



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

**SİSTEMİK SKLEROZDA ENDOTELİN-1 DÜZEYİ ve ENDOTELİN
RESEPTÖR POLİMORFİZMİNİN HEMODİNAMİK ve KLİNİK
PARAMETRELERE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Adem KIDIK

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Hüseyin T. E. ÖZER

ADANA - 2009

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında desteğini esirgemeyen değerli hocam Romatoloji-İmmunoloji B. D. öğretim üyesi Doç. Dr. Hüseyin Turgut Elbek ÖZER'e,

Tıp sanatını bizlere özveri ile aktaran, her zaman verdikleri destekle hekimlik hayatımda özgüvenimi sağlayan başta Dahiliye A. D. başkanı Prof. Dr. Hikmet AKKIZ olmak üzere tüm Dahiliye A.D'nın değerli Öğretim Üyelerine,

Nefroloji B. D. öğretim üyesi Doç. Dr. Mustafa BALAL'a, Kardiyoloji A. D. öğretim üyesi Doç. Dr. Mehmet KANADAŞI'na, Biyoistatistik A. D. öğretim görevlisi Dr. Yaşar SERTDEMİR'e

Laboratuvar çalışmalarımnda bana her türlü desteği veren Biyolog Süleyman BAYRAM'a, Biyolog Suzan DİNKÇİ'ye, Gastroenteroloji Laboratuvarı Çalışanlarına, Romatoloji-İmmünoloji Çalışanlarına, Göğüs Hastalıkları Laboratuvarı Çalışanlarına,

Kardeşçe pek çok şeyi paylaştığım Asistan Arkadaşlarıma,

Üyesi olmakla her zaman gurur duyduğum Konya Maarif Koleji Mezunları Derneği'nin değerli üyelerine,

Tanıştığımız günden bu yana iyi ve kötü günümde her zaman yanımda olan sevgili eşim PELİN'e ve doğduğu günden itibaren hayatımın anlamı olan biricik oğlum BERKE'ye,

Hayatımın her aşamasında beni destekleyen, bana olan inançlarını kaybetmeyen ve her türlü fedakârlığı gösteren AİLEM'e

Dr. Adem KIDIK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
TABLO LİSTESİ.....	IV
ŞEKİL LİSTESİ.....	V
KISALTMALAR	VI
ÖZET	VII
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Sklerodermada Epidemiyoloji	2
2.2. Sistemik Skleroz Patofizyolojisi	3
2.2.1. Endotelinler.....	3
2.2.2. Nitrik Oksit	4
2.2.3. Süperoksit Anyonları	4
2.2.4. Hatalı Damar Yapımı.....	5
2.2.5. Damarsal Sitotoksik Faktörler	5
2.2.6. Adezyon Molekülleri	5
2.2.7. İmmunolojik Aktivite.....	6
2.2.8. Otoantikorlar	6
2.3. Skleroderma Sınıflandırma	7
2.3.1. Ayırt Edici Hastalıklar.....	8
2.3.1.1. Damar Değişikliği Yapan Hastalıklar	8
2.3.1.2. Cilt Değişikliği Yapan Hastalıklar	8
2.3.1.3. İç Organ Tutulumu Yapan Hastalıklar	9
2.3.2. Klinik Tanımlama	9
2.3.2.1. Yaygın Kutanöz Sistemik Skleroz (dcSSc)	9
2.3.2.2. Sınırlı Kutanöz Sistemik Skleroz (lcSSc).....	9
2.3.2.3. Sistemik Sklerozis Sine Skleroderma (ssSSc).....	9
2.3.3. Organ Tutulumu	9
2.3.3.1. Böbrek	9
2.3.3.2. Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon (PAH).....	9
2.3.3.3. İnterstisyel Akciğer Hastalığı	10
2.2.3.4. Kalp.....	10
2.2.3.5. Gastrointestinal Tutulum.....	10
2.4. Skleroderma Hastalarında Endotelin Aks Polimorfizmi	10
2.5. Skleroderma Tedavi.....	12
2.5.1. Tedavi Öncesi Değerlendirme	12
2.5.2. Cilt Tutulumu ve Erken Yaygın Hastalık	12
2.5.3. Raynaud Fenomeni.....	14
2.5.4. Pulmoner Hipertansiyon.....	15
2.5.5. Pulmoner Fibrozis	16
2.5.6. Gastrointestinal Tutulum	17
2.5.7. Renal Kriz	17
2.5.8. Yaygın Organ Tutulumu	18
2.5.9. Kök Hücre Nakli.....	18
3. ENDOTELİN VE KAN BASINCI	19
3.1. Endotelin Sistemi.....	19
3.2. Endotelin Reseptör Antagonistleri	20
3.3. Esansiyel Hipertansiyon	20
4. MATERYAL VE METOD.....	21
4.1. Hasta Seçimi	21
4.2. Ekokardiyografi	22
4.2.1. M-mod Ekokardiyografik İnceleme.....	22
4.2.2. İki Boyutlu Ekokardiyografik İnceleme	22
4.2.3. Doppler Ekokardiyografik İnceleme	23
4.2.4. Doku Doppler Ekokardiyografik İnceleme	23
4.3. 24 Saatlik Kan Basıncı Ölçümü	23

4.4. Plazma Endotelin -1 Düzeyi Ölçümü.....	24
4.4.1. Kit Komponentleri	24
4.4.2. Örnek Hazırlanması.....	24
4.4.3. Deneyin Yapılışı.....	25
4.5. Endotelin Reseptör Polimorfizmlerinin Belirlenmesi	26
4.5.1. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler	26
4.5.2. Çalışmada Kullanılan Stok Solüsyonların Hazırlanması	27
4.5.3. DNA İzolasyon Yöntemi	30
4.5.4. Endotelin Reseptör A ve Reseptör B Genlerinin PCR ile Çoğaltılması.....	30
4.5.4.1. Endotelin Reseptör A -231G>A Polimorfizminin Genetik Analizi.....	30
4.5.4.2. Endotelin Reseptör B G57S Polimorfizminin Genetik Analizi	32
4.5.4.3. Çoğaltılmış DNA'ların Elektroforezde Değerlendirilmesi	34
4.5.5. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimleri ile Kesimi	35
4.5.5.1. Endotelin Reseptör A -231G>A Polimorfizminin Genotiplendirilmesi	35
4.5.5.2. Endotelin Reseptör B G57S Polimorfizminin Genotiplendirilmesi	37
4.6. İstatistiksel Analiz	38
5. BULGULAR.....	40
6. TARTIŞMA.....	67
SONUÇLAR.....	72
KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ	82

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi içerisinde bulunduran 261 bazçiftlik hedef bölgesinin DNA dizisi ve çoğaltılmasında kullanılan primer çifti.....	31
Tablo 2. Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizminin optimum amplifikasyonun gerçekleştirildiği PCR reaksiyonu karışımı.....	31
Tablo 3. Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmini için PCR sıcaklıkları.....	32
Tablo 4. Endotelin reseptör B G57S polimorfizmini içerisinde bulunduran 218 bazçiftlik hedef bölgesinin DNA dizisi ve çoğaltılmasında kullanılan primer çifti.....	32
Tablo 5. MDM2 SNP309 T/G polimorfizminin optimum amplifikasyonun gerçekleştirildiği PCR reaksiyonu karışımı.	33
Tablo 6. Endotelin reseptör B G57S polimorfizminin için polimeraz zincir reaksiyonu sıcaklıkları.	33
Tablo 7. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının demografik özellikleri.....	40
Tablo 8. Hasta grubu transtorasik ekokardiyografi bulguları	41
Tablo 9. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda 24 saatlik ortalama kan basıncı ve nabız.	41
Tablo 10. Hasta grubu akciğer bulguları.....	41
Tablo 11. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi	42
Tablo 12. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında 24 saatlik Holter ile kan basıncı ölçümü ve nabız sayımı.....	44
Tablo 13. Sklerodermalı hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi.	54
Tablo 14. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve hemodinamik parametreler.	56
Tablo 15. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellerindeki plazma endotelin-1 düzeyi.....	57
Tablo 16. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve Modifiye Rodnan cilt skoru.	58
Tablo 17. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve zorlu vital kapasite (FVC) değerleri.....	59
Tablo 18. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DLCO) değerleri	61
Tablo 19. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (EF).....	63
Tablo 20. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve yüksek rezülasyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT).....	65
Tablo 21. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve pulmoner arter basıncı (PAB).	66

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Plazma endotelin-1 standart eğrisi.....	26
Şekil 2. Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizminin tespiti için polimeraz zincir reaksiyonu sonucunun %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.	34
Şekil 3. Endotelin reseptör B G57S polimorfizminin tespiti için yapılan polimeraz zincir reaksiyonu sonucunun %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	35
Şekil 4. Polimeraz zincir reaksiyonu tabanlı RFLP yöntemi ile HindIII restriksiyon enzimi kullanılarak endotelin reseptör A -231G>A polimorfizminin analizi.	37
Şekil 5. Polimeraz zincir reaksiyonu tabanlı RFLP yöntemi ile BseDI restriksiyon enzimi kullanılarak endotelin reseptör B G57S polimorfizminin analizi.	38
Şekil 6. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi	42
Şekil 7. Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında düzeltilmiş yaşa göre plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi.....	43
Şekil 8. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında 24 saatlik Holter ile ortalama sistolik kan basıncı ölçümü.	44
Şekil 9. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında 24 saatlik Holter ile ortalama diastolik kan basıncı ölçümü.	45
Şekil 10. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında 24 saatlik Holter ile ortalama dakikalık nabız sayımı.	45
Şekil 11. Hasta grubunda pulmoner arter basıncı (PAB) ile plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi arasındaki ilişki.	47
Şekil 12. Hasta grubunda pulmoner arter basıncı (PAB) ile yaş arasındaki ilişki.	48
Şekil 13. Hasta grubunda pulmoner arter basıncı (PAB) ile hastalık süresi arasındaki ilişki.	49
Şekil 14. Hasta grubunda pulmoner arter basıncı (PAB) ile zorlu vital kapasite (FVC) arasındaki ilişki.	50
Şekil 15. Hasta grubunda pulmoner arter basıncı (PAB) ile karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DLCO) arasındaki ilişki.	51
Şekil 16. Modifiye Rodnan cilt skoru ile plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi arasındaki ilişki.	52
Şekil 17. Modifiye Rodnan cilt skoru ile hastalık süresi arasındaki ilişki.	53
Şekil 18. Hasta ve kontrol grubunda endotelin reseptör A (ETA) -231G>A polimorfizmlerine göre plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi.	55
Şekil 19. Kontrol grubunda GG ve GA allellerinde Holter ile ölçülen ortalama nabız ilişkisi.....	56
Şekil 20. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA allellerindeki plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi.....	57
Şekil 21. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve modifiye Rodnan cilt skoru.....	58
Şekil 22. Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve zorlu vital kapasite (FVC) değerleri arasındaki ilişki.	59
Şekil 23. Hasta grubunda zorlu vital kapasite (FVC) değerleri ile hastalık süresi arasındaki ilişki.	60
Şekil 24. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DLCO) değerleri arasındaki ilişki.	61
Şekil 25. Hasta grubunda karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DLCO) ile hastalık süresi arasındaki ilişki.	62
Şekil 26. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ilişkisi.	63
Şekil 27. Hasta grubunda plazma endotelin-1 düzeyi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ilişkisi.	64
Şekil 28. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT) sınıflandırmasıyla ilişkisi.	65
Şekil 29. Hasta grubunda plazma endotelin-1 düzeyi ve pulmoner arter basıncı (PAB) ilişkisi.	66

KISALTMALAR

ACA	: Anti-sentromer antikor
ACE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim
ACR	: Amerikan Romatoloji Birliği (<i>American College of Rheumatology</i>)
ANA	: Anti-nükleer antikor
ATG	: Anti-timosit globulin
C	: Kompleman
CREST	: Kalsinozis, Raynaud Fenomeni, Özefajial hipomobilité, Sklerodaktili, Telenjektazi
CRP	: C-reaktif protein
CYC	: Siklofosfamid
dcSSc	: Yaygın kutanöz sistemik skleroz
DLCO	: Karbon monoksit diffüzyon kapasitesi
D-Pen	: D-Penisillamin
ECE	: Endotelin dönüştürücü enzim
EF	: Ejeksiyon fraksiyonu
EKG	: Elektrokardiyografi
ELAM	: Endotelyal lökosit adezyon molekülü
ESH	: Eritrosit sedimentasyon hızı
ET	: Endotelin
ETA	: Endotelin reseptör A
ETB	: Endotelin reseptör B
FVC	: Zorlu vital kapasite
HSCT	: İnsan kök hücre transplantasyonu
IVIg	: İntravenöz immunoglobulin
lcSSc	: Sınırlı kutanöz sistemik skleroz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
MMF	: Mikofenolat mofetil
MTX	: Metotreksat
NAC	: N asetil sistein
NK	: Doğal öldürücü T lenfosit
NO	: Nitrik oksit
NYHA	: New York Kalp Cemiyeti
PAB	: Pulmoner arter basıncı
PAH	: Pulmoner arteriyel hipertansiyon
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDE5	: Fosfodiesteraz 5
PDGF	: Platelet derived growth factor
PINP	: Prokollalen tip I N terminal propeptid
RA	: Romatoid artrit
RF	: Romatoid faktör
RFLP	: <i>Restriction fragment length polymorphism</i>
Scl-70	: Anti-topoizomeraz I
SS	: Standart sapma
sICAM	: Hücreler arası adezyon molekülü
SLE	: Sistemik lupus eritamatozus
SS	: Sjögren sendromu
SSc	: Sistemik skleroz
ssSSc	: Sine skleroderma sistemik skleroz
sVCAM	: Damar hücre adezyon molekülü
YRBT	: Yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi

ÖZET

Sistemik Sklerozda Endotelin-1 Düzeyi ve Endotelin Reseptör Polimorfizminin Hemodinamik ve Klinik Parametrelere Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Skleroderma (SSc) ciltte ekstrasellüler matriks artışı, damar hasarı, immunolojik anormallikler ve fibrozisle giden sistemik bir hastalıktır. Endotelin-1 SSc etyolojisinde, hastalığın klinik bulgularının ortaya çıkmasında ve progresinde önemli bir role sahiptir. Yapılan çalışmalar yeni tedavi stratejilerinin gelişmesine neden olmuştur. Endotelin-1 düzeyi ve reseptör polimorfizmleri hastalığın kliniği ve tedavi yaklaşımını etkiliyor gözükmemektedir. Çukurova Bölgesindeki skleroderma hastalarında plazma ET-1 düzeyinin hemodinamik ve klinik bulgularla ilişkisini incelemek, ET reseptör B G57S ve ET reseptör A -231G>A polimorfizmlerinin sıklığı ve bu polimorfizmlerin hemodinamik ve klinik bulguları ile olan ilişkisini araştırmak.

Gereç ve yöntem: Skleroderma tanısı alan 43 (2/41, E/K) hasta ve 42 (0/42, E/K) sağlıklı kontrol grubu çalışmaya alındı. Plazma ET-1 düzeyine ELİSA yöntemiyle bakıldı. ET reseptör B G57S ve ET reseptör A -231G>A polimorfizmlerinin belirlenmesinde PCR-RFLP tekniği uygulandı. Kardiyak bulguları transtorasik ekokardiyografi ile değerlendirildi. 24 saatlik Holter ile nabız, sistolik ve diastolik kan basınçları ölçüldü. Akciğer bulguları solunum fonksiyon testleri ve bilgisayarlı tomografi ile değerlendirildi

Bulgular: Skleroderma hastalarında plazma ET-1 düzeyi $7,23 \pm 2.15$ fmol/ml (ortalama \pm SS) iken, kontrol grubunda $4,10 \pm 1,06$ fmol/ml (ortalama \pm SS) bulundu. Hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulundu ($p < 0,001$). Plazma ET-1 düzeyi ile, hemodinamik parametreler, klinik bulgular arasında korelasyon gözlenmedi. Hasta ve kontrol grubunda 24 saatlik Holter ile ölçülen nabız, sistolik ve diastolik kan basıncı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Hasta ve kontrol grubunda ET reseptör A -231G>A polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (5/43, 0/42) ($p = 0,023$). ET reseptör A -231G>A polimorfizmleri ile plazma ET-1 düzeyi, hemodinamik parametreler, klinik bulgular arasında korelasyon gözlenmedi. Hasta ve kontrol grubunda ET reseptör B G57S polimorfizmi gözlenmedi.

Sonuç: Skleroderma hasta grubunda kontrol grubuna göre plazma ET-1 düzeyi ve ET reseptör A -231G>A polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Plazma ET-1 düzeyi ve ET reseptör A -231G>A polimorfizmlerinin hemodinamik ve klinik bulgularla ilişkisi saptanmadı. ET reseptör polimorfizmleri ile hastalık bulguları arasında ilişki gösterilememesine karşın, daha geniş hasta popülasyonu ile çok merkezli çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Skleroderma, endotelin-1, endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi, endotelin reseptör B G57S polimorfizmi, Holter, ekokardiyografi, kan basıncı, pulmoner arter basıncı

ABSTRACT

On the Hemodynamic and Clinical Effects of Endothelin-1 Level and Endothelin Receptor Polymorphisms in Systemic Sclerosis

Purpose: Scleroderma is a fibrotic condition characterized by immunological abnormalities, vascular injury and increased accumulation of extracellular matrix proteins in the skin. It has been well known that endothelin-1 has a significant role in etiology of systemic sclerosis, clinical symptoms and progression of disease. Clinical trials have led to researchers to develop new treatment modalities. It is possible that endothelin-1 level and receptor polymorphisms may influence the clinical course of disease and the therapeutic approaches. Aim of the study is to investigate the relationship between plasma level of ET-1 and the hemodynamic and clinical findings in patients with scleroderma living Çukurova Region. We also intended to analyze the incidence of ET receptor B G57S and ET receptor A -231G>A polymorphisms in patients with scleroderma and correlation between these polymorphisms and the hemodynamic and clinical findings.

Methods: Forty-three patients (2M/41F) with scleroderma and 42 healthy controls (0E/42K) were taken into the study. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) utilized to determine the ET-1 level in plasma. ET receptor B G57S and ET receptor A -231G>A polymorphisms were established by PCR-RFLP. Transthoracic echocardiography were done to scleroderma group. Twentyfour-hour Holter blood pressures measurmets were done to both groups. Respiratory function tests were also carried out. Pulmonary status was assessed by HRCT.

Results: Patients with scleroderma had significantly higher plasma endothelin-1 levels compared to normal subjects ($p<0,001$). Nevertheless, there was no correlation between plasma ET-1 level and the hemodynamic/clinical findings. Patients and the control group did not show any difference in 24-hour Holter blood pressure and pulse measurmets. ET receptor B G57S polymorphism was not observed in patient and control groups, whereas there was a statistically significant difference in ET receptor A -231G>A polymorphisms between two groups (5/43 vs 0/42) respectaly ($p=0,023$). We have found no association between ET receptor A -231G>A polymorphisms and plasma ET-1 levels, hemodynamic or clinical findings.

Conclusion: In this study, it is statistically significant increase in plasma ET-1 levels and ET receptor A -231G>A polymorphisms were found in patients with scleroderma compared to normal subjects. A relationship between plasma ET-1 levels, ET receptor A -231G>A polymorphisms and hemodynamic/clinical symptoms has not been established.

Larger multicenter studies are needed to evaluate the effect of the polymorphism on the clinical findings of scleroderma.

Key Words: Scleroderma, endothelin-1, endothelin receptor A -231G>A polymorphism, endothelin receptor B G57S polymorphism, Holter, echocardiography, blood pressure, pulmonary arter pressure.

1. GİRİŞ

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

SSc patogenezi kompleks 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 olduğu düşünülmüştür.¹ Bu patojenik faktörler SSc hastalarının kliniğinin oluşmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir.¹ SSc patogenezinde; aktive fibrojenik fibroblastların bu hastalıkta efektör hücreler olduğu düşünülerek, immunolojik yanıtlar ve vasküler değişiklikler üzerinde durulmuştur. Vasküler ve endotelial değişiklikler öncelikle vasküler yapıyı etkilediği bu olayın SSc diğer bulgularının öncüllerini oluşturduğu belirtilmektedir.² Endotelin bilinen potent vazokonstriktör ve fibrojenik etkisiyle SSc patogenezinde en önemli potansiyel etkiye sahiptir. Endotelin SSc vasküler fonksiyon bozukluğuna ve fibrotik lezyon gelişmesine neden olduğu bildirilmiştir.^{3,4} Endotel hücrelerinden endotelin-1 (ET-1) bazal salınımı endotelial hücre yetmezliği ve fibroblast aktivasyonu arasında erken bir bağlantı kurulmasını sağladığı bildirilmiştir.⁵ SSc hastalarında; minimal fibrotik değişikliklerle giden primer damar hastalığı, pulmoner hipertansiyon veya yaygın fibrotik değişikliklerle giden alt gruplarında yapılan çalışmalarda dolaşan ET-1 değerlerinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. İmmunhistokimyasal ve otoradyografik çalışmalar SSc'da ET-1'in fibrozis oluşumunda önemli rol oynadığını göstermiştir.

Biz bu çalışmamızda SSc hastalarında endotelin-1 ve endotelin reseptör polimorfizminin klinik ve hemodinamik parametrelere etkilerini araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sklerodermada Epidemiyoloji

Ülkemizde SSc hastalığının epidemiyolojisine yönelik henüz bir çalışma yoktur. SSc 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.⁶ 1990 yılında yapılan bir çalışmada prevalansı 67 ila 265 her 100.000 insan için bulunmuş. Bu rakam daha önceki raporlara göre 4,9 ila 19,2 kat daha yüksek bulunmuştur.⁷ Yapılan çalışmalarda 1971 de 1996 yılına kadar hastalığın insidansında belirgin artış olduğu gösterilmiştir. Bu artış geçen zamanda hastalığın tanı kriterlerinin değişmesi, erken tanı ve organ spesifik tedavilerin başlanmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.⁸ Yaş sklerodermanın alt tipine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Lineer skleroderma daha çok 18 yaş altında gözlenirken SSc 30-50 yaş arasında görülmektedir.⁸ Taylandlı hastalarda Scl-70 antikorları ACA göre daha fazla gözlenmiştir. Amerika'da, Afrikan Amerikalılar ve hispaniklerde asyalılara göre daha fazla yaygın cilt tutlumu, ciltte pigment değişiklikleri, parmak ülserleri, pulmoner hipertansiyon ve çoğunun beyazlara göre daha sosyodemografik olarak daha düşük seviyede olduğu belirtilmiş. Yine aynı çalışmada beyazlarda daha yüksek oranda ACA bulunurken Afrikan Amerikalılarda anti- RNP ve anti- fibrilların antikorları daha yüksek bulunmuş.⁹ Fibrillin-1'e karşı oluşan antikorlar değişik etnik gruplarda değişik antijenik epitoplarda gösterilmiştir.¹⁰ Seyrek olarak monozigot ikizlerde skleroderma rapor edilmiştir.¹¹ Yine nadir olarak ailesel skleroderma bildirilmiştir.¹² Yapılan kohort çalışmaları pozitif aile öyküsü olanların skleroderma için güçlü bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.¹³ Çevresel etmenlerin otoantikorların 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.^{14,15}

Maureen D. Mayes ve arkadaşlarının 1989-1991 yılları arasında Detroit ve çevresinde yaptığı bir araştırmada 706 skleroderma üzerinde çalışma yapılmış. 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 gözlenmiş. 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 gözlenmiş. Serolojik olarak ise test edilen hastaların % 22,1'inde ACA pozitif bulunurken, anti-Scl-70 % 19,6 hastada pozitif bulunmuştur.⁶

2.2. Sistemik Skleroz Patofizyolojisi

SSc; ciltte ve iç organlarda kollajen doku birikimi, mikrovasküler damar tıkanıklığı küçük arterlerin tutulumu ile karakterize, etyolojisi tam olarak bilinmeyen multisistem bir hastalıktır.¹

Skleroderma patogenezi kompleks ve hala anlaşılamamıştır. İmmun aktivasyon, vasküler yetmezlik, hücre dışı matriksin aşırı sentezlenmesi, yapısal normal kollajen dokunun artması bu hastalığın gelişiminde önemlidir.¹ Bu mekanizma hücre-hücre, hücre-sitokin ve hücre-matriks arası ilişkiler sonucu olduğu düşünülmüştür.¹ Bu patojenik faktörler SSc hastalarının kliniğinin oluşmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir.¹ SSc patogenezinde en fazla üzerinde durulan hipotez ise; aktive fibrojenik fibroblastların bu hastalıkta efektör hücreler olduğu düşünülerek, immunolojik yanıtlar ve vasküler değişiklikler üzerinde durulmuştur².

2.2.1. Endotelinler

Endotelin bilinen en potent vazokonstrüktördür ve fibrojenik etkisiyle SSc patogenezinde en önemli potansiyel etkiye sahiptir.¹⁶ Endotelin SSc vasküler fonksiyon bozukluğuna ve fibrotik lezyon gelişmesine neden olur; yapılan çalışmalarda SSc hastalarında kontrol gruplarına göre ET-1 düzeyi daha yüksek bulunmuştur.^{3,4} ET-1 bazal salınımı endotelial hücre yetmezliği ve fibroblast aktivasyonu arasında erken bir bağlantı kurulmasını sağlar.⁵ SSc 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.¹⁷

2.2.2. Nitrik Oksit

Nitrik oksit normal kan damarlarında ET-1'in vazokonstrüktif etkisini dengeler; bu iki faktördeki rölatif değişikliklerin SSc patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir.¹⁸ Yapılan bir çalışma sonucunda skleroderma hastalarının plazmalarında NO konsantrasyonunun artması solunum sisteminde refleks inflamatuvar yanıt oluşmasına neden olurken; bununla birlikte pulmoner hipertansiyon olan vakalarda artmadığı gözlenmiştir.¹⁹ Başka bir çalışmada ise NO düzeyinin SSc hastalarında yüksek olduğu gözlenmiş ancak alt grupları incelendiğinde; diffüz, erken dönem ve akciğer tutulumu olan SSc hastalarında NO düzeyi yüksek bulunurken, lokalize, geç dönem hastalarda normal düzeyde bulunmuş.²⁰ NO düzeyinin artması endotel hücrelerinin aktivasyonunu arttırdığı, plazma nitrat düzeyinin artması aynı zamanda sICAM-1, sVCAM-1 ve sE-selektin düzeyi ile korele olarak arttığı gösterilmiştir.²¹

2.2.3. Süperoksit Anyonları

Süperoksit anyonları endotelyumdan salınır, NO nötröle ederek ve dolaşan düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) okside ederek endotele zarar verebilirler.²² Okside LDL SSc hastalarının endotel hücrelerine karşı sitotoksik etkinin kaynağını oluşturabilir. Çalışmalar göstermiştir ki skleroderma hastalarındaki LDL primer Raynaud Fenomeni (RF) veya diğer romatolojik hastalıklara göre daha kolay okside olmaktadır ve sklerodermanın patogenezinde rol alabileceğini düşündürmektedir.²³ Serbest radikallerin tetiklediği oksidatif stres lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve sonucunda doku hasarı oluşmakta bu olayın SSc patogenezinde rol alabileceği düşünülmektedir.²² SSc hastalarının idrar ve serumunda sağlıklı bireylere göre daha fazla oksidatif serbest radikal olan isoprostan gözlenmiştir. İsopraston değerlerinin yüksek olması SSc hastalarında pulmoner fibrozis renal vasküler yetmezlik ve immunolojik anormalliklerde uyumlu bulunmuştur.^{24,25}

Süperoksitlerin bir diğer yan etkileride NO inaktive etmeleridir. NO ve süperoksitlerin reaksiyonu sonrasında proteinler peroksinite edilerek nitosilet oluşur. Yapılan çalışmada primer RF ve lokalize sklerodermada NO düzeyinin arttığı gözlenmekle birlikte asimetrik dimetilarginin ve proteinlerin nitratlanmasındaki artış;

süperoksitlerin NO metabolizmasındaki dengesizlik sonucunda endotel hasarına neden olabileceği öngörülmüştür.²⁶

2.2.4. Hatalı Damar Yapımı

Endotelial hücre öncüllerinin dolaşımdaki yetersizliği, hücrelerin çoğalmasındaki yetersizlik ve endotel hücre olgunlaşmasındaki bozukluk SSc hastalığının patogeneğinde önemli olabilir. SSc 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 SSc hastalarının hücre kültürlerinde daha az olduğu gözlenmiştir. Paradoks olarak SSc hastalarında sağlıklı kontrollere göre birçok anjiogenik faktör anlamlı oranda yüksek bulunmuştur.²⁷

2.2.5. Damarsal Sitotoksik Faktörler

SSc hastalarında %20-30 oranında dolaşan anti endotelial hücre antikorları tespit edilmiştir. Bu antikorların endotel hücrelerinin apoptozuna neden olduğunu destekleyen çalışmalar mevcuttur.²⁸ Skleroderma hastalığında PDGF gibi büyüme faktörleri önemli rol oynamaktadır.²⁹ PDGF endotel hücrelerinden aktive komplement salınımına neden olur.²⁹ Aktive komplement ve komplement reseptör düzeyi hastalığın kliniğinde önemli olduğu düşünülmektedir.²⁹ Erken ve geç dönem SSc hastalarının tutulan cilt damarlarında immunhistokimyasal olarak membran atak kompleksinin (C5a-C5aR) arttığı gösterilmiştir.²⁹

2.2.6. 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. SSc 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.³⁰ Bu etkileşim sonucunda adezyon, endotel ve hücrelerarası boşluğa

hücre göçü başlar. SSc hastalarında ise hem hücre yüzey adezyon moleküllerinde hem de bu moleküllerin dolaşımdaki miktarlarında artış saptanmıştır.³⁰

Sklerodermada tanısal amaçlı hastaların periferik kan hücrelerindeki bazı adezyon molaküllerinin mRNA'larındaki artış kullanılabilirliği düşünülmektedir. P-selektin ligandlarını kodlayan (SELPLG) genin salınımındaki artış, von Willebrand Faktör reseptörlerini kodlayan genler (ITGA2B ve GP1BB) SSc hastaları ve sağlıklı bireylerin ayırımında kullanılmıştır. SSc hastalarının periferik kanlarında birçok biyolojik yollar incelenmiştir. Bunların değişkenleri protein kinaz 2 beta ve mitojen aktive eden protein kinaz sinyalidir.³¹

2.2.7. İmmunolojik Aktivite

Endotel hücrelerinin aktivasyonu sonrasında; adezyon moleküllerinde ve lökositlerin damar dışına göçünde artış, ciltaltı tutulum ve iç organ tutulumu SSc hastalığının patogenezinde önemli olabilir. Nitekim bunu destekleyen çalışmalar mevcuttur. SSc erken inflamatuvar dönemindeki mononükleer hücre infiltrasyonu endotel hücrelerine bağlanmadaki artış arasında korelasyon vardır.³²

SSc 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.³³

SSc'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.³⁴

2.2.8. Otoantikorlar

SSc hastalarının yaklaşık %75'inde dolaşan otoantikorlardan bir veya daha fazlası bulunur. Bunlar topoizomerez I (Scl -70), sentromer antijenler, fibrilların, RNA polimeraz, PM-Scl, RNA I,II ve III.^{35,36,37}

Bununla birlikte bu testlerin duyarlılıkları düşüktür. Scl-70 antikoru SSc için oldukça özgüdür (% 98-100) ve interstisyel akciğer tutulumu için yüksek risk göstergesidir.³⁸ Yüksek konsantrasyonlar aynı zamanda daha fazla cilt tutulumu ve hastalık aktivitesi ile korele bulunmuştur.³⁹ Antisentromer antikoru (ACA) ise sınırlı cilt tutulumu ile ilişkilidir¹¹.

Bu otoantikoru üretimini başlatan uyarıcı sistem henüz tam olarak bilinmemektedir. Bir ihtimal bu antikoru hedefleri olan antijenler bakır, demir gibi spesifik metaller ve reaktif oksijen türleri aracılığı ile oluşabilmektedir. Metallerin tutulumu sanucunda SSc hastalığının tedavisinde kullanılan D-penisillamin gibi metal şelatörlerinin kullanımı açıklanabilir.⁴⁰

Bir diğer ihtimal ise bu antikoru enfeksiyonlara cevap olarak, oluşan antijenlere moleküler benzerlikten dolayı çapraz reaksiyon sonucu gelişmesidir. Bir çalışmada sitomegalovirüs ve SSc'da oluşan antikoru endotel hücreleri yüzey protein komplekslerinin ilişkilerinden dolayı apoptozise neden olduğu gösterilmiştir.⁴¹

Otoantikoru fibroblast ilişkisinde SSc patogenezinde rol alabilir. Yapılan bir çalışmada 69 skleroderma hastası, 30 sarkoidoz ve 50 sağlıklı bireyde SSc grubunda yüksek bulunan anti-fibroblast antikoru; fibroblast yüzey antijenlerini aktive ederek, fibroblastlara bir uyarıcı etki yaptığı gösterilmiştir.⁴²

2.3. Skleroderma Sınıflandırma

1980 yılında Amerikan Romatizma Birliği (ACR) çalışmalar sonucunda sınıflandırma kriterlerini geliştirmiştir.

I majör kriter:

Proksimal skleroderma: Parmaklarda ve metakarpofalangeal eklemlerde ya da metatarsofalangeal eklemlerin proksimalinde ciltte simetrik kalınlaşma, sertleşme ve endurasyon bulunmasıdır. Bu değişiklikler ekstremitelerin tümünü, yüz, boyun ve gövdeyi etkileyebilir

II minör kriterler:

1- Sklerodaktili: Lezyonların parmaklarla sınırlı olması.

2- Dijital pitting skar yada pulpa atrofi: İskemiye bağlı olarak parmak ucu yumuşak dokunun kaybolması.

3- Baziler pulmoner fibrozis: Akciğer bazallerinde bilateral retiküler paternde nodüler dansite artışı.

4- Reynaud Fenomeni: İskemiye veya soğuk uyarana bağlı olarak parmaklarda görülen renk değişiklikleri

5- zefajial dismotilite: Özefagus tutulumuna bağlı olarak yutma güçlüğü ve rahatsızlık hissi

Bir majör ya da iki veya daha fazla minör kriter sınıflandırmada kullanılmaktadır.

Serolojik olarak anti nükleer antikorlar (ANA), anti topoizomerez- I (Scl-70), anti sentromer antikor (ACA) kullanılmaktadır. Hastalık multisistemik bir tutulum göstermektedir. Ağırlıklı olarak cilt tutulumu olmakla birlikte, i organlarında tutulmaktadır (akciğer, kalp, böbrek, gastrointestinal sistem).

2.3.1. Ayırt Edici Hastalıklar^{43,44}

2.3.1.1. Damar Değişikliği Yapan Hastalıklar

Primer Raynaud Fenomeni

Fiziksel travma

Kimyasallara maruziyet: Vinil-klorid, kömür, silika, ağır metaller, solvent).

İlaçlar: Bleomisin, sisplatin, ergotamin, beta blokerler, karbidopa, 5-hidroksitriptofan.

Diğer otoimmun hastalıklar: Vaskülitler, RA, krioglobilin, SLE, SS,

2.3.1.2. Cilt Değişikliği Yapan Hastalıklar

Lokalize skleroderma: Morfea, lineer skleroderma, *en coup de sabre* eozinofilik fasiit, eozinofili miyalji sendromu, çakışma sendromları, amiloidozis, paraproteinemiler, insülin bağımlı diabetes mellitus

2.3.1.3. İç Organ Tutulumu Yapan Hastalıklar

Diabetes Mellitus, idiopatik pulmoner fibrozis, primer pulmoner hipertansiyon, sarkoidoz, amiloidozis, infiltratif kardiyomyopatiler, malin hipertansiyon, diğer otoimmün kollajen doku hastalıkları, primer bilier siroz.

2.3.2. Klinik Tanımlama

2.3.2.1. Yaygın Kutanöz Sistemik Skleroz (dcSSc)

Semptomları değişkendir. Raynaud Fenomeni genellikle mevcuttur. Yaygın cilt tutulumu, tendonlarda krepitasyon, pulmoner fibrozis, oligürük renal kriz, pulmoner hipertansiyon, diffüz gastrointestinal tutulum, kalp yetmezliği, kardiyak aritmi görülebilir. Genellikle Scl-70 pozitif bulunurken, ACA negatiftir.

2.3.2.2. Sınırlı Kutanöz Sistemik Skleroz (lcSSc)

Raynaud Fenomeni cilt tutulumundan yıllar önce ortaya çıkar. Cilt tutulumu ellerde, yüzde, ayaklarda sınırlıdır. CREST sendromu (kalsinozis, Raynaud Fenomeni, özefajial hipomobilitate, sklerodaktili, telenjektazi), pulmoner hipertansiyon görülebilir. Genellikle ACA pozitif bulunurken Scl-70 negatiftir.

2.3.2.3. Sistemik Sklerozis Sine Skleroderma (ssSSc)

Kutanöz tutulum olmadan iç organ tutulumu ile karakterize SSc tipidir.

2.3.3. Organ Tutulumu

2.3.3.1. Böbrek

SSc renal krizi malin hipertansiyon ve hızlı ilerleyen böbrek yetmezliği ile görülür. Scl-70 ve anti RNA polimeraz III antikoru ile birlikteliği sıktır. SSc hastalarında önceleri önemli bir mortalite nedeni iken ACE inhibitörlerinin kullanımı ile mortalitede önemli bir azalma gözlenmiştir.⁴⁵

2.3.3.2. Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon (PAH)

Kollajen doku hastalıklarında artmış oranda pulmoner arteriyel hipertansiyon gözlenmektedir.⁴⁶ Kollajen doku hastalıklarının majör acil ve mortalite nedenidir. Fransa'da yapılan bir çalışmada tüm kollajen doku hastalıklarında % 15 oranında PAH

gözlenirken bunların % 76'sının SSc hastaları olduğu görülmüştür.⁴⁶ Yapılan başka bir çalışmada interstisyel akciğer hastalığı olan hastalarda % 12 oranında bulunmuştur.⁴⁷ Küçük pulmoner arterlerin tutulumu mevcuttur. Etyolojide üç önemli faktör etkili gözükmektedir. Pulmoner arterlerde daralma, vazokonstrüksiyon, tromboz ve sonuçta pulmoner arter duvarlarında damar düz kas hücre artışı ile giden anormallikler.

2.3.3.3. İnterstisyel Akciğer Hastalığı

Pulmoner fibrozis SSc hastalarının çoğunda gözlenir. Bu grup hastanın yaklaşık % 15'inde ölüme neden olan ağır fibroze ilerler.⁴⁸ Pulmoner fibrozis gelişiminde dcSSc ve Scl-70 antikoru risk faktörüdür.⁴⁸ Başlangıçta akciğer fonksiyonlarının normal olması ve yüksek rezüasyonlu bilgisayarlı tomografide (YRBT) normal bulgular olması pulmoner fibrozis gelişmesi açısından düşük risk göstergesidir.^{49,50}

2.2.3.4. Kalp

SSc 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.⁵¹

2.3.3.5. Gastrointestinal Tutulum

Gastrointestinal sistem SSc hastalarında ikinci en sık tutulum bölgesidir. En çok tutulan yer ise % 75-90 sıklıkla distal 2/3 özafagustur. Lezyonlar iskemi veya inflamasyona bağlı olarak gelişir. Kronik reflü sonucunda Barrett özafagus ve sonrasında adenokarsinom riski artmıştır.⁵²

2.4. Skleroderma Hastalarında Endotelin Aks Polimorfizmi

SSc cilt yayılımının derecesi, iç organ tutulumu ve otoantikörlere göre alt gruplara ayrılır. Otoantikörlar arasında bilinen en önemli 3 antikör Scl-70, ACA ve anti-RNA polimeraz klinik özelliğın karakteristik paternleri ile özel olarak olmasada

ilişkilendirilmiştir. Scl-70 antikorları yaygın cilt tutulumu, pulmoner fibrozis sıklığında artış ve yüksek mortalite ile, ACA genellikle sınırlı cilt yayılımı, düşük pulmoner fibrozis sıklığı, azalmış mortalite (artmış pulmoner hipertansiyon riskine rağmen), anti-RNA polimeraz antikorları organ tutulumu, yaygın kutanöz tutulum ve yüksek mortalite ile ilişkilendirilmiştir.⁵³

SSc patolojik özelliklerinden en erken ortaya çıkan damar fonksiyonundaki ve /veya endotel bütünlüğündeki değişikliklerdir. Öncelikle endotel hücre disfonksiyonu daha sonra perivasküler ödem geliştiği, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, takip eden dönemlerde damarlara trombosit agregasyonu ve sonuçta cilt fibrozisi geliştiği gösterilmiştir.⁵⁴ Vasodilatasyon ve vazokonstriksiyon sonucunda endotelial hasar sonucu ET-1’inde içinde bulunduğu faktörler salınır.⁵⁵ ET-1 damar hasarında kritik rol oynar, direk olarak vazokonstriktör etkisiyle indirek olarak vasküler disfonksiyona neden olan gen indüksiyonu ve inflamatuvar cevabın oluşumunu sağlar. Endotel reseptör blokerlerinin kullanımı bu durumu tersine çevirmiştir.⁵⁶ ET-1 ayrıca dokudaki remodelingi ve fibrozisi; fibroblast aktivasyonu, çoğalması ve kontraksiyon yolu ile artırır. ET-1 fibroblastlardan ETA ve ETB reseptörleri aracılığıyla kollojen tip I ve III salınımını artırır. SSc hastalarında ağırlıklı olarak ETA ve ETB reseptörleri fibroblastlar tarafından salınır, ancak SSc hastalarının cilt biopsilerinin kültürlerinde ETA reseptör mRNA ve ETA bağlanma yerlerinin azaldığı gösterilmiştir. Bu durum ET-1’in başka yollardan da fibrozise neden olduğunu düşündürmektedir. Yapılan bir çalışmada SSc hastalarının fibroblastlarından ICAM-1 düzeyini arttırdığını göstermiştir.^{57,58}

SSc patogenezindeki ET-1 ve reseptörlerinin rolü değişik çalışmalarda kanıtlandı. Skleroderma hastalarının plazma, serum, bronkoalveolar lavaj sıvısındaki ET-1 düzeyindeki artış birçok çalışmada gösterilmiştir.^{59,60} Yükselmiş ET-1 düzeyi daha yaygın fibroz, pulmoner arter hipertansiyonu, hipertansif renal kriz gibi damar hasarı ile ilişkili bulunmuştur.^{61,62} Takip eden çalışmalarda sklerodermaya bağlı fibrotik akciğer hastalığında ET-1 ve reseptörleri arasındaki farklılıklar rapor edildi.⁶³ Kromozom lokusu sırasıyla 6p24-p23 olan ET-1’in aktivitesi; gen dizisi endotelin reseptör A (ETA) ve endotelin reseptör B (ETB) olan, sırasıyla 4q31.2 ve 13q22 lokalizasyonunda olan ETA ve ETB olarak adlandırılan 2 reseptör tarafından sağlanmaktadır.⁶⁴

C. Fonseca ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ET-1 ,ETA ve ETB’de farklı polimorfizm sıklığı ve bunların SSc hastalarındaki klinik ve serolojik ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmada SSc hastalarında yaygın cilt tutulumu ile ETB reseptörlerindeki 3 polimorfizm arasında anlamlı bir ilişki bulunurken, ETA reseptörlerindeki 2 polimorfizm ile anti RNA polimeraz antikörleri arasındaki ilişki anlamlı bulunmuş. ET-1 ve reseptörleri ve SSc hastalarının tamamı arasında bir ilişki saptanmamış. Bunun sonucu olarak ta endotelin aksı gen çeşitliliğinin SSc başlangıcı ile ilişkili olmadığına ama gelişmiş SSc fenotip üzerinden hastalığı kötüleştirdiği kanaatine varılmış. Yaygın cilt tutulumu ve ETB polimorfizmi arasındaki ilişki SSc endotelin ve reseptörlerinin patojenik rol oynamasındandır. Aynı çalışmada endotelin ve reseptör düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunurken, endotelin düzeyi, fibrozis derecesi ile uyumlu bulunmuş. ET-1 düzeyleri yaygın cilt tutulumu olanlarda, organ tutulumu olanlarda yüksek bulunurken, sınırlı cilt tutulumu olanlarda sadece pulmoner hipertansiyon ve renal hastalığı olanlarda yüksek bulunmuş. Sonuç olarak endotelin aksındaki polimorfizmlerin hastalığın tutulumunda etkili olabileceği düşünülmektedir.⁶⁵

2.5. Skleroderma Tedavi

2.5.1. Tedavi Öncesi Değerlendirme

Tedavi planlanmadan önce tutulan organları, organ fonksiyon bozukluklarını, potansiyel olarak geri dönüşümlü inflamasyon veya vazokonstriksiyona bağlı veya yoğun tedaviye rağmen yetmezliğin düzeliyor düzelmediği araştırılmalıdır. Anamnez, fizik muayene bulguları, laboratuvar testleri ve görüntüleme yöntemleri; skleroderma hastalığının tanısı ve organ tutulumu hakkında bilgi verir. Skleroderma hastalığı genelde organ tutulumuna göre tedavi edilmektedir.

2.5.2. Cilt Tutulumu ve Erken Yaygın Hastalık

Erken yaygın skleroderma hastalığının kanıtlanmış bir tedavisi yoktur. Yapılan çok merkezli, randomize, plesebo kontrollü, çift kör bir çalışmada 71 hastanı 35 tanesine haftalık maksimum 35 mg oral methotreksat (MTX) ve diğer gruba plesebo 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. Modifiye Rodnan cilt skoruna göre ($p<0,17$), DLCO ($p<0,2$).⁶⁶

Siklosporin ve takrolimus ağırlıklı olarak T hücreler üzerine etkili immünmodülatuar ilaçlardır. Bu ilaçlarla tedavi olan birtakım skleroderma hastalarının ciltlerinde sıkılaşıma gözlenmiş. 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.⁶⁷

Relaksin gebeliğe bağlı olarak salınan doku yenilenmesini sağlayan ve antifibrotik etkiye sahip bir hormondur. Endotelin-1 ve anjiotensin II'yi inhibe eder, kollajenaz yapımını artırır. Yapılan bir çalışmada relaksin hormonun skleroderma hastalarında etkinliğini, güvenliğini ve doz bağımlı yanıtını araştıran çok merkezli, randomize, çift kör bir çalışma yapmışlardır. 68 yaygın skleroderma hastası ortalama 5 yıldır takip edilen bu gruba 25-100 pikogram/kg olarak günlük 24 hafta boyunca rekombine insan relaksin hormonu verildi. Modifiye Rodnan cilt skoru primer etkinlik ölçüm noktası idi. 25 pikogram/kg gün alan grubun cilt skoru plesebo alana göre daha düşük bulunurken ($p=0,040$), 100 pikogram/kg gün alan grupla plesebo arasında anlamlı fark bulunmamış⁶⁸.

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 grupla 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.⁶⁹

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 ($p=0,03$).⁷⁰

2.5.3. 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. 8 tanesi randomize kontrollü olmak üzere toplam 109 hasta içeren 29 çalışma bulunmuş. Tüm kalsiyum kanal blokerleri pleseboyla karşılaştırma 6 çalışma ve nifedipin ile plesebo karşılaştıran 5 çalışmada 2 haftadan daha fazla bir periyotta iskemik atakların sıklığı karşılaştırılmış. Sonuçlar sırası ile -8,31 (% 95 güvenlik aralığı -15,71, -0,91) ve -10,21 (% 95 güvenlik aralığı -20,09, -0,34) bulunmuş. Sonuç olarak kalsiyum kanal blokerleri skleroderma hastalarındaki RF tedavisinde atakların sıklığında ve şiddetinde etkin bulunmakla beraber daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.⁷¹

Anjiotensin II reseptör tip 1 antagonisti olan losartan ile nifedipin karşılaştırmalı bir çalışmada 25 primer RF ve 27 sklerodermaya sekonder RF hastası karşılaştırılmış. Hastalara 12 hafta boyunca 50 mg losartan ve 40 mg nifedipin verilmiş. Primer sonlanım olarak RF sıklığı ve şiddetinin araştırılmış. Damarlar termografi ve laser Doppler flovmetre ile ölçülmüş. 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 ($p<0,01$). Semptomatik iyileşme PINP ve çözülebilir damarsal adezyon molekülündeki azalma ile uyumlu bulunmuş ($p<0,01$). Sonuç olarak kısa dönem RF tedavisinde losartan etkili bulunmuş.⁷²

Alfa -1 inhibitörü olan prazosin ile plesebo karşılaştırmalı iki randomize kontrollü çalışmada; prazosinin pleseboya göre belirgin olarak sklerodermaya sekonder RF tedavisinde etkili olduğu gözlenmiştir.⁷¹

İloprost kimyasal olarak stabil bir prostosiklin analogudur. Trombosit agregasyonunu inhibe edici ve vazodilatör etkisi epoprostanole göre daha uzun etkilidir.

Sklerodermaya bağlı RF üzerine etkileri Cochrane kontrollü çalışmalar analiz edilmiştir.⁷³ Bütün randomize kontrollü çalışmalarda prostosiklin analogları plesebo ile karşılaştırılmış. 7 randomize çalışmada toplam 332 hasta çalışmaya alınmış olup çalışmaların 5 tanesinde intravenöz iloprost, 1 tanesinde oral iloprost ve 1 tanesinde oral cisaprost kullanılmış. Bazı çalışmalarda değişik dozlarda iloprost kullanılmış. Sonuç olarak intravenöz iloprost kullanımının sklerodermaya sekonder RF sıklığında ve şiddetinde parmak ülserlerinde belirgin azalma olduğu gözlenmiş.

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.⁷⁴

2.5.4. Pulmoner Hipertansiyon

Epoprostenol vasküler endotel tarafından salınan güçlü, kısa etkili trombosit agregasyonunu engelleyen bir maddedir. Vasodilatör etkisinin yanında pulmoner dirençte ve trombosit agregasyonunda azalma, kardiyak outputta artış, damar yenilenmesi gibi etkileri vardır. Epoprostanolun pulmoner hipertansiyon hastalarında egzersiz kapasitesini arttırdığı kardiyopulmoner hemodinamide iyileşme sağladığı, yaşam kalitesini arttırdığı ve süresini uzattığı gösterilmiştir.⁷⁵

İnhale aerosolize iloprost, pulmoner hipertansiyon (PAH) yönetiminde selektif vasodilatör olarak dikkate alınması gerektiği vurgulanmıştır.⁷⁶ Almanya'da 6 üniversite hastanesinde yapılan 19 hastanın (12 hasta primer PAH, 3 tanesi akciğer fibrozisinin gözlenmediği kollajen damar hastası, 4 tanesi sekonder PAH) bulunduğu bir çalışmada; hastalar 6-12 kez 50-200 pikogram/gün inhale iloprost ile tedavi edilmiştir. 3 aylık tedavi sonrasında New York Kalp Cemiyeti (NYHA) fonksiyonel sınıflandırmasına göre 8 hastada iyileşme gözlenmiş, 7 hastada değişiklik olmamış, 4 hasta ölmüştür (3 tanesi sağ kalp yetmezliğinden, 1 tanesi sepsis nedeni ile). Sonuç olarak inhale iloprost tedavisi hemodinamik ve fiziksel fonksiyonlarda iyileşme yönünde PAH hastalarında ve ilerleyici sağ kalp yetmezliği olan hastalarda etkisi olduğu kabul edilebilir.

Prostasiklin analogu olan treprostonil SLE, skleroderma, bağ dokusu hastalıkları ve çakışma sendromlarının bulunduğu 90 tane PAH hastasına sürekli subkutan infüzyon (1.25 ng/kg/min) şeklinde uygulanmıştır. Başlağıçta birçok hastada NYHA sınıf III

semptomları mevcut olan hastaların tedavi sonrasında PAH görülen konnektif doku hastalarının egzersiz kapasitelerinde, PAH semptomlarında ve hemodinamilerinde iyileşme gözlenmiştir.⁷⁷

Beraprost ilk oral prostosiklin analogu olup 2 çalışmada idiyopatik PAH hastalarında kullanılmış egzersiz kapasitesinde artış gözlenirken hemodinamik değişiklik gözlenmemiştir.⁷⁸ 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.⁷⁹

ET-1 güçlü bir endojen vazokonstriktördür ve pulmoner hipertansiyona neden olabilir. ET-1 endotelial aktivasyon, hücre proliferasyonu ve fibrozise 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 kapasitesin iyileştirdiği gözlenmiştir.^{80,81} 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.⁸²

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.⁸³

2.5.5. 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 rezülasyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT) çekilmiş sonuç olarak aylık intravenöz kullanan grupta tedavinin daha etkin olduğu gözlenmiştir.⁸⁴

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.⁸⁵

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.⁸⁶

2.5.6. 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.⁸⁷ Yapılan bir çalışmada 3 skleroderma gastrointestinal tutulumu olan hastaya subkutan oktreotit verilmiş etkili olduğu gözlenmiştir.⁸⁷

2.5.7. 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.⁸⁸

2.5.8. 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.⁸⁹

2.5.9. 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.⁹⁰

3. ENDOTELİN VE KAN BASINCI

3.1. Endotelin Sistemi

ET ailesi 3 adet (ET-1, ET-2, ET-3) güçlü vazokonstriktif etkiye sahip 21 aminoasitlik peptitlerden oluşur. Bunların içinde kardiyovasküler sistem için en önemlisi ET-1'dir. 212 aminoasitlik prepro-ET-1 olarak salınır daha sonra bölünerek büyük ET-1'e dönüşür, sonrasında ECE tarafından katalize edilerek biyolojik olarak aktif formu olan ET-1'e dönüşür. ET-1 aktivitesini 2 reseptöre (ETA, ETB) bağlanarak gösterir. ET reseptörleri birçok hücre ve doku gruplarında bulunur. ETA ve ETB reseptörleri damar düz kas hücrelerinde bulunurlar, böylece ET-1'in vazokonstriktör etkisini sağlarlar. Yapılan çalışmada ETA reseptörlerinin bloke edilmesi, NO düzeyinde artışa neden olup vazodilatasyona neden olurken, ETB reseptörlerinin tek başına ya da ETA ile birlikte bloke edilmesi lokal vazokonstrüksiyona neden olduğu gösterilmiştir.⁹¹

ETB reseptörlerinin en önemli rolleri dolaşan ET-1'in temizlenmesidir. ET-1 plazma konsantrasyonu patolojiye göre değişkenlik göstermektedir. Hipertansiyon, kardiojenik şok, pulmoner klerens, böbrekten atılımı ET-1 düzeyini etkilemektedir. ET-1'in plazma yarı ömrü reseptör veya reseptöre bağımlı olmayan mekanizmalarla çok kısa olduğu gösterilmiştir.⁹² ET-1, ETB reseptörüne bağlandıktan sonra hücre içine girerek temizlenir, bu olaya daha çok akciğerlerde olmak üzere splanknik alan ve renal sirkülasyonunda katkısı bulunur. Akciğerlerde ET-1 atılımı aynı zamanda üretimi mevcuttur. Akciğerlerde ET-1 dolaşımında fizyolojik bir denge mevcuttur atılımındaki azalma ya da üretimindeki artış ET-1 düzeyinde dengesizliğe neden olmaktadır.⁹³ ETB reseptör sayısında azalma veya ETB reseptörlerinin bloke edilmesi ET-1 plazma düzeyinde artışa neden olur. İn vitro ve in vivo deneyler ETB reseptörlerinin renal su ve tuz atılımındaki rolünü dolayısıyla da kan basıncının kontrolündeki önemini desteklemiştir.⁹⁴⁻⁹⁷ Son 10 yılda yapılan hayvan deneylerinde ETB bağımlı natriürez ve diürez üzerinde odaklanılmıştır.⁹⁸⁻¹⁰⁰ Bu deneyler göstermiştir ki toplayıcı kanaldan salınan ET-1 natriürez ve diürez etkisini endotelden çok epitel üzerinde ETB reseptörlerine etki etmektedir.

Şu ana kadar ETB reseptörlerinin insanlardaki tuz ve su dengesi üzerine yapılmış bir çalışma yoktur. Tuz bağımlı hipertansiyon daha çok siyah populasyonda

görülmekte olup, bu grupta beyazlara göre daha yüksek plazma ET-1 düzeyi olduğu gösterilmiş ve ETA reseptörlerine bağlı olarak vazokonstriksiyon gözlenmiştir.¹⁰¹

3.2. Endotelin Reseptör Antagonistleri

Son 10 yılda yapılan çalışmalarda selektif (ETA) ve karma (ETA/B) antagonistleri geliştirilmiştir.¹⁰² Karma etkili antagonistlerle yapılan çalışmalar hala ETA reseptörü için selektif kabul edilirler. ETA: ETB affiniteleri karşılaştırıldığında karma etkililer ETA reseptörüne <100 kat iken selektif ETA ajanların affinitesi >100 olarak gözlenmiştir.

PAH vakalarında ET reseptör antagonisti endikasyon dahilinde lisans almıştır. Selektif ETA antagonisti olan sitaksentan, ambrisentan, atrasentan, avosentan, clazosentan, darusentan ve karma antagonist olan bosentan ile yapılan çalışmalar etkili olduğunu göstermiştir.¹⁰³⁻¹⁰⁵

3.3. Esansiyel Hipertansiyon

ET-1'in basınç üzerindeki etkilerine yönelik ilk bulgular hipertansiyona neden olabileceği yönünde spekülasyonlara neden olmuştur.¹⁰⁶ Hayvan hipertansiyon modellerinin bazılarında ET-1 üretiminde artış gözlenmiştir. ET blokerlerinin kullanılması kan basıncında azalmaya, inme ve böbrek hasarında azalmaya neden olmuştur.¹⁰⁷ ET-1 düzeyindeki artış özellikle tuz bağımlı hipertansiyon modellerinde daha belirgin olup, aynı zamanda damar büyümesinde neden olmuştur. Selektif veya karma etkili ET reseptör antagonistleri sadece kan basıncında azalmaya değil aynı zamanda damar büyümesinde gerilemeye de neden olmuştur. Bu olay aynı zamanda deoksikortikosteron asetat- tuzuna bağlı hipertansiyonu olan sıçanlarda kan basıncının azaldığı gösterilmiştir.^{108,109} Birçok orta ağır kan basıncı yüksekliği ile giden çalışmalarda ET sistemin aktive olduğu gözlenmiştir. Orta ağır hipertansiyon hastalarının küçük arterlerinin endotelinde prepro-ET-1 düzeyi artmıştır.¹¹⁰ Hipertansif hastaların büyük elastik ve muskuler arterlerin düz kas hücrelerinde ET-1 düzeyinin arttığı gözlenmiştir.¹¹¹

4. MATERYAL VE METOD

4.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji-İmmünoloji Bilim Dalı'nda takip edilen 43 prospektif SSc'lu hasta ve 42 sağlıklı kontrol grubu alındı.

Hastaların tamamı Amerika Romatoloji Birliği'nin SSc kriterlerine göre seçildi.

Kreatinin düzeyi yüksek olanlar ve tiroid fonksiyon bozukluğu olanlar çalışma dışı bırakıldı. Hastaların yazılı onamları alınarak 15 gün boyunca ilaçsız bir dönemden sonra kan örnekleri alındı. Çalışmamız Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 12.06.2007 tarih, 6 No'lu karar ile onay aldı.

Hastalarda eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C reaktif protein (CRP) ölçümü yapıldı. CRP, BNII (Dade Behring) marka cihazla, nefelometrik yöntemle; ESH, Alifax cihazıyla çalışıldı.

Hastalara akciğer tutulumu açısından yüksek rezülasyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT) çekildi. Sonuçları normal bulgular, buzlu cam görünümü ve akciğer fibrozisi olarak 3 sınıfa ayrıldı.

Solunum fonksiyon testi ve DLCO bakıldı. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları A.D. laboratuvarında Jaeger marka MS/ PFT Analyzer Unit cihazıyla ölçüldü. Çalışmaya ATS/ ERS solunum fonksiyon testi normlarına uygun olanlar değerlendirmeye alındı.

Hastaların cilt skorları Modifiye Rodnan Cilt skorlama yöntemi ile değerlendirildi.

Hastalarda ANA, ACA, Scl-70 bakıldı. ANA Hep-2 substratı içeren ticari kit (ASTRA, İtalya) Anti-DNA Crithidia lucilia substratı içeren kit (Zeus Scientific Inc. NJ, ABD) kullanılarak, immunfloresan yöntemle ölçüldü. ACA, Anti-centromere B substratı içeren ticari kit (Organtec Diagnostika GmbH); Scl-70, Scl-70 substratı içeren ticari kit (Organtec Diagnostika GmbH) ile DSX SYSTEM (DYNEX TECHNOLOGIES) marka cihazda ELİSA yöntemiyle bakıldı.

4.2. Ekokardiyografi

Tüm hastalara Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Ana Bilim Dalı Ekokardiyografi Ünitesi'nde EKG monitorizasyonu eşliğinde Acuson Sequola C 256 model cihaz (Acuson Corporation, Mountain View, CA, ABD) ve 3,5 mHZ frekanslı transduser kullanılarak transtorasik ekokardiyografik inceleme yapıldı. İnceleme hasta sırt üstü yatar pozisyonda veya sol yana yatar şekilde, uygun ekokardiyografik pencereler bulunarak yapıldı.

4.2.1. M-mod Ekokardiyografik İnceleme

Amerikan Ekokardiyografi Derneği'nin önerileri göz önünde bulundurularak parasternal uzun aks üzerinde mitral kapak ile papiller adale arasından uygun M-mod görüntüleri elde edildi. Ultrasonografik ışınların interventriküler septum ve sol ventrikül arka duvarına dik düşmesine özen gösterildi. Elde edilen kesitlerden sol ventrikül sistol ve diyastol sonu iç boyutları ölçüldü ve ekokardiyografi cihazı tarafından otomatik olarak sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu hesaplandı. Ayrıca aynı pencereden septum ve arka duvar kalınlıkları ile sol atriyum sistol ve diyastol sonu boyutları da ölçüldü.

4.2.2. İki Boyutlu Ekokardiyografik İnceleme

İki boyutlu ekokardiyografik inceleme ile her iki ventrikülün duvar hareketleri, kapak yapı ve işlevleri ile perikardiyal patolojiler incelendi. Hastaların büyük bir kısmında bölgesel sol ventrikül duvar hareket kusuru olması nedeniyle sistolik işlev, iki boyutlu ekokardiyografi görüntüleri kullanılarak belirlendi. Apikal dört boşluk görüntüleri ile sol atriyum ve sol ventrikülün volümü diyastol ve sistol sonunda endokart yüzeyinden çizilerek bulundu. Daha sonra ekokardiyografi cihazında mevcut olan modifiye Simpson yöntemine göre otomatik olarak sol ventrikül sistol ve diyastol sonu hacimleri ve ejeksiyon fraksiyonu hesaplandı.

4.2.3. Doppler Ekokardiyografik İnceleme

Nabız dalgalı Doppler ekokardiyografi ölçümleri apikal dört boşluk kesitinde mitral kapak uçlarına örnek volüm konularak aortik sistolik ejeksiyon akımı ile sol ventrikül doluş değişkenleri ölçüldü. Elde edilen bu kayıtlar üzerinden sol ventrikül diyastolik erken (A) ve gec (E) dalgaların akım zirve hızları ve bu dalgaların oranları (E/A) ölçülerek sol ventrikül diyastolik işlevi değerlendirildi. Mitral A dalgasının bittiği nokta ile mitral E dalgasının başladığı noktaya kadar geçen süre (a) ve sol ventrikül ejeksiyon süresi (b) ölçüldü. Bu iki ölçüm arasındaki fark (a-b), izovolümetrik kasılma ve izovolümetrik gevşeme zamanlarının toplamı olarak kabul edildi. Daha sonra miyokardiyal performans indeksi (a-b)/b formülü kullanılarak hesaplandı. Parasternal kısa aks görüntüleri ile ortalama pulmoner arter basıncı (PAB) hesaplandı.

4.2.4. Doku Doppler Ekokardiyografik İnceleme

Nabız dalgalı doku Doppler incelemesi yapılırken duvar filtresi en düşük düzey, yansıma ayarı ise en yüksek düzeyde tutuldu. Nyquist limit 15-20 cm/s'ye getirilerek örnekleme volüm genişliği 2 mm² olarak ayarlandı. Doku Doppler görüntüleri 100 m/s hızla kayıt edildi. Ultrasonografik ışınların lateral mitral anülüse paralel olmasına özen gösterildi. Nabız dalgalı Doppler ile miyokart hareketlerini gösteren pozitif sistolik (S_m), negatif erken diyastolik (E_m) ve negatif geç diyastolik (A_m) dalgadan oluşan ekokardiyografik görüntü elde edildi. Sol ventrikül sistolik işlevini değerlendirmek için sol ventrikül ejeksiyon süresine ait pozitif ilk S_m dalgasının büyüklüğü ölçüldü.

4.3. 24 Saatlik Kan Basıncı Ölçümü

24 saatlik holter aleti ile kan basıncı ölçüldü. Anti hipertansif ilaç kullanan hastalara bilgi verilererek en az 1 gün süre ile ilaç alımına ara verildikten sonra ölçüm işlemi yapıldı. Kabul etmeyen hastalarda ise bir kez kan basıncı ölçüldü. Holter aleti ile saatlik kan basıncı ölçülen hasta ve kontrol gruplarında ortalama sistolik ve diastolik kanbasıncı, manuel kan basıncı ölçülen hastalarda ise tek ölçüm sonucu değerlendirmeye alındı. Holter ölçümü Space Labs, Inc. Model No: 90207-30 Serial No: 207-031966 (Manufactured in USA Redmond, Washington) marka cihaz ile, manuel kan basıncı ölçümü ise ERKA D-83646 Bad Tölz, RANGE: 29-40 cm marka cihazla yapıldı.

4.4. Plazma Endotelin -1 Düzeyi Ölçümü

Plazma endotelin düzeyi, endothelin (1-21) (BIOMEDICA GRUPPE) ticari kitleri kullanılarak DSX SYSTEM (DYNEX TECHNOLOGIES) marka cihazda elisa yöntemiyle bakıldı.

4.4.1. Kit Komponentleri

PLATE: poliklonal anti endotelin antikorları

WASHBUF: yıkama solüsyonu

AB: monoklonal fare anti endotelin antikoru

STD: standartlar (0-20 fmol/ml) sentetik insan endotelin-1 (1-21) insan plazması içinde liyofilize formda

CTRL: kontroller, sentetik insan endotelin-1 (1-21) insan plazması içinde liyofilize formda

CONJ: konjugat (anti fare IgG antikoru-HRPO)

SUB: substrat (TMB solüsyonu)

STOP: stop solüsyonu

ET-STOCK: endotelin stock, sentetik insan endotelin-1 (1-21) liyofilize formda

4.4.2. Örnek Hazırlanması

STD: 0.5 ml distile su içerisinde oda sıcaklığında (18-26°C) 30 dakika boyunca iyice karıştırılarak çözülür.

CTRL: 0.5 ml distile su içerisinde oda sıcaklığında (18-26°C) 30 dakika boyunca iyice karıştırılarak çözülür

WASHBUF: 1:20 oranında dilüe edilerek (50 ml konsantre madde + 950 ml distile su) yıkama solüsyonundaki kristaller oda sıcaklığında çözünür. Kullanılacağı zamana kadar 2-8°C'de saklanabilir.

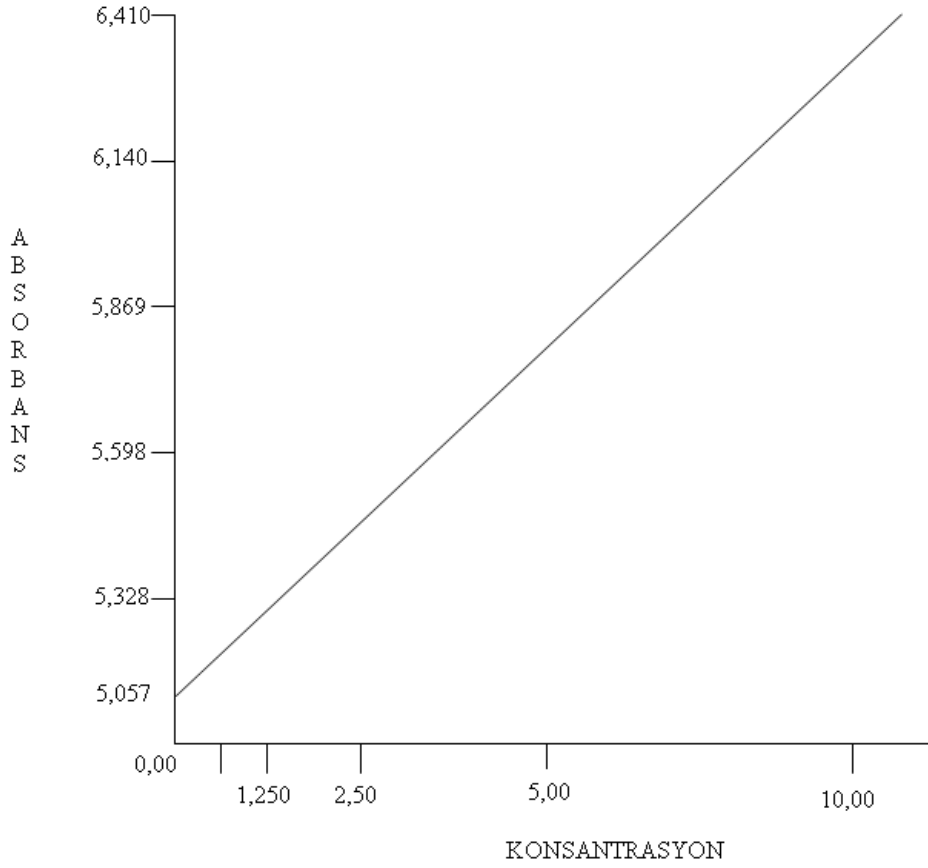
Çalışmada taze EDTA'lı plazma kullanıldı. Alınan kan örnekleri EDTA'lı tüplerde soğutmalı santrifüjde 5 dk/3000 devirde santrifüje edilerek -40°C saklandı. lipemik ve hemolize örnekler çalışmaya alınmadı. Deney yapılmadan önce oda sıcaklığında (18-26°C) çözülmesi sağlandı. Çalışmaya başlanmadan önce iyice karıştırıldı. Yüksek konsantrasyonlu örnekler 0.9% NaCl solüsyonu ile dilüe edildi

4.4.3. Deneyin Yapılışı

- 1- Tüm reijenler ve örneklerle testten önce oda sıcaklığına (18-26°C) getirildi.
- 2- *Blank* dışındaki bütün kuyucuklara 50 mikrolitre STD/örnek/CTRL konuldu
- 3- *Blank* dışındaki bütün kuyucuklara 200 mikrolitre AB konuldu
- 4- Kapaklar sıkıca kapatıldıktan sonra hafifçe karıştırılarak oda sıcaklığında 16-24 saat bekletildi.
- 5- Beklemeden sonra bütün kuyucuklar aspire edildi. Toplam 5 defa 300 mikrolitre WASHBUF ile dilüe edilerek yıkandı. En son yıkamadan sonra kağıt havlu üzerine plate ters çevrilerek WASHBUF uzaklaştırıldı.
- 6- Bütün kuyucuklara 200 mikrolitre CONJ konuldu. Kapaklar sıkıca kapatılarak 1 saat oda sıcaklığında bekletildi.
- 7- Bütün kuyucuklar aspire edildi. Toplam 5 defa 300 mikrolitre WASHBUF ile dilüe edilerek yıkandı. En son yıkamadan sonra kağıt havlu üzerine plate ters çevrilerek WASHBUF uzaklaştırıldı.
- 8- Bütün kuyucuklara 200 mikrolitre SUBS konuldu. 30 dakika karanlıkta, oda sıcaklığında bekletildi.
- 9- Bütün kuyucuklara 50 mikrolitre STOP ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra 620 nanometre referans ile 450 nanometre absorbansta ölçüldü.

Sonuçların hesaplanması:

Blank'tan alınan sonuç diğer kuyucuklardan alınan sonuçlardan çıkartıldı. Standart kuyucuklardan elde edilen değerlerden bir standart eğrisi oluşturuldu. Sonuçlar bu eğriye göre işlendi.



Eğri: $y = Ax + B$
Katsayı: $A=0,135$ $B=0,605$
R-Sqr: 0,9306

Şekil 1. Plazma endotelin-1 standart eğrisi.

4.5. Endotelin Reseptör Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

4.5.1. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler

- Termal Döngü Cihazı
- Soğutmalı Santrifüj
- Mikrosantrifüj
- Yatay elektroforez sistemi
- Elektroforez güç kaynağı
- Elektronik hassas terazi
- Hız ayarlı Vorteks
- Otomatik pipetler
- pH metre

- Enjektörler
- UV transillumunator
- UV görüntü analiz sistemi
- Steril 0,2 ml, 0,5 ml, 1,5 ml, 2 ml eppendorf santrifüj tüpleri
- Isıtıcı manyetik karıştırıcı
- İnkübasyon cihazı
- Agaroz (Sigma)
- Tris-Base (Sigma)
- EDTA, sodyum tuzu (Sigma)
- SDS, Sodyumdodesildülfat (Sigma)
- Etil alkol (Merck)
- Borik asit (Sigma)
- Etidyum bromür (Sigma)
- Proteinaz K (Sigma)
- Taq DNA polimeraz enzimi (Promega)
- Restriksiyon enzimleri (Promega ve Fermentas)
- 10 X PCR buffer (Promega)
- Deoksiribonükleotid trifosfatlar (dNTPs, Promega)
- Brom fenol blue (Sigma B-6896)
- Mineral yağ (Sigma M-5904)
- Potasyum bikarbonat (Merck C754962)
- Sodyum klorür (Merck)
- Ksilen siyanol (Sigma X-4126)
- Fenol (Sigma)
- Kloroform (Merck)
- DNA *size marker* (100 bp DNA ladder, Puc 19 DNA/Msp1 Marker) (Promega)
- MgCl₂ (Promega)

4.5.2. Çalışmada Kullanılan Stok Solüsyonların Hazırlanması

- 0,5 M EDTA pH 8,0

- 18,61 g disodyum EDTA
 - 80 ml bidistile H₂O içinde çözülür.
 - Solüsyona 2 g NaOH tableti atılarak eritilir.
 - pH 8'e ulaştığında bidistile H₂O ile 100 ml tamamlanır.
 - Otoklavda steril edilir.
- 1 M Tris Tamponu (Stok)
 - 121,1 g Tris base tartılarak bir behere alındı. Üzerine 42 mikrolitre HCl ile yaklaşık 800 ml ddH₂O eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözüldürüldü. Daha sonra balon jöjeye aktarıldı ve 1 litreye tamamlandı. 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.
- 10 X TBE (Stok Solüsyonu)
 - 108 g Tris-base (0,9M)
 - 55 g Borik asit (0,9M)
 - 40 ml 0,5 M EDTA pH 8,0 (20mM)
 - Tris-base ve borik asit 700 ml bidistile H₂O içinde çözülür
 - EDTA eklenir.
 - Bidistile H₂O ile 1000 ml'ye tamamlanır.
 - Oda sıcaklığında saklanır.
- 1 X TBE (Çalışma Solüsyonu)
 - 100 ml 10 X TBE stoktan
 - 900 ml bidistile H₂O eklenir.
- Edityum bromür solüsyonu (10 mg/ml)
 - 1 g Edityum bromür
 - 10 ml bidistile H₂O içinde çözülür.
 - Işık almayan bir şişe içinde +4 °C'de saklanır.
 - Stok solüsyondan, çalışma solüsyonu 0,5 mg/ml olacak şekilde hazırlanır.

- Proteinaz K (Sigma) Solüsyonu
 - 10 ml 500 mM'lık Tris (pH 8) solüsyonu içine 100 mM'lık CaCl_2 'den 0,1 ml ilave edilir ve 100 mg proteinaz K solüsyona eklenir. Bu şekilde 10 mg/ml proteinaz K solüsyonları hazırlanır.
- % 10'luk SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) (Merck)
 - 10 g sodyum dodesi sülfat tartıldı. SDS tozlarını kaldırmamaya dikkate ederek beher içine alındı ve üzerine 80 mililitre ddH₂O eklendi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldü ve pH'sı 7,2'ye ayarlandı. 0,22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.
- 4 M Sodyum Klorür (NaCl)
 - 233,6 gram Sodyum klorür tartılarak erlene alındı. Üzerine 800 ml ddH₂O ilave edildi ve manyetik karıştırıcı ile iyice çözündürüldü. Balon jöjeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.
- Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5X)
 - 20 g Ficoll 400, 1 g SDS, 0,2 ml 0,5 M EDTA, 1 ml 1 M'lık Tris (pH 8), 200 mg Brom fenol blue, 200 mg Xylen cyanol tartılarak steril ddH₂O ile 100 ml'ye tamamlandı. Oda sıcaklığında saklandı.
- Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer)
 - 8,74 g Amonyum klorür, 1 g Potasyum bikarbonat, 200 µl 0,5 M'lık EDTA'nın tartımları yapılarak erlen içine alındı. 900 ml ddH₂O eklendi ve çözeltinin pH'sı 1 N NaOH ile 7,4'e ayarlandı. Daha sonra balon jöje içine alınarak 1 litreye tamamlandı. Çözelti ısıya dayanıklı şişelere aktarılarak 120 °C'de 15 dakika otoklavlandı ve +4 °C'de saklandı.

- Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer-WBL)
 - 25 ml 4 M NaCl ve 50 ml 0,5 M EDTA direk balon jöjeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

4.5.3. DNA İzolasyon Yöntemi

DNA izolasyonu için *High Pure PCR Template Preparation Kit* (Cat.No.11796828001, *Roche Diagnostics*, Almanya) kullanıldı. Kitin kullanım klavuzunda belirtildiği gibi işlemler aşağıdaki sırayla yapıldı:

1- 200µl EDTA'lı tam kan 2 ml'lik polipropilen tüpe alındı. 200µl bağlayıcı tampon ve 40µl proteinaz K eklenerek karıştırıldı. 70°C'de 10 dakika inkübe edildi.

2- 100µl isopropanol eklendi ve iyice karıştırıldı. Bu karışım *High Pure Filter* tüpe alındı. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Altaki toplama tüpü atıldı ve üstteki *High Pure Filter* tüpü temiz bir toplama tüpü üzerine alındı.

3- *High Pure Filter* tüpü üzerine 500µl inhibitör temizleyici solüsyon eklendi ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Altaki toplama tüpü atılır ve üstteki *High Pure Filter* tüpü temiz bir toplama tüpü üzerine alındı.

4- *High Pure Filter* tüpü üzerine 500µl yıkama solüsyonu eklendi ve tekrar 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Altaki toplama tüpü atıldı ve üstteki *High Pure Filter* tüpü temiz bir toplama tüpü üzerine alındı. Bu işlem bir keredede daha tekrarlandı.

5- *High Pure Filter* tüpü 13 000 rpm'de 10 saniye santrifüj edildi. Altaki toplama tüpü atıldı ve üstteki *High Pure Filter* tüpü DNA'nın saklanacağı temiz bir tüp üzerine alındı. Pürifiye edilmiş genomik DNA 200µl 70 °C inkübe edilmiş çözdürme solüsyonu ile çözdürüldü. Bu aşama sonra çözünmüş DNA'lar -20 °C'de polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirilinceye kadar saklandı.

4.5.4. Endotelin Reseptör A ve Reseptör B Genlerinin PCR ile Çoğaltılması

4.5.4.1. Endotelin Reseptör A -231G>A Polimorfizminin Genetik Analizi

Endotelin Reseptör A -231G>A polimorfizmi içerisinde bulunduran 261 bazçiftlik hedef bölgesinin DNA dizisi ve çoğaltılmasında kullanılan primer çifti aşağıdaki gibidir (Tablo 1). NCBI Nükleotid veri tabanından alınan AY422989 rapor

PCR işlemini gerçekleştirmek için, otomatik ısı döngü cihazını aşağıda belirtilen sıcaklık ve sürelerle göre ayarlandı (Tablo 3)

Tablo 3. Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmini için PCR sıcaklıkları.

Reaksiyon Asaması	Sıcaklık°C	Süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	95	3 dk	1
Denatürasyon	95	40 sn	33
Annealing(primer bağlanması)	60	30 sn	
Extension(Zincir uzaması)	72	30 sn	
Final extension	72	7 dk	1

PCR için kullanılan karışım 0,2 ml'lik tüplere dağıtıldı ve üzerine saflaştırılan genomik DNA eklendi. Tüm işlemler tepkimenin doğru gerçekleşmesi için buz üstünde yapıldı. Bu şekilde elde edilen tepkime karışımı otomatik ısı döngü cihazına yerleştirilerek tepkime gerçekleştirildi. Tüm PCR'larda negatif kontrol olarak DNA içermeyen steril su kullanıldı.

4.5.4.2. Endotelin Reseptör B G57S Polimorfizminin Genetik Analizi

Endotelin Reseptör B G57S polimorfizmini içerisinde bulunduran 218 bazçiftlik hedef bölgesinin DNA dizisi ve çoğaltılmasında kullanılan primer çifti aşağıdaki gibidir (Tablo 4). NCBI Nükleotid veri tabanından alınan AY547312 rapor numaralı insan genomik sekansı kullanılmış ve primerlerin uygunluğunun testi için online Primer3 Output programından yararlanılmıştır.

Tablo 4. Endotelin reseptör B G57S polimorfizmini içerisinde bulunduran 218 bazçiftlik hedef bölgesinin DNA dizisi ve çoğaltılmasında kullanılan primer çifti.

PRİMER	Uzunuk (bç)	TM	GC%	DNA sekansı
LEFT PRİMER	20	59.83	45.00	5'-TGCAAACCGCAGAGATAATG-3'
RIGHT PRİMER	20	59.73	50.00	5'-GAACACAAGGCAGGACACAA -3'

Endotelin Reseptör B G57S polimorfizmini alan DNA dizisi aşağıdaki gibidir altı çizili nükleotid polimorfik olan nükleotidtir.

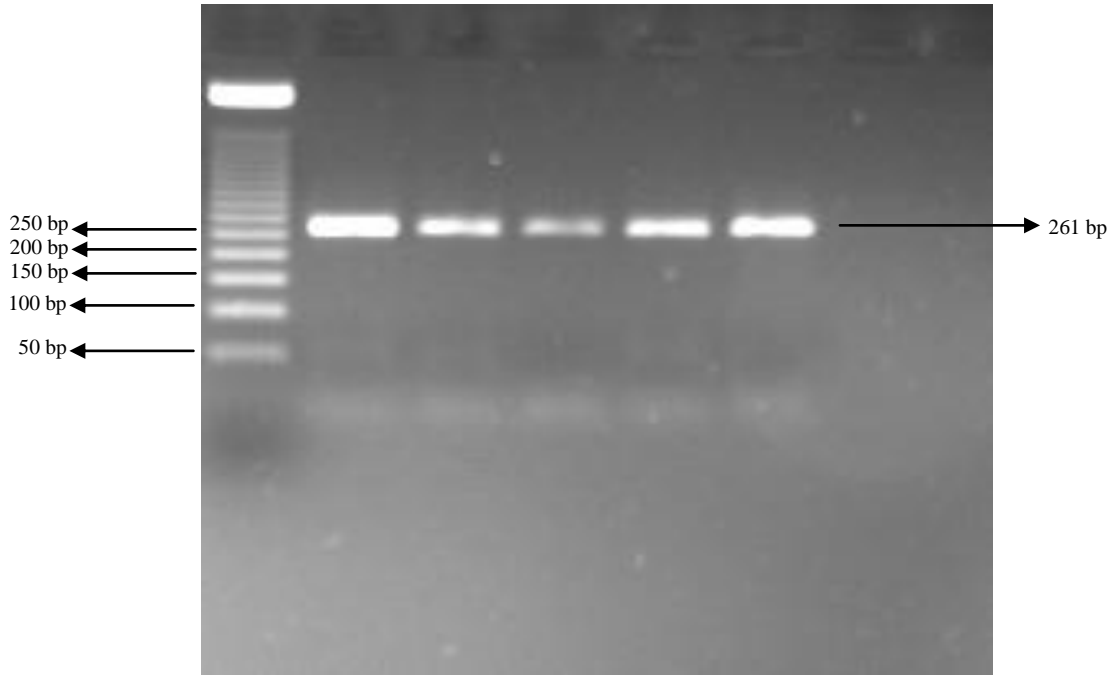
(10mM) 2 μ L, PCR tamponu 5 μ L, Taq DNA polimeraz (5U/ μ L) 0,3 μ L, DNA 5 μ L (250ng) ve son hacim 50 μ L olacak şekilde ddH₂O oluşur.

PCR işlemini gerçekleştirmek için, otomatik ısı döngü cihazını aşağıda belirtilen sıcaklık ve sürelerle göre ayarlandı.

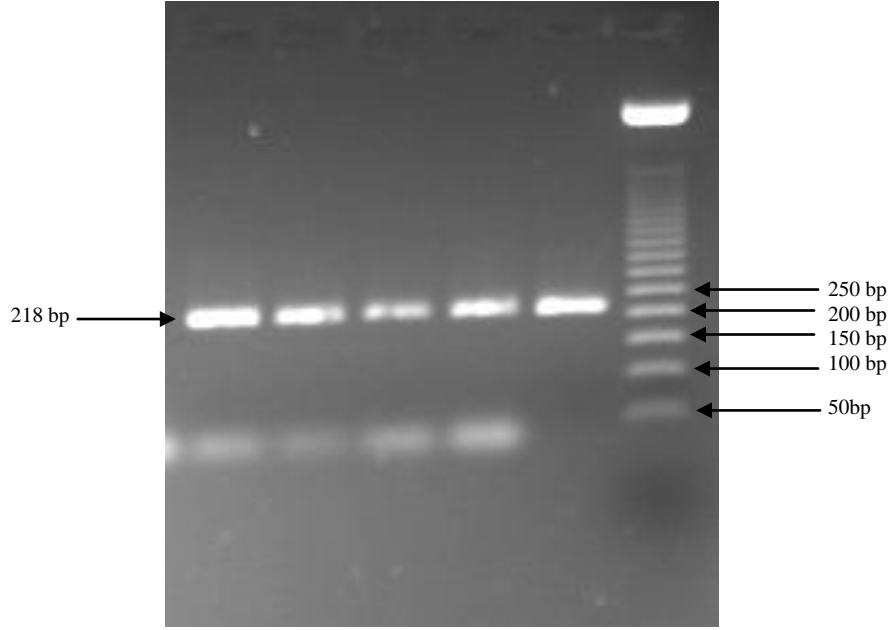
PCR için kullanılan karışım 0,2 ml'lik tüplere dağıtıldı ve üzerine saflaştırılan genomik DNA eklendi. Tüm işlemler tepkimenin doğru gerçekleşmesi için buz üstünde yapıldı. Bu şekilde elde edilen tepkime karışımı otomatik ısı döngü cihazına yerleştirilerek tepkime gerçekleştirildi. Tüm PCR'larda negatif kontrol olarak DNA içermeyen steril su kullanıldı.

4.5.4.3. Çoğaltılmış DNA'ların Elektroferezde Değerlendirilmesi

PCR sonucu oluşan DNA'ları yürütmek için %2'lik agaroz jel hazırlandı. 5 μ l PCR ürünü 1 μ l yükleme tamponuyla karıştırılarak kuyucuklara yüklendi. Jel 90 voltta 90 dakika elektroforeze tabi tutuldu. Ultraviyole lamba altında PCR'da kullanılan primer çiftlerine göre oluşan DNA bantları incelendi. Endotelin Reseptör A -231G>A polimorfizmi için 261 bazçiftlik 1 adet bant gözlemlendi (Şekil 2). Endotelin Reseptör B G57S polimorfizmini için 218 bazçiftlik 1 adet band gözlemlendi (Şekil 3).



Şekil 2. Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizminin tespiti için polimeraz zincir reaksiyonu sonucunun %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.



Şekil 3. Endotelin reseptör B G57S polimorfizminin tespiti için yapılan polimeraz zincir reaksiyonu sonucunun %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

4.5.5. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimleri ile Kesimi

4.5.5.1. Endotelin Reseptör A -231G>A Polimorfizminin

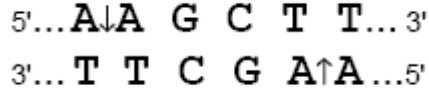
Genotiplendirilmesi

Polimeraz Zincir Reaksiyonu sonucunda oluşan 261 bazçiftlik DNA fragmentleri agaroz jel elektroforezi ile belirlendikten sonra Endotelin Reseptör A - 231G>A Polimorfizmi PCR tabanlı RFLP yöntemi ile belirlenmiştir. Bu işlem'nin (HindIII'nın (Fermentas Life Sciences, ER0501), ER0501) restriksiyon etkisi kullanılarak yapılmıştır.

HindIII (Fermentas Life Sciences, ER0501) Restriksiyon Enzimi

Fermentas Life Sciences tarafından üretilen HindIII endonükleazı Haemophilus influenzae Rd elde edilmiştir. Bu enzim restriksiyon etkisini yapışkan uç oluşturarak gösterir.

Restriksiyon Enzimi Tanımlama Bölgesi

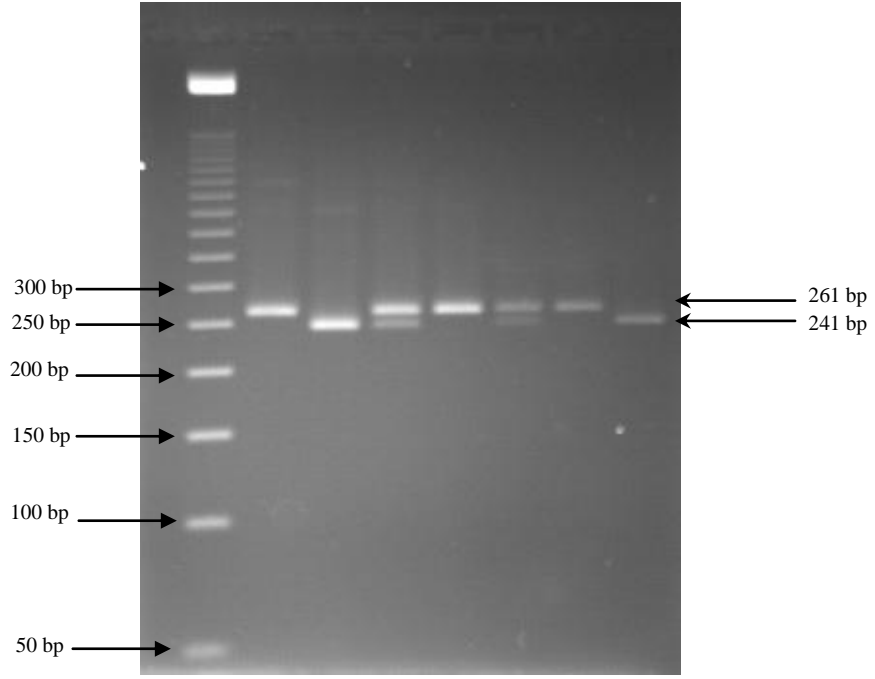


Deneyin Yapılışı:

0,5 ml'lik ependorf tüpünün içine 16 µl ddH₂O, 5 µl PCR ürünü, 2 µl HindIII endonükleaz tamponu, 5 ünite restriksiyon enzimi, 0,2 µl bovin serum albumin eklendi. Karışım enzimin optimum çalıştığı sıcaklık olan 37 °C'de ısıtıcı içinde 1 gece boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüplerden alınan kesim ürünü 3 µl Bromfenol mavisi ile karıştırılarak % 3'lük agaroz jele yüklendi. % 3'lük agaroz jelde PBR322 moleküler ağırlık belirteci ve enzim kesimi yapılmamış PCR ürünü eşliğinde 90 dakika 90 volt sabit akımda yürütülüp ultraviyole lamba altında incelenip fotoğrafı çekildi.

261 bp'lik PCR ürünü uygun şartlar altında restriksiyon enzimi ile muamele edilir ve çoğaltılan DNA fragmentinde HindIII restriksiyon enziminin tanıma bölgesi olan "AAGCTT" bölgesi yer alırsa DNA fragmenti restriksiyon enzimi tarafından sindirilir. Şekil.'de görüldüğü üzere restriksiyon enzimi tarafından sindirilmiş 261 bp'lik DNA fragmenti 241 bp'lik ve 20 bp'lik iki alt üniteye dönüşmüştür.

Endotelin Reseptör A -231G>A Polimorfizmi sırasıyla 261 bp, 241 bp ve 41 bp'lik fragmentlere göre analiz edilmiştir. Buna göre 261 bp'lik tek bir fragmentin üzerinde HindIII enzimsel bir tanıma bölgesi ve restriksiyona tabii olmadığından -231 GG olarak değerlendirilmiştir. 241 bp ve 20 bp iki ayrı fragment ise HindIII enzimsel bir tanıma bölgesine sahip olan ve restriksiyona tabii olan -231 AA olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca allelerden birinin -231 G diğeri -231 A olmasıyla ortaya 3 farklı uzunlukta 261 bp, 241 bp ve 20 bp'lik üç farklı uzunlukta fragment oluşmuştur. Bunlarda heterozigot (-231 GA) olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4).

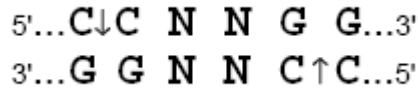


Şekil 4. Polimeraz zincir reaksiyonu tabanlı RFLP yöntemi ile HindIII restriksiyon enzimi kullanılarak endotelin reseptör A -231G>A polimorfizminin analizi.

4.5.5.2. Endotelin Reseptör B G57S Polimorfizminin Genotiplendirilmesi

Endotelin Reseptör B G57S Polimorfizminin tanımlamak için özgül primerler kullanılarak çoğaltılan 218 bp'lik hedef gen bölgesi (Fermentas Life Sciences, ER1081) restriksiyon enzimi ile kesildi. BseDI restriksiyon enziminin tanıma bölgesi şu şekildedir.

BseDI Restriksiyon Enzimi Tanımlama Bölgesi

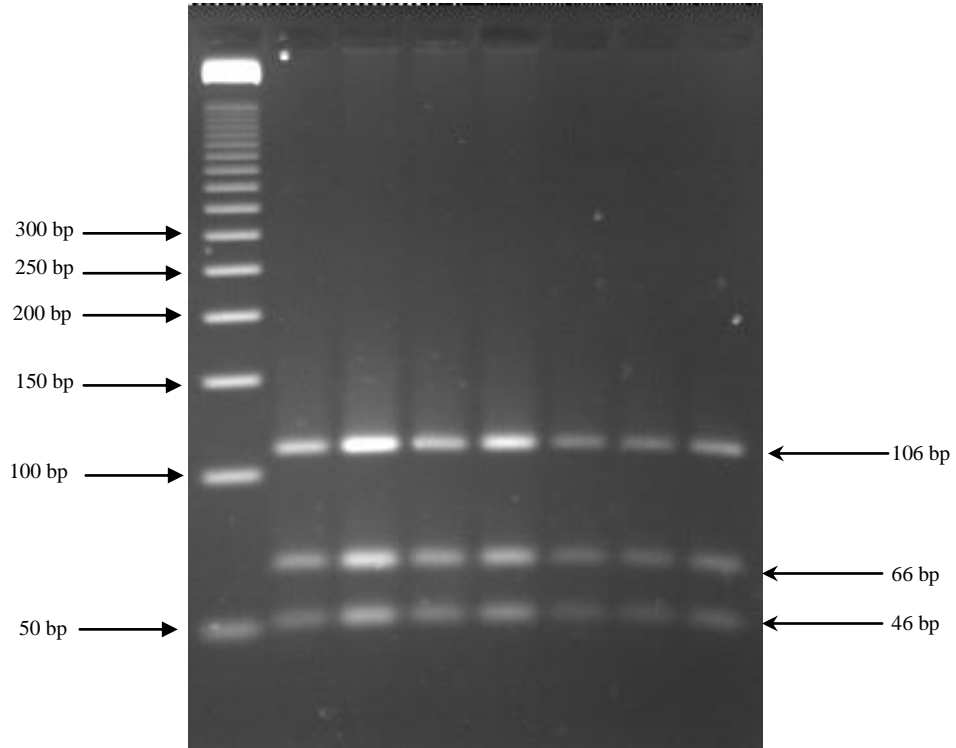


Deneyin Yapılışı:

0,5 ml'lik ependorf tüpünün içine 16 µl ddH₂O, 5 µl PCR ürünü, 2 µl endonükleaz tamponu ve 5 ünite **BseDI** restriksiyon enzimi eklendi. Karışım enzimin optimum çalıştığı sıcaklık olan 55 °C'de ısıtıcı içinde 1 gece boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüplerden alınan kesim ürünü 3 µl Bromfenol mavisi ile

karıştırılarak % 3'lük agaroz jele yüklendi. % 3'lük agaroz jelde PBR322 moleküler ağırlık belirteci ve enzim kesimi yapılmamış PCR ürünü eşliğinde 90 dakika 90 volt sabit akımda yürütülüp ultraviyole lamba altında incelenip fotoğrafı çekildi.

218 bç'lik PCR ürünü uygun şartlar altında restriksiyon enzimi ile muamele edildi. **BseDI** restriksiyon enzimi Endotelin Reseptör B G57S geni G57S noktasında Guanin nükleotidi bulunan PCR ürünü DNA fragmentlerini sindirerek 106 bç'lik, 66 bç'lik ve 46 bç'lik üç ayrı DNA fragmenti oluşturdu. Buna göre bant dizileri arasında, 106 bç'lik, 66 bç'lik ve 46 bç'lik üç ayrı DNA fragmenti Glisin homozigot, 152 ve 66 bç'lik iki DNA fragmenti Serin homozigot ve 152, 106, 66 ve 46 bç'lik dört DNA fragmenti Glisin/Serin heterozigot olarak kabul edildi (Şekil 5).



Şekil 5. Polimeraz zincir reaksiyonu tabanlı RFLP yöntemi ile **BseDI** restriksiyon enzimi kullanılarak endotelin reseptör B G57S polimorfizminin analizi.

4.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS v16 paket programıyla yapıldı. Cinsiyet, polimorfizm ve YRBT gibi kesikli değişkenlerin grup karşılaştırmalarında Ki-Kare veya Fisher exact testinden yararlanıldı. Yaş, endotelin ve cilt skoru gibi sürekli değişkenlerin ikili grup

karşılaştırmalarında t-testi veya onun nonparametrik karşılığı olan Mann-Whitney testi ve üçlü grup karşılaştırmaları için ise Kruskal-Wallis testi uygulandı. Plazma ET-1, FVC, DLCO, EF gibi sürekli değişkenler arasındaki ilişki regresyon analizi ile modellenirken yaşa göre düzeltme yapıldı. Çalışmada $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının demografik özellikleri Tablo 7, hasta grubu transtorasik ekokardiyografi bulguları Tablo 8, hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının 24 saatlik ortalama nabız, sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri Tablo 9, hasta grubu akciğer bulguları Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 7. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının demografik özellikleri

	Hasta (n=43)	Kontrol (n=42)
Yaş* (yıl)	51,8 ± 13,7 55 (24 / 84)	38,8 ± 12,0 39 (18 / 68)
Cinsiyet (E/K) n (%)	2 / 41 (4,7 / 95,3)	0 / 42 (0 / 100)
Hastalık Tam Süresi* (ay)	81.2 ± 90.1 48 (4 / 480)	
Modifiye Rodnan Cilt Skoru*	16,9 ± 6,3 16 (7 / 32)	
Sınırlı skleroderma n (%)	3 (7)	
Diffüz kutanöz skleroderma n (%)	40 (93)	
Seroloji n (%)	ANA	34 (79.1)
	Anti-Scl-70	32 (74.4)
	ACA	4 (9.3)

* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir.
E: Erkek, K: Kadın, ANA: Anti nükleer antikor, ACA: Anti sentromer antikor, Anti-Scl-70: Anti topoizomeraz I

Tablo 8. Hasta grubu transtorasik ekokardiyografi bulguları

EKO ile PAB † (mm Hg) (n=38)	<25	25-40	>41
		27 (71)	8 (21)
Sol Ventrikül Ejeksiyon Fraksiyonu* (n=38)	66,13 ± 8,27 68 (22 / 75)		
Perikardiyal effüzyon † (n=38)	1 (2)		

* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/ Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir.
† Sayı (% değerler) olarak verilmiştir. EKO: Transtorasik ekokardiyografi, PAB: Pulmoner arter basıncı

Tablo 9. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda 24 saatlik ortalama kan basıncı ve nabız.

	Hasta (n=38)	Kontrol (n=42)
Sistolik kan basıncı (mmHg)*	111,63±13,30 110 (90 / 146)	113,47±9,46 114 (95 / 130)
Diastolik kan basıncı (mmHg)*	66,5±8,38 64,5 (55 / 86)	69,52±8,81 69,5 (50 / 87)
Nabız /dakika*	73,9±9,6 73 (64 / 90)	75,2±7,5 74,5 (64 / 90)

* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/ Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir.

Tablo 10. Hasta grubu akciğer bulguları

Hasta (n=43)			
FVC *	87.0 ± 22 87 (30 / 153)		
DLCO*	66,1 ± 20,4 67 (12 / 106)		
YRBT n(%)	Normal	Buzlu cam görünümü	Fibrozis
	21 (48,8)	8 (18,6)	14 (32,6)

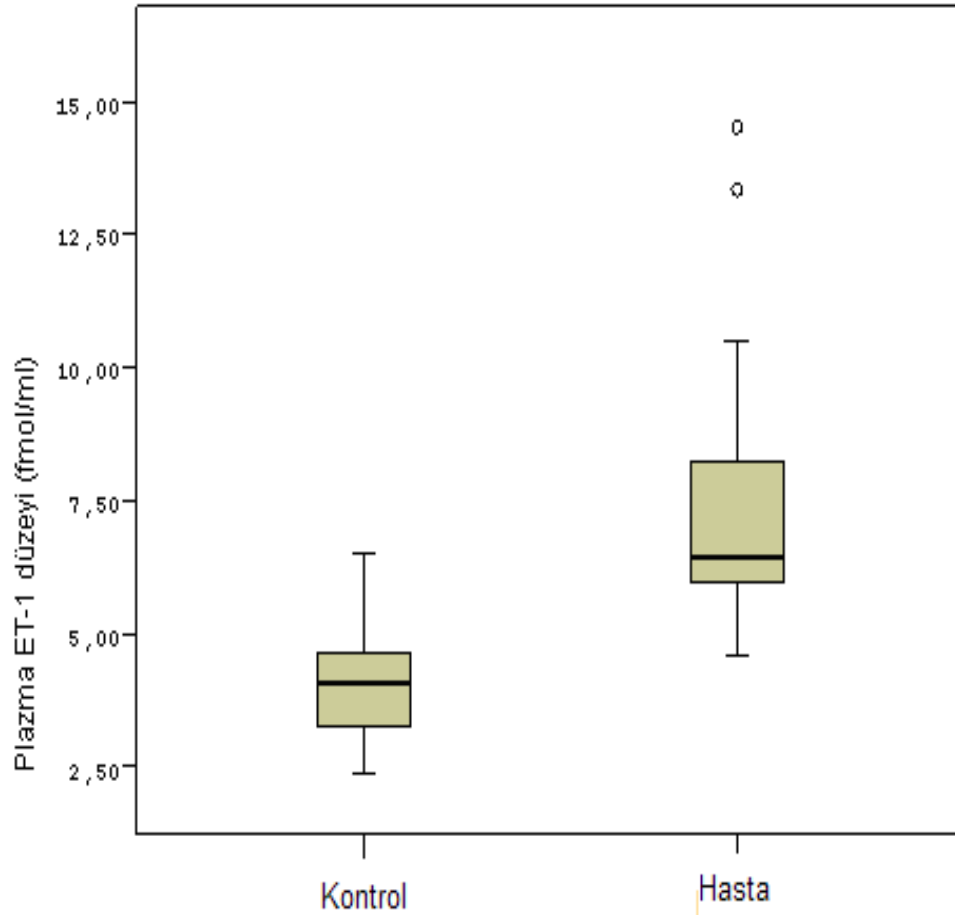
*Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/ Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir.
FVC: Zorlu vital kapasite, DLCO: Karbonmonoksit difüzyon kapasitesi, YRBT: Yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi.

Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda plazma ET-1 düzeyi bakıldı. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,001$). Her iki grubun değerleri Tablo 11’de, grafiksel değerleri şekil 6’da gösterilmiştir.

Tablo 11. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi

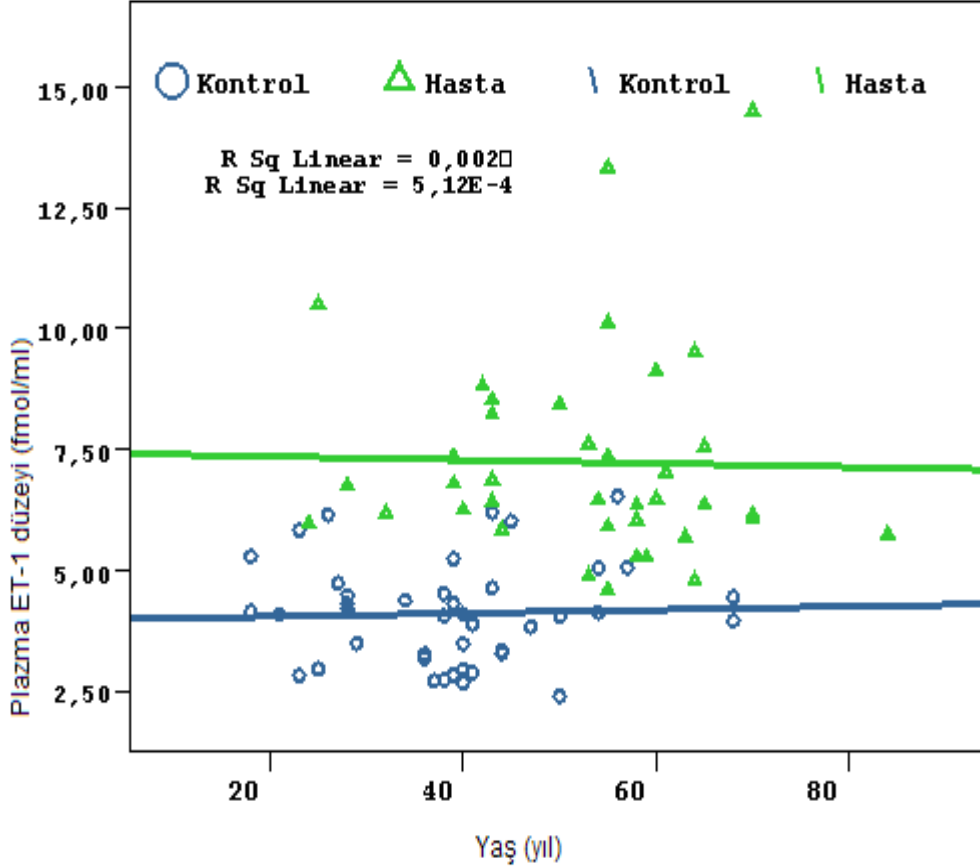
	Hasta (n=38)	Kontrol (n=42)	<i>p</i>
Plazma ET-1 düzeyi (fmol/ml)*	7,23±2,15 6,46 (4,58 / 14,52)	4,10±1,06 4,08 (2,39 / 6,53)	< 0,001

* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/ Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir.
ET-1: Endotelin-1



şekil 6. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi

Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında düzeltilmiş yaşa ile plazma ET-1 düzeyi arasında benzer ilişki gözlemlendi. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Her iki grubun grafiksel analizi Şekil 7’de gösterilmiştir.



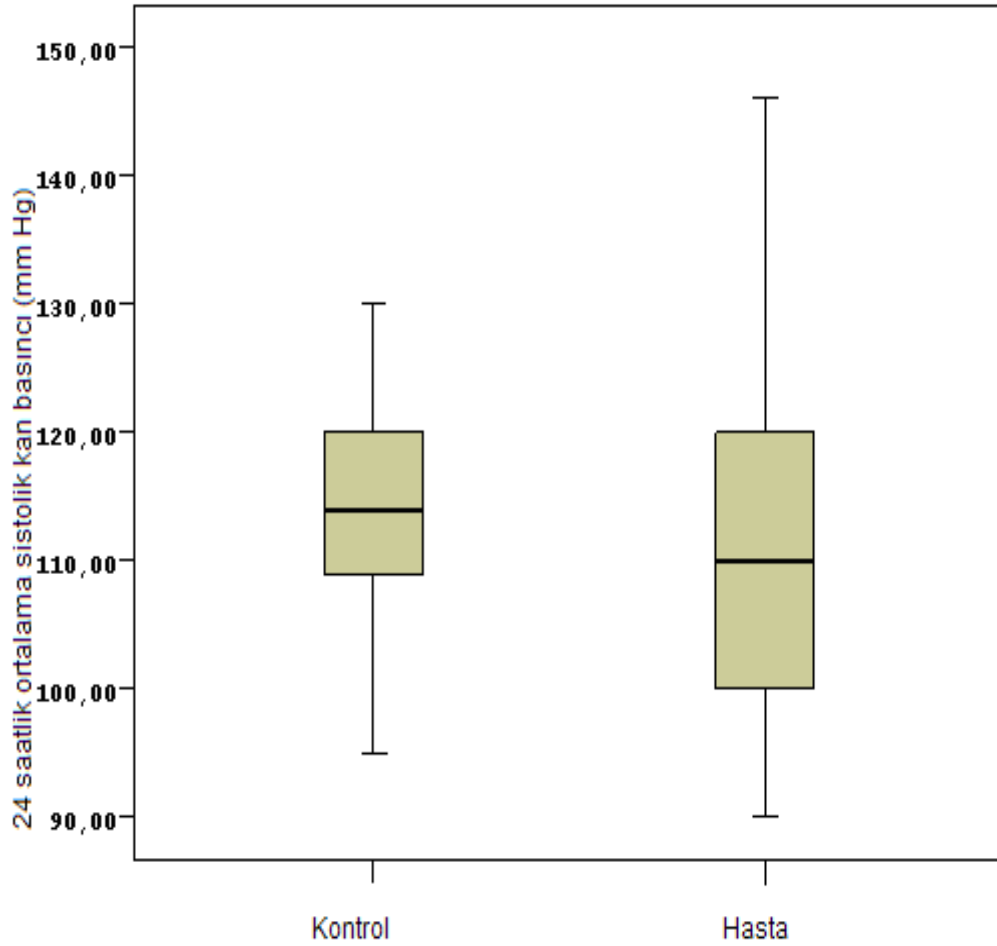
Şekil 7. Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında düzeltilmiş yaşa göre plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi

Sklerodermalı hasta ve sağlıklı kontrol gruplarına bakılan 24 saatlik Holter ile kan basıncı ölçümü ve nabız arasında dakikalık nabız sayımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Sistolik kan basıncı ölçümleri, diastolik kan basıncı ölçümleri, nabız ölçümleri ve *p* değerleri Tablo 12’de, grafiksel değerleri Şekil 8, Şekil 9 ve Şekil 10’da gösterilmiştir.

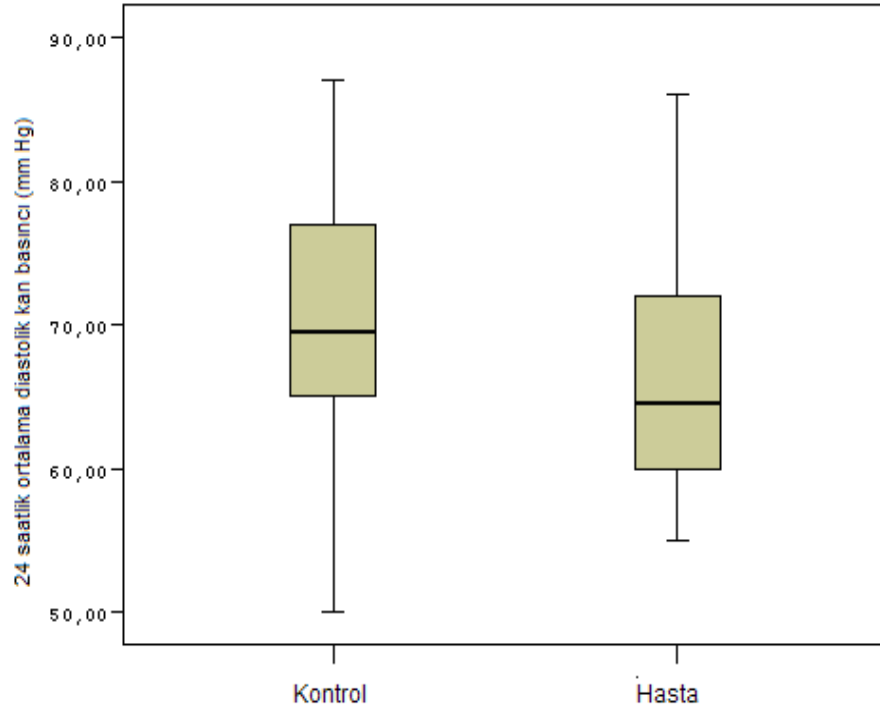
Tablo 12. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında 24 saatlik Holter ile kan basıncı ölçümü ve nabız sayımı.

	Hasta (n=38)	Kontrol (n=42)	<i>p</i>
24 saatlik sistolik kan basıncı (mmHg)*	111,63±13,30 110 (90 / 146)	113,47±9,46 114 (95 / 130)	0,255
24 saatlik diastolik kan basıncı (mmHg)*	66,5±8,38 64,5 (55 / 86)	69,52±8,81 69,5 (50 / 87)	0,060
24 saatlik nabız (dakikada)*	73,9±9,6 73 (64 / 90)	75,2±7,5 74,5 (64 / 90)	0,325

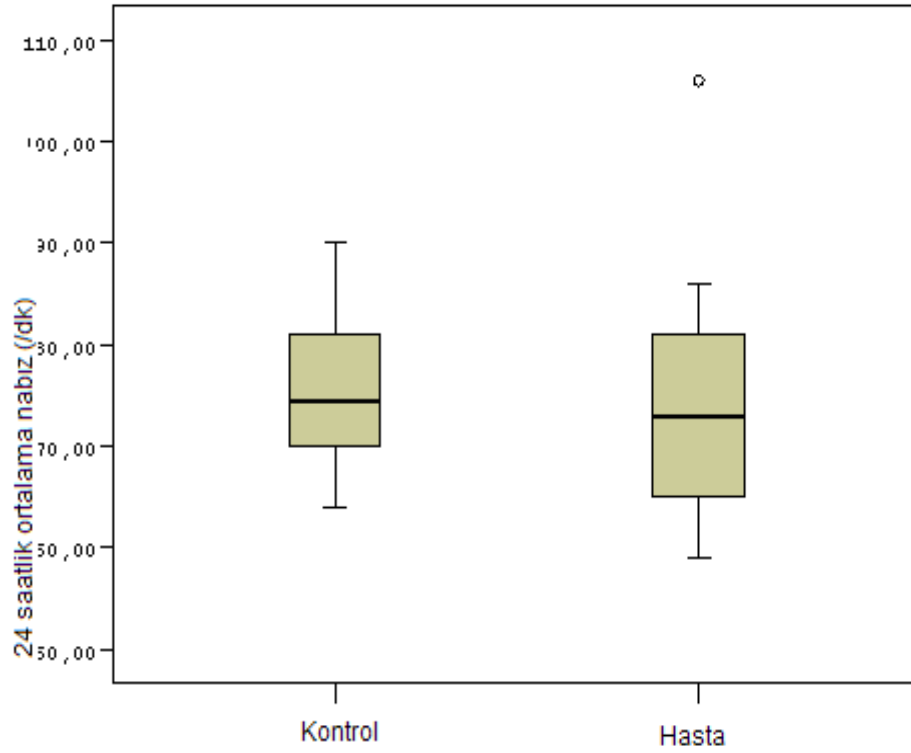
* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/ Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir.



Şekil 8. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında 24 saatlik Holter ile ortalama sistolik kan basıncı ölçümü.



Şekil 9. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında 24 saatlik Holter ile ortalama diastolik kan basıncı ölçümü.



Şekil 10. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında 24 saatlik Holter ile ortalama dakikalık nabız sayımı.

Plazma ET-1 düzeyi ile 24 saatlik ortalama sistolik kan basıncı arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=-0,166$, $p=0,321$).

Plazma ET-1 düzeyi ile 24 saatlik ortalama diastolik kan basıncı arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=-0,077$, $p=0,646$).

Plazma ET-1 düzeyi ile 24 saatlik ortalama dakikalık nabız arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=-0,161$, $p=0,334$).

Hasta grubunda hastalık süresi ile 24 saatlik ortalama sistolik kan basıncı arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=0,046$, $p=0,784$).

Hasta grubunda hastalık süresi ile 24 saatlik ortalama diastolik kan basıncı arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=0,040$, $p=0,813$).

Hasta grubunda hastalık süresi ile 24 saatlik ortalama dakikalık nabız arasında korelasyon gözlenmiştir ($r=-0,352$, $p=0,030$).

Hasta grubunda yaş ile 24 saatlik ortalama sistolik kan basıncı arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=-0,152$, $p=0,363$).

Hasta grubunda yaş ile 24 saatlik ortalama diastolik kan basıncı arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=-0,006$, $p=0,970$).

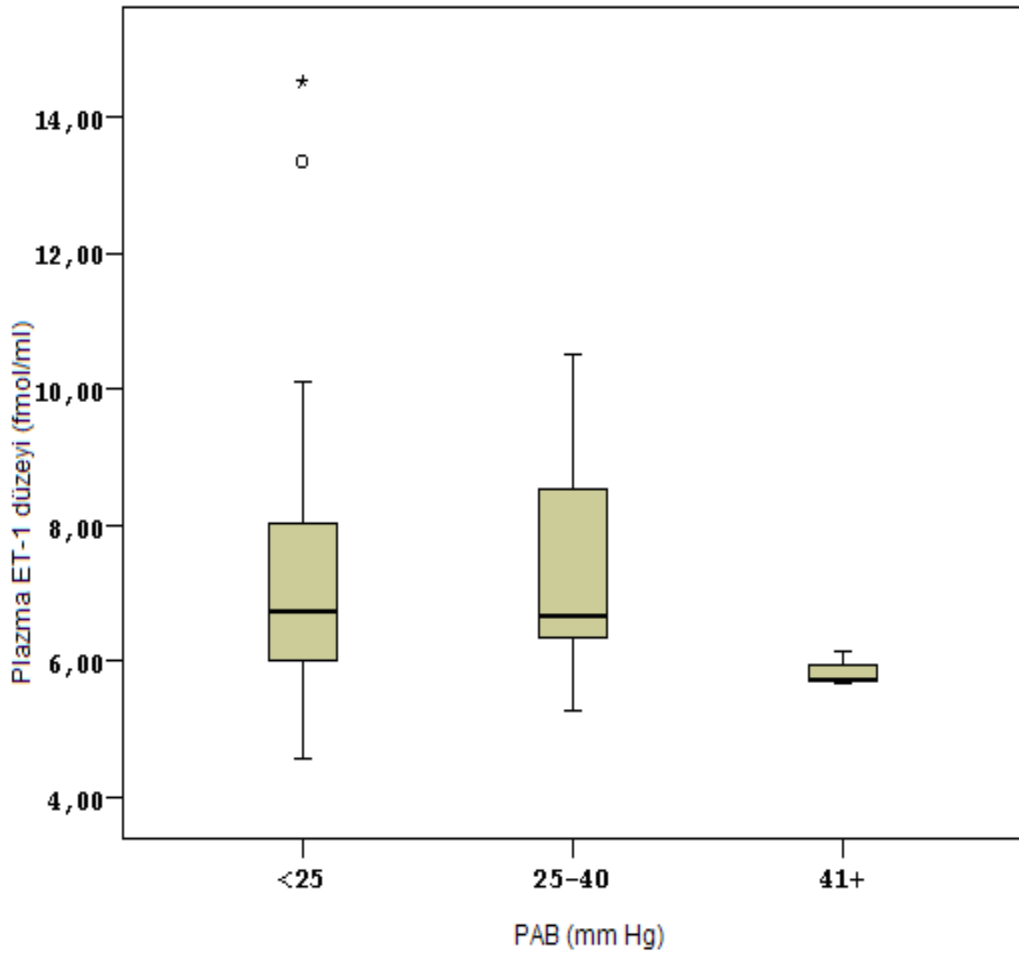
Her iki grupta da düzeltilmiş yaşa göre 24 saatlik ortalama sistolik, diastolik kan basıncı ve ortalama dakikalık nabız arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Sırasıyla $p=0,312$, $p=0,650$, $p=0,343$.

Hasta grubunda bakılan transtorasik ekokardiyografide sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ölçülmüştür. Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ile plazma ET-1 düzeyi arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=0,200$, $p=0,229$).

Yaş ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=-0,154$, $p=0,354$).

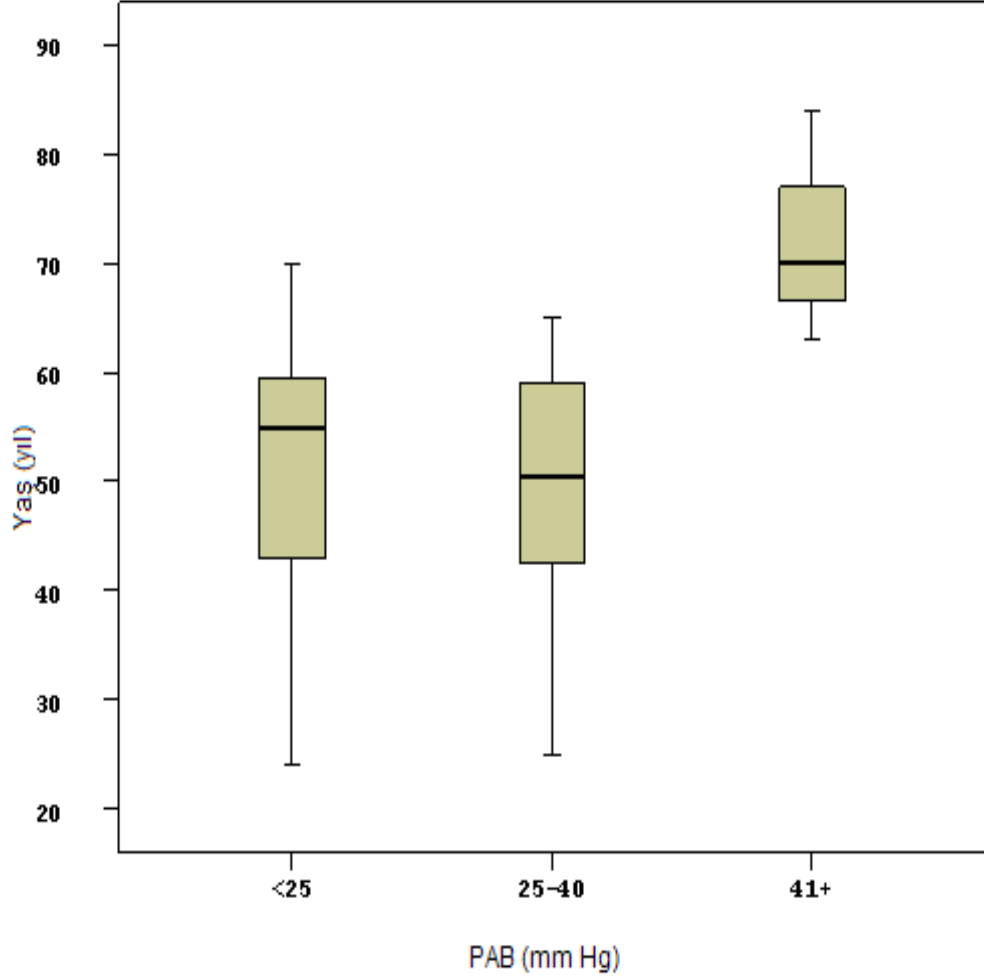
Hastalık süresi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=-0,147$, $p=0,379$)

Hasta grubunda bakılan transtorasik ekokardiyografide pulmoner arter basıncı ölçülmüştür. Hastalar pulmoner arter basıncı (PAB) <25 mm Hg, 25-40 mm Hg ve >40 mm Hg olarak üç gruba ayrılmıştır. PAB ile plazma ET-1 düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır ($p=0,185$). Grafiksel değerleri Şekil 11’de gösterilmiştir.



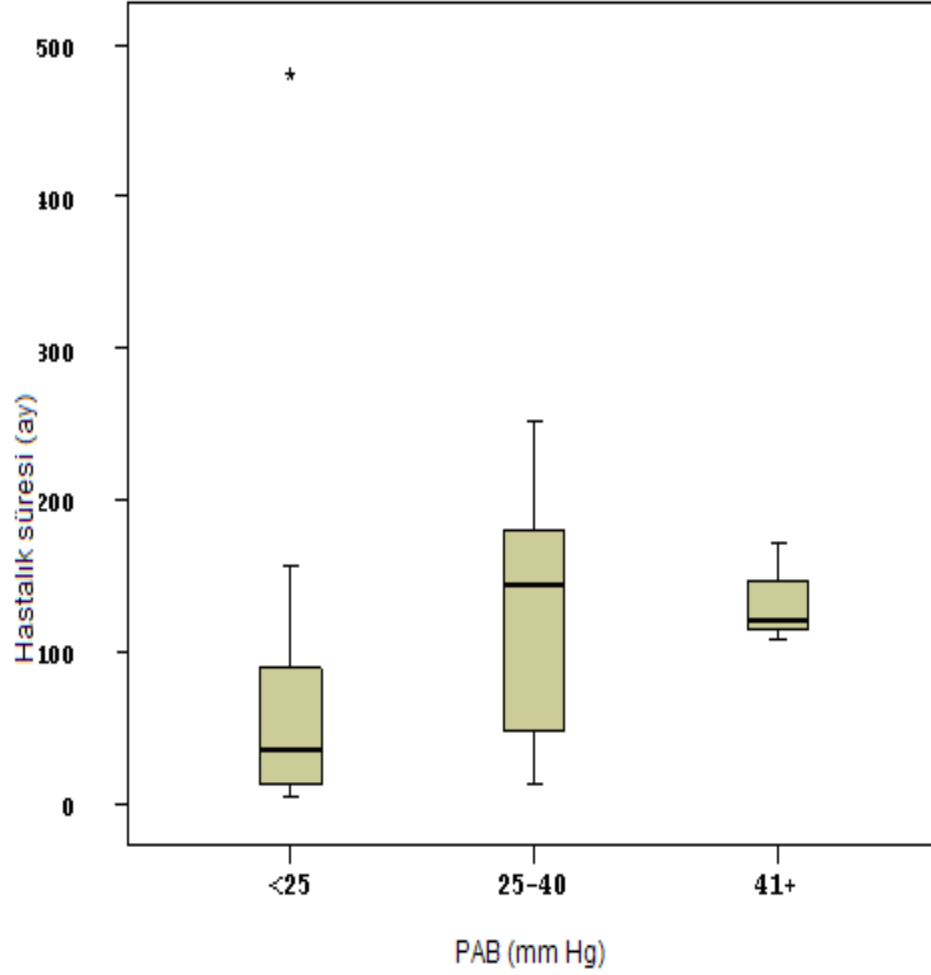
Şekil 11. Hasta grubunda pulmoner arter basıncı (PAB) ile plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi arasındaki ilişki.

Hasta grubunda ölçülen PAB ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmuştur ($p=0,046$). Grafikselleştirilmiş değerler Şekil 12’de gösterilmiştir.



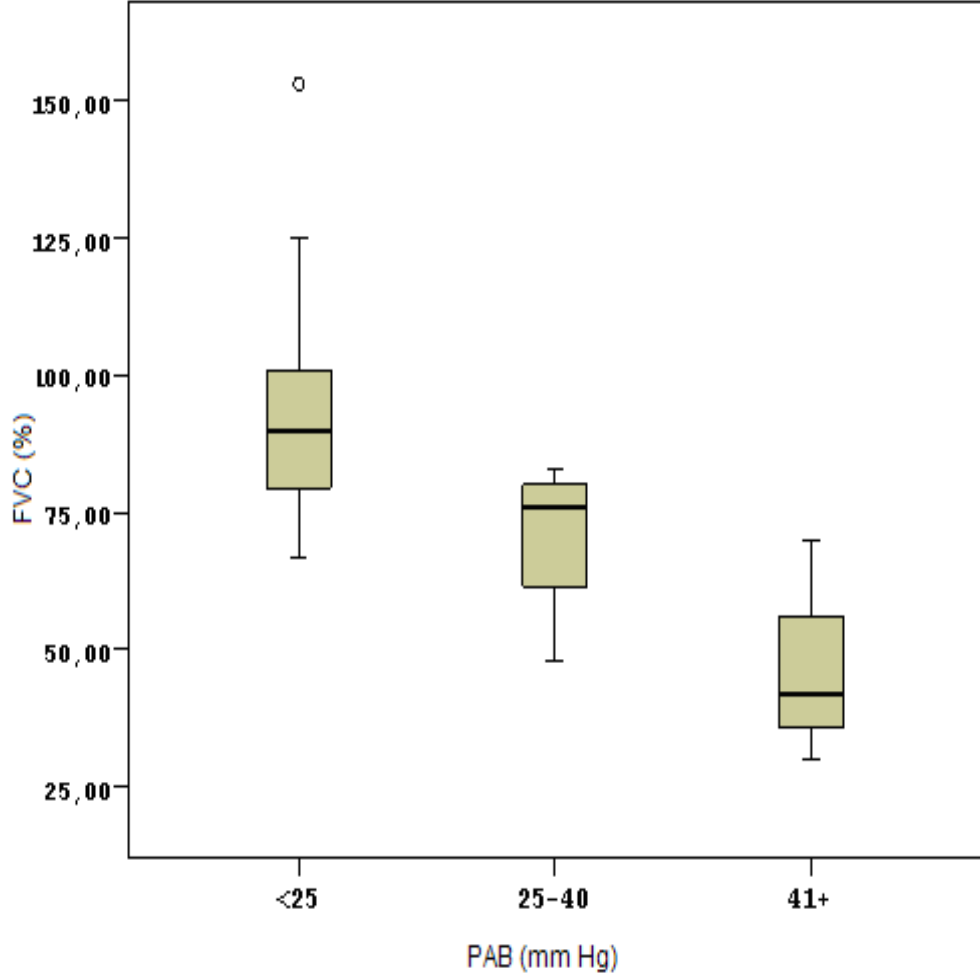
Şekil 12. Hasta grubunda pulmoner arter basıncı (PAB) ile yaş arasındaki ilişki.

Hasta grubunda PAB ile hastalık süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p=0,031$). Grafikselleştirilmiş değerler Şekil 13'te gösterilmiştir.



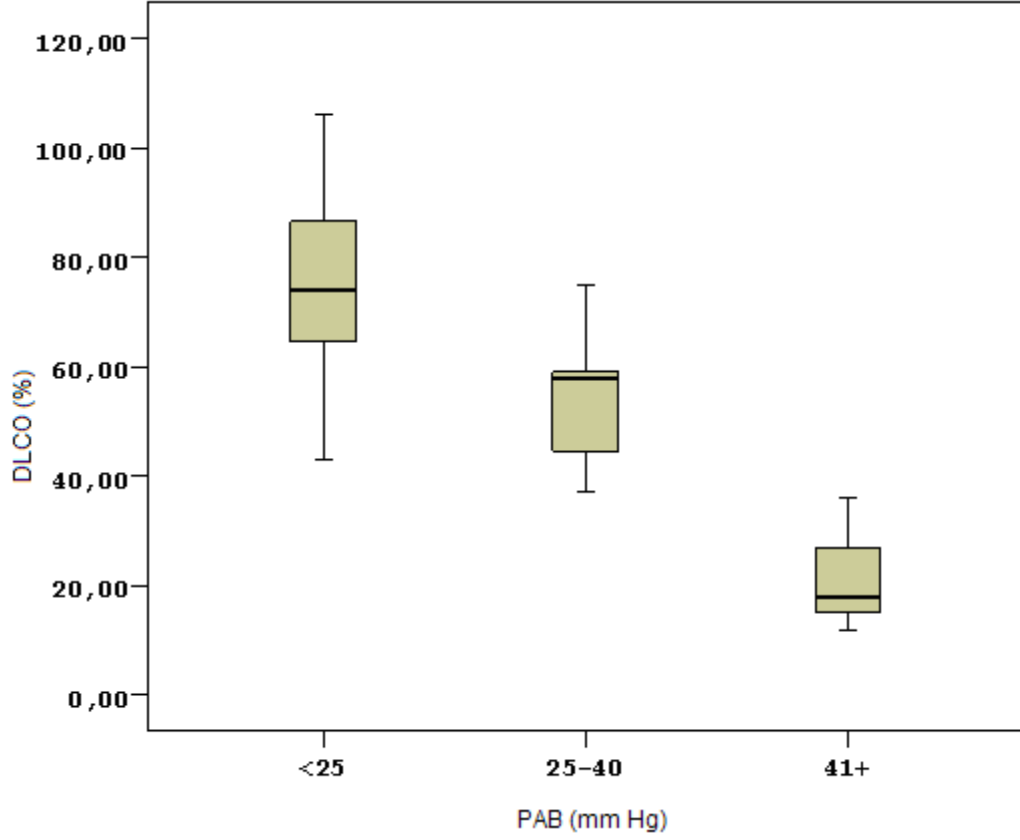
Şekil 13. Hasta grubunda pulmoner arter basıncı (PAB) ile hastalık süresi arasındaki ilişki.

Hasta grubunda PAB ile FVC arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,001$). Grafıksel değeri Şekil 14’te verilmiştir.



Şekil 14. Hasta grubunda pulmoner arter basıncı (PAB) ile zorlu vital kapasite (FVC) arasındaki ilişki.

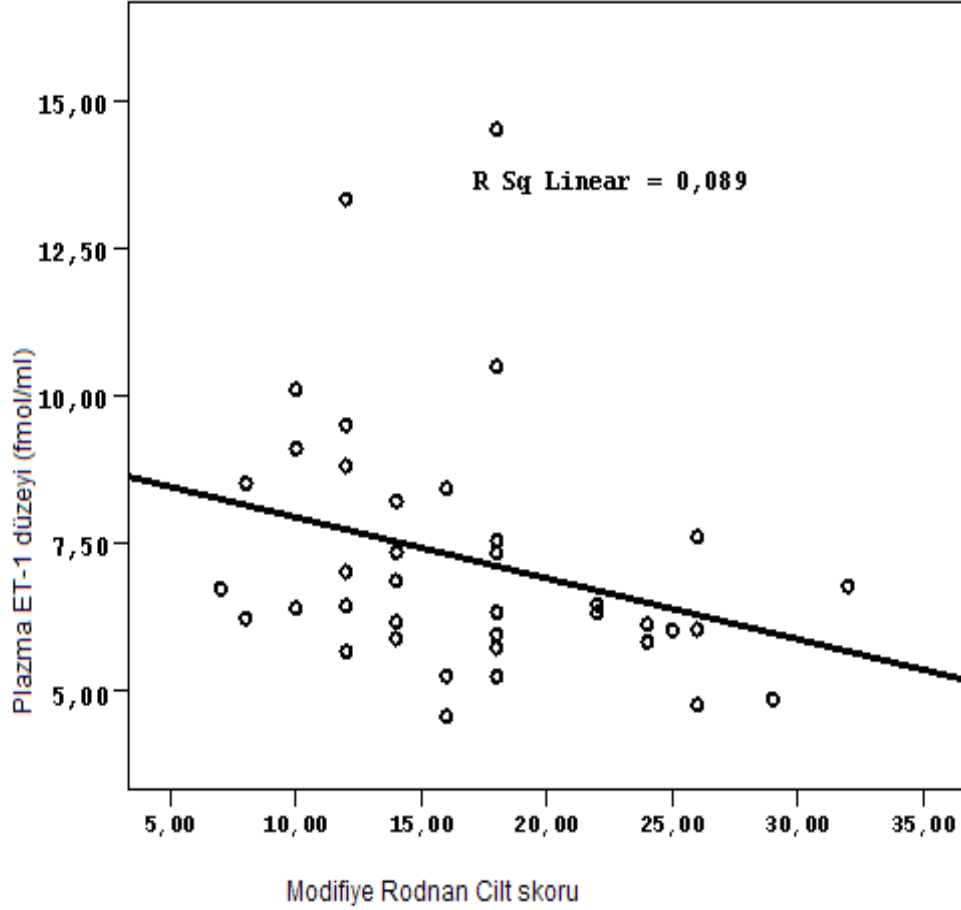
Hasta grubunda PAB ile DLCO arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,001$). Grafıksel değeri Şekil 15’te verilmiştir.



Şekil 15. Hasta grubunda pulmoner arter basıncı (PAB) ile karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DLCO) arasındaki ilişki.

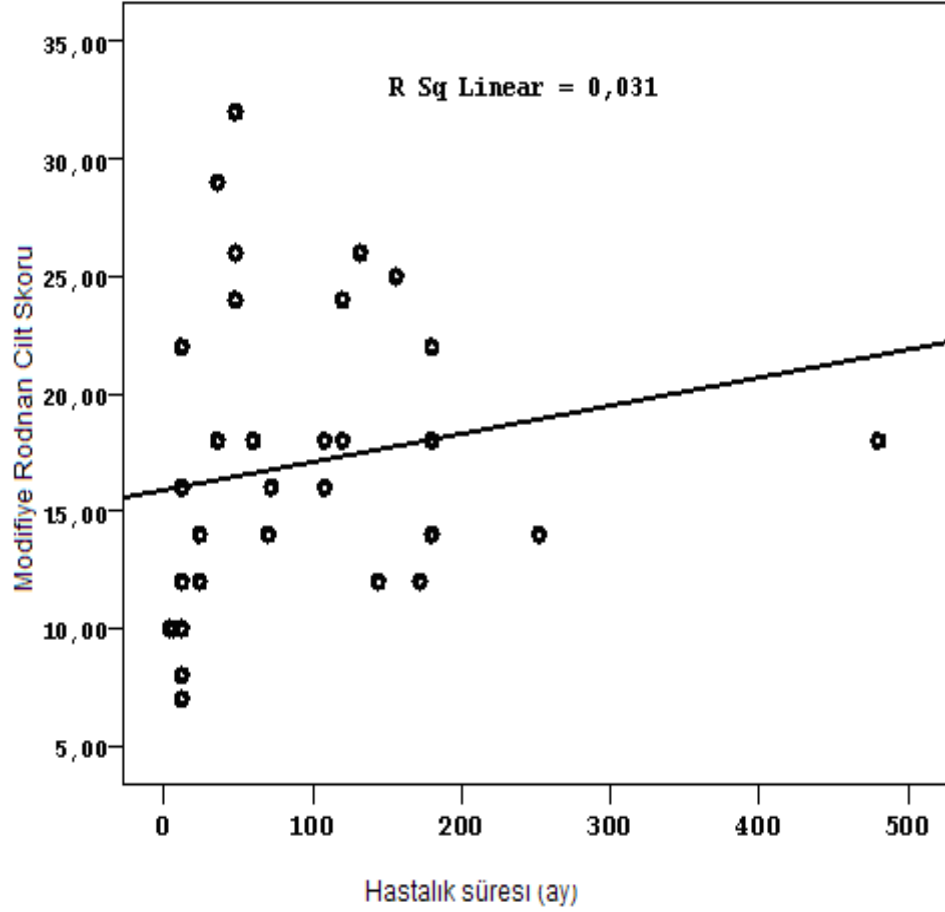
PAB ile endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p=0,107$).

Hasta grubunda Modifiye Rodnan cilt skoru ile plazma ET-1 düzeyi arasında sınırdaki korelasyon gözlenmiştir ($r=-0,299$, $p=0,069$). Grafikselle değerler Şekil 16’da gösterilmiştir.



Şekil 16. Modifiye Rodnan cilt skoru ile plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi arasındaki ilişki.

Hasta grubunda Modifiye Rodnan cilt skoru ile hastalık süresi arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=0,177$, $p=0,287$). Grafikselle değerler Şekil 17’de gösterilmiştir.



Şekil 17. Modifiye Rodnan cilt skoru ile hastalık süresi arasındaki ilişki.

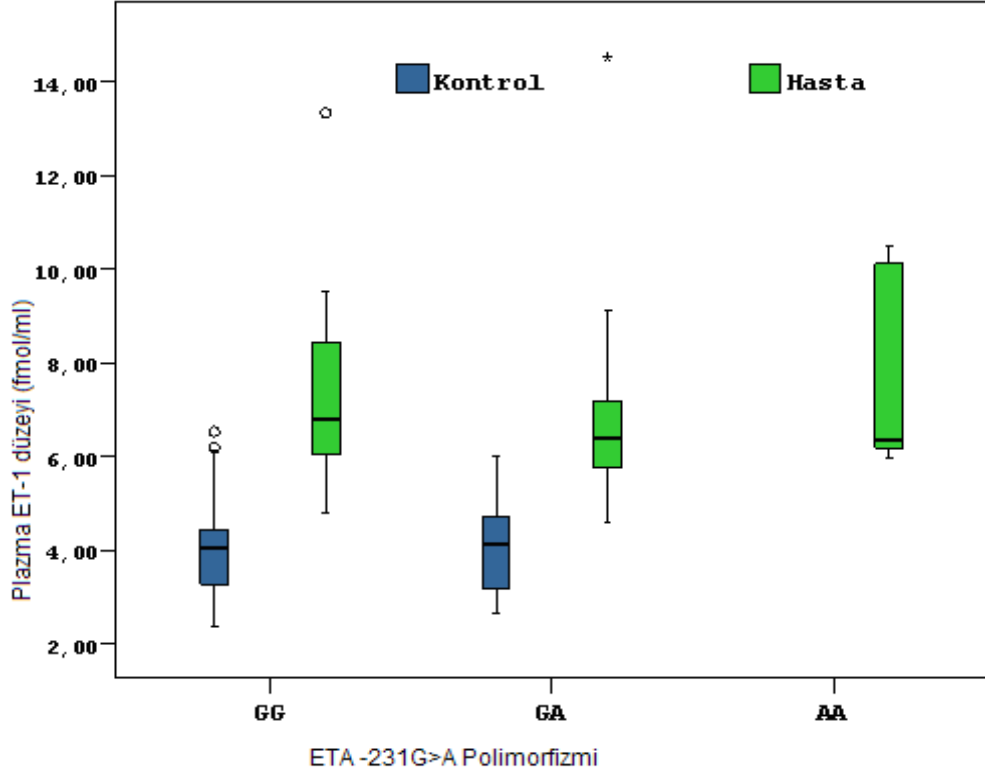
Sklerodermalı hasta ve sağlıklı kontrol grubunda yapılan PCR Tabanlı RFLP yöntemi ile BseDI restriksiyon enzimi kullanılarak ET reseptör B G57S polimorfizminin analizinde her iki grupta da polimorfizme rastlanmamıştır.

Sklerodermalı hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında PCR Tabanlı RFLP yöntemi ile HindIII restriksiyon enzimi kullanılarak ET reseptör A -231G>A polimorfizminin analizinde GG, GA, AA allelleri sonucu istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Hasta grubunda 5 vakada AA alleli saptandı ($p=0,023$). Hasta ve kontrol gruplarının verileri Tablo 13'te gösterilmiştir.

Tablo 13. Sklerodermalı hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi.

	Endotelin reseptör A			Toplam
	GG n (%)	GA n (%)	AA N (%)	
Hasta	20 (59.9)	18 (41.2)	5 (5.9)	43(100)
Kontrol	25 (59.5)	17 (40.5)	0	42 (100)

Hasta ve kontrol grubunda ET reseptör A -231G>A polimorfizmlerine göre plazma ET-1 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=<0,001$). Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının ET reseptör A -231G>A polimorfizmlerine göre plazma ET-1 düzeyleri Şekil 18'de grafiksel olarak gösterilmiştir.



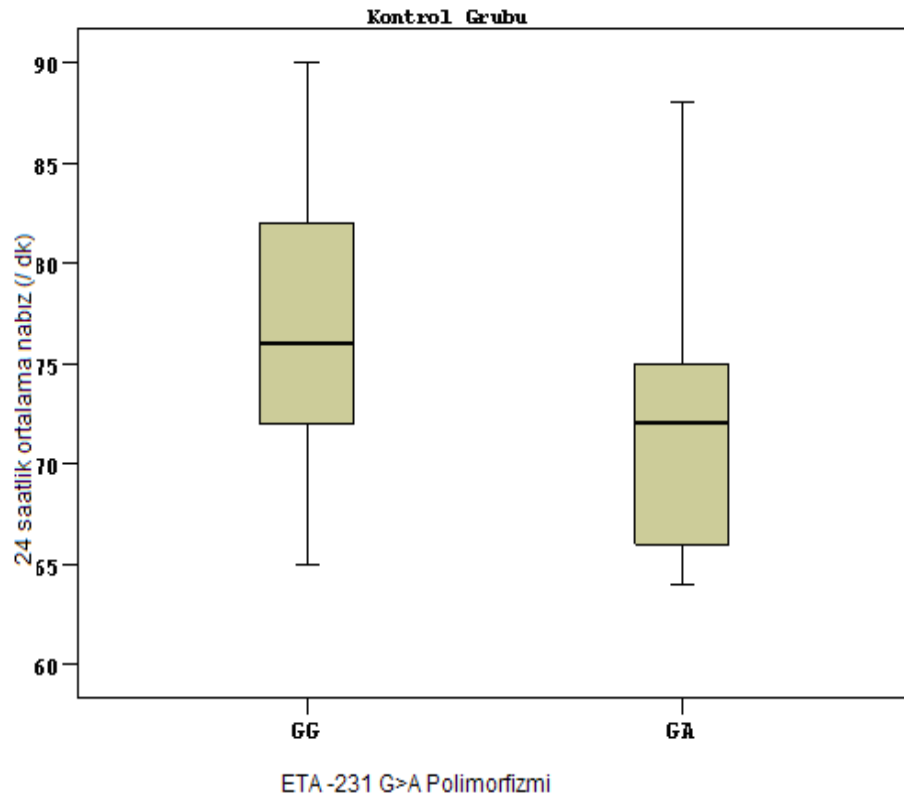
Şekil 18. Hasta ve kontrol grubunda endotelin reseptör A (ETA) -231G>A polimorfizmlerine göre plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi.

Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının endotelin reseptör A-231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alelleri ile 24 saatlik ortalama dakikalık nabız, ortalama sistolik kan basıncı ve ortalama diastolik kan basıncı değerleri Tablo 14’te gösterilmiştir. Her iki grupta da nabız, sistolik ve diastolik kan basıncı için değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Kontrol grubunda nabız GG ve GA allellerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0,022$). Kontrol grubuna ait nabız ölçümlerinin grafiksel değeri Şekil 19’da gösterilmiştir.

Tablo 14. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve hemodinamik parametreler.

Hasta (n=38)		Endotelin reseptör A -231G>A			<i>p</i>
Kontrol (n=42)		GG	GA	AA	
Nabız* (dk)	H	74,47±8,61 76 (62/86)	75,62±11,22 74,50 (62/106)	67±5,00 68 (59/72)	0,241
	K	77,28±7,19 76 (65/90)	72,35±7,21 72 (64/88)		0,022
	<i>p</i>	0,537	0,472		
Sistolik kan basıncı* (mm Hg)	H	112,23±11,9 110 (96/143)	111,81±16,26 110 (90/146)	109±8,21 105 (100/120)	0,914
	K	113,92±9,9 115 (95/130)	112,82±9,03 113 (95/130)		0,615
	<i>p</i>	0,322	0,817		
Diastolik kan basıncı* (mm Hg)	H	66,88±7,84 65 (55/80)	67,50±9,54 64 (59/86)	62±5,70 60 (55/70)	0,460
	K	64,48±8,91 69 (55/87)	69,58±8,95 70 (50/82)		0,767
	<i>p</i>	0,358	0,526		

* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Alt Değer/Üst Değer, H: hasta grubu, K: kontrol grubu olarak gösterilmiştir. H: Hasta, K: Kontrol



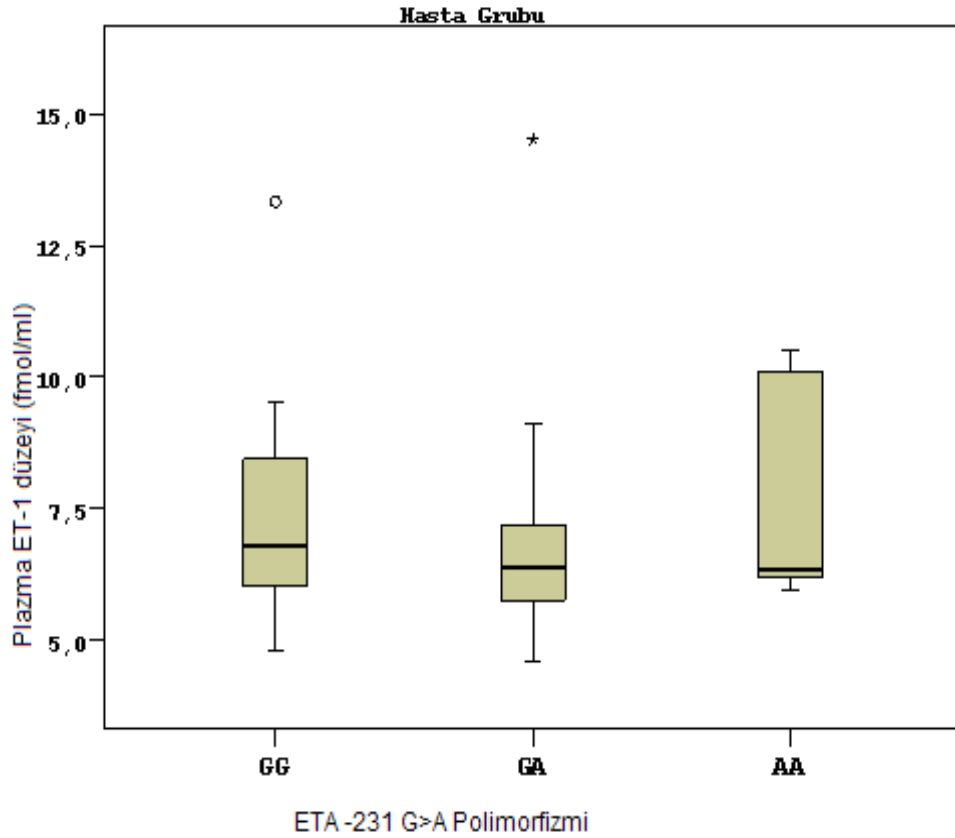
Şekil 19. Kontrol grubunda GG ve GA allellerinde Holter ile ölçülen ortalama nabız ilişkisi.

Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellerindeki plazma ET-1 düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.534$). Hastaların her 3 allel için endotelin düzeyleri Tablo 15’te, grafiksel değerleri Şekil 20’de gösterilmiştir.

Tablo 15. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellerindeki plazma endotelin-1 düzeyi.

Hasta (n=38)	Endotelin reseptör A -231G>A			<i>p</i>
	GG	GA	AA	
Plazma ET-1* (fmol/ml)	7,39±2,03 6,78 (4,78 / 13,34)	6,88±2,31 6,39(4,58/14,52)	7,82±2,28 6,34 (5,96/10,51)	0,534

* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/ Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir. ET-1: Endotelin-1



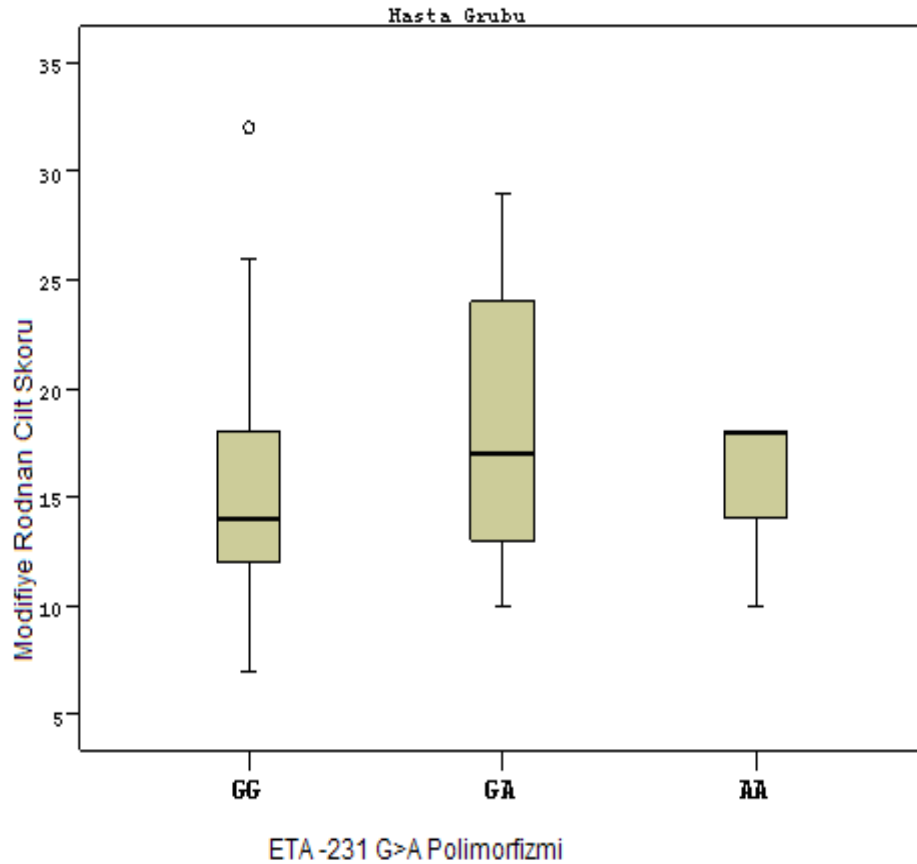
Şekil 20. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellerindeki plazma endotelin-1 (ET-1) düzeyi.

Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellere sahip alt gruplarda modifiye Rodnan cilt skorlarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,717$). Hastaların her 3 allel için cilt skoru değerleri Tablo 16’da, grafiksel değerleri Şekil 21’de gösterilmiştir.

Tablo 16. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve Modifiye Rodnan cilt skoru.

Hasta (n=43)	Endotelin reseptör A -231G>A			<i>p</i>
	GG	GA	AA	
Modifiye Rodnan cilt skoru*	16,45±7,07 15,0 (7/32)	17,94±6,25 17,0 (8/29)	15,6±3,57 18,0 (10/18)	0,717

* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/ Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir.



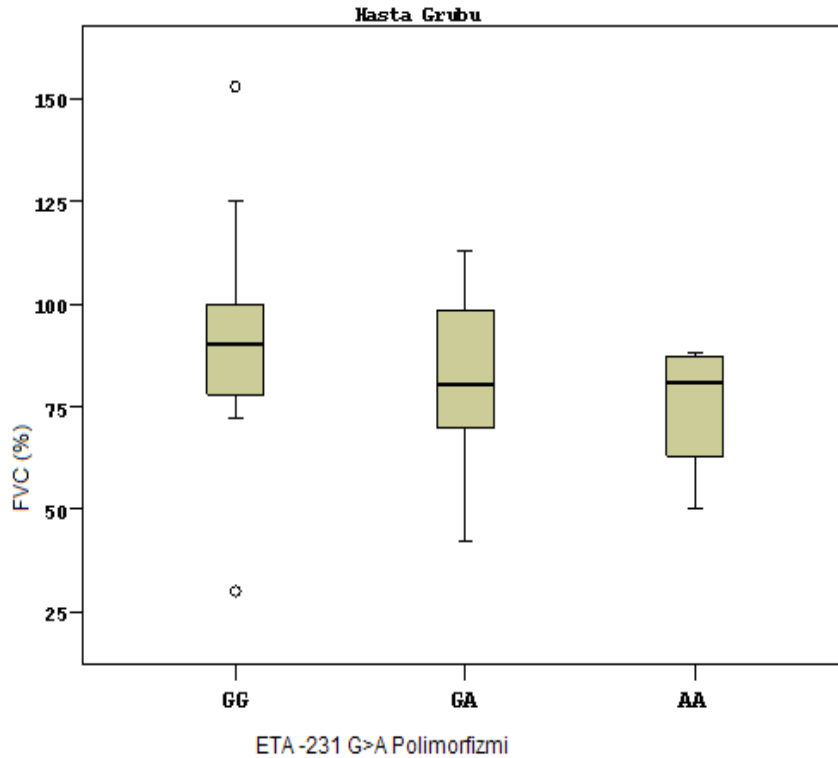
Şekil 21. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve modifiye Rodnan cilt skoru.

Hasta grubunda yapılan solunum fonksiyon testinden FVC ve DLCO ile ET-1 ve reseptör polimorfizmlerinin ilişkisine bakıldı. ET reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellere sahip alt gruplar ile FVC değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,343$). Hastaların her 3 allel için FVC değerleri Tablo 17’de, grafiksel değerleri Şekil 22’de gösterilmiştir.

Tablo 17. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve zorlu vital kapasite (FVC) değerleri

Hasta (n=43)	Endotelin reseptör A -231G>A			P
	GG	GA	AA	
FVC (%)*	92,552±5,45 90,50 (30/153)	83,6±19,93 84 (42/113)	75±17,47 81 (50/88)	0,343

* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/ Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir. FVC: Zorlu vital kapasite.

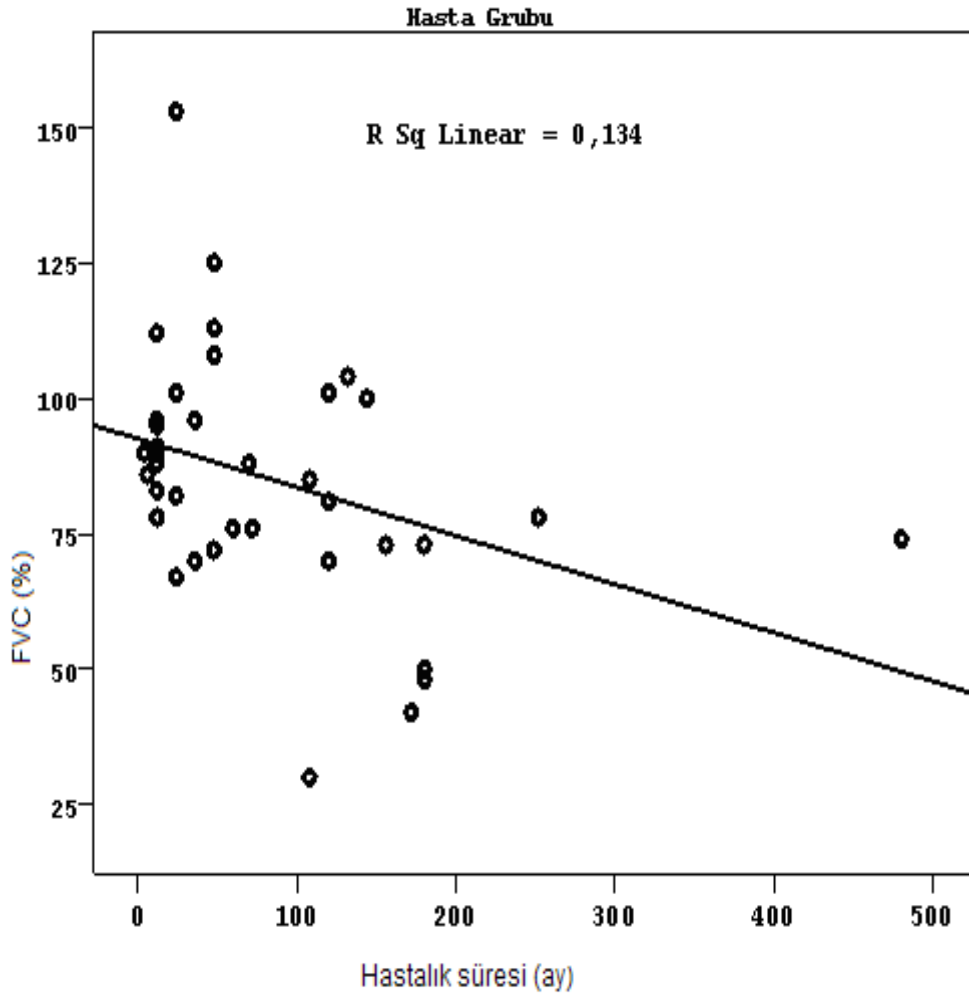


Şekil 22. Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve zorlu vital kapasite (FVC) değerleri arasındaki ilişki.

Hasta grubunda plazma ET-1 düzeyi ile FVC değerleri arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=0,073$, $p=0,670$).

Hasta grubunda yaş ile FVC değerleri arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=-0,230$, $p=0,597$).

Hasta grubunda FVC değerleri ile hastalık süresi arasında korelasyon gözlenmiştir ($r=-0,366$, $p=0,026$). Grafikselsel değerler Şekil 23'te gösterilmiştir.



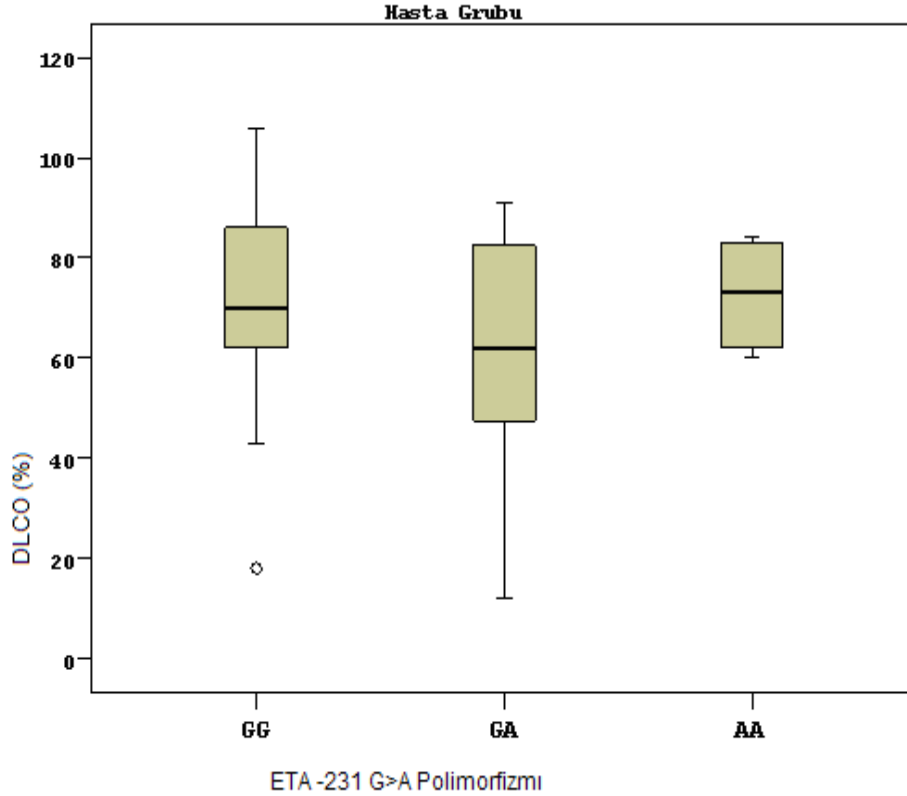
Şekil 23. Hasta grubunda zorlu vital kapasite (FVC) değerleri ile hastalık süresi arasındaki ilişki.

Hasta grubunda Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellere sahip alt gruplarda DLCO değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,719$). Hastaların her 3 allel için DLCO değerleri Tablo 18’de, grafiksel değerleri Şekil 24’te gösterilmiştir.

Tablo 18. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DLCO) değerleri

Hasta (n=43)	Endotelin reseptör A -231G>A			<i>p</i>
	GG	GA	AA	
DLCO (%)*	67,75±20,21 69 (18/106)	62,88±22,38 62 (12/91)	72,50±12,26 73 (60/84)	0,719

* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/ Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir. DLCO: Karbonmonoksit difüzyon kapasitesi

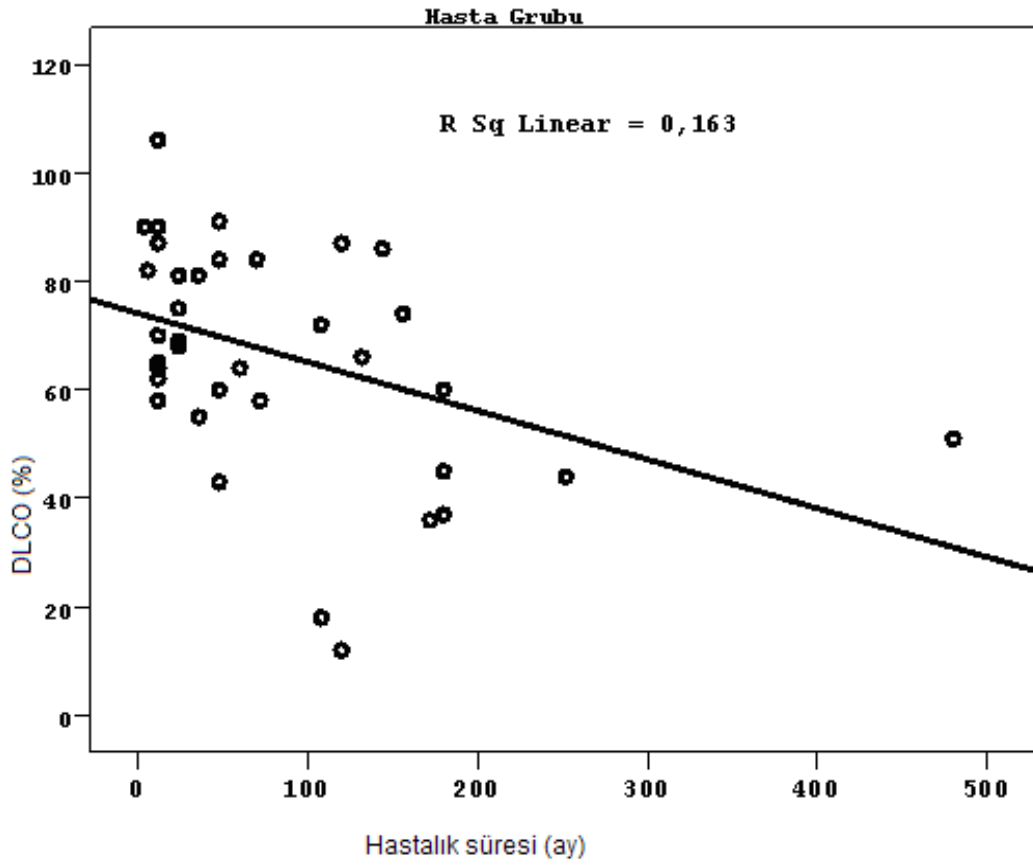


Şekil 24. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DLCO) değerleri arasındaki ilişki.

Hasta grubunda plazma ET-1 düzeyi ile DLCO değerleri arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=0,230$, $p=0,170$).

Hasta grubunda yaş ile DLCO değerleri arasında korelasyon gözlenmemiştir ($r=-0,225$, $p=0,135$).

Hasta grubunda DLCO ile hastalık süresi arasında korelasyon gözlenmiştir ($r=-0,404$, $p=0,013$). Grafikselle değerler Şekil 25'te gösterilmiştir.



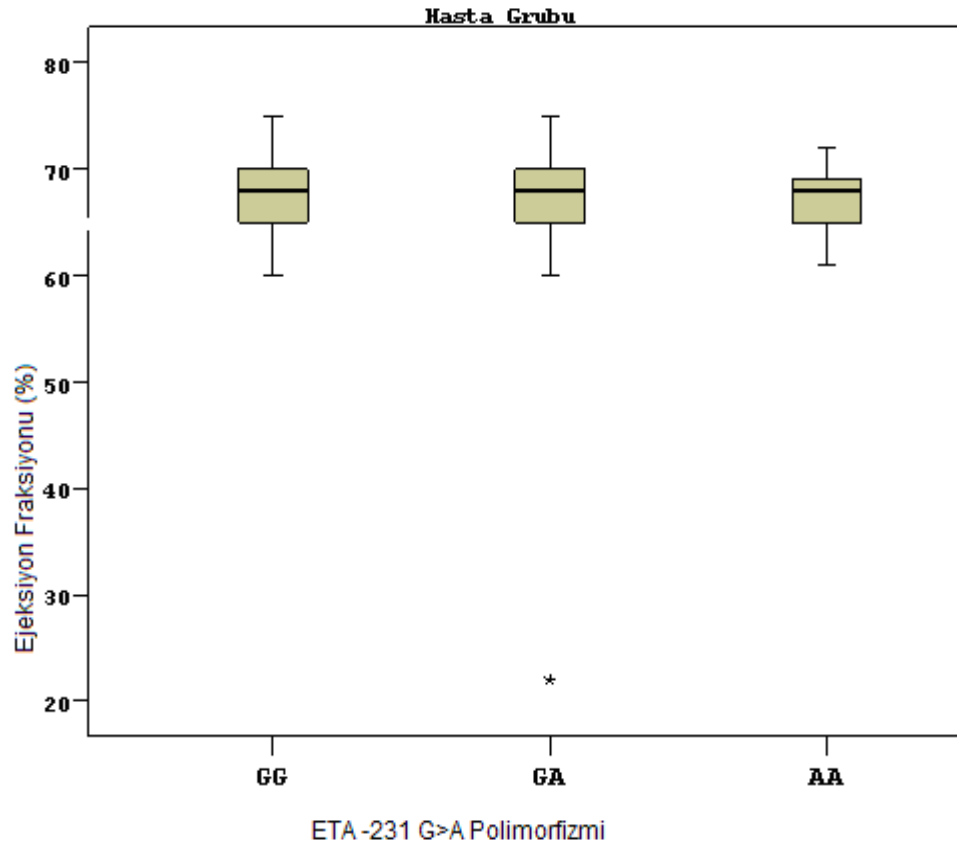
Şekil 25. Hasta grubunda karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DLCO) ile hastalık süresi arasındaki ilişki.

Hasta grubunda Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellerine sahip alt gruplarda sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (EF) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,929$). Hastaların her 3 allel için sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu değerleri Tablo 19’da, grafiksel değerleri Şekil 26’da gösterilmiştir

Tablo 19. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (EF).

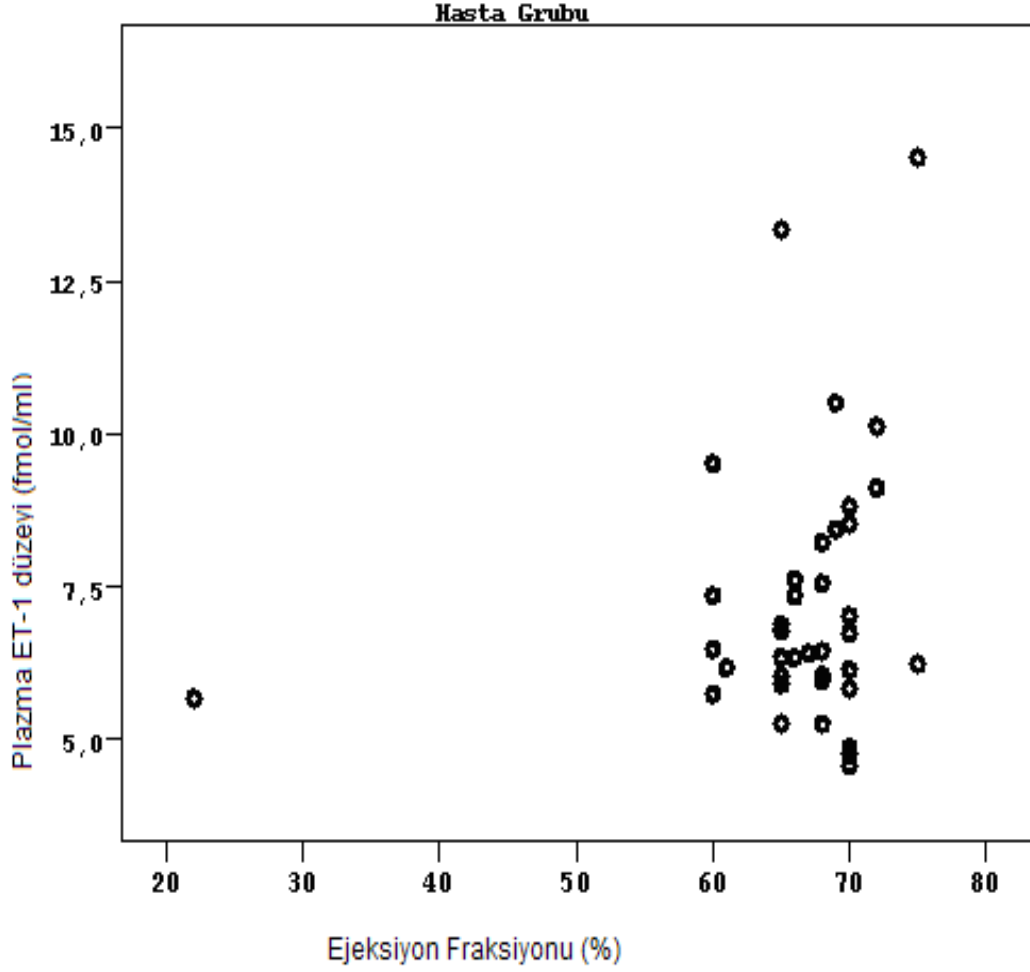
Hasta (n=38)	Endotelin reseptör A -231G>A			<i>p</i>
	GG	GA	AA	
Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (%)*	67,55±3,57 68 (60/75)	64,72±11,44 66,52 (22/75)	67,05±4,18 73 (61/72)	0,929

* Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca Değer (Minimum Değer/ Maksimum Değer) olarak gösterilmiştir.



Şekil 26. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ilişkisi.

Hasta grubunda plazma ET-1 düzeyi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunamamıştır ($p=0,588$, $r=0,147$). Grafiksel değerler Şekil 27’de gösterilmiştir.



Şekil 27. Hasta grubunda plazma endotelin-1 düzeyi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ilişkisi.

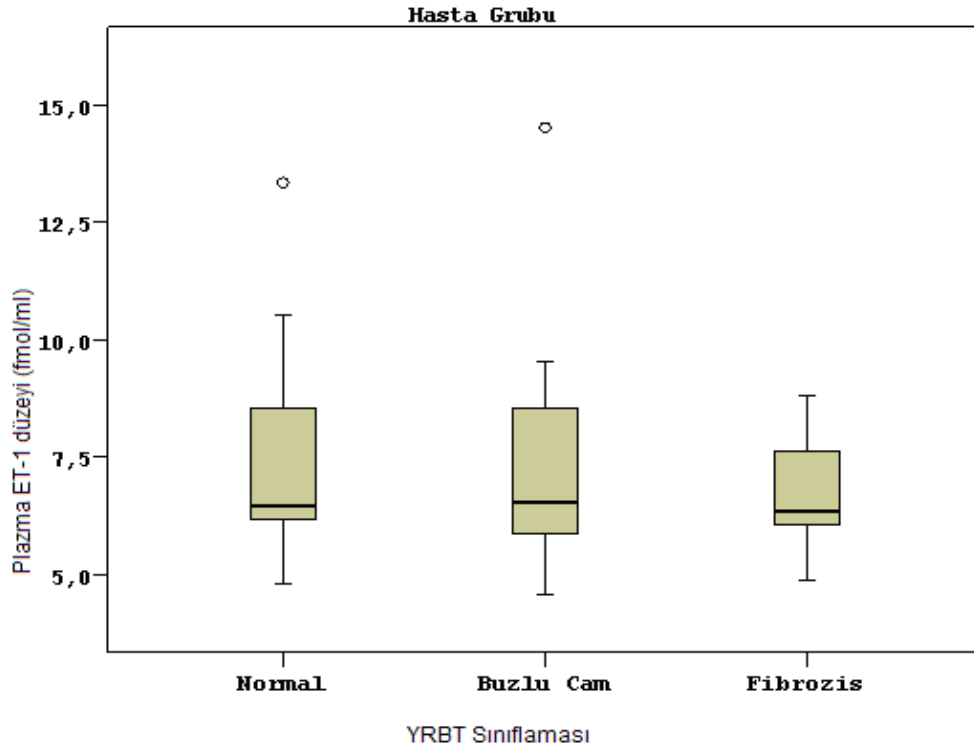
Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi hasta grubunda GG, GA ve AA allellerindeki YRBT bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0,265$). Değerler Tablo 20’de gösterilmiştir.

Tablo 20. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve yüksek rezülasyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT)

		Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi		
		GG	GA	AA
YRBT (n=43)	Normal* (n=21, % 48,8)	11(52,4)	6 (28,6)	4 (19)
	Buzlu cam görünümü* (n=8, % 18,6)	3 (37,5)	5 (62,5)	0 (0)
	Fibrozis* (n=14,% 32,6)	6 (42,9)	7 (50)	1 (7,1)

* sayı (%) değerler olarak verilmiştir. YRBT: Yüksek rezülasyonlu bilgisayarlı tomografi

Plazma ET-1 düzeyi ile YRBT bulguları arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,819$). Grafikselleştirilmiş değerler Şekil 28’de gösterilmiştir.



Şekil 28. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve yüksek rezölasyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT) sınıflandırmasıyla ilişkisi.

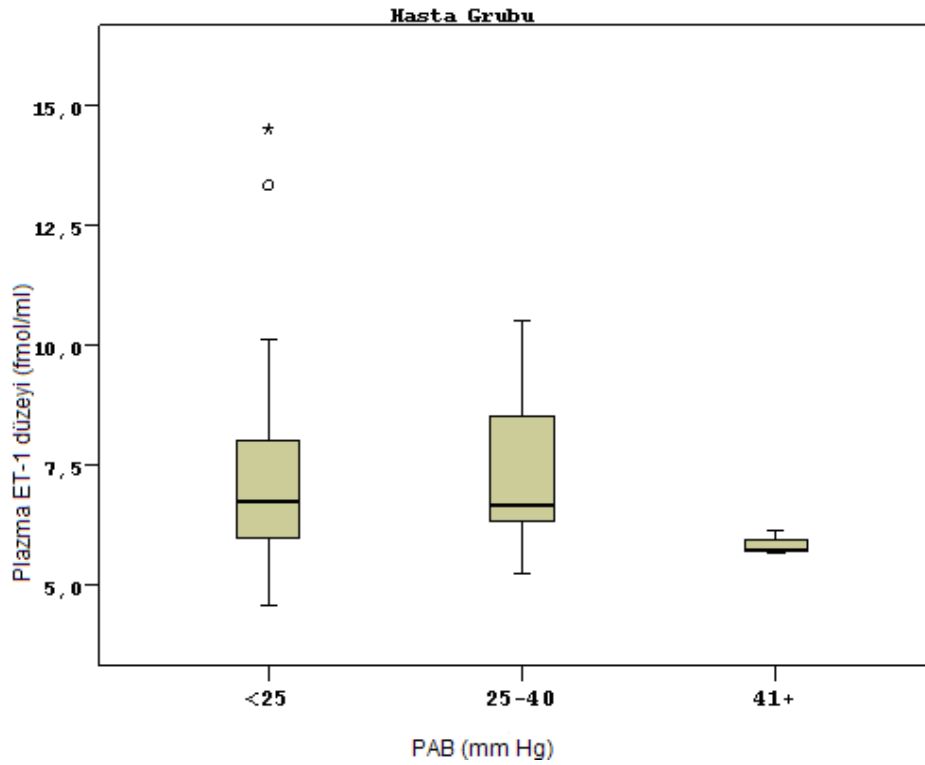
ET reseptör A -231G>A polimorfizmi hasta grubunda GG, GA ve AA allellere sahip alt gruplardaki PAB değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,491$, $\chi^2=0,535$). PAB <25 mm Hg, 25-40 mmHg ve >41 mm Hg olarak 3 alt gruba ayrılmıştır. Değerler Tablo 21’de gösterilmiştir

Tablo 21. Hasta grubunda endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi ve pulmoner arter basıncı (PAB).

		Endotelin reseptör A -231G>A polimorfizmi		
		GG	GA	AA
PAB mm Hg (n=38)	<25 * (n=27, % 82,4)	14(51,9)	10 (37)	3 (11.1)
	25-40* (n=8, % 11,8)	2(25)	4 (50)	2(25)
	>41* (n=3,% 5,8)	1 (33,3)	2 (66,7)	0(0)

*sayı (%) değerler olarak verilmiştir. PAB: Pulmoner arter basıncı

Hasta grubunda plazma ET-1 düzeyi ile PAB arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0.243$). Grafıksel değerler Şekil 29’da gösterilmiştir.



Şekil 29. Hasta grubunda plazma endotelin-1 düzeyi ve pulmoner arter basıncı (PAB) ilişkisi.

6. TARTIŞMA

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

Endotelin-1 SSc etyolojisinde, hastalığın klinik bulgularının ortaya çıkmasında ve progresinde önemli bir role sahiptir. Yapılan çalışmalar yeni tedavi stratejilerinin gelişmesine neden olmuştur. Endotelin-1 düzeyi ve reseptör polimorfizmleri hastalığın kliniği ve tedavi yaklaşımını etkiliyor gözükmemektedir.¹¹² Yapılan çalışmalarda ET reseptör A polimorfizmlerinde anti-RNA polimeraz antikoruna ile birlikteliğinin daha sık, ET reseptör B polimorfizmlerinin diffüz kutanöz skleroderma hastalarında daha sık olduğu gözlenirken, ET-1 düzeyinin diffüz kutanöz skleroderma hastalarında ve organ tutulumu olan sınırlı skleroderma hastalarında daha yüksek olduğu bildirilmiştir.¹¹² Schmidt J ve arkadaşlarının yaptığı çalışma da ise sklerodermalı hastalarda plazma ET-1 düzeyi ile pulmoner arter basıncı arasında pozitif lineer korelasyon saptanmıştır.¹¹³ Biz bu çalışmamızda SSc hastalarında; plazma ET-1 düzeyi, ET reseptör A -231G>A ve reseptör B G57S polimorfizmi ve bunların hemodinamik ve klinik bulgularla ilişkisini araştırmayı planladık.

Çalışmamızda sklerodermalı hastalar ve sağlıklı kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında ET reseptör A -231G>A polimorfizminin analizinde GG, GA, AA allelleri sonucu istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Hasta grubunda 5 vakada AA alleli saptanırken kontrol grubunda AA alleli saptanmamıştır ($p=0,023$). C. Fonseca ve arkadaşlarının İngiltere’de yaptığı 205 SSc hastası ve sağlıklı kontrol grubunda ET reseptör A -231G>A polimorfizminin analizinde GG, GA, AA allelleri sonucu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.¹¹²

Çalışmamızda SSc’lu ve sağlıklı kontrol grubunda ölçülen plazma ET-1 düzeyi hasta grubunda yaşın etkisi düzeltildikten sonra, istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulundu. Schmidt J ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SSc’lu hastalarda bakılan ET-1 düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş.¹¹³ Fakat sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış. Morelli S ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise SSc’lu ve sağlıklı kontrol gruplarında ölçülen ET-1 düzeyi hasta grubunda,

istatistiksel olarak yüksek bulunmuş.¹¹⁴ Yapılan çalışmalarda plazma ET-1 düzeyi ile hastalığın kliniği ve otoantikolar arasında ilişki saptanmıştır.^{112,113} Hasta grubunda ET reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellerinde; plazma ET-1 düzeyi, için yapılan analizde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Çalışmamızda saptanan ET reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellerinin plazma ET-1 düzeyine etkisi gözlenmemiştir. Bu durum ET reseptör A -231G>A polimorfizminin fonksiyonel olmamasından veya çalışmamızdaki hasta sayısının az olmasıyla açıklanabilir.

Çalışmamızda hasta ve sağlıklı grubun 24 saatlik Holter ile ölçülen sistolik, diastolik kan basıncı ortalama değerleri ve ortalama dakikalık nabız değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Her iki grubun sonuçlarının düzeltilmiş yaşa göre yapılan regresyon analizlerinde anlamlı bir fark bulunamadı. Hasta grubunun plazma ET-1 düzeyi yüksek olmasına karşın 24 saatlik ortalama sistolik, diastolik kan basıncı ve ortalama dakikalık nabız ile plazma ET-1 düzeyi arasında herhangi bir korelasyon gözlenmedi. Hastalık süresi ile 24 saatlik ortalama sistolik ve diastolik kan basıncı arasında korelasyon gözlenmez iken, hastalık süresi ile 24 saatlik ortalama dakikalık nabız arasında korelasyon gözlenmiştir. Zakopoulos NA ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SSc'lu hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında 24 saatlik ambulatuvar kan basıncı ölçümünde ortalama sistolik kan basıncı, ortalama diastolik kan basıncı, ortalama nabız değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamış.¹¹⁵ Çalışmamızda ET reseptör A -231G>A polimorfizminin kan basıncı ve nabız sayısına etkisi gözlenmedi. Bu durum ET reseptör A -231G>A polimorfizminin fonksiyonel olmamasından veya çalışmamızdaki hasta sayısının az olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü. Kontrol grubunda GG ve GA alellerine sahip alt gruplarının 24 saatlik ortalama nabız ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Bu durum rastlantısal olabileceği gibi, daha geniş çalışmalarla araştırılabilir.

SSc hastalarında akciğer tutulumu önemli bir mortalite nedenidir. Çalışmamızda YRBT sonucuna göre hastalar normal görünüm, buzlu cam manzarası görünümü ve fibrozis olarak üç evreye ayrıldı. Hastaların tamamında plazma ET-1 düzeyi yüksek bulunurken, plazma ET-1 düzeyi ile akciğer tutulumunun evreleri arasında korelasyon gözlenmedi. Hastalık süresi ile YRBT sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmemiştir. Buna karşın literatürde interstisyel akciğer tutulumu olan hastalarda ET-1 düzeyinin arttığı gösterilmiştir.¹¹⁴ Morelli S ve arkadaşlarının yaptığı

çalışmada akciğer tutulumu olan SSc'lu hastalarda endotelin düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş ancak bu yüksekliğin akciğer tutulumunun evresi ile ilişkisi anlamlı bulunmamış.¹¹⁴

Çalışmamızda hastaların FVC % 87,0±22 (ortalama±SD) bulunurken, % 25'inde (11/43) orta derecede (FVC % 50-70), % 9'unda (4/43) ağır derecede (FVC <% 50) restriktif özellikte akciğer tutulumu gözlemlendi. Hastaların DLCO değerleri % 66,1±20,4 (ortalama±SD) bulundu. Plazma ET-1 düzeyi ile FVC veya DLCO arasında korelasyon gözlenmemiştir. Yapılan çalışmalarda SSc hastalarının yaklaşık % 40'ında orta derecede restriktif özellikte akciğer tutulumu (FVC % 50-70), yaklaşık % 15'inde ise ağır derecede (FVC <% 50) akciğer tutulumu olduğu gösterilmiştir.^{116,117} DLCO ile FVC sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi akciğer tutulumu açısından daha duyarlı iken, pulmoner vasküler hastalık kronik obstruktif akciğer hastalıklarında daha az özgüldür.¹¹⁸ Pulmoner arter hipertansiyonu SSc'lu hastalarda prognozu etkilemektedir. Pulmoner arter hipertansiyonunun etyolojik nedenleri arasında akciğer tutulumu ve plazma ET-1 düzeyi etkili olduğu gösterilmiştir.¹¹⁴ Morelli S ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada pulmoner arter hipertansiyonu olan SSc lu hastalarda kontrol grubuna göre plazma ET-1 düzeyi, istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.¹¹⁴ Bizim çalışmamızda SSc'lu hastaların plazma ET-1 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (p<0,001). Çalışmamızda hastalar pulmoner arter basıncı <25mm Hg, 25-40 mmHg ve >41 mm Hg olarak üç gruba ayrıldığında, plazma ET-1 düzeyi ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Buna karşın hastalık süresi ile pulmoner arter basıncı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p=0,031). Yine yaş ile pulmoner arter basıncı karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p=0,046). FVC ile pulmoner arter basıncı arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif ilişki saptanmıştır (p<0,001). DLCO ile pulmoner arter basıncı arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif saptanmıştır (p<0,001). Skleroderma hastalarında DLCO ve FVC sonuçları akciğer tutulumunu değerlendirmede kullanılabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.¹¹⁸ Yapılan çalışmalarda FVC/DLCO >1,4 olması pulmoner hipertansiyon ile ilişkili bulunmuştur,¹¹⁹ Akciğerde fibrozis arttıkça DLCO ve FVC değerlerinde düşüş olurken pulmoner arter basıncında artış olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.^{118,125} Hasta grubunda ET reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alelleri taşıyan gruplar

arasında; FVC, DLCO, PAB için yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Çalışmamızda mevcut hasta popülasyonunda ET reseptör A -231G>A polimorfizminin akciğer bulgularına etkisi gözlenmemiştir.

Çalışmamızda hasta grubuna yapılan transtorasik ekokardiyografide sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu % 66,13±8,27 (ortalama±SD) bulunurken, hastaların % 2'sinde (1/38) ejeksiyon fraksiyonu % 40-60, hastaların % 2'sinde ejeksiyon fraksiyonu % <40 olarak bulunmuştur. Plazma ET-1 düzeyi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. Literatürde SSc hastalarında yapılan histolojik çalışmalarda miyokard tutulumu gösterilmiştir.^{121,122} Konvansiyonel ekokardiyografi ile yapılan çalışmalarda hastaların çok az bir kısmında sol ventrikül kasılmasında azalma tespit edilirken,^{123,124} yaklaşık % 40'lık bir bölümünde gevşemesinde anormallik tespit edilmiştir.^{124,125} Christophe Meune ve arkadaşlarının SSc'lu hastalar ve kontrol grupları arasında yaptığı çalışmada sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu hasta grubunda (ortalama±SD, 64,9±0,6%) kontrol grubunda ise (ortalama±SD, 67,2±0,3) bulunmuş, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır¹²⁵. Çalışmamızda hasta grubunda ET reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellerine sahip alt gruplarda; sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu için yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Çalışmamızda ET reseptör A -231G>A polimorfizminin skleroderma hastalarında sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonuna etkisi gözlenmemiştir.

Cilt kalınlaşması skleroderma hastalığı için karakteristik bulgudur. Hastalığın ilk tanı anındaki daha geniş cilt tutulumu, daha yaygın iç organ tutulumu ve kötü prognoz göstergesidir.¹²⁶ Cilt tutulumunu ölçmede en yaygın olarak kullanılan araç Modifiye Rodnan cilt skorudur.¹²⁶ Hasta grubunda ET reseptör A -231G>A polimorfizmi GG, GA ve AA alellerine sahip gruplarda; Modifiye Rodnan cilt skoru için yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Hasta grubunda plazma ET-1 düzeyi ile Modifiye Rodnan cilt skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Çalışmamızda bakılan hasta popülasyonunda ET reseptör A -231G>A polimorfizminin cilt bulgularına etkisi gözlenmemiştir.

Sklerodermalı hasta ve sağlıklı kontrol grubunda yapılan PCR Tabanlı RFLP yöntemi ile BseDI Restriksiyon Enzimi kullanılarak ET reseptör B G57S polimorfizminin analizinde her iki grupta da polimorfizme rastlanmamıştır.

Çalışmamızda hasta sayısının yeterli olmaması nedeniyle diffüz kutanöz skleroderma ve sınırlı skleroderma hastalarında karşılaştırma yapılamamıştır.

Çalışmamızın kısıtlılığını oluşturan nedenler arasında hasta ve kontrol grubu sayısının az olması sayılabilir. Hastalığın nadir görülmesi çok merkezli çalışmalar gerektirmektedir. Pulmoner arter basıncı daha az invaziv olması ve tarama testi olarak kullanılması nedeniyle konvansiyonel transtorasik ekokardiyografi ile ölçülmüştür. Pulmoner arter basıncı yüksek olanlara daha sonra anjiyografi planlanmış sonuçları çalışmamızda bildirilmemiştir. Buna karşın bu araştırma hem ET reseptör polimorfizmi hem de plazma ET-1 düzeyine bakılması ve bunların hemodinamik, klinik parametrelerinin ilişkisini incelemesi açısından öncü bir çalışmadır.

SONUÇLAR

1- Çalışmamızda Çukurova Bölgesi toplumunda SSc hastalarında plazma ET-1 düzeyi hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$).

2- Hasta grubunda ve sağlıklı kontrol grubunda ortalama dakikalık nabız, 24 saatlik ortalama sistolik ve diastolik kan basıncı arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

3- Plazma ET-1 düzeyi ile FVC, DLCO arasında korelasyon gözlenmemiştir.

4- Plazma ET-1 düzeyi ile PAB arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

5- Hastalık süresi ile PAB arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,031$).

6- Yaş ile PAB arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,046$).

7- FVC ile PAB arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0,001$).

8- DLCO ile PAB arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0,001$).

9- Çukurova Bölgesi toplumunda bakılan ET reseptör A -231G>A polimorfizminin analizinde hasta ve sağlıklı kontrol grubunda GG, GA, AA allelleri sonucu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (hasta grubu 5/43, kontrol grubu 0/42).

10- Her üç allelin ortalama dakikalık nabız, 24 saatlik sistolik ve diastolik kan basıncına etkisi gözlenmemiştir.

11- Her üç allelin plazma ET-1 düzeyine etkisi gözlenmemiştir

12- Her üç allelin pulmoner arter basıncına etkisi gözlenmemiştir

13- Her üç allelin ejeksiyon fraksiyonuna etkisi gözlenmemiştir

14- Her üç allelin FVC değerlerine etkisi gözlenmemiştir

15- Her üç allelin DLCO değerlerine etkisi gözlenmemiştir


16- Her üç allelin Modifiye Rodnan cilt skoruna etkisi gözlenmemiştir

17- Bakılan ET reseptör B G57S polimorfizminin analizinde hasta ve sağlıklı kontrol grubunda polimorfizme rastlanmamıştır.

Öneriler;

Hasta ve kontrol grubu sayısının az olması, hastalığın nadir görülmesi çalışmanın kısıtlılığı olmuştur. Plazma ET-1 düzeyinin, ET reseptör A -231G>A polimorfizminin ve ET reseptör B G57S polimorfizminin SSc hastalarındaki kesin önemini göstermek için daha geniş hasta ve kontrol grubu olan çok merkezli çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

- 1- **Black, CM.** The aetiopathogenesis of systemic sclerosis: Thick skin-thin hypotheses. The Parkes Weber Lecture. *J R Coll Physicians Lond* **1995**; 29:119-30.
- 2- **Sollberg, S, Mauch, C, Eches, B, Krieg, T.** The fibroblast in systemic sclerosis. *Clin Dermatol* **1994**; 12:379.
- 3- **Yamane, K, Miyauchi, T, Suzuki, N, Yuhara T, Akama T, Suzuki H, Ksahiwagi H.** Significance of plasma endothelin-1 levels in patients with SSc. *J Rheumatol* **1992**; 19:1566-71.
- 4- **Vancheeswaran R, Magoulas T, Efrat G, Wheeler-Jones C, Olsen I, Penny R, Black CM.** Circulating endothelin-1 levels in systemic sclerosis (SSc) subsets — A marker of fibrosis or vascular dysfunction? *J Rheumatol* **1994**; 21:1838-44.
- 5- **Kahaleh, MB.** Endothelin: An endothelial-dependent vasoconstrictor in scleroderma. *Arthritis Rheum* **1991**; 34:978-83.
- 6- **Mayes MD, Lacey JV Jr, Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B, Laing TJ, Schottenfeld D** Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum* **2003**; 48:2246-55
- 7- **Maricq HR, Weinrich MC, Keil JE, Smith EA, Harper FE, Nussbaum AI, LeRoy EC, McGregor AR, Diat F, Rosal EJ.** Prevalence of scleroderma spectrum disorders in the general population of South Carolina. *Arthritis Rheum* **1989**; 32:998-1006. 
- 8- **Keng Chen, Adrian See and Stephen Shumack** Epidemiology and pathogenesis of scleroderma *Australasian Journal of Dermatology* **2003**; 44:1-9
- 9- **Reveille JD, Fischbach M, McNearney T, Friedman AW, Aguilar MB, Lisse J, Fritzler MJ, Ahn C, Arnett FC; 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
- 10- **Tan FK, Arnett FC, Reveille JD, Ahn C, Antohi S, Sasaki T, Nishioka K, Bona CA.** 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.
- 11- **De Keyser F, Peene I, Joos R, Naeyaert JM, Messiaen L, Veys EM.** Occurrence of scleroderma in monozygotic twins. *J Rheumatol* **2000**; 27:2267-9.
- 12- **Roberts-Thomson PJ, Jones M, Hakendorf P, Kencana Dharmapatni AA, Walker JG, MacFarlane JG, Smith MD, Ahern MJ.** Scleroderma in South Australia: epidemiological observations of possible pathogenic significance. *Intern Med J* **2001**; 31:220-9.
- 13- **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.
- 14- **Haustein UF, Andereg U.** Silica induced scleroderma: Clinical and experimental aspects. *J Rheumatol* **1998**; 25:1917-26.
- 15- **Englert H, Small-McMahon J, Davis K, O'Connor H, Chambers P, Brooks P .** Male systemic sclerosis and occupational silica exposure-a population-based study. *Aust N Z J Med* **2000**; 30:215-20.
- 16- **Levin, ER.** Endothelins. *N Engl J Med* **1995**; 333:356.

- 17- **Vancheeswaran, R, Magoulas, T, Efrat, G, et al.** Circulating endothelin-1 levels in systemic sclerosis (SSc) subsets — A marker of fibrosis or vascular dysfunction? *J Rheumatol* **1994**; 21:1838-44.
- 18- **Kahaleh MB, LeRoy EC.** Autoimmunity and vascular involvement in systemic sclerosis (SSc). *Autoimmunity* **1999**; 31:195-214.
- 19- **Rolla G, Colagrande P, Scappaticci E, Chiavassa G, Dutto L, Cannizzo S, Bucca C, Morello M, Bergerone S, Bardini D, Zaccagna A, Puiatti P, Fava C, Cortese G.** Exhaled nitric oxide in systemic sclerosis: relationships with lung involvement and pulmonary hypertension. *J Rheumatol* **2000**; 27:1693-8.
- 20- **Takagi K, Kawaguchi Y, Hara M, Sugiura T, Harigai M, Kamatani N.** Serum nitric oxide (NO) levels in systemic sclerosis patients: correlation between NO levels and clinical features. *Clin Exp Immunol* **2003**;134(3):538-44
- 21- **Andersen GN, Caidahl K, Kazzam E, Petersson AS, Waldenström A, Mincheva-Nilsson L, Rantapää-Dahlqvist S.** Correlation between increased nitric oxide production and markers of endothelial activation in systemic sclerosis: findings with the soluble adhesion molecules E-selectin, intercellular adhesion molecule 1, and vascular cell adhesion molecule 1. *Arthritis Rheum* **2000**; 43:1085-93.
- 22- **Blake DR, Winyard P, Scott DG, Brailsford S, Blann A, Lunec J.** Endothelial cell cytotoxicity in inflammatory vascular diseases — the possible role of oxidised lipoproteins. *Ann Rheum Dis* **1985**; 44:176.
- 23- **Bruckdorfer KR, Hilary JB, Bunce T, Vancheeswaran R, Black CM.** Increased susceptibility to oxidation of low-density lipoproteins isolated from patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* **1995**; 38:1060.
- 24- **Stein, MC, Tanner SB, Awad JA.** Evidence of free radical-mediated injury (isoprostane overproduction) in scleroderma. *Arthritis Rheum* **1996**; 39:1146.
- 25- **Ogawa F, Shimizu K, Muroi E, Hara T, Hsegawa M, Takehara K, Sato S.** Serum levels of 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, are elevated in patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* **2006**; 45:815.
- 26- **Dooley A, Gao B, Bradley N, abraham DJ, Black CM, Jcops M, Bruckdorfer KR.** Abnormal nitric oxide metabolism in systemic sclerosis: increased levels of nitrated proteins and asymmetric dimethylarginine. *Rheumatology (Oxford)* **2006**; 45:676.
- 27- **Kuwana M, Okazaki Y, Yasuoka H, Kawakami Y, Ikeda Y.** Defective vasculogenesis in systemic sclerosis. *Lancet* **2004**; 364:603.
- 28- **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.
- 29- **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.
- 30- **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.
- 31- **Tan FK, Zhou X, Mayes MD, Gourth P, Guo X, Marcum C, Jin L, Arnett FC Jr.** Signatures of differentially regulated interferon gene expression and vasculotrophism in the peripheral blood cells of systemic sclerosis patients. *Rheumatology (Oxford)* **2006**; 45:694-702.

- 32- **Rudnicka L, Majewski S, Blaszyk M, Skiendzielewska A, Makiela B, Skopinska M, Jablonska S.** Adhesion of peripheral blood mononuclear cells to vascular endothelium in patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* **1992**; 35:771-5.
- 33- **Christopher P, Denton John S Axford, Jerry M Grene.** Pathogenesis of systemic sclerosis (scleroderma). *Up to date version 15.3*
- 34- **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.
- 35- **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.
- 36- **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.
- 37- **Bunn CC, Black CM.** Systemic sclerosis: an autoantibody mosaic. *Clin Exp Immunol* **1999**; 117:207-8.
- 38- **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.
- 39- **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.
- 40- **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.
- 41- **Lunardi C, Bason C, Navone R, Millo E, Damonte G, Corrocher R, Puccetti A.** 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.
- 42- **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.
- 43- **Le Roy EC:** Systemic sclerosis (scleroderma), *Cecil's Textbook of Medicine, Bennet JC, Plum F (eds) 20th Edition, Philadelphia* **1996**;:1483-1488
- 44- **Gilliland BC:** Systemic sclerosis (scleroderma), *Harrison's Principles of internal Medicine, 14th Edition, New York, McGraw-Hill* **1998**; 314: 1888-1890
- 45- **Steen VD.** Scleroderma renal crisis. *Rheum Dis Clin North Am* **2003**;29:315-33.
- 46- **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.
- 47- **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.
- 48- **Highland KB, Silver RM.** New developments in scleroderma interstitial lung disease. *Curr Opin Rheumatol* **2005**;17:737-45.
- 49- **Plastiras SC, Karadimitrakis SP, Ziakas PD.** Scleroderma lung: initial forced vital capacity as predictor of pulmonary function decline. *Arthritis Rheum* **2006**;55:598-602.
- 50- **Launay D, Remy-Jardin M, Michon-Pasturel U.** High resolution computed tomography in fibrosing alveolitis associated with systemic sclerosis. *J Rheumatol* **2006**; 33:1789-801.

- 51- **Allanore Y, Meune C, Kahan A.** Systemic sclerosis and cardiac dysfunction: evolving concepts and diagnostic methodologies. *Curr Opin Rheumatol, in pres* **2008**; 20: 697-702.
- 52- **Wipff J, Allanore Y, Soussi F.** Prevalence of Barrett's esophagus in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* **2005**; 52:2882-8
- 53- **Cepeda EJ, Reveille JD.** Autoantibodies in systemic sclerosis and fibrosing syndromes: clinical indications and relevance. *Curr Opin Rheumatol* **2004**; 16:723-32.
- 54- **Prescott RJ, Freemont AJ, Jones CJ, Hoyland J, Fielding P.** Sequential dermal microvascular and perivascular changes in the development of scleroderma. *J Pathol* **1992**; 166:255-63.
- 55- **Herrick AL.** Vascular function in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* **2000**; 12:527-33.
- 56- **Muller DN, Mervaala EM, Schmidt F, Park JK, Dechend R, Genersch E.** Effect of bosentan on NF-KB, inflammation, and tissue factor in angiotensin II-induced end-organ damage. *Hypertension* **2000**; 36:282-90.
- 57- **Shi-wen X, Denton CP, Dashwood MR, Abraham DJ, Black CM.** Endothelin-1 regulation of intercellular adhesion molecule-1 expression in normal and sclerodermal fibroblasts. *J Cardiovasc Pharmacol* **1998**; 31:545-7.
- 58- **Shi-wen X, Denton CP, Dashwood MR, Holmes AM, Bou- Gharios G, Pearson JD.** Fibroblast matrix gene expression and connective tissue remodeling: role of endothelin-1. *J Invest Dermatol* **2001**; 116:417-25.
- 59- **Danese C, Parlapiano C, Zavattaro E, Di Prima M, Campana E, Rota C.** ET-1 plasma levels during cold stress test in sclerodermic patients. *Angiology* **1997**; 48:965-8.
- 60- **Cambrey AD, Harrison NK, Dawes KE, Southcott AM, Black CM, du Bois RM.** Increased levels of endothelin-1 in bronchoalveolar lavage fluid from patients with systemic sclerosis contribute to fibroblast mitogenic activity in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* **1994**; 11:439-45.
- 61- **Morelli S, Ferri C, Poletini E, Bellini C, Gualdi GF, Pittoni V.** Plasma endothelin-1 levels, pulmonary hypertension, and lung fibrosis in patients with systemic sclerosis. *Am J Med* **1995**; 99: 255-60.
- 62- **Vancheeswaran R, Magoulas T, Efrat G, Wheeler-Jones C, Olsen I, Penny R.** Circulating endothelin-1 levels in systemic sclerosis subsets: a marker of fibrosis or vascular dysfunction? *J Rheumatol* **1994**; 21:1838-44.
- 63- **Abraham DJ, Vancheeswaran R, Dashwood MR, Rajkumar VS, Pantelides P, Xu SW, du Bois RM, Black CM.** Increased levels of endothelin-1 and differential endothelin type A and B receptor expression in scleroderma-associated fibrotic lung disease. *Am J Pathol* **1997**; 151:831-41.
- 64- **Kedzierski RM, Yanagisawa M.** Endothelin system: the double-edged sword in health and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **2001**; 41:851-76.
- 65- **Carmen Fonseca, Elizabeth Renzoni, Piersante Sestini, Panagiotis Pantelidis, Anna Lagan, Christopher Bunn, Neil McHugh, Ken I. Welsh, Ron M. du Bois, Christopher P. Denton, Carol Black, and D. Abraham** Endothelin Axis Polymorphisms in Patients With Scleroderma *Arthritis Rheum* **2006**; 54:3034-3042
- 66- **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**; 44:1351-1358.
- 67- **Morton SJ, Powell RJ.** Cyclosporin and tacrolimus: Their use in a routine clinical setting for scleroderma. *Rheumatology* **2000**; 39:865-869.
- 68- **Seibold JR, Korn JH, Simms R, Clements PJ, Moreland LW, Mayes MD.** Recombinant human relaxin in the treatment of scleroderma. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* **2000**; 132:871-879.

- 69- **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.
- 70- **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.
- 71- **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.
- 72- **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.
- 73- **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.
- 74- **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.
- 75- **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.
- 76- **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.
- 77- **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.
- 78- **Badesch DB, McLaughlin VV, Delcroix M, Vizza CD, Olschewski H, Sitbon O.** Prostanoid therapy for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* **2004**; 43:56S–61.
- 79- **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.
- 80- **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.
- 81- **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.
- 82- **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
- 83- **Lee AJ, Chiao TB, Tsang MP.** Sildenafil for pulmonary hypertension. *Ann Pharmacother.* **2005**; 39:869–884.
- 84- **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.
- 85- **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.

- 86- Rosas V, Conte JV, Yang SC, Gaine SP, Borja M, Wigley FM. Lung transplantation and systemic sclerosis. *Ann Transplant* 2002; 5:38–43
- 87- 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.
- 88- Steen VD, Medsger, TA. Jr. Long-term outcomes of scleroderma renal crisis. *Ann Intern Med* 2000; 133:600–603.
- 89- Stratton RJ, Wilson H, Black CM. Pilot study of antithymocyte globulin plus mycophenolate mofetil in recent-onset diffuse scleroderma. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40:84–88.
- 90- 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.
- 91- Verhaar MC, Strachan FE, Newby DE, Cruden NL, Koomans HA, Rabelink TJ, Webb DJ. Endothelin-A receptor antagonist-mediated vasodilatation is attenuated by inhibition of nitric oxide synthesis and by endothelin-B receptor blockade. *Circulation* 1998; 97:752–756.
- 92- Gasic S, Wagner OF, Vierhapper H, Nowotny P, Waldhausl W. Regional haemodynamic effects and clearance of endothelin-1 in humans: renal and peripheral tissues may contribute to overall disposal of the peptide. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 19:176–180.
- 93- Dupuis J, Stewart DJ, Cernacek P, Gosselin G. Human pulmonary circulation is an important site for both clearance and production of endothelin-1. *Circulation* 1996; 94:1278–1284.
- 94- Kohan DE, Padilla E. Osmolar regulation of endothelin-1 production by rat inner medullary collecting duct. *J Clin Invest* 1993; 91:1235–1240.
- 95- Gallego MS, Ling BN. Regulation of amiloride-sensitive Na-channels by endothelin-1 in distal nephron cells. *Am J Physiol* 1996; 271: 451–460.
- 96- Plato CF, Pollock DM, Garvin JL. Endothelin inhibits thick ascending limb chloride flux via ET(B) receptor-mediated NO release. *Am J Physiol* 2000; 279:326–333.
- 97- Harris PJ, Zhuo J, Mendelsohn FA, Skinner SL. Haemodynamic and renal tubular effects of low doses of endothelin in anaesthetized rats. *J Physiol* 1991; 433:25–39.
- 98- Ahn D, Ge Y, Stricklett PK, Gill P, Taylor D, Hughes AK, Yanagisawa M, Miller L, Nelson RD, Kohan DE. Collecting duct-specific knockout of endothelin-1 causes hypertension and sodium retention. *J Clin Invest* 2004; 114:504–511.
- 99- Bagnall AJ, Kelland NF, Gulliver-Sloan F, Davenport AP, Gray GA, Yanagisawa M, Webb DJ, Kotelevtsev YV. Deletion of endothelial cell endothelin B receptors does not affect blood pressure or sensitivity to salt. *Hypertension* 2006; 48:286–293.
- 100- Ge Y, Bagnall A, Stricklett PK, Strait K, Webb DJ, Kotelevtsev Y, Kohan DE. Collecting duct-specific knockout of the endothelin B receptor causes hypertension and sodium retention. *Am J Physiol* 2006; 291:1274–1280.
- 101- Campia U, Cardillo C, Panza JA. Ethnic differences in the vasoconstrictor activity of endogenous endothelin-1 in hypertensive patients. *Circulation* 2004; 109:3191–3195.
- 102- Battistini B, Berthiaume N, Kelland NF, Webb DJ, Kohan DE. Profile of past and current clinical trials involving endothelin receptor antagonists: the novel “-sentan” class of drug. *Soc Exp Biol Med* 2006; 231: 653–695.
- 103- Ivy D, McMurtry IF, Yanagisawa M, Garipey CE, Le Cras TD, Gebb SA, Morris KG, Wiseman RC, Abman SH. Endothelin B receptor deficiency potentiates ET-1 and hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Am J Physiol* 2001; 280:1040–1048.

- 104- Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galie N, Black CM, Keogh A, Pulido T, Frost A, Roux S, Lecointe I, Landzberg M, Simonneau G. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2002; 346: 896–903.
- 105- Barst RJ, Langleben D, Frost A, Horn EM, Oudiz R, Shapiro S, McLaughlin V, Hill N, Tapson VF, Robbins IM, Zwicke D, Duncan B, Dixon RA, Frumkin LR. Sitaxsentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169:441– 447.
- 106- Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332:411– 415.
- 107- Schiffrin EL. State-of-the-Art lecture. Role of endothelin-1 in hypertension. *Hypertension* 1999; 34:876–881.
- 108- Lariviere R, Thibault G, Schiffrin EL. Increased endothelin-1 content in blood vessels of deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive but not in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1993; 21:294 –300.
- 109- Li JS, Lariviere R, Schiffrin EL. Effect of a nonselective endothelin antagonist on vascular remodeling in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. Evidence for a role of endothelin in vascular hypertrophy. *Hypertension* 1994; 24:183–188.
- 110- Schiffrin EL, Deng LY, Sventek P, Day R. Enhanced expression of endothelin-1 gene in resistance arteries in severe human essential hypertension. *J Hypertens* 1997; 15:57– 63.
- 111- Rossi GP, Colonna S, Pavan E, Albertin G, Della Rocca F, Gerosa G, Casarotto D, Sartore S, Pauletto P, Pessina AC. Endothelin-1 and its mRNA in the wall layers of human arteries ex vivo. *Circulation* 1999; 99:1147–1155.
- 112- Fonseca C, Renzoni E, Sestini P, Pantelidis P, Lagan A, Bunn C, McHugh N, Welsh KI, Du Bois RM, Denton CP, Black C, Abraham D. Endothelin axis polymorphisms in patients with scleroderma. *Arthritis Rheum* 2006; 54:3034-42
- 113- Schmidt J, Launay D, Soudan B, Hachulla E, de Groote P, Lambert M, Queyrel V, Morell-Dubois S, Hatron PY. Assessment of plasma endothelin level measurement in systemic sclerosis *Rev Med Interne* 2007; 28:371-6.
- 114- Morelli S, Ferri C, Poletti E, Bellini C, Gualdi GF, Pittoni V, Valesini G, Santucci A. Plasma endothelin-1 levels, pulmonary hypertension, and lung fibrosis in patients with systemic sclerosis. *Am J Med* 1995; 99:255-60
- 115- Zakopoulos NA, Kotsis VT, Gialafos EJ, Papamichael CM, Pitiriga VCh, Mitsibounas DN, Mavrikakis ME. Systemic sclerosis is not associated with clinical or ambulatory blood pressure *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21:199-204.
- 116- Steen VD, Conte C, Owens GR, Medsger TA Jr. Severe restrictive lung disease in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1994; 37:1283-9.
- 117- Steen VD, Medsger TA. Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972-2002. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 940-4
- 118- J. Behr, D. E. Furst. Pulmonary function tests. *Rheumatology* 2008; 47:65-67
- 119- Steen VD, Graham G, Conte C, Owens G, Medsger TA Jr. Isolated diffusing capacity reduction in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1992; 35:765-70.
- 120- Hsu VM, Moreyra AE, Wilson AC, Shinnar M, Shindler DM, Wilson JE, Desai A, Seibold JR. Assessment of pulmonary arterial hypertension in patients with systemic sclerosis: comparison of noninvasive tests with results of right-heart catheterization. *J Rheumatol* 2008; 35:458-65.

- 121- Fernades F, Ramires FJ, Arteaga E, Ianni BM, Bonfa ES, Mady C.** Cardiac involment in patients with systemic sclerosis with no signs or symptoms of heart failure: an endomyocardial biopsy study. *J Card Fail* **2003**; 9: 311-7
- 122- Follansbee WP, Miller TR, Curtiss EI, Orije JE, Bernstein RL, Kiernan JM.** A controlled clinicopathologic study of myocardial fibrosis in systemic sclerosis (scleroderma). *J Rheumatol.* **1990**;17: 656-62.
- 123- Giunta A, Tirri E, Maione S, Cangianiello S, Mele A, De Luca A.** Right ventricular diastolic abnormalities in systemic sclerosis: relation to left ventricular involvement and pulmonary hypertension. *Ann Rheum Dis* **2000**; 59:94-8.
- 124- Maione S, Cuomo G, Giunta A, Tanturri de Horatio L, La Montagna G, Manguso F.** Echocardiographic alterations in systemic sclerosis: a longitudinal study. *Semin Arthritis Rheum* **2005**; 34:721-7.
- 125- Meune C, Avouac J, Wahbi K, Cabanes L, Wipff J, Mouthon L, Guillevin L, Kahan A, Allanore Y.** Cardiac involvement in systemic sclerosis assessed by tissue-doppler echocardiography during routine care: A controlled study of 100 consecutive patients. *Arthritis Rheum* **2008**; 58:1803-9.
- 126- Czirják L, Foeldvari I, Müller-Ladner U.** Skin involvement in systemic sclerosis. *Rheumatology Oxford* **2008**; 47:44-5.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Adem KIDIK
Doğum Tarih ve Yeri : 04.03.1975 – OSMANİYE
Medeni Durum : Evli
Adres : Güzelyalı Mahallesi 104 Sokak Ömer Bayram Sitesi C
Blok 11/22 Çukurova / ADANA

Telefon : 0 (322) 234 26 77 / 0 (532) 295 47 26
E-posta : ademkidik@hotmail.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi (2001)
Görev Yerleri : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (2003-2009)
Yabancı Dil : İngilizce