

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

**BLEOMİSİN İLE OLUŞTURULMUŞ DENEYSEL SKLERODERMA
MODELİNDE OKTRETİD TEDAVİSİNİN ETKİNLİĞİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Sibel OYUCU ORHAN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Süleyman Serdar KOCA**

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

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. Süleyman Serdar KOCA _____

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

TEŐEKKÖR

Uzmanlık eğitimimin süresince bana yol gösteren, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, başta tez danışmanım Prof. Dr. Süleyman Serdar KOCA olmak üzere, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emir DÖNDER, Uzm. Dr. Barış GÜNDOĐDU, Uzm. Dr. Ahmet YILDIRIM, Uzm. Dr. Servet YOLBAŐ, Dr. Fikret DURAN, Dr. Berçem AFŐAR KARATEPE ve uzmanlık eğitimime katkıda bulunan diğer iç hastalıkları bilim dalları öğretim üyelerine; tezin hazırlanmasında yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Mustafa AKIN ve Yrd. Doç. Dr. Ebru ÖNALAN'a; tüm uzmanlık eğitimim boyunca her zaman yanımda olup bana destek veren eşim Dr. Bedrettin ORHAN'a ve aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Skleroderma (sistemik skleroz; SSc), deri ve çeşitli iç organların fibrozu ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın patogenezi net olarak bilinmemekte, ancak kollajen ve diğer ekstraselüler matriks (ESM) moleküllerinin aşırı sentez ve depolanması ile fibroz oluşmaktadır.

Oktreotid büyüme hormonunun sekresyonunu düzenleyen somatostatinin analogudur. Büyüme hormonu karaciğerden İnsülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) üretimini artırmaktadır. Büyüme hormonunun birçok etkisi IGF-I aracılığı ile düzenlenmektedir. IGF-I güçlü bir büyüme ve differansiasyon faktörüdür. Pulmoner fibrozlu skleroderma hastaların bronkoalveolar sıvılarında IGF-I düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir. Benzer şekilde, Morfea hastalarında doku ve serum IGF-I düzeyler yüksek bulunmuştur. Bleomisin (BLM) ile uyarılmış pulmoner fibroz modelinde ve idiopatik pulmoner fibrosis hastalarında oktreotidin anti-fibrotik etkinliği ortaya konulmuştur. Çalışmamızın amacı, BLM ile oluşturulmuş deneysel skleroderma modelinde oktreotid uygulamalarının profilaktik ve teröpatik etkinliklerinin belirlenmesidir.

Çalışmaya 60 adet *Balb/c* dişi fare alındı. Erken evre grupları (grup I [kontrol grubu], II [sham-1 grubu], III [profilaktik oktreotid grubu]) ve geç evre grupları (grup IV [kontrol grubu], V [sham-2 grubu], VI [teröpatik oktreotid grubu]) olarak 6 grup oluşturuldu. BLM uygulanmayacak olan kontrol grubu farelere (grup I ve IV) tıraş edilmiş bölgeden her gün subkutan (sc) fosfat ile tamponlanmış salin (FTS) uygulandı. 1 mg BLM, 1 mL FTS içerisinde çözündürülerek II. ve III. gruptaki farelere 3 hafta, V. ve VI. gruptaki farelere 6 hafta boyunca 100 µL (100 µg) dozunda her gün sc uygulandı. BLM'e ek olarak, III. gruptaki (profilaktik oktreotid) farelere çalışmanın ilk gününden başlayarak, VI. gruptaki (teröpatik oktreotid) ise 21. günden başlayarak, çalışma sonuna kadar her gün sc oktreotid (100 µg/kg dozunda) enjekte edildi. İlk üç grup üç haftanın sonunda; kalan gruplar 6 haftanın sonunda sakrifiye edildi. Doku örnekleri histopatolojik inceleme ve real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) analizleri için toplandı. Dermal doku TGF-β1, IGFBP-3 ve IGFBP-5 mRNA ekspresyonları RT-PCR ile belirlendi.

Bleomisin uygulamaları artmış dermal inflamatuvar hücre infiltrasyonuna, dermal fibroza ve dermal kalınlıkta artışa yol açtı. Benzer şekilde, kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında, BLM uygulanan plasebo gruplarında TGF- β 1, IGFBP-3 ve IGFBP-5 mRNA ekspresyonları artmıştı. Plasebo grupları ile karşılaştırıldığında, TGF- β 1 mRNA ekspresyonu hem profilaktik hem de teröpatik oktreotid gruplarında azalmıştı. Ancak, IGFBP-3 ve IGFBP-5 mRNA ekspresyonları sadece teröpatik okterotid grubunda belirgin azalmıştı. Diğer taraftan, oktreotid hem profilaksi hem de tedavi grubunda histopatolojik olarak dermal nekroinflamasyonu ve fibrozu azaltmıştır.

Sonuç olarak, IGF-I'in dermal fibroza katkısının olduğu ve oktreotidin anti-fibrotik potansiyele sahip olduğu ifade edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Deneysel skleroderma, İnsülin benzeri büyüme faktörü-I, Oktreotid

ABSTRACT

EFFICACY OF OCTREOTIDE TREATMENT ON BLEOMYCIN INDUCED EXPERIMENTAL SCLERODERMA MODEL

Scleroderma is a chronic inflammatory disease characterized by skin and various internal organ fibrosis. The pathogenesis of the disease is not clearly understood but fibrosis is formed by excessive synthesis and deposition of collagen and extracellular matrix molecules.

Octreotide is the analog of somatostatin which regulates growth hormone (GH) secretion. GH increases the production of insulin like growth factor-1 (IGF-1) from the liver. Various effects of GH is maintained by IGF-1. IGF-1 is a strong growth and a differentiation factor. IGF-1 levels in bronchoalveolar fluid is shown to be increased in scleroderma patients with pulmonary fibrosis. Similarly, tissue and serum IGF-1 levels are found to be high in morfea patients. The anti-fibrotic effect of octreotide is shown in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and the model of bleomycin induced pulmonary fibrosis. The aim of this study is to determine the preventive and therapeutic effects of octreotide on bleomycin-induced experimental scleroderma model.

60 Balb/c female mice were included in this study. They were divided into 6 equal groups such as early phase groups (group I [control], II [sham-1], III [prophylactic octreotide]) and late phase groups (group IV [control], V [sham-2], VI [therapeutic octreotide]). To the control mice (group I and group IV), subcutaneous (sc) daily saline buffered with phosphate (PBS) was administered to the shaved area. 1 mg BLM dissolving in 1 mL PBS was administered daily for 3 weeks to the rats in groups II and III and for 6 weeks to mice in groups V and VI sc at a dose 100 μ L (100 μ g). In addition to the BLM, rats in Group III (prophylactic octreotide) starting from the first day of the study and group VI (therapeutic octreotide) from day 21, received sc octreotide at a dose of 100 μ g/kg until the end of study. Mice in group I, II and III were sacrificed on third week and those in group IV, V and VI on sixth week and tissue samples were removed for analyzes. Tissue TGF- β 1, IGFBP-3 and IGFBP-5 mRNA expressions were determined by RT-PCR method.

Administrations of bleomycin caused an increase in dermal inflammatory cell infiltration, dermal fibrosis and dermal thickening. Similarly, mRNA expressions of

TGF- β 1, IGFBP-3 and IGFBP-5 are increased in BLM administered placebo group compared to control group. mRNA expression of TGF- β 1 is decreased in both prophylactic and therapeutic octreotide group compared to placebo. However, mRNA expressions of IGFBP-3 and IGFBP-5 are markedly decreased only in therapeutic octreotide group. On the other hand, histopathologically dermal necroinflammation is decreased in both prophylactic and therapeutic groups by octreotide.

In conclusion, it can be suggested that IGF-1 contributes to dermal fibrosis and octreotide has a potential anti-fibrotic effect.

Keywords: Experimental scleroderma, Insulin like growth factor-1, Octreotide

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Skleroderma	2
1.1.1. Tanım	2
1.1.2. Epidemiyoloji	3
1.1.3. Etiyoloji	3
1.1.4. Patogenez	5
1.1.5. Tanı	8
1.1.6. Sınıflandırma	9
1.1.6.1. Lokalize Skleroderma	9
1.1.6.2. Sistemik Skleroderma	10
1.1.7. Klinik özellikler	10
1.1.7.1. Cilt tutulumu	10
1.1.7.2. Raynaud Fenomeni	11
1.1.7.3. Gastrointestinal sistem	11
1.1.7.4. Kalp tutulumu	12
1.1.7.5. Pulmoner hipertansiyon	12
1.1.7.6. Böbrek tutulumu	12
1.1.7.7. Akciğer tutulumu	133
1.1.7.8. Genitoüriner Sistem Tutulumu	13
1.1.7.9. Baş-Boyun Tutulumu	13
1.1.7.10. Sinir Sistemi Tutulumu	144
1.1.8. Tedavi	14

1.1.8.1. Cilt tutulumunda tedavi	14
1.1.8.2. Periferik vasküler sistem tutulumunda tedavi	155
1.1.8.3. Gastrointestinal sistem tutulumunda tedavi	15
1.1.8.4. Kalp tutulumunda Tedavi	16
1.1.8.5. Akciğer tutulumunda tedavi	16
1.1.8.6. Böbrek tutulumunda tedavi	18
1.1.8.7. Kalsinoz tedavisi	18
1.2. Oktreotid	19
2. GEREÇ VE YÖNTEM	21
2.1. Deney Hayvanları	21
2.2. Çalışma grupları ve uygulamalar	21
2.3. Doku örneklerinin toplanması	22
2.4. Histopatolojik ve immunohistokimyasal analizler	22
2.5. Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) analizler	23
2.6. İstatistiksel Analizler	23
3. BULGULAR	24
3.1. BLM ile Uyarılmış Dermal Fibroz	24
3.2. BLM ile Uyarılmış Dermal Fibrozun Oktreotid ile Tedavisi	27
4. TARTIŞMA	28
5. KAYNAKLAR	31
6. ÖZGEÇMİŞ	31

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. ACR/EULAR 2013 Sistemik Skleroz Klasifikasyon Kriterleri	9
Tablo 2. Çalışma gruplarında dermal inflamatuvar hücre sayıları ve dermal kalınlıklar	26

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Oktreotidin kimyasal formülü	20
Şekil 2. Çalışma grupları ve uygulanan tedaviler	22
Şekil 3. Çalışma gruplarında histopatolojik bulgular (hematoksilen eozin, x200)	24
Şekil 4. Çalışma gruplarında ortalama dermal inflamatuvar hücre sayıları	25
Şekil 5. Çalışma gruplarında ortalama dermal kalınlıklar	26

KISALTMALAR LİSTESİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim
ACR	: Amerikan Romatoloji Birliği (American College of Rheumatology)
ANA	: Antinükleer antikor
BLM	: Bleomisin
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
CMV	: Sitomegalovirüs
CTGF	: Kollojen doku büyüme faktörü
dcSSC	: Yaygın cilt tutulumlu sistemik skleroz
EBV	: Epstein bar virus
ESM	: Ekstraselüler matriks
ET-1	: Endotelin-1
ETA	: Endotelin A
ETB	: Endotelin B
EULAR	: Avrupa Romatizma Birliği
FTS	: Fosfat ile tamponlanmış salin
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
GVHR	: Graft-versus-host-reaksiyonu
HLA	: İnsan lökosit antijenleri
ICAM-1	: İnterselüler adezyon molekülü-1
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IGF1R	: İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü
IGFBP	: IGF bağlayıcı protein
IGF-I	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-I

IL	: İnterlökin
ILD	: İnterstisyel akciğer hastalığı
IPF	: İdiyopatik pulmoner fibroz
IR	: İnsülin reseptörü
KKB	: Kalsiyum kanal blokerleri
lcSSc	: Sınırlı cilt tutulumlu sistemik skleroz
MCP-1	: Monosit kemoatraktant protein 1
MHC	: Major histokompatibilite kompleksi
NO	: Nitrik oksit
PAH	: Pulmoner arter hipertansiyonu
PDE-5	: Fosfodiesteraz tip 5
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
RF	: Raynaud fenomeni
RT-PCR	: Real-time polymerase chain reaction
SLE	: Sistemik lupus eritematozus
SRC	: Skleroderma renal krizi
SSc	: Sistemik skleroz
sst2A	: Somatostatin reseptör 2A
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
Th	: T hücre
TNF-α	: Tümör nekroz faktör alfa
YRBT	: Yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi

1. GİRİŞ

Skleroderma (sistemik skleroz; SSc), deri ve çeşitli iç organların fibrozu ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalıktır (1). Hastalığın patogenezi net olarak bilinmemekte, ancak kollajen ve diğer ESM moleküllerinin aşırı sentez ve depolanması ile fibroz oluşmaktadır (2). ESM üretiminden aktif fibroblastlar (miyofibroblastlar) sorumlu tutulmaktadır (3, 4). Aktive endotelial hücreler ve inflamatuvar hücreler hücre-hücre etkileşimi ile doğrudan ve çeşitli sitokin, adhezyon molekülü ve büyüme faktörü üretimi ile dolaylı olarak fibroblastları aktive edebilmektedir. Transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β bu aşamalarda önemli görevler üstlenmektedir (1). Sklerodermada aktive olan fibroblastlar çeşitli sitokin ve büyüme faktörü üretimi ile otokrin ve parakrin özellikler sergilemektedir. Fibroblastik otonomi yanında kemik iliği kaynaklı ve yerel mezenkimal öncül hücrelerin fibroblastik hücrelere dönüşümü, sklerodermadaki fibroblastik aktivitenin devamlılığında sorumlu tutulmaktadır.

İnsülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I), güçlü bir büyüme ve differansiasyon faktörüdür (5, 6). Rothe ve ark. (7) az sayıda hastanın katılımı ile yaptıkları çalışmalarında, skleroderma hastaları serum IGF-I düzeyinin yüksek olmadığını bildirmişlerdir. Diğer taraftan, pulmoner fibrozlu skleroderma hastaların bronkoalveolar sıvılarında IGF-I düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir (8). Benzer şekilde, Morfea hastalarında doku ve serum IGF-I düzeyler yüksek bulunmuştur (9). IGF-I, 6 farklı IGF bağlayıcı protein (IGFBP)'lerden birine bağlanır (5, 6). IGFBP'ler, böylece, IGF-I'in biyoaktivitesini etkiler (5, 6). Skleroderma dermal fibroblastlarının IGFBP-3 ve -5 ekspresyonları yüksek bulunmuştur (10, 11). IGF-I'in fibroblastların proliferasyonunu uyardığı ve ESM üretimini artırdığı bildirilmiştir (12). Benzer şekilde, IGFBP-3 ve -5'in fibroblastların *in vitro* fibrotik potansiyellerini artırdığı (13) ve IGFBP-5'in *in vivo* deneysel modelde dermal fibrozu artırdığı (14) gösterilmiştir.

Büyüme hormonu karaciğerden IGF-I üretimini artırmaktadır. Diğer taraftan, büyüme hormonunun birçok etkisi IGF-I aracılığı ile düzenlenmektedir (5, 6). Oktreotid büyüme hormonunun sekresyonunu düzenleyen somatostatinin analogudur. İdiyopatik pulmoner fibroz (IPF)'lu hastaların akciğer fibrotik dokularında somatostatin reseptörlerinden sst2A'nın ekspresyonunun yüksek olduğu gösterilmiştir (15). Bunun üzerine yapılan çalışmalarda (16-18), bleomisin (BLM) ile uyarılmış pulmoner fibroz

modelinde (16, 17) ve IPF hastalarında (18) oktreotidin anti-fibrotik etkinliği ortaya konulmuştur.

Günümüzde, skleroderma patogenezi net olmamakla birlikte bu konuya ilişkin tartışmalar sürmektedir ve etkin bir tedavi protokolu bulunmamaktadır. Skleroderma nadir görülen bir hastalıktır ve kliniklerde izlenen hastalar heterojenlik göstermektedir (19, 20). Bu nedenle, ideal bir klinik çalışma planlanması ve yapılması olası değildir. Klinik çalışmaların yerini tam olarak alamayacağı bilinmesine karşın, deneysel hayvan modelleri, değişik insan hastalıklarının patogenezinin anlaşılması ve yeni tedavi protokollerinin belirlenmesinde klinisyenlere önemli ipuçları sunabilmektedir. Literatürde, birçok skleroderma deneysel hayvan modeli bildirilmiştir. Bu modellerden, oluşturulmasının kolaylığı ve insandakine benzer immünolojik ve histopatolojik özellikler göstermesi nedeniyle BLM ile uyarılmış dermal fibroz/skleroz modeli tercih edilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, BLM ile oluşturulmuş deneysel skleroderma modelinde oktreotid uygulamalarının profilaktik ve teröpatik etkinliklerinin belirlenmesidir.

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 (1).

Skleroderma, deri ve iç organların yaygın fibrozu ile karakterize kronik otoimmün inflamatuvar bir hastalıktır. Sklerodermanın etiyoloji ve patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Sklerodermada vasküler hasar, otoimmünite, inflamasyon ve fibroz hastalığın en belirgin özellikleridir (21). Sklerodermada özellikle küçük arterler, arteriyol ve kapillerlerin tutulduğu proliferatif, tıkaçıcı bir vaskülopati görülmektedir. Vaskülopati, endotel hücrelerinin aktivasyonu ve yıkımı ile başlar. Aktive fibroblastlardan salgılanan kollajen, fibronektin ve glukozaminoglikanlar fibroza yol açar.

1.1.2. Epidemiyoloji

Skleroderma insidans ve prevalansı popülasyonlara göre farklılık göstermekte, bu da genetik predispozisyonun ve çevresel faktörlerin önemli rol oynadığını düşündürmektedir (22).

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yapılan çalışmalarda Skleroderma insidansı milyonda 19.3, prevalansı yüzbinde 67-265 olarak bulunmuştur. Kadın/erkek oranı 8/1'dir (23, 24). Lineer skleroderma 18 yaş altında gözlenirken SSc 30-50 yaşlarında gözlenir (25). Özellikle Afrika kökenli ve yerli Amerikalılarda hastalık daha ağır seyir gösterme eğilimindedir. Afrikan Amerikalılar ve hispaniklerde Asyalılara oranla parmak ülserleri, cilt tutulumu, pulmoner hipertansiyon daha sık ve daha yaygındır. Beyazlarda anti-sentromer antikor (ACA) daha yüksek bulunurken, Afrikan Amerikalılarda Anti-RNP ve anti-fibrillin antikorları daha yüksek bulunmuştur (26). Bununla birlikte Tayland'lı hastalarda anti Scl- 70 antikorları daha sık bulunmuştur (26) Seyrek olarak ailesel skleroderma olguları bildirilmiştir (27). Monozigot ikizlerde seyrek olsa da skleroderma bildirilmiştir (28). Kadınlarda daha sık görülmesi nedeniyle hormonal faktörlerde etkili olabilir. Çevresel faktörlerden; silikaya maruz kalan maden işçilerinde skleroderma sıklığı artmış olarak bildirilmiştir (29, 30). Bunun yanında meme silikon implantları, L-triptofan, vinil klorid ve organik çözücüler skleroderma ile ilişkilendirilen diğer çevresel faktörlerdir (31).

1.1.3. Etiyoloji

Sklerodermanın etiyojisi tam olarak aydınlatılamamasına karşın, genetik ve çevresel faktörler etiyojiden sorumlu tutulmaktadır.

Silika tozları, L-triptofan, vinil klorid, meme silikon implantları ve organik çözücüler skleroderma ile ilişkilendirilen çevresel faktörlerdir (31). Mesleksel uğraşlar nedeniyle vinil klorid ile karşılaşan işçilerin çoğunda RF ve sklerodermaya özgü deri bulguları gözlenmiştir (32). 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 (33-35). Diğer birçok çevresel ve mesleksel faktörün skleroderma ile ilişkileri araştırılmasına karşın, bu risk faktörlerinin birçok hastada bulunmayışı nedeniyle

skleroderma etiopatogenezinden tek başlarına sorumlu tutulamayacaklarını düşündürmektedir (31).

Bakteriyel ve viral çeşitli enfeksiyöz ajanların (helikobakter pilori, sitomegalovirüs [CMV], parvovirus B19, epstein barr virus [EBV] ve retroviruslar) skleroderma etiolojisinde rol alabileceği düşünülmüştür (36). 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 (37). SSc hastalarında, helikobakter pilori seroprevelansının da yüksek olduğu (%78) gösterilmiştir (38). Enfeksiyöz ajanlar, moleküler benzerlik ve/veya direkt endotelial hücre hasarı yaparak, skleroderma etiopatogenezine katkı yapıyor olabilir (36).

Skleroderma etiolojisinde genetik faktörlerin rolü yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Sklerodermada en göze çarpan genetik faktör cinsiyettir. Diğer bir risk faktörü de insan major histokompatibilite kompleksi (MHC) olup, sklerodermada class I ve II MHC allellerinin sıklığında artış bildirilmekle birlikte MHC allellerinin doğal seyirleri ve diğer genlerle olan ilişkileri tartışmalıdır (39). İnsan lökosit antijenleri (HLA) ile skleroderma arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, HLA A23, B18 ve DR11 sklerodermalı hasta popülasyonunda yüksek saptanmıştır. Skleroderma alt tipleri ve HLA antijenleri arasında bir korelasyon bulunmazken, HLA B18 ve HLA DR11'in sklerodermanın daha ağır seyirli formlarıyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (40). Skleroderma tanılı olan bireylerin birinci dereceden akrabalarında, skleroderma gelişme riskinin arttığı gösterilmiştir (20). İkizler arasında skleroderma görülme oranı, monozygot ve heterozygotların her ikisi için de %4,7 olarak bildirilirken antinükleer antikor (ANA) pozitifliği monozygot ve heterozygot ikizlerde sırasıyla %90 ve %40 olarak bildirilmiştir (41). Bu bulgular, hastalığın oluşumunda genetik faktörlerin tek başına sorumlu tutulamayacağını göstermektedir. TGF- β , monosit kemoatraktant protein 1 (MCP-1), interlökin (IL) 1 α , tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), ESM

proteinleri (fibronektin, fibrillin vb.), nitrik oksit (NO), endotelin-1 (ET-1) ve anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) genleri araştırılmış ve bu genlerdeki bazı polimorfizmler sklerodermaya duyarlılık ile ilişkilendirilmiştir (42).

Skleroderma hastalarının kanında ve deri lezyonlarında, fetal orjinli mikrokimerik hücrelerin artmış olduğu gözlenmiştir (43, 44). Mikrokimerizm, aynı organizmada, farklı zigotlardan kaynaklanmış ve farklı genetik yapıda birden çok hücre grubunun bir arada bulunmasıdır. Skleroderma, kadınlarda erkeklerden yaklaşık 8 kat daha sık görülmekte ve çoğu hastada doğurganlık çağı sonrası başlamaktadır (45). 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 (44). Ancak; bazı hastalarda mikrokimerik hücrelerin olmayışı, sağlıklı bireylerde bile mikrokimerik hücrelerin saptanması, hastalığın başlangıcından önce hiç gebeliği olmayan kadın hastaların varlığı ve erkeklerde de hastalığın görülmesi, mikrokimerizmin SSc etiopatogenezindeki rolü açısından soru işaretleri taşımaktadır (43).

1.1.4. Patogenez

Sklerodermanın patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte klinik ve patolojik bulgulardan sorumlu üç ana mekanizma olduğu düşünülmektedir (22). Bunlar; mikrovasküler hasar, immun sistem aktivasyonu (inflamasyon) ve fibrozdur.

Patogenezin endotelial hücre hasarı ve immün aktivasyon kısmı için, genetik ve çevresel faktörler ve mikrokimerizm tetikleyici risk faktörleri olarak gösterilmektedir (46).

Sklerodermada en erken oluşan fizyopatolojik olayın vasküler hasar olduğu kabul edilmektedir. Preklinik dönemde bile vasküler değişiklikler saptanabilmektedir. Vasküler hasar olasılıkla virusler, otoantikolar, granzim veya serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stres nedeniyle oluşmaktadır (20). İmmünolojik uyarı, iskemik reperfüzyon hasarı veya diğer yollarla oluşan endotelial hasar, prostasiklin salınımında azalmaya ve ET-1 üretiminde artışa neden olmaktadır (47). Endotel hücreleri tarafından

üretilen ve vaskülopati gelişiminde anahtar rol oynayan ET-1 son derece potent bir vazokonstrüktördür. ET-1 nitrik oksit düzeyini azaltıp, hücre büyümesi, arteryel duvar kalınlaşması ve endotelial hücre disfonksiyonuna neden olmaktadır (48). Güncel kanıtlara göre, aktive lenfositlerden salınan TGF- β gibi büyüme faktörleri endotel hasarı ve interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ekspresyonu ve kollojen doku büyüme faktörü (CTGF) artışına ve böylece ESM ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) artışına neden olmaktadır. PDGF, fibrogenezin temel aktörleri olan, fibroblastlar gibi mezenkimal hücreler için güçlü bir mitojenik büyüme faktörüdür (49). Sklerodermadaki vasküler değişiklikler, başlıca küçük arter ve kapillerlerde görülmektedir. Erken dönemde, subkutan dokuda perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu saptanmaktadır. Küçük arterlerde intimada mukoid ve ödematöz konsantrik proliferasyon oluşurken, internal elastik lamina ve tunika media normal bulunmuştur (50). Vaskülopati, klinik olarak sıklıkla RF şeklinde kendini gösterir. Vasküler hastalık ilerlediğinde tırnak yatağında kapiller değişiklikler, kutanöz telenjektaziler, pulmoner arter hipertansiyonu (PAH), skleroderma renal krizi (SRC) ve gastrik vasküler ektaziler ortaya çıkar (51).

Sklerodermanın immün aracılı bir hastalık olduğunu düşündüren en önemli bulgu, erken cilt lezyonlarında yoğun mononükleer hücre ve T hücre infiltrasyonlarının bulunmasıdır. T hücreleri aktive olduğu zaman, profibrotik bir sitokin olan IL-4'ü üretirler (52). İnterlökin-4, sklerodermadaki major fibrojenik sitokinlerden birisidir ve doku fibrozunun oluşmasından sorumlu tutulmaktadır (53). IL-4, aktive olmuş hafıza T hücreleri ve mast hücreleri tarafından üretilmektedir. IL-4, kollajen ve tenascin-c gibi ESM proteinlerinin sentezini, fibroblast proliferasyonunu ve kollajen ekspresyonunu indüklemektedir (54). IL-4, sklerodermalı hastalarda kollajen sentezini artırır. TGF- β sentezini indükler (55). Transforme edici büyüme faktörü- β , fibroz patogenezinde önemli rol oynar. TGF- β , aktive olmuş makrofaj ve lenfositlerden salınır ve fibroblastlar için güçlü bir kemoatraktandır. TGF- β çeşitli kollajenlerin, proteoglikanların ve fibronektinin sentezini uyarır. Ayrıca metaloproteinaz sentezini azaltır ve metaloproteinaz doku inhibitörlerinin sentezini artırır ve böylece ESM yıkımını inhibe eder (56). TGF- β , vasküler düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerden kollajen doku büyüme faktörü (CTGF) sentezini de uyarmaktadır. CTGF, fibroz için önemli bir diğer büyüme faktörüdür (56).

Skleroderma ve diğer otoimmün hastalıklarda, IL-2 reseptör ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir (57). IL-2, temel olarak CD4+ T hücrelerden salınan ve immün yanıtta önemli rolü olan güçlü bir immünmodülatördür. IL-2, yardımcı T hücre (Th)'lerinin, Th1 veya Th2 hücrelere diferansiyasyonunu, doğal öldürücü hücre aktivasyonunu ve B lenfositlerden otoantikor üretimini artırır (58). Sklerodermalı hastaların derisinde bulunan mononükleer hücreler, ağırlıklı olarak CD8+ T hücrelerinden sayıca daha fazla olan CD4+ T hücreler ve makrofajlardır. Doğal öldürücü hücreler ise daha az sayıda bulunur (59).

Sklerodermada hastalığa özgü otoantikorların saptanması, otoantikor tipi ile hastalık fenotipleri arasındaki ilişki ve hipergamaglobulinemi, B lenfositlerin skleroderma patogenezinde rol alıyor olduğunu düşündürmektedir. Diğer taraftan, sklerodermada B lenfosit homeostazında değişiklik, poliklonal hiperaktivasyon, duyarlı B lenfositlerde artış ve hafıza B lenfositlerde azalma olduğu gösterilmiştir (60). Hastalığın başlangıç aşamasında bile, kanda yüksek özgünlükte otoantikorlar saptanabilmektedir. Sklerodermaya özgü bu antikorların her birisi farklı klinik paternler ve hastalık prognozu ile ilişkilidir (51). Sklerodermanın karakteristik antikorları; antisentromer, antitopoizomeraz-I (anti-Scl-70), anti-RNA polimeraz ve U3-RNP'dir (61-63). Sklerodermalı hastaların %90'ından fazlasında ANA pozitif olarak saptanmaktadır. Antisentromer ve anti- Scl-70 antikorları, diffüz ve sınırlı skleroderma ayırımında kullanılmaktadır. Antisentromer antikorların varlığı sınırlı sklerodermanın tanısını doğrularken, anti-Scl-70 antikor pozitifliği daha çok diffüz skleroderma ile ilişkilendirilmektedir. Anti- Scl-70 antikoru, skleroderma için son derece özgüdür ve interstisyel akciğer hastalığı (ILD) için yüksek risk ile ilişkilendirilmektedir (61).

Günümüzde, skleroderma ile ilişkili yeni otoantikorlar tanımlanmıştır. Anti-RNA polimeraz I ve III antikorları, sklerodermalı hastalarda deri ve renal tutulumla ilişkilendirilmektedir (61). Anti-RNA polimeraz II hem skleroderma hem de sistemik lupus eritematozus (SLE)'lu hastalarda pozitif bulunurken, U3-RNP antikoru özellikle PAH'lı skleroderma hastalarında saptanmaktadır (62, 63).

Sklerodermalı hastalarda, fibroblastlar tarafından üretilen Tip 1 ve Tip 3 kollojen miktarında artış görülmektedir. Dokudaki inflamatuvar hücrelerden salınan birçok sitokin ve büyüme faktörlerinin kollojen gen ekspresyonuna yol açtığı bilinmektedir (64).

Transforme edici büyüme faktörü- β , aktive lenfosit ve monositlerden salınmakta ve ESM sentezini uyararak, SSc'deki fibrozis gelişiminde temel rolü oynamaktadır (65). Ayrıca kollojeni yıkan matriks metalloproteinazlarının üretimini azaltmakta ve proteaz inhibitörlerinin üretimini arttırmaktadır. Böylece ESM yıkımını önlemektedir (66). Bir diğer doku fibrozu mediatörü CTGF olup, cilt ve akciğer fibroblastları tarafından sentez edilmektedir (67).

1.1.5. Tanı

Skleroderma tanısında American College of Rheumatology (ACR) grubunun 1980 yılında belirlediği sınıflandırma kriterlerine göre 1 major ve 2 minor kriter varlığında %97 duyarlılık ve %98 özgüllük ile SSc tanısı koyulabilmekteydi (68).

ACR Skleroderma Sınıflandırma Kriterleri (1980):

- Major: Metakarpofalangeal eklemlerin proksimaline kadar uzanan cilt sertliği
- Minor:
 - Sklerodaktili: Lezyonların parmaklarla sınırlı olması.
 - Parmak uçlarında ülser skarı: İskemiye bağlı olarak parmak ucu yumuşak dokunun kaybolması.
 - Bilateral baziler pulmoner fibrozis: Primer akciğer hastalığına bağlı olmaksızın akciğer bazallerinde bilateral retiküler paternde nodüler dansite artışı veya yaygın bal peteği görünümü.

1980 kriterleri erken evre hastaların tanısında yetersiz kalması nedeniyle 2013 yılında yeni Amerikan Romatoloji Birliği/Avrupa Romatizma Birliği (ACR/EULAR) skleroderma klasifikasyon kriterleri (Tablo 1) yayınlanmıştır. Bu yeni setin duyarlılığı %91 özgüllüğü %92'dir (69).

Tablo 1. ACR/EULAR 2013 Sistemik Skleroz Klasifikasyon Kriterleri

Her iki elde parmaklar ve Metakarpofalangeal eklemlerin proksimalinde deri kalınlaşması		9
Parmaklarda deri kalınlaşması (yalnızca yüksek olanı)	Şiş (puffy) parmaklar	2
	Sklerodaktili	4
Parmak ucu lezyonları (yalnızca yüksek olanı)	Parmak ucu ülserleri	2
	Pitting skar	3
Telenjiektazi		2
Anormal tırnak yatağı kapilleri		2
PAH ve/veya İnterstisyel Akciğer Hastalığı (maksimum skor 2)	PAH	2
	İnterstisyel Akciğer Hastalığı	2
RF		3
Sistemik skleroz ilişkili otoantikolar (maksimum skor 3)	Anti-sentiomer Ak	3
	Anti-Scl 70 Ak	
	Anti-RNA polimeraz III Ak	
Sistemik skleroz klasifikasyonu için toplam skor > 9 olmalıdır.		

1.1.6. Sınıflandırma

Skleroderma sistemik ve lokalize skleroderma olarak iki gruba ayrılabilir.

1.1.6.1. Lokalize Skleroderma

Lokalize formlarda, SSc'den farklı olarak RF, yapısal vasküler zararlanmalar (dijital ülserler, PAH vb.), otoimmün belirteçlerde olumluluk ve iç organ tutulumları bulunmamaktadır. En sık görülen lokalize skleroderma formu olan morfea, morfolojik paterni ve etkilenen deri dokusunun genişliğine göre alt gruplara ayrılmaktadır. En sık bulgusu olan plak morfea; izole sirküler kalın bir cilt bölgesidir. Çok sayıda olursa generalize morfea adı verilir. Bunlar bazen birleşerek SSc'nin cilt bulgularını taklit edebilir. Lineer paterni, lineer morfeada sık görülür. Morfeanın nodüler ve keloidi taklit eden formuna keloid morfea adı verilir; nadiren subepidermal bül formu görülebilir. Yüz ve saçlı deriyi etkileyen; kas, kemik ve nadiren beyin dokusunda atrofiye neden olan lineer skleroderma "Coup de Sabre" (kılıç darbesi lezyonu) olarak adlandırılır (70).

1.1.6.2. Sistemik Skleroderma

Sistemik skleroderma ciltteki kalınlaşmanın yaygınlığına göre sınırlı ve diffüz kutanöz skleroderma olarak iki ana alt gruba ayrılır. Diffüz sklerodermalı hastalarda dirsek ve dizlerin proksimalini kapsayan ve/veya gövdeyi de içine alan yaygın cilt tutulumu olur. Sınırlı skleroderma da cilt değişiklikleri yüz, boyun, dirsek ve/veya dizlerin distali ile sınırlıdır, gövde korunmuştur. CREST Sendromu; subkutan kalsifikasyon, RF, özefageal disfonksiyon, sklerodaktili ve telenjektazi ile karakterize, anti-sentromer antikor ile ilişkili sınırlı bir skleroderma formudur. Sınırlı sklerodermalı hastalarda, diffüz kutanöz hastalığı olanlara göre iç organ tutulumları daha az görülmekte veya daha geç dönemlerde ortaya çıkmaktadır, bu nedenle daha iyi bir seyir gösterirler (19, 70, 71). Ayrıca diffüz kutanöz tipte genellikle anti Scl-70 pozitif bulunurken anti-sentromer antikor negatiftir. Tersine sınırlı kutanöz tipte genellikle anti-sentromer antikor pozitif bulunurken anti Scl- 70 negatiftir.

Pre-skleroderma ve sklerodermasız skleroderma (scleroderma sine scleroderma) nadir karşılaşılan diğer sistemik klinik formlardır. Pre-skleroderma, tipik deri tutulumu olmaksızın, RF'ye sklerodermaya özgül otoantikorların pozitifliği veya tırnak yatağı kapilleroskopik anormalliklerinin eşlik ettiği bir klinik formdur. Sklerodermasız sklerodermada ise deri tutulumu bulunmaksızın, tipik iç organ tutulumları gözlenmektedir. Skleroderma, bir veya daha fazla bağ dokusu hastalığı ile birlikte görülebilir ve bu durumlar çakışma sendromu olarak adlandırılır (19).

1.1.7. Klinik özellikler

Skleroderma, ciltte sertleşme ile karakterize bir hastalık olmakla birlikte, iç organ tutulumuna da yol açmaktadır ve bu durum bazen son dönem organ yetmezliği ile sonuçlanabilmektedir.

1.1.7.1. Cilt tutulumu

Deri tutulumu inflamatuvar (ödematöz), fibrotik (sklerotik) ve atrofik evreler ile seyreder. Öncelikle ciltte gode bırakmayan ödem, eritem ve kaşıntı ile başlar, bu ilk faza ödematöz faz adı verilir. Bu faz aylar-yıllarca sürebilen fibrotik bir evreyle devam eder. Dermiste aşırı kollajen birikimi ile cilt kalınlaşır. Esnekliğini kaybeder ve cilt ekleri kaybolur. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde atrofi ve kalıcı kontraktürler gelişir. Diffüz

kütanöz SSc'de cilt bulguları daha şiddetli ve daha hızlı seyreder. Ekstremitelerde, yüz ve gövde cildinde tutulum olabilir. Özellikle göğüs derisi tutulumu iç organ tutulumuna da işaret eder. Sınırlı kütanöz SSc'de ise cilt tutulumu daha yavaş seyreder, parmaklar, el ve yüz de sınırlı kalır. Hastalığın ileri dönemlerinde el parmaklarında fleksiyon kontraktürleri gelişir. Dudaklarda incelme ve büzülme ortaya çıkar. Yüzde maske yüzü görünümü ortaya çıkar. Cilt tutulumunun son aşamasında atrofi gelişmesi nedeniyle derideki sertlik ve kalınlaşma azalır. Hasta fonksiyonel olarak daha iyi duruma gelir (72).

Yüz ve ellerde telenjektaziler, ellerde ve el bileğinin ekstansör yüzlerinde, diz ve dirseklerde subkütanöz kalsinosis, parmak uçlarında noktasal ülserler diğer cilt bulgularındandır.

1.1.7.2. Raynaud Fenomeni

Sistemik sklerozun en erken bulgusudur. El ve ayak parmakları, kulak kepçesi ve burundaki damarlarda gelişen epizodik vazospastik ataklar sonucunda ortaya çıkmaktadır. Ciltte 3 fazlı renk değişimi görülür (73).

-Palor (solukluk): Vasospazma bağlı gelişir

-Siyanoz (morumsu renk): İskemiye bağlı gelişir

-Rubor (kızarıklık): Reperfüzyona bağlı gelişir. Tırnak dibi kapilleroskopik incelemelerinde genişlemiş, büklüntülü kapillerler, mikrohemorajiler ve kapiller kaybı görülür (74-76). RF'nin sonucu olarak hastaların %50'sinde kronik iskemiye bağlı parmak ülserleri gelişebilir.

1.1.7.3. Gastrointestinal sistem

Sistemik skleroz hastalarının özofagus, mide ve barsaklarından doku biyopsilerinde düz kas atrofisi ve fibrozis görülmektedir (77). Gastrointestinal sistemde gelişen fibrozis sonucunda dismotilite ortaya çıkar (78).

- Özofagial dismotilite %75-90

- Mide tutulumu %50

- İnce barsak tutulumu %40-70

- Kolon tutulumu %20-50

- Anorektal tutulum %50-70

Özofagus tutulumu sonucunda disfagi, reflü özofajit, regurjitasyon ve ses kısıklığı gelişir.

Mide ve ince barsak tutulumu; bulantı, kusma, şişkinlik, erken doyma, diyare, karın ağrısı, malabsorbsiyon ve kilo kaybına yol açar (79).

Kolon tutulumu sonucu intestinal psödoobstruksiyon ve kabızlık gelişebilir (80). Anorektal tutulum, rektal prolapsus ve anal inkontinans ile sonuçlanabilir.

1.1.7.4. Kalp tutulumu

Kalp tutulumu en sık perikardit şeklinde olup, belirgin semptomlara neden olmayabilir. Miyokard tutulumu efor dispnesi, çarpıntı ve göğüs ağrısına neden olabilir. Patoloji serilerinde, hastaların %81'inde yama tarzında myokardiyal fibrozis bulgusuna rastlandığı bildirilmektedir (77). Myokardiyal tutulumun hastaların yaşam beklentisinde önemli bir rol oynadığı ortaya konulmuştur (81). Ancak myokard ve ileti sisteminin tutulumu genellikle subklinik seyretmektedir. Myokardiyal RF'nin bir sonucu olarak kardiyak iskemi ve ileti sisteminin tutulumu nedeniyle taşiaritmiler ortaya çıkabilmektedir. Aritmiler çoğu zaman subklinik seyretmekle birlikte fatal de olabilmektedir (82).

1.1.7.5. Pulmoner hipertansiyon

Sistemik sklerozda görülen ciddi ve yaşamı tehdit eden bir komplikasyondur. Bazı hastalarda interstisyel akciğer hastalığı ile birlikte izlenmekte iken, bazı hastalarda önce pulmoner hipertansiyon gelişebilmektedir. PAH gelişiminde birçok faktör sorumlu tutulmakla birlikte, temel rol oynayan ajanın potent bir vazokonstriktör olan ET-1 olduğu düşünülmektedir (83). PAH, erken dönemde asemptomatik seyretmekte iken, ilerleyen safhalarda hastalarda egzersiz dispnesi, yorgunluk ve göğüs ağrısı gözlenebilmektedir (52).

1.1.7.6. Böbrek tutulumu

Hızlı başlayan malign hipertansiyon, mikroanjiopatik hemoliz, hiperreninemi ve progresif renal yetmezlik tablosu 'Skleroderma renal kriz sendromu' olarak isimlendirilmektedir (84, 85). Genellikle diffüz SSc hastalarında görülmekte ve cilt tutulumunun hızlı ilerlediği, hastalığın erken döneminde ortaya çıkmaktadır.

1.1.7.7. Akciğer tutulumu

Sistemik sklerozda ILD ya da PAH gibi akciğer tutulumları hastalığa bağlı mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir (85). Klinik olarak anlamlı ILD varlığına hastaların %50'sinden azında rastlanır. ILD ve/veya PAH en sık birlikte görülebilen klinik tablolardır (86). Bununla birlikte, yaygın deri tutulumlu ve anti-Sc1-70 pozitifliği olan hastalarda daha erken ve sık görülürler. Anti-sentromer antikor pozitifliği olan hastalarda ise ILD gelişme riski düşüktür (86). İleri evre ILD'de, yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT) ile her iki akciğerde geri dönüşümsüz fibrozu yansıtan 'bal peteği' görünümü saptanır. Akciğer semptomlarındaki kötüleşme, ILD'nin 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 (86). Ancak, diffüz tutulumlu SSc'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 muayenede ikinci kalp sesinin pulmoner komponentinde (P2) şiddetlenme ve bazen ikinci kalp sesinde çiftleşme olabilir. İleri evrelerde sağ kalp yetersizliği bulguları eşlik edebilir.

1.1.7.8. Genitoüriner Sistem Tutulumu

Sklerodermalı erkeklerde, erektil disfonksiyon prevalansı %12-60, seksüel fonksiyon bozukluğu ise %54 sıklığında bildirilmektedir (87). Sklerodermalı kadınlarda da seksüel disfonksiyon gelişebilir ve disparoni %50-60 sıklığındadır (88).

1.1.7.9. Baş-Boyun Tutulumu

Skleroderma hastalarında, gözyaşı ve tükürük bezi tutulumlarına bağlı olarak ağız kuruluğu ve göz kuruluğu sık gözlenir. Ayrıca, blefarit ve retinal hemorajiler saptanabilir. Ligament fibrozu nedeniyle ağız açıklığında azalma olabilir. Tükürük salgısında azalma sonucu yutma güçlüğü, oral kandidiyazise yatkınlık ve diş çürükleri gözlenebilir (89).

1.1.7.10. Sinir Sistemi Tutulumu

Sklerodermalı hastaların %40'ında nörolojik tutulum görülebilmektedir (90). Kranial ve periferik sinir tutulumları ve otonom nöropati bulunabilir. Santral sinir sistemi tutulumu, renal veya kardiyopulmoner tutulumlara ikincil olarak gelişmektedir. Nöropati, asemptomatik olabilir. Ancak, otonom sinir sistemi tutulumu yaşamı tehdit edebilir (91).

1.1.8. Tedavi

Günümüzdeki tedavi yaklaşımları sklerodermanın bazı bulgularını kontrol altına alıyor olsa da skleroderma için uluslararası düzeyde kabul edilmiş standart bir tedavi protokolu bulunmamaktadır (92). Sklerodermada tedavi teorik olarak erken inflamatuvar fazda daha fibrotik değişiklikler ortaya çıkmadan yapılmalıdır. Bununla birlikte mevcut tedaviler büyük oranda semptomatiktir. Hastalığın gelişmesini engelleyen veya geciktiren “hastalık modifiye edici” uzun etkili bir ilaç yoktur. Mevcut tedaviler yaşam kalitesini düzeltme ve mortaliteyi azaltmada yardımcıdır. Skleroderma tedavisi, tutulan organ sistemlerine ve klinik bulguların ağırlığına göre düzenlenmelidir. Bu nedenle, tedaviye başlamadan önce, iç organ tutulumları ve organ fonksiyon bozukluklarının bulunup bulunmadığı tespit edilmeli ve tedavi planlanırken hastaların organ-sistem tutulumları hedef alınmalıdır.

1.1.8.1. Cilt tutulumunda tedavi

Günümüzde, sklerodermadaki deri tutulumunun tedavisinde kullanılabilecek onaylanmış bir temel etkili ilaç bulunmamaktadır (93). Kortikosteroidlerin hastalık progresyonu üzerine etkileri kısıtlıdır ve skleroderma renal krizi provoke edebilirler (94, 95).

Sklerodermada azatioprin, klorambusil ve 5-florourasil gibi immünsüpresifler etkisiz bulunmuştur (96, 97). Uzun yıllardır kullanılmakta olan D-penisilaminin ise etkisi tartışmalıdır (98). Metotreksat ile yapılmış çalışmalarda (99, 100) kısmi bir etki rapor edilmiş ve bu bulgular doğrultusunda metotreksat EULAR'ın SSc tedavi önerilerinde yerini almıştır (92). Ancak, klinik pratikte metotreksat tedavisinin etkili olmadığı gözlenmektedir.

1.1.8.2. Periferik vasküler sistem tutulumunda tedavi

Vasküler sistem tutulumu tedavisindeki temel hedefler RF sıklığını azaltmak, iskemik ülser lezyonların iyileşmesini hızlandırmak ve progresif tıkaçıcı damar hasarının yavaşlatılmasıdır. RF tedavisinde, soğuktan korunmak çok önemlidir. RF olan hastalara el ve ayaklarını sıcak tutmaları, sıcak tutan giysiler giymeleri ve sigara kullanımından kaçınmaları önerilmelidir. RF olan hastalara, periferik vazokonstriksiyon yapan (beta blokerler vb.) veya semptomimetik etkili ilaçlar (dekonjestanlar vb.) verilmemelidir (101). RF tedavisinde dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokerleri (KKB), ACE inhibitörleri ve anjiotensin reseptör blokerleri gibi vazodilatatör ilaçların yararı kanıtlanmıştır. KKB, bu amaçla en sık kullanılan vazodilatatörlerdir. KKB'nden en sık kullanılanı nifedipindir. Nifedipin, iskemik atakların sıklığını ve şiddetini azaltabilmektedir. Ancak, palpasyon, flashing, baş ağrısı ve hipotansiyon gibi yan etkileri nedeniyle kullanımı sınırlıdır (93). Bu tedavi ajanları ile yakınmaların kontrol altına alınmadığı veya kontrendikasyonlar nedeniyle kullanılmadığı durumlarda α reseptör blokerleri, fosfodiesteraz tip 5 (PDE-5) inhibitörleri, fluoksetin gibi serotonin geri alım inhibitörleri, topikal nitrogliserin veya intravenöz (iv) prostasiklin analogları kullanılabilir (92, 93).

Yaşam tarzı değişiklikleri ve vazodilatatör ilaç kullanımına karşın yakınmaları devam eden hastalarda, sempatektomi uygulanabilmektedir.

Şiddetli RF olan hastalarda, dijital ülserler gelişebilmektedir. Deri ülserleri için en uygun tedavi yaklaşımı, vazodilatatör ilaçların kullanılmasıdır. Eğer, enfeksiyon kuşkusu varsa Staphylococcus aureus'a etkili olabilecek antibiyotiklerin tercih edilmesi gereklidir. Oral antibiyotikler kullanılacaksa en az 14 gün devam edilmelidir (102). Dijital ülserler geliştiğinde klasik tedavilere ek olarak, bir prostasiklin analogu olan iloprost (0,5– 2 ng/kg/dk) intravenöz uygulanabilir (92, 93).

1.1.8.3. Gastrointestinal sistem tutulumunda tedavi

Sklerodermada gastrointestinal sistem tutulumu genellikle kolay bir şekilde tedavi edilebilir. En sık görülen semptomlar olan gastroözofageal reflü ve özofageal dismotiliteden kaynaklanmaktadır. Buna yönelik tedaviler yaşam şekli değişiklikleri ile prokinetik ilaçlar, H2 blokerleri ve proton pompa inhibitörleridir. Yaşam şekli değişiklikleri olarak karyola baş kısmının yükseltilmesi ve uygun diyet yaklaşımları (sık

ve az yemek, yatmadan önce yemek yememek vb.) önerilir. Metoklopramid ve eritromisin gibi prokinetik ilaçlar, üst gastrointestinal sistem motilitesini artırmak için kullanılabilir. Özofageal darlıkları olan hastalarda, periyodik endoskopik dilatasyonlar yapılabilir (92). Sklerodermada alt GİS semptomları daha nadir görülmektedir. Eritromisin gibi promotilite ajanları alt GİS semptomlarında düzelme sağlamaktadır. Dirençli semptomları olan hastalarda, metoklopramid gibi prokinetik ilaçlara gereksinim duyulabilir. İnatçı ve sık görülen diyare, aşırı bakteriyel çoğalma nedeniyle olabilir ve metronidazol gibi antibiyotiklerle tedavi edilir (92).

1.1.8.4. Kalp tutulumunda Tedavi

Sklerodermada, kardiyak tutulum klinik olarak belirgin olmamasına karşın, yaygın miyokardiyal tutulum gözlenebilmektedir. Klinik olarak veya endomiyokardiyal biyopsi ile miyokardit saptanırsa, yüksek doz glukokortikoid tedavisi uygulanabilir (103). Semptomatik perikardit varlığında, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar veya düşük dozda kortikosteroidler kullanılabilir. Ciddi aritmiler ise antiaritmik ilaçlarla tedavi edilmelidir (103).

1.1.8.5. Akciğer tutulumunda tedavi

Sklerodermada akciğer tutulumunun tedavisi,ILD ve PAH tedavisi şeklinde iki ana gruba ayrılmaktadır (104).

Sklerodermalı tüm hastalar,ILD gelişimi açısından dikkatle izlenmelidir. Solunum foksion teslerinde restriktif bir patern gösteren veya YRBT’de interstisyel fibroz belirlenen hastalar, hastalığın ilerlediğine yönelik kanıtlar varsa immünsüpresif ilaçlarla tedavi edilmelidirler (92). Randomize kontrollü bir çalışmada, siklofosamid ILD tedavisinde etkin bulunmuş ve EULAR tarafından akut alveoliti olan ILD’li skleroderma hastalarının tedavisinde önerilmiştir (105). Ancak, siklofosamid lökopeni, infertilite, hemorajik sistit, alopesi ve enfeksiyonlara yatkınlık gibi kullanımını sınırlayan yan etkilere sahiptir. Ek olarak, mesane kanseri ve ikincil maligniteler ile ilişkilendirilmiştir (105).

Sklerodermaya ikincil PAH tedavisinde, öncelikle hastanın fonksiyonel durumunun belirlenmesi ve vazoreaktivite testi yapılması gerekmektedir. Vazoreaktivite testinde, kısa etkili bir vazodilatatör (inhale iloprost veya NO veya iv adenozin veya epoprostenol) uygulandığında, kardiyak debide değişim olmaksızın, ortalama pulmoner

arter basıncında ≥ 10 mmHg düşüş olursa test pozitif olarak yorumlanmaktadır (106). Vazoreaktivite testi pozitif olan hastaların oral KKB tedavisine duyarlı oldukları gösterilmiştir. Vazoreaktivite testi negatif olan ve 3-6 ay sonunda KKB tedavisine yanıt vermeyen hastalar, fonksiyonel durumlarına göre, uygun ajanlar ile tedavi edilmelidir (107). Bu durumda prostasiklin analogları, ET reseptör antagonistleri ve PDE-5 inhibitörleri PAH tedavisinde kullanılacak tedavi ajanlarıdır (106).

Prostasiklin analoglarından iloprost, epoprostenol ve treprostininin egzersiz kapasitesi, dispne skoru, kardiyopulmoner hemodinamiler ve yaşam süresine olumlu etkileri bildirilmiştir. Ancak, epoprostenol sürekli iv olarak uygulanmakta ve infüzyon paketinin devamlı soğutulması gerekmektedir (epoprostenolün ısıya duyarlı olması nedeniyle). Ek olarak, infüzyonun kesilmesi durumunda şiddetli ve ani pulmoner ödem gelişebilmektedir. Bunun dışında baş ağrısı, çene ağrısı, bulantı-kusma ve abdominal kramplar görülebilmektedir (106). Benzer yan etkiler gösteren diğer bir prostasiklin analogu olan treprostininil subkutan (sc) veya iv olarak uygulanabilmekte ve ısıya duyarlı olmaması nedeniyle soğutma işlemine gereksinim yoktur.

Bosentan, sitaksentan ve ambrisentan, güçlü bir vazokonstriktör ve düz kas mitojeni olan ET-1'in reseptör antagonistleridir (106). ET-1, etkilerini ETA ve ETB olarak bilinen iki reseptör üzerinden gerçekleştirmektedir. Bosentan, her iki ET-1 reseptörünün, sitaksentan ve ambrisentan ise spesifik olarak ETA reseptörünün antagonistleridir. Bosentan, hastalarda egzersiz kapasitesi, pulmoner vasküler direnç ve pulmoner arter basıncı üzerine olumlu etkiler göstermektedir. En sık gözlenen yan etkisi hepatotoksisitedir (106). ET-1 reseptör antagonistlerinin etkileri yavaş ortaya çıktığından, ileri evrede ve hemodinamik olarak stabil olmayan hastalarda ilk tercih olmamalıdır (106).

Nitrik oksit, vazodilatatör etkisini hücre içi siklik guanozin monofosfat (cGMP) üzerinden göstermektedir. Akciğer dokusunda da yoğun olarak bulunan PDE-5, cGMP'yi hızlı bir şekilde inaktive etmektedir. PDE-5 inhibitörü olan sildenafil, cGMP ve böylece NO üzerinden pulmoner vasküler yapılarda vazodilatatör etki göstermektedir. Sildenafil kullanımında en sık karşılaşılan yan etki baş ağrısıdır ve genellikle iyi tolere edilebilmektedir (106).

Pulmoner arteriyel hipertansiyona ikincil son dönem sağ kalp yetmezliği geliştiğinde ve kombine tedavilere karşın hastanın yakınmaları kontrol altına

alınmadığında atrioseptostomi, kalp-akciğer veya sadece akciğer transplantasyonu uygun seçeneklerdir (92).

1.1.8.6. Böbrek tutulumunda tedavi

Skleroderma renal krizi, malign hipertansiyon ve hızlı ilerleyen böbrek yetmezliği ile seyreden önemli ve öngöl bir komplikasyondur. SRC son derece ölümcül olup, 1 ve 5 yıllık sağ kalım oranları sırasıyla %15 ve %10 olarak bildirilmiştir. SRC, ACE inhibitörleri kullanılmadan önce, sklerodermadaki ölümlerin başta gelen nedeni olarak kabul edilirdi. ACE inhibitörlerinin tedaviye girmesiyle 1 ile 5 yıllık sağ kalım oranları sırasıyla %76 ve %60 olarak belirlenmiştir (94). Skleroderma renal krizi tedavisinde, ACE inhibitörler ilk seçilecek ilaçlardır. ACE inhibitörleri, hem mortaliteyi hem de kalıcı diyaliz gereksimini azaltmaktadır (94). Yüksek cilt skoru (modifiye Rodnan deri kalınlık skoru ≥ 20), eklem kontraktürleri varlığı ve kortikosteroid kullanımı renal kriz gelişimi açısından risk faktörleri olarak belirlenmiştir (108). Skleroderma renal kriz gelişime riski yüksek olan hastalarda, kan basıncı izlemleri haftada bir yapılmalı ve sistolik ve diyastolik kan basınçları düzenli şekilde kaydedilmelidir (92). Günümüzdeki etkili ve agresif tedavi yöntemlerine karşın, SRC'de sonuçlar yüz güldürücü değildir. SRC'li hastalarda ACE inhibitörlerinin kullanımına karşın, %35–40 sıklığında mortalite görülmekte veya kalıcı diyaliz gereksinimi olmaktadır (109).

1.1.8.7. Kalsinoz tedavisi

Kalsinoz; yumaşak doku kalsifikasyonu anlamına gelmekte olup sklerodermalı hastalarda %25 sıklıkta görülmektedir. Kalsinoz, özellikle dirsek, ön kol ve parmaklar gibi mikrotravmalara uğrayan bölgelerde oluşur. Kalsinoz bu bölgelerde deriyi hasarlayarak ülser lezyonlara, enfeksiyonlara, eklem kontraktürü ve kas atrofilerine neden olabilir (110). Değişik çalışmalarda, kalsinoz tedavisinde aspirin, warfarin, minosiklin, kolşisin, alüminyum hidroksit, bifosfonatlar, probenesid ve diltizemin etkinlikleri araştırılmıştır. Ayrıca, yüzeysel ve küçük kalsinozlarda karbondioksit lazer tedavisi, büyük kalsinozlarda ise cerrahi işlemler uygulanabilmektedir. Ancak, bu tedavi yaklaşımlarından hiçbiri kalsinozun önlenmesi ve tedavisinde standart tedavi olarak kabul edilmemektedir (110).

1.2. Oktreotid

Oktreotid, sentetik bir somatostatin analogudur. Oktapeptid yapısındadır. Doğal hormona göre etki süresi daha uzun ve potansiyel etkisi daha yüksektir (111, 112). Etki süresi 8 saate kadar uzar. Oktreotid; intravenöz ve subkutan olarak uygulanır. Karaciğerden atılır.

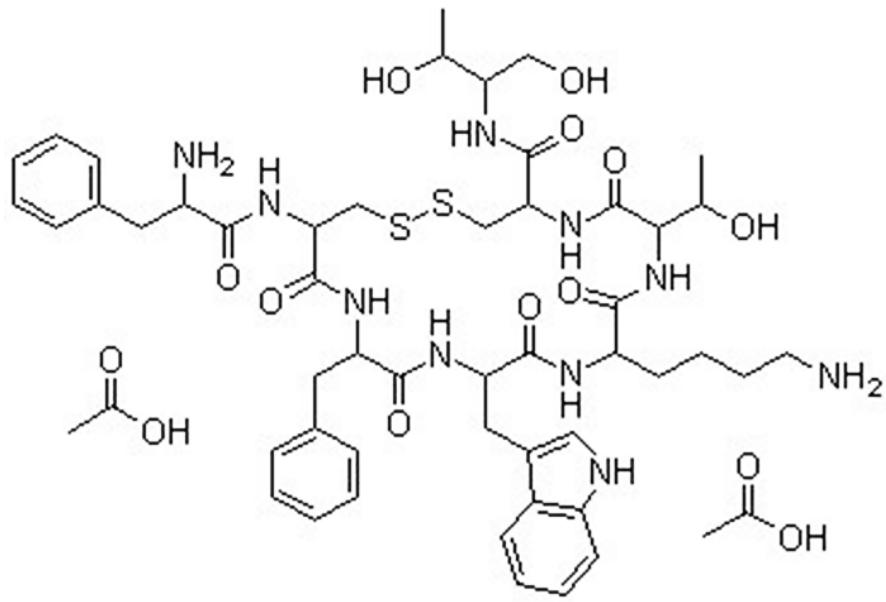
Endojen büyüme hormonu peptidlerini inhibe eder (113). Somatostatin ile oktreotidin büyüme hormonu salınımına eşit düzeyde etki ettiği tespit edilmiştir. Birçok büyüme faktörlerinin ve ara maddenin salınımında inhibe etmektedir (111).

Etkisini büyüme hormonunun hücresele düzeyde etkisine aracılık ettiği IGF-1'in (Somatomedin-C) inhibisyonu üzerinden gösterir. IGF-1 büyüme, gelişme, hücre farklılaşması ve metabolizmada rol almaktadır. IGF-1, IGF-2 ve insülin, IGF1 (IGF1R) ve insülin reseptörleri (IR) aracılığı ile etkilerini gösterirler. Reseptörlerin yapısal ve fonksiyonel benzerliklerinden dolayı birbirlerinin reseptörlerine de bağlanabilirler. Reseptör aktivasyonu sonucu tirozin ve serin kinazlar uyarılarak büyüme ve metabolizmayı kolaylaştıran olaylar dizisi gerçekleşir. Bu enzimler aracılığı ile hücresele DNA sentezi artmakta, bunu takiben hücre proliferasyonu ve maturasyonu artmaktadır.

Hormon, parakrin madde veya nörotransmitter gibi davranan oktreotid, beyin ve gastrointestinal sistemde de değişik fizyolojik fonksiyonlar üzerine etki ederek inhibitör etki gösterir (114). Oktreotid farmakolojik etkilerini çeşitli hormonları (GH, TSH, insulin, glukagon), ekzokrin salgıları (gastrik asit, pankreatik enzim) ve bunların barsaktan geri emilimini inhibe ederek gösterir (111).

Oktreotidin bu antagonist etkisinden yararlanılarak; başta GH sentezinin fazla olduğu akromegali hastalarında gerek aşırı büyümenin gerekse dokulardaki yaygın fibroblast göçü ile oluşan kontraktürlerin engellenmesi için, yoğun IGF reseptörü ihtiva etmeleri nedeniyle gastrointestinal nöroendokrin tümörlerde, gastrointestinal operasyonlar sonrası oluşan şiddetli bulantı, kusma ve diarede kullanılmaktadır.

Oktreotid, antiinflamatuvar etkisini IGF-1 üzerinden başta T lenfositler olmak üzere nötrofil ve diğer inflamatuvar hücrelerin proliferasyon ve maturasyonunu baskılayarak inflamasyon bölgesindeki sayılarını minimuma indirgeyerek gösterir (115, 116).



H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-ol

Şekil 1. Oktreotidin kimyasal formülü

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)'nde yapıldı. Çalışmanın etik onayı, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan alındı.

2.1. Deney Hayvanları

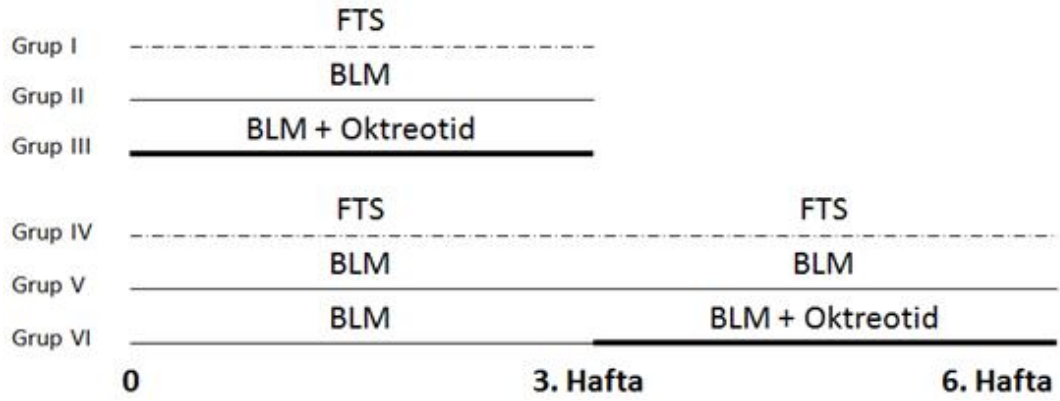
Çalışmaya ortalama 6 hafta yaşında ve 20-25 gram ağırlıklarında, 60 adet *Balb/c* dişi fare alınacak ve 6 eşit gruba ayrıldı (Şekil 2). Fareler, 12 saat güneş ışığı alan bir odada, özel olarak hazırlanmış kafeslerde barındırıldı. Çalışma, standart deneysel çalışmalar etik kurallarına uygun olarak yapıldı. Farelerin beslenmesinde, Elazığ Yem Fabrikası'ndan sağlanacak standart fare yemi kullanıldı ve kafeslerde özel bölümlere yerleştirilmiş olan ve uç kısımlarında damlalık bulunan özel şişeler ile su verildi. Tüm farelerin sırt bölgesinde belirlenmiş olan bir bölge, subkutan (sc) uygulamalar için tıraş edildi.

2.2. Çalışma grupları ve uygulamalar

Çalışmaya 60 adet *Balb/c* dişi fare alındı ve erken evre grupları (grup I [kontrol grubu], II [sham-1 grubu], III [profilaktik oktreotid grubu]) ve geç evre grupları (grup IV [kontrol grubu], V [sham-2 grubu], VI [teröpatik oktreotid grubu]) olarak 6 grup oluşturuldu.

Bleomisin uygulanmayacak olan kontrol grubu farelere (grup I ve IV), tıraş edilmiş bölgeden, her gün sc fosfat ile tamponlanmış salin (FTS) uygulandı. 1 mg BLM, 1 mL FTS içerisinde çözündürülerek II. ve III. gruptaki farelere 3 hafta, V. ve VI. gruptaki farelere 6 hafta boyunca 100 µL (100 µg) dozunda daha önce tanımlandığı şekilde her gün sc uygulandı (117).

Bleomisine ek olarak, III. gruptaki (profilaktik oktreotid) farelere çalışmanın ilk gününden başlayarak, VI. gruptaki (teröpatik oktreotid) ise 21. günden başlayarak, çalışma sonuna kadar her gün sc oktreotid (100 µg/kg dozunda) enjekte edildi (118).



Şekil 2. Çalışma grupları ve uygulanan tedaviler

FTS; fosfat ile tamponlanmış salin, BLM; bleomisin

2.3. Doku örneklerinin toplanması

İlk üç gruptaki fareler üç hafta, son üç gruptaki fareler ise altı haftanın sonunda, son tedavilerden 24 saat sonra, dekapitasyon ile kurban edildi. Farelerden kan örnekleri alındı ve enjeksiyon uygulanmış olan sırt derileri daha sonraki incelemeler için eksize edildi. Alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlar -20°C 'de çalışılacağı güne kadar saklandı. Doku örnekleri ise histopatolojik inceleme ve *real-time polymerase chain reaction* (RT-PCR) analizleri için ikiye bölündü. Bir bölüm doku %10'luk formalin solüsyonu içine, RT-PCR analizleri için ayrılan diğer kısım ise alüminyum folyo içerisine konularak -80°C 'de çalışılacağı güne kadar saklandı.

2.4. Histopatolojik ve immunohistokimyasal analizler

Formalin solüsyonu içerisine alınan doku örneklerinden, aynı gün içerisinde, parafin blokları hazırlandı. Bloklardan alınan kesitler *Hematoksilen-Eosin* ve *Masson-Trichrom* ile boyanarak, ışık mikroskopunda X40, X100, X200 ve X400 büyütmede, dalında uzman bir patolog tarafından incelendi, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibroz dereceleri belirlendi.

İmmunohistokimyasal değerlendirme, monoklonal anti- αSMA ticari kitinin deparafinize kesitlere uygulanması sonrası, αSMA aktivitesinin belirlenmesi ile yapıldı.

2.5. Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) analizler

Deri dokusu homejenatından, uygun RNA izolasyon kiti kullanılarak, total RNA izole edildi. TGF- β , IGFBP-3 ve IGFBP-5 mRNA düzeyleri RT-PCR yöntemi ile değerlendirildi.

Farelerden elde edilen deri dokularından RNA izolasyonu için Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA) kullanıldı. RNA ölçümleri için Qubit® RNA Assay Kit For Use With The Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen, Carlsbad, CA) ile yapıldı. RNA miktarı $\mu\text{g/ml}$ olarak ölçüldü. cDNA sentezi için RNA miktarlarının eşitlenmesi amacıyla okunan en düşük RNA değeri standart alındı. Komplementer DNA sentezi (cDNA) için her bir gruptaki örneklerden RNA havuzu hazırlandı. Komplementer DNA Sentezi High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kiti ile gerçekleştirildi (Applied Biosystems, Foster City, CA). Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA'lar sekans spesifik primerlerin varlığında ABI Prism 7500 Fast Real Time PCR cihazında (Applied Biosystems, Foster City, CA) Tag Man Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) kullanılarak amplifiye edildi. Isı koşulları 50°C'de 2 dakika, 95°C'de 10 dakika X 40 siklüs, 95°C'de 15 saniye ve 60°C'de 1 dakika olacak şekilde ayarlandı. Real Time PCR 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Çalışmada Glycerinaldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Gen ekspresyon düzeyleri karşılaştırmalı Ct (ΔCt) yöntemi ile belirlendi.

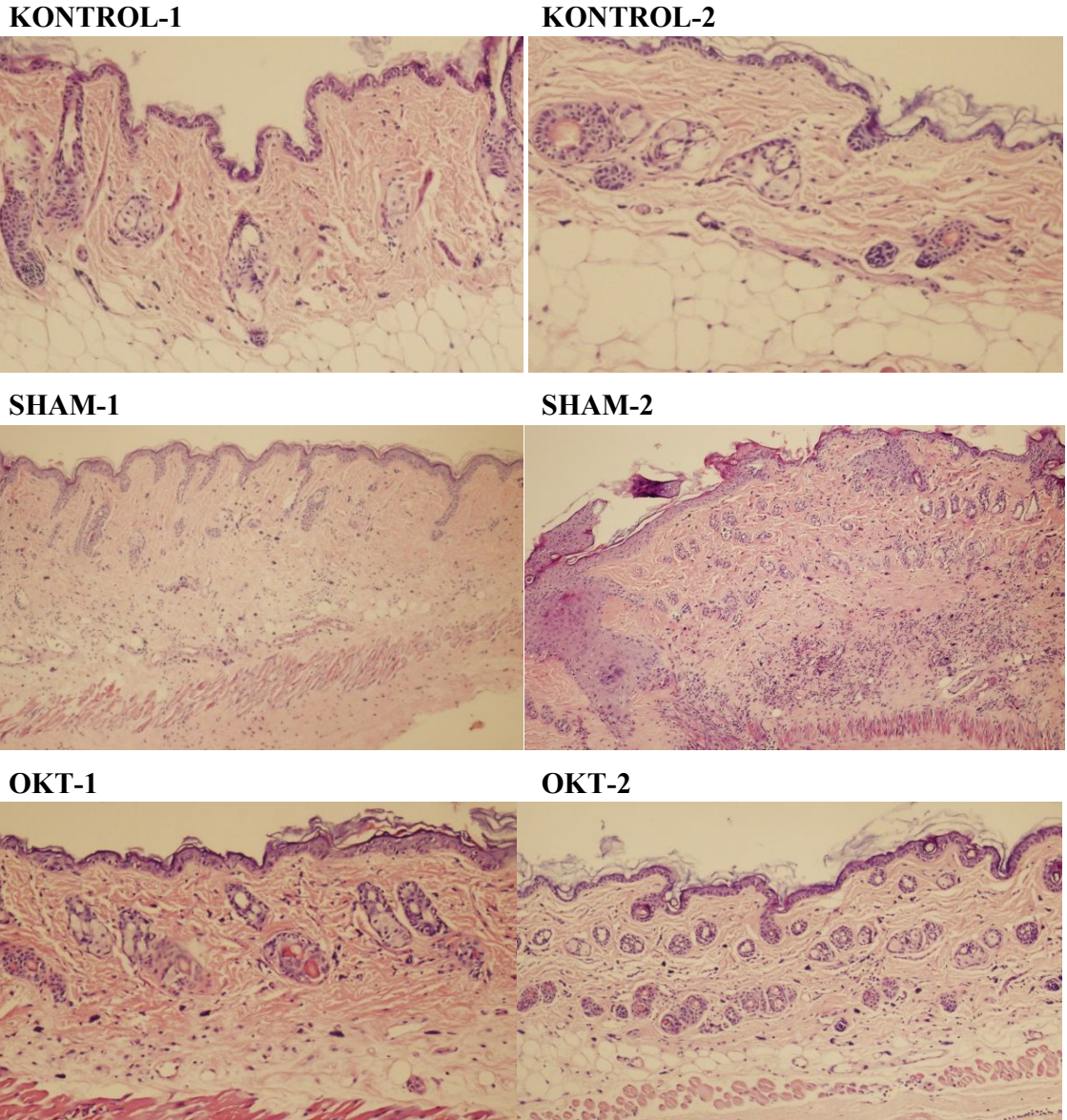
2.6. İstatistiksel Analizler

Çalışma tamamlandıktan sonra elde edilen verilerin istatistikler analizleri, SPSS istatistik programında yapıldı. Gruplar arasındaki olası farklılıkların anlamlılığı Kruskal Wallis ve post hoc Mann-Whitney U testleri ile değerlendirildi. P değerinin <0.05 olması istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. BLM ile Uyarılmış Dermal Fibroz

Üç ve altı hafta FTS enjeksiyonu yapılan I. ve IV. gruptaki (erken ve geç evre kontrol grupları) farelerin deri doku histopatolojik değerlendirilmesinde dermal fibrozun oluşmadığı görüldü (Şekil 3). Ancak, hem 3 hem de 6 hafta BLM uygulamaları dermal ve subkutan alanlarda inflamatuvar hücre infiltrasyonuna ve dermal fibroza neden olmuştur (Şekil 3).

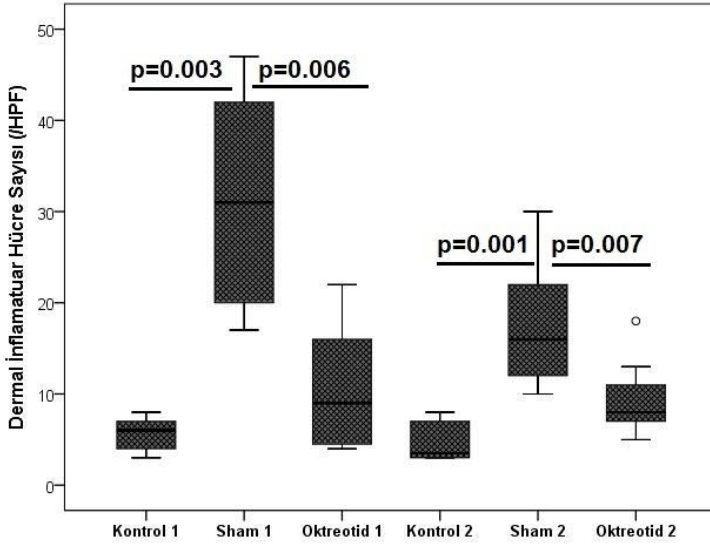


Şekil 3. Çalışma gruplarında histopatolojik bulgular (hematoksilen eozin, x200)

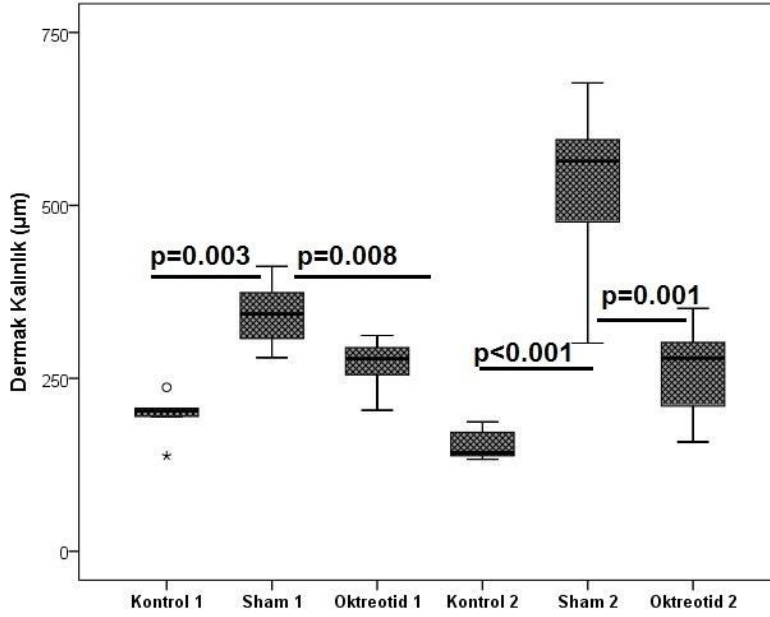
Sham; plasebo grubu, Okt: Oktretid.

Üç hafta süre ile subkutan BLM uygulanan erken plasebo (sham 1) grubunda dermal alandaki ortalama inflamatuvar hücre sayısı erken kontrol grubundakine göre anlamlı artmıştı (Şekil 4). Benzer şekilde, 3 hafta BLM uygulamaları ortalama dermal kalınlıkta artışa neden olmuştu (Şekil 5).

Altı hafta BLM uygulanan geç evre plasebo (sham 2) grubundaki inflamatuvar hücre sayısı geç evre kontrol grubuna göre yükseldi, ancak erken evre plasebo grubundakinden azdı (Şekil 4). Diğer taraftan, inflamatuvar hücre sayısındaki artıştan farklı olarak geç evre plasebo grubundaki dermal kalınlık artışı hem geç dönem kontrol grubundan hem de erken evre plasebo grubundakinden daha yükseldi (Şekil 5).



Şekil 4. Çalışma gruplarında ortalama dermal inflamatuvar hücre sayıları HPF; her büyük büyütme alanı, Sham; plasebo grubu.



Şekil 5. Çalışma gruplarında ortalama dermal kalınlıklar
Sham; plasebo grubu.

Tablo 2. Çalışma gruplarında dermal inflamatuvar hücre sayıları ve dermal kalınlıklar

	Kontrol-1	Sham-1	Oktreotid-1	Kontrol-2	Sham-2	Oktreotid-2
Dermalkalınlık (µm)	197.2±32.5	342.6±47.3	271.5±34.4	152.5±21.8	524.7±116.9	253.8±67.9
Dermal inflamatuvar hücre sayısı (/HPF)	5.7±1.9	31.3±12.7	10.6±6.9	4.7±2.3	17.4±6.8	9.3±4.2

Erken evre kontrol-1 grubunda ortalama dermal inflamatuvar hücre sayısı 5.7 ± 1.9 iken, sadece BLM alan sham-1 grubunda 31.3 ± 12.7 idi ve anlamlı olarak artmıştı ($p=0.003$). BLM ile eş zamanlı profilaktik amaçlı oktreotid alan grupta ise ortalama dermal inflamatuvar hücre sayısı 10.6 ± 6.9 idi ve Sham-1 grubuna göre anlamlı olarak azalmıştı ($p=0.006$).

Geç evre kontrol-2 grubunda ortalama dermal inflamatuvar hücre sayısı 4.7 ± 2.3 , geç evre BLM alan sham-2 grubunda 17.4 ± 6.8 idi ve anlamlı artış olduğu görüldü ($p=0.001$). BLM ile eş zamanlı terapötik amaçlı oktreotid alan grupta ise ortalama dermal inflamatuvar hücre sayısı 9.3 ± 4.2 idi ve sham-2 grubuna göre anlamlı oranda azalmış olduğu görüldü ($p=0.007$).

Erken evre kontrol-1 grubunda ortalama dermal kalınlık 197.2 ± 32.5 µm iken, sadece BLM alan sham-1 grubunda 342.6 ± 47.3 µm olarak saptandı ($p=0.003$). BLM

ile eş zamanlı profilaktik amaçlı oktreotid alan grupta ise dermal kalınlık 271.5 ± 34.4 μm idi ve sham-1 grubuna göre anlamlı azalmış olarak bulundu ($p=0.008$).

Geç evre kontrol-2 grubunda dermal kalınlık 152.5 ± 21.8 μm olarak ölçülmüş olup, geç evre sadece BLM alan sham-2 grubunda dermal kalınlık 524.7 ± 116.9 μm idi ve yine artmış olarak ölçüldü ($p<0.001$). Diğer taraftan, inflamatuvar hücre sayısındaki artıştan farklı olarak sham-2 grubundaki dermal kalınlık artışı hem geç dönem kontrol-2 grubundan hem de sham-1 grubundakinden daha yüksekti. BLM ile eş zamanlı terapötik amaçlı oktreotid alan grupta ise dermal kalınlık 253.8 ± 67.9 μm idi ve sham-2 grubuna göre anlamlı oranda azalmış olarak ölçüldü ($p=0.001$).

Sonuç olarak oktreotid hem profilaksi hem de tedavi grubunda histopatolojik olarak dermal inflamasyon ve fibrozu azaltmıştır.

Benzer şekilde, TGF- β 1, IGFBP-3 ve IGFBP-5 mRNA ekspresyonları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, BLM uygulamasıyla üç haftanın sonunda sırasıyla 133, 3.5 ve 29 kat; 6 haftanın sonunda sırasıyla 969, 44 ve 31 kat artmıştı. Diğer taraftan, oktreotid tedavi grubunda TGF- β 1, IGFBP-3 ve IGFBP-5 mRNA ekspresyonları kontrol grubuna göre 332, 1.03 ve 7.13 kat yüksekti ancak plasebo grubuna göre belirgin azalmıştı.

3.2. BLM ile Uyarılmış Dermal Fibrozun Oktreotid ile Tedavisi

Hem oktreotidin BLM uygulamaları ile birlikte başlandığı oktreotid-1 grubunda (profilaktik oktreotid grubu), hem de oktreotidin üçüncü haftadan sonra başlanıp 6. haftaya kadar uygulandığı oktreotid-2 grubunda (teröpatik oktreotid grubu) histopatolojik olarak dermal nekroinflamasyon, dermal alandaki inflamatuvar hücre sayısı ve dermal fibrozda gerileme tespit edilmişti (Şekil 3).

Bleomisin grupları ile karşılaştırıldığında dermal alandaki ortalama inflamatuvar hücre sayısı ve ortalama dermal kalınlıklar hem profilaktik hem de terapötik oktreotid gruplarında anlamlı olarak azalmıştı (Şekil 4 ve 5).

Benzer şekilde, oktreotidin hem profilaktik hem de terapötik uygulamalarında TGF- β 1, IGFBP-3 ve IGFBP-5 mRNA ekspresyonları belirgin azalmıştı.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, BLM ile uyarılmış olan dermal fibroz modelinde erken ve geç (yerleşmiş fibroz) evrelerdeki bulgular incelenmiş ve bir somatostatin analogu olan oktreotidin fibrozu önleyici ve tedavi edici rolü araştırılmıştır. Tekrarlanan subkutan BLM uygulamaları sonucunda hem erken hem de geç evrede dermal fibroz oluşmuştur. Oktreotidin hem profilaktik hem de teröpatik uygulamalarında histopatolojik olarak dermal nekroinflamasyon ve dermal fibrozda gerileme tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, BLM ile 3. ve 6. haftalar sonunda dermal inflamatuvar infiltrasyon ve fibroz görüldü. Skleroderma da inflamasyon ve fibrozis ile seyreden bir hastalıktır. Dolayısıyla BLM ile oluşturulmuş olan bu model skleroderma yerine kullanılabilen bir modeldir.

Çalışmamızda sklerodermaya özgü bulgularla birlikte IGFBP-3 ve 5'te artış olduğu görüldü. Bu nedenle IGF/IGFBP yolağı skleroderma patogenezinde rol alıyor olabilir. IGF-1 ciltte dermal fibroblastlar tarafından üretilen en önemli büyüme faktörüdür (119). IGF-1 fibroblast proliferasyonunu indükler ve prokollojen-1 mRNA seviyesini artırır (120). Bundan dolayı birçok fibrotik hastalığın fibrogeniz ve patogenezinde IGF-1'in üzerinde durulmaktadır (121). Morfea hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada IGF-1 seviyelerinin morfeanın deri lezyonlarında yüksek olduğu bulunmuştur ve bu artış IGF-1'in fibroblast stimülasyonunda ve artmış matriks protein üretiminde rolü olduğunu desteklemektedir (9). Lezyonda artmış olan IGF-1 seviyesinin morfea olgularında sklerotik süreci arttırdığı ve dermal kalınlıkta artışa neden olduğu sonucuna varılmıştır (9). Yapılan bir çalışmada IGF-1'in IPF'de fibroblast proliferasyonunu stimüle ettiği ve fibrotik akciğer hastalığının progresyonunda önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir (122). Yapılan başka bir çalışmada ise pulmoner fibrozlu SSc'li hastaların bronkoalveolar sıvısında artmış IGF-1 düzeyleri saptanmıştır (8).

Çalışmamızda TGF- β 1, IGFBP-3 ve IGFBP-5 mRNA ekspresyonları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, BLM uygulamasıyla 3 ve 6 haftanın sonunda artmıştı. Diğer taraftan, oktreotid tedavi grubunda TGF- β 1, IGFBP-3 ve IGFBP-5 mRNA ekspresyonları kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada SSc'li hastaların ciltlerinden yapılan fibroblast kültürlerinde IGFBP-3 ve IGFBP-5'in

artmış ekspresyonu tanımlanmıştır (10, 123). In vitro fibroblastlarda IGFBP-3 ve IGFBP-5 fibrotik fenotipi indüklemiştir ve in vivo olarak farelerde IGFBP-5 dermal fibrozu uyarmıştır (13, 123). İnsan eksplant kültüründe hem IGFBP-3 hem de IGFBP-5'in dermal kalınlığı ve kollojen demet kalınlığını arttırdığı gösterilmiştir (10). IPF'li hastaların bronkoalveolar lavaj sıvılarında artmış IGFBP-3 düzeyleri saptanmıştır (124). IPF hastalarının akciğer fibroblastlarından yapılan kültürde IGFBP-3 ve IGFBP-5 düzeyleri artmıştır (13). IGFBP'ler, TGF- β 1'e hem bağımlı hem de TGF- β 1'den bağımsız olarak fonksiyon görmektedirler dolayısıyla yeni anti-fibrotik tedavilerin gelişimi için hedef konumundadırlar (5).

Çalışmamızda BLM ile uyarılmış dermal fibroz modelinde fibrozla beraber IGFBP 3 ve 5'in mRNA ekspresyonları artmıştır. Bu artış fibrozun daha ileri-geç evrelerinde daha belirgindir. Sham grupları ile karşılaştırıldığında, TGF- β 1 mRNA ekspresyonu hem profilaktik hem de teröpatik oktreotid gruplarında azalmıştı. Ancak, IGFBP-3 ve IGFBP-5 mRNA ekspresyonları sadece teröpatik okterotid grubunda belirgin azalmıştı. Sonuç olarak; IGF-I'in dermal fibroza katkısının olduğu ve oktreotidin anti-fibrotik potansiyele sahip olduğu ifade edilebilir ve IGF-I'in skleroderma patogenezinde yeri olabilir.

Yaptığımız bu çalışmada sentetik bir somatostatin analogu olan oktreotidin hem profilaktik hem de teröpatik uygulamalarında histopatolojik olarak dermal nekroinflamasyon ve dermal fibrozda gerileme tespit edilmiştir. Buna benzer olarak da yapılan başka bir çalışmada oktreotid uygulamasının akciğer fibrozisinin progresyonunu yavaşlattığı gösterilmiştir (18). Pretibial miksödemi olan Graves hastalarında intralezyonel IGF-1 antagonisti (oktreotid) enjeksiyonunun iyi klinik yanıt ile uyumlu olduğu ve bunun pretibial miksödemdeki fibroblastların artmış IGF-1 reseptörü veya artmış IGF-1 afinitesini gösterdiği vurgulanmıştır (125). Başka bir çalışmada karsinoid sendromlu hastaların sklerodermatöz deri lezyonlarının IGF-1 antagonisti (oktreotid) ile tedavisiyle regrese olduğu görülmüştür (126). Bu çalışmalardan da görüldüğü üzere oktreotid sklerodermmanın da içinde olduğu çeşitli hastalıklarda anti-fibrotik etkilidir.

Fibrotik cevapta, artmış çeşitli büyüme faktörleri ile TGF- β 1 ve bağ dokusu büyüme faktörünü içeren sitokinler rol almaktadır. Bunun dışında çeşitli fibroproliferatif durumlarda değişmiş IGFBP ekspresyonları tanımlanmıştır (127).

Bu yüzden IGFBP'lerin ESM regülasyonundaki rolünü anlamak yeni anti fibrotik tedavilerin gelişimi açısından önem arz etmektedir (5). Yaptığımız çalışmamızla da somatostatin analogu olan oktreotidin IGF-I üzerinden IGFBP-3, IGFBP-5 ve TGF- β düzeylerini azaltarak skleroderma patogenezinde rol alabileceği kanısına varılmıştır.

Skleroderma patogenezi net olarak aydınlatılamamış ve kesin tedavisi olmayan kronik bir hastalıktır. Skleroderma ciddi oranda morbite ve mortaliteye neden olur. Sakatlıklar ile işgücü kaybına neden olarak ve komplikasyonların yarattığı bakım ve tedavi harcamaları ile milli ekonomiye zarar vermektedir. Skleroderma tedavisinde atılacak olumlu adımlar topluma ve devlet ekonomisine katkıda bulunacaktır. Bu nedenle patogeneizde rol alan sitokinleri hedef alan tedavi modaliteleri ile hem skleroderma hem de buna bağlı komplikasyonların önüne geçilebilir. Yaptığımız bu çalışma göstermiştir ki oktreotid anti-fibrotik etki ile skleroderma hastalarında yüz güldürücü sonuçlar doğurabilir. Ancak daha ileri deneysel ve klinik (insan) çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Varga J, Abraham D. Systemic sclerosis: a prototypic multisystem fibrotic disorder. *J Clin Invest* 2007; 117: 557–567.
2. Denton CP, Black CM, Abraham DJ. Mechanisms and consequences of fibrosis in systemic sclerosis. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006; 2: 134–144.
3. Krieg T, Abraham D, Lafyatis R. Fibrosis in connective tissue disease: the role of the myofibroblast and fibroblast-epithelial cell interactions. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: S4.
4. Postlethwaite AE, Shigemitsu H, Kanangat S. Cellular origins of fibroblasts: possible implications for organ fibrosis in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16: 733–738.
5. Veraldi KL, Feghali-Bostwick CA. Insulin-like growth factor binding proteins-3 and -5: central mediators of fibrosis and promising new therapeutic targets. *Open Rheumatol J* 2012; 6: 140-145.
6. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995; 16: 3-34.
7. Rothe MJ, Altman RD, Falanga V. Plasma somatomedin-C levels in systemic sclerosis. *Br J Dermatol* 1988; 119: 639-642.
8. Harrison NK, Cambrey AD, Myers AR, Southcott AM, Black CM, du Bois RM, et al. Insulin-like growth factor-I is partially responsible for fibroblast proliferation induced by bronchoalveolar lavage fluid from patients with systemic sclerosis. *Clin Sci (Lond)* 1994; 86: 141-148.
9. Fawzi MM, Tawfik SO, Eissa AM, El-Komy MH, Abdel-Halim MR, Shaker OG. Expression of insulin-like growth factor-I in lesional and non-lesional skin of patients with morphea. *Br J Dermatol* 2008; 159: 86-90.
10. Feghali CA, Wright TM. Identification of multiple, differentially expressed messenger RNAs in dermal fibroblasts from patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1451-1457.

11. Knauer AV, Medsger TA, Wright TM, Feghali CA. Insulin-like growth factor binding proteins contribute to the increased extracellular matrix production by fibroblasts from patients with systemic sclerosis (SSc). *Arthritis Rheum* 2001; 44: 378.
12. Krein PM, Winston BW. Roles for insulin-like growth factor I and transforming growth factor-beta in fibrotic lung disease. *Chest* 2002; 122: 289-293.
13. Pilewski JM, Liu L, Henry AC, Knauer AV, Feghali-Bostwick CA. Insulin-like growth factor binding proteins 3 and 5 are overexpressed in idiopathic pulmonary fibrosis and contribute to extracellular matrix deposition. *Am J Pathol* 2005; 166: 399-407.
14. Yasuoka H, Zhou Z, Pilewski JM, Oury TD, Choi AM, Feghali-Bostwick CA. Insulin-like growth factor-binding protein-5 induces pulmonary fibrosis and triggers mononuclear cellular infiltration. *Am J Pathol* 2006; 169: 1633-1642.
15. Lebtahi R, Moreau S, Marchand-Adam S, Debray MP, Brauner M, Soler P, et al. Increased uptake of ¹¹¹In- octreotide in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Nucl Med* 2006; 47: 1281-1287.
16. Borie R, Fabre A, Prost F, Marchal-Somme J, Lebtahi R, Marchand-Adam S, Aubier M, Soler P, Crestani B. Activation of somatostatin receptors attenuates pulmonary fibrosis. *Thorax* 2008; 63: 251-258.
17. Tug T, Kara H, Karaoglu A, Karatas F, Turgut NH, Ayan E, et al. The effect of octreotide, an analog of somatostatin, on bleomycin-induced interstitial pulmonary fibrosis in rats. *Drug Chem Toxicol* 2013; 36: 181-186.
18. Crestani B, Chapron J, Wallaert B, Bergot E, Delaval P, Israel-Biet D, et al. Octreotide treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: a proof-of-concept study. *Eur Respir J* 2012; 39: 772-775.
19. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15: 202-205.
20. Varga J. Systemic sclerosis: an update. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2008; 66: 198-202.

21. Abraham DJ, Varga J. Scleroderma from cell and molecular mechanisms to disease models. *Trends Immunol* 2005; 26: 587-595.
22. Scleroderma. EULAR online course. 2007-2009. Module 20: 1-30.
23. Maricq HR, Weinrich MC, Keil JE, Smith EA, Harper FE, Nussbaum AI, et al. Prevalence of scleroderma spectrum disorders in the general population of South Carolina. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 998-1006.
24. Mayes MD, Lacey JV Jr, Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B, Laing TJ, et al. Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2246-2255.
25. Chen K, See A, Shumack S. Epidemiology and pathogenesis of scleroderma. *Aus J Dermatol* 2003; 44: 1-9.
26. Reveille JD, Fischbach M, McNearney T, Friedman AW, Aguilar MB, Lisse J, et al. Systemic sclerosis in 3 US ethnic groups: a comparison of clinical, sociodemographic, serologic, and immunogenetic determinants. *Semin Arthritis Rheum* 2001; 30: 332-334.
27. Roberts-Thomson PJ, Jones M, Hakendorf P, Kencana Dharmapatni AA, Walker JG, MacFarlane JG, et al. Scleroderma in South Australia: epidemiological observations of possible pathogenic significance. *Intern Med J* 2001; 31: 220.
28. De Keyser F, Peene I, Joos R, Naeyaert JM, Messiaen L, Veys EM. Occurrence of scleroderma in monozygotic twins. *J Rheumatol* 2000; 27: 2267-2269.
29. Englert H, Small-McMahon J, Davis K, O'Connor H, Chambers P, Brooks P. Male systemic sclerosis and occupational silica exposure-a population-based study. *Aust N Z J Med* 2000; 30: 215-220.
30. Hausteiner UF, Andereg U. Silica induced scleroderma: Clinical and experimental aspects. *J Rheumatol* 1998; 25: 1917-1926.
31. Nietert PJ, Silver RM. Systemic sclerosis: environmental and occupational risk factors. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 520-526.

32. Veltman G, Lange CE, Jühe S, Stein G, Bachner U. Clinical manifestations and course of vinyl chloride disease. *Ann N Y Acad Sci* 1975; 246: 6-17.
33. Tabuenca JM. Toxic-allergic syndrome caused by ingestion of rapeseed oil denatured with aniline. *Lancet* 1981; 2: 567-568.
34. Fox RI, Kang HI. Genetic and environmental factors in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 1992; 4: 857-861.
35. 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.
36. Randone SB, Guiducci S, Cerinic MM. Systemic sclerosis and infections. *Autoimmun Rev* 2008; 8: 36-40.
37. Molina V, Shoenfeld Y. Infection, vaccines and other environmental triggers of autoimmunity. *Auto immunity* 2005; 38: 235-245.
38. Kalabay L, Fekete B, Czirják L, Horváth L, Daha MR, Veres A, et al. Helicobacter pylori infection in connective tissue disorders is associated with high levels of antibodies to mycobacterial hsp65 but not to human hsp60. *Helicobacter* 2002; 7: 250-256.
39. Black CM, Welsh KI. Genetics of scleroderma. *Clin Dermatol* 1994; 12: 337– 347.
40. Favalli E, Ingegnoli F, Zeni S, Fare M, Fantini F. HLA Typing in Systemic Sclerosis. *Reumatismo* 2001; 53: 210–214.
41. Feghali-Bostwick C, Medsger TA Jr, Wright TM. Analysis of systemic sclerosis in twins reveals low concordance for disease and high concordance for the presence of antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1956-1963.
42. Allanore Y, Wipff J, Kahan A, Boileau C. Genetic basis for systemic sclerosis. *Joint Bone Spine* 2007; 74: 577-583.
43. Jimenez SA, Artlett CM. Microchimerism and systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17: 86-90.

44. 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.
45. Mayes MD. Scleroderma epidemiology. *Rheum Dis Clin North Am* 1996; 22: 751-764.
46. Tamby MC, Chauseaud Y, Guillevin L, Mouthon L. New insights into the pathogenesis of systemic sclerosis. *Autoimmun Rev* 2003; 2: 152-157.
47. Schachna L, Wigley FM. Targeting mediators of vascular injury in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 686-693.
48. Hassoun PM, Thappa V, Landman MJ, Fanburg BL. Endotelin 1: mitogenic activity on pulmonary artery smooth muscle and release from hypoxic endothelial cell. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 199: 165-170.
49. Bonner JC. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 255-273.
50. Hettema ME, Bootsma H, Kallenberg CJM. Macrovascular disease and atherosclerosis in SSc. *Rheumatology* 2008; 47: 578-583.
51. Ramirez A, Varga J. Pulmonary Arterial Hypertension in Systemic Sclerosis: Clinical manifestations, pathophysiology, evaluation and management. *Treat Respir Med* 2004; 3: 339-352.
52. Rudnicka L, Majewski S, Blaszyk M, Skiendzielewska A, Makiela B, Skopinska M et al. Adhesion of peripheral blood mononuclear cells to vascular endothelium in patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1992; 35: 771-775.
53. Sakkas LI, Platsoucas CD. Is systemic sclerosis an antigen-driven T cell disease? *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1721-1733.
54. Postlethwaite AE, Holness MA, Katai H, Raghoebar R. Human fibroblasts synthesize elevated levels of extracellular matrix proteins in response to interleukin 4. *J Clin Invest* 1992; 90: 1479-1485.

55. Elovic AE, Ohyama H, Sauty A, McBride J, Tsuji T, Nagai M, et al. IL-4-dependent regulation of TGF-alpha and TGF-beta1 expression in human eosinophils. *J Immunol* 1998; 160: 6121–6127.
56. Ihn H. Pathogenesis of fibrosis role of TGF-beta and CTGF. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 681–685.
57. Waldmann TA. Anti-Tac (daclizumab, Zenapax) in the treatment of leukemia, autoimmune diseases, and in the prevention of allograft rejection: a 25-year personal odyssey. *J Clin Immunol* 2007; 27: 1–18.
58. Church AC. Clinical advances in therapies targeting the interleukin-2 receptor. *QJM* 2003; 96: 91–102.
59. Zuber JP, Spertini F. Immunological basis of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 23–25.
60. Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K. Altered blood B lymphocyte homeostasis in systemic sclerosis. Expanded naive B cells and diminished but activated memory B cells. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1918–1927.
61. Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, Tojo T, Homma M. Clinical and prognostic associations based on serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 75–83.
62. Satoh M, Kuwana M, Ogasawara T, Ajmani AK, Longdan JJ, Kimpel D, et al. Association of autoantibodies to topoisomerase I and the phosphorylated (IIO) form of RNA polymerase II in Japanese scleroderma patients. *J Immunol* 1994; 153: 5838–5848.
63. Sacks DG, Okano Y, Steen VD, Curtiss E, Shapiro LS, Medsger TA. Isolated pulmonary hypertension in systemic sclerosis with diffuse cutaneous involvement association with serum anti-U3RNP antibody. *J Rheumatol* 1996; 23: 639-642.
64. White B. Immunopathogenesis of systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North America* 1996; 22: 695-708.
65. Varga J, Rosenbloom J, Jimenez SA Transforming growth factor beta (TGF beta) causes a persistent increase in steady-state amounts of type I and type III collagen

and fibronectin mRNAs in normal human dermal fibroblasts *Biochem J.* 1987; 247: 597-604.

66. Postlethwaite AE. Role of T cells and cytokines in effecting fibrosis. *Int Rev Immunol* 1995; 12: 247-258.
67. Leask A, Holmes A, Abraham DJ. Connective tissue growth factor: a new and important player in the pathogenesis of fibrosis. *Curr Rheumatol Rep* 2002; 4: 136-142.
68. Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee: Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 581-590.
69. Van Den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis & Rheumatism* 2013; 65: 2737-2747.
70. Wigley FM: Scleroderma (systemic sclerosis) L. Goldman, D, Ausiello, S. Ünal Cecil Textbook of medicine Elsevier and Saunders 2011; 341-7: 2032-2041.
71. Peterson LS, Nelson M, Su WP. Classification of morphea (localized scleroderma). *Mayo Clin Proc* 1995; 70: 1068- 1076.
72. Bolster MB, Silver RM. Clinical features of systemic sclerosis. *Rheumatology*, Hocberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weibblatt ME, Weisman MH. *Rheumatology* (eds) Mosby, 2008: 1375-1380.
73. Kahaleh MB. Vascular involvement in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatology* 2004; 22: 19-23.
74. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2000; 27: 155-160.
75. Cutolo M, Grassi W, Matucci Cerinic M. Raynaud's phenomenon and the role of capillaroscopy *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3023-3030.

76. Fiori G, Amanzi L, Moggi Pignone A, Braschi F, Matucci-Cerinic M. The treatment of skin ulcers in patients with systemic sclerosis *Reumatismo* 2004; 56: 225-234.
77. D'Angelo WA, Fries JF, Masi AT. Pathologic observations in systemic sclerosis: A study of fifty-eight autopsy cases and fifty-eight matched controls. *Am J Med* 1969; 46: 428-440.
78. Robert W. Sjogren M.D. Review: Gastrointestinal disorders in scleroderma. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 1265-1282.
79. Leite LP, Johnston BT, Barrett J, Castell JA, Castell DO. Ineffective esophageal motility (IEM): the primary finding in patients with nonspecific esophageal motility disorder. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 1859-1865.
80. Greydanus Mp, Camilleri M. Abnormal postcibal antral and small bowel motility due to neuropathy or myopathy in systemic sclerosis. *Gastroenterology* 1989; 96: 110-115.
81. Medsger TA, Masi AT, Rodnan GP. Survival with systemic sclerosis: A life-table analysis of clinical and demographic factors in 309 patients. *Ann Intern Med* 1971; 75: 369-376.
82. Kostis JB, Seibold JR, Turkevich D. Prognostic importance of cardiac arrhythmias in systemic sclerosis. *Am J Med* 1988; 84: 1007-1015.
83. Vancheeswaran R, Magoulas T, Efrat G, Wheeler-Jones C, Olsen I, Penny R, et al. Circulating endothelin-1 levels in systemic sclerosis subsets--a marker of fibrosis or vascular dysfunction? *J Rheumatol* 1994; 21: 1838-1844.
84. Cannon PJ, Hassar M, Cararella WJ. The relationship of hypertension and renal failure in scleroderma to structural and functional abnormalities of the renal cortical circulation. *Medicine* 1974; 53: 1- 46.
85. Steen VD, Medsger TA, Osial TA. Factors predicting development of renal involvement in progressive systemic sclerosis. *Am J Med* 1984; 76: 779-786.
86. 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.

87. Hong P, Pope JE, Ouimed JM, Rullan E, Seibol JR. Erectile dysfunction associated with scleroderma a case-control study of men with scleroderma and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2004; 31: 508-513.
88. Bhadauria S, Moser DK, Clements PJ, Singh RR, Lachenbruch PA, Piktin RM, et al. Genital tract abnormalities and female sexual function impairment in systemic sclerosis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 580-587.
89. Chung L, Lin J, Furst DE, Fiorentino D. Systemic and localized scleroderma. *Clin Dermatol* 2006; 24: 374-392.
90. Averbuch-Heller L, Steiner I, Abramsky O. Neurologic manifestations of progressive systemic sclerosis. *Arch Neurol* 1992; 49: 1292-1295.
91. Herrick A. Nervous system involvement in systemic sclerosis. Lippincott Williams and Wilkins 2004: 309-317.
92. Kowal-Bielecka O, Landewé R, Avouac J, Chwiesko S, Miniati I, Czirjak L, et al. EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR). *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 620-628.
93. Czirjak L. Practical approach to the therapy of systemic sclerosis. *Z Rheumatol* 2004; 63: 451-456.
94. Steen VD. Scleroderma renal crisis. *Rheum Dis Clin North Am* 1996; 22: 861-878.
95. Pham PT, Pham PC, Danovitch GM, Gritsch HA, Singer J, Wallace WD, et al. Predictors and risk factors for recurrent scleroderma renal crisis in the kidney allograft: case report and review of the literature. *Am J Transplant* 2005; 5: 2565-2569.
96. Casas JA, Saway PA, Villarreal I, Nolte C, Menajovsky BL, Escudero EE, et al. 5-fluorouracil in the treatment of scleroderma: a randomised, double blind, placebo controlled international collaborative study. *Ann Rheum Dis* 1990; 49: 926-928.
97. Furst DE, Clements PJ, Hillis S, Lachenbruch PA, Miller BL, Sterz MG, Paulus HE. Immunosuppression with chlorambucil, versus placebo, for scleroderma. Results of a

three-year, parallel, randomized, double-blind study. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 584-593.

98. Clements PJ, Furst DE, Wong WK, Mayes M, White B, Wigley F, et al. High-dose versus low- dose D-penicillamine in early diffuse systemic sclerosis: analysis of a two-year, double-blind, randomized, controlled clinical trial. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1194-1203.
99. Van den Hoogen FH, Boerbooms AM, Swaak AJ, Rasker JJ, van Lier HJ, van de Putte LB. Comparison of methotrexate with placebo in the treatment of systemic sclerosis: a 24 week randomized double-blind trial, followed by a 24 week observational trial. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 364-372.
100. Pope JE, Bellamy N, Seibold JR, Baron M, Ellman M, Carette S, et al. A randomized, controlled trial of methotrexate versus placebo in early diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1351- 1358.
101. Wigley FM. Clinical practice. Raynaud's phenomenon. *N Engl J Med* 2002; 26; 3: 1001–1008.
102. Clements P, Medsger TA, Feghali CA. Cutaneous involvement in systemic sclerosis. Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 129-150.
103. Wigley F, Hummers L. Management: holistic approach to systemic sclerosis. Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 371–384.
104. Van Laar JM, Stolk J, Tyndall A. Scleroderma Lung: pathogenesis, evaluation and current therapy. *Drugs* 2007; 67: 985–996.
105. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Goldin J, Rott MD, Furst DE, et al. Cyclophamide versus placebo in scleroderma lung disease. *N Engl J Med* 2006; 354: 2655–2666.
106. Lee SH, Rubin LJ. Current treatment strategies for pulmonary arterial hypertension. *J Intern Med* 2005; 258: 199-215.
107. Galiè N, Seeger W, Naeije R, Simonneau G, Rubin LJ. Comparative analysis of clinical trials and evidence-based treatment algorithm in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 81-88.

108. DeMarco PJ, Weisman MH, Seibold JR, Furst DE, Wong WK, Hurwitz EL, et al. Predictors and outcomes of scleroderma renal crisis: the high-dose versus low-dose D-penicillamine in early diffuse systemic sclerosis trial. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2983-2989.
109. Medsger TA. Systemic sclerosis and Raynaud syndrome. Lippincott Williams and Wilkins 2003: 171–181.
110. Boulman N, Slobodin G, Rozenbaum M, Rosner I. Calcinosis in rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 34: 805–812.
111. Marbach P, Briner U, Lemaire M, Schweitzer A, Terasaki T. From somatostatin to sandostatin: pharmacodynamics and pharmacokinetics. *Metabolism* 1992; 41: 7- 10.
112. Prelevic GM. Klinicka primena oktreotida (sandostatin) u endokrinologiji. *Med Pregl* 1993; 46: 343-348.
113. Stewart PM, Kane KF, Stewart SE, Lancranjan I, Sheppard MC. Depot long- acting somatostatin analog (sandostatin-LAR) is an effective treatment for acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 11: 3267-3272.
114. Gyr KE, Meier R. Pharmacodynamics effect of sandostatin in the gastrointestinal tract. *Metabolism* 1992; 41: 9; 17-21.
115. Lai HS, Chen Y. Effect of oktreotid on postoperative intraperitoneal adhesions in rats. *Scand J Gast* 1996; 31: 678-681.
116. Lai HS, Chen Y, Chang KJ, Chen WJ. Effect of oktreotid on epidermal growth factor receptor, tPA and PAI during intraperitoneal adhesion formation. *J Gast* 2003; 38: 555-560.
117. Yamamoto T. Animal model of sclerotic skin induced by bleomycin: a clue to the pathogenesis of and therapy for scleroderma. *Clin Immunol* 2002; 102: 209-216.
118. Jia WD, Xu GL, Wang W, Wang ZH, Li JS, Ma JL, et al. A somatostatin analogue, octreotide, inhibits the occurrence of second primary tumors and lung metastasis after resection of hepatocellular carcinoma in mice. *Tohoku J Exp Med* 2009; 218: 155-160.

119. Barreca A, De Luca M, Del Monte P. In vitro paracrine regulation of human keratinocyte growth by fibroblast-derived insulinlike growth factors. *J Cell Physiol* 1992; 151: 262–268.
120. Thiebaud D, Ng KW, Findlay DM. Insulin-like growth factor I regulates mRNA levels of osteonectin and pro-alpha-I (i)-collagen in clonal proosteoblastic calvarial cells. *J Bone Miner Res* 1990; 5: 761–767.
121. Tsai CH, Yang SF, Chen YJ. The upregulation of insulin-like growth factor-I in oral submucous fibrosis. *Oral Oncol* 2005; 41: 940–946.
122. Krein PM, Winston BW. Roles for insulin-like growth factor I and transforming growth factor-b in fibrotic lung disease. *Chest* 2002; 122: 289–293.
123. Yasuoka H, Larregina AT, Yamaguchi Y, Feghali BCA. Humanskin culture as an ex vivo model for assessing the fibrotic effects of insulin-like growth factor binding proteins. *Open Rheumatol J* 2008; 2: 17-22.
124. Aston C, Jagirdar J, Lee TC, Hur T, Hintz RL, Rom WN. Enhanced insulin-like growth factor molecules in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1597-1603.
125. Shinohara M, Hamasaki Y, Katayama I. Refractory pretibial myxoedema with response to intralesional insulin-like growth factor I antagonist (octreotide): down regulation of hyaluronic acid production by the lesional fibroblasts. *Br J Dermatol* 2000; 143: 1083–1086.
126. Pavlovic M, Saiag P, Lotz JP. Regression of sclerodermatous skin lesions in a patient with carcinoid syndrome treated by octreotide. *Arch Dermatol* 1995; 131: 1207–1208.
127. Leask A, Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB J* 2004; 18: 816-827.

6. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılı, Gaziantep ili Nizip ilçesi doğumluyum. İlk ve orta öğrenimlerimi İzmir'de, liseyi Turgutlu Halil Kale Fen Lisesi'nde tamamladım. 2010 yılında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden (İngilizce) mezun oldum. Yaklaşık 10 ay Gaziantep ilinde pratisyen hekim olarak görev yaptım. Eylül 2011'de Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Halen bu görevime devam etmekteyim. Yabancı dilim İngilizcedir. Evliyim.