu D](#), [Stavaru C](#), [Marica CM](#) et al. Role of cellular immunity in systemic sclerosis pathogenesis: update on CD4+T cells population studies. [Roum Arch Microbiol Immunol.](#) 2009;68(1):5-13.
52. Prescott RJ, Freemont AJ, Jones CJ, Hoyland J, Fielding P. Sequential dermal microvascular and perivascular changes in the development of scleroderma. *J Pathol.* 1992;166(3):255-63.
53. Reveille JD, Solomon DH. American College of Rheumatology ad hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines: Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: anticentromere, Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum.* 2003;49:399-412.
54. Tan FK, Arnett FC, Antohi S. Autoantibodies to the extracellular matrix microfibrillar protein, fibrillin-1, in patients with scleroderma and other connective tissue diseases. *J Immunol.* 1999;163:1066-72.

55. Bunn CC, Black CM. Systemic sclerosis: an autoantibody mosaic. *Clin Exp Immunol.* 1999;117:207-8.
56. Hu PQ, Fertig N, Medsger TA Jr, Wright TM. Correlation of serum anti-DNA topoisomerase I antibody levels with disease severity and activity in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2003;48:1363-73.
57. Casciola-Rosen L, Wigley F, Rosen, A. Scleroderma autoantigens are uniquely fragmented by metal-catalyzed oxidation reactions: Implications for pathogenesis. *J Exp Med.* 1997;185:71-9.
58. Lunardi C, Bason C, Navone R, Millo E, Damonte G. Systemic sclerosis immunoglobulin G autoantibodies bind the human cytomegalovirus late protein UL94 and induce apoptosis in human endothelial cells. *Nat Med.* 2000;6:1183-6.
59. Chizzolini C, Raschi E, Rezzonico R. Autoantibodies to fibroblasts induce a proadhesive and proinflammatory fibroblast phenotype in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2002;46:1602-13.
60. Masi AT, Rodnan GP, Medsger TA Jr, Altman R. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum.* 1980;23:581-590.
61. Velayos EE, Masi AT, Stevens MB, Shulman LE. The 'CREST' syndrome. Comparison with systemic sclerosis (scleroderma). *Arch Intern Med.* 1979;139:1240-1244.
62. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol.* 1988;15:202-205.
63. Medsger TA Jr. Systemic sclerosis (scleroderma): clinical aspects. In: Koopman WJ, Mc Carty DJ (eds). *Arthritis and Allied Conditions* (1^{3th} ed). William and Wilkins, 1993:1433-1464.
64. Van Laar JM, Stolk J, Tyndall A. Scleroderma Lung Pathogenesis, Evaluation and Current Therapy. *Drugs.* 2007;67(7):985–996.

65. Bois RM. Mechanisms of Scleroderma-induced Lung Disease. *Proc Am Thorac Soc.* 2007;4:434-438.
66. Steen VD. Scleroderma renal crisis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2003;29:315–33.
67. Humbert M, Sitbon O, Chaouat A. Pulmonary arterial hypertension in France: results from a national registry. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173:1023–30.
68. Mukerjee D, St George D, Coleiro B. Prevalence and outcome in systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension: application of a registry approach. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:1088-93.
69. Davidson A, Russell C, Littlejohn GO. Assessment of esophageal abnormalities in progressive systemic sclerosis using radionuclide transit. *J Rheumatol.* 1985;12:472-477.
70. Yarze JC, Varga J, Stampfl D, Castell DO, Jimenez SA. Esophageal function in systemic sclerosis: a prospective evaluation of motility and acid reflux in 36 patients. *Am J Gastroenterol.* 1993;88:870-876.
71. Whitehead ME, Taitelbaum G, Wigley FM, Schuster MM. Rectosigmoid motility and myoelectric activity in progressive systemic sclerosis. *Gastroenterology.* 1989;96:428-432.
72. Allanore Y, Meune C, Kahan A. Systemic sclerosis and cardiac dysfunction: evolving concepts and diagnostic methodologies. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20:697–702.
73. Weiner SR. Organ involvement: sexual function and pregnancy. In: Clements P, Furst DE. *Systemic sclerosis.* Maryland, Williams&Wilkins, 1996:483–499.
74. Seibold Jr. Connective tissue diseases characterized by fibrosis. In: Kelley WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB (eds). *Textbook of Rheumatology* (5th ed). Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1997:1133–1162.

75. Rodnan GP, Myerowitz RL, Justh GO. Morphologic changes in the digital arteries of patients with progressive systemic sclerosis (scleroderma) and Raynaud phenomenon. *Medicine (Baltimore)*. 1980;59:393-408.
76. Brandt KD, Krey PR. Chalky joint effusion: the results of massive synovial deposition of calcium apatite in progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 1977;20:792-796.
77. Medsger TA Jr. Progressive systemic sclerosis: skeletal muscle involvement. *Clin Rheum Dis*. 1979;5:103-113.
78. Clements PJ, Furst DE, Campion DS, Bohan A, Haris R, Levy J, et al. Muscle disease in progressive systemic sclerosis: diagnostic and therapeutic considerations. *Arthritis Rheum*. 1978;21:62-71.
79. Fox RI, Saito I. Criteria for diagnosis of Sjögren's syndrome. *Rheum Dis Clin North Am*. 1994;20:391-407.
80. Silman AJ. Scleroderma and survival. *Ann Rheum Dis*. 1991;50:267-269.
81. Davas EM, Peppas C, Maragou M, Alvanou E, Hondros D, Dantis PC. Intravenous cyclophosphamide pulse therapy for the treatment of lung disease associated with scleroderma. *Clin Rheumatol*. 1999;18:455-461.
82. Griffiths B, Miles S, Moss H, Robertson R, Veale D, Emery P. Systemic sclerosis and interstitial lung disease: A pilot study using pulse intravenous methylprednisolone and cyclophosphamide to assess the effect on high resolution computed. *J Rheumatol*. 2002;29:2371-8.
83. Rosas V, Conte JV, Yang SC, Gaine SP, Borja M. Lung transplantation and systemic sclerosis. *Ann Transplant*. 2002;5:38-43.
84. Pope JE, Bellamy N, Seibold JR, Baron M, Ellman M, Carette S. A randomized, controlled trial of methotrexate versus placebo in early diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum*. 2001;44:1351-58.

85. Morton SJ, Powell RJ. Cyclosporin and tacrolimus: Their use in a routine clinical setting for scleroderma. *Rheumatology*. 2000;39:865–869.
86. Clements PJ, Furst DE, Wong WK, Mayes M, White B, Wigley F. 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.
87. Levy Y, Amital H, Langevitz P, Nacci F, Righi A, Conforti L. Intravenous immunoglobulin modulates cutaneous involvement and reduces skin fibrosis in systemic sclerosis: An open-label study. *Arthritis Rheum*. 2004;50:1005–1007.
88. Thompson AE, Shea B, Welch V, Fenlon D, Pope JE. Calcium-channel blockers for Raynaud's phenomenon in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2001;44:1841–1847.
89. Dziadzio M, Denton CP, Smith R, Howell K, Blann A, Bowers E. Losartan therapy for Raynaud's phenomenon and scleroderma: Clinical and biochemical findings in a fifteen-week, randomized, parallel-group, controlled trial. *Arthritis Rheum*. 1999;42:2646–2655.
90. Pope J, Fenlon D, Thompson A, Shea B, Furst D, Wells G. Prazosin for Raynaud's phenomenon in progressive systemic sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;CD000956.
91. Sambo P, Amico D, Giacomelli R, Matucci-Cerinic M, Salsano F, Valentini G. Intravenous N-acetylcysteine for treatment of Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis: A pilot study. *J Rheumatol*. 2001;28:2257–2262.
92. Badesch DB, Tapson VF, McGoon MD, Brundage BH, Rubin LJ, Wigley FM, et al. Continuous intravenous epoprostenol for pulmonary hypertension due to the scleroderma spectrum of disease. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 2000;21:425–434.

93. Olschewski H, Ghofrani HA, Schmehl T, Winkler J, Wilkens H, Hoper MM. Inhaled Iloprost to treat severe pulmonary hypertension. An uncontrolled trial. German PPH Study Group. *Ann Intern Med.* 2000;132:435–443.
94. Oudiz RJ, Schilz RJ, Barst RJ, Galie N, Rich S, Rubin LJ. Treprostinil, a prostacyclin analogue, in pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease. *Chest.* 2004;126:420–427.
95. Badesch DB, McLaughlin VV, Delcroix M, Vizza CD, Olschewski H, Sitbon O. Prostanoid therapy for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43:56–61.
96. Matsukawa Y, Saito O, Aoki M, Abe M, Nishinarita S, Sawada S. Long-term administration of beraprost, an oral prostacyclin analogue, improves pulmonary diffusion capacity in patients with systemic sclerosis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2002;67:45–49.
97. Channick RN, Simonneau G, Sitbon O, Robbins IM, Frost A, Tapson VF. Effects of the dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: A randomised placebo-controlled study. *Lancet.* 2001;358:1119–1123.
98. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galie N, Black CM, Keogh A. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med.* 2002;346:1258-65.
99. McLaughlin VV, Sitbon O, Badesch DB, Barst RJ, Black C, Galie N. Survival with first-line bosentan in patients with primary pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2005;25:244–249.
100. Lee AJ, Chiao TB, Tsang MP. Sildenafil for pulmonary hypertension. *Ann Pharmacother.* 2005;39:869–884.
101. Perlemuter G, Cacoub P, Chaussade S, Wechsler B, Couturier D, Piette JC. Octreotide treatment of chronic intestinal pseudoobstruction secondary to connective tissue diseases. *Arthritis Rheum.* 1999;42:1545–1549.

102. Steen VD, Medsger TA. Long-term outcomes of scleroderma renal crisis. *Ann Intern Med.* 2000;133:600–603.
103. Stratton RJ, Wilson H, Black CM. Pilot study of antithymocyte globulin plus mycophenolate mofetil in recent-onset diffuse scleroderma. *Rheumatology.* 2001;40:84–88.
104. Farge D, Passweg J, Van Laar JM, Marjanovic Z, Besenthal C, Finke J. EBMT/EULAR Registry. Autologous stem cell transplantation in the treatment of systemic sclerosis: Report from the EBMT/EULAR Registry. *Ann Rheum Dis.* 2004;63:974–981.
105. Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Orphan-receptor ligand human urotensin II: Receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. *Br J Pharmacol.* 2000;131:441–446.
106. Ong KL, Lam KS, Cheung BM. Urotensin II: its function in health and its function in disease. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2005;19:65–75.
107. Lim M, Honisett S, Sparkes CD, Komesaroff P, Kompa A, Krum H. Differential effect of urotensin II on vascular tone in normal subjects and patients with chronic heart failure. *Circulation.* 2004;109:1212–14.
108. Bousette N, Patel L, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A. Increased expression of urotensin II and its cognate receptor GPR14 in atherosclerotic lesions of the human aorta. *Atherosclerosis.* 2004;176:117–123.
109. Tzanidis A, Hannan RD, Thomas WG, Onan D, Autelitano DJ, See F, et al. Direct actions of urotensin II on the heart: Implications for cardiac fibrosis and hypertrophy. *Circ Res.* 2003;93:246–253.
110. Russell FD, Molenaar P. Investigation of signaling pathways that mediate the inotropic effect of urotensin-II in human heart. *Cardiovasc Res.* 2004;63:673–681.

111. Matsushita M, Shichiri M, Imai T, Iwashina M, Tanaka H, Takasu N. Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. *J Hypertens*. 2001;19:2185–2190.
112. Russell FD, Meyers D, Galbraith AJ, Bett N, Toth I, Kearns P. Elevated plasma levels of human urotensin-II immunoreactivity in congestive heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:1576-1581.
113. Shenouda A, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A. Localization of urotensin-II immunoreactivity in normal human kidneys and renal carcinoma. *J Histochem Cytochem*. 2002;50:885–889.
114. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Satoh F, Ito S, et al. Role of urotensin II in patients on dialysis. *Lancet*. 2001;358:810–811.
115. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Murakami O, Ito S, et al. Elevated plasma levels of immunoreactive urotensin II and its increased urinary excretion in patients with Type 2 diabetes mellitus: Association with progress of diabetic nephropathy. *Peptides*. 2004;25:1809–1814.
116. Langham RG, Kelly DJ, Gow RM, Zhang Y, Dowling JK, Thomson NM, et al. Increased expression of urotensin II and urotensin II receptor in human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2004;44:826–831.
117. MacLean MR, Alexander D, Stirrat A, Gallagher M, Douglas SA, Ohlstein EH, et al. Contractile responses to human urotensin-II in rat and human pulmonary arteries: Effect of endothelial factors and chronic hypoxia in the rat. *Br J Pharmacol*. 2000;130:201–204.
118. Budhiraja R, Tuder RM, Hassoun PM. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Circulation*. 2004;109:159–165.
119. Qi J, Du J, Tang X, Li J, Wei B, Tang C. The upregulation of endothelial nitric oxide synthase and urotensin-II is associated with pulmonary hypertension and vascular diseases in rats produced by aortocaval shunting. *Heart Vessels*. 2004;19:81–88.

120. Silvestre RA, Rodriguez-Gallardo J, Egido EM, Marco J. Inhibition of insulin release by urotensin-II a study on the perfused rat pancreas. *Horm Metab Res.* 2001;33:379–381.
121. Wenyi Z, Suzuki S, Hirai M, Hinokio Y, Tanizawa Y, Matsutani A, et al. Role of urotensin II gene in genetic susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetologia.* 2003;46:972–976.
122. Gartlon J, Parker F, Harrison DC, Douglas SA, Ashmeade TE, Riley GJ, et al. Central effects of urotensin-II following ICV administration in rats. *Psychopharmacology.* 2001;155:426–433.
123. Ommaty R. *Vademecum modern ilaç rehberi.* 24. Baskı, 2002.
124. Sausville EA, Stein RW, Peisach J, Horwitz SB. Properties and products of the degradation of DNA by bleomycin and iron(II). *Biochemistry.* 1978;17:2746-2754.
125. Zitnik RJ. Drug-induced lung disease: cancer chemotherapy agents. *J Respir Dis.* 1995;16:855-865.
126. Hagiwara S, Ishii Y, Kitamura S. Aerosolized administration of N-acetylcysteine attenuates lung fibrosis induced by bleomycin in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:225–31.
127. Yara S, Kawakami K, Kudeken N. FTS reduces bleomycin-induced cytokine and chemokine production and inhibits pulmonary fibrosis in mice. *Clin Exp Immunol.* 2001;124:77–85.
128. Tanoue LT. Pulmonary Toxicity Associated with Chemotherapeutic Agents. In: Fishman AP (editor), *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders.* Third edition. New York: McGraw-Hill. 1998;1003–1016.
129. Massague J. TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem.* 1998;67:753–91.
130. Fynan TM, Reiss M. Resistance to inhibition of cell growth by transforming growth factor-beta and its role in oncogenesis. *Crit Rev Oncog.* 1993;4:493–540.

- 131.Border WA, Ruoslahti E. Transforming growth factor-beta in disease: the dark side of tissue repair. *J Clin Invest.* 1992;90:1-7.
- 132.Clozel M, Binkert C, Birker-Robaczewska M. Pharmacology of the urotensin-II receptor antagonist palosuran (ACT-058362; 1-[2-(4-benzyl-4-hydroxypiperidin-1-yl)-ethyl]-3-(2-methyl-quinolin-4-yl)-urea sulfate salt): first demonstration of a pathophysiological role of the urotensin system. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;311(1):204-212.
- 133.Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. *J Clin Pathol.* 1988;41:467-70.
- 134.Varga J. Systemic Sclerosis An Update Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases. 2008;66(3):198-202.
- 135.Abraham DJ, Varga J. Scleroderma: from cell and molecular mechanisms to disease models. *Trends Immunol.* 2005;26(11):587-595.
- 136.Markiewicz M, Smith EA, Rubinchik S, Dong JY, Trojanowska M, LeRoy EC. The 72-kDa IE-1 protein of human cytomegalovirus (HCMV) is a potent inducer of connective tissue growth factor (CTGF) in human dermal fibroblasts. *Clin Exp Rheumatol.* 2004;22(33):31-34.
- 137.Wang Y, Fan PS, Kahaleh B. Association between enhanced type I collagen expression and epigenetic repression of the FLI1 gene in scleroderma fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2006;54(7):2271-2279.
- 138.Hasegawa M, Fujimoto M, Takehara K, Sato S. Pathogenesis of systemic sclerosis: altered B cell function is the key linking systemic autoimmunity and tissue fibrosis. *J Dermatol Sci.* 2005;39(1):1-7.
- 139.Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1-T(H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol.* 2004;4(8):583-594.
- 140.Aliprantis AO, Wang J, Fathman JW, Lemaire R, Dorfman DM, Lafyatis R, et al. Transcription factor T-bet regulates skin sclerosis through its function in innate immunity and via IL-13. *Proc Natl Acad Sci.* 2007;104(8):2827-30.

141. Schwarz MI. Approach to the understanding, diagnosis and management of interstitial lung disease. In: Schwarz MI, King TE. *Interstitial Lung Disease*. 3rd edition. London; BC. Decker Inc. Hamilton, 1998:3–30.
142. Lin CJ, Yang PC, Hsu MT, Yew FH, Liu TY, Shun CT. Induction of pulmonary fibrosis in organ-cultured rat lung by cadmium chloride and transforming growth factor. *Toxicology*. 1998;15(127):157–166.
143. Ihn H, Yamane K, Kubo M, Tamaki K. Blockade of endogenous transforming growth factor beta signaling prevents up-regulated collagen synthesis in scleroderma fibroblasts: association with increased expression of transforming growth factor beta receptors. *Arthritis Rheum*. 2001;44:474-85.
144. Kubo M, Ihn H, Yamane K, Tamaki K. Up-regulated expression of transforming growth factor beta receptors in dermal fibroblasts in skin sections from patients with localized scleroderma. *Arthritis Rheum*. 2001;44:731-39.
145. Daniels CE, Wilkes MC, Edens M. Imatinib mesylate inhibits the profibrogenic activity of TGF-beta and prevents bleomycin-mediated lung fibrosis. *J Clin Invest*. 2004;114(9):1308-16.
146. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci*. 1989;86:2863-2867.
147. Rubanyi GM, Polokoff MA. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol Rev*. 1994;46:325-415.
148. Shi-Wen X, Rodríguez-Pascual F, Lamas S, Holmes A, Howat S, Pearson JD, et al. Constitutive ALK5-independent c-Jun N-terminal kinase activation contributes to endothelin-1 overexpression in pulmonary fibrosis: evidence of an autocrine endothelin loop operating through the endothelin A and B receptors. *Mol Cell Biol*. 2006;26:5518-5527.

- 149.Ortega Mateo A, De Artinano AA. Highlights on endothelins: a review. *Pharmacol Res.* 1997;36:339-351.
- 150.Yamane K, Kashiwagi H, Suzuki N, Miyauchi T, Yanagisawa M, Goto K, et al. Elevated plasma levels of endothelin-1 in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1991;34:243-244.
- 151.Kahaleh MB. Endothelin, an endothelial-dependent vasoconstrictor in scleroderma. Enhanced production and profibrotic action. *Arthritis Rheum.*1991;34:978-983.
- 152.Peterlana D, Puccetti A, Caramaschi P, Biasi D, Beri R, Simeoni S. Endothelin-1 serum levels correlate with MCP-1 but not with homocysteine plasma concentration in patients with systemic sclerosis. *Scand J Rheumatol.* 2006;35:133-137.
- 153.Kuryliszyn-Moskal A, Klimiuk PA, Sierakowski S. Soluble adhesion molecules (SVCAM-1, sE-selectin), vascular endothelial growth factor (VEGF) and endothelin-1 in patients with systemic sclerosis: relationship to organ systemic involvement. *Clin Rheumatol.* 2005;24:111-116.
- 154.King, TE, Behr, J. BUILD-I: a randomized placebo-controlled trial of bosentan in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177:75-79.
- 155.Raghu, G, King, TE Jr, Behr, J. Quality of life and dyspnoea in patients treated with bosentan for idiopathic pulmonary fibrosis (BUILD-1). *Eur Respir J.* 2010;35:118-24.
- 156.Seibold JR, Denton CP, Furst DE, Guillevin L, Rubin LJ, Wells A, et al. Randomized, prospective, placebo-controlled trial of bosentan in interstitial lung disease secondary to systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2010;62(7):2101-8.
- 157.Sauzeau V, Le Mellionnec E, Bertoglio J, Scalbert E, Pacaud P, Loirand G. Human urotensin-II induced contraction and arterial smooth muscle cell proliferation are mediated by RhoA and Rho-kinase. *Circ Res.* 2001;88:1102-1104.

158. Hong W, Jawahar L, Mehta KC. Human Urotensin II Modulates Collagen Synthesis and the Expression of MMP-1 in Human Endothelial Cells. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;44:577–581.
159. Yong-gang ZHANG, Yu-guang LI, Bao-guo LIU. Urotensin II accelerates cardiac fibrosis and hypertrophy of rats induced by isoproterenol. *Acta Pharmacol Sin*. 2007;28(1):36–43.
160. William K, Andrew K, Arintaya P. Urotensin II modulates hepatic fibrosis and portal hemodynamic alterations in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009;297(4):762-7.
161. Lin Tian, Cai Li, Jiping Qi. Diabetes-induced upregulation of urotensin II and its receptor plays an important role in TGF- β 1 mediated renal fibrosis and dysfunction. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295:1234–1242.
162. Dai HY, Kang WQ, Wang X. The involvement of transforming growth factor-beta1 secretion in urotensin II-induced collagen synthesis in neonatal cardiac fibroblasts. *Regul Pept*. 2007;140(1-2):88-93.
163. Lavinia T, Andrew RK, Will K. Chronic urotensin-II infusion induces diastolic dysfunction and enhances collagen production in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;298(2):608-13.
164. Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;290:661-8.
165. Somlyo AP, Somlyo AV. Signal transduction by G-proteins, rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. *J Physiol*. 2000;522(2):177-85.

8. EKLER

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
UNIVERSITY OF GAZİANTEP, ANIMAL EXPERIMENTS LOCAL ETHICS COMMITTEE
GAZİANTEP-TÜRKİYE

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL NO	2009/10					
	ARAŞTIRMA ADI	DENEYSEL OLUŞTURULAN SKLERODERMA-AKCIĞER FİBROZİSİ VE PULMONER HİPERTANSİYON MODELLERİNİN TEDAVİSİNDE ÜROTENSİN 2 ANTOGONİSTİNİN TEDAVİDEKİ YERİ					
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI/ADI/BİRİMİ	Doç.Dr.Ahmet Mesut ONAT G.Ü.Tıp Fak.,İç Hast.A.D.,Romatoloji B.D.					
	DİĞER ARAŞTIRICILARIN UNVANI/ADI/BİRİMİ	Doç.Dr.Osman PAŞPINAR G.Ü.Tıp Fak.,Çoc.Sağ.ve Hast.A.D. Yrd.Doç.Dr.Ediz TUTAR G.Ü.Tıp Fak.,Patoloji A.D. Dr.İbrahim H.TÜRKBEYLER G.Ü.Tıp Fak.İ. Hast.A.D. Dr.Tuncer DEMİR Cumhuriyet Üniv.Tıp.Fak., Fizyoloji A.D.					
	KOORDİNATÖR MERKEZ						
DESTEKLEYİCİ							
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarih					
	DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI	Var/ 2-18 Haziran, 2008					
	BAŞVURU TAAHHÜTNAMESİ	Var/ 08.09.2009					
ÇALIŞMA ESASI	İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARI KLAVUZU						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 09.2009- 10	Tarih: 14.09.2009					
	Üniversitemiz Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalın Romatoloji Bilim Dalında yapılması planlanan ve yukarıda adı geçen hayvan deneyleri araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgelerin araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak 14.09.2009 tarihli Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul toplantısında incelenmesi sonucunda, adı geçen araştırmanın yapılmasının uygunluğuna oy birliği ile karar verilmiştir.						
ETİK KURUL ÜYELERİ							
Unvanı /Adı/ Soyadı Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza	
Prof.Dr.Celalettin CAMCI Başkan	Tıbbi Onkoloji	Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Prof.Dr.Tuncay DEMİRYÜREK Başkan Yardımcısı	Farmakoloji	Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Prof .Dr.Şükran YAĞCI YÜCEL Üye	Biyoloji	Fen-Ed.Fak. Biyoloji Bölümü	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Prof .Dr.Ahmet ERBAĞCI Üye	Üroloji	Tıp Fakültesi Üroloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Yrd.Doç.Dr.Neşe KIZILKAN Üye/Eğitim Sorumlusu	Anatomi	Tıp Fakültesi Anatomi A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Yrd.Doç.Dr.Ayhan ERALP Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Yrd.Doç.Dr.Oral SÖKÜCÜ Üye/Raportör	Diş Hekimliği	Diş Hekimliği Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Avukat Murat GÜNERİ Üye	Avukat	Sivil Toplum Kuruluşu	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Katılmadı	
M.Celal ÖZSÖYLER Üye	Veteriner Hekim	Sivil Üye	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		

* Araştırma ile İlişki

** Toplantıda Bulunma