

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

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

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Murat SARIKAYA**

**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

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimin oluşumu ve tamamlanmasına yardımcı olan Romatoloji B.D öğretim üyeleri Prof. Dr. Ahmet IŞIK, Doç. Dr. Süleyman Serdar KOCA, Uz. Dr. Metin ÖZGEN'e ve uzmanlık eğitimime katkıda bulunan İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emir DÖNDER'e ve diğer bilim dalları öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Bu tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) koordinasyon birimi tarafından 1785 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

Skleroderma deri ve iç organların yaygın fibrozu ile karakterize, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Ghrelin, başlıca mide (enteroendokrin hücreler) olmak üzere birçok doku ve inflamatuvar hücrelerden sentezlenen polipeptid yapıda bir hormondur. Deneysel çalışmalarda, metabolik fonksiyonlarına ek olarak, anti-inflamatuvar ve anti-oksidan etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı, bleomisin ile uyarılan deneysel skleroderma modelinde ghrelin uygulanmasının olası koruyucu etkinliğinin araştırılmasıdır.

Bu çalışmaya 5 grup (her grupta n=7) Balb/c fare alındı. Grup I farelere, subkutan 100 µL/gün fosfat ile tamponlanmış salin (FTS); grup II, III, IV ve V'teki farelere ise subkutan 100 µg/gün bleomisin (1mg bleomisin 1mL FTS içerisinde çözündürülerek) uygulandı. Grup III, IV, V'teki farelere bleomisine ek olarak, sırasıyla açile (aktif), des-açile (inaktif) ve total ghrelin 10 ng/kg/gün dozunda intraperitoneal olarak uygulandı.

Tüm gruptaki fareler 4. hafta sonunda sakrifiye edilerek, kan ve doku örnekleri alındı. TGF-β1 serum düzeyleri, dermal kalınlık, dermal inflamatuvar hücre sayısı ve α düz kas aktin pozitif (α-SMA+) hücre sayıları belirlendi.

Tekrarlanan bleomisin uygulamalarının dermis inflamatuvar hücre infiltrasyonu, miyofibroblastik hücre aktivitesi ve dermal kalınlıkta artış yaptığı saptandı. Bleomisin ve ghrelin uygulamaları birlikte başlanıldığında ise inflamatuvar hücre infiltrasyonu, miyofibroblastik hücre aktivitesi ve dermal fibroz gelişimi gözlenmedi.

Sonuç olarak, bleomisin ile uyarılan deneysel skleroderma modelinde ghrelin anti-inflamatuvar etkileri ile fibroz gelişimini önlemektedir.

Anahtar Kelimeler: Skleroderma, Bleomisin, Ghrelin

ABSTRACT

EFFECTIVENESS OF GHRELIN TREATMENT IN BLEOMYCIN-INDUCED EXPERIMENTAL SCLERODERMA

Scleroderma is a chronic inflammatory disease characterized by widespread fibrosis of the skin and internal organs. Ghrelin is a polypeptide hormone that is produced by various tissues and inflammatory cells mainly from stomach (enteroendocrine cells). In experimental studies, ghrelin has been shown to have anti-inflammatory and antioxidant effects in addition to its metabolic functions.

The aim of this study was to evaluate the possible preventive effects of ghrelin on bleomycin-induced experimental scleroderma model.

This study involved five groups Balb/c mice (n=7 in each group). Group I mice only received subcutaneously 100 μ l/day phosphate-buffered saline (PBS), whereas group II, III, IV and V mice were subcutaneously administered 100 μ g/day bleomycin (1 mg bleomycin dissolved in 1 mL PBS). In addition to bleomycin, group III, IV, V mice were received intraperitoneally acylated, non-acylated and total ghrelin, respectively at the doses of 10 ng/kg/day.

Animals were sacrificed, at the end of fourth week, and blood and tissue samples were then obtained for further analysis. TGF- β 1 serum levels, dermal thicknesses, the numbers of inflammatory cells on the dermal layer and α -smooth muscle actin-positive (α -SMA+) cells were determined.

Bleomycin administrations increased dermal thicknesses, the numbers of inflammatory cells on the dermal layer and activity of myofibroblastic cells. When acylated, non-acylated and total ghrelin were administered together with bleomycin, skin fibrosis, infiltration of inflammatory cells and activity of myofibroblastic cells had not been observed.

In conclusion, in bleomycin-induced experimental scleroderma model, ghrelin prevents skin fibrosis by its anti-inflammatory effects.

Key Words: Scleroderma, Bleomycin, Ghrelin

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Skleroderma	2
1.1.1. Tanım	2
1.1.2. Epidemioloji	2
1.1.3. Etiyoloji	3
1.1.4. Genetik Faktörler	3
1.1.5. Fiziopatoloji	3
1.1.6. Skleroderma Tanı/Sınıflama Kriterleri	5
1.1.7. Sistemik Skleroz Alt Grupları	6
1.1.7.1. Sınırlı Cilt Tutulumlu Sistemik Skleroz (lcSSc)	6
1.1.7.2. Yaygın Cilt Tutulumlu Sistemik Skleroz (dcSSc)	6
1.1.7.3. Skleroderma Sine Skleroderma	6
1.1.8. Organ Sistemlerinin Tutulumu	6
1.1.8.1. Cilt Tutulumu	6
1.1.8.2. Raynaud Fenomeni	7
1.1.8.3. Kas İskelet Sistemi Tutulumu	8
1.1.8.4. Gastrointestinal Sistem Tutulumu	8
1.1.8.5. Akciğer Tutulumu	9
1.1.8.6. Böbrek Tutulumu	10
1.1.8.7. Kalp Tutulumu	10
1.1.8.8. Genitoüriner Sistem Tutulumu	11
1.1.8.9. Baş-Boyun Tutulumu	11
1.1.8.10. Sinir Sistemi Tutulumu	11

1.1.9. Tanı	11
1.1.10. Ayırıcı Tanı	12
1.1.11. Tedavi	13
1.1.11.1. Organ Sistem Komplikasyonlarının Tedavisi	13
1.1.11.1.1. Gastrointestinal Sistem	13
1.1.11.1.2. Akciğer	13
1.1.11.1.3. Kalp	13
1.1.11.1.4. Böbrek	13
1.1.11.1.5. Raynaud Fenomeni	14
1.1.11.1.6. Deri Ülserleri	14
1.1.11.1.7. Kalsinoz	14
1.1.11.1.8. Kas İskelet Sistemi	14
1.1.11.2. İlaç Tedavisi	14
1.1.11.2.1. Otoimmünite ve İnflamasyonun Önlenmesi	14
1.1.11.2.1.1. Siklofosfamid	14
1.1.11.2.1.2. Metotreksat	15
1.1.11.2.1.3. Klorambusil	15
1.1.11.2.1.4. 5-Florourasil	15
1.1.11.2.1.5. Kök Hücre Transplantasyonu	15
1.1.11.2.2. Fibroz Oluşumunu Engelleyen Ajanlar	15
1.1.11.2.2.1. İnterferon- γ	15
1.1.11.2.2.2. İnterferon- α	16
1.1.11.2.2.3. D-Penisilamin	16
1.1.11.2.2.4. Relaksin	16
1.1.11.2.3. Vasküler Hasarın Önlenmesi	16
1.1.11.2.3.1. Prostatiklin Analogları	16
1.1.11.2.3.2. Bosentan	16
1.1.11.2.3.3. Sildenafil	17
1.1.11.2.3.4. ACE İnhibitörleri	17
1.2. Ghrelin	17
1.2.1. Ghrelin Yapısı	17

1.2.2. Ghrelin Reseptörü	18
1.2.3. Ghrelinin Doku Dağılımı	18
1.2.4. Ghrelinin Fizyolojik Fonksiyonları	18
1.2.4.1. Büyüme Hormonu Üzerine Etkisi	18
1.2.4.2. Gıda Alımı Üzerine Etkisi	19
1.2.4.3. Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkisi	19
1.2.4.4. Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkisi	19
1.2.4.5. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi	19
1.2.5. İmmün Sistemde Ghrelinin Anti-inflamatuar Etkileri	20
1.2.5.1. İnflamasyonda Ghrelin	20
1.2.5.2. Proinflammatuar Reaktiflere Karşı Ghrelin ve GHS-R Yanıtı	20
1.2.5.3. Ghrelinin Sitokin Üretimi Üzerine Etkileri	20
2. GEREÇ VE YÖNTEM	22
2.1. Deney Hayvanları	22
2.2. Deneysel Uygulamalar	22
2.3. Bleomisin ve Ghrelin Uygulamaları	22
2.4. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması	23
2.5. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Analizler	23
2.6. Serum Sitokin Analizleri	23
2.7. İstatistiksel Analizler	23
3. BULGULAR	24
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	27
5. KAYNAKLAR	30
6. ÖZGEÇMİŞ	43

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Deneysel çalışma grupları ve gruplara uygulanan tedaviler	22
Tablo 2. Deneysel çalışma gruplarında serum sitokin düzeyleri ve histopatolojik bulgular	24

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Deneysel çalışma gruplarında dermal kalınlıklar	25
Şekil 2. Deneysel çalışma gruplarında dermal inflamatuvar hücre sayıları	25
Şekil 3. Deneysel çalışma gruplarında α -SMA+ hücre sayıları	26

KISALTMALAR LİSTESİ

ACE	: Anjiotensin konverting enzim
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
AIF	: Allograft inflamatuvar faktör
ANA	: Antinükleer antikor
Anti-Scl-70	: Anti-topoizomeraz I
CMV	: Sitomegalovirüs
CTGF	: Kollajen doku büyüme faktörü
dcSSc	: Yaygın cilt tutulumlu sistemik skleroz
DLCO	: Akciğer karbonmonoksit difüzyon kapasitesi
FVC	: Zorlu vital kapasite
GHRH	: Büyüme hormonu salgılatıcı hormon
GHS-R	: Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (Ghrelin reseptörü)
GVHD	: Graft-versus-host hastalığı
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HLA	: İnsan lökosit antijeni
HRCT	: Yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi
ICAM	: İnterselüler adezyon molekülü
IFN-γ	: İnterferon gama
IL	: İnterlökin
lcSSc	: Sınırlı cilt tutulumlu sistemik skleroz
LPS	: Lipopolisakkarit
MCP	: Monosit kemoatraktan protein
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
NF-κB	: Nükleer faktör kappaB
PAH	: Pulmoner arteriyel hipertansiyon
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
RA	: Romatoid artrit
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
SLE	: Sistemik lupus eritematoz

SMA	: Düz kas aktin
TGF-β	: Transforming growth factor beta
TIMP	: Metalloproteinaz doku inhibitörü
TNF	: Tümör nekroz faktör
VCAM	: Vasküler hücre adezyon molekülü
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

1. GİRİŞ

Skleroderma (Sistemik skleroz, SSc), deri ve iç organların yaygın fibrozu ile karakterize, kronik inflamatuvar bir hastalıktır (1-3). Hastalığın patogenezi net olarak bilinmemekte, ancak vaskülopati ve immün aktivasyon patogenezi önemli roller almaktadır (1-3). Doğal ve edinsel immün sistemlerin skleroderma patogenezi anahtar rol oynadıkları belirtilmektedir (4). Periferik lökosit profillerindeki değişikliklere ek olarak, aktive T lenfositler ve makrofajlar erken deri lezyonları ve akciğerde birikmektedir (5). Ayrıca, skleroderma hastalarında interlökin (IL)-2, IL-4, IL-6 gibi sitokinlerin serum düzeylerinin yükseldiği ve hastalık sürecine katkı yapıyor olabilecekleri vurgulanmaktadır (6).

Ghreltin, Kojima ve ark. (7) tarafından tanımlanmış olup, başlıca mide (entero-endokrin hücreler) olmak üzere diğer birçok doku ve inflamatuvar hücrelerden sentezlenen polipeptid yapıda bir hormondur. Büyüme hormonu salınımını, iştahı ve lipogenezi indüklemeye özellikleri vardır (8). Diğer taraftan, anti-inflamatuvar özellikleri de kanıtlanmıştır (9-13). Dixit ve ark. (9) ghreltinin IL-1, IL-6 ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin sentezini baskıladığını göstermişlerdir. Ayrıca, deneysel pankreatit (10), kolit (11), akut akciğer hasarı (12) ve artrit (13) modellerinde ghreltin uygulanmasının inflamasyonu baskıladığı belirlenmiştir.

Bleomisin, değişik kanserlerin tedavisinde sıkça kullanılan anti-tümör bir antibiyotiktir (14). Deneysel çalışmalar, bleomisin uygulanması ile oluşturulan dermal skleroz/fibrozun, uygun deneysel skleroderma modeli olduğunu göstermiştir. *Balb/c* farelere 4 hafta süre ile hergün bleomisin uygulanmasının, skleroderma histopatolojisi ve laboratuvar bulgularını oluşturduğu bildirilmiştir (15).

Sklerodermanın nadir görülen bir hastalık olması ve hastaların klinik olarak heterojenlik göstermesi (2) nedeniyle, ideal bir klinik çalışma planlanması ve yapılması oldukça zor olmaktadır. Klinik çalışmaların yerini tam olarak alamayacağı bilinmesine karşın, deneysel hayvan modelleri, değişik insan hastalıklarının patogenezi anlaşılmaması ve yeni tedavi protokollerinin belirlenmesinde klinisyenlere önemli ipuçları sunabilmektedir.

Günümüzde, skleroderma patogenezinine ilişkin tartışmalar sürmektedir ve etkin bir tedavi protokolu bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, bleomisin ile uyarılmış deneysel skleroderma modelinde ghrelin uygulanmasının olası koruyucu etkinliklerinin belirlenmesidir.

1.1. Skleroderma

1.1.1. Tanım

Skleroderma, deri ve iç organların progresif fibrozu ile karakterize kronik otoimmün inflamatuvar bir hastalıktır. Sklerodermadaki fibroz gelişiminden, inflamatuvar hücrelerden salınan büyüme faktörleri ve sitokinler sorumlu tutulmaktadır (16). Sitokinler, immün yanıtı düzenlemekte ve olasılıkla fibroblast fonksiyonlarını etkilemektedirler. Etkilenen dokularda gösterilen inflamatuvar hücre infiltrasyonu, büyük ölçüde kemokinler ve hücre adezyon molekülleri tarafından düzenlenmektedir (17).

Sklerodermada vasküler hasar, otoimmünite, inflamasyon ve fibroz hastalığın en belirgin özellikleridir (4).

1.1.2. Epidemioloji

Sistemik skleroz, Amerika Birleşik Devletleri'nde 4000 erişkinden birini etkilemektedir. Kadınlarda görülme sıklığı daha fazladır. Afrika kökenli Amerikalılarda, Kafkaslardan daha sık görülmektedir. Bağ dokusu hastalıkları arasında en yüksek ölüm oranı olan sklerodermadır. Yapılan çalışmalarda, son 10 yılda hastaların yaşam süresinde artış gözlenmiştir (18).

Sklerodermada, yaşam süresi iç organ tutulumu ile ilişkilendirilmektedir. Gövde derisi tutulumu, karbonmonoksit difüzyon kapasitesinde (DLCO) azalma, artmış eritrosit sedimentasyon hızı ve topoizomeras I'e karşı oluşan antikor (anti-Scl-70) varlığı mortalite artışının temel belirleyicileridir. Sklerodermanın deri fibrozu yapan diğer durumlardan ayrımı yapılmalıdır. Lokalize skleroderma, sklerödem, skleromiksödem, eozinofilik fasit, porfira, progeria ve amiloidoz deri tutulumları ayırıcı tanıda önemlidir. Klinik bulgular ve deri biyopsisi, tanının doğrulanmasına katkı yapabilmektedir (18).

1.1.3. Etiyoloji

Skleroderma ile silika, vinil klorid ve organik çözücüler arasında bağlantı kurulmasına karşın hastalığın etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. Bazı skleroderma hastalarında sitomegalovirüs (CMV) antikörlerinin artmış olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, CMV'nin kemirgenlerde vasküler lezyonlara neden olduğu bildirilmektedir. Ancak, skleroderma hastalarının doku örneklerinde CMV viral mesajcı ribonükleik asit (mRNA)'i gösterilememiştir (18).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile sklerodermalı kadınların % 72'sinde ve sağlıklı bireylerin % 22'sinde maternal orjinli mikrokimerik hücreler saptanabilmektedir. Bu mikrokimerik hücreler, infiltre deride ve etkilenen diğer dokularda görülebilmektedir. Skleroderma ile allojenik kök hücre transplantasyonunu izleyen graft-versus-host hastalığı (GVHD) arasında klinik olarak benzerlikler bulunmaktadır ve bu durum sklerodermada mikrokimerizmin rol oynuyor olabileceğini düşündürmektedir (18).

1.1.4. Genetik Faktörler

Sklerodermada genetik faktörlerin araştırılmasına devam edilmektedir. Anne, baba veya kardeşlerinde skleroderma tanısı olan bireylerinin % 1.6'sında skleroderma gelişebilmektedir. İkizler arasında görülme oranının düşük olması (monozigot ve heterozigotların her ikisi için de % 4.6) genetik katkının güçlü olmadığını göstermektedir (18).

Sklerodermada *transforming growth factor β* (TGF- β), monosit kemoatraktan protein 1 (MCP-1), IL-1 α , TNF, allograft inflamatuvar faktör 1 (AIF 1) ve anjiotensin konverting enzim (ACE) genlerindeki bazı polimorfik alleller, hastalığa yatkınlık ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca, farklı etnik gruplarda hastalık ile ilişkili farklı insan lökosit antijeni (HLA) allelleri ve otoantikör yanıtı bildirilmektedir (18).

1.1.5. Fiziopatoloji

Günümüzde, sklerodermada en erken oluşan fiziopatolojik olayın vasküler hasar olduğu kabul edilmektedir. Vasküler hasar olasılıkla virüsler, otoantikörler, granzim veya serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stres nedeniyle oluşmaktadır. Apoptoz ve endotelial hücre aktivasyonu T hücrelerin, B hücrelerin ve makrofajların aktivasyonuna ve sonucunda inflamasyona neden olmaktadır (18).

Transforming growth factor β ve kollajen doku büyüme faktörü (CTGF)'nin sklerodermada oluşan fibroz patogenezindeki yeri günümüzde daha iyi anlaşılmıştır. TGF- β , hücre büyümesi ve farklılaşmasını stimüle etmektedir. TGF- β , kollajen ve matriks proteinlerinin sentezini artırır, kollajen yıkımını sağlayan metalloproteinazların sentezini azaltır ve fibroblast aktivitesinin sürdürülmesine katkıda bulunur. Ayrıca, TGF- β fibroblastlar, vasküler düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerde CTGF sentezini de uyarmaktadır. Fibroz için önemli bir diğer büyüme faktörü CTGF'dür. CTGF anjiogenez, apoptoz, ekstraselüler matriks oluşumu ve bağ dokusunun yapısal organizasyonunda, olayı başlatan mekanizma olabilir (19). TGF- β ile ilişkili yolağın dışında fosfatidilkolin, fosfolipaz C, C-delta kinaz ve p38 kinaz aktivitesi de anormal fibroz gelişiminde rol oynuyor olabilir (20).

Sklerodermadaki vasküler lezyonlarda, en erken oluşan değişikliklerin vasküler disfonksiyon ve endotelial hasar olabileceği düşünülmektedir (21). Güncel kanıtlara göre, aktive lenfositlerden salınan TGF- β gibi büyüme faktörleri endotel hasarı ve interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ekspresyonu ve CTGF artışına ve böylece ekstraselüler matriks ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) artışına neden olmaktadır. PDGF artışı, endotelial hücre proliferasyonuna ve yeni damar oluşumunu sağlayan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) düzeyinde azalmaya yol açmaktadır (22).

İmmünolojik uyarı, iskemik reperfüzyon hasarı veya diğer yollarla oluşan endotelial hasar, prostasiklin salınımında azalmaya ve endotelin-1 üretiminde artışa neden olur (21).

Endotelin, PDGF ile birlikte düz kas hücrelerinin fenotipinde değişikliğe neden olur. Miyofibroblastların neden olduğu intimal proliferasyon, damar lümeninde daralmaya yol açar. Hastalık sürecinde inflamasyon yatıştıktan sonra, deri kalınlaşması, interstisyel akciğer fibrozu, gastrointestinal sistem ve böbreklerde fibroz gelişimi ağırlık kazanmaktadır. Sklerodermada TGF- β etkisiyle, tip 1 kollajen daha ağırlıklı olmak üzere, tip 1 ve tip 3 kollajende artış bulunmaktadır (23).

Son çalışmalar, vasküler anormallikler ve fibroz gelişiminde immün sistem aktivasyonunun anahtar rol oynadığını göstermiştir. T hücreleri aktive olup deriyi infiltre edince, profibrotik bir sitokin olan IL-4'ü üretirler (24).

Sklerodermalı hastaların derisinde bulunan mononükleer hücreler, CD8⁺ T hücrelerinden sayıca daha fazla olan, CD4⁺ T (T helper) hücreleri ve makrofajlardır. Doğal öldürücü hücreler ise az sayıda bulunmaktadır (24). Sklerodermada, Th₂ tip (IL-4, IL-10, IL-13 ve IL-17) sitokinlerde artış gözlenmektedir (25). Sklerodermadaki major fibrojenik sitokinler, IL-4 ve TGF-β'dir. IL-4, skleroderma hastalarında, fibroblastlardan kollajen sentezini artırır ve TGF-β sentezini indükler. TGF-β çeşitli kollajenlerin, proteoglikanların ve fibronektinin sentezini uyarır. Ayrıca, metaloproteinazların sentezini azaltır, metaloproteinaz doku inhibitörlerinin (TIMP) sentezini ise artırır ve böylece ekstraselüler matris yıkımını inhibe eder.

İnterlökin-17, hem Th₁ hem de Th₂ hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Skleroderma hastalarının cilt biyopsilerinde ve periferik kanlarında IL-17 artışı belirlenmiştir. IL-17, fibroblast proliferasyonunu artırır ve makrofajlardan IL-1 ve TNF-α sentezini düzenler. Ayrıca, endotelial hücrelerden IL-1, IL-6, ICAM-1 ve vasküler selüler adezyon molekülü (VCAM) sentezini artırır (26). Sklerodermada, hastaların dokularında ve serumlarında IL-1, IL-6 ve CTGF düzeyleri artmaktadır (24).

Sklerodermada, B hücreleri de aktive olmaktadır. Hipergamaglobulinemi, otoantikörlerin varlığı ve periferik kanda B hücre iletim sistemi molekülü CD19'un aşırı ekspresyonu, B hücre aktivasyonunu göstermektedir (27).

Deneysel fibroz modellerinde, CD19 ekspresyonunda azalma fibrozda azalma ile sonuçlanmaktadır. Bu durum, B hücrelerinin fibroz oluşumuna katkıda bulunuyor olabileceğini göstermektedir. Aktive B hücreleri, hem IL-6 ve IL-10 üretirler hem de kollajen sentezinde artışa yol açan Th₂ aracılıklı immün yanıtı neden olabilir. IL-6, skleroderma hastalarında, direkt olarak fibroz nedeni olabilir (24).

1.1.6. Skleroderma Tanı/Sınıflama Kriterleri

1980 yılında, Amerikan Romatizma Birliği (ACR) tarafından skleroderma sınıflama kriterleri geliştirilmiştir (28).

I majör kriter:

Proksimal skleroderma: Parmaklarda ve metakarpofalangeal veya metatarsofalangeal eklemlerin proksimalindeki deride simetrik kalınlaşma, sertleşme ve endurasyon bulunması

II minör kriterler:

- 1- Sklerodaktili: Deri sertliğinin parmaklarla sınırlı olması
- 2- Parmaklarda skar ya da pulpa atrofisi: İskemiye bağlı olarak parmak ucu yumuşak dokunun kaybolması
- 3- Baziler pulmoner fibrozis: Akciğer bazallerinde bilateral retiküler paternde nodüler dansite artışı

Bir majör ya da iki veya daha fazla minör kriter varlığında hasta skleroderma olarak kabul edilmektedir.

1.1.7. Sistemik Skleroz Alt Grupları

1.1.7.1. Sınırlı Cilt Tutulumlu Sistemik Skleroz (lcSSc)

lcSSc'de Raynaud fenomeni cilt tutulumundan yıllarca önce ortaya çıkar. Cilt tutulumu eller, yüz ve ayaklarla sınırlıdır. CREST (kalsinoz, Raynaud fenomeni, özefageal dismotilite, sklerodaktili, telenjektazi) sendromu ve pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) görülebilir. Genellikle anti-sentromer antikor pozitif, anti-Scl-70 antikoru negatiftir (2).

1.1.7.2. Yaygın Cilt Tutulumlu Sistemik Skleroz (dcSSc)

dcSSc'de eller, yüz ve ayaklara ek olarak gövde derisi tutulumu da vardır. Çoğunlukla, Raynaud fenomeni bulunmaktadır. Yaygın cilt tutulumunda tendonlarda krepitasyon, pulmoner fibroz, PAH, difüz gastrointestinal tutulum, oligürük renal kriz, kalp yetmezliği, kardiyak aritmi görülebilir. Genellikle anti-Scl-70 antikoru pozitif bulunurken, anti-sentromer antikor negatiftir (2).

1.1.7.3. Skleroderma Sine Skleroderma

Deri tutulumu olmaksızın, iç organ tutulumu ile karakterize skleroderma tipidir (2).

1.1.8. Organ Sistemlerinin Tutulumu

1.1.8.1. Cilt Tutulumu

Skleroderma cilt tutulumunda sırasıyla ödematöz, endurasyon ve atrofik fazlar birbirlerini izler. Hastalar başlangıçta, özellikle sabahları ortaya çıkan parmaklardaki gerginlik ve şişlikten yakınır (ödematöz faz). Çoğu olguda şişlik devamlı bir hal alır. Ödem genellikle ağrısız ve gode bırakmamasına karşın, gode bırakan ödem de görülebilir. Bu fazın süresi değişkendir. Çoğu zaman, ödem daha

sonra deri sertliği ile yer değiştirmektedir. Deri sertliği dcSSc'de birkaç ay içinde, lcSSc'de ise birkaç yılda ortaya çıkabilir. Deri sertliğine ek olarak, etkilenen deri zamanla parlaklık kazanmaya, gerginleşmeye ve cilt altı dokusuna sıkıca yapışmaya başlar. Endurasyon fazında dermiste önemli derecede kalınlaşma, epidermiste ise incelme gözlenir. Dermiste kollajen birikimi, deride kıvrım (pili) oluşmasının kaybına ve kıl foliküllerinin, ter bezlerinin, yağ bezlerinin kaybına neden olur. Sonuçta, saç kaybı ve terlemede azalma başlar. Eritem gözlenebilir, ancak sıklıkla hiperpigmentasyon veya hipopigmentasyon alanları bulunmaktadır. Yüzdeki değişiklikler karakteristiktir. 'Sıkılmış burun' görünümü vardır. lcSSc'de telenjektaziler daha belirgindir. Yıllar sonra deri sertliği yumuşamaya başlar veya normal kalınlığına geri döner ya da normal deriden daha ince bir hal alır (atrofik faz) (29).

Skleroderma hastalarında deri ülserinin etiyolojisi multifaktöryeldir. Parmak ülserleri sıklıkla iskemi nedeniyle oluşur. Kemik çıkıntıları ve proksimal interfalangeal eklemler düzeyindeki ve dirseklerdeki ülserler olasılıkla kontraktür, gerginlik, cilt inceliği ve travma sonucu gelişir.

dcSSc veya lcSSc'li hastalarda, ilerleyen yıllarda, sıklıkla değişik büyüklükte subkutan ve/veya intrakutan kalsinoz (kalsiyum depozitleri) oluşur. Bu depozitler en çok parmak yastıkçıklarında ve periartiküler dokularda gözlenir. Ayrıca olekranon bursası, önkolun ekstensör yüzeyi, patella üzeri ve kalçalar gibi tekrarlayan basınç travması olan bölgelerde de bulunabilir (29).

1.1.8.2. Raynaud Fenomeni

Raynaud fenomeni, emosyonel stres veya soğukla karşılaşılmaya yanıt olarak oluşan paroksizmal vazospazm olarak tanımlanır. Sklerodermalı hastaların % 95'inden fazlasında görülür. Raynaud fenomeni eller, ayaklar, burun, kulaklar ve dili etkileyebilen birbirini izleyen 3 fazlı bir olaydır. İlk faz, solukluk ile karakterizedir. Bu fazı siyanoz izler, daha sonra ise kan akımının yeniden sağlanması ile ağrılı eritem fazı görülür. Bu 3 faz sırasıyla vazokonstrüksiyon, iskemi ve reperfüzyon nedeniyle oluşmaktadır. Parmak uçlarında sıklıkla küçük iskemik nekroz alanları gelişmektedir (29).

Raynaud fenomeni, LeRoy ve Medsger (30) tarafından önerilen klasifikasyona göre primer ve sekonder tip olarak sınıflandırılabilir.

Primer Raynaud fenomeninde, hastalarda klinik semptomlar ve sistemik hastalık belirtileri bulunmaksızın yalnızca akral renk değişiklikleri vardır. Bu grupta sedimantasyon hızı normal, otoantikörler negatif ve kapilleroskopik bulgular normaldir. Periferik nabızlar normaldir, parmaklarda ülser ve skar gözlenmez.

Sekonder Raynaud fenomeninde, akral renk değişiklikleri ile birlikte klinik semptomlar ve sistemik hastalık bulguları bulunmaktadır. Bu grupta tırnak kapilleroskopisi anormal, otoantikörler pozitif ve parmak ülserleri vardır.

1.1.8.3. Kas İskelet Sistemi Tutulumu

Hastalarda güçsüzlük ve artralji gibi yakınmalar gözlenebilir. dcSSC'da, sıklıkla simetrik poliartralji, sinovit ile birlikte veya sinovit bulunmaksızın eklemlerde sertlik, miyalji ve deride şişlik gözlenebilir. Eklem ağrısı ve kontraktürler, tendon ve periartiküler bölgelerdeki dokuların fibrozundan kaynaklanır. Bazı hastalarda, fibrinöz tenosinovit nedeniyle oluşan, periartiküler tendon sürtünme sesi duyulabilir. Şiddetli artrit ve destrüktif eklem hastalığı belirlenmesi durumunda, romatoid artrit (RA) ile çakışma sendromundan kuşulanılmalıdır. İç organ tutulumu bulunmayan hastalarda tendon sürtünme sesi belirlenmesi, ciddi hastalığa işaret ediyor olabilir (29).

Kas tutulumunun iki ana paterni vardır. Birincisi, hafif derecede artmış kreatin fosfokinaz düzeyi ve proksimal güçsüzlük ile karakterize, ılımlı nonprogresif miyopatinin görüldüğü skleroderma miyopatisi, ikinci tutulum paterni ise skleroderma ile polimiyozit arasında çakışmanın görüldüğü sklerodermatomiyozittir. Nadir görülen sklerodermatomiyozitte güçsüzlük sık olup kreatin fosfokinaz düzeyi önemli derecede artmıştır. Sklerodermatomiyozitte, inflamatuvar miyopati için tipik olan elektromiyografi ve kas biyopsi anormallikleri gözlenir (31).

1.1.8.4. Gastrointestinal Sistem Tutulumu

Sklerodermada, gastrointestinal sistem deriden sonra en sık etkilenen bölgedir. Tüm hastaların % 75-90'ında gastrointestinal sistem tutulumu olduğu varsayılmaktadır (32). Gastrointestinal sistem tutulumunun karakteristik özelliği, düz kas fibrozudur (33). Hastaların yaklaşık % 80'inde özefageal disfonksiyon

gelişmektedir. Hastalarda alt özefagus sfinkter basıncında azalma, özefageal klirenste bozulma ve gastrik boşalmada gecikme olması nedeniyle gastroözefageal reflü hastalığı gelişir (29).

Sklerodermanın gastrik tutulum belirtileri, gastrik vasküler değişikliklerin neden olduğu gastrik antral vasküler ektazi, gastroparezi, telenjektazi ve 'karpuz mide' olarak sıralanabilir. Bazı hastalarda, postprandiyal abdominal distansiyon ve kramp tarzında abdominal ağrı saptanabilir (32). Ayrıca, üst gastrointestinal sistem kanaması da olabilir.

Hastalığın ince barsak tutulumunda 2 klinik tablo ile karşılaşılır. Birincisi, aşırı bakteri çoğalması nedeniyle gelişen diyare ve malabsorbsiyon, ikincisi ise mekanik ileus semptomlarını taklit eden fonksiyonel ileustur (psödoobstrüksiyon). Kolonik ve anorektal tutulumda ise şiddetli konstipasyon gözlenir. Kolonik tutulumda, ek olarak megakolon ve divertikül gelişebilir. Anorektal kapasite, motilite ve komplians azalması ile sfinkter basıncında azalma, rektal prolapsus ve fekal inkontinansa neden olabilir (32).

1.1.8.5. Akciğer Tutulumu

Sklerodermada, akciğer tutulum belirtileri hastaların % 70'inden fazlasında belirlenebilmektedir. Son 15 yılda, sklerodermaki en sık ölüm nedeninin akciğer tutulumu olduğu belirtilmektedir. Sklerodermanın yaygın bir komplikasyonu olan akciğer fibrozu, bazı hastalarda restriktif değişikliklere neden olabilir. Akciğer grafilerinde interstisyel kalınlaşma, lineer ve nodüler dansiteler kolayca görülebilir. Yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi (HRCT), interstisyel akciğer hastalığı varlığını belirlemede daha duyarlıdır. HRCT'deki buzlu cam görünümü akut alveolit, bal peteği görünümü ise fibroz oluşması ile ilişkilidir. Alveolitin akut veya kronikliği, bronkoalveoler lavaj veya açık akciğer biyopsisi ile de ortaya konabilir. Akciğer grafisi ve HRCT'ye ek olarak, solunum fonksiyon testleri akciğer fibrozunun değerlendirilmesi açısından yararlı olmaktadır (29).

Fizik bakıda akciğerlerde bibaziler raller duyulabilir. İnterstisyel akciğer hastalığı olan hastalarda, 2-10 yıl içinde yavaş seyirli progresif solunum yetmezliği gelişmektedir. Bu durum, özellikle, anti-Scl-70 antikoru pozitif olan hastalarda gözlenmektedir (29).

Pulmoner arteriyel hipertansiyon, hastaların % 30'unda görülmektedir. Çoğunlukla ileri dönemde ortaya çıkmakla birlikte, erken dönemde de görülebilmektedir. PAH belirtileri, skleroderma hastaların yaklaşık % 10-15'inde gözlenmektedir. Fakat, sağ kalp kateterizasyonu veya ekokardiyografik olarak hastaların % 20- 40'ında PAH saptanabilir. PAH'ın 3 tipi vardır: Birinci tip, önemli derecede fibroz bulunmaksızın şiddetli izole PAH'ın varlığıdır. Genellikle lcSSc'li hastalarda ve 10-30 yıl sonra gözlenmektedir. İkinci tip, interstisyel pulmoner fibroz ile birlikte olan PAH'dır ve daha çok dcSSc'li hastalarda görülmektedir. Üçüncü tip, daha yavaş progresif seyir gösteren PAH olup, daha ılımlı fibroz gelişmiş olan hastalarda görülür.

Pulmoner arteriyel hipertansiyonlu hastalarda, semptomatik progresif dispne görülebilir. Geç PAH'da ise senkop gelişebilir. İkinci kalp sesinin pulmoner komponentinin (p2) şiddeti artar ve zamanla sağ kalp yetmezliği gelişir. İnterstisyel tutulumda, FVC (zorlu vital kapasite)/DLCO oranında azalma saptanır (29).

1.1.8.6. Böbrek Tutulumu

Skleroderma renal krizi, hastalığın en ciddi komplikasyonu olup, son 20-25 yıla kadar bu hastalardaki en sık ölüm nedeniydi. ACE inhibitörlerinin kullanımından önce, skleroderma renal krizi 6 hafta içinde diyaliz gereksinimi veya ölümlerle sonuçlanmaktaydı. ACE inhibitörleri, skleroderma renal krizine bağlı ölümleri ve diyaliz gereksinimini azaltmıştır (34).

Skleroderma renal krizinde, genellikle oligürük renal yetmezlik ve ani başlangıçlı akselere hipertansiyon gözlenir. Birkaç gün veya hafta içinde mikroskobik hematüri, düşük düzeyde proteinüri, serum kreatin düzeyinde hızlı artış, oligüri veya anüri belirlenir. Ek olarak, trombositopeni ve mikroanjyopatik hemolitik anemi gelişebilir (35).

1.1.8.7. Kalp Tutulumu

Primer kardiyak tutulum, miyokardiyal fibroz nedeniyle oluşmaktadır. Sol ventrikül yetmezliği veya total kalp yetmezliği, miyokardit, efüzyonlu veya efüzyonsuz perikardit, kapak anormallikleri, supraventriküler veya ventriküler aritmiler görülebilir (29).

1.1.8.8. Genitoüriner Sistem Tutulumu

Sklerodermalı erkeklerde, erektil disfonksiyon prevalansı % 12-60, seksüel fonksiyon bozukluğu ise % 54 sıklığında bildirilmektedir (36).

Sklerodermalı kadınlarda da seksüel disfonksiyon gelişebilir ve disparoni % 50-60 sıklığındadır (37).

1.1.8.9. 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 gücünü, oral kandidiyazise yatkınlık ve diş çürükleri gözlenebilir (29).

1.1.8.10. Sinir Sistemi Tutulumu

Sklerodermalı hastaların % 40'ında nörolojik tutulum görülebilmektedir (38). 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 (39).

1.1.9. Tanı

Skleroderma tanısı, klinik bulgular ile konulmaktadır. Dikkatli bir öykü ve fizik bakı bulguları, tanı için gerekli bilgiyi sağlamaktadır. Tanının doğrulanması açısından, genellikle, deri biyopsisi gerekmemektedir. Deri biyopsisi, nefrojenik fibroz dermopati veya skleromiksödem gibi diğer sendromların sklerodermadan ayırımında kullanılmaktadır (29).

Sklerodermalı hastalarda, deri fibrozunun derecesi değişkendir. Hastalığın ilk evresinde, en sık tutulum yeri ellerdir. Hastalık başlangıcında, ilk birkaç ay, artralji ve yumuşak doku şişliği deri sertliğinden daha ön planda olabileceğinden tanıda güçlük olabilir. Kalsinoz ve telenjektazi gibi deri bulguları, tanının doğrulanmasına yardımcı olmalarına karşın erken dönemde sıklıkla görülmezler. Akciğer grafisi, HRCT, akciğer fonksiyon testleri, bronkoalveolar lavaj, ekokardiyografi ve sağ kalp kateterizasyonu tanının doğrulanması için yararlı tetkiklerdir (40).

Skleroderma veya çakışma sendromlarının tanısında, serolojik testlerden yararlanılabilir. Sklerodermanın karakteristik antikoru anti-sentromer, anti-Scl-70, anti-RNA polimeraz ve U3-RNP otoantikoru'dur. Sklerodermalı hastaların % 95'inde ANA boyanma paterni bulunmaktadır. Ancak, bu paternin duyarlılığı ve özgüllüğü, sanılan aksine, düşüktür. Anti-sentromer antikoru varlığı, lcSSc tanısını doğrular. Anti-Scl-70 antikoru, skleroderma için oldukça spesifiktir ve interstisyel akciğer hastalığı için yüksek risk ile ilişkilendirilmektedir. Ancak, sensitivitesi %30 sınırlıdır (41). Antikor titresinin yüksek bulunması, yaygın deri tutulumu ve yüksek hastalık aktivitesi ile ilişkilendirilmektedir (42).

Anti-RNA polimeraz II, hem skleroderma hem de sistemik lupus (SLE) hastalarında pozitif saptanırken (43), anti-RNA polimeraz I ve III antikoru ise sklerodermanın deri ve renal tutulumları ile ilişkilidir (41). U3-RNP antikoru, özellikle PAH gelişmiş olan skleroderma hastalarında saptanmaktadır (44). Klinik olarak sklerodermadan kuşkulanan hastalarda ANA, anti-Scl-70 ve antisentromer antikoru tanı için yararlı olabilir. Bu antikoru duyarlılığının düşük olduğu bilinmelidir. Ek olarak, serolojik testlerin negatifliği skleroderma tanısını dışlatmaz (45).

1.1.10. Ayırıcı Tanı

Sklerodermayı taklit edebilen, erken dönemde deride kalınlaşma ve geç dönemde ise deride atrofi ile seyreden birçok hastalık bulunmaktadır. Skleroderma benzeri hastalıklarda cilt tutulumunun özellikleri ve dağılımı atipik olup, genellikle eller ve parmaklardaki deri tutulmamaktadır. Ek olarak, Raynaud fenomeni, sklerodermaya özgül otoantikoru, sklerodermanın tipik iç organ tutulumları ve tırnak yatağı kapilleroskopisinde değişiklikler bulunmaz (29).

Mesleki uğraşlar nedeniyle bazı kimyasal maddelerle karşılaşılması, ilaçlar, metabolik anormallikler, maligniteler veya enfeksiyonlar sonucu deri sertliği oluşabilmektedir. Ayırıcı tanıda, deri biyopsisi bazen yararlı olabilir. Ancak, biyopsi epidermis, dermis, fasya ve kas katmanlarını içermelidir. Ayırıcı tanıda skleroderm, skleromiksoderm, POEMS sendromu (polinöropati, organomegali, endokrinopati, monoklonal gamopati ve deri değişiklikleri), nefrojenik fibröz

dermopati, fibroblastik romatizma, porfiria kutanea tarda, kronik GVHD dikkate alınmalıdır (29).

1.1.11. Tedavi

1.1.11.1. Organ Sistem Komplikasyonlarının Tedavisi

1.1.11.1.1. Gastrointestinal Sistem

Gastroözefageal reflü semptomları karyola baş kısmının yükseltilmesi, diyet düzenlemeleri, H₂ blokerleri ve/veya proton pompa inhibitörlerinin kullanımı ile azaltılabilir. Üst gastrointestinal sistem motilitesini artırmak için, metoklopramid ve eritromisin gibi prokinetik ilaçlar kullanılabilir. Özefageal striktürler için periyodik endoskopik dilatasyonlar yapılabilir. Alt gastrointestinal sistem semptomları aşırı bakteri çoğalmasıyla ilişkili olup, 2-4 hafta geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi semptomlarda düzelme sağlayabilir (40, 46). Nonfonksiyone ince bağırsağı olan hastalarda total parenteral beslenme gereklidir.

1.1.11.1.2. Akciğer

Akciğer tutulumu saptandığında, profilaktik olarak *Haemophilus influenza* ve *Streptococcus pneumoniae* aşıları uygulanmalıdır. Akut alveolit bulguları belirlenmişse, siklofosfamid veya diğer immün süpresif ilaçlar yararlı olabilir. PAH'da, aralıklı veya devamlı intravenöz prostasiklin analogları ve fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri kullanılabilir. Son dönem akciğer hastalığı varlığında, kalp-akciğer veya sadece akciğer transplantasyonu yapılabilir (40, 46).

1.1.11.1.3. Kalp

Perikardit tedavisinde, nonsteroid anti-inflamatuar ilaçlar veya düşük doz steroid kullanılabilir. Klinik olarak veya endomiyokardiyal biyopsi ile miyokardit saptanırsa, yüksek doz steroid tedavisi denenebilir. Dijital türevleri ve diüretikler tedavinin temelini oluşturur. Ciddi aritmiler, antiaritmik ilaçlarla tedavi edilir (40, 46).

1.1.11.1.4. Böbrek

Renal kriz tedavisi açısından, tanının erken konulması çok önemlidir. dcSSc'de hastalığın erken evresinde, haftada birkaç gün kan basıncı ölçülmesi önerilir. Sistolik kan basıncı 30 mmHg veya daha yüksek artışlar gösterdiğinde, ACE inhibitörlerine başlanılmalıdır. Ancak, diğer güçlü antihpertansif ilaçlar da yararlı

olabilir. Bazı hastalarda diyalize gereksinim olabilir. ACE inhibitörlerine devam edildiğinde, 3-24 ay sonra diyalize gereksinim kalmayabilir (40).

1.1.11.1.5. Raynaud Fenomeni

Soğuktan korunmak, sıcak tutan giysiler giymek ve sigara kullanımından kaçınmak basit önlemlerdir. Kalsiyum kanal blokerleri, ACE inhibitörleri, anjiyotensin reseptör blokerleri ve fosfodiesteraz-5 inhibitörleri gibi vazodilatatör ilaçların yararlı oldukları kanıtlanmıştır (47). Bazı hastalarda, dijital sempatektomi ve mikrovasküler rekonstrüksiyon başarılı olabilir (40).

1.1.11.1.6. Deri Ülserleri

Parmak uçlarında ülserler, tırnak derisinde çatlaklar ve paronişi genellikle iskemi veya travma nedeniyle oluşmaktadır. Diğer ekstremitelerde ülserleri ise basınca daha çok uğrayan alanlarda görülürler ve nadiren de iskemiyle ilişkilidirler. 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 (48).

1.1.11.1.7. Kalsinoz

Kalsinozun önlenmesi veya oluşmuş kalsinozun tedavisi için yararı kanıtlanmış bir tedavi protokolu bulunmamaktadır. Kontrollü çalışmalar bulunmamasına karşın, litotripsi kalsinoz tedavisinde kullanılmaktadır (29). Bazı durumlarda, kalsinoz cerrahi olarak çıkarılabilir.

1.1.11.1.8. Kas İskelet Sistemi

Eklem yakınmaları için nonsteroid anti-inflamatuar ilaçlar kullanılabilir. Proksimal interfalangeal eklemlerde fleksiyon kontraktürü geliştiğinde cerrahi olarak düzeltme, cilt hasarı ve enfeksiyonlarını önleyebilir (40, 46).

1.1.11.2. İlaç Tedavisi

1.1.11.2.1. Otoimmünite ve İnflamasyonun Önlenmesi

1.1.11.2.1.1. Siklofosfamid

Siklofosfamid, aktif alveolit varlığında yararlı olmaktadır (49). Yaygın deri tutulumu bulunan hastalarda, deri ve pulmoner fonksiyonlar üzerine orta derecede etkili bulunmuştur (50). Siklofosfamid lökopeni (% 10-15), enfeksiyon (% 7-10),

hemorajik sistit (% 5-15) ve alopesi (% 3) gibi yan etkilere neden olabilmektedir (51). Tedaviden uzun süre sonra %3-5 sıklığında mesane kanseri görülebilmektedir. Ayrıca, infertilite görülme sıklığı da fazladır.

1.1.11.2.1.2. Metotreksat

Randomize kontrollü bir çalışmada, metotreksatın dcSSc'li hastaların deri skorunda ılımlı bir iyileşme sağladığı belirtilmektedir (52). Diğer organlar üzerine ise önemli bir etkisinin olmadığı bilinmektedir.

1.1.11.2.1.3. Klorambusil

Klorambusil, immün süpresif etkileri olan alkileyici bir ajandır. Sklerodermada aktive T hücrelerini baskıladığı gösterilmiştir (53). Lökopeni, trombositopeni ve uzun süre kullanıldığında akut miyeloid lösemnin indüklenmesi gibi yan etkiler görülebilir.

1.1.11.2.1.4. 5-Florourasil

Bir alkileyici ajan olan 5-florourasilin, randomize plasebo kontrollü bir çalışmada, deri skorunda düzelme sağladığı gösterilmiştir (54).

Bulantı-kusma (\geq % 90), lökopeni (% 42), nadir olarak serebellar ataksi ve miyokardiyal iskemi gibi yan etkiler gösterebilmektedir (55).

1.1.11.2.1.5. Kök Hücre Transplantasyonu

Şiddetli progresif skleroderması olan 70'den fazla hastaya kök hücre transplantasyonu uygulanmıştır (51). Kök hücre transplantasyonu öncesinde, yüksek doz siklofosfamid ve antitimosit globülin, total vücut ışınlanması ile birlikte veya total vücut ışınlanması yapılmadan kullanılabilir. Transplantasyon ile ilgili mortalite, %9-17 sıklığında bildirilmektedir (56).

1.1.11.2.2. Fibroz Oluşumunu Engelleyen Ajanlar

1.1.11.2.2.1. İnterferon- γ

Aktive T hücreleri tarafından üretilen interferon- γ (IFN γ), makrofajları aktive eder ve kollajen üretimini güçlü bir şekilde inhibe eder (29). İnterferon- γ -1b tedavisi hastaların % 85'inde, grip benzeri semptomlar (ateş, üşüme, baş ağrısı, miyalji, artralji ve halsizlik) neden olmaktadır. Bu semptomlar, 9-12 hafta içinde azalmaktadır. Ek olarak, lökopeni gelişimi ve karaciğer enzim yükseklikleri belirlenebilir (57).

1.1.11.2.2.2. İnterferon- α

İnterferon- α , skleroderma tedavisinde önemli bir yarar sağlamamaktadır (58).

1.1.11.2.2.3. D-Penisilamin

D-Penisilaminin yüksek dozlarda (750 mg/gün) kullanımı, düşük dozlarda (62,5 mg/gün) kullanımına göre, deri sertliğinin azaltılmasında daha etkili bulunmamıştır (59).

1.1.11.2.2.4. Relaksin

Kollajen üretimini inhibe etmesi ve kollajen yıkımını artırmasına karşın, plasebo kontrollü bir faz II çalışmada, herhangi bir yararı gösterilememiştir (60).

1.1.11.2.3. Vasküler Hasarın Önlenmesi

Vasküler tutulum, sklerodermanın erken evresinde temel patogenik özelliktir. Vasküler tutulumla bağlı olarak, süperfisyal hasar (örn. Raynaud fenomeni) ve iç organ hasarı (örn. PAH) gözlenebilir (61).

1.1.11.2.3.1. Prostatiklin Analogları

Prostatiklin analogları olan epoprostenol ve treprostini egzersiz kapasitesi, dispne skoru, kardiyopulmoner hemodinamikler ve yaşam süresi üzerine etkilidir (62). Diğer bir prostatiklin türevi olan iloprostun, semptomatik PAH'lı skleroderma hastalarında yararlı olduğunu destekleyen veriler bulunmaktadır (63).

Tüm prostatiklinlerin, önemli yan etkileri bulunmaktadır. Epoprostenol, sürekli intravenöz infüzyon şeklinde uygulanmaktadır. İnfüzyon kesildiğinde ani ve şiddetli pulmoner ödem yapabilir. Ayrıca baş ağrısı, çene ağrısı, bulantı-kusma ve abdominal kramplar görülebilir. Treprostini en yaygın yan etkisi, infüzyon bölgesinde ağrıdır. Nadiren, gastrointestinal sistem kanaması gözlenebilir (55).

1.1.11.2.3.2. Bosentan

Oral olarak kullanılmakta olan bosentan, endotelin-1 reseptör antagonistidir. Potent bir vazokonstriktör ve düz kas mitojeni olan endotelin-1'i antagonize ederek, PAH'ı iyileştirmektedir (61). Randomize plasebo kontrollü bir çalışmada (64), bosentanın egzersiz kapasitesini, pulmoner vasküler rezistansı ve PAH'ı azalttığı gösterilmiştir. En sık gözlenen yan etkisi, karaciğer toksisitesidir. % 10-14 sıklığında, karaciğer fonksiyon testlerinde normal değerlerin 3 katı veya daha fazla artış gözlenmekte ve bu durum doz ayarlanması ile kontrol altına alınabilmektedir (55).

1.1.11.2.3.3. Sildenafil

Sildenafil, bir fosfodiesteraz-5 inhibitörüdür. Oral olarak, 3x20mg/gün dozunda kullanılır. Pulmoner vasküler rezistans indeksini azaltır ve şiddetli akciğer fibrozu ve sekonder pulmoner hipertansiyonu olan hastalarda gaz değişimini artırmaktadır (65).

Sildenafil, prostanoid (iloprost) ve nitrik oksit ile ilişkili pulmoner arteriyel vazodilatasyonu artırır (66). Raynaud fenomeni olan hastalarda, periferik kan akımında artış sağlar (65). Sıklıkla baş ağrısı, flaşing, nazal konjesyon ve dispne yan etkileri görülebilir. Sildenafilin yan etkisi düşük dozlarda daha az görülür. Yüksek dozlarda kullanıldığında, nadiren miyokard infarktüsü, sistemik hipertansiyon ve retinal yan etkileri nedeniyle görme bozukluğu yapabilir (67).

1.1.11.2.3.4. ACE İnhibitörleri

Anjiotensin konverting enzim inhibitörleri kullanıma girmeden önce, skleroderma renal krizi nedeniyle ölüm sıklığı yüksekti. ACE inhibitörleri ilk kez 1970'lerin sonunda skleroderma renal krizinde kullanılmaya başlanmıştır. Serum kreatin konsantrasyonu 3 mg/dl'yi geçmeden ACE inhibitörlerine başlandığında, diyaliz gereksinimi önlenir (68). ACE inhibitörleri kullanılmasına karşın, skleroderma renal krizi olan hastaların % 35 kadarında ölüm olabilmektedir (29).

1.2. Ghrelin

Ghrelin, Kojima ve ark. (7) tarafından tanımlanmış olup, başlıca mide (entero-endokrin hücreler) olmak üzere diğer birçok doku ve inflamatuvar hücrelerden sentezlenen polipeptid yapıda bir hormondur. Büyüme hormonu salınımını, iştahı ve lipogenezi indüklemeye özellikleri vardır.

1.2.1. Ghrelin Yapısı

Ghrelin, N-terminal ucundaki serin aminoasidine 8 karbonlu bir yağ asidi (oktanoik asit) bağlanmış olan 28 aminoasitli bir peptiddir. Oktanoik asit grubu içeren ghrelin, aktif (açile) ghrelin olarak bilinmektedir. Oktanoik asit, ghrelinin biyolojik aktivitesi ve büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHS-R)'ün aktivasyonu için gereklidir (7).

Oktanoik asit grubu içermeyen ghrelin ise des-açile ghrelindir ve des-açile ghrelin inaktif ghrelin olarak bilinmektedir. Des-açile ghrelin, dolaşımdaki ghrelinin % 80-90'ını oluşturmaktadır (69).

1.2.2. Ghrelin Reseptörü

Ghrelin reseptörü, 3q26.2'deki gende kodlanmış olup 4 ekson ve 3 introndan oluşmaktadır. GHS-R'ün, GHS-R 1a ve 1b olarak adlandırılan iki izoformu vardır. Ghrelin, GHS-R 1a tipi reseptöre bağlanır. GHS-R'nün hipotalamus, hipofiz bezi, beyin, böbrek, pankreas, kalp, mide ve bağırsak dokularında bulunduğu gösterilmiştir (70).

1.2.3. Ghrelinin Doku Dağılımı

Dolaşımdaki ghrelinin büyük bir kısmı başlıca mide olmak üzere ince bağırsak, meme ve tükrük bezi gibi değişik organlardan kaynaklanmaktadır (71). Pankreasın α ve β hücrelerinde diğer hormonlar yanında ghrelin de sentezlenmektedir. Langerhans adacığının ϵ hücrelerinde ise sadece ghrelin bulunmaktadır (72).

Ghrelin, normal insan dokularının yanısıra hipofiz adenomları (38), nöroendokrin tümörler (73), tiroid ve medullar tiroid karsinomları (74), pankreas endokrin tümörleri (75) ve akciğer tümörlerinde de tanımlanmıştır (76).

1.2.4. Ghrelinin Fizyolojik Fonksiyonları

1.2.4.1. Büyüme Hormonu Üzerine Etkisi

Büyüme hormonu, organizmanın büyüme ve gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Ghrelinin büyüme hormonu salgılatıcı etkileri, hem in vitro olarak hem de gönüllüler üzerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (77). Ghrelin, büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) salınımını artırırken, somatostatin salınımını azaltmaktadır. Farelere periferal veya intraventriküler olarak verildikten sonra büyüme hormonu düzeyleri 15- 20 dakika içinde en üst düzeye ulaşmakta, 60 dakika içinde normale dönmektedir. İnsanlara sentetik ghrelin verildiğinde ise büyüme hormonu düzeyleri 30. dakikada en üst düzeye ulaşmakta, 180. dakikada normal düzeylerine inmektedir. Ghrelinin büyüme hormonu üzerine etkisini gösterebilmesi için GHRH gereklidir. Ghrelin ve GHRH'nın birlikte verilmesi sinerjik olarak

büyüme hormonu salınımını artırmakta, GHRH antiserumu ile birlikte ghrelin verildiğinde ise büyüme hormonu düzeylerinde artış gözlenmemektedir (78).

1.2.4.2. Gıda Alımı Üzerine Etkisi

Ghrelin, oreksijenik (iştah açıcı) ve adipojenik etki gösteren bir hormondur. Dolaşımdaki ghrelin düzeyi açlıkta yükselmekte, toklukta ise azalmaktadır. Gün içinde en yüksek düzeyi, gece 02-04 saatleri arasında olmaktadır (79).

Ghrelinin, etkisini iki iştah açıcı peptidin (nöropeptid-Y ve iştah ilişkili protein) salgılandığı arkuat nükleus nöron topluluğunun uyarılması aracılığı ile yaptığı belirlenmiştir (80). Bu bölge, aynı zamanda dolaşımdaki adrenal ve gonadal steroidler, leptin ve insülin gibi peptidlerin de periferik sinyallerini almaktadır (81).

Ghrelin sekresyonu vücut kitle indeksi, vücut yağ kitlesi, adiposit hacmi, plazma insülin düzeyi, plazma glukoz düzeyi ve plazma leptin düzeyi ile negatif korelasyon göstermektedir (82).

1.2.4.3. Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkisi

Ratlarda, ghrelin infüzyonunun gastrik asit sekresyonunu ve gastrik motiliteyi doz bağımlı olarak uyardığı gösterilmiştir. Ghrelinin bu etkileri, vagotomi yapılarak veya atropin verilerek bloke edilebilmektedir. Ancak, H2 reseptör antagonisti verilmesi bu etkiyi bloke edememektedir. Bu durum, ghrelinin vagus siniri aracılığıyla gastrik fonksiyonları etkilediğini göstermektedir (83).

1.2.4.4. Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkisi

Ghrelin plazma glukoz düzeyini, büyüme hormonu salınımını ve insülin direncini artırarak ve glukoneogenezi uyararak değiştirmektedir (84). İnsanlarda intravenöz ghrelin uygulanması, insülin sekresyonunu inhibe ederek plazma glukoz düzeyini artırmaktadır (85).

1.2.4.5. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi

İntravenöz ghrelin infüzyonu, kalp hızını değiştirmeden, ortalama arter basıncını önemli derecede azaltmaktadır. Ayrıca, kronik kalp yetmezliği olan hastalarda kardiyak outputu artırmaktadır (86). Sağlıklı kişilerde, önkol arterlerine ghrelin infüzyonu doz bağımlı olarak kan akımını artırmaktadır (87).

1.2.5. İmmün Sistemde Ghrelinin Anti-inflamatuar Etkileri

1.2.5.1. İnflamasyonda Ghrelin

Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı gibi immünolojik hastalıklarda, hastalık aktivitesi ile ilişkili olarak, serum ghrelin konsantrasyonlarında artış bildirilmiştir (88). Ayrıca, ankilozan spondilitli (89) ve septik hastalarda (90) serum ghrelin konsantrasyonu artmaktadır.

Akut pankreatit (91), artrit (92) ve akut kolit (93) deneysel hayvan modellerinde serum ghrelin düzeylerinde artış bildirilmiştir.

1.2.5.2. Proinflamatuvar Reaktiflere Karşı Ghrelin ve GHS-R Yanıtı

Lipopolisakkarit (LPS), gram (-) bakterilerin hücre duvarlarının bir komponentidir ve endotoksin olarak etki göstermektedir. LPS bakteriyel enfeksiyonlarda, hipotalamik-pituiter-adrenal aksın aktivasyonunda ve proinflamatuvar sitokin ekspresyonunda rol almaktadır (94). İnsanlara LPS uygulandığında TNF- α , IL-6, büyüme hormonu ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) ile birlikte hızlı bir ghrelin artışı olmaktadır. Ghrelin, bakteriyel endotoksik şokta öncelikli olarak salgılanan hormonlardan birisidir (95).

Lipopolisakkarit, GHS-R1a ekspresyonunu da artırmaktadır. Sepsisli ratlarda, GHS-R1a'nın mRNA ekspresyonu ve protein düzeyi artmaktadır (96). Septik şok rat modellerinde, ghrelinin mortaliteyi azalttığı ve LPS ile oluşturulan endotoksik şokta hipotansiyonu düzelttiği belirlenmiştir (97).

1.2.5.3. Ghrelinin Sitokin Üretimi Üzerine Etkileri

Ghrelin, insan monosit ve T lenfositlerinden IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini engellemektedir (98).

Ghrelin, ratlarda *cerulein* ile oluşturulan akut pankreatit modelinde, IL-1 β salınımını azaltarak pankreatik hasarı önlemektedir (99).

Ghrelin, ratlarda pankreatikobiliyer kanal ligasyonu ile oluşturulan hepatopankreatik hasarı ve sistemik inflamasyonu düzeltmektedir (100). Safra kanalı ligasyonu yapılan ratlarda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinlerin salınımını ve oksidan yanıtı azaltmaktadır (101). Ghrelin, ratlarda santral opioid sistem aracılığıyla hiperaljeziyi inhibe etmektedir (102).

Ghrelin, farelerde splenik T lenfositlerin proliferasyonunu inhibe eder, hem Th1 (IL-2 ve IFN γ) hem de Th2 (IL-4 ve IL10) sitokin mRNA ekspresyonunu baskılar (103). Ghrelin, kolit oluşturulmuş farelerde Th1 aracılı immün yanıtı ve inflamasyonu baskılayarak klinik ve histopatolojik olarak kolit şiddetini azaltmaktadır (104).

Ghrelinin, apoptozu ve IFN γ ve TNF- α 'nın neden olduğu nitrik oksit salınımını önlediği saptanmıştır (105). Bu veriler doğrultusunda, ghrelinin anti-inflamatuar etkilere sahip olduğu açıktır. Serum ghrelin konsantrasyonunun artışı, inflamasyona karşı defans mekanizmalarından biridir (105).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

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

2.1. Deneysel Hayvanları

Bu deneysel çalışmada kullanılacak olan *Balb/c* dişi fareler, FÜDAM'dan alındı. Fareler, havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Deneysel hayvanlarına yemler özel çelik kaplarda, su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deneysel hayvanları, Elazığ Yem Fabrikası'nda özel olarak hazırlanmış olan pelletler halindeki fare yemleriyle beslendi. Deneysel hayvanları, FÜDAM'da ortam sıcaklığı 22-25 °C ve 12 saat ışık altında ve 12 saat karanlıkta olacak şekilde barındırıldı.

2.2. Deneysel Uygulamalar

Bu çalışmaya, ortalama 6 hafta yaşında ve 20-25 gram ağırlıklarında, 35 adet *Balb/c* cinsi dişi fare alındı ve randomize olarak 5 gruba ayrıldı (her grupta, n=7). Tüm farelerin belirlenmiş olan bir sırt bölgesi, fosfat ile tamponlanmış salin (FTS) ve bleomisin uygulamaları için tıraş edildi.

2.3. Bleomisin ve Ghrelin Uygulamaları

Bleomisin uygulanmayacak olan kontrol grubundaki (grup I) farelere, tıraş edilmiş sırt bölgesinden, subkutan olarak hergün 100 µL FTS enjekte edildi. Diğer gruplardaki (grup II, III, IV ve V) farelere ise, tıraş edilmiş sırt bölgesinden, subkutan hergün 100 µL (100 µg) bleomisin (1 mg bleomisin 1 mL FTS içerisinde çözündürülerek) uygulandı. Grup III, IV ve V'teki farelere ise, bleomisine ek olarak, sırasıyla açile (aktif) (Phoenix Pharmaceuticals, Karlsruhe, Almanya), des-açile (inaktif) (GL Biochem, Şangay, Çin) ve total ghrelin 10 ng/kg hergün intraperitoneal olarak uygulandı.

Tablo 1. Deneysel çalışma grupları ve gruplara uygulanan tedaviler

Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
FTS	BLM	BLM+Açile ghrelin	BLM+Des-açile ghrelin	BLM+Total ghrelin

FTS; Fosfat ile tamponlanmış salin, BLM; Bleomisin

2.4. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

4. haftanın sonunda, son tedavilerden 24 saat sonra, tüm gruplardaki fareler dekapitasyon ile sakrifiye edilerek, çalışma sonlandırıldı. Farelerden kan örnekleri alındı ve enjeksiyon uygulanan alanlardaki sırt derileri 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 incelemeler için % 10'luk formalin solüsyonu içerisine konuldu.

2.5. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Analizler

Formalin solüsyonundaki doku örneklerinden, aynı gün içerisinde, parafin blokları hazırlandı. Bloklardan alınan kesitler, Hematoksilen-Eosin ve Masson-Trichom ile boyanarak, ışık mikroskopunda X40, X100, X200 ve X400 büyütmede, patoloji laboratuvarında bir uzman patolog tarafından incelenerek, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibroz derecesi belirlendi.

İmmünohistokimyasal olarak, monoklonal anti-alfa düz kas aktin (anti- α -SMA) ticari kiti (Actin Muscle Ab-6 [MSA06] Neomarkers) deparafinize kesitlere uygulanarak, fibrotik aktivite ve doku vaskülaritesi değerlendirildi.

2.6. Serum Sitokin Analizleri

TGF- β 1 serum düzeyi, uygun ticari kit (Bender MedSystems, Avusturya) kullanılarak, ELISA yöntemi ile çalışıldı.

2.7. İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak gösterildi. İstatistiklerin hazırlanmasında *SPSS 11.00* bilgisayar paket istatistik programı (SPSS Inc., Software Chicago, IL, USA) kullanıldı. Analizlerde *Kruskal Wallis* ve *Mann-Whitney U* testleri kullanıldı. $P < 0.05$ değerler anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Dört haftalık bleomisin uygulanan grupta (grup II), FTS uygulanan kontrol grubu (grup I) ile karşılaştırıldığında; dermal kalınlık, dermal alandaki inflamatuvar hücre sayısı ve α -SMA+ hücre sayısında artış saptandı (Tablo 2, Şekil 1, 2, 3).

Bleomisin ile birlikte açile ghrelin (grup III), des-açile ghrelin (grup IV) ve total ghrelin (grup V) uygulanan gruplar, sadece bleomisin uygulanan grup (grup II) ile karşılaştırıldığında; dermal kalınlık ve dermal alandaki inflamatuvar hücre sayısı ve α -SMA+ hücre sayısında anlamlı azalma saptandı (Tablo 2, Şekil 1, 2, 3).

Tablo 2. Deneysel çalışma gruplarında serum TGF- β 1 düzeyi ve histopatolojik bulgular

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
TGF-β1 (ng/ml)	37.8 \pm 5.1	41.1 \pm 8.5	48.3 \pm 10.9	46.1 \pm 5.0	45.4 \pm 9.7
İnflamatuvar hücre sayısı (/HPF)	8.57 \pm 2.8	23.6 \pm 8.8 ^a	13.2 \pm 4.8 ^c	13.4 \pm 4.1 ^c	10.8 \pm 3.02 ^d
α-SMA+ hücre sayısı (/HPF)	1.2 \pm 0.5	9 \pm 2 ^b	4.7 \pm 1.3 ^d	5.8 \pm 1.1 ^d	4.4 \pm 1.0 ^e
Dermal kalınlık (μm)	129 \pm 23	393 \pm 104 ^b	182 \pm 46 ^c	206 \pm 40 ^e	187 \pm 18 ^e

Grup I: FTS

Grup II: Bleomisin

Grup III: Bleomisin+Aktif ghrelin

Grup IV: Bleomisin+İnaktif ghrelin

Grup V: Bleomisin+Total ghrelin

TGF- β 1; Transforming growth factor- β 1, α -SMA; α - düz kas aktin, HPF; büyük büyütme alanı.

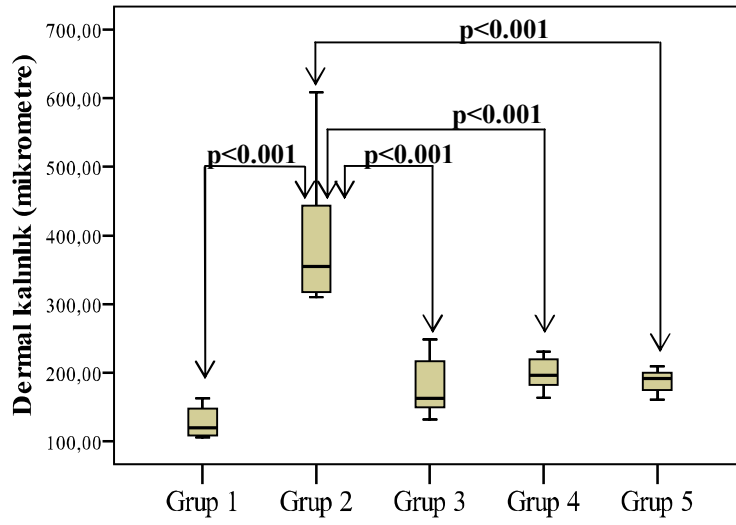
Grup I ile karşılaştırıldığında: ^ap<0.01, ^bp<0.001.

Grup II ile karşılaştırıldığında: ^cp<0.05, ^dp<0.01, ^ep<0.001.

Bleomisin uygulanan grupta (grup II), Hematoksilen-Eosin ile yapılan histolojik incelemede; sklerodermaya benzer şekilde hücrel infiltrasyon ve birlikte kollajen lif demetinde artış ile karakterize deri fibrozu belirlendi. Masson-Trichrome boyaması ile yapılan incelemede, deride kollajen birikiminde artış saptandı.

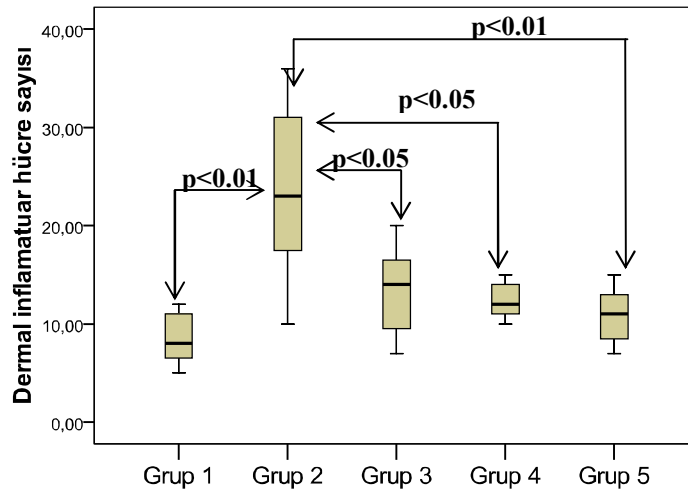
Bleomisin ile birlikte açile, des-açile ve total ghrelin uygulanan gruplarda Hematoksilen-Eosin ile yapılan histolojik incelemede, inflamatuvar hücre infiltrasyonunda ve deri fibrozunda azalma saptandı.

Bu deneysel çalışmada, total ghrelin grubunda 1 fare öldü (% 14), diğer gruplardaki deney hayvanlarından ise ölen olmadı.



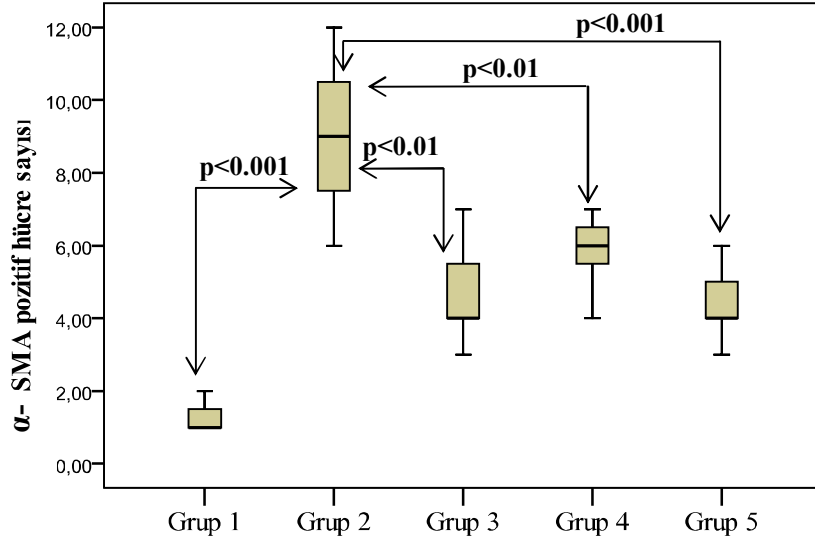
Grup 1: FTS
 Grup 2: Bleomisin
 Grup 3: Bleomisin+Aktif ghrelin
 Grup 4: Bleomisin+İnaktif ghrelin
 Grup 5: Bleomisin+Total ghrelin

Şekil 1. Deneysel çalışma gruplarında dermal kalınlıklar



Grup 1: FTS
 Grup 2: Bleomisin
 Grup 3: Bleomisin+Aktif ghrelin
 Grup 4: Bleomisin+İnaktif ghrelin
 Grup 5: Bleomisin+Total ghrelin

Şekil 2. Deneysel çalışma gruplarında dermal inflammatuar hücre sayıları



Grup 1: FTS

Grup 2: Bleomisin

Grup 3: Bleomisin+Aktif ghrelin

Grup 4: Bleomisin+İnaktif ghrelin

Grup 5: Bleomisin+Total ghrelin

Şekil 3. Deneysel çalışma gruplarında α -SMA+ hücre sayıları

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, bleomisin ile uyarılmış deneysel skleroderma modelinde ghrelin uygulanmasının olası tedavi edici etkinliği araştırılmıştır. Tekrarlanan bleomisin uygulamaları dermis inflamatuvar hücre infiltrasyonu, myofibroblastik hücre aktivitesi ve dermal kalınlıkta artış göstermektedir. Bleomisin ve ghrelin uygulamalarına birlikte başlanıldığında ise inflamatuvar hücre infiltrasyonu, myofibroblastik hücre aktivitesi ve dermal fibroz gelişimi önlenmektedir.

Skleroderma deri ve iç organların yaygın fibrozu ile karakterize, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Skleroderma vasküler hasar, immün aktivasyon, inflamasyon ve fibroz ile karakterizedir (1-3). Ancak, günümüzde skleroderma patogenezine ilişkin tartışmalar sürmektedir ve etkin bir tedavi protokolu bulunmamaktadır.

Bleomisin, değişik kanserlerin tedavisinde sıklıkla kullanılmakta olan anti-tümör bir antibiyotiktir (17). *Balb/c* farelere 4 hafta süre ile hergün subkutan bleomisin uygulanması, skleroderma histopatolojisi ve laboratuvar bulgularını oluşturmaktadır (18). Ayrıca, bleomisin ile uyarılan dermal fibroz modeli, oluşturulmasının kolaylığı ve maliyetinin düşük olması nedeniyle günümüze kadar tanımlanmış olan deneysel skleroderma modellerinden en uygun olanıdır (15). Sunulan bu çalışmada da bleomisin uygulanması ile belirgin dermal fibroz oluşması, bu modelin uygun deneysel skleroderma modeli olduğu görüşünü desteklemektedir.

Sklerodermada IL-2, IL-4, IL-6 gibi sitokinlerin serum düzeylerinin arttığı ve hastalık sürecine katkı yapıyor olabileceği bildirilmiştir (6). Bleomisin ile oluşturulmuş olan deneysel skleroderma modelinde, çeşitli sitokinlerin etkili olduğu gösterilmiştir (106). Bleomisin, IL-4 ve IL-6 sentezini ve salınımını artırmaktadır. Ayrıca, bleomisin ile uyarılan deneysel skleroderma modelinde anti-TGF- β antikoru uygulanmasının deri fibrozunu önlediği gösterilmiştir (106). IL-4 ve TGF- β , sklerodermada major fibrojenik sitokinlerdir (26). IL-4, fibroblastlardan kollajen ve TGF- β üretimini artırmaktadır. TGF- β , kollajen ve matriks proteinlerinin üretimini artırır, metalloproteinazların yıkımını ise azaltır (26). Böylece kollajen yıkımını önler. Sunulan bu çalışmada da bleomisin uygulamaları ile inflamatuvar hücre

düzeyinde artış belirlenmesi, immün aktivasyonun hastalık sürecine katkı yapıyor olduğunu göstermektedir.

Ghrelin, başlıca mide fundusundan salınan peptid yapıda bir hormondur (73). Ayrıca, diğer dokular ve inflamatuvar hücrelerden de sentezlenmektedir (8). Ghrelinin enerji metabolizmasının düzenlenmesi, mide asit sekresyonunun uyarılması, iştah kontrolü ve gastrointestinal motilitenin düzenlenmesi gibi çeşitli metabolik fonksiyonları bulunmaktadır (107).

Ghrelin, metabolik fonksiyonlarına ek olarak, anti-inflamatuvar etkiler de göstermektedir (101,107). Ghrelin, LPS ile uyarılan kemotaktik ve proinflamatuvar sitokin üretimini baskılamaktadır (107). Ankilozan spondilit (89), inflamatuvar barsak hastalıkları (88) ve septik olgularda (90) serum ghrelin konsantrasyonunda artış olduğu kanıtlanmıştır. Ghrelinin, safra kanalı ligasyonu yapılmış ratlarda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinlerin salınımını azalttığı ve anti-inflamatuvar etki gösterdiği belirlenmiştir (101). Sunulan bu çalışmada da ghrelin uygulanması inflamatuvar hücre sayısını ve dermal fibrozu azaltmıştır. Böylece, ghrelinin antifibrotik etkisi, anti-inflamatuvar etkisi ile ilişkilendirilebilir.

Ghrelin, anti-inflamatuvar etkileri yanında antioksidan özellikler de sergilemektedir (108,109). Ghrelinin, TNF- α ve hidrojen peroksit (H₂O₂) ile uyarılan sitokin salınımını ve TNF- α ile uyarılan nükleer faktör- κ B (NF- κ B) aktivasyonunu ve mononükleer hücre adezyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (110). Ghrelin ratlarda doku TNF- α düzeyini, inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu ve vasküler geçirgenliği azaltarak, iskemik gastrik hasarı önlemektedir (109). Ghrelin bu etkisini, reaktif oksijen ürünleri (ROS)'ni ve tiobarbitürik asit düzeyini azaltıp glutatyon miktarını artırarak oluşturmaktadır (103). Oksidatif stres, skleroderma patogenezinde inflamasyon ve endotel hasarına katkıda bulunmaktadır (108). Sklerodermada ROS'un aşırı üretimi, SLE ve RA gibi otoimmün hastalıklara benzer şekilde, T hücrelerinin aktive olmasına neden olabilir. Sklerodermada serbest radikaller, fibroz patogenezinde anahtar mediatörler olan PDGF ve TGF- β gibi büyüme faktörleri ve sitokinlere benzer şekilde, fibroza neden olabilmektedir (111). ROS'un, pulmoner epitelyal hücrelerden TGF- β salınımını artırdığı gösterilmiştir (112). TGF- β , H₂O₂ üretimini artırır ve antioksidan enzimlerin üretimini baskılar (112). PDGF ve oksidan

maddeler arasında, TGF- β ile serbest radikaller arasındaki ilişkiye benzer şekilde, bir ilişki bulunmaktadır (113). PDGF, TGF- β ve H₂O₂ üretimini artırmaktadır. PDGF'nin aşırı üretimi, farelerde akciğer fibrozuna neden olmaktadır (113). Skleroderma patogenezinde oksidatif stresin rol alıyor olması ve sunulan bu çalışmada da ghrelin tedavisi ile dermal fibrozda azalma saptanması, ghrelinin antioksidan özelliğe sahip olduğu (110) görüşünü desteklemektedir.

Sunulan bu çalışmada, bleomisin ile birlikte açile, des-açile ve total ghrelin uygulanması ile inflamatuvar hücre infiltrasyonu, miyofibroblastik hücre aktivitesi ve dermal fibrozda azalma olması, ghrelinin anti-inflamatuvar ve anti-fibrotik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

TNF- α , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6 gibi sitokin düzeylerinin çalışılmamış olması sunulan bu çalışmanın başlıca eksikliğidir.

Sonuç olarak, bleomisin ile uyarılan dermal fibroz modelinde ghrelin tedavisi anti-inflamatuvar ve anti-fibrotik etki göstermektedir.

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. Arlett CM. Immunology of systemic sclerosis. *Front. Biosci* 2005; 10: 1707-1719.
6. Needleman BW, Wigley FM, Stair RW. Interleukin-1, interleukin-2, interleukin-4, interleukin-6, tumor necrosis factor alpha, and interferon-gamma levels in sera from patients with scleroderma. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 67-72.
7. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-659.
8. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 : 5992-5995.
9. Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, Collins GD, Sakhivel SK, Palaniappan R, et al. Ghrelin inhibits leptin and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004; 114: 57-66.

10. Dembinski A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Tomaszewska R, Stachura J, Konturek SJ, Konturek PC. Ghrelin attenuates the development of acute pancreatitis in rat. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 561-573.
11. Gonzalez-Rey E, Chorny A, Delgado M. Therapeutic action of ghrelin in a mouse model of colitis. *Gastroenterology* 2006; 130: 1707-1720.
12. Chen J, Liu X, Shu Q, Li S, Luo F. Ghrelin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through no pathway. *Med Sci Monit* 2008; 14: 141-146.
13. Granado M, Priego T, Martín AI, Villanua MA, Lopez-Calderon A. Anti-inflammatory effect of the ghrelin agonist growth hormone-releasing peptide-2 (GHRP-2) in arthritic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288: 486-492.
14. Chen J, Stubbe J. Bleomycins towards better therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 102-112.
15. Yamamoto T, Takagawa S, Katayama I, Yamazaki K, Hamazaki Y, Shinkai H, Nishioka K. Animal model of sclerotic skin. I Local injections of bleomycin induce sclerotic skin mimicking scleroderma. *J Invest Dermatol* 1999; 112: 456-462.
16. Jimenez SA, Hitraya E. Pathogenesis of scleroderma collagen. *Rheum Dis Clin N Am* 1996; 22: 647-674.
17. Sato S. Abnormalities of adhesion molecules and chemokines in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* 1999; 11: 503-507.
18. Varga J. Systemic sclerosis: an update. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2008; 66: 198-202.
19. Ihn H. Pathogenesis of fibrosis role of TGF-beta and CTGF. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 681- 685.

20. Kucich U, Rosenbloom JC, Abrams WR, Rosenbloom J. Transforming growth factor-beta stabilizes elastin mRNA by a pathway requiring active Smads, protein kinase C-delta, and p38. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 183-188.
21. Schachna L, Wigley FM. Targeting mediators of vascular injury in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 686-693.
22. LeRoy EC. Systemic sclerosis A vascular perspective. *Rheum Dis Clin North Am* 1996; 22: 675-694.
23. Abraham DJ, Vanchesswaran R, Dashwood MR, Rajkumar VS, Pantelides P, Xu SW, et al. Increased levels of endothelin-1 and differential endothelin type A and B receptor expression in scleroderma-associated fibrotic lung disease. *Am J Pathol* 1997; 151: 831-841.
24. Zuber JP, Spertini F. Immunological basis of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 23-25.
25. Sakkas LI, Platsoucas C. Is systemic sclerosis an antigen-driven T cell disease? *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1721-1733.
26. Kurosawa K, Hirose K, Sano H, Endo H, Shinkai H, Nawata Y, et al. Increased IL-17 production in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2455-63.
27. Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K. Altered blood B lymphocyte homeostasis in systemic sclerosis expanded naive B cells and diminished but activated B cells. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1918-1927.
28. Subcommittee for Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnosis and Therapeutic Criteria Committee Preliminary Criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1980; 23: 581 -590.

29. Chung L, Lin J, Furst DE, Fiorentino D. Systemic and localized scleroderma. *Clin Dermatol* 2006; 24: 374-392.
30. LeRoy EC, Medsger Jr TA. Raynaud's phenomenon a proposal for classification. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10: 485-488.
31. Clements PJ, Furst DE, campion DS, Bohan A, Haris R, Levy J, Paulus HE. Muscle disease in progressive systemic sclerosis diagnostic and therapeutic considerations. *Arthritis Rheum* 1978; 21: 62-71.
32. Weinstein WM, Kadell BM. The gastrointestinal tract in systemic sclerosis. Clements P, Furst D (editors). *Systemic sclerosis*. Philadelphia7 Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 293-308.
33. Schuffler MD, Beegle RG. Progressive systemic sclerosis of the gastrointestinal tract and hereditary hollow visceral myopathy two distinguishable disorders of intestinal smooth muscle. *Gastroenterology* 1979; 77: 664-671.
34. Steen VD, Costantino JP, Shapiro AP, Medsger TA. Outcome of renal crisis in systemic sclerosis relation to availability of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors. *Ann Intern Med* 1990; 113: 352 -357.
35. Steen V. Renal involvement in systemic sclerosis. Clements P, Furst D (editors). *Systemic sclerosis*. Philadelphia7 Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 279- 292.
36. 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.
37. Bhadauria S, Moser DK, Clements PJ, singh RR, Lachenbruch PA, Piktin RM, Weiner SR. Genital tract abnormalities and female sexual function impairment in systemic sclerosis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 580-587.

38. Averbuch-Heller L, Steiner I, Abramsky O. Neurologic manifestations of progressive systemic sclerosis. *Arch Neurol* 1992; 49: 1292-1295.
39. Herrick A. Nervous system involvement in systemic sclerosis. Clements P, Furst D (editors). *Systemic sclerosis*. Philadelphia7 Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 309-317.
40. Medsger TA. Systemic sclerosis and Raynaud syndrome. Koopman WJ, Boulware DW, Heudebert GR (editors). *Clinical primer of rheumatology*. Philadelphia7 Lippincott Williams and Wilkins, 2003: 171-181.
41. 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.
42. Hu PQ, Fertig N, Medsger TA Jr, Wright TM. Correlation of serum anti-DNA topoisomerase I antibody levels with disease severity and activity in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1363-1373.
43. 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.
44. Sacks DG, Okano Y, Steen VD, Curtiss E, Shapiro LS, Medsger TA Jr. Isolated pulmonary hypertension in systemic sclerosis with diffuse cutaneous involvement association with serum anti-U3RNP antibody. *J Rheumatol* 1996; 23: 639-642.
45. Reveille JD, Solomon DH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: anticentromere, Scleroderma-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum* 2003; 49: 399- 412.

46. Wigley F, Hummers L. Management holistic approach to systemic sclerosis. A Physician's approach. Clements P, Furst D (editors). Systemic sclerosis. Philadelphia7 Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 371-384.
47. Klimiuk PS, Taylor L, Baker RD, Jayson MI. Autonomic neuropathy in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 1988; 47: 542-545.
48. Clements P, Medsger TA, Feghali CA. Cutaneous involvement in systemic sclerosis. Clements P, Furst D (editors). Systemic sclerosis. Philadelphia7 Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 129-150.
49. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Goldin J, Roth MD, Furst DE, et al. Cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease. *N Engl J Med* 2006; 354: 2655-2666.
50. UK Scleroderma Study Group. How can treatment of systemic sclerosis be improved? By setting up a national database of all cases and entering patients into trials. *BMJ* 1998; 317: 294-295.
51. Furst D, Pope J, Clements P. Systemic sclerosis. Tugwell P (editor). Evidence-based rheumatology. London, UK: BMJ Books 2004: 443-483.
52. 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 doubleblind trial, followed by a 24 week observational trial. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 364-372.
53. 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.
54. 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.

55. Lin AT, Clements PJ, Furst DE. Update on disease-modifying antirheumatic drugs in the treatment of systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am* 2003; 29: 409-426.
56. Binks M, Passweg JR, Furst D, McSweeney P, Sullivan K, Besenthal C, et al. Phase I/II trial of autologous stem cell transplantation in systemic sclerosis procedure related mortality and impact on skin disease. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 577-584.
57. Black CM, Silman AJ, Herrick AI, Denton CP, Wilson H, Newman J, et al. Interferon-alpha does not improve outcome at one year in patients with diffuse cutaneous scleroderma results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 299-305.
58. Polisson RP, Gilkeson GS, Pyun EH, Pisetsky DS, Smith EA, Simon LS. A multicenter trial of recombinant human interferon gamma in patients with systemic sclerosis: effects on cutaneous fibrosis and interleukin 2 receptor levels. *J Rheumatol* 1996; 23: 654-658.
59. 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, doubleblind, randomized, controlled clinical trial. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1194-1203.
60. Seibold JR, Korn JH, Simms R, Clements PJ, Moreland LW, Mayes MD, et al. Recombinant human relaxin in the treatment of scleroderma. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 2000; 132: 871-879.
61. Rubens C, Ewert R, Halank M, Wensel R, Orzechowski HD, Schultheiss HP, Hoeffken G. Big endothelin-1 and endothelin-1 plasma levels are correlated

with the severity of primary pulmonary hypertension. *Chest* 2001; 120: 1562-1569.

62. Wax D, Garofano R, Barst RJ. Effects of long-term infusion of prostacyclin on exercise performance in patients with primary pulmonary hypertension. *Chest* 1999; 116: 914-920.
63. Olschewski H, Ghofrani HA, Walmrath D, Schermuly R, Temmesfeld-Wollbruck B, Grimminger F, Seeger W. Inhaled prostacyclin and iloprost in severe pulmonary hypertension secondary to lung fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 600 -607.
64. Channick RN, Simonneau G, Sitbon O, Robbins IM, Frost A, Tapson VF, et al. Effects of the dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension a randomised placebo-controlled study. *Lancet* 2001; 358: 1119-1123.
65. Rosenkranz S, Diet F, Karasch T, Weihrauch J, Wassermann K, Erdmann E. Sildenafil improved pulmonary hypertension and peripheral blood flow in a patient with scleroderma-associated lung fibrosis and the Raynaud phenomenon. *Ann Intern Med* 2003; 139: 871-873.
66. Wilkens H, Guth A, König J, Forestier N, Cremers B, Hennen B, et al. Effect of inhaled iloprost plus oral sildenafil in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2001; 104: 1218-1222.
67. Gresser U, Gleiter CH. Erectile dysfunction comparison of efficacy and side effects of the PDE-5 inhibitors sildenafil, vardenafil and tadalafil review of the literature. *Eur J Med Res* 2002; 7: 435-446.
68. 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.

69. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin-a hormone with multiple functions. *Front in Neu-roend* 2004; 25: 27-68.
70. McKee KK, Tan CP, Palyha OC, Liu J, Feighner SD, Hreniuk DL, et al. Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics* 1997; 46: 426-434.
71. Aydin S, Halifeoglu I, Ozercan IH, Erman F, Kilic N, Aydin S, et al. A comparison of leptin and ghrelin levels in plasma and saliva of young healthy subjects. *Peptides* 2005; 26: 647-652.
72. Wierup N, Yang S, McEvelly RJ, Mulder H, Sundler F. Ghrelin is expressed in a novel endocrine cell type in developing rat islets and inhibits insulin secretion from INS-1 (832/13) cells. *J Histochem Cytochem.* 2004; 52: 301-310.
73. Raffel A, Krausch M, Cupisti K, Gerharz CD, Eisenberger CF, Knoefel WT. Ghrelin expression in neuroendocrine tumours of the gastrointestinal tract with multiple endocrine neoplasia type 1. *Horm Metab Res* 2005; 37: 653-655.
74. Morpurgo PS, Cappiello V, Verga U, Vicentini L, Vaghi I, Lauri E, et al. Ghrelin in human medullary thyroid carcinomas. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 63: 437-441.
75. Duxbury MS, Waseem T, Ito H, Robinson MK, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. Ghrelin promotes pancreatic adenocarcinoma cellular proliferation and invasiveness. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 464-468.
76. Ghe C, Cassoni P, Catapano F, Marrocco T, Deghenghi R, Ghigo E, et al. The antiproliferative effect of synthetic peptidyl GH secretagogues in human CALU-1 lung carcinoma cells. *Endocrinology* 2002; 143: 484-491.
77. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2988-2991.

78. Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, et al. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 2000; 141: 4325-4328.
79. Tschöp M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, Folwaczny C. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 2001; 24: 19-21.
80. Lawrence CB, Snape AC, Baudoin FM, Luckman SM. Acute central ghrelin and GH secretagogues induce feeding and activate brain appetite centers. *Endocrinology* 2002; 143: 155-162.
81. Katargari SA, Milousis A, Pagonopoulou O, Asimakopoulous B, Nikolettos NK. Ghrelin in pathological conditions. *Endocrine journal* 2008; 55: 439-453.
82. Muccioli G, Tschop M, Papotti M, Deghenghi R, Heiman M, Ghigo E. Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin implications in metabolism and obesity. *Eur J Pharmacol* 2002; 440: 235-254.
83. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4908-4911.
84. Muller AF, Janssen JA, Hofland LJ, Lamberts SW, Bidlingmaier M, Strasburger CJ, van der Lely AJ. Blockade of the growth hormone (GH) receptor unmasks rapid GH-releasing peptide-6-mediated tissue-specific insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 590-593.
85. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, et al. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5083-5086.

86. Nakai Y, Hosoda H, Nin K, Ooya C, Hayashi H, Akamizu T, et al. Plasma levels of active form of ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2003; 149: 1-3
87. Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Ikeda Y, Yoshihara F, Shimizu W, et al. Chronic administration of ghrelin improves left ventricular dysfunction and attenuates development of cardiac cachexia in rats with heart failure. *Circulation* 2001; 104: 1430-1435.
88. Karmiris K, Koutroubakis I.E, Xidakis C, Polychronaki M, Voudouri T, Kouroumalis E.A. Circulating levels of leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis* 2006; 12: 100-105.
89. Toussiroit E, Streit G, Nguyen N.U, Dumoulin G, Le Huede G, Saas P, Wendling D. Adipose tissue, serum adipokines, and ghrelin in patients with ankylosing spondylitis. *Metabolism* 2007; 56: 1383–1389.
90. Maruna P, Gürlich R, Frasko R, Rosicka M. Ghrelin and leptin elevation in postoperative intra-abdominal sepsis. *Eur. Surg. Res* 2005; 37: 354-359.
91. Kerem M, Bedirli A, Pasaoglu H, Unsal C, Yilmaz T.U, Ofluoglu E, Sahin T.T. Role of ghrelin and leptin in predicting the severity of acute pancreatitis. *Digest. Dis. Sci* 2007; 52: 950-955.
92. Granado M, Priego T, Martin A.I, Villanua M.A, Lopez-Calderon A. Antiinflammatory effect of the ghrelin agonist growth hormone-releasing peptide-2 (GHRP-2) in arthritic rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab* 2005; 288: 486-492.
93. Zhao D, Zhan Y, Zeng H, Moyer M.P, Mantzoros C.S, Pothoulakis C. Ghrelin stimulates interleukin-8 gene expression through protein kinase C-mediated NF-kappaB pathway in human colonic epithelial cells. *J. Cell Biochem* 2006; 97: 1317-1327.

94. Trent M.S, Stead C.M, Tran A.X, Hankins J.V. Diversity of endotoxin and its impact on pathogenesis. *J. Endotoxin Res* 2006; 12: 205-223.
95. Basa N.R, Wang L, Arteaga J.R, Heber D, Livingston E.H, Tache Y. Bacterial lipopolysaccharide shifts fasted plasma ghrelin to postprandial levels in rats. *Neurosci. Lett* 2003; 343: 25-28.
96. Wu R, Zhou M, Cui X, Simms H.H, Wang P. Upregulation of cardiovascular ghrelin receptor occurs in the hyperdynamic phase of sepsis. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol* 2004; 287: 1296-1302.
97. Dixit V.D, Yang H, Sun Y, Weeraratna A.T, Youm Y.H, Smith R.G, Taub D.D. Ghrelin promotes thymopoiesis during aging. *J. Clin. Invest* 2007;117: 2778-2790.
98. Dixit V.D, Schaffer E.M, Pyle R.S, Collins G.D, Sakthivel S.K, Palaniappan R, et al. Ghrelin inhibits leptin and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J. Clin. Invest* 2004; 114: 57-66.
99. Dembinski A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Tomaszewska R, Stachura J, Konturek S.J, Konturek P.C. Ghrelin attenuates the development of acute pancreatitis in rat. *J. Physiol. Pharmacol* 2003; 54: 561-573.
100. Kasımay O, Iseri S.O, Barlas A, Bangir D, Yeğen C, Arbak S, Yeğen B.C. Ghrelin ameliorates pancreaticobiliary inflammation and associated remote organ injury in rats. *Hepatol. Res* 2006; 36: 11-19.
101. Iseri S.O, Sener G, Saglam B, Ercan F, Gedik N, Yeğen B.C. Ghrelin alleviates biliary obstruction-induced chronic hepatic injury in rats. *Regulat. Pept* 2008; 146: 73-79.
102. Sibilía V, Lattuada N, Rapetti D, Pagani F, Vincenza D, Bulgarelli I, et al. Ghrelin inhibits inflammatory pain in rats involvement of the opioid system. *Neuropharmacology* 2006; 51: 497-505.

- 103.** Xia Q, Pang W, Pan H, Zheng Y, Kang J.S, Zhu S.G. Effects of ghrelin on the proliferation and secretion of splenic T lymphocytes in mice. *Regulat. Pept* 2004; 122: 173-178.
- 104.** Gonzalez-Rey E, Chorny A, Delgado M. Therapeutic action of ghrelin in a mouse model of colitis. *Gastroenterology* 2006; 130: 1707-1720.
- 105.** Hattori N. Expression, regulation and biological actions of growth hormone (GH) and ghrelin in the immune system. *Growth Horm IGF Res* 2009; 19: 187-197.
- 106.** Yamamoto T, Takagawa S, Katayama I, Nishioka K. Anti-sclerotic effect of transforming growth factor-beta antibody in a mouse model of bleomycin-induced scleroderma. *Clin Immunol* 1999; 92: 6-13.
- 107.** Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. Biological, physiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 398-410.
- 108.** Murrell DF. A radical proposal for the pathogenesis of scleroderma. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 78-85.
- 109.** El Eter E, Al Tuwaijiri A, Hagar H, Arafá M. In vivo and in vitro antioxidant activity of ghrelin: Attenuation of gastric ischemic injury in the rat. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1791-1799.
- 110.** Li WG, Gavrilá D, Liu X, Wang L, Gunnlaugsson S, Stoll LL, et al. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells. *Circulation* 2004; 109: 2221-2226.
- 111.** Gabrielli A, Svegliati S, Moroncini G, Pomponio G, Santillo M, Avvedimento EV. Oxidative stress and the pathogenesis of scleroderma: the Murrell's hypothesis revisited. *Semin Immunopathol.* 2008; 30: 329-337.
- 112.** Arsalane K, Dubois CM, Muanza T, Begin R, Boudreau F, Asselin C, Cantin AM. Transforming growth factor-beta 1 is a potent inhibitor of glutathione

synthesis in the lung epithelial cell line A 549 transcription effect on the GSH rate-limiting enzyme gamma-glutamylcysteine synthetase. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17: 599-607.

- 113.** Ask K, Martin GE, Kolb M, Gauldie J. Targeting genes for treatment in idiopathic pulmonary fibrosis challenges and opportunities, promises and pitfalls. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3: 389-393.

6. ÖZGEÇMİŞ

1978 Diyarbakır doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Ergani’de tamamladım. 2004 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden mezun oldum. 2005 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda başladığım uzmanlık eğitimim devam etmektedir.