

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

SKLERODERMADA GALEKTİN-3 DÜZEYİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Fatma AKBAŞ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ahmet IŞIK

ELAZIĞ
2010

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Ahmet IŞIK

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

TEŐEKKÖR

Uzmanlık tezimin oluŐunu ve tamamlanmasında katkıları olan Prof. Dr. Ahmet IŞIK, Doç. Dr. Süleyman Serdar KOCA, Uzm. Dr. Metin ÖZGEN, Prof. Dr. Nevin İLHAN'a, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emir DÖNDER ve uzmanlık eğitimime katkıda bulunan diğer bilim dalları öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Bu tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) koordinasyon birimi tarafından 1895 numaralı proje ile desteklenmiŐtir.

ÖZET

Skleroderma vasküler hasar, immünolojik anormallikler, deri ve iç organların yaygın fibrozu ile seyreden kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Sklerodermada fibroz gelişiminden sorumlu fibroblastlar T lenfositler, makrofajlar, B lenfositler, mast hücreleri ve doğal öldürücü hücreler gibi inflamatuvar hücreler ile etkileşerek, kollajen sentezleyen miyofibroblastlara dönüşmektedir. Sonuçta, ESM artmakta ve fibroz gelişmektedir.

Beta-galaktozid bağlayan lektinlerin bir üyesi olan galektin-3, T hücresi ve makrofajların fibroblastlar ile etkileşimine aracılık etmektedir. Ek olarak, deneysel çalışmalarda, galektin-3 inhibisyonunun fibroz gelişimini önlediği gösterilmiştir. Bu çalışmada, skleroderma hastalarında galektin-3 düzeyinin belirlenmesi ve hastalık aktivite ve şiddet skorları ile ilişkisinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmaya 37 skleroderma hastası, 23 sistemik lupus eritematoz (SLE) hastası (hasta kontrol grubu olarak) ve 28 sağlıklı gönüllü alındı. Hastalık aktivite ve şiddet skorları skleroderma grubunda Valentini hastalık aktivite ve Medsger hastalık şiddet skorları ile SLE grubunda ise *SLE Disease Activity Index* (SLEDAI) ve *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College Of Rheumatology (SLICC/ACR) damage index* ile belirlendi. Rutin laboratuvar parametrelerine ek olarak interlökin-6 (IL-6), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve galektin-3 düzeyleri çalışıldı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, skleroderma ve SLE gruplarında, galektin-3 düzeyi yüksekti (sırasıyla, $p < 0.05$ ve $p < 0.001$). Ancak, galektin-3 düzeyi her iki hastalık grubunda da hastalık aktivite ve şiddet skorları ile korele değilken, TGF- β düzeyleri ile koreleydi (sırasıyla $r = 0.474$, $p = 0.017$ ve $r = 0.503$ $p = 0.014$).

Sonuç olarak, galektin-3 düzeyi hem inflamatuvar bir hastalık olan SLE’de hem de fibrotik bir hastalık olan sklerodermada artmaktadır. Gelecekte, galektin-3’ü hedef alan tedaviler, olası tedavi yöntemi olarak önem taşıyabilir.

Anahtar Kelimeler: Skleroderma, galektin-3, fibroz, TGF- β , VEGF.

ABSTRACT

GALECTIN-3 LEVEL IN SCLERODERMA

Scleroderma is a chronic inflammatory disease characterized by vascular injury, immunological abnormalities and widespread fibrosis of the skin and internal organs. At scleroderma, fibroblasts that responsible for fibrosis development; interact with inflammatory cells such as T lenfosits, macrophages, B lenfosits, mast cells and natural killer cells and than converts to myofibroblasts that can synthesis collagen. As a result extracellüler matrix increases and fibrosis grows up.

Galectin-3, is a member of beta galaktozid binding lectins and mediate interaction between T cells, macrofages and fibroblasts. In addition, in experimental studies, galectin-3 inhibition has been shown to prevent development of fibrosis. This research, galectin-3 levels in scleroderma patients and the relationship between galectin-3 levels and disease activity and disease severity scors were evaluated.

Thirty seven scleroderma patients, 23 systemic lupus erythematosus (SLE) patients (patient control group) and 28 healthy volunteers were included to research. Disease activity and severity scors were detected with Valentini disease activity index and Medsger disease severity scale in scleroderma group and SLE Disease Activity Index (SLEDAI) and Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology (SLICC/ACR) damage index in SLE group. In addition to routine laboratory parameters, galectin-3, vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor- β (TGF- β) and interleukin-6 (IL-6) levels were exemined.

Compared with control group, in scleroderma and SLE groups, galectin-3 levels were higher (in orderly $p < 0,05$, $p < 0,001$). However, both two disease groups, galectin-3 level has no corelation with disease activity and severity scors but has corelation with TGF- β level. (in orderly $r = 0.474$, $p = 0.017$ and $r = 0.503$ $p = 0.014$).

At the result, galectin-3 level has increased as well as at an inflamatuar disease SLE and fibrotic disease skleroderma. In the future, targeted therapies that focused at galectin-3 may be important as a potential treatment method.

Key words: Scleroderma, galectin-3, fibrosis, TGF- β , VEGF

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK	i
ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
KISALTMALAR LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Skleroderma	2
1.1.1. Tanım	2
1.1.2. Epidemiyoloji	2
1.1.3. Etiyopatogenez	2
1.1.3.1. Mikrokimerizm	3
1.1.3.2. Enfeksiyon	3
1.1.3.3. Kimyasal maddeler ve skleroderma	3
1.1.3.4. Sıvısal immün sistem	4
1.1.3.5. Hücresel immün sistem ve sitokinler	5
1.1.3.6. Sklerodermada vasküler anormallikler	5
1.1.3.6.1. Anjiyogenez ve vaskülogenez	6
1.1.3.6.2. Sklerodermada anjiyogenez modeli	7
1.1.3.6.3. Sklerodermada vasküler hasarın diğer mekanizmaları	7
1.1.3.7. Sistemik sklerozda hipoksi	8
1.1.4. Tanı kriterleri	9
1.1.5. Sistemik sklerozda klinik bulgular	10
1.1.6. Sistemik sklerozda tedavi yaklaşımları	12
1.1.6.1. Sklerodermada uygulanan tedaviler ve sonuçları	12
1.2. Galektinler	15
1.2.1. Galektin-3	15
1.2.1.1. Fizyolojik immün cevapta galektin-3'ün yeri	16
1.2.1.2. İmmün hücre proliferasyonu ve apoptozun regülasyonu	17

1.2.1.3. Doğal immünitelerde galektin-3'ün rolü	17
1.2.1.4. Fibroz ve galektin-3 düzeyi	18
2. GEREÇ VE YÖNTEM	21
2.1. Hasta Seçimi	21
2.2. Hastalık aktivite ve şiddet skorlamaları	21
2.3. Laboratuvar analizleri	24
2.4. İstatistiksel Analizler	25
3. BULGULAR	26
4. TARTIŞMA	29
5. KAYNAKLAR	33
6. ÖZGEÇMİŞ	47

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Rodnan deri skorunun değerlendirilmesi	22
Tablo 2.	Fonksiyon skorunun hesaplanması	23
Tablo 3.	Valentini hastalık aktivite indeksinin hesaplanması	24
Tablo 4.	Medsger hastalık şiddet indeksinin hesaplanması	24
Tablo 5.	Çalışma gruplarında demografik özellikler	27
Tablo 6.	Skleroderma hastalarının özellikleri	28

KISALTMALAR LİSTESİ

cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
CRD	: Karbonhidrat tanıma fragmanı
dSSc	: Yaygın cilt tutulumlu sistemik skleroz
D-VAS	: Doktor-vizüel analog skalası
ESH	: Eritrosit sedimentasyon hızı
ESM	: Ekstraselüler matriks
ET	: Endotelin
GİS	: Gastrointestinal sistem
GVHR	: Graft-versus-host-reaksiyonu
HIF-1α	: Hypoxi inducible factor 1 alfa
HSC	: Hepatik stellat hücre
H-VAS	: Hasta-vizüel analog skalası
IL	: İnterlökin
IVIg	: İntravenöz immünglobülin
İAH	: İnterstisyel akciğer hastalığı
İPF	: İnterstisyel pulmoner fibroz
MMP	: Matriks metalloproteinaz
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
PAH	: Pulmoner arteriyel hipertansiyon
RA	: Romatoid artrit
RF	: Raynaud fenomeni
SLE	: Sistemik lupus eritematoz
SMA	: Düz kas aktini
sSSc	: Sınırlı cilt tutulumlu sistemik skleroz
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
Th	: Yardımcı T hücre
TNF-α	: Tümör nekroz faktör alfa
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VKİ	: Vücut kitle indeksi
WT	: Wild-type

1. GİRİŞ

Skleroderma (Sistemik skleroz [SSc]) deri ve iç organların yaygın fibrozu ile karakterize kronik, inflamatuvar bir hastalıktır (1-3). Hastalığın patogenezi net olarak bilinmemekle birlikte vaskülopati ve immün aktivasyon hastalığın patogenezinde önemli rol almaktadır (1-3). Doğal ve edinsel immün sistemin skleroderma patogenezinde anahtar rol oynadığı belirtilmektedir (4). Erken evredeki hastaların cilt biyopsilerinde, T lenfositler başta olmak üzere, makrofajlar, B lenfositler, mast hücreleri ve doğal öldürücü hücrelerden oluşan inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu gösterilmiştir (5-7). Bu inflamatuvar hücrelerin, fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünü tetiklediği ve miyofibroblastların da kollajen sentezleyerek ekstraselüler matriks (ESM) artışı ve fibroza yol açtığı düşünülmektedir (7, 8).

Galektin-3, β -galaktozid bağlayan lektinlerin bir üyesidir (9) ve monosit, makrofaj ve epitelyal hücreler gibi değişik hücrelerden sentezlenmektedir (10, 11). Sitoplazmik membran ve ekstraselüler ortamdaki galektin-3, hücre-hücre ve hücre-matriks ilişkilerinde görev almaktadır (12-14). Ek olarak, değişik hücrelerin migrasyonunu uyarmaktadır (15, 16). Galektin-3 doğal ve edinsel immün yanıtın düzenlenmesinde önemli rol almakta ve nötrofil, monosit, T hücresi ve endotel hücre aktivitelerini etkilemektedir (16-21).

Galektin-3, T hücresi ve makrofajların fibroblastlar ile etkileşimine aracılık etmektedir (22). Galektin-3 *knock-out* farelerde, fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünün gerçekleşmediği ve karaciğer fibrozunun oluşmadığı gösterilmiştir (23). Galektin-3'ün fibrotik süreçteki rolü, akciğer ve renal fibroz modellerinde de belirlenmiştir (24, 25). Romatoid artrit (RA), Sistemik lupus eritematoz (SLE) ve Behçet hastalığında galektin-3 düzeyinin artmış olduğu saptanmıştır (26, 27). Literatürde, skleroderma hastalarında galektin-3 düzeyini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, skleroderma hastalarında serum galektin-3 düzeyi ve hastalık fenotipleri ile olası ilişkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

1.1. Skleroderma

1.1.1. Tanım

Skleroderma, Yunanca, skleras (sert, endüre) ve derma (deri) kelimelerinden türetilmiştir. Skleroderma, ilk olarak Hipokrat tarafından tanımlanıp, Carlo Cruzi tarafından ayrıntılı olarak açıklanmıştır (28).

Skleroderma, sistemik otoimmün bir hastalık olup inflamasyon, vasküler endotelial disfonksiyon, özgü immünolojik anormallikler, kollajen üretimi ve yıkımı arasındaki dengesizlik sonucu gelişen deri ve iç organların yaygın fibrozu ile karakterize bir hastalıktır (28).

1.1.2. Epidemiyoloji

Skleroderma, küçük kan damarlarının yapısal ve fonksiyonel anormallikleri ve deri ve iç organların ilerleyici fibrozu ile karakterize etiyolojisi bilinmeyen kronik, multisistemik bir hastalıktır. Dünyada yaygın dağılımı ile tüm ırkları etkiler (29). Son çalışmalarda, yetişkinlerde sklerodermanın prevalansı yaklaşık milyonda 240 ve insidansı ise milyonda 10-20 olarak bildirilmektedir (29, 30). Hastalık fenotipinin heterojen ve hastalık sürecinin değişken olmasına karşın, başlıca iki farklı klinik tipi belirlenmiştir: sınırlı cilt tutulumlu sistemik skleroz (sSSc), yaygın cilt tutulumlu sistemik skleroz (dSSc). sSSc, yüz ve boyun ve ekstremitelerin distal kısımlarında deri kalınlaşmasıyla karakterize olup, iskemik dijital kayıp ve pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) ile birliktelik gösterirken; dSSc, ekstremitelerin proksimal kısımlarında ve gövdede de deri sertliği, özofagus, akciğer, kalp, gastrointestinal sistem (GİS) ve böbrek tutulumuyla ilişkilidir.

Hastalık, kadınlarda erkeklerden yaklaşık 9 kat fazla görülmekte ve tipik olarak çoğu hastada 30-50 yaşları arasında gözlenmektedir.

1.1.3. Etiyopatogenez

Skleroderma etiyolojisinde, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu immün tolerans kaybının bulunduğu (30, 31) ve ortak bir genetik yatkınlığın var olduğu düşünülmektedir (31). Aile içinde birden fazla bireyde skleroderma görülmesine ilişkin birçok olgu bildirisi bulunmaktadır. Skleroderma gelişme riski,

hastanın birinci derece akrabaları arasında 10-15 kat artmasına karşın, mutlak risk (% 1,6-1,7) düşüktür. Monozigotik ve dizogotik ikizler arasında benzer konkordans hızının olması, genetik bir bağlantıdan çok ortak çevresel faktör görüşünü desteklemektedir.

1.1.3.1. Mikrokimerizm

Mikrokimerizm, aynı organizmada, farklı zigotlardan kaynaklanmış ve farklı genetik yapıda birden çok hücre grubunun bir arada bulunmasıdır. Birçok çalışmada, gebelikte anne ile fetüs arasında kök hücre geçişi olduğu gösterilmiştir. Doku içine karışmış olan bu fetal hücrelerin, çevresel faktörlerin etkisi ile aktive olup bir çeşit *graft-versus-host*-reaksiyonuna (GVHR) neden olduğu ve sklerodermanın klinik belirtilerini başlattığı düşünülmektedir. GVHR ile skleroderma arasında klinik, serolojik ve histopatolojik benzerlikler olması da bu hipotezi desteklemektedir (32).

1.1.3.2. Enfeksiyon

Enfeksiyon ajanlarının doğrudan skleroderma yaptığına ilişkin bir bulgu bulunmamakla birlikte, bazı mikrobik ajanların çeşitli proteinlerine karşı oluşan antikor titrelerinin skleroderma hastalarında yüksek saptanması veya bu mikrobik ajanlara karşı oluşan antikorların skleroderma hastalarında sıklıkla pozitif bulunan bazı antikorlar ile çapraz reaksiyon göstermesi gibi çok sayıda dolaylı bulgu vardır. Örneğin, retrovirüs p307 proteini anti-topoizomeraz-1 (anti-Scl 70) tarafından tanınmaktadır. İnsan sitomegalovirüs-UL94 (CMV-UL94) proteinine karşı oluşmuş olan anti-CMV antikorları da skleroderma hastalarında yüksek sıklıkta saptanmaktadır. Bu antikorlar, aynı zamanda insan endotelial hücrelerinin apoptozunu da indüklerler (33).

1.1.3.3. Kimyasal maddeler ve skleroderma

Tedavide veya sanayide kullanılan birçok kimyasal madde ile temas sonucu, skleroderma ile oldukça benzerlik gösteren bulgular görülebilmektedir. Tedavide kullanılan bleomisin, deride renk değişikliği ve sklerotik değişikliklere neden olabilmektedir. İlişkili kimyasal maddelerin başlıcaları ise benzen, toluen, trikloroetan, trikloroetilen, perkloroetilen ve tinerdir (34). Ayrıca, birçok alanda kullanılmakta olan silikonun immün sistem üzerinde etkileri vardır. Silikon, doğal

immün sistem hücreleri tarafından tanınarak, makrofajların interlökin-1 (IL-1) ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) salgılamasına ve edinsel immün sistemi uyararak dokuların fibrohyalin sentezinde artışa yol açar. Ayrıca, silikoziste RA, SLE ve skleroderma sıklığında artış belirlenmiştir (35, 36). Anilin karıştırılmış kolza yağı (toksik yağ sendromu), L-triptofan kullanımı (eosinofili-miyalji sendromu), gadolinium içeren kontrast maddeler (nefrojenik fibroz sendromu) skleroderma ile ilişkilendirilmiş diğer toksik maddelerdir (37-39).

1.1.3.4. Sıvısal immün sistem

Skleroderma hastalarında hipergamaglobulinemi ve otoantikörlerin varlığı ve CD-19 eksprese eden hücrelerin periferik kanda artmış bulunması, B hücre aktivasyonunu göstermektedir.

Aktive B hücreleri, IL-4 ve IL-10 salgırlar. Bu iki sitokin de yardımcı T hücre-2 (Th-2) uyarısına ve sonuç olarak fibrozda artışa neden olur. Ayrıca, aktive B hücrelerinden salgılanan transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) ve IL-6, fibroblastları doğrudan uyararak fibrozu artırabilmektedir (40).

İnterlökin-6; T hücreleri, monositler, makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreleri ve hepatositler gibi birçok hücreden salınan bir sitokindir (41). IL-6'nın, dermal fibroblastları kollajen ve glikozaminoglikan üretmek üzere uyardığı gösterilmiştir (42). Sklerodermalı hastalarda, IL-6 düzeyinin kontrol grubuna göre artmış olduğu gösterilmiştir (43). Deneysel skleroderma modelinde, CD-20 monoklonal antikoruna ile B hücrelerinin deplesyonu IL-6, mesajcı ribonükleik asit (mRNA) düzeyi ve fibrozun azalmasına neden olmaktadır (44). Bu nedenle, anti CD-20 monoklonal antikoruna ve anti-IL-6 insan skleroderma tedavisinde önemli bir tedavi seçeneği olabilir.

Sklerodermada, B hücrelerin etkilerinin bir diğer göstergesi olan ve plazma hücrelerinden sentezlenen otoantikörler, hastaların yaklaşık %95'inde bulunmaktadır (45). Sklerodermada saptanan otoantikörler, sklerodermaya özgü olabildikleri gibi, diğer bağ dokusu hastalıklarında da belirlenebilirler.

1.1.3.5. Hücresel immün sistem ve sitokinler

İmmün aktivasyon/inflamasyon, sklerodermanın erken dönemdeki bulgularından birisidir ve zamanla yerini fibroza bırakır. Mononükleer hücreler, başlıca CD-4 (+) T hücreleri ve makrofajlardan oluşur. CD-4 (+) T hücreleri ön planda IL-4, IL-10, IL-13, IL-17 gibi sitokinler salgırlar. TGF- β ile birlikte IL-4, skleroderma hastalarındaki en önemli fibrogenik sitokinlerdir. IL-4, fibroblastlarda kollajen sentezini uyararak fibrozu indükler ve TGF- β salınımını uyarır. TGF- β kollajen, fibronektin ve proteoglikan sentezini uyarır, matriks metalloproteinaz (MMP) sentezini baskılayarak ve MMP doku inhibitörünün sentezini uyararak ESM yıkımını engeller (46). Anti TGF- β antikolar fibrozu baskılamaktadır (47).

Genel kanı olarak, Th2 hücre aktivasyonunun (IL-4 üretimi) fibrozu indüklediği, Th1 hücre aktivasyonunun ise inhibe ettiği ileri sürülmektedir. Bu nedenle, Th1 ve Th2 hücreler skleroderma patogenezinde rol alıyor olabilirler (47).

Graft-versus-host reaksiyonu oluşumundan, donör T lenfositleri sorumludur (48). Diğer taraftan, GVHR ile skleroderma arasında klinik ve histolojik birçok benzerlik saptanmıştır (48). Skleroderma hastalarında saptanan CD-4 (+) T hücrelerinin antijenik uyarıya bağılı olarak hastalığı başlattıkları düşünülmektedir.

Sonuç olarak, skleroderma, etiyolojisi henüz tam olarak bilinmeyen, ancak patogenezinde oldukça önemli gelişmeler sağlanmış olan otoimmün bir hastalıktır. Patogenezinde sağlanacak gelişmelerin, hastalığın daha iyi anlaşılmasına ve yeni tedavi olanaklarının geliştirilmesine yol açması beklenmektedir.

1.1.3.6. Sklerodermada vasküler anormallikler

Vasküler anormallikler, skleroderma patogenezinin önemli bir komponentidir. Vasküler hasarı başlatan, hasarın tamirini önleyen ve anjiyogenezi bozan mekanizmalar çok az bilinmektedir (49). Bu ana mekanizmalar, üç patolojik faktörün etkileşimini içerir: 1) küçük arter ve kapillerlerin vaskülopatisi 2) immünolojik hasar ve 3) fibroz. Bu süreç, mikrovasküler değişikliklerle başlar, endotel hücre aktivasyonunu izleyen inflamasyon ve damar çevresine inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile seyreden immün hücre aktivasyonu ile sonuçlanır. İnflamatuvar hücreler, başlıca doğal immün sistem ve monosit/makrofaj kaynaklıdır (28, 50).

Daha sonra, edinsel immün sistem olaya karışmaktadır (50). Yapılan çalışmalarda, (47, 50) deride T ve B lenfosit infiltrasyonlarının kanıtları gösterilmiştir. Bu inflamatuvar hücrelerin, fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünü tetiklediği ve miyofibroblastların da kollajen sentezleyerek ESM artışına ve fibroza yol açtığı düşünülmektedir. Değişik sitokinlerin sentezlenmesi damar hasarı, intimal hiperplazi, trombosit agregasyonu ve vazokonstriksiyona neden olarak tıkaçıcı (obliteratif) mikroanjyopati ile sonuçlanmaktadır (28, 50).

1.1.3.6.1. Anjiyogenez ve vaskülogenez

Anjiyogenez, daha önce var olan damarlardan yeni kan damarlarının oluşmasıdır. Anjiyogenez endotel hücre aktivasyonu, proliferasyonu, migrasyonu ve ayrıca proteolitik enzimlerin indüklenerek ESM'nin temizlenmesiyle oluşur. Anjiyogenezi, proanjyogenik ve antianjiyogenik faktörler arasındaki denge düzenler (51). Bu olay oldukça karmaşık olup, endotel hücre ile çözünen anjiyogenik büyüme faktörleri ve ESM moleküllerinin dinamik bir şekilde etkileşimine ihtiyaç duyar.

Vaskülogenez ise progenitör hücrelerden yeni damar oluşumu olarak tanımlanır. Kemik iliği kaynaklı bu hücreler, fizyolojik ve patolojik vasküler şekil değişikliklerine katkıda bulunurlar. Progenitör hücreler kalp, karaciğer, böbrek, beyin gibi birçok organda yapısal ve fonksiyonel vasküler onarımı gerçekleştirirler (52).

Doku iskemisi varlığında, progenitör hücreler kemik iliğinden veya periferik bölgelerden dolaşıma geçip vasküler lezyonun olduğu bölgeye gelir ve lokal koşullara göre matür hücre tiplerine dönüşürler (53). Bu patofizyolojik süreçte, düşük progenitör hücre varlığına veya progenitör hücre farklılaşmasına bağlı herhangi bir yetersizlik, damar endotelinin onarımında aksamaya neden olur. Tanaka ve ark. (54), kemik iliği hücrelerinin mekanik vasküler hasar sonrası, neointimal hiperplaziye katkıda bulunduğunu göstermişlerdir. Hasara yanıt olarak, endotel hücre adezyon ligandlarının ekspresyonunda artış ve interstisyel alan ve dokuya inflamatuvar hücre göçü gerçekleşir. Endotel hücrelerin kaybı, koruyucu ve vazodilatör sitokinlerin kaybına neden olur. Büyüme faktörlerine yanıt olarak damar düz kas hücreleri çoğalır, damar duvarında matriks depolanması ve sonuç olarak damar tıkanıklığı oluşur.

1.1.3.6.2. Sklerodermada anjiyogenez modeli

Doku iskemisi, anjiyogenik filizlenmeyi başlatan vazodilatasyon, proliferasyon, endotel hücre migrasyonu ve yeni damar oluşturmak üzere lümeni stabilize eden büyüme faktörlerinin ekspresyonunda artışa neden olur (55).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), neovaskularizasyonun ana düzenleyicisidir. Yeterli doku vaskülarizasyonu, VEGF ekspresyonunun düzenlenmesiyle gerçekleşir. Sklerodermada plazma VEGF düzeyi artmıştır (55). Sklerodermada azalmış kapiller yoğunluk ve doku iskemisine karşın, paradoksal olarak yeterli anjiyogenik yanıt yoktur. Kronik ve kontrolsüz VEGF ekspresyonu, glomerüloid veya hemanjiyom benzeri kaotik damarların oluşumunu indükler (55, 56). Dor ve ark. (57), deneysel skleroderma modelinde yeterli vaskülarizasyon için VEGF ekspresyonunun gerekli olduğunu göstermişlerdir. Kısa süreli VEGF ekspresyonunun yeni, olgun ve fonksiyonel damarların oluşumuna neden olduğu, uzun süreli VEGF ekspresyonunun ise irregüler ve ince, yeterli fonksiyon göremeyen damarların oluşumuyla sonuçlandığı gösterilmiştir (57). Bu irregüler, ince ve bozuk damarlar sklerodermadaki damarları anımsatmaktadır (58). 'In situ hibridizasyon' ile elde edilen sonuçlarda, skleroderma hastalarının epidermal keratinositlerinin ortalama VEGF ekspresyonu, sağlıklı bireylere göre artmış bulunmuştur.

1.1.3.6.3. Sklerodermada vasküler hasarın diğer mekanizmaları

Oksidatif stres, ilerleyici endojen serbest radikallerin artışına bağlı olarak endotel hücre yaşlanmasıyla ilişkilidir. Sklerodermada, peroksidasyon ürünü olan 'diene konjugantları' ve okside düşük dansiteli lipoproteinlere karşı oluşan antikordarda artış gözlenmiştir (59). Endotel hücrelerinin kronik olarak serbest radikal oksijenlere maruz kalması, yapısal değişikliklere ve hücre adezyonunda bozulmaya neden olmaktadır. Ayrıca oksidatif stres, vasküler endotelyal geçirgenliği artırmaktadır. Bu verilere dayanarak, antioksidan tedavisinin skleroderma hastalarının damar değişikliklerine olumlu etki yapabileceği ileri sürülmektedir (59).

Endotelin-1 (ET-1), başlıca endotel hücreler ve düz kas hücrelerinden sentezlenir. ET-1, bilinen en güçlü vazokonstriktör olup ESM formasyonunu ve mitogenezi indükler. Kollajen ve fibronektin üretimi ve hücre migrasyonunu

indükleyebilme özelliği olan mezangial hücrelerini regüle edebilmesi, ET-1'i ESM sentezinin, vasküler ve interstisyel yeniden yapılanmanın ana düzenleyicisi yapar. Sklerodermada, plazma ET-1 düzeyindeki artış; vazokonstriksiyon artışı, vasküler endotel hücre proliferasyonu, vasküler düz kas hücre artışı ve geriye dönüşümsüz vasküler yeniden yapılanmaya neden olur (60).

1.1.3.7. Sistemik sklerozda hipoksi

Oksijen, mitokondride adenzin trifosfat (ATP) oluşumu sırasında son elektron yakalayıcısı olarak görev yapar ve birçok enzimatik reaksiyonda ana substrattır. Fizyolojik oksijen konsantrasyonundaki azalma, metabolik ölümle sonuçlanır. Oksijen konsantrasyonunun artması ise proteinler, lipidler ve nükleik asitlerin oksidatif hasarına neden olarak, çoğunlukla apoptoz veya karsinogenezle sonuçlanır. Bu nedenle, sistemik ve hücrel oksijen düzeyindeki en küçük değişiklikler bile, sıklıkla, kısa veya uzun süreli cevaplarla fizyolojik aralıkta tutulmaya çalışılır. Son 20 yılda, hipoksiye verilen yanıtlar ve endojen hipoksi belirteçleri detaylı şekilde açıklanmıştır. Bu bilgiler ışığında, oksijen düzeyine bağlı olarak, *hypoxi inducible factor-1 α* (HIF-1 α)'nın, transkripsiyon faktörlerinin moleküler incelenmesiyle elde edilen bilgilerle birlikte, birçok hücre tipinde bulunduğu ve oksijen homeostazında önemli bir yere sahip olduğu anlaşılmıştır. HIF-1 α 'nın enerji metabolizmasında, anjiyogenez, vazomotor kontrol, apoptoz, proliferasyon ve matris üretimiyle ilgili birçok gen transkripsiyonunu aktive ettiği tespit edilmiştir (61).

Oksijen yetersizliği, HIF-1 α sentezine neden olur (62). Düşük oksijen konsantrasyonlarında HIF-1 α düzeyi artar. HIF-1 α , akut hipoksida birikirken kronik hipoksida 'pürivat dehidrogenaz' aktivitesiyle ortadan kaldırılır (63). Hipoksi sırasında HIF-1 α , mitokondriyal oksijen alımını azaltan ve mitokondriyal solunumu inhibe eden 'pürivat dehidrogenaz kinaz-1'i indükler (64). Mitokondriyal solunumun inhibisyonu, hücre içi oksijen düzeylerini artırır (65, 66). Böylece, skleroderma gibi hipoksinin işe karıştığı hastalıklarda, HIF-1 α olası tedavi hedefi olarak düşünülebilir.

Skleroderma hastalarının organlarında, mikroanjiyopatiden başka, doku fibrozu da doku hipoksisi ve beslenmesini engelleyen etkenlerdendir (67). Kollajen,

fibronektin ve glikozaminoglikanlar gibi ESM proteinlerinin birikiminde artış, hücreler ve onları besleyen damarlar arasındaki mesafeyi artırır ve fonksiyonel kapillerlerin kaybı, doku hipoksisi ve beslenme bozukluğuna katkıda bulunur (68). Manalo ve ark. (69), pulmoner endotel hücrelerde, 24 saatlik hipoksi sonrası, çok sayıda kollajen kodlayan gen ve kollajen sentez eden enzimin varlığını saptamışlardır. Bu bulgularla birlikte, hipoksinin, ESM sentezini uyarabileceği ve skleroderma gibi fibrozla seyreden hastalıklarda fibroz patogenezinde aktif rol oynuyor olabileceği ileri sürülmüştür.

Fibrogenezle ilgili bir diğer ajan olan TGF- β , sklerodermada ESM proteinlerinin ana uyarandır (70). Skleroderma hastalarında, TGF- β 'nın dermal fibroblastlarda hipoksi bağımlı fibrogenezdeki rolü araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda hipoksi ve fibroz arasında kısır bir döngü olduğu bildirilmiştir. Hipoksi, ESM üretimi ve birikimini uyarmaktadır. Doku fibrozuyla sonuçlanan bu süreç, oksijen difüzyonunu inhibe ederek ve doku hipoksisini daha da ağırlaştırarak, ESM üretimini artırır. TGF- β inhibisyonu, hipoksiye yanıt olarak ESM artışını önler. 48 saatlik hipoksik şartlarda, TGF- β nötralizasyonunun, skleroderma hastalarının fibroblastlarında üretilen fibronektin-1, trombospondin-1 ve TGF- β inhibitör üretimini bloke ettiği gösterilmiştir (70). Bu bulgular, TGF- β ilişkili yolların inhibisyonunun, hipoksinin profibrotik etkilerini önleyebileceği düşündürmektedir. TGF- β yolağının inhibe edilmesi, sklerodermada hipoksiyle indüklenen ESM üretimini hedef alan yaklaşımlardan biri olabilir.

1.1.4. Tanı kriterleri

Skleroderma tanısında Amerikan romatoloji derneği (ACR) tarafından belirlenen kriterler kullanılmaktadır (71). Bu kriterler:

Major kriter

Proksimal skleroderma: parmaklarda, metokarpofalangeal ve metotarsofalangeal eklem proksimalinde kalan deride difüz simetrik kalınlaşma, gerginlik ve ülserler olması

Minör kriterler

Sklerodaktili

Parmak uçlarında iskemik değişikliklere bağlı ülserasyonlar veya amputasyonlar bulunması

Akciğer bazallerinde fibroz bulunması.

1.1.5. Sistemik sklerozda klinik bulgular

Sklerodermanın ilk bulgusu genellikle Raynaud fenomenidir (RF). Deri ve iç organ tutulumları, RF'nin hemen ardından ve/veya çok sonraları ortaya çıkabilir. RF, soğuk ve stres gibi kolaylaştırıcı faktörlerle el ve ayak parmakları, daha nadiren kulak, burun ve dilde ortaya çıkar. Kalp, böbrek ve akciğer damarlarında da soğukla ortaya çıkan RF görülebilir. Parmaklarda solukluk, morarma ve kızarma şeklinde görülebilen üç fazlı renk değişikliği her hastada ardışık olarak görülmeyebilir. RF, ilerleyici iskemi ve ikincil enfeksiyonlar, iyileşmeyen dijital ülser, gangren ve otoampütasyonlara neden olabilir (72).

Deri tutulumu inflamatuvar (ödematöz), fibrotik (sklerotik) ve atrofik evreler ile seyreder. İnflamasyon evresinde, parmaklar ve eller başta olmak üzere, ön kol ve ayaklarda şişlik ve deri çizgilerinin kaybı dikkat çekicidir. Ter ve yağ bezlerinin atrofisi, deride kuruluk ve kaşıntıya neden olabilir. Fibrotik süreçte, metakarpofalangeal eklem distaline sınırlı deri değişiklikler 'sklerodaktili' olarak tanımlanır. Derideki sertleşme ve pigmentasyon değişiklikleri boyun, omuzlar, göğüs üst kısmı, bel ve pantolon kemeri gibi basınca uğrayan alanlarda daha belirgindir. dSSc'de deri ve tendon fibrozu sonucu gelişen eklem kontraktürleri, ciddi fonksiyon kaybına neden olabilir. Deri altı kalsinozu ön kol, dirsek veya parmaklar gibi travmaya uğrayan deri alanlarında, hidroksiapatit depolanması sonucu ortaya çıkar. Kalsinoz bölgelerinde, deri ülserleri ve ikincil enfeksiyonlar gelişebilir (72).

Sklerodermada GİS tutulumu, orofarenksten anüse kadar tüm GİS'i etkileyebilir. Bulgular, deri tutulumunun yaygınlığından bağımsız olarak, değişik şiddette görülebilir. Sklerodermada temel sorun motilite bozukluğudur. Özofagus 2/3 distalindeki düz kas tutulumuna bağlı motilite bozukluğu, yutma gücüne yol açar. Alt özofagus sfinkter basıncında azalma sonucu, gastroözofageal reflü (GÖR) ve dispepsi yakınması gelişir. İntestinal dismotilite, şişkinlik ve karın kramplarına yol açabilir. İntestinal bakteriyel aşırı çoğalma nedeniyle, birbirini izleyen kabızlık ve

ishal atakları görülebilir. Ayrıca, özofagus erozyon ve ülserleri, tüm GİS boyunca görülebilen mukozal telenjektaziler ve bazı hastalarda gastrik antral vasküler ektazi nedeniyle değişik şiddette GİS kanamaları görülebilir.

Sklerodermada akciğer tutulumu, morbidite ve mortalitenin en sık nedenidir. İnterstisyel akciğer hastalığı (İAH) ve/veya PAH en sık birlikte görülebilen klinik tablolardır (73). Bununla birlikte, yaygın deri tutulumlu ve anti-Sc1-70 pozitifliği olan hastalarda daha erken ve sık görülürler. Anti-sentromer antikor pozitifliği olan hastalarda ise İAH gelişme riski düşüktür (73). İleri evre İAH'ta, yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT) ile her iki akciğerde geri dönüşümsüz fibrozu yansıtan 'bal peteği' görünümü saptanır.

Akciğer semptomlarındaki kötüleşme, İAH'ın ilerlemesi olduğu kadar ikincil olarak gelişmiş olan PAH'ı da akla getirmelidir. PAH, sklerodermada prognozu belirleyen diğer bir akciğer tutulumu bulgusudur. sSSc'li ve anti-sentromer antikor pozitif hastalarda, ilk RF atağı görüldükten yıllar sonra izole PAH gelişebilmektedir (73). Ancak, dSSc'li hastalardan anti-Sc1-70 antikoru (+) olanlarda da izole PAH gelişebileceği bilinmelidir. Sklerodermalı hastalarda açıklanamayan nefes darlığı, yorgunluk ve atipik göğüs ağrısı varlığında mutlaka PAH düşünülmelidir. Fizik bakıda ikinci kalp sesinin pulmoner komponentinde (P2) şiddetlenme ve bazen ikinci kalp sesinde çiftleşme olabilir. İleri evrelerde sağ kalp yetersizliği bulguları eşlik edebilir.

Sklerodermada, subklinik kalp tutulumu sıktır. Ekokardiyografi ile hafif-orta düzeyde ve belirti vermeyen eksüdatif karakterde perikardiyal efüzyon, dSSc'li hastalarda daha sık olmak üzere sistolik ve/veya diastolik disfonksiyon saptanabilir. Diastolik disfonksiyon, PAH'ın erken bulgusu olabilir (74). Mikrovasküler hastalık zemininde gelişen iskemik hasar 'yama tarzında fibroz'a ve ileti problemlerine yol açabilir. Ventriküler ve daha az sıklıkta atriyal erken vurular görülebilir. Sklerodermada, kalp tutulumu kötü prognoz işaretidir (75).

Sklerodermada, mikroanjyopatiye bağlı böbrek tutulumu 'renal kriz' olarak tanımlanan tabloya yol açabilir. Renal kriz, dSSc'li hastaların %10'unda hastalığın genellikle ilk yıllarında gelişir (76, 77). Renal kriz, nadiren deri tutulumuna öncülük edebilir. Renal kriz sırasında baş ağrısı, nefes darlığı, görme bozukluğu, epileptik nöbet, akciğer ödemi, alt ekstremitte ödemi ve göz dibi değişiklikleri gibi malign

hipertansiyon bulguları saptanabilir. Klinik bulgulara anemi, trombositopeni, böbrek yetersizliği, proteinüri, hematüri ve eritrosit silendirleri eşlik edebilir. Yaygın deri tutulumu, perikard efüzyonu, yeni gelişen anemi ve anti-RNA polimeraz III antikor pozitifliği renal kriz gelişimi için risk faktörleridir. Prognoz, ileri yaşlı, erkek, serum kreatin düzeyi yüksek (3 mg/dl) ve normotansif hastalarda daha kötüdür (78). Normotansif ve 15 mg/gün ve üzerinde kortikosteroid tedavisi alan hastalarda renal kriz riskinin arttığı ileri sürülmektedir

Sklerodermalı hastalarda dil, özofagus, meme kanseri ve akciğer adenokanseri riskinde de artış bildirilmiştir (79).

1.1.6. Sistemik sklerozda tedavi yaklaşımları

Sklerodermada tedavinin etkinliği; doğru tanı konulması, hastalık alt grubunun belirlenmesi, hastalık evresi ve organ sistem tutulumlarını varlığı ile ilişkilidir (80). Sklerodermada, özgü organ tutulum belirtileri ortaya çıkıncaya kadar belirli bir zaman geçmektedir. Sklerodermada, özgü iç organ tutulumlarına yönelik tedavilerin etkinliğine bağlı olarak, hastaların yaşam süresi belirgin şekilde artmıştır. Sklerodermada, tedavi hedefleri olarak, selüler mediyatörlere odaklanılması yararlı olabilir.

1.1.6.1. Sklerodermada uygulanan tedaviler ve sonuçları

Bosentan: PAH, küçük pulmoner arterlerin hastalığıdır. Üç farklı faktörün, pulmoner arterlerin daralmasına ve vasküler dirençte artışa neden olduğu düşünülmektedir: 1) Vazokonstriktörler ve vazodilatörler arasındaki dengesizlikten kaynaklanan vazokonstriksiyon 2) Vasküler düz kas hücre proliferasyonu 3) Pulmoner damarların *in situ* trombozu ile oluşan pıhtılaşma anormallikleri.

Vasküler endotelden sentezlenen ET-1, bilinen en kuvvetli vazokonstriktördür. ET_A ve ET_B olmak üzere farklı etkiler oluşturan iki farklı memeli ET reseptörü (ETR) bulunmaktadır. Sklerodermada artmış ET-1 ekspresyonu ve etkilenen organ/dokularda artmış ETR ekspresyonu gösterilmiştir (60, 81). Bosentan, PAH tedavisinde onaylanmış olan, yüksek afiniteli ETR antagonistidir (28, 82).

Bosentan deri fibrozu, dijital ülser, pulmoner fibroz, PAH gibi değişik skleroderma belirtilerinde yararlı gibi gözükmemektedir (83-85). 2x125 mg/gün oral

bosentan kullanımının idiyomatik pulmoner hipertansiyon (İPH), bağ doku hastalığı, konjenital, sistemik ve pulmoner şantlar, konjenital kalp hastalıkları ve insan immün yetmezlik virüsü ile ilişkili PAH'lı hastalarda egzersiz kapasitesini artırdığı gösterilmiştir (85). Bosentanın bu etkileri, yeni ilaçlar olan sitaksentan ve ambrisentan gibi selektif ET_A reseptörü antagonistleriyle de gösterilmiştir (86, 87). Ambrisentan non sulfonamid, selektif ET_A reseptör antagonistidir ve PAH ile ilgili iki randomize kontrollü çalışmada etkinliği gösterilmiştir (85, 87).

İntravenöz immünglobülin (IVIg): İntravenöz immünglobülin birçok immün yetmezlik sendromu ve otoimmün hastalıkta tedavi amacıyla kullanılmaktadır (88). Deneysel hayvan modellerinde (89), IVIg'in skleroderma, SLE ve Antifosfolipid antikor (AFA) sendromunda kullanılabileceğini gösterilmiştir. Ancak IVIg, yüksek maliyeti nedeniyle hastalığı modifiye edici antiromatizmal ilaçlara (DMARDs) yanıt alınmadığında kullanılmaktadır.

Metotreksat: Metotreksat ile yapılan bir çalışmada (90), 6 aylık 15 mg/hafta dozunda metotreksat kullanımının sadece subjektif iyileşme sağladığı belirlenmiştir. Plasebo kontrollü olan bu çalışma, skleroderma hastalarında metotreksat kullanımının, tedavi sonrası hastaların %33'ünde iyileşme sağladığını ve plasebo grubunda ise iyileşme gözlenmediğini göstermiştir fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Siklofosfamid: Siklofosfamid immünsupresif bir ajan olup, Avrupa Romatizma Birliği (EULAR) tarafından skleroderma hastalarında gelişen İAH tedavisinde önerilmektedir. EULAR, aktif İAH saptanan hastalarda, siklofosfamidin oral 1-2 mg/kg/gün veya intra venöz 600 mg/m²/ay dozlarda uygulanmasını önermiştir. Plasebo kontrollü olarak yapılan bir çalışmada (91), bir yıl oral siklofosfamid tedavisinin, skleroderma ilişkili İAH bulunan hastaların akciğer fonksiyonlarında, nefes darlığı, deri kalınlaşması ve yaşam kalitesinde belirgin düzelme sağladığı gözlenmiştir. Çalışmaya göre (91), akciğer fonksiyonlarındaki düzelme iki yıl devam etmiştir. Ayrıca, çalışma skleroderma hastalarında, siklofosfamidin başlangıca göre fibroz şiddetini ve nefes darlığını eşit şekilde azalttığını ortaya çıkarmıştır. Ancak, deri kalınlığındaki iyileşme, dSSc'de sınırlı tipten daha belirgin olarak gözlenmiştir (92). Bir diğer çalışmada (93), siklofosfamid

tedavisinin nefes darlığı dışındaki etkilerinin, 24 aydan fazla sürdürülemediği bildirilmektedir. Bununla birlikte, siklofosamid lökopeni, enfeksiyonlara yatkınlık, hemorajik sistit, alopesi ve infertilite gibi yan etkiler yapabilmektedir. Ek olarak, siklofosamid mesane kanseri gibi ikincil maligniteler ile ilişkilendirilmektedir.

Kinapril: Sistemik skleroz tedavisinde kullanılan bir anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörüdür. Kinaprilin çok merkezli bir çalışma olan QUINS çalışması ile periferik vasküler manifestasyonları bulunan erken evre sklerodermalı hastalarda, 3 yıl boyunca, hastalığa bağlı progresif iç organ tutulumunu önlemedeki etkinliği ve tolere edilebilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır (94). Bir diğer çalışmada (95) 2-3 yıl boyunca, 80 mg/gün dozunda kinapril uygulanmasının, sSSc'nin periferik vasküler belirtilerinin tedavisinde ve iç organ tutulumunun ilerleyişinin önlenmesinde yarar göstermediği belirlenmiştir.

Sildenafil: Vazoregülasyon için siklik guanozin monofosfat (cGMP) yolu, sinyal iletiminde yeni saptanmıştır. cGMP'nin klasik regülatuar rolleri düz kas relaksasyonunun uyarılması, nötrofil degranülasyonu, trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve görsel sinyal iletiminin başlatılmasıdır. cGMP özgü fosfodiesteraz-5'in selektif ve potent bir inhibitörü olan sildenafil, PAH tedavisinde araştırılmaktadır (28, 96).

Nitrik oksit, yüksek dozlarda inflamasyonu artırıcı etkileri olan önemli bir mediatör olmasına karşın, endotel bağımlı vazodilatasyonda önemli bir araçtır. Sildenafil tedavisi, komplike PAH'lı hastalarda olumlu etkiler oluşturmaktadır. Sildenafilin, çift kör plasebo kontrollü 278 hasta ile yapılan bir çalışmada (97) etkinliği gösterilmiştir. Uzun etkili fosfodiesteraz inhibitörleri olan sildenafil ve taladafilin pulmoner vasküler seçicilikleri bulunmaktadır (28, 97).

Penisilamin: Penisilamin ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada (98), penisilaminin yüksek doz (822 mg/gün) ve düşük doz (120 mg/gün) uygulanması plasebo ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda her iki doz ile plasebo arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bir diğer tek merkezli retrospektif randomize bir çalışma (99), 24 ay süresince ortalama 750 mg/gün dozunda penisilamin kullanan saptanabilir deri sklerozu bulunan 84 dSSc hastası ile

yapılmış ve hastalarda istatistiksel olarak, deri, kardiyak, pulmoner ve renal tutulumunda anlamlı iyileşme gözlenmiştir.

Yeni moleküller olan anti TGF- β monoklonal antikor (GC-1008)(46), relaksin (80, 81) ve daha eski ilaçlar olan azatiopurin (97), klorambusil (97), gamainterferon (97), penisilamin (98), minosiklin (100) ve tamoksifenin (101) ise sklerodermada kullanımlarının yararlı olduğu kanıtlanamamıştır.

1.2. Galektinler

Galektinler, homolog aminoasit tekrarı ve 'homolog karbonhidrat tanıma alanı (CRD)' içeren, β -galaktozid bağlayan, oligosakkaritlere afinitesi olan, hayvan memeli lektinleridir (9, 102). Birçok değişik immün hücre tipi ve türdeş canlıda (memeliler, balıklar, kuşlar, nematodlar, süngerler) bulunurlar (9, 103).

Memelilerde, 15 ayrı galektin bulunmaktadır. Bazı galektinler, bir CRD ve monomer olarak bulunurlar, bazıları ise dimer şeklinde bulunurlar. Galektin-3, sıklıkla anti apoptotik aktivite ile birliktelik gösteren bir C-terminal CRD kısmı ve N terminal nonlektin kısım içerir.

Beta galaktozid bağlayan proteinler, hücre yüzeyinde 'multivalent galektin-glikoprotein kafesleri' oluşturarak reseptör kümelenmesi aracılığıyla sinyal iletimini indüklerler (102).

Galektinlerin hücre proliferasyonu, hücre adezyonu, kemotaksis, apoptoz, embriyogenez, onkogenез, bakteriyel kolonizasyon, diferansiasyon gibi bazı ekstraselüler görevleri vardır. Galektinlerin hücre içi etkileri çok açık olmayıp, etkileri karbonhidrat bağlama aktivitelerine bağlıdır (102). Galektinlerin görevlerinin açığa çıkmasıyla birlikte otoimmün hastalıklar, kanserler, alerjik olaylar, inflamasyon, tümör yayılımı, diyabet ve hipertansiyonla ilişkili vasküler komplikasyonların tanı ve tedavisinde yeni kapıların açılması beklenmektedir.

1.2.1. Galektin-3

Galektin-3, β -galaktozid bağlayan lektinlerin bir üyesidir (9). Galektin-3 nükleus, stoplazma ve hücre yüzeyinde bulunmaktadır. Galektin-3, yaklaşık 30 kDa ağırlığındadır (104). Böbrekler, karaciğer, eklemler ve kalp gibi çeşitli dokulardan

(23, 25, 119, 131) ve timik stromal hücreler (105, 106), aktive olmuş B ve T hücreler (107-110), inflamatuvar makrofajlar (111, 112), monosit ve epitelyal hücreler (10, 11) gibi değişik tipte hücrelerden sentezlenmektedir. Galektin-3, B hücre farklılaşmasında ve canlılığının sürdürülmesinde kritik bir öneme sahiptir (110). *In vivo* ortamda galektin-3'ün yok edilmesi, plazma hücre farklılaşmasını kolaylaştırmakta ve immünglobülin düzeylerini artırmaktadır (110).

Sitoplazmik membran ve ekstraselüler ortamdaki galektin-3, hücre-hücre ve hücre-matriks ilişkilerinde görev almaktadır (12-14). Ayrıca, galektin-3 değişik hücrelerin migrasyonunu uyarmaktadır (15, 16). Galektin-3, doğal ve edinsel immün cevabın düzenlenmesine önemli katkı yapmakla birlikte nötrofil, monosit, T hücre ve endotel hücre aktivitelerini etkilemektedir (16-21). Galektin-3, dendritik hücreler ve daha önce antijenle karşılaşmamış T lenfositler arasındaki etkileşime de katkıda bulunmaktadır (113). Ayrıca, galektin-3, T hücresi ve makrofajların, fibroblastlar ile etkileşimini sağlamaktadır (22). Galektin-3, monositlerden makrofajlara dönüşüm olduğunda artar (114), makrofajlar dendritik hücrelere dönüştüğünde ise azalır (113). Ayrıca galektin-3 *in vitro* ortamda fibroblastlar için kuvvetli bir mitojendir (19). RA, SLE ve Behçet hastalığında galektin-3 düzeyinin artmış olduğu bildirilmiştir (26, 27).

1.2.1.1. Fizyolojik immün cevapta galektin-3'ün yeri

Galektin-3, nötrofillerin, laminin ve endotel hücrelerine adezyonuna aracılık eder (12, 17). Yapılan çalışmalarda (12, 13), galektin-3 ekspresyonu fazla olan hücrelerde belirgin olarak laminin, fibronektin ve vitronektine adezyonda artış gözlenmiş ve galektin-3'ün immün hücrelerin migrasyonunu düzenlediği gösterilmiştir.

Galektin-3'ün, makrofajların fagositozunda kritik bir öneme sahip olduğu gösterilmiştir (17). Dışarıdan eklenen galektin-3, adezyonu artırıcı özellik göstermektedir. Sano ve ark. (15) galektin-3'ün monosit ve makrofajlar için güçlü bir kemoatraktan olduğunu ve rekombinant insan galektin-3'ünün, monositlerin kemotaksisini artırdığı kanıtlamışlardır. Ek olarak, galektin-3'ün nötrofil aktivasyonunun düzenlenmesi ve nötrofil degranülasyonunda rol oynadığı belirlenmiştir (15).

1.2.1.2. İmmün hücre proliferasyonu ve apopitozun regülasyonu

İmmün hücreler yaşam süreçleri boyunca, birçok evrede 'hücre ölüm kontrol noktaları'ndan geçerler. Böylece; gelişme, homeostaz ve hastalıklardan korunma sağlanır. Farklı bir protein ailesi, immün hücre ölümünü düzenlemektedir. Kanıtlar, galektin-3'ün, hücre içi etkileşimlere bağlı olarak hücrede apopitoza neden olabilen ve hücreyi apopitozdan koruyabilen ikili bir rolü olduğunu göstermektedir (115).

Galektin-3'ün hücre büyümesi ve apopitozdaki rolü, birçok hücre tipinde, değişik deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Birçok çalışmada galektin-3'ün hücreleri apopitozdan koruduğu ve T hücre proliferasyonunda önemli bir role sahip olduğunu gösterilmiştir (102, 107). Galektin-3, antiapopitotik etkisiyle insan T hücre kökenli lösemi hücrelerini fas-ligand aracılı apopitozdan korumaktadır (116). Galektin-3'ün antiapopitotik etkisi, antiapopitotik supresör bcl-2 proteini ile dimer oluşturabilme özelliğine bağlı gibi görünmektedir. Ek olarak, galektin-3 insan meme kanser hücrelerinde apopitozu inhibe etmektedir (117). Apopitotik etki olarak, ekstraselüler galektin-3, hücre yüzeyine bağlandıktan sonra sitokrom-c serbestleşmesi ve 'caspaz 3' aktivasyonu aracılığıyla lenfoid hücre ve aktive fare T seri hücre apopitozunu indükler (118).

1.2.1.3. Doğal immünitelerde galektin-3'ün rolü

Galektinler, galaktoz bağlayan lektinler, akut inflamatuvar süreci ve doğal immüniteyi yönetmektedirler (119, 120).

Tiyoglikolat intraperitoneal olarak uygulandığında, galektin-3 *knock-out* farelerle, *wild-type* (WT) fareler karşılaştırıldığında, inflamasyon esnasında *knock-out* farelerin granüositlerinde belirgin azalma saptanmıştır (119). Juvenil romatoid artrit (JRA) hastalarının sinovyal dokusunda, normal sinovyal dokuyla karşılaştırıldığında, daha yüksek galektin-3 düzeyi saptanmıştır (120). Ayrıca bu hastalarda, sinovyal dokuda mononükleer hücre apopitozunda azalma gözlenmektedir. Yeni çalışmalarda, RA hastalarında da serum ve sinovyal sıvıda galektin-3 düzeyinin arttığı gösterilmiştir (26).

1.2.1.4. Fibroz ve galektin-3 düzeyi

Fibroz, kronik doku zedelenmesinin ortak sonunu simgeler. Skar dokusu oluşumu, doku mimarisinin kaybı ve organ yetmezliği ile birliktelik gösteren kronik inflamasyon, birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır.

Galektin-3'ün fibrotik süreçteki önemli rolü akciğer, karaciğer ve renal fibroz modellerinde belirlenmiştir (24, 25, 121, 122). Doku fibrozunda, galektin-3 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (120, 121). Galektin-3 düzeyi bağ dokusu hastalığı ile ilişkili interstisyel pulmoner fibroz (İPF) olan hastaların bronkoalveolar lavaj sıvısında artmaktadır (24). İmmünfloresan mikroskopik analiz, İPF bulunan hastalarda alveolar makrofajlardan eksprese edilen galektin-3 düzeyinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu göstermiştir.

Galektin-3'ün indüklenebilir olup olmadığının anlaşılması için yapılan bir çalışmada (24), galektin-3 üretmeyen monositlerde, TNF- α kullanılarak 24 saat içinde galektin-3 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile galektin-3'ün makrofajları uyararak, TNF- α ve IL-8 üretimini artırdığı gösterilmiştir.

Galektin-3'ün anjiyogenezi indükleyerek akciğer fibrozuna yol açtığı ileri sürülmüştür. Nangia Makker P. ve ark. (16) galektin-3'ün *in vitro* olarak doğrudan kapiller tüp oluşumunu uyardığını ve *in vivo* olarak anjiyogenezi indüklediğini saptamışlardır. Galektin-3 İPF'de vasküler yeniden yapılanmaya doğrudan endotel hücrelerine etki ederek veya dolaylı olarak anjiyogenik IL-8 üretimi aracılığıyla katılmaktadır. *In vitro* olarak, galektin-3'ün hücre göçünü ve fibroblastlarda kollajen sentezini indüklediği gösterilmiştir. Bu etkiler, bu proteinin fibrojenesi doğrudan etkilediğini düşündürmektedir (24).

Karaciğer fibrozunda, fibroblastlar ve miyofibroblastlar organ skarlaşmasının başlatılmasında ve sürdürülmesinde anahtar hücrelerdir (123). Karaciğer fibroz modelinde, *in vitro* olarak eksojen galektin-3'ün miyofibroblast proliferasyonunu artırdığı saptanmıştır. Herhangi bir nedenle oluşan doku hasarı sonrasında, hepatik stellat hücrelerde (HSC) miyofibroblast aktivasyonunun *in vivo* ve *in vitro* bir

belirteci olarak kabul edilen düz kas aktini (SMA) ekspresyonunda artış görülmektedir (123).

Galektin-3 ekspresyonu fibrozla ilişkili olup, normal rat karaciğerinde minimal düzeyde, ileri fibrozda maksimum düzeyde saptanmış ve 24 hafta sonra (iyileşme döneminde) ise saptanamamıştır. Bu bulgular, fibroz gelişiminin galektin-3 tarafından regüle ediliyor olabileceğini düşündürmektedir (23).

Karaciğer fibrozu deneysel hayvan modelinde araştırılmış ve karbon tetraklorür (CCl₄) uygulanması sonucu, galektin-3 *knock-out* farelerde, *WT* farelere göre, daha az kollajen birikimi ve prokollajen mRNA'sı saptanmıştır. Yine, galektin-3 *knock-out* grupta, *WT* gruba göre, α -SMA düzeyi belirgin olarak daha az bulunmuştur. Bu bulgular, hasar süresince galektin-3'ün arttığını göstermektedir (23). HSC'lere eksojen rekombinant galektin-3 eklenmesi ise α -SMA ekspresyonunda artışa neden olmaktadır. Ayrıca, *in vitro* doku kültüründe *WT* HSC'lerin, galektin-3 *knock-out* HSC'lere oranla, daha hızlı çoğaldığı gözlenmiştir (23). siRNA kullanılarak, *WT* HSC'lerdeki galektin-3 mRNA'sı hedef alındığında ise galektin-3 ekspresyonu inhibe edilmiş ve galektin-3 siRNA'sıyla tedavi galektin-3 mRNA ekspresyonunu azaltmıştır. Sonuç olarak, galektin-3 ekspresyonunun inhibe edilmesi, hem α -SMA hem de prokollajende belirgin azalma ve PCR ile ölçülen mRNA düzeyinde azalma ile sonuçlanmıştır (23).

İnsan karaciğer fibrozunda da, galektin-3 ekspresyonu artmaktadır. İnsan karaciğer fibrozunda, nedene bakılmaksızın, sirotik nodüllerde galektin-3 düzeyi belirgin olarak artmış bulunmuştur. CCl₄ uygulanmasından sonraki 8. haftada, karaciğerin fibrozla uyumlu yerleri olan periportal alanlar ve '*bridging fibrosis*' bulunan alanlarında, galektin-3 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Galektin-3 mRNA'sındaki artış PCR, protein ekspresyonu ise *western blot* yöntemi ile tespit edilmiştir (24).

Renal fibrozda galektin-3 ekspresyonunun değerlendirilmesi, tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası ilerleyici renal fibroz gelişen deneysel fare modelinde araştırılmış (25) ve üreter tıkanıklığı oluşturulan renal dokuda, galektin-3 düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, galektin-3'ün inhibisyonunun renal miyofibroblast

toplanmasını ve aktivasyonunu önlediği ve sonuç olarak fibroza karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (25).

Tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası renal dokudaki galektin-3 düzeyi ve kollajen toplanması, *knock-out* farelerde WT fareler karşılaştırıldığında, belirgin azalmış olarak saptanmıştır. WT makrofajların, galektin-3 *knock-out* farelere transferi sonrasında ise interstisyel miyofibroblastların toplanması, aktivasyonu, α -SMA ekspresyonu ve kollajen ekspresyonunda artış saptanmıştır. Ayrıca, galektin-3 *knock-out* farelerle, WT fareler karşılaştırıldığında, immünohistokimyasal yöntemlerle, aktive myofibroblastların göstergesi olan α -SMA düzeyi belirgin azalmış olarak bulunmuştur (25).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya, 1 Mart 2009-28 Şubat 2010 tarihleri arasında, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı Polikliniği'ne başvuran, ACR kriterlerine göre (72, 124) skleroderma (n=37) ve SLE (n=23) tanısı almış hastalar ve uyumlu sağlıklı gönüllüler (n=28) alındı. Çalışma için etik kurul onayı alındı. Hasta ve kontrol gruplarındaki katılımcıların, çalışma konusunda bilgilendirilerek, yazılı form ile onamları alındı. Çalışmaya alınan tüm katılımcıların öyküleri alındı, sistemik ve romatolojik fizik bakıları yapıldı. Skleroderma ve SLE hastaları, hastalıklarına ilişkin komplikasyonlar, kortikosteroid ve DMARDs kullanımları açısından sorgulandı.

Tüm katılımcıların, vücut ağırlıkları ve boyları ölçüldü ve vücut kitle indeksi (VKİ) belirlendi. $VKI = \text{Ağırlık (kg)} / \text{boy (m)}^2$

Pulmoner arteriyel basınç, ekokardiyografi ile ölçüldü ve pulmoner arteriyel basıncın istirahatte 25 mmHg'nın üzerine çıktığı durumlar PAH olarak kabul edildi.

2.2. Hastalık aktivite ve şiddet skorlamaları

Skleroderma grubunda, hastalık aktivite ve şiddeti sırasıyla *Valentini Disease Activity Index* (Tablo 1) ve *Medsker Disease Severity Scale* (Tablo 2) (125, 126), cilt tutulumu ise modifiye Rodnan skorlaması (Tablo 3) (127) ile belirlendi. Ek olarak, hasta-vizüel analog skalası (H-VAS) (128), doktor-vizüel analog skalası (D-VAS) (129) ve fonksiyonel skorlama (129, 130) (Tablo 4) yapıldı. SLE grubunda ise hastalık aktivite ve şiddeti sırasıyla, *SLE Disease Activity Index* (SLEDAI) ve *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College Of Rheumatology (SLICC/ACR) damage index* (131, 132) ile belirlendi.

Tablo 1. Valentini hastalık aktivite indeksinin hesaplanması (125)

	Puan	Açıklama
Modifiye Rodnan deri skorunun >14	1	Cilt kalınlaşmasının 17 anatomik bölgede (normal kalınlıkta) ve 3+ (belirgin kalınlaşma) arasında değerlendirilmesi (0-51 arası puanlama)
Sklerödem	0.5	Dermal sızıntılar ve cilt kontur ve kıvrımlarının bozulması sonucu yumuşak doku kitlesinde artış (özellikle parmaklarda)
Derideki değişim	2	Geçen bir ay içinde derinizin durumu nasıl değişti? (daha kötü, aynı, daha iyi)
Dijital nekroz	0.5	Küçük infarktlerden dijital gangrene kadar değişen aktif dijital ülser
Vasküler	0.5	Geçen bir ay içinde parmaklarınızın durumu nasıl değişti? (daha kötü, aynı, daha iyi)
Artrit	0.5	Periferik eklemlerde simetrik şişlik ve duyarlılık
DLCO	0.5	Tek nefes yöntemi ile ölçülen DLCO değerinin beklenenin %80'inden az olması
Kalp ve akciğer bulgularındaki ESH>30	2	Geçen bir ay içinde nefes darlığınız nasıl değişti? (daha kötü, aynı, daha iyi)
Hipokomplementemi	1.5	Westergren yöntemiyle C3 veya C4 düzeyinde azalma saptanması

Toplam:/10

DLCO: Akciğer karbonmonoksit difüzyon kapasitesi, ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı.

Tablo 2. Skleroderma hastalarında Medsger hastalık şiddet skalası (126)

	0 (normal)	1 (hafif)	2 (orta)	3 (şiddetli)	4 (son dönem)
Genel durum	Kilo kaybı <%5 Hematokrit >%37 Hemoglobin >12.3 g/dL	%5-9.9 %33-36.9 11.0-12.2 g/dL	%10-14.9 %29-32.9 9.7-10.9 g/dL	%15-19.9 %25-28.9 8.3-9.6 g/dL	>%20 <%25 <8.3 g/dL
Periferik damar bulguları	RF yok veya tedavi gerektirmeyen RF	Vazodilatatör tedavi gerektiren RF	Parmak ucunda yara izi	Dijital ülser	Dijital gangren
Deri	TDS=0	TDS=1-14	TDS=15-29	TDS=30-39	TDS≥40
Eklem / Tendon	Pu=0-0.9 cm	Pu= 1-1.9 cm	Pu= 2-3.9 cm	Pu= 4-4.9 cm	Pu≥5 cm
Proksimal kas gücü	Normal	Hafif azalmış	Orta derecede azalmış	Ağır derecede azalmış	Harekete yardımcı cihaz kullanıyor
Sindirim sistemi	Normal özefagogram ve ince barsak pasaj grafisi	Distal özofagus hipoperistaltizmi veya Patolojik ince barsak grafisi	Antibiyotik gerektiren bakteriyel aşırı gelişim	Malabsorbsiyon veya psödo-obstrüksiyon atakları	Hiperalimentasyon gereksinimi
Akciğer	DLCO ≥%80 ZVK ≥%80 PAB <35 mmHg Fibroz yok	%70-79 %70-79 35-49 mmHg Fibroz var	% 50-69 % 50-69 50-64 mmHg	<%50 <%50 ≥65 mmHg	Oksijen tedavisi
Kalp	EKG: Normal SVEF: ≥%50	İleti bozukluğu %45-49	Aritmi %40-44	Tedavi gerektiren aritmi % 30-39	KKY <%30
Böbrek	SRK yok ve kreatinin <1.3 mg/dL	SRK var ve kreatinin<1.5 mg/dl	SRK var ve kreatinin 1.5-2.4 mg/dl	SRK var ve kreatinin 2.5-5.0 mg/dl	SRK var ve kreatinin >5.0 mg/dl veya diyaliz ihtiyacı var

RF: Raynaud fenomeni, **TDS:** Toplam deri skoru, **Pu:** Parmak palmar fleksiyon mesafesi, **DLCO:** Akciğer karbonmonoksit difüzyon kapasitesi, **ZVK:** Zorlu vital kapasite,

PAB: Pulmoner arter basıncı, **KKY:** Konjestif kalp hastalığı, **SRK:** Skleroderma renal krizi

Tablo 3. Skleroderma hastalarında modifiye Rodnan deri skorunun hesaplanması (127)

	Sağ	Sol
Parmaklar	0123	0123
El	0123	0123
Önkol	0123	0123
Kol	0123	0123
Yüz		0123
Göğüs		0123
Karın		0123
Ayak	0123	0123
Baldır	0123	0123
Bacak	0123	0123

0: Deri kalınlığı normal, 1: Deri kalınlığında hafif düzeyde artış,

2: Deri kalınlığında orta düzeyde artış, 3: Derikalınlığında ileri düzeyde artış.

Tablo 4. Skleroderma hastalarında fonksiyon skorunun hesaplanması (130, 131)

Bir tencere suyu (1.5-2 lt) kaldırıp dökabiliyor musunuz?	0123
Daha önce açılmış bir kavanozun kapağını açabiliyor musunuz?	0123
Cüzdanızdan baş ile işaret parmağınızla bozuk para çıkarabiliyor musunuz?	0123
Kalem tutup adınızı yazabiliyor musunuz?	0123
Kalem tutup yarım sayfa yazı yazabiliyor musunuz?	0123
Gömlek düğmelerinizi ilikleyip açabiliyor musunuz?	0123
Gömleğinizi etek/pantolonunuzun içine yerleştirebiliyor musunuz?	0123
Saçınızın arkasını tarayabiliyor musunuz?	0123
Saçınızı yıkayabiliyor musunuz?	0123
Ellerinizle tutunmadan tuvaletten kalkabiliyor musunuz?	0123
Korkuluklara tutunmadan 20 basamak (merdiven) çıkabilir misiniz?	0123

0: Normal şekilde yapabiliyor 1: Zaman zaman zorlanarak yapabiliyor

2: Sadece zorlanarak yapabiliyor 3: Yapması olanaksız

2.3. Laboratuvar analizleri

Kan örnekleri, 8-12 saatlik açlığı izleyen, sabah 08⁰⁰-9⁰⁰ saatleri arasında alındı. Tam kan sayımı, açlık kan şekeri, lipid profili, karaciğer ve böbrek fonksiyon

testleri rutin laboratuvar metodlarıyla aynı gün çalışıldı. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) klasik Westergren metodu, C-reaktif protein (CRP) düzeyi immünoturbidimetrik yöntem ile çalışıldı. Ek olarak, galektin-3 düzeyi ve sitokin analizleri için 5 ml kan alındı. 3000 rpm'de 10 dk çevrilerek serum örnekleri elde edildi. Ayrılan serumlar, çalışılacağı güne kadar -20 °C'de saklandı. Galektin-3, VEGF, TGF-β düzeyleri (Bender MedSystems GmbH, Vien, Avusturya) ve IL-6 düzeyi (BioSource International, Inc. Camarillo, California USA) *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) kitleri ile ölçüldü.

2.4. İstatistiksel Analizler

İstatistiklerin hazırlanmasında SPSS 12.00 bilgisayar paket istatistik programı (SPSS Inc. Software Chicago, IL, USA) kullanıldı. Çalışmada, elde edilen veriler ortalama±standart sapma olarak gösterildi. Analizlerde parametrik verilerde *analysis of variance* (ANOVA) ve *post-hoc* Tukey testleri, nonparametrik verilerde *Mann-Whitney U* testi kullanıldı. Parametrik verilerde dağılımın normalliği *Kolmogorov-Smirnov* testi ile değerlendirildi ve normal dağılım özellikleri sergilemeyen verilere (IL-6, TGF-β, VEGF ve galaktin-3) logaritmik dönüşümler uygulandı. Kategorik veriler *Chi-square* testi ile analiz edildi. Veriler arasındaki ilişkinin belirlenmesinde *Pearson* korelasyon analizi kullanıldı. P<0.05 değerler anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışma gruplarının demografik ve laboratuvar verileri Tablo 5'te gösterildi. Her üç grup arasında yaş, cinsiyet ve VKİ açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık yoktu. Ek olarak, skleroderma ve SLE grupları arasında hastalık süresi, kortikosteroid kullananların sayısı ve kortikosteroid dozları açısından da anlamlı bir farklılık yoktu (Tablo 5). DMARDs kullanımı değerlendirildiğinde, skleroderma grubunda 9 hasta (%24.3) azatioprin, 7 hasta (%18.9) aylık pulse siklofosfamid, 2 hasta (%5.4) metotreksat, 1 hasta (%2.7) siklosporin kullanmakta ve antimalaryal ilaç kullanan hasta bulunmamakta idi. SLE hasta grubunda ise 12 hasta (%52.1) azatioprin, 9 hasta (%39.1) antimalaryal ilaç, 2 hasta (%8.6) siklosporin ve 1 hasta (%4.3) siklofosfamid ve metotreksat kullanmakta idi (Tablo 5). Hasta grupları arasında aylık pulse siklofosfamid ve antimalaryal ilaç kullanımı açısından fark bulunmaktaydı (sırasıyla, $p<0.05$ ve $p<0.001$). Rutin laboratuvar parametrelerinden lökosit ve trombosit sayıları, total protein, albumin ve CRP düzeyleri açısından çalışma grupları arasında anlamlı farklılık yoktu. Skleroderma ve SLE gruplarında, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ESH yükseldi (sırasıyla, $p<0.01$ ve $p<0.001$). SLE grubunda hemogloblin düzeyi, sağlıklı kontrol grubundan düşüktü ($p<0.05$).

Gruplar arasında IL-6 ve TGF- β düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı farklılık yoktu. SLE grubunda VEGF düzeyi de sağlıklı kontrol grubundan yükseldi ($p<0.05$). Skleroderma ve SLE gruplarında galektin-3 düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan yükseldi (sırasıyla, $p<0.05$ ve $p<0.001$).

Skleroderma grubundaki hastaların ANA ve anti-Scl 70 pozitiflikleri sistem tutulumları ve hastalık aktivite ve şiddet skorları Tablo 6'da gösterildi. Skleroderma grubunda modifiye Rodnan deri skoru: 15.7 ± 11.0 , Valentini hastalık aktivite indeksi: 3.74 ± 2.27 , Medsger hastalık şiddeti indeksi: 6.44 ± 4.05 , fonksiyon skoru: 7.4 ± 6.7 , H-VAS: 5.74 ± 1.5 ve D-VAS: 4.94 ± 1.67 olarak belirlendi (Tablo 6).

Skleroderma grubunda, galektin-3 ve TGF- β düzeyleri arasında korelasyon vardı ($r=0.474$, $p=0.017$). Ayrıca skleroderma grubunda, Modifiye Rodnan deri skoru, ESH ile ($r=0.363$ $p=0.038$), Valentini hastalık aktivite indeksi ile ($r=0.649$ $p<0.001$), Medsger hastalık şiddet skalası ile ($r=0.606$ $p<0.001$), fonksiyonel skorlama ($r=0.457$ $p=0.007$) ve H-VAS ($r=0.388$ $p=0.021$), D-VAS ($r=0.439$

p=0.008) ile koreleydi. IL-6 düzeyi ise ESH (r=0.352 p=0.041), D-VAS (r=0.351 p=0.041) ve fonksiyonel skorlama (r=0.352, p=0.041) ile koreleydi. Ek olarak ESH ve H-VAS (r=0.355 p=0.043) arasında korelasyon vardı.

Tablo 5. Çalışma gruplarının demografik ve labaratuvar özellikleri

	Skleroderma (n=37)	SLE (n=23)	SK (n=28)	P
Yaş (yıl)	46.5±13.5	37.5±10.3	42.5±13.9	0.110*
Cinsiyet (K/E)	32/5	21/2	22/6	0.302**
VKİ (kg/m ²)	24.2±5.1	25.2±4.1	26.9 ±4.8	0.980*
Hastalık yaşı (yıl)	4.19±4.57	5.13±4.38	-	0.079*
KS kullanan (n)	17	19	-	0.146**
KS dozu (mg/gün) ***	7.1±7.0	5.6±4.2	-	0.654*
Azatioprin kullanan (n)	9	12	-	0,063**
Siklofosamid kullanan (n)	7	1	-	0,029**
Antimalaryal kullanan (n)	-	9	-	0,000**
Metotreksat kullanan (n)	2	1	-	0,856**
Siklosporin kullanan (n)	1	2	-	0,304**
Lökosit (10 ³ /mm ³)	7.24±2.45	6.02±2.62	7.09±1.41	0.580*
Trombosit (10 ³ /mm ³)	293±107	270±100	275±65	0.530*
Hemoglobin (g/dl)	13.02±1.83	12.1±1.85 ^a	13.8±1.80	0.004*
Total protein (g/dl)	7.37±0.54	7.39±0.98	7.32±0.38	0.940*
Albumin (g/dl)	3.98±0.60	3.95±0.46	4.19±0.28	0.260*
ESH (mm/saat)	26.1±20.4 ^b	31.8±25.9 ^c	9.11±4.33	0.001*
CRP (mg/l)	12.2±20.2	6.29±5.86	3.23±0.51	0.056*
IL-6 (pg/ml)	11.4±5.58	18.5±20.4	14.9±26.1	0.116*
TGF-β (ng/ml)	42.7±14.8	32.8±11.7	35.5±12.2	0.085*
VEGF (pg/ml)	337±242	210±175 ^a	330±195	0.023*
Galektin-3 (ng/ml)	3.52±4.94 ^{a,d}	14.00±11.6 ^c	1.25±1.08	0.001*

SLE: Sistemik lupus eritematoz, SK: Sağlıklı kontrol, K: kadın, E: erkek, VKİ: Vücut kitle indeksi, KS: Kortikosteroid, DMARDs: Hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaçlar, ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı, CRP: C reaktif protein, IL: İnterlökin, TGF-β: Transforme edici büyüme faktörü, VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü.

*ANOVA ve **Chi-square testleri P değerleri *** Prednizolon eş değeri,

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında: ^ap<0.05, ^bp<0.01, ^cp<0.001

SLE grubu ile karşılaştırıldığında: ^dp<0.00

Skleroderma hastalarının 16'sında İAH tutulumu, 17'sinde PAH ve 19'unda GİS tutulumu vardı (Tablo 6). Ancak, hiçbirinde renal kriz öyküsü ve bulguları yoktu. İAH, PAH ve GİS tutulumu olanlar ile olmayanlar karşılaştırıldığında: IL-6, TGF- β , VEGF ve galektin-3 düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık yoktu (veriler gösterilmedi).

Tablo 6. Skleroderma grubundaki hastaların (n=37) ANA (+)'likleri, hastalık aktivite ve şiddet skorları ve organ/sistem tutulumları

Anti nükleer antikor (ANA) pozitifliği (n)	29
Anti-Scl 70 pozitifliği (n)	13
Anti-sentromer antikor pozitifliği (n)	5
Modifiye Rodnan deri skoru	15.7 \pm 11.0
Valentini hastalık aktivite indeksi	3.74 \pm 2.27
Medsger hastalık şiddet indeksi	6.44 \pm 4.05
H-VAS	5.74 \pm 1.50
D-VAS	4.94 \pm 1.67
Fonksiyon skoru	7.40 \pm 6.70
İnterstisyel akciğer hastalığı (n)	16
Pulmoner arteriyel hipertansiyon (n)	17
Gastrointestinal sistem tutulumu (n)	19

H-VAS: hasta vizüel analog skalası, D-VAS: doktor vizüel analog skalası.

Çalışmaya alınan SLE hasta grubunda SLEDAI: 20.2 \pm 9.6 ve SLICC/ACR: 3.0 \pm 2.3 olarak saptandı. SLE grubunda, galektin-3; TGF- β (r=0.503 p=0.014) ve IL-6 (r=0.429 p=0.041) ile koreleydi. Ek olarak, ESH ve VEGF düzeyleri (r=0.514 p=0.012) arasında da korelasyon vardı.

4. TARTIŞMA

Sunulan bu çalışmada, fibrojen patogeneğinde önemli rol aldığı düşünülen serum galektin-3'ün skleroderma hastalarındaki serum düzeyinin hastalık aktivite ve şiddet skorları ile ilişkisi araştırıldı. Skleroderma ve SLE hastalarında serum galektin-3 düzeyi sağlıklı gönüllülerden yüksek bulundu. SLE grubundaki galektin-3 düzeyi artışı, beklenmedik şekilde, skleroderma grubundan da yüksekti. Galektin-3 düzeyi, her iki hastalık grubunda da hastalık aktivite ve şiddet skorları ile ilişkili değilken, TGF- β düzeyleri ile korele bulundu. Skleroderma hastalarında ESH ve ANA boyanma yoğunluğunun, hastalık aktivite ve şiddet belirteçleri ile korele olduğu belirlendi. Diğer taraftan, skleroderma hastaları İAH, PAH ve GİS tutulumu varlığına göre gruplandırıldığında, tutulum olanlar ile olmayanlar arasında, galektin-3 düzeyi ve diğer sitokinler açısından farklılık saptanmadı.

Skleroderma, kollajen sentezi ve yıkımı arasındaki dengesizlik sonucu gelişen, deri ve iç organların yaygın fibrozu ile karakterize, küçük kan damarlarında yapısal ve fonksiyonel anormallikler içeren, etiyojisi ve patogenezi tam olarak bilinmeyen kronik inflamatuvar bir hastalıktır (28-30). Romatizmal inflamatuvar patolojiler arasında, tedavisinde en başarısız olunan hastalık sklerodermadır. Bu nedenle, sklerodermada etiyopatogenezin aydınlatılmasına yönelik çalışmalar önem kazanmaktadır. Patogenezdaki gelişmeler, hastalığın daha iyi anlaşılmasına, yeni tedavi olanaklarının geliştirilmesine yol açacaktır. Skleroderma, kronik inflamatuvar otoimmün bir hastalıktır. Erken evre skleroderma hastalarının cilt biyopsilerinde, T lenfositler başta olmak üzere, makrofajlar, B lenfositler, mast hücreleri ve doğal öldürücü hücreler gibi inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu gösterilmiştir (5-7). Bu inflamatuvar hücrelerin ve mediyatörlerinin fibroblastlar ile etkileşimi sonrasında gelişen fibroz, erken evre sklerodermada kritik bir öneme sahiptir (7, 8).

Galektin-3, β -galaktozid bağlayan lektinlerin bir üyesidir (9). Galektin-3, kalp, böbrekler, karaciğer, eklemler gibi geniş çapta dokudan salınmakta hücre içerisinde ise nükleus, stoplazma ve hücre yüzeyinde bulunmaktadır (23, 104). Galektin-3, akut inflamatuvar süreci ve doğal immüniteyi yönlendirmektedir (115). Galektin-3, makrofajların fagositozunda kritik bir öneme sahiptir (17). Ayrıca, galektin-3'ün, insan monositlerinin G protein reseptörüyle etkileşime girerek,

kemotaksisi ilerlettiği gösterilmiştir (15). Ayrıca, galektin-3'ün fibrinojenle birlikte, nötrofil aktivasyonunun düzenlenmesi, nötrofil degranülasyonunda rol oynadığı saptanmıştır (15). Galektin-3 *knock-out* farelerde, inflamasyon sırasında, nötrofil kemotaksisinde yetersizlik olduğu belirlenmiştir (119). Tiyoglikolat intraperitoneal olarak uygulandığında, galektin-3 *knock-out* fareler WT fareler ile karşılaştırıldığında, galektin-3 *knock-out* farelerin granüositlerinde belirgin azalma ve inflamasyon sırasında nötrofil akümülyasyonunda anormallikler olduğu belirlenmiştir (119). JRA hastalarının sinovyal dokusunda, normal sinovyal doku ile karşılaştırıldığında, galektin-3 düzeyinin arttığı belirlenmiştir (120). Ayrıca bu hastalarda, sinovyal dokuda mononükleer hücre apoptozunda azalma olduğu bildirilmiştir. RA, SLE ve Behçet hastalığında serum galektin-3 düzeyinin arttığı bildirilmiştir (26, 27). RA'lı hastaların sinovyal sıvısında da galektin-3 düzeyi yüksek bulunmuştur (26). Akut ve kronik inflamasyon gelişiminde önemli görevler üstleniyor olması nedeniyle inflamatuvar hastalıkların tedavisinde galektin-3 inhibisyonunun inflamasyonu baskılayabileceği vurgulanmaktadır (118, 119). İnflamatuvar süreci yönlendirdiği bildirilen galektin-3 düzeyinin skleroderma ve SLE hastalarında artmış olması, bu hastalıkların patogenezinde de galektin-3'ün rol alıyor olabileceğini düşündürmektedir. Galektin-3'e yönelik anti-inflamatuvar tedaviler, olasılıkla sklerodermadaki inflamasyonun baskılanmasında da etkili olabilirler. Çalışmamızda, skleroderma hastalarındaki galektin-3 düzeyindeki artış, galektin-3'e yönelik anti-inflamatuvar tedavilerin etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Galektin-3'ün fibrojenizdeki rolü, akciğer, karaciğer ve renal fibroz modellerinde belirlenmiştir (24, 25, 121, 122). Doku fibrozunda, galektin-3 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (24). Galektin-3, T hücreleri ve makrofajların fibroblastlar ile etkileşimine aracılık etmekte ve böylece fibroblastların aktivasyonunda önemli rol almaktadır (22). Galektin-3'ün *in vitro* ortamda fibroblastlar için kuvvetli bir mitojen olduğu bilinmektedir (19). Galektin-3 *knock-out* farelerde, fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünün gerçekleşmediği ve karaciğer fibrozunun oluşmadığı gösterilmiştir (123). Hayvan çalışmalarında, perikardiyuma galektin-3 verilmesi perikardiyal fibroz ile sonuçlanmıştır (133). Galektin-3 ekspresyonu fibrozla ilişkili olup, normal rat karaciğerinde minimal

düzyde, ileri fibrozda ise maksimum düzyde saptanmış ve 24 hafta sonra (iyileşme döneminde) ekspresyon görülmemiştir (23). Bu bulgular, fibroz gelişiminin galektin-3 tarafından düzenleniyor olabileceğini düşündürmektedir (23). Galektin-3 *knock-out* farelerde, WT farelerle karşılaştırıldığında, daha az kollajen birikimi ve prokollajen mRNA'sı gözlenmiştir (23). İnsan karaciğer fibrozunda da, sirotik nodüllerde, (doku düzeyinde), galektin-3 düzeyinde artış belirlenmiştir (24). Deneysel fare modelinde, galektin-3 ekspresyonunun tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası renal fibroz gelişen dokuda arttığı ve galektin-3'ün inhibisyonunun böbrek dokusunda fibroblastların aktivasyonunu ve miyofibroblast infiltrasyonunu azalttığı ve sonuçta renal fibroza karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (25). Bu bulgular fibroz gelişiminin galektin-3 tarafından düzenleniyor olabileceğini düşündürmektedir (23). Bizim çalışmamızda skleroderma hastalarında galektin-3 düzeyinin artmış olması, fibroz ve galektin-3 düzeyi arasında bir ilişki olabileceğini desteklemektedir. Ayrıca, galektin-3 inhibisyonun fibroza karşı koruyucu olması, skleroderma gibi patogenezinde fibroz bulunan hastalıklarda galektin-3 tedavisinin hastalıkların seyrini değiştirebileceğini düşündürmektedir.

Profibrotik bir ajan TGF- β , kollajen, fibronektin ve proteoglikan sentezini uyararak MMP'nin sentezini baskılar ve MMP doku inhibitörünün sentezini uyarır ve ESM yıkımını engeller (46). Fibrojenle ilgili bir ajan olan TGF- β , sklerodermada ESM proteinlerinin ana uyarandır (70). TGF- β 'nın skleroderma hastalarında dermal fibroblastlarda hipoksi bağımlı fibrojendeki rolü araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda hipoksi ve fibroz arasında kısır bir döngü olduğu bildirilmiştir. Hipoksi, ESM üretimi ve birikimini uyarır. Bu süreç, oksijen difüzyonunu önleyerek doku hipoksisini ve ESM üretimini daha da artırır ve sonuç olarak fibroz oluşur. TGF- β inhibisyonu, hipoksiye yanıt olarak gelişen ESM artışını önler. 48 saatlik hipoksik şartlarda TGF- β inhibisyonunun, skleroderma hastalarının fibroblastlarında üretilen fibronektin-1, trombospondin-1 ve TGF- β inhibitör üretimini bloke ettiği gösterilmiştir (70). Hipoksi ile indüklenen TGF- β üretiminin inhibisyonu, skleroderma hastalarında ESM üretiminde azalmaya neden olarak fibroz gelişimini önlemektedir. Böylece, TGF- β ilişkili yolların inhibisyonu, hipoksinin profibrotik etkilerini önleyebilir. TGF- β yolağının inhibe edilmesi, sklerodermada

hipoksiyle indüklenen ESM üretimini hedef alan yaklaşımlardan biri olabilir. Çalışmamızda galektin-3'ün, fibrozla ilişkili olan TGF- β ile korele bulunması, galektin-3'ün fibroz patogeneğinde rol alıyor olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, skleroderma ve SLE gibi otoimmün inflamatuvar hastalıklarda galektin-3 düzeyi artmaktadır. Sanılanın aksine, galektin-3 sadece fibrotik sürece özgü bir sitokin olmayıp, skleroderma dışındaki inflamatuvar hastalıklarda da serum düzeyi artmaktadır.

5. KAYNAKLAR

1. Krieg T, Meurer M. Systemic scleroderma. Clinical and pathophysiologic aspects. *J Am Acad Dermatol* 1988; 18: 457-481.
2. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA Jr, et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15: 202-205.
3. Denton CP, Black CM. Scleroderma-clinical and pathological advances. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004; 18: 271-290.
4. Abraham DJ, Varga J. Scleroderma: from cell and molecular mechanisms to disease models. *Trends Immunol* 2005; 26: 587-595.
5. Mavalia C, Scaletti C, Romagnani P, Carossino AM, Pignone A, Emmi L, et al. Type 2 helper T-cell predominance and high CD30 expression in systemic sclerosis. *Am J Pathol* 1997; 151: 1751-1758.
6. Kråling BM, Maul GG, Jimenez SA. Mononuclear cellular infiltrates in clinically involved skin from patients with systemic sclerosis of recent onset predominantly consist of monocytes/macrophages. *Pathobiology* 1995; 63: 48-56.
7. Özbilgin MK, Inan S. The roles of transforming growth factor type beta3 (TGF- β 3) and mast cells in the pathogenesis of scleroderma. *Clin Rheumatol* 2003; 22: 189-195.
8. Scharffetter K, Lankat-Buttgereit B, Krieg T. Localization of collagen mRNA in normal and scleroderma skin by in-situ hybridization. *Eur J Clin Invest* 1988; 18: 9-17.
9. Cooper DN. Galectinomics: finding themes in complexity. *Biochim. Biophys Acta* 2002; 1572: 209-231.
10. Sato S, Hughes RC. Regulation of secretion and surface expression of Mac-2, a galactoside-binding protein of macrophages. *J Biol Chem* 1994; 269: 4424-4430.

11. Sato S, Burdett I, Hughes RC. Secretion of the baby hamster kidney 30-kDa galactose-binding lectin from polarized and nonpolarized cells: a pathway independent of the endoplasmic reticulum-Golgi complex. *Exp Cell Res* 1993; 207: 8-18.
12. Kuwabara I, Liu FT. Galectin-3 promotes adhesion of human neutrophils to laminin. *J Immunol* 1996; 156: 3939-3944.
13. Inohara H, Akahani S, Koths K, Raz A. Interactions between galectin-3 and Mac-2-binding protein mediate cell to cell adhesion. *Cancer Res* 1996; 56: 4530-4534.
14. Sato S, Hughes RC. Binding specificity of a baby hamster kidney lectin for H type I and II chains, polylectosamine glycans, and appropriately glycosylated forms of laminin and fibronectin. *J Biol Chem* 1992; 267: 6983-6990.
15. Sano H, Hsu DK, Yu L, Apgar JR, Kuwabara I, Yamanaka T, et al. Human galectin-3 is a novel chemoattractant for monocytes and macrophages. *J Immunol* 2000; 165: 2156-2164.
16. Nangia-Makker P, Honjo Y, Sarvis R, Akahani S, Hogan V, Pienta KJ, et al. Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis. *Am. J Pathol* 2000; 156: 899-909.
17. Sato S, Ouellet N, Pelletier I, Simard M, Rancourt A, Bergeron MG. Role of galectin-3 as an adhesion molecule for neutrophil extravasation during streptococcal pneumonia. *J Immunol* 2002; 168: 1813-1822.
18. Karlsson A, Follin P, Leffler H, Dahlgren C. Galectin-3 activates the NADPH-oxidase in exudated but not peripheral blood neutrophils. *Blood* 1998; 91: 3430-3438.
19. Fernández GC, Ilarregui JM, Rubel CJ, Toscano MA, Gómez SA, Beigier Bompadre M, et al. Galectin-3 and soluble fibrinogen act in concert to modulate neutrophil activation and survival: involvement of alternative MAPK pathways. *Glycobiology* 2005; 15: 519-527.

20. Jeng KC, Frigeri LG, Liu FT. An endogenous lectin, galectin-3 (epsilon BP/Mac-2), potentiates IL-1 production by human monocytes. *Immunol Lett* 1994; 42: 113-116.
21. Demetriou M, Granovsky M, Quaggin S, Dennis JW. Negative regulation of T-cell activation and autoimmunity by Mgat5 N-glycosylation. *Nature* 2001; 409: 733-739.
22. Wang L, Fries H, Zhu Z, Frigeri L, Zimmermann A, Korc M, et al. Galectin-1 and galectin-3 in chronic pancreatitis. *Lab Invest* 2000; 80: 1233-1241.
23. Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, Poirier F, Russo FP, Iredale JP, et al. Galectin-3 regulates myofibroblast activation and hepatic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103: 5060-5065.
24. Kasper M, Hughes RC. Immunocytochemical evidence for a modulation of galectin 3 (Mac-2), a carbohydrate binding protein, in pulmonary fibrosis. *J Pathol* 1996; 179: 309-336.
25. Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, Kipari T, Haslett C, Iredale JP, et al. Galectin-3 expression and secretion links macrophages to the promotion of renal fibrosis. *Am J Pathol* 2008; 172: 288-298.
26. Ohshima S, Kuchen S, Seemayer CA, Kyburz D, Hirt A, Klinzing S, et al. Galectin 3 and its binding protein in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2788-2795.
27. Lee YJ, Kang SW, Song JK, Park JJ, Bae YD, Lee EY, et al. Serum galectin-3 and galectin-3 binding protein levels in Behçet's disease and their association with disease activity. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25: 41-45.
28. Varga J, Abraham D. Systemic sclerosis: a prototypic multisystem fibrotic disorder. *J Clin Invest* 2007; 117: 557-567.
29. McNearney T, Friedman AW, Aguilar MB, Lisse J. GENISOS Study Group. Systemic sclerosis in 3 US ethnic groups: a comparison of clinical,

sociodemographic, serologic, and immunogenetic determinants. *Semin Arthritis Rheum* 2001; 30: 332-346.

30. Jimenez SA, Derk CT. Following the molecular pathways toward an understanding of the pathogenesis of systemic sclerosis. *Ann Intern Med* 2004; 140: 37-50.
31. Tan FK. Systemic sclerosis: the susceptible host (genetics and environment). *Rheum Dis Clin North Am* 2003; 29: 211-237.
32. Artlett CM, Smith JB, Jimenez SA. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1186-1191.
33. Molina V, Shoenfeld Y. Infection, vaccines and other environmental triggers of autoimmunity. *Auto immunity* 2005; 38: 235-245.
34. Garabrant DH, Dumas C. Epidemiology of organic solvents and connective tissue disease. *Arthritis Res* 2000, 2: 5-15.
35. Rosenman KD, Moore-Fuller M, Reilly MJ. Connective tissue disease and silicosis. *Am J Ind Med* 1999; 35: 375-381.
36. Pernis B. Silica and the immune system. *Acta Biomed* 2005; 76: 38-44.
37. Tabuenca JM. Toxic-allergic syndrome caused by ingestion of rapeseed oil denatured with aniline. *Lancet* 1981; 2: 567-568.
38. Fox RI, Kang HI. Genetic and environmental factors in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 1992; 4: 857-861.
39. Bertero M, Bainotti S, Comino A, Formica M, Giordano F, Musso L, et al. Nephrogenic fibrosing dermopathy/nephrogenic systemic fibrosis. *Eur J Dermatol* 2009; 19: 73-74.
40. Chizzolini C. T cells, B cells, and polarized immuneresponse in the pathogenesis of fibrosis and systemic sclerosis. *Current Opinion in Rheumatology* 2008; 20: 707-712.

41. Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol Today* 1990; 11: 443-449.
42. Duncan MR, Berman B. Stimulation of collagen and glycosaminoglycan in cultured human adult dermal fibroblasts by recombinant human interleukin 6. *J Invest Dermatol* 1991; 97: 686-692.
43. Needleman BW, Wigley FM, Stair RW. Interleukin-1, interleukin-2, interleukin-4, interleukin-6, tumor necrosis alfa, and interferon gama levels in sera from patients with scleroderma. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 67-72.
44. Hasegawa M, Hamaguchi Y, Yanaba K, Bouaziz JD, Uchida J, Fujimoto M et al. B-lymphocyte depletion reduces skin fibrosis and autoimmunity in the tight-skin mouse model for systemic sclerosis. *Am J Pathol* 2006; 169: 954-966.
45. Steen VD, Powell DL, Medsger TA Jr. Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 196-203.
46. Ihn H, Yamane K, Kubo M, Tamaki K. Blockade of endogenous transforming growth factor b signaling prevents up regulated collagen synthesis in scleroderma fibroblasts: Association with increased expression of transforming growth factor b receptors. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 474-480.
47. Artlett CM. Immunology of systemic sclerosis. *Front Biosci* 2005; 10: 1707-1719.
48. Ruzek MC, Jha S, Ledbetter S, Richards SM, Garman RD. A modified model of graft-versus host-induced systemic sclerosis (scleroderma) exhibits all major aspects of the human disease. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1319-1331.
49. Kontinen YT, Mackiewicz Z, Ruuttila P, Ceponis A, Sukura A, Povilenaite D, et al. Vascular damage and lack of angiogenesis in systemic sclerosis skin. *Clin Rheumatol* 2003; 22: 196-202.
50. Guiducci S, Giacomelli R, Matucci-Cerinic M. Vascular complication of scleroderma. *Autoimmun Rev* 2007; 6: 520-531.

51. Distler O, Del Rosso A, Giacomelli R, Cipriani P, Conforti ML, Guiducci S, et al. Angiogenic and angiostatic factors in systemic sclerosis: increased levels of vascular endothelial growth factor are a feature of the earliest disease stages and are associated with the absence of fingertip ulcers. *Arthritis Res* 2002; 4: 11.
52. Dimmeler S, Zeiher AM, Schneider MD. Unchain my heart: the scientific foundations of cardiac repair. *J Clin Invest* 2005 115: 572–583
53. Lapidot T, Dar A, Kollet O. How do stem cells find their way home? *Blood* 2005; 106: 1901–1910.
54. Tanaka K, Sata M, Hirata Y, Nagai R. Diverse contribution of bone marrow cells to neointimal hyperplasia after mechanical vascular injuries. *Circ Res* 2003; 17; 93: 783-790.
55. Drake CJ, Little CD. Exogenous vascular endothelial growth factor induces malformed and hyperfused vessels during embryonic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci* 1995; 92: 7657–7661.
56. Sundberg C, Nagy JA, Brown LF, Feng D, Eckelhoefer IA, Manseau EJ, et al. Glomeruloid microvascular proliferation follows adenoviral vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor-164 gene delivery. *Am J Pathol* 2001; 158: 1145–1160.
57. Dor Y, Djonov V, Abramovitch R, Itin A, Fishman GI, Carmeliet P, et al. Conditional switching of VEGF provides new insights into adult neovascularization and pro-angiogenic therapy. *Embo J* 2002; 21: 1939–1947.
58. Grunewald M, Avraham I, Dor Y, Bachar-Lustig E, Itin A, Jung S, et al. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. *Cell* 2006; 124: 175–189.
59. Simonini G, Cerinic MM, Generini S, Zoppi M, Anichini M, Cesaretti C, et al. Oxidative stress in systemic sclerosis *Mol Cell Biochem* 1999; 196: 85-91.
60. Abraham D, Distler O. How does endothelial cell injury start? The role of endothelin in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: 2.

61. Hong KH, Yoo SA, Kang SS, Choi JJ, Kim WU, Cho CS. Hypoxia induces expression of connective tissue growth factor in scleroderma skin fibroblasts. *Clin Exp Immunol* 2006; 146: 362–370.
62. Ivan M, Haberberger T, Gervasi DC, Michelson KS, Günzler V, Kondo K, et al. Biochemical purification and pharmacological inhibition of a mammalian prolyl hydroxylase acting on hypoxia-inducible factor. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99: 13459–13464.
63. Ke Q, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol* 2006; 70: 1469–1480.
64. Ginouvès A, Ilc K, Macias N, Pouyssegur J, Berra E. PHDs over-activation during chronic hypoxia 'desensitizes' HIF α and protects cells from necrosis. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105: 4745–4750.
65. Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab* 2006; 3: 177–185.
66. Papandreou I, Cairns RA, Fontana L, Lim AL, Denko NC. HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. *Cell Metab* 2006; 3: 187–197.
67. Varga J, Bashey RI. Regulation of connective tissue synthesis in systemic sclerosis. *Int Rev Immunol* 1995; 12: 187–199.
68. Silverstein JL, Steen VD, Medsger TA, Jr, Falanga V. Cutaneous hypoxia in patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Arch Dermatol* 1988; 124: 1379–1382.
69. Manalo DJ, Rowan A, Lavoie T, Natarajan L, Kelly BD, Ye SQ, Garcia JG, Semenza GL. Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1. *Blood* 2005; 105: 659–669.

70. Falanga V, Tiegs SL, Alstadt SP, Roberts AB, Sporn MB. Transforming growth factor-beta: selective increase in glycosaminoglycan synthesis by cultures of fibroblasts from patients with progressive systemic sclerosis. *J Invest Dermatol* 1987; 89: 100–104.
71. LeRoy EC, Medsger TA Jr. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001; 28: 1573–1576.
72. Bolster MB, Silver RM. Clinical features of systemic sclerosis. *Rheumatology*, Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weibblatt ME, Weisman MH. *Rheumatology* (eds) Mosby, 2008: 1375-1380.
73. Dick T, Mierau R, Bartz-Bazzanella P, Alavi M, Stoyano va-Scholz M, Kindler J, et al. Coexistence of antitopoisomerase I and anti centromere antibodies in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 121-127.
74. Chang B, Wigley FM, White B, Wise RA. Scleroderma patients with combined pulmonary hypertension and interstitial lung disease. *J Rheumatol* 2003; 30: 2398-2405.
75. Gustafsson R, Mannting F, Kazzam E, Waldenström A, Hällgren R. Cold-induced reversible myocardial ischemia in systemic sclerosis. *Lancet* 1989; 2: 475-479.
76. Steen VD, Medsger TA Jr, Osial TA Jr, Ziegler GL, Shapiro AP, Rodnan GP. Factors predicting development of renal involvement in progressive systemic sclerosis. *Am J Med* 1984; 76: 779-786.
77. Steen VD, Medsger TA Jr. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 24-37.
78. Steen VD, Medsger TA Jr. Case-control study of corticosteroids and other drugs that either precipitate or protect from the development of scleroderma renal crisis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1613-1619.

79. Denton CP, Black CM. Management of systemic sclerosis. Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, (eds). *Rheumatology*. 4ed. Philadelphia: Mosby, 2008: 1403-1415.
80. Denton PC. Therapeutic targets in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: 6.
81. Rubin LJ, Black CM, Denton CP, Seibold JR. Clinical trials and basic research: defining mechanisms and improving treatment in connective tissue disease. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: 10.
82. Hachulla E, Launay D, Humbert M. Bosentan for the treatment of scleroderma. *Future Rheumatol* 2006; 1: 549-562.
83. Yu EP, Ostor AJ, Hall FC. Successful treatment with bosentan for severe digital ischaemia in limited cutaneous systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1122-1123.
84. Hettema ME, Zhang D, Bootsma H, Kallenberg CG. Bosentan therapy for patients with severe Raynaud's phenomenon in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1398-1399.
85. Ahmadi-Simab K, Hellmich B, Gross WL. Bosentan for severe pulmonary arterial hypertension related to systemic sclerosis with interstisyel lung disease. *Eur J Clin Invest* 2006; 36: 44-48.
86. Charles C, Clements P, Furst DE. Systemic sclerosis: hypothesis-driven treatment strategies. *Lancet* 2006; 367: 1683-1691.
87. Galie N, Olschewski H, Oudiz RJ. Ambrisentan for the treatment of pulmonary arterial hypertension: results of the ambrisentan in pulmonary arterial hypertension, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter, efficacy (ARIES) study 1 and 2. *Circulation* 2008; 117: 3010.
88. Asano Y, Ihn H, Asashima N, Yazawa N, Mimura Y, Jinnin M et al. A case of diffuse scleroderma successfully treated with high-dose intravenous immune globulin infusion. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 824-826.

89. Nacci F, Righi A, Conforti ML, Miniati I, Fiori G, Martinovic D et al. Intravenous immunoglobulins improve the function and ameliorate joint involvement in systemic sclerosis: a pilot study *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 977-979.
90. Krishna Sumanth M, Sharma VK, Khaitan BK, Kapoor A, Tejasvi T. Evaluation of oral methotrexate in the treatment of systemic sclerosis. *Int J Dermatol* 2007; 46: 218-223.
91. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Goldin J, Roth MD, Furst DE et al. Cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease. Scleroderma Lung Study Research Group. *N Engl J Med* 2006 22; 354: 2655-2666.
92. Clements PJ, Roth MD, Elashoff R, Tashkin DP, Goldin J, Silver RM, et al. Scleroderma lung study (SLS): Differences in the presentation and course of patients with limited versus diffuse systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1641-1647.
93. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Roth MD, Furst DE, Silver RM, Goldin J, et al. Effects of 1-year treatment with cyclophosphamide on outcomes at 2 years in scleroderma lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 1026-1034.
94. Maddison P. Prevention of vascular damage in scleroderma with angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41: 965-971.
95. Gliddon AE, Doré CJ, Black CM, McHugh N, Moots R, Denton CP, et al. Prevention of vascular damage in scleroderma and autoimmune Raynaud's phenomenon: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the angiotensin converting enzyme inhibitor quinapril. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 3837-3846.
96. Cerinic Matucci M, Del Rosso A, Federico P, Livi R, Fiori G, Bartoli F, et al. Therapeutic challenges for systemic sclerosis: Facts and future targets. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1110: 448-454.

97. Fries R, Shariat K, von Wilmsowky H, Böhm M. Sildenafil in the treatment of Raynaud's phenomenon resistant to vasodilatory therapy. *Circulation* 2005; 112: 2980-2985.
98. Clements PJ, Seibold JR, Furst DE, Mayes M, White B, Wigley F, et al. High-dose versus low-dose D-penicillamine in early diffuse systemic sclerosis trial: Lessons learned. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 33: 249-263.
99. Derk CT, Huaman G, Jimenez SA. A retrospective randomly selected cohort study of D-penicillamine treatment in rapidly progressive diffuse cutaneous systemic sclerosis of recent onset. *Br J Dermatol* 2008; 158: 1063-1068.
100. Mayes MD, O'Donnell D, Rothfield NF, Csuka ME. Minocycline is not effective in systemic sclerosis: results of an open-label multicenter trial. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 553-557.
101. Thomas-Golbanov CK, Wilke WS, Fessler BJ, Hoffman GS. Open label trial of tamoxifen in scleroderma. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 2: 99-102.
102. Rabinovich GA, Baum LG, Tinari N, Paganelli R, Natoli C, Liu FT, Iacobelli S. Galectins and their ligands: amplifiers, silencers or tuners of the inflammatory response. *Trends Immunol* 200; 23: 313–320.
103. Moutsatsos IK, Wade M, Schindler M, Wang JL: Endogenous lectins from cultured cells: nuclear localization of carbohydrate-binding protein 35 in proliferating 3T3 fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 84: 6452–6456.
104. Ahmed H, Du SJ, O'Leary N, Vasta GR. Biochemical and molecular characterization of galectins from zebrafish (*Danio rerio*): notochord-specific expression a prototype galectin during early embryogenesis. *Glycobiol* 2004; 14: 219–232.
105. Baum LG, Pang M, Perillo NL, Wu T, Delegeane A, Uittenbogaart CH et al. Human thymic epithelial cells express an endogenous lectin, galectin-1, which binds to core 2 Oglycans on thymocytes and T lymphoblastoid cells. *J Exp Med* 1995; 181: 877–887.

106. Villa-Verde DM, Silva-Monteiro E, Jasiulionis MG, Farias-De-Oliveira DA, Brentani RR et al. Galectin-3 modulates carbohydrate dependent thymocyte interactions with the thymic microenvironment. *Eur J Immunol* 2002; 32: 1434–1444.
107. Blaser C, Kaufmann M, Muller C, Zimmermann C, Wells V, Mallucci L et al. Beta-galactoside binding protein secreted by activated T cells inhibits antigen-induced proliferation of T cells. *Eur J Immunol* 1998; 28: 2311–2319.
108. Joo HG, Goedegebuure PS, Sadanaga N, Nagoshi M, von Bernstorff M, Eberlein TJ, et al. Expression and function of galectin-3, a betagalactoside-binding protein in activated T lymphocytes. *J Leukoc Biol* 2001; 69: 555–564.
109. Zuñiga EI, Rabinovich GA, Iglesias MM, Gruppi A. Regulated expression of galectin-1 during B cell activation and implications for T-cell apoptosis. *J Leukoc Biol* 2001; 70: 73–79.
110. Acosta-Rodríguez EV, Montes CL, Motran CC, Zuniga EI, Liu FT, Rabinovich GA, Gruppi A. Galectin-3 mediates interleukin-4-induced survival and differentiation of B cells. Functional cross-talk and implications during *Trypanosoma cruzi* infection. *J Immunol* 2004; 172: 493–502.
111. Rabinovich GA, Castagna LF, Landa CA, Riera CM, Sotomayor CE. Regulated expression of a 16 kDa galectin-like protein in activated rat macrophages. *J Leukoc Biol* 1996; 59: 363–370.
112. Liu FT, Hsu DK, Zuberi RI, Kuwabara I, Chi EY, Henderson WR Jr. Expression and function of galectin-3, a beta-galactoside-binding lectin, in human monocytes and macrophages. *Am J Pathol* 1995; 147: 1016- 1028.
113. Dietz AB, Bulur PA, Knutson GJ, Matasic R, Vuk-Pavlovic S: Maturation of human monocyte-derived dendritic cells studied by microarray hybridization. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 275: 731–738.
114. Ho MK, Springer TA: Mac-2, a novel 32,000 Mr mouse macrophage subpopulation-specific antigen defined by monoclonal antibodies. *J Immunol* 1982; 128: 1221–1228.

115. Matarrese P, Fusco O, Tinari N, Natoli C, Liu FT, Semeraro ML, et al. Galectin- 3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties. *Int J Cancer* 2000; 85: 545–554.
116. Yang RY, Hsu DK, Liu FT. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93: 6737-6742.
117. Akahani S, Nangia-Makker P, Inohara H, Kim HR, Raz A. Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family. *Cancer Res* 1997; 57: 5272-5276.
118. Fukumori T, Takenaka Y, Yoshii , Kim HR, Hogan V, Inohara HT, et al. CD29 and CD7 mediate galectin-3-induced type II T-cell apoptosis. *Cancer Res* 2003; 63: 8302–8311.
119. Colnot C, Ripoche MA, Milon G, Montagutelli X, Crocker PR, Poirier F. Maintenance of granulocyte numbers during acute peritonitis is defective in galectin-3-null mutant mice. *Immunology* 1998; 94: 290–296.
120. Harjacek M, Diaz-Cano S, De Miguel M, Wolfe H, Maldonado C, Rabinovich GA. Expression of galectins-1 and -3 correlates with defective mononuclear cell apoptosis in patients with juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2001; 28: 1914–1922.
121. Hsu DK, Dowling CA, Jeng KC, Chen JT, Yang RY, Liu FT. Galectin-3 expression is induced in cirrhotic liver and hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 1999; 81: 519–526.
122. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247–2250.
123. Bataller R. & Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218.
124. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.

125. Della Rossa A, Valentini G, Bombardieri S, Bencivelli W, Silman AJ, D'Angelo S, et al. European multicentre study to define disease activity criteria for systemic sclerosis. I. Clinical and epidemiological features of 290 patients from 19 centres. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 585-591.
126. Medsger TA Jr, Silman AJ, Steen VD, Black CM, Akesson A, Bacon PA, et al. A disease severity scale for systemic sclerosis: development and testing. *J Rheumatol* 1999; 26: 2159-2167.
127. Clements P, Lachenbruch P, Seibold J, White B, Weiner S, Martin R, et al. Inter and intraobserver variability of total skin thickness score (modified Rodnan TSS) in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1995; 22: 1281–1285.
128. Steen VD, Medsger TA Jr. The value of the Health Assessment Questionnaire and special patient-generated scales to demonstrate change in systemic sclerosis patients over time. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1984–1991.
129. Fries JH, Spitz P, Kraines RG, Holman HR. Measurement of patient outcome in arthritis. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 137-145.
130. Fries JH, Spitz PW, Young DY. The dimensions of health outcomes: the Health Assessment Questionnaire, disability and pain scales. *J Rheumatol* 1982; 9: 789-793.
131. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI: A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 630-640.
132. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, Urowitz M, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 363-369.
133. Liu YH, D'Ambrasio M, Liao TD, Peng H, Rhaleb NE, Sharma U, et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline prevents cardiac remodeling and dysfunction induced by galectin-3, a mammalian adhesion/growth-regulatory lectin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 296: 404-412.

6. ÖZGEÇMİŞ

1981, Ankara/Keçiören doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi değişik illerde yaptım. Tıp eğitimimi 1999-2005 yıllarında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesinde tamamladım. 2005 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.B.D.'nda başladığım araştırma görevliliğim halen devam etmektedir.