

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

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

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Yavuz DİK**

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

**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.

**Doç. Dr. Süleyman Serdar KOCA**

**Danışman**

**Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri**

.....

.....

.....

.....

.....

## **TEŞEKKÜR**

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

Bu tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) koordinasyon birimi tarafından 1784 numaralı proje ile desteklenmiştir.

## ÖZET

Skleroderma vasküler hasar, immünolojik anormallikler, deri ve iç organların yaygın fibrozu ile seyreden kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Rituksimab, B lenfositler için özgün olan CD20 antijenine karşı geliştirilmiş kimerik yapıda monoklonal bir antikor olup, B hücre depleksiyonuna neden olmaktadır. Rituksimab, günümüzde birçok otoimmün hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, bleomisin ile uyarılan deneysel skleroderma modelinde rituksimab uygulanmasının koruyucu etkinliğinin araştırılmasıdır.

Bu çalışmaya 4 grup (her grupta n=7) Balb/c fare alındı. Grup I'deki farelere, subkutan 100 µl/gün fosfat ile tamponlanmış salin (FTS); grup II, III ve IV'teki farelere ise subkutan 100 µg/gün bleomisin (1mg bleomisin 1ml FTS içerisinde çözündürülerek) uygulandı. Grup III ve IV'teki farelere bleomisine ek olarak, sırasıyla 50 µg ve 250 µg dozunda rituksimab intraperitoneal olarak 1. ve 14. günlerde uygulandı.

Tüm gruplardaki fareler 4 hafta sonunda sakrifiye edilerek, kan ve doku örnekleri alındı. TGF-β1 serum düzeyleri, dermal kalınlıklar, dermal inflamatuvar hücre sayıları 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 rituksimab uygulamaları birlikte başlanıldığında ise inflamatuvar hücre infiltrasyonu, miyofibroblastik hücre aktivitesi ve dermal fibroz gelişimi gözlenmedi.

Sonuç olarak, bleomisin ile uyarılan deneysel skleroderma modelinde rituksimabın fibroz gelişimini önüyor olması, B hücrelerinin skleroderma patogeneğinde rol alıyor olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Skleroderma, Bleomisin, Rituksimab

## ABSTRACT

### EFFECTIVENESS OF RITUXIMAB TREATMENT IN BLEOMYCIN-INDUCED EXPERIMENTAL SCLERODERMA

Scleroderma is a chronic inflammatory disease characterized by vascular injury, immunological abnormalities and widespread fibrosis of skin and internal organs. Rituximab is a chimeric monoclonal antibody against CD20 antigen of B lymphocytes and causes the depletion of B cells. Rituximab is also used in the treatment of several autoimmune diseases at the present day

The aim of this study was to evaluate the preventive efficacy of rituximab on bleomycin-induced experimental scleroderma model.

This study involved 4 groups Balb/c mice (n=7 in each group). Group I mice only received subcutaneously 100  $\mu$ l/day phosphate-buffered saline (PBS), whereas group II, III and IV mice were subcutaneously administrated 100  $\mu$ g/day bleomycin (1 mg bleomycin dissolved in 1ml PBS). In addition to bleomycin, group III and IV mice were received intraperitoneally 50  $\mu$ g and 250  $\mu$ g rituximab respectively on the first and fourteenth days.

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

Bleomycin administrations increased dermal thicknesses, the numbers of inflammatory cells on the dermal layer and activity of myofibroblastic cells. When rituximab is administrated together with bleomycin, skin fibrosis, infiltration of inflammatory cells and activity of myofibroblastic cells were not observed.

In conclusion, anti-fibrotic effect of rituximab on bleomycin-induced experimental scleroderma model may suggest that B cells have a role on the pathogenesis of scleroderma.

**Key Words:** Scleroderma, Bleomycin, Rituximab

## İÇİNDEKİLER

|                                                       |             |
|-------------------------------------------------------|-------------|
| <b>BAŞLIK SAYFASI</b>                                 | <b>i</b>    |
| <b>ONAY SAYFASI</b>                                   | <b>ii</b>   |
| <b>TEŞEKKÜR</b>                                       | <b>iii</b>  |
| <b>ÖZET</b>                                           | <b>iv</b>   |
| <b>ABSTRACT</b>                                       | <b>v</b>    |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>                                    | <b>vi</b>   |
| <b>TABLO LİSTESİ</b>                                  | <b>viii</b> |
| <b>ŞEKİL LİSTESİ</b>                                  | <b>ix</b>   |
| <b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>                            | <b>x</b>    |
| <b>1.GİRİŞ</b>                                        | <b>1</b>    |
| 1.1.Skleroderma                                       | 2           |
| 1.1.1. Tanım                                          | 2           |
| 1.1.2. Epidemiyoloji                                  | 2           |
| 1.1.3. Etiyoloji                                      | 2           |
| 1.1.4. Patogenez                                      | 3           |
| 1.1.5. Skleroderma Alt Grupları                       | 6           |
| 1.1.5.1. Lokalize Skleroderma                         | 6           |
| 1.1.5.2. Sistemik Skleroderma                         | 6           |
| 1.1.5.2.1. Yaygın Cilt Tutulumlu Skleroderma (dcSSc)  | 6           |
| 1.1.5.2.2. Sınırlı Cilt Tutulumlu Skleroderma (lcSSc) | 6           |
| 1.1.5.2.3. Skleroderma Sine Skleroderma               | 6           |
| 1.1.6. Organ Sistemlerinin Tutulumu                   | 6           |
| 1.1.6.1. Raynaud Fenomeni                             | 7           |
| 1.1.6.2. Cilt Tutulumu                                | 7           |
| 1.1.6.3. Böbrek Tutulumu                              | 8           |
| 1.1.6.4. Gastrointestinal Sistem Tutulumu             | 9           |
| 1.1.6.5. Akciğer Tutulumu                             | 9           |
| 1.1.6.6. Kalp Tutulumu                                | 10          |
| 1.1.6.7. Kas-İskelet Sistemi Tutulumu                 | 11          |
| 1.1.7. Tanı                                           | 11          |
| 1.1.8. Ayırıcı Tanı                                   | 12          |

|                                                             |           |
|-------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.1.9. Tedavi                                               | 13        |
| 1.1.9.1. Raynaud Fenomeninde Tedavi                         | 13        |
| 1.1.9.2. Cilt Tutulumunda Tedavi                            | 14        |
| 1.1.9.3. Böbrek Tutulumunda Tedavi                          | 14        |
| 1.1.9.4. Gastrointestinal Sistem Tutulumunda Tedavi         | 15        |
| 1.1.9.5. Akciğer Tutulumunda Tedavi                         | 15        |
| 1.1.9.6. Kalp Tulumunda Tedavi                              | 16        |
| 1.1.9.7. Kas-İskelet Sistemi tutulumunda Tedavi             | 17        |
| 1.1.9.8. Kalsinoz Tedavisi                                  | 17        |
| 1.2. Rituksimab                                             | 17        |
| 1.2.1. Rituksimabın Etki Mekanizması                        | 17        |
| 1.2.2. Rituksimabın Otoimmün Hastalıklarda Kullanımı        | 18        |
| 1.2.2.1. Rituksimabın Romatoid Artrit Tedavisinde Kullanımı | 18        |
| 1.2.2.2. Rituksimabın SLE Tedavisinde Kullanımı             | 18        |
| 1.2.3. Rituksimabın Güvenilirliği                           | 19        |
| <b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>                                   | <b>21</b> |
| 2.1. Deney Hayvanları                                       | 21        |
| 2.2. Deneysel Uygulamalar                                   | 21        |
| 2.3. Bleomisin ve Rituksimab Uygulamaları                   | 21        |
| 2.4. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması                    | 22        |
| 2.5. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Analizler        | 22        |
| 2.6. Serum Sitokin Analizleri                               | 22        |
| 2.7. İstatistiksel Analizler                                | 22        |
| <b>3. BULGULAR</b>                                          | <b>23</b> |
| <b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>                                 | <b>26</b> |
| <b>5. KAYNAKLAR</b>                                         | <b>29</b> |
| <b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>                                          | <b>41</b> |

## **TABLO LİSTESİ**

|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1.</b> Deneysel çalışma grupları ve gruplara uygulanan tedaviler                      | 21 |
| <b>Tablo 2.</b> Deneysel çalışma gruplarında TGF- $\beta$ düzeyleri ve histopatolojik bulgular | 23 |

## ŞEKİL LİSTESİ

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1.</b> Deneysel çalışma gruplarında dermal inflamatuvar hücre sayıları | 24 |
| <b>Şekil 2.</b> Deneysel çalışma gruplarında $\alpha$ -SMA+ hücre sayıları      | 24 |
| <b>Şekil 3.</b> Deneysel çalışma gruplarında dermal kalınlıklar                 | 25 |

## KISALTMALAR LİSTESİ

|                    |                                                  |
|--------------------|--------------------------------------------------|
| <b>ACE</b>         | : Anjiotensin konverting enzim                   |
| <b>ACR</b>         | : Amerikan romatoloji derneği                    |
| <b>ANA</b>         | : Antinükleer antikor                            |
| <b>Anti-Scl-70</b> | : Anti-topoizomeraz I                            |
| <b>BLM</b>         | : Bleomisin                                      |
| <b>CTGF</b>        | : Kollajen doku büyüme faktörü                   |
| <b>dcSSc</b>       | : Yaygın cilt tutulumlu sistemik skleroz         |
| <b>DMARDs</b>      | : Hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaçlar |
| <b>ESM</b>         | : Ekstraselüler matriks                          |
| <b>ET-1</b>        | : Endotelin-1                                    |
| <b>FDA</b>         | : Amerikan gıda ve ilaç dairesi                  |
| <b>FTS</b>         | : Fosfat ile tamponlanmış salin                  |
| <b>GİS</b>         | : Gastrointestinal sistem                        |
| <b>HLA</b>         | : İnsan lökosit antijeni                         |
| <b>HRCT</b>        | : Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi     |
| <b>lcSSc</b>       | : Sınırlı cilt tutulumlu sistemik skleroz        |
| <b>IL</b>          | : İnterlökin                                     |
| <b>ILD</b>         | : İnterstisyel akciğer hastalığı                 |
| <b>KKB</b>         | : Kalsiyum kanal blokerleri                      |
| <b>MHC</b>         | : Major histokompatibilite kompleksi             |
| <b>PAH</b>         | : Pulmoner arteryel hipertansiyon                |
| <b>PDGF</b>        | : Trombosit kaynaklı büyüme faktörü              |
| <b>RA</b>          | : Romatoid artrit                                |
| <b>RF</b>          | : Raynaud fenomeni                               |
| <b>SLE</b>         | : Sistemik lupus eritematoz                      |
| <b>SMA</b>         | : Düz kas aktini                                 |
| <b>SRC</b>         | : Skleroderma renal krizi                        |
| <b>TGF-β</b>       | : Transforme edici büyüme faktörü-β              |
| <b>Th</b>          | : Yardımcı T hücresi                             |
| <b>TNF</b>         | : Tümör nekroz faktör                            |

## 1. GİRİŞ

Skleroderma (sistemik skleroz, SSc), deri ve iç organların yaygın fibrozu ile karakterize sistemik otoimmün bir hastalıktır (1–3). Hastalığın patogenezi net olarak bilinmemekle birlikte, vaskülopati ve immün aktivasyon patogeneizde önemli roller almaktadır (1–3). Son çalışmalar, sistemik otoimmün hastalıkların gelişiminde B lenfositlerin önemli rol oynadığını göstermiştir (4, 5). Diğer taraftan, romatoid artrit (RA) ve sistemik lupus eritematoz (SLE) hastalarında, B lenfosit depleksiyonuna yol açan anti-CD20 antikor tedavisi ile başarılı sonuçlar bildirilmiştir (6, 7).

Sklerodermada hastalığa özgü otoantikorların varlığı, otoantikor tipi ile hastalığın klinik seyri arasındaki ilişki ve hipergamaglobulinemi, skleroderma patogenezinde B lenfositlerin rolüne işaret etmektedir. Diğer taraftan, sklerodermada B lenfosit homeostazında değişiklik, poliklonal hiperaktivasyon, duyarlı B lenfositlerde artış ve hafıza B lenfositlerde azalma olduğu gösterilmiştir (8–10).

Rituksimab, B lenfositler için özgün olan CD20 antijenine karşı geliştirilmiş, kimerik yapıda monoklonal bir antikordur (6). Rituksimab tedavisi, uzun süreli ve etkili bir şekilde B lenfosit depleksiyonuna yol açmaktadır (6).

Bleomisin (BLM), değişik kanserlerin tedavisinde sıkça kullanılmakta olan anti-tümör bir antibiyotiktir (11). Deneysel çalışmalarda, BLM uygulanmasının uygun bir skleroderma modeli oluşturduğu kanıtlanmıştır. *Balb/c* farelere 4 hafta süre ile hergün subkutan BLM uygulanmasının, skleroderma histopatolojisi ve laboratuvar bulgularını oluşturduğu bildirilmiştir (12, 13).

Nadir görülen bir hastalık olması ve kliniklerde izlenen hastaların da heterojen olması nedeniyle, sklerodermada ideal bir klinik çalışma planlanması ve yapılması oldukça zordur. Klinik çalışmaların yerini tam olarak alamayacağı bilinmesine karşın, deneysel hayvan modelleri, değişik insan hastalıklarının patogeneizlerinin anlaşılması ve yeni tedavi protokollerinin belirlenmesinde klinisyenlere önemli ipuçları sunabilmektedir (2).

Günümüzde, skleroderma patogenezi ile ilgili tartışmalar sürmektedir ve etkin bir tedavi protokolu bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, BLM ile uyarılmış deneysel skleroderma modelinde, rituksimabın fibroz gelişimini önleyici etkinliğinin belirlenmesidir.

## **1.1.Skleroderma**

### **1.1.1. Tanım**

Skleroderma deri ve iç organların fibrozu, vaskülopati, ekstraselüler matriks (ESM) sentezinde artış ve depolanma ile karakterize multisistemik kronik otoimmün inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın tipik bulgusu, deride sertlik ve kalınlaşma ile karakterize deri fibrozudur. Sklerodermada akciğer, kalp, gastrointestinal sistem (GİS) ve böbrekler sıklıkla tutulmaktadır (14). Sklerodermada otoimmünite ve inflamasyon, vasküler hasar ve fibroz hastalığın en belirgin özelliklerini yansıtan patofizyolojik triadı oluşturmaktadır (4).

### **1.1.2. Epidemiyoloji**

Skleroderma nadir görülen bir hastalık olup, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki prevalansı % 0.01–0.03 olarak bildirilmiştir. Skleroderma dünya genelinde görülebilen bir hastalıktır. Hastalık, kadınlarda erkeklere göre daha sık (kadın/erkek oranı 3:1) ve tipik olarak 30–50 yaşları arasında gözlenmektedir. Afrika kökenli Amerikalılarda, skleroderma daha erken yaşta başlamakta ve daha hızlı bir seyir izlemektedir (15).

### **1.1.3. Etiyoloji**

Sklerodermanın etiyolojisi bilinmemektedir. Ancak, genetik ve çevresel faktörler etiyolojiden sorumlu tutulmaktadır (16–19).

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 bildirilmiştir. Diğer taraftan, MHC allellerinin doğal seyirleri ve diğer genlerle ( HLA Bw35, DR1, DR5 veya HLA I-B8-DR3 vb.) olan ilişkileri tartışmalıdır (16).

İnsan lökosit antijenleri (HLA) ile skleroderma arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada (17), 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 (17).

Sklerodermanın genetik özellikleri yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Skleroderma tanılı olan bireylerin birinci dereceden akrabalarında, skleroderma

gelişme riskinin arttığı gösterilmiştir (18). İkizler arasında skleroderma görülme oranı, monozigot ve heterozigotların her ikisi için de % 4,7 olarak bildirilmiştir. Bu durum, genetik ilişkinin güçlü olmadığını göstermektedir. Diğer taraftan, antinükleer antikor (ANA) pozitifliği monozigot ve heterozigot ikizlerde sırasıyla % 90 ve % 40 olarak bildirilmiştir (18).

Skleroderma etiyolojisinde silika, vinil klorid, ağır metaller ve organik çözücüler gibi çevresel faktörler suçlanmaktadır (18). Ayrıca, sitomegalovirus, parvovirus, retroviruslar, Epstein-Barr virus gibi bazı viral etkenler skleroderma etiyolojisinden sorumlu tutulmaktadır (19).

#### **1.1.4. Patogenez**

Skleroderma, deri ve iç organlarda fibroz gelişimi ve mikrovasküler hasar ile karakterize, etiyolojisi tam olarak bilinmeyen multisistemik bir hastalıktır (20).

Sklerodermanın patogenezini tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte immün aktivasyon, vaskülopati, fibroblastik aktivasyon ve aşırı ESM sentezlenmesi hastalık patogenezinde önemlidir (20).

Skleroderma patogenezinde üzerinde en fazla durulan hipotez, aktive fibroblastların bu hastalıktaki efektör hücreler olduğudur. İmmün aktivasyon ve vasküler değişiklikler, fibroblastik aktivasyondan ve fibrozdan sorumlu tutulan temel patojenik mekanizmalardır (21).

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 (22).

İnterlökin-4, sklerodermadaki major fibrojenik sitokinlerden birisidir ve doku fibrozunun oluşmasından sorumlu tutulmaktadır (23). 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 (24). IL-4, sklerodermalı hastalarda kollajen sentezini artırır. Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) sentezini indükler (25).

Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$ , fibroz patogenezinde önemli rol oynar. TGF- $\beta$ , aktive olmuş makrofaj ve lenfositlerden salgınır ve fibroblastlar için güçlü bir kemoatraktandır. TGF- $\beta$  çeşitli kollajenlerin, proteoglikanların ve fibronektinin

sentezini uyarır. Ayrıca metaloproteinaz sentezini azaltır ve metaloproteinaz doku inhibitörlerinin sentezini artırır ve böylece ESM yıkımını inhibe eder (26). TGF- $\beta$ , vasküler düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerden kollajen doku büyüme faktörü (CTGF) sentezini de uyarmaktadır. CTGF, fibroz için önemli bir diğer büyüme faktörüdür (26).

Skleroderma ve diğer otoimmün hastalıklarda, IL-2 reseptör ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir (27). IL-2, temel olarak CD4<sup>+</sup> 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 (28).

Sklerodermalı hastaların derisinde bulunan mononükleer hücreler, ağırlıklı olarak CD8<sup>+</sup> T hücrelerinden sayıca daha fazla olan CD4<sup>+</sup> T hücreler ve makrofajlardır. Doğal öldürücü hücreler ise daha az sayıda bulunur (29).

Deneyisel skleroderma hayvan modellerinde, CD19 eksikliğinin fibrozda azalma ile sonuçlandığı gözlenmiştir. Bu durum, B hücrelerinin fibroz oluşumuna katkıda bulunuyor olabileceğini göstermektedir (29). Wollheim (30) çalışmasında, skleroderma hastalarının cilt biyopsilerinde, T lenfositler ile birlikte CD20<sup>+</sup> B lenfositlerin varlığını göstermiştir.

Sklerodermada hastalığa özgü otoantikorların saptanması, otoantikor tipi ile hastalık fenotipleri arasındaki ilişki ve hipergamaglobulinemi, B lenfositlerin skleroderma patogeneğinde rol alıyor olduğunu düşündürmektedir. Diğer taraftan, sklerodermada B lenfosit homeostazında değişiklik, poliklonal hiperaktivasyon, duyarlı B lenfositlerde artış ve hafıza B lenfositlerde azalma olduğu gösterilmiştir (10).

Hastalığın başlangıç aşamasında bile, kanda yüksek özgünlükte otoantikorlar saptanabilmektedir. Sklerodermaya özgü bu antikorların her birisi farklı klinik paternler ve hastalık prognozu ile ilişkilidir (31).

Sklerodermanın karakteristik antikorları; antisentromer, antitopoizomeraz-I (anti-Scl-70), anti-RNA polimeraz ve U3-RNP'dir (32-34). Sklerodermalı hastaların % 90'ından fazlasında ANA pozitif olarak saptanmaktadır. Antisentromer ve anti-Scl-70 antikorları, difüz ve sınırlı skleroderma ayırımında kullanılmaktadır. Antisentromer antikorların varlığı sınırlı sklerodermanın tanısını doğrularken, anti-

Scl-70 antikor pozitifliği daha çok difüz skleroderma ile ilişkilendirilmektedir. Anti-Scl-70 antikoru, skleroderma için son derece özgüdür ve interstisyel akciğer hastalığı (ILD) için yüksek risk ile ilişkilendirilmektedir (32).

Günümüzde, skleroderma ile ilişkili yeni otoantikorlar tanımlanmıştır. Anti-RNA polimeraz I ve III antikorları, sklerodermalı hastalarda deri ve renal tutulumla ilişkilendirilmektedir (32). Anti-RNA polimeraz II hem skleroderma hem de SLE'li hastalarda pozitif bulunurken (33), U3-RNP antikoru özellikle pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH)'lu skleroderma hastalarında saptanmaktadır (34).

Sklerodermada en erken oluşan fizyopatolojik olayın vasküler hasar olduğu kabul edilmektedir. Preklinik dönemde bile vasküler değişiklikler saptanabilmektedir. Vasküler hasar olasılıkla virusler, otoantikorlar, granzim veya serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stres nedeniyle oluşmaktadır (18).

İmmünolojik uyarı, iskemik reperfüzyon hasarı veya diğer yollarla oluşan endotelial hasar, prostasiklin salınımında azalmaya ve endotelin-1 (ET-1) üretiminde artışa neden olmaktadır (35).

Endotelin-1, son derece potent bir vazokonstriktördür. Endotel hücreleri tarafından üretilmekte ve vaskülopati gelişiminde anahtar rol oynamaktadır. ET-1 nitrik oksit düzeyini azaltıp, hücre büyümesi, arteriyel duvar kalınlaşması ve endotelial hücre disfonksiyonuna neden olmaktadır (36).

Güncel kanıtlara göre, aktive lenfositlerden salınan TGF- $\beta$  gibi büyüme faktörleri endotel hasarı ve interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ekspresyonu ve CTGF artışına ve böylece ESM ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) artışına neden olmaktadır. PDGF, fibrojenin temel aktörleri olan, fibroblastlar gibi mezenkimal hücreler için güçlü bir mitojenik büyüme faktörüdür (37).

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 (38).

Vaskülopati, klinik olarak sıklıkla Raynaud fenomeni (RF) şeklinde kendini gösterir. Vasküler hastalık ilerlediğinde tırnak yatağında kapiller değişiklikler,

kutanöz telenjektaziler, PAH, skleroderma renal krizi (SRC) ve gastrik vasküler ektaziler ortaya çıkar (31).

#### **1.1.5. Skleroderma Alt Grupları**

Skleroderma, klinik bulgulara göre lokalize ve sistemik skleroderma olarak iki alt gruba ayrılır (2).

##### **1.1.5.1. Lokalize Skleroderma**

En sık görülen lokalize skleroderma formu, morfeadır. Etkilenen deri dokusunun genişliğine göre morfealar; plak morfea, yaygın morfea, büllöz morfea, derin morfea ve lineer morfea şeklinde alt gruplara ayrılır. Lokalize formlarda, sistemik sklerodermadan farklı olarak RF, vasküler lezyonlar, otoimmün belirteçlerde pozitiflik ve iç organ tutulumu bulunmamaktadır (2, 39).

##### **1.1.5.2. Sistemik Skleroderma**

###### **1.1.5.2.1. Yaygın Cilt Tutulumlu Skleroderma (dcSSc)**

Semptomları değişkendir. Çoğunlukla RF bulunmaktadır. Yaygın cilt tutulumu, tendonlarda krepitasyon, pulmoner fibroz, PAH, difüz GİS tutulum, oligürik SRC, kalp yetmezliği, kardiyak aritmi görülebilir. Genellikle anti-Scl-70 antikor pozitif, antisentromer antikor negatiftir (2, 40).

###### **1.1.5.2.2. Sınırlı Cilt Tutulumlu Skleroderma (lcSSc)**

Raynaud fenomeni cilt tutulumundan yıllar önce ortaya çıkar. Cilt tutulumu eller, yüz ve ayaklar ile sınırlıdır. CREST (Kalsinoz, RF, özofageal dismotilite, sklerodaktili, telenjektazi) sendromu ve PAH görülebilir. Genellikle antisentromer antikor pozitif, anti-Scl-70 antikor negatiftir (2, 40).

###### **1.1.5.2.3. Skleroderma Sine Skleroderma**

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

#### **1.1.6. Organ Sistemlerinin Tutulumu**

Sklerodermada prognoz, organ tutulumu özellikle de akciğer, kalp, böbrek tutulumu ile ilişkilidir. En sık tutulum GİS'te olmasına karşın, yaşamı tehdit etmez. Ciddi organ tutulumları, sıklıkla sklerodermanın erken döneminde görülmektedir. Organ tutulumu olan hastaların yaşam süreleri oldukça kısadır (41).

#### **1.1.6.1. Raynaud Fenomeni**

Sklerodermalı hastaların % 95'inden fazlasında RF görülür. RF, soğuk veya strese karşı aşırı vasküler yanıt olarak tanımlanmaktadır. Bu vasküler yanıt, deride belirgin renk değişikliğine neden olur. Parmaklar daha sık etkilenir, yüzde de ataklar görülebilir. Tipik RF atağı, 3 fazlı bir olaydır. İlk faz, solukluk ile karakterizedir. Bu fazı siyanoz izler, daha sonra kan akımının yeniden sağlanması ile ağrılı eritem şeklinde 3. faz gözlenir. Bu 3 faz sırasıyla vazokonstriksiyon, iskemi ve reperfüzyon nedenleriyle oluşmaktadır. Ağır formlarda parmak uçlarında küçük iskemik nekroz alanları gözlenebilir (42).

Raynaud fenomeni, Leroy ve ark. (43) tarafından önerildiği şekilde, primer ve sekonder tip olarak sınıflandırılmaktadır.

**Primer Raynaud fenomeni;** Primer RF, altta yatan herhangi bir neden bulunmaksızın meydana gelir. Sıklıkla, 15–30 yaşlar arasındaki kadınlarda görülmektedir. Hastaların yaklaşık % 30'nun birinci derece akrabalarında, RF öyküsü bulunmaktadır. Bu grupta sedimantasyon hızı normal, otoantikörler negatif ve normal kapilleroskopi bulguları vardır. Periferik nabızlar normaldir, parmaklarda ülser ve skar gözlenmez (43).

**Sekonder Raynaud fenomeni;** Sekonder RF'nin en sık nedenleri skleroderma, SLE ve diğer bağ dokusu hastalıklarıdır. Sekonder RF'li hastalarda genellikle ciddi parmak iskemisi, dijital ülserler ve sıklıkla ağrı bulunmaktadır. Bu grupta otoantikörler pozitif ve anormal tırnak yatağı kapilleroskopi bulguları vardır (43).

#### **1.1.6.2. Cilt Tutulumu**

Sklerodermanın cilt tutulumunda sırasıyla ödematöz, enduratif ve atrofik fazlar birbirlerini izler. Hastalar başlangıçta özellikle sabahları ortaya çıkan gerginlikten ve parmaklardaki 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 engellenmesine ve kıl folikülleri, ter bezleri ve yağ bezlerinin kaybına neden olur. Sonuçta, saç kaybı ve terlemede azalma başlar. Eritem gözlenebilir, ancak sıklıkla hiperpigmentasyon veya hipopigmentasyon bulunmaktadır. Yüzdeki değişiklikler karekteristiktir. ‘Sıkılmış burun’ görünümü vardır. lcSSc’de telenjiektaziler daha belirgindir. Yıllar sonra deri sertliği yumuşamaya başlar veya normal kalınlığına geri döner ya da normal deriden daha ince bir hal alır (atrofik faz) (42).

Sklerodermada, sıklıkla dijital ülserler görülebilir ve genellikle iskemi nedeniyle oluşmaktadırlar. Hastaların çoğunda, birlikte RF de bulunmaktadır. Dijital ülserler, hızla ilerleyen vasküler bir patoloji olup skleroderma hastalarının yaklaşık % 50’sinde görülmektedir. Dijital ülserler, skleroderma hastaları için önemli bir klinik bulgudur. Hastalarda ağrı ve fonksiyon kaybına neden olur. Ayrıca, belirgin şekil bozukluğuna yol açar. Dijital ülserler enfekte olduğunda gangren, osteomiyelit ve amputasyona neden olabilir (44).

#### **1.1.6.3. Böbrek Tutulumu**

Sklerodermanın iç organ tutulumları arasında en kötü prognoz ve en yüksek mortalite nedeni böbrek tutulumudur. Klinik olarak, skleroderma hastalarının % 10–40’ında böbrek tutulumu bulunmaktadır. Ancak, bu oran otopsilerde % 80’lere ulaşmaktadır (45). Difüz deri tutulumlu hastalar, görme bozuklukları ve baş ağrılarının görüldüğü malign arteryel hipertansiyonla karekterize akut SRC için yüksek risk taşırlar (46). Ek olarak, Anti-RNA polimeraz III antikor varlığı da akut SRC ile ilişkilendirilmiştir (32). ACE inhibitörleri, SRC’ye bağlı ölümleri azaltmıştır. ACE inhibitörlerinin kullanımından önce, SRC 6 hafta içinde diyaliz veya ölümlerle sonuçlanırdı. ACE inhibitörlerinin kullanımı ile diyaliz gereksinimi ya tamamen ortadan kalkmakta ya da geçici diyaliz gerekmektedir (45).

Skleroderma renal krizi, çoğunlukla ilk 4 yılda gelişmektedir. Ancak, SRC’nin kronik formu yıllar sonra ortaya çıkar ve hastaların % 50’sinde renal fonksiyonlarda ılımlı azalma dışında klinik bulgu göstermez. Proteinüri (<1gr/24 saat), azotemi (BUN >25 mg/100 ml), arteryel hipertansiyon (>140/90 mmHg) ve glomerüler filtrasyon hızında azalma belirlendiğinde SRC olasılığı düşünülmelidir (46).

#### **1.1.6.4. Gastrointestinal Sistem Tutulumu**

Sklerodermada, GİS sıklıkla tutulmaktadır. Özofagus tutulumu % 85 sıklıkta görülmektedir. Disfaji, hipomotilite, gastroözofageal reflü, peptik özofajit, Barret metaplazisi ve fibrotik strüktürler görülebilmektedir (47).

Gastrointestinal sistem tutulumunun karakteristik özelliği, düz kas fibrozudur. GİS tutulumunun histopatolojisinde, lamina propria ve bazı segmentlerde infiltrasyonlar, atrofi, düz kas hücrelerinde kollajen birikimi ve kan damarlarında düzensizlik görülebilir (47).

Sklerodermanın gastrik belirtileri, gastrik vasküler değişikliklerin neden olduğu gastrik antral vasküler ektazi, gastroparezi, telenjiyektazi ve ‘karpuz mide’ olarak sıralanabilir. Bazı hastalarda, postprandiyal abdominal distansiyon ve kramp tarzında abdominal ağrı saptanabilir. Ayrıca, üst GİS kanaması da görülebilir (48).

Peristaltik anormallikler gastrik boşalmayı geciktirmektedir. İntestinal ansların genişlemesi, psödoobstrüksiyonlar ve malabsorbsiyon görülebilir. Ek olarak, divertiküler ülserasyonlar, stenoz, kronik konstipasyon, megakolon ve rektal prolapsus gelişebilir (49).

Sklerodermada karaciğer nadir olarak tutulmaktadır. Sağ kalp hastalıklarına ikincil karaciğer tutulumu olabilmektedir. Buna karşın, primer biliyer sirozun skleroderma ile birlikteliği sıktır. Sklerodermada, pankreasın ekzokrin fonksiyonları sıklıkla azalmıştır. Ancak, hastalarda pankreasa ilişkin klinik bulgular nadir olarak görülmektedir (50).

#### **1.1.6.5. Akciğer Tutulumu**

Sklerodermada GİS’den sonra en sık tutulan organ akciğerlerdir. Akciğer tutulumu, % 40–90 sıklığında bildirilmektedir. Erkek cinsiyet, dcSSc, difüzyon kapasitesinde azalma ve inflamatuvar belirteçler akciğer tutulumunun şiddeti ile ilişkilendirilmektedir (51).

Sklerodermada ILD ve PAH olmak üzere iki tip pulmoner tutulum izlenmektedir (52). ILD, hem lcSSc hem de dcSSc tiplerlerinde en sık karşılaşılan pulmoner tutulum tipidir. ILD prevalansı tanının akciğer grafisi, yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi (HRCT) veya solunum fonksiyon testleriyle konulmasına göre % 33–90 arasında değişmektedir (53).

Sklerodermada, akciğerlerdeki fibroblastların kollajen yapımı artmıştır. Hastalığın erken dönemlerinde, akciğer hasarı başlamadan önce, alveollerde inflamatuvar hücre birikimi olmaktadır. Sklerodermada, akciğer fibrozu alveolit geliştikten sonra başlamaktadır. Sklerodermadaki alveolit alveoler makrofaj, lenfosit, nötrofil ve eozinofillerin birikimiyle karakterizedir (54).

Sklerodermada akciğer fibrozu akciğer fonksiyonlarında bozulmaya, respiratuar volümde ve difüzyon kapasitesinde azalmaya neden olur (54).

Pulmoner arteriyel hipertansiyon, hastaların yaklaşık % 10-15'inde görülmektedir. Ancak, sağ kalp kateterizasyonu ve ekokardiyografi ile hastaların % 20-40'ında PAH saptanabilir. PAH, IcSSc'de dcSSc'den daha sık görülmektedir (42).

Pulmoner arteriyel hipertansiyon, sklerodermada başta gelen ölüm nedenlerindendir. PAH varlığında 5 yıllık yaşam süresi, % 90'dan % 50-70'lere inmektedir (55).

Pulmoner arteriyel hipertansiyonda arteriollerde konsantrik intima proliferasyonu, mediada hipertrofi ve miksomatoid dejenerasyon görülmektedir. Sonuçta, damar lümeninde daralma ve pulmoner sirkülasyon basıncında artış görülür (51). CREST sendromunda, fibroz bulunmaksızın irreversible PAH gelişebilmektedir (56). PAH'ın en iyi tarama yöntemi, doppler ekokardiyografidir (51).

#### **1.1.6.6. Kalp Tutulumu**

Skleroderma hastalarında sıklıkla kardiyak tutulum bulunmaktadır. Ancak, klinik belirtiler göstermeyebilir. Dispne ve retrosternal ağrı, genellikle akciğer veya özofagus gibi diğer organlardan kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, senkop ve angina pectoris küçük arterlerdeki endotel hasarı veya miyokardiyal fibroz gibi nedenlerden kaynaklanabilmektedir. Primer kardiyak tutulum miyokardiyal fibroz sonucu oluşmaktadır. Sklerodermalı hastaların otopsilerinde % 30-80 sıklığında miyokardiyal fibroz saptanmaktadır. Klinik belirtiler % 20-25 sıklığındadır ve 5 yıllık yaşam süresi % 70'tir (57).

Sklerodermanın kalp tutulumları arasında sol ventrikül yetmezliği veya total kalp yetmezliği, miyokardit, efüzyonlu veya efüzyonsuz perikardit, kapak anormallikleri, supraventriküler veya ventriküler aritmiler sayılabilir (42). En sık

görülen elektrokardiyografik değişiklikler; ileti sistemi bozuklukları (%7), infarkt belirtileri (% 13) ve nonspesifik ST ve T dalgası değişiklikleri (%14) olarak bildirilmiştir. Skleroderma hastalarında, aritmiler sık görülmektedir. Hastaların % 19'unda ventriküler taşikardi saptanmıştır. Ekokardiyografi, perikardiyal efüzyonu ve kapak anormalliklerini göstermede en duyarlı yöntemdir. Perikardit, skleroderma hastalarının % 10–15'inde görülmektedir (57).

#### **1.1.6.7. Kas-İskelet Sistemi Tutulumu**

Sklerodermalı hastalarda, kas güçsüzlüğü çok yaygın olarak gözlenen bir bulgudur (% 60–70). Sklerodermadaki kas tulumu, kreatin kinaz ve aldolaz düzeylerindeki minimal artış ve elektromiyografideki polifazik motor ünit potansiyelleri ile gösterilebilmektedir. Bununla birlikte, hastaların % 6–12'sinde inflamatuvar poliartrit ile polimiyozit ayırt edilemeyebilir (58).

Sklerodermalı hastaların 2/3'ünde, ilk bulgu artrit olabilir. Sıklıkla, artrit tipik cilt değişikliklerinden sonra ortaya çıkmaktadır. Hastalık başlangıcında yakınmalar RA ile benzerlik göstermesine karşın, skleroderma RA'e göre daha az destrüktif bir hastalıktır. Sklerodermadaki kontraktürler, tendon ve periartiküler bölgedeki yapıların fibrozundan kaynaklanmaktadır. Tendonların etrafındaki bölgeler etkilendiğinde, eklemlerin aktif ve pasif hareket açıklığı kısıtlı ve ağrılıdır (59). dcSSc'de sıklıkla simetrik poliartralji, sinovit ile birlikte veya sinovit bulunmaksızın eklemlerde sertlik, miyalji ve deride şişlik gözlenebilir (42).

Skleroderma hastalarının % 6'sında kemik tutulumu görülebilir. Proksimal falanksalar ve metakarpal kemiklerde erozyonlar, terminal falanksalarda taft rezorbsiyonu ve eklem komşuluğunda osteoporoz görülebilir. Sklerodermada, hastaların % 9–15'inde eklem aralığında daralma ve marjinal erozyonlar görülebilir (60).

#### **1.1.7. Tanı**

1980 yılında, Amerikan Romatizma Birliği (ACR) tarafından skleroderma sınıflama kriterleri geliştirilmiştir (61). Bu kriterlerin duyarlılığı % 97 ve özgüllüğü % 98 olarak bildirilmiştir. Bir majör ya da iki veya daha fazla minör kriter varlığında, hasta skleroderma olarak kabul edilmektedir (61).

### **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 atrofi: İskemiye bağlı olarak parmak ucu yumuşak dokunun kaybolması
- 3- Baziler pulmoner fibrozis: Akciğer bazallerinde bilateral retiküler paternde nodüler dansite artışı

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 yararlı olmaktadır (42).

Sklerodermalı hastalarda, deri fibrozunun derecesi değişkendir. Hastalığın erkenevresinde, en sık tutulum yeri ellerdir. Hastalık başlangıcında, ilk birkaç ay, artralji ve yumuşak doku şişliği deri sertliğinden daha ön planda olabileceğinden tanıda güçlük çekilebilir. Kalsinoz ve telenjiektazi gibi deri bulguları, tanının doğrulanmasına yardımcı olmalarına karşın erken dönemde sıklıkla görülmezler. Akciğer grafisi, HRCT, akciğer fonksiyon testleri, ekokardiyografi ve sağ kalp kateterizasyonu tanının doğrulanması açısından yararlı tetkiklerdir (62).

Skleroderma, bir veya daha fazla bağ doku hastalığı ile birlikte görülebilir ve bu durumlar çakışma sendromu olarak bilinmektedir. Serolojik testler, skleroderma veya çakışma sendromlarının tanısında yardımcı olabilirler. Ancak, negatif serolojik testler skleroderma tanısını dışlatmaz (63).

### **1.1.8. Ayırıcı Tanı**

Skleroderma ile RF arasındaki ilişki çok iyi bilinmektedir. Skleroderma hastalarının yaklaşık % 95'inde RF görülüyor olması, IcSSc'de RF'nin cilt tutulumundan yıllarca önce başladığı dikkate alındığında RF yapan primer ve sekonder tüm durumlar skleroderma ayırıcı tanısında yer almaktadır (64, 65).

Mesleksel olarak çeşitli kimyasal maddelerle uğraşmalar (vinil klorid, silika, ağır metaller, solventler), ilaçlar (BLM, sisplatin, ergotamin, beta blokerler, karbidopa, 5-hidroksitriptofan) ve skleroderma dışı inflamatuvar hastalıklar ayırıcı tanıda sorgulanması gerekli durumlardır (64, 65).

Lokalize skleroderma, eozinofilik fasiit, eozinofili miyalji sendromu, çakışma sendromları, amiloidoz, paraproteinemiler ve insüline bağımlı diabetes mellitusun cilt bulguları skleroderma ile benzerlikler sergilemektedir (64, 65).

Diabetes mellitus, idiopatik pulmoner fibroz, PAH, sarkoidoz, amiloidoz, infiltratif kardiyomyopatiler, malign hipertansiyon, skleroderma dışındaki bağ dokusu hastalıkları ve primer bilier siroz sklerodermaya benzer iç organ tutulumlarına yol açabilmektedir (64, 65).

#### **1.1.9. Tedavi**

Günümüzdeki tedavi yaklaşımları sklerodermanın bazı bulgularını kontrol altına alabiliyor olsa da skleroderma için standart ve onaylanmış bir tedavi protokolu bulunmamaktadır (66).

Tedaviye başlamadan önce, iç organ tutulumları ve organ fonksiyon bozukluklarının bulunup bulunmadığı dikkatli şekilde araştırılmalıdır. Öykü, fizik bakı, laboratuvar testleri ve görüntüleme yöntemleri skleroderma hastalığının tanısı ve organ tutulumları konusunda yeterli bilgiyi sağlayabilir. Sklerodermada tedavi, temel olarak organ sistemlerinin tutulumuna göre planlanmalı ve yapılmalıdır (66).

##### **1.1.9.1. Raynaud Fenomeninde Tedavi**

Raynaud fenomeni tedavisinde, soğuktan korunmak çok önemlidir. RF olan hastalara el ve ayaklarını sıcak tutmaları, sıcak tutan giysiler giymeleri ve sigara kullanımından kaçınmaları önerilmelidir. Primer veya sekonder RF olan hastalara, periferik vazokonstriksiyon yapan (beta blokerler vb.) veya semptomimetik etkili ilaçlar (dekonjestanlar vb.) verilmemelidir (67). RF tedavisinde, kalsiyum kanal blokerleri (KKB) en sık kullanılan ilaçlardır. 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 (68).

Raynaud fenomeni tedavisinde KKB'nin kullanılmadığı durumlarda ACE inhibitörleri, anjiotensin reseptör blokerleri,  $\alpha$  reseptör blokerleri ve fosfodiesteraz-5 inhibitörleri gibi vazodilatör ilaçlar kullanılabilir (66, 68).

Yaşam tarzı değişiklikleri ve vazodilatör ilaç kullanımına karşın yakınmaları devam eden hastalarda, sempatektomi uygulanabilmektedir. Sempatektominin primer RF'li hastalara yararlı olduğu, sekonder RF olan hastalarda ise yararsız olduğu bildirilmiştir (66, 68).

Şiddetli RF olan hastalarda, dijital ülserler gelişebilmektedir. Dijital ülserler geliştiğinde klasik tedavilere ek olarak, bir prostaglandin analogu olan iloprost (0,5–2 ng/kg/dak) intravenöz uygulanabilir (66, 68).

#### **1.1.9.2. Cilt Tutulumunda Tedavi**

Günümüzde, sklerodermadaki deri tutulumunun tedavisinde kullanılabilecek onaylanmış bir temel etkili ilaç bulunmamaktadır (68). Kortikosteroidler, hastalık progresyonu üzerine etkili değildirler (45) ve SRC'yi provake edebilirler (69).

Önceki yıllarda deri sertliğini azaltmada etkin olduğu bildirilmiş olan D-penisilaminin, güncel bilgiler ışığında, etkinliği tartışmalıdır. Randomize kontrollü çalışmalarda D-penisilaminin yüksek dozlarda kullanılmasının düşük dozlarda kullanımından daha etkili olmadığı (70), metotreksatın erken dönem dcSSc'de deri skorunda klinik düzelme sağladığı (71), ILD tedavisinde sıklıkla kullanılmakta olan siklofosfamidin deri tutulumu üzerine de etkili olduğu (72) bildirilmiştir.

#### **1.1.9.3. Böbrek Tutulumunda Tedavi**

Skleroderma renal krizi, malign hipertansiyon ve hızlı ilerleyen böbrek yetmezliği ile seyreden önemli ve özgül 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 (73).

Skleroderma renal krizi tedavisinde, ACE inhibitörler ilk seçilecek ilaçlardır. ACE inhibitörleri, hem mortaliteyi hem de diyaliz gereksimini azaltmaktadır (73).

Skleroderma renal kriz gelişimi yüksek olan hastalarda, kan basıncı izlemleri haftada bir yapılmalı ve sistolik ve diyastolik kan basınçları düzenli şekilde

kaydedilmelidir (66). Kortikosteroid kullanan sklerodermalı hastalar, SRC gelişimi açısından risk taşırlar. Bu hastalarda, haftada birkaç gün kan basıncı ölçülmesi önerilmektedir (69).

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 (62).

#### **1.1.9.4. Gastrointestinal Sistem Tutulumunda Tedavi**

Sklerodermada GİS tutulumu genellikle kolay bir şekilde tedavi edilebilir. En sık görülen semptomlar olan gastroözofageal reflü ve özofageal dismotilite prokinetik ilaçlar, H<sub>2</sub> blokerleri ve proton pompa inhibitörleri ile tedavi edilmektedir. Ayrıca, karyola baş kısmının yükseltilmesi ve uygun diyet yaklaşımları (sık ve az yemek, yatmadan önce yemek yememek vb.) önerilir. Özofageal darlıkları olan hastalarda, periyodik endoskopik dilatasyonlar yapılabilir (62).

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 (62).

#### **1.1.9.5. Akciğer Tutulumunda Tedavi**

Sklerodermada akciğer tutulumunun tedavisi,ILD ve PAH tedavisi şeklinde iki ana gruba ayrılmaktadır (52).

Sklerodermalı tüm hastalar,ILD gelişimi açısından dikkatle izlenmelidir. Solunum foksiyon teslerinde restriktif bir patern gösteren veya HRCT’de interstisyel fibroz belirlenen hastalar, hastalığın ilerlediğine yönelik kanıtlar varsa immünsüpresif ilaçlarla tedavi edilmelidirler (66).

Randomize kontrollü bir çalışmada (74),siklofosfamidILD tedavisinde etkin bulunmuş ve Avrupa Romatoloji Birliği (EULAR) tarafından akut alveoliti olanILD’li skleroderma hastalarının tedavisinde önerilmiştir (74). Ancak, siklofosfamid lökopeni, infertilite, hemorajik sistit, alopesi ve enfeksiyonlara yatkınlık gibi kullanımını sınırlayan yan etkilere sahiptir. Ek olarak, mesane kanseri ve ikincil maligniteler ile ilişkilendirilmiştir (74).

Sklerodermalı tüm hastalar, pulmoner basınç artışı açısından ekokardiyografi ile değerlendirilmelidir. İzole PAH'lı hastaların pulmoner fonksiyon testlerinde, difüzyon kapasitelerinde azalma görülmektedir. lcSSc'li hastalarda, akciğerlerde fibroz bulunmaksızın izole PAH gelişebilmektedir (51, 56).

Pulmoner arteriyel hipertansiyon tedavisinde, öncelikle hastanın fonksiyonel durumu değerlendirilmeli ve vazoreaktivite testi yapılmalıdır. Vazoreaktivite testi pozitif olan hastaların, KKB tedavisinden yararlandıkları gösterilmiştir. Vazoreaktivite testi negatif olan hastalar ise KKB tedavisinden yararlanamamaktadırlar. Bu hastalarda fonksiyonel durumlarına göre prostasiklin analogları, endotelin reseptör antagonistleri, fosfodiesteraz-5 inhibitörleri kullanılabilmektedir (75).

Prostasiklin analoglarından iloprost, epoprostenol ve treprostinil kullanılmaktadır (75). Epoprostenol ile yapılmış randomize kontrollü bir çalışmada (76), PAH'lı skleroderma hastalarında egzersiz kapasitesi, dispne skoru ve kardiyopulmoner hemodinaminin düzeldiği ve yaşam süresinin uzadığı bildirilmiştir.

Bosentan, siteksentan ve ambrisentan, güçlü bir vazokonstriktör olan ET-1'in reseptör antagonistleridir. ET-1'in endotelin A ve endotelin B olmak üzere iki reseptörü vardır. Bosentan, endotelin A ve B antagonistidir. Siteksentan ve ambrisentan ise spesifik endotelin A antagonistleridir (75). Bosentan, potent bir vazokonstriktör ve düz kas mitojeni olan ET-1'i antagonize ederek pulmoner basıncı düşürmektedir. Bosentan, PAH'lı hastalarda egzersiz kapasitesini, pulmoner vasküler direnci ve pulmoner arter basıncını azaltmaktadır (75).

Sildenafil, bir fosfodiesteraz-5 inhibitörüdür ve pulmoner vasküler direnç indeksini azaltarak pulmoner vazodilatasyona neden olur (75). Sildenafil ile yapılmış randomize kontrollü bir çalışmada (77), PAH'lı skleroderma hastalarında egzersiz kapasitesi, dispne skoru ve kardiyopulmoner hemodinaminin düzeldiği ve yaşam süresinin uzadığı gösterilmiştir.

#### **1.1.9.6. Kalp Tulumunda Tedavi**

Sklerodermada, kardiyak tutulum klinik olarak belirgin olmamasına karşın, yaygın miyokardiyal tutulum gözlenebilmektedir. Duyarlı yöntemler kullanıldığında, hastaların % 100'ünde miyokardiyal tutulum olduğu varsayılmaktadır (78). Klinik

olarak veya endomiyokardiyal biyopsi ile miyokardit saptanırsa, yüksek doz glukokortikoid tedavisi uygulanabilir (79).

Semptomatik perikardit varlığında, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar veya düşük dozda kortikosteroidler kullanılabilir. Ciddi aritmiler ise antiaritmik ilaçlarla tedavi edilmelidir (79).

#### **1.1.9.7. Kas-İskelet Sistemi tutulumunda Tedavi**

Artralji ve miyalji yakınmaları olan hastalar, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar ile tedavi edilebilirler (79).

#### **1.1.9.8. Kalsinoz Tedavisi**

Kalsinoz (yumuşak doku kalsifikasyonu), sklerodermalı hastalarda % 25 sıklığında 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 (80).

Kalsinozu önlemek veya eradike etmek için birçok ilaç denenmiş olmasına karşın, etkin bir tedavisi bulunmamaktadır. Yüzeyel ve küçük kalsinozlarda lazer tedavisi, büyük kalsinozlarda cerrahi işlemler uygulanabilir (80).

### **1.2. Rituksimab**

Rituksimab, B lenfositlere özgü CD20 antijenine karşı geliştirilmiş, kimerik yapıda monoklonal bir antikordur (6). Rituksimab tedavisi, uzun süreli ve etkili bir şekilde B lenfosit deplesyonuna yol açmaktadır (6). Rituksimab, düşük evre non-Hodgkin lenfoma (NHL) tedavisinde Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır (81). Rituksimab, günümüzde birçok otoimmün hastalığın tedavisinde artan sıklıkta kullanılmaktadır (82).

#### **1.2.1. Rituksimabın Etki Mekanizması**

Rituksimabın B hücre deplesyonuna yol açmasında çok sayıda mekanizma aracılık etmektedir (83). Bu mekanizmalardan biri veya hepsi B hücre deplesyonunu aktive edebilir. Rituksimab, antikora bağımlı hücresel sitotoksite aracılığıyla, doğal öldürücü hücreler tarafından B hücre ölümünü artırabilir (83). FcγRIIIA–158 gen polimorfizminin, rituksimab aracılı antikora bağımlı hücresel sitotoksite yanıtını artırdığı ve rituksimab ile elde edilen klinik yanıtı iyileştirdiği gösterilmiştir (84).

Rituksimabın, B hücreleri üzerindeki CD20'ye doğrudan çapraz bağlanıp, tümör hücrelerinin apoptozunu indüklediği gösterilmiştir (83). Rituksimabın indüklediği apoptozda, p38 ve MAP kinaz aktivasyonu önemli rol oynamaktadır (85).

Rituksimabın malign ve patolojik B hücrelerine farklı yatkınlık göstermesi CD46, CD55 ve CD59 gibi hedef hücre üzerinde bulunan tamamlayıcı reguler proteinlerin varlığına bağlıdır. Çeşitli çalışmalar, aşırı miktarda tamamlayıcı reguler protein varlığının rituksimabın işlevini engellediği ve rituksimab tedavisine karşı direnç geliştirdiğini göstermiştir (86).

#### **1.2.2. Rituksimabın Otoimmün Hastalıklarda Kullanımı**

Son çalışmalar, sistemik otoimmün hastalık gelişiminde B lenfositlerin önemli rol oynadığını göstermiştir (4, 5). Diğer taraftan, RA ve SLE hastalarında, B lenfosit depleksiyonuna yol açan anti-CD20 antikör tedavisi ile başarılı sonuçlar bildirilmiştir (6, 7).

##### **1.2.2.1. Rituksimabın Romatoid Artrit Tedavisinde Kullanımı**

Rituksimabın RA tedavisindeki etkinliği, randomize kontrollü çalışmalarda gösterilmiştir (87,88).

Rituksimabın tek başına veya hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaçlar (DMARD)'dan metotreksat ve siklofosfamid ile kombine kullanım etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada (87), rituksimabın tek başına kullanımı ile % 38 hastada ACR 20 yanıtı elde edilmiş ve DMARD'lar ile kombine kullanımının daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Etkin dozun araştırıldığı bir çalışmada (88), rituksimabın 500 ve 1000 mg dozları arasında etkinlik açısından bir farklılığın olmadığı ve rituksimabın metotreksat ile kombine kullanımının, tek başına metotreksat kullanımından daha etkili olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmalar, RA'da diğer tedavilere dirençli durumlarda rituksimab tedavisinin etkinliğini göstermektedir (87, 88). 2006 yılında FDA, anti-TNF tedavisine yanıt vermeyen RA hastaları için rituksimab tedavisine onay vermiştir (89).

##### **1.2.2.2. Rituksimabın SLE Tedavisinde Kullanımı**

Randomize kontrollü çalışmalar (90–92), SLE tedavisinde kullanılmakta olan DMARD'lar ve kortikosteroidlerin ilk basamak tedavide etkili olmadığı durumlarda, rituksimab tedavisinin etkili olduğunu göstermiştir.

Rituksimab ile yapılmış olan kontrollü bir çalışmada (90), 208 SLE hastasının 159'unda, lupus değerlendirme skorlarına (BILAG, SLEDAI, SLAM) göre, klinik yanıtta ve renal fonksiyonlarda düzelme ve kullanılan steroid dozlarında azalma saptanmıştır. Özellikle, nöropsikiyatrik semptomu olan hastalarda belirgin düzelme gözlenmiştir.

Diğer bir kontrollü çalışmada (91), B hücre depleasyonu, klinik düzelmeye paralel şekilde dsDNA ve serum C3 düzeylerinde belirgin düzelme sağlamıştır. Buna karşın, diğer bir çalışmada (92) ise klinik düzelme ile dsDNA ve C3 düzeylerindeki azalma korale bulunmamıştır.

Sistemik lupus eritematoz, çocuklarda daha ciddi seyretmektedir ve daha agresif tedavi gerektirir. SLE'de, hastalık başlangıç yaşı ve Fc reseptör tipi arasında bir ilişki bulunmaktadır (93). Ek olarak, SLE'li çocuklarda tek tip Fc reseptörünün belirlenmiş olması ve rituksimabın etkisinin FcγRIIIA reseptör genotipi üzerinden olması (85) nedeniyle, çocuklarda yetişkin SLE tedavisinden farklı sonuçlar saptanıyor olması olasıdır (93). SLE'li çocuklarda yapılmış iki çalışmada (93, 94), rituksimab tedavisinin etkili olduğu gösterilmiştir. Her iki çalışmada da farklı güvenilirlik sonuçları bulunmasına karşın, rituksimab tedavisinin etkinliğinin yüksek olduğu kanıtlanmıştır.

### **1.2.3. Rituksimabın Güvenilirliği**

Şimdiye kadar yapılmış çalışma sonuçlarına göre, rituksimab tedavisi güvenli gözükmektedir. Rituksimab tedavisinin başlıca yan etkileri, infüzyon reaksiyonları ile ilişkilidir. Bu reaksiyonlardan başlıcaları hipotansiyon, bulantı-kusma, baş ağrısı, deri döküntüsü, üşüme-titrete, yorgunluk ve grip benzeri semptomlardır (95). Bu reaksiyonlar, ilk uygulamada daha sık görülmekte olup tekrarlanan uygulamalarda azalmaktadır. Rituksimab tedavisi öncesi, premedikasyon amacıyla, antihistaminik, parasetamol ve intravenöz kortikosteroid uygulanması reaksiyonların hem insidansını hem de şiddetini azaltmaktadır (96). Bu infüzyon reaksiyonları, rituksimab kullanılan diğer otoimmün hastalıklarda da benzer şekilde görülmektedir (96). Rituksimaba bağlı infüzyon reaksiyonları, RA'da lenfomaya göre daha az görülmektedir (95).

Rituksimab tedavisi ile ciddi enfeksiyonların riskinde bir artış görülmemektedir (97). Ciddi enfeksiyonların sıklığı rituksimab grubunda % 2.3,

plasebo grubunda % 1.5 olarak belirtilmektedir (97). Başlıca ciddi enfeksiyonlar solunum sistemi enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları ve tüberkülozdur (97).

2006 yılında FDA, SLE tanısı nedeniyle rituksimab tedavisi alan bir hastada ‘Progresif multifokal lökoensefalopati’ geliştiğini raporlamıştır (98). RA’da veriler henüz sınırlı olmasına karşın, ‘Progresif multifokal lökoensefalopati’ semptomları için iyi bir izlem önerilmektedir (99).

Rituksimab, onkolojide sıklıkla hepatit B virus reaktivasyonu ile ilişkili bulunurken, romatolojik hastalıklardaki hepatik güvenilirliği hala bilinmemektedir (100).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

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

### 2.1. Deney Hayvanları

Deneylerde kullanılan *Balb/c* cinsi dişi fareler, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden alındı. Fareler, havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler özel çelik kaplarda, su da paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikası'nda özel olarak hazırlanan pelletler halindeki fare yemleriyle beslendi.

### 2.2. Deneysel Uygulamalar

Deneysel çalışmada ortalama 6 hafta yaşında ve 20-25 gram ağırlıklarında, 28 adet *Balb/c* cinsi dişi fare kullanıldı ve randomize şekilde 4 gruba ayrıldı (her grupta, n=7). Fareler, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) hayvan laboratuvarında, bulundukları ortamın sıcaklığı 22-25 °C arasında sabit tutularak, 12 saat ışık ve 12 saat karanlıkta bırakıldı. Tüm farelerin belirlenmiş olan bir sırt bölgesi, fosfat ile tamponlanmış salin (FTS) ve BLM uygulamaları için tıraş edildi.

### 2.3. Bleomisin ve Rituksimab Uygulamaları

Bleomisin uygulanmayacak olan kontrol grubundaki (grup I) farelere, tıraş edilmiş bölgeden, deri altına hergün 100 µL FTS enjekte edildi. Diğer gruplardaki (grup II, III ve IV ) farelere, tıraş edilmiş bölgeden deri altına hergün 100 µL (100 µg) BLM (1 mg BLM 1 mL FTS içerisinde çözündürülerek) uygulandı. Grup III ve IV'teki farelere, BLM'ye ek olarak, sırasıyla 50 ve 250 µg dozunda rituksimab (Mabthera, Roche Müstahzarları San. Anonim Şirketi, İstanbul, Türkiye) 14 gün ara ile (1. ve 14. günler) intraperitoneal olarak uygulandı.

**Tablo 1.** Deneysel çalışma grupları ve gruplara uygulanan tedaviler

| Kontrol Grubu (Grup I) | BLM grubu (Grup II) | R50 grubu (Grup III) | R250 grubu (Grup IV)  |
|------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|
| FTS                    | BLM                 | BLM+50 µg rituksimab | BLM+250 µg rituksimab |

FTS; Fosfat ile tamponlanmış salin, BLM; Bleomisin

#### **2.4. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması**

Dört hafta sonunda, son bleomisin ve SF tedavilerden 24 saat sonra, tüm gruplardaki fareler dekapitasyon ile sakrifiye edilerek çalışma sonlandırıldı. Farelerden kan örnekleri alındı ve enjeksiyon uygulanan 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 için % 10'luk formalin solusyonu içine konuldu.

#### **2.5. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Analizler**

Formalin solusyonu içerisine alınan doku örneklerinden, aynı gün içerisinde, parafin blokları hazırlandı. Bloklardan alınan kesitler Hematoksilen-Eosin ve Masson-Trichrome ile boyanarak, ışık mikroskopunda X40, X100, X200 ve X400 büyütmede, bir uzman patolog tarafından incelenerek, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibroz dereceleri belirlendi. Dermal kalınlık (epidermo-dermal bileşke ile dermis-subkutan yağ dokusu bileşke arası uzunluk) için, her bir denekte, en az iki farklı preperatta, X100 büyütmede, en 5 farklı ölçümün ortalaması alındı.

Deparafinize kesitler, monoklonal anti- $\alpha$ -SMA (Actin Muscle Ab-6(MSA06) Neomarkers) ticari kiti kullanılarak, streptavidin-biotin tekniği ile boyandı. Dermal alandaki  $\alpha$ -SMA pozitif ( $\alpha$ -SMA+) fibroblastik hücre sayısını saptamak için her bir denekte, en az iki farklı preperatta, X400 büyütmede, en az 5 farklı alanda  $\alpha$ -SMA+ hücre sayısı belirlenip, ölçümün ortalaması alındı.

#### **2.6. Serum Sitokin Analizleri**

TGF- $\beta$ 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 kabul edildi.

### 3. BULGULAR

Histopatolojik değerlendirmelerde, BLM uygulamasının belirgin deri fibrozu oluşturduğu saptandı. Dört hafta süreyle sadece bleomisin uygulanan grupta (BLM grubu), kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, dermal alandaki inflamatuvar hücre sayısında, miyofibroblastik aktivitede ( $\alpha$ -SMA+ hücre sayısı) ve dermal kalınlıkta artış belirlendi (Tablo 2, Şekil 1, 2, 3). Masson-Trichrome boyaması ile yapılan incelemede, BLM grubunda deride kollajen birikiminde artış olduğu gözlemlendi. Buna karşın, FTS uygulanan kontrol grubunda ise kollajen birikimi yoktu.

BLM grubu ile karşılaştırıldığında, rituksimab uygulanan gruplarda (R50 ve R250 grupları) dermal alandaki inflamatuvar hücre sayısı, miyofibroblastik aktivite ve dermal kalınlıkta anlamlı azalma saptandı (Tablo 2, Şekil 1, 2, 3).

**Tablo 2.** Deneysel çalışma gruplarında serum sitokin düzeyleri ve histopatolojik bulgular

|                                                     | Kontrol        | BLM                         | R50                         | R250                        |
|-----------------------------------------------------|----------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <b>TGF-<math>\beta</math>1(ng/ml)</b>               | 37.8 $\pm$ 5.1 | 41.1 $\pm$ 8.5              | 48.3 $\pm$ 10.3             | 36.7 $\pm$ 10.2             |
| <b>İnflamatuvar hücre sayısı (/HPF)</b>             | 8.5 $\pm$ 2.8  | 23.6 $\pm$ 8.8 <sup>a</sup> | 13.4 $\pm$ 2.8 <sup>c</sup> | 10.5 $\pm$ 5.4 <sup>d</sup> |
| <b><math>\alpha</math>-SMA+ hücre sayısı (/HPF)</b> | 1.3 $\pm$ 0.4  | 9 $\pm$ 2 <sup>b</sup>      | 5.0 $\pm$ 0.8 <sup>d</sup>  | 4.8 $\pm$ 1.9 <sup>c</sup>  |
| <b>Dermal kalınlık (<math>\mu</math>m)</b>          | 129 $\pm$ 23   | 393 $\pm$ 104 <sup>b</sup>  | 169 $\pm$ 32.7 <sup>c</sup> | 157 $\pm$ 25.6 <sup>c</sup> |

*Kontrol: FTS*

*BLM: Bleomisin*

*R50: Bleomisin+Rituksimab 50  $\mu$ g*

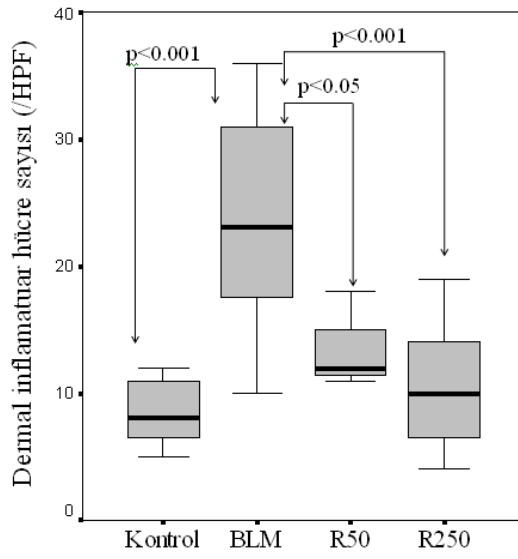
*R250: Bleomisin+Rituksimab 250  $\mu$ g*

*TGF- $\beta$ 1; Transforming growth faktör-  $\beta$ 1,  $\alpha$ -SMA;  $\alpha$ - düz kas aktin, HPF; büyük büyütme alanı*

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında: <sup>a</sup>p<0.01, <sup>b</sup>p<0.001

BLM grubu ile karşılaştırıldığında: <sup>c</sup>p<0.05, <sup>d</sup>p<0.01, <sup>e</sup>p<0.001

Bu deneysel çalışmada, rituksimab 250  $\mu$ g grubunda (R250) 1 fare öldü (% 14). Ancak, diğer gruplarda ölüm olmadı.



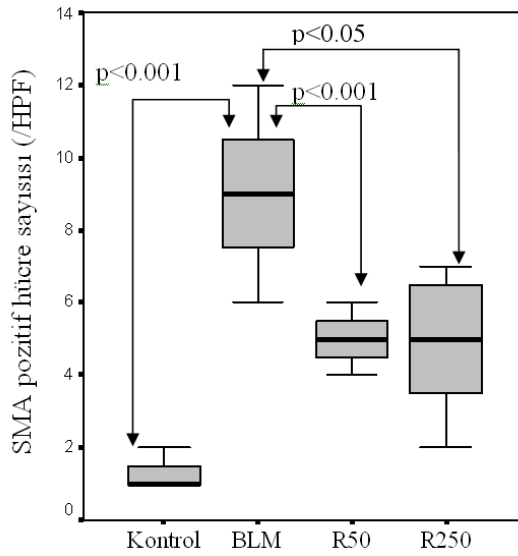
**Şekil 1.** Deneysel çalışma gruplarında dermal inflamatuvar hücre sayısı

*Kontrol: FTS*

*BLM: Bleomisin*

*R50: Bleomisin+Rituksimab 50 µg*

*R250: Bleomisin+Rituksimab 250 µg*



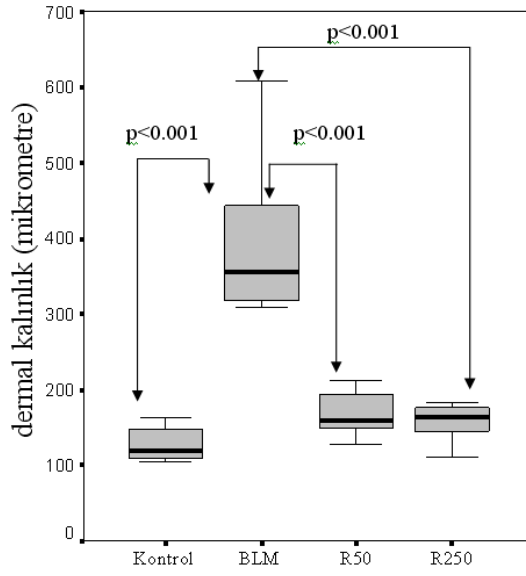
**Şekil 2.** Deneysel çalışma gruplarında α-SMA+ hücre sayıları

*Kontrol: FTS*

*BLM: Bleomisin*

*R50: Bleomisin+Rituksimab 50 µg*

*R250: Bleomisin+Rituksimab 250 µg*



**Şekil 3.** Deneysel çalışma gruplarında dermal kalınlıklar

*Kontrol: FTS*

*BLM: Bleomisin*

*R50: Bleomisin+Rituksimab 50  $\mu$ g*

*R250: Bleomisin+Rituksimab 250  $\mu$ g*

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, BLM ile uyarılan deneysel skleroderma modelinin erken evresinde (belirgin fibroz gelişmeden) B hücre deplesyonuna yol açan rituksimab tedavisinin olası etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. BLM ile fibrozun uyarıldığı grupta, dermal dokuda inflamatuvar hücre infiltrasyonu, miyofibroblastik aktivitede ve cilt kalınlığında artışlar saptanmıştır. BLM ile uyarılmış deneysel skleroderma modelinde, rituksimab tedavisinin dermal hücre infiltrasyonunu ve miyofibroblastik aktiviteyi azaltarak dermal kalınlaşmayı ve fibroz gelişimini önlediği belirlenmiştir.

Skleroderma, deri ve iç organların yaygın fibrozu ile karakterize kronik otoimmün inflamatuvar bir hastalıktır (20). Skleroderma patogenezinde yaygın damar duvarı hasarı ve immün aktivasyonun rolü olduğu bilinmekle birlikte, sklerodermanın patogenezi tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Ek olarak, günümüzde deri sertliği ve kalınlığı üzerine etkili bir tedavi protokolu bulunmamaktadır (20).

Skleroderma patogenezi tam olarak açıklığa kavuşturulamamış olmakla beraber, patogeneizde B hücrelerin rolüne ilişkin kanıtlar bulunmaktadır. Sklerodermaya özgü otoantikorlar, otoantikor tipi ile hastalığın klinik seyri arasındaki ilişki ve hipergamaglobulinemi, skleroderma patogenezinde B lenfositlerin rol alıyor olduğunu göstermektedir (10). Diğer taraftan, sklerodermada B lenfosit homeostazında değişiklik, poliklonal hiperaktivasyon, duyarlı B lenfositlerde artış ve hafıza B lenfositlerde azalma olduğu belirlenmiştir (8–10). Ayrıca, B lenfositlerden endotelial hasara yol açan anti-endotelial hücre antikoru da üretilmektedirler. Ek olarak, skleroderma hayvan modellerinde anti-CD20 antikor tedavisi test edilmiş ve etkili bulunmuştur (101).

Bu veriler doğrultusunda, skleroderma tedavisinde B hücre deplesyonuna yol açan anti-CD20 monoklonal antikor tedavisi gündeme gelmiştir. Ancak, insan çalışmalarında rituksimab tedavisinin etkinliği konusunda, diğer immünsüpresif ilaçlar ile yapılan çalışmalara benzer şekilde, uyumsuz sonuçlar bulunmaktadır (102–104). Smith ve ark. (102), kontrol grubu olmayan ve az sayıda katılımin sağlandığı (n=8) çalışmalarında rituksimab tedavisinin etkili olduğunu belirtmelerine karşın, biri randomize kontrollü olan diğer iki çalışmada (103, 104) ise anti-CD20 tedavisinin

cilt tutulumu üzerine etkili olmadığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, skleroderma patogenezinde B hücrelerinin rolü ve rituksimab tedavisinin etkinliği konusunda kuşku uyandırmaktadır.

Kronik enfeksiyonlar, toksik ve metabolik hasarlar, otoimmün ve inflamatuvar hastalıklar fibroz gelişimini uyarabilmektedir (105). Fibroz, oluşan hasara karşı normal fizyolojik bir yanıt olarak başlar. Ancak, fibroz oluşumunu uyaran faktörler kronikleştiğinde fibrogenik sitokinlerin sentezinde artış, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve miyofibroblastik transformasyon tetiklenir ve böylece normal doku organizasyonu bozulur. Sonuçta, aşırı ESM birikimi (fibroz) normal dokunun yerini alır (105). Fibrozun devamlılığı, kronik pro-fibrogenik uyarının ve proinflamatuvar sitokinlerin artmış üretiminin devamlılığı ve sonucunda artmış TGF- $\beta$ 1 sinyal iletiminin devamlılığı ile ilişkili bir süreçtir. Bununla birlikte, geri dönüşümsüz çapraz bağlı kollajen formasyonu ve degradasyonu önleyen elastin fiberden zengin ESM, ilerlemiş fibrozu (yerleşik fibroz) kollajenolize dirençli kılmaktadır (105). Fibroz rezolüsyonunun söz konusu olmadığı bu patofizyolojik durum, ‘geri dönüşümsüz nokta’ olarak isimlendirilmektedir (105).

Rituksimab ile yapılan ve rituksimab tedavisinin etkisiz olduğunu ortaya koyan çalışmalar (103, 104), uzun süreli hastalığı olan skleroderma hastalarında yapılmıştır. Diğer bir deyişle, bu hastalar olasılıkla ilerlemiş fibrozu olan hastalardır. Yani, yukarıda belirtildiği gibi, bu hastalarda fibrozun rezolüsyonu oldukça zordur. Bu çalışmalar sonucunda, B hücrelerinin skleroderma patogenezinde önemli rolü olmadığı ve insanlarda skleroderma tedavisinde rituksimabın etkili olmadığını söylemek yanlış olacaktır.

Sklerodermanın insidans ve prevalansının son derece düşük ve klinik olarak da heterojen bir hastalık oluşu (2, 18), ideal bir klinik çalışma planlanmasını ve yapılmasını güçleştirmektedir. Sklerodermada rituksimab tedavisinin araştırıldığı çalışmalarda da bu durum belirtilmiş ve çok sayıda hasta katılımının sağlandığı, erken evre ve diğer immünsüpresif ilaçların denenmediği homojen bir hasta grubunda yapılan çalışmaların daha doğru bir sonuç vereceği belirtilmiştir (104).

Rituksimab tedavisinin etkinliği, *Tight skin* fare skleroderma modelinde değerlendirilmiştir (101). Bununla birlikte, bu modelde iç organ tutulumu ve vaskülopatinin bulunmayışı, deride oluşan fibrozun sklerodermadaki gibi dermiste

değil subkutan alanda oluşu, bu modelde oluşan fibrozun farklı patojenik mekanizmalarla ilişkili olduğunu düşündürmektedir (106). Günümüze kadar tanımlanmış olan deneysel skleroderma modelleri arasında, BLM ile uyarılan dermal fibroz/skleroz modeli, insan sklerodermasına benzer birçok fenotipik özellikleri sergileyebilmesi nedeniyle araştırmalar için en uygun model olarak görünmektedir (12, 13).

Sklerodermada, periferik kanda B hücre transdüksiyon molekülü CD19'un aşırı ekspresyonu, B hücre aktivasyonunu göstermektedir (107). Ek olarak, deneysel skleroderma modellerinde CD19 ekspresyonunda azalma fibrozda gerileme ile sonuçlanmaktadır (29). Ayrıca, skleroderma hastalarının deri biyopsilerinde B hücre infiltrasyonu gösterilmiş ve B hücreler tarafından eksprese edilen karakteristik genlerin artmış olduğu bildirilmiştir (108). Sunulan bu çalışmada, BLM ile fibroz uyarımına ve B hücre deplesyonuna yol açan rituksimab tedavisine birlikte başlanmış ve fibroz oluşumunun önlendiği saptanmıştır. Bu sonuçlar, B hücrelerin skleroderma patogenezinde rol alıyor olduğunu ve erken evrede başlanan rituksimab tedavisinin etkili olabileceğini göstermektedir.

Sklerodermada, kollajen sentezinin temel sorumlusu olan aktive fibroblastik hücrelerin mononükleer hücrelerin hemen yakınında oldukları ve fibroblastik hücre aktivasyonunda fibroblast-mononükleer hücre etkileşiminin önemli olduğu bildirilmiştir (22). Ek olarak, bu inflamatuvar hücrelerden salınan IL-4, IL-6 ve TGF- $\beta$ 1 gibi sitokinler ve büyüme faktörleri fibroblastik aktivitenin başlatılmasından ve devamlığından sorumlu tutulmaktadır (109). Bu çalışmada, rituksimab tedavisi ile mononükleer hücre infiltrasyonunun önlendiği gösterilmiştir. Bu bulgular, B hücrelerin, diğer inflamatuvar hücrelerin aktivitelerini etkileyerek, fibrotik süreç katkı yaptığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak, rituksimab tedavisi skleroderma patogenezinde önemli rol oynayan miyofibroblastik hücre aktivitesi ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak deri fibrozu gelişimini önlemekte ve erken evre skleroderma hastalarında potansiyel bir tedavi ajanı olabilir gibi gözükmektedir.

## 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, 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. Martin F, Chan AC. Pathogenic roles of B cells in human autoimmunity; insights from the clinic. *Immunity* 2004; 20: 517–527.
5. Silverman GJ. Anti-CD20 therapy in systemic lupus erythematosus: a step closer to the clinic. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 371–377
6. De Vita S, Zaja F, Sacco S, De Candia A, Fanin R, Ferraccioli G. Efficacy of selective B cell blockade in the treatment of rheumatoid arthritis: evidence for a pathogenetic role of B cells. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 20: 29–33.
7. Leandro MJ, Edwards JC, Cambridge G, Ehrenstein MR, Isenberg DA. An open study of B lymphocyte depletion in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2673–2677
8. Fleischmajer R, Perlish JS, Reeves JRT: Cellular infiltrates in scleroderma skin. *Arthritis Rheum* 1977, 20: 975–984.
9. Famularo G, Giacomelli R, Alesse E, Cifone MG, Morrone S, Boirivant M, et al. Polyclonal B lymphocyte activation in progressive systemic sclerosis. *J Clin Lab Immunol* 1989; 29: 59–63.
10. 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.

11. Chen J, Stubbe J. Bleomycins: towards better therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 102–112.
12. Yamamoto T, Takagawa S, Katayama I, Yamazaki K, Hamazaki Y, Shinkai H. Animal model of sclerotic skin. I: Local injections of bleomycin induce sclerotic skin mimicking scleroderma. *J Invest Dermatol* 1999; 112: 456–462.
13. 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.
14. Gilliland BC. Systemic sclerosis (scleroderma). In Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (editors). *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 15th ed. USA, McGraw-Hill Comp. Inc 2001: 1937–1945.
15. Mayes MD, Lacey JV, Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B, Laing TJ, Schottenfeld D. Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001; 28: 1573–1576.
16. Black CM, Welsh KI. Genetics of scleroderma. *Clin Dermatol* 1994;12: 337–347.
17. Favalli E, Ingegnoli F, Zeni S, Fare M, Fantini F. HLA Typing in Systemic Sclerosis. *Reumatismo* 2001; 53: 210–214.
18. Varga J. Systemic sclerosis: an update. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2008; 66: 198–202.
19. Randone SB, Guiducci S, Cerinic MM. Systemic sclerosis and infections. *Autoimmun Rev* 2008; 8: 36–40.
20. Black CM. The aetiopathogenesis of systemic sclerosis: Thick skin-thin hypotheses. The Parkes Weber Lecture 1994. *J R Coll Physicians Lond* 1995; 29: 119–130.

21. Sollberg S, Mauch C, Eches B, Krieg T. The fibroblast in systemic sclerosis. *Clin Dermatol* 1994; 12: 379–385.
22. 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.
23. Sakkas LI, Platsoucas CD. Is systemic sclerosis an antigen-driven T cell disease? *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1721-1733.
24. Postlethwaite AE, Holness MA, Katai H, Raghow R. Human fibroblasts synthesize elevated levels of extracellular matrix proteins in response to interleukin 4. *J Clin Invest* 1992; 90: 1479–1485.
25. Elovic AE, Ohyama H, Sauty A, McBride J, Tsuji T, Nagai M, et al. IL–4-dependent regulation of TGF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ 1 expression in human eosinophils. *J Immunol* 1998; 160: 6121–6127.
26. Ihn H. Pathogenesis of fibrosis role of TGF- $\beta$  and CTGF. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 681–685.
27. 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.
28. Church AC. Clinical advances in therapies targeting the interleukin–2 receptor. *QJM* 2003; 96: 91–102
29. Zuber JP, Spertini F. Immunological basis of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 23–25.
30. Wollheim FA. Is rituximab a potential new therapy in systemic sclerosis? new evidence indicates the presence of CD20-positive B-lymphocytes in scleroderma skin. *J Clin Rheumatol* 2004; 10: 155–158.

31. Ramirez A, Varga J. Pulmonary Arterial Hypertension in Systemic Sclerosis: Clinical Manifestations, Pathophysiology, Evaluation and Management. *Treat Respir Med* 2004; 3: 339–352.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. Schachna L, Wigley FM. Targeting mediators of vascular injury in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 686-693.
36. 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
37. Bonner JC. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 255–273.
38. Hettema ME, Bootsma H, Kallenberg CJM. Macrovascular disease and atherosclerosis in SSc. *Rheumatology* 2008; 47: 578–583.
39. Peterson LS, Nelson M, Su WP. Classification of morphea (localized scleroderma). *Mayo Clin Proc* 1995; 70: 1068–1076.

40. Steen VD, Powell DL, Medsger T Jr. Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 196–203.
41. Steen VD, Medsger TA. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum* 2000; 11: 2437–2444.
42. Chung L, Lin J, Furst DE, Fiorentino D. Systemic and localized scleroderma. *Clin Dermatol* 2006; 24: 374–392.
43. LeRoy EC, Medsger Jr TA. Raynaud's phenomenon a proposal for classification. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10: 485–488.
44. Denton CP, Korn JH. Digital ulceration and critical digital ischaemia in scleroderma. *Scleroderma Care Res* 2003; 1: 12–16.
45. Steen VD. Scleroderma renal crisis. *Rheum Dis Clin North Am* 1996; 22: 861–878.
46. Steen VD, Medsger TA, Osial TA, Ziegler GL, Shapiro AP, Rodnan GP. Factors predicting development of renal involvement in progressive systemic sclerosis. *Am J Med* 1984; 76: 779–786.
47. Mittag M, Haustein UF. Die progressiv systemische Sklerodermie prognosebestimmender Befall innerer Organsysteme. *Hautarzt* 1998; 49: 545–551.
48. Weinstein WM, Kadell BM. The gastrointestinal tract in systemic sclerosis. Clements P, Furst D (editors). *Systemic sclerosis*. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 293–308.
49. Cohen S. The gastrointestinal manifestations of scleroderma: pathogenesis and management (clinical conference). *Gastroenterology* 1980; 79: 155–166.
50. Young MA, Rose S, Reynolds JC. Gastrointestinal manifestation of scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 1996; 22: 797–823.

51. Steen VD, Conte C, Owens GR, Medsger TA. Severe restrictive lung disease in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 1283–1289.
52. Van Laar JM, Stolk J, Tyndall A. Scleroderma Lung: Pathogenesis, Evaluation and Current Therapy. *Drugs* 2007; 67: 985–996.
53. Mouthon L, Berezne A, Brauner M, Kambouchner M, Guillevin L, Valeyre D. Interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Presse Med* 2006; 35: 1943–1951.
54. Rossi GA, Bitterman PB, Rennard SI, Ferrans VJ, Crystal RG. Evidence for chronic inflammation as a component of the interstitial lung disease associated with progressive systemic sclerosis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 6: 12–17.
55. Steen VD, Owens GR, Fino GJ, Rodnan GP, Medsger TA. Pulmonary involvement in systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1985; 28: 759–767.
56. Stupi AM, Steen VD, Owens GR, Barnes L, Rodnan GP, Medsger TA. Pulmonary hypertension in the CREST syndrome variant of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 515–524.
57. Follansbee WP. The cardiovascular manifestations of systemic sclerosis (scleroderma). *Curr Probl Cardiol* 1986; 11: 241–298.
58. 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.
59. Baron M, Lee P, Keystone EC. The articular manifestations of progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Ann Rheum Dis* 1982; 41: 147–152.
60. Block KL, Bassett LW, Furst DE. The arthropathy of advanced progressive systemic sclerosis: a radiographic survey. *Arthritis Rheum* 1981; 24: 874–884.
61. 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.
62. Medsger TA. Systemic sclerosis and Raynaud syndrome. Koopman WJ, Boulware DW, Heudebert GR (editors). *Clinical primer of rheumatology*. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins 2003: 171–181.
  63. 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.
  64. Gilliland BC. Systemic sclerosis (scleroderma). *Harrison's Principles of internal Medicine*, Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD (editors). 14th Edition, New York, McGraw-Hill, 1998: 1888–1890.
  65. Le Roy EC. Systemic sclerosis (scleroderma). Bennet JC, Plum F (editors) 20th Edition, Philadelphia, Cecil's Textbook of Medicine, 1996: 1483–1488
  66. Kowal-Bielecka O, Landewe 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.
  67. Wigley FM. Clinical Practice. Raynaud's phenomenon. *N Engl J Med* 2002; 26; 3: 1001–1008.
  68. Czirjak L. Practical approach to the therapy of systemic sclerosis. *Z Rheumatol* 2004; 63: 451–456.
  69. 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.

70. 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.
71. 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.
72. Martinez FJ, McCune WJ. Cyclophosphamide for scleroderma lung disease. *N Engl J Med*. 2006; 354:2707–2709.
73. Steen VD. Scleroderma renal crisis. *Rheum Dis Clin North Am* 2003; 29: 315–333.
74. Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Goldin J, Rott MD, Furst DE, et al. Cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease. *N Engl J Med* 2006; 354: 2655–2666.
75. Lee SH, Rubin LJ. Current treatment strategies for pulmonary arterial hypertension. *J Intern Med* 2005; 258: 199–215.
76. Badesch DB, Tapson VF, McGoon MD, Brundage BH, Rubin LJ, Wigley FM, et al. Continuous intravenous epoprostenol for pulmonary Hypertension due to the scleroderma spectrum of disease A randomized controlled trial. *Ann intern Med* 2000; 132: 425–434.
77. Galie N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, et al. Sildenafil use in pulmonary arterial hypertension.(SUPER) Study Group, sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2005; 353: 2148–2157.
78. Kahan A, Allanore Y. Primary myocardial involvement in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 14–17.

79. Wigley F, Hummers L. Management: holistic approach to systemic sclerosis. A Physician's approach. Systemic sclerosis. Clements PJ, Furst DE (editors). Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins 2004: 371–384.
80. Boulman N, Slobodin G, Rozenbaum M, Rosner I. Calcinosis in rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 34: 805–812.
81. Grillo-López AJ. Rituximab: an insider's historical perspective. *Semin Oncol* 2000; 27: 9–16.
82. Eisenberg R. Update on Rituximab. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 55–57.
83. Cardelli PM, Quinn M, Bukman D, Fank Y, Colcher D, King DJ, et al. Binding to CD20 by anti –B1 antibody or F(ab')(2) is sufficient for induction of apoptosis in B-cell lines. *Cancer immunol immunother* 2002; 51: 15–24.
84. Anolik JH, Campbell D, Felgar RE, Young F, Sanz I, Rosenblatt J, Looney RJ. The relationship of FcγRIIIa genotype to degree of B cell depletion by Rituximab in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 455–459.
85. Pedersen IM, Buhl AM, Klausen P, Geisler CH, Jurlander J. The chimeric anti-CD20 antibody Rituximab induces apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells through a p38 mitogen activated protein-kinase-dependent mechanism. *Blood* 2002; 99: 1314–1319.
86. Golay J, Zaffaroni L, Vaccari T, Lazzari M, Borleri GM, Bernasconi S, et al. Biologic response of B lymphoma cells to anti-CD20 monoclonal antibody Rituximab in vitro: CD55 and CD59 regulate complement-mediated cell lysis. *Blood* 2000; 95: 3900–3908.
87. Edwards JC, Szczepanski L, Szechinski J, Filipowicz-Sosnowska A, Emery P, Close DR, et al. Efficacy of B-cell-targeted therapy with Rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2004; 35: 2572–2581.

88. Emery P, Fleischmann R, Filipowicz-Sosnowska A, Schechtman J, Szczepanski L, Kavanaugh A, et al. The efficacy and safety of Rituximab in patients with active rheumatoid arthritis despite methotrexate treatment: results of a phase IIB randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1390–1400.
89. Smolen JS, Keystone EC, Emery P, Breedveld FC, Betteridge N, Burmester GR, et al. Consensus statement on the use of Rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 143–150
90. Tokunaga M, Saito K, Kawabata D, Imura Y, Fujii T, Nakayamada S, et al. Efficacy of Rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus involving the central nervous system. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 470–475.
91. Leandro MJ, Cambridge G, Edwards JC, Ehrenstein MR, Isenberg DA. B-cell depletion in the treatment of patients with systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis of 24 patients. *Rheumatology* 2005; 44: 1542–1545.
92. Looney RJ, Anolik JH, Campbell D, Felgar RE, Young F, Arend LJ, et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of Rituximab. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2580–2589.
93. Willems M, Haddad E, Niaudet P, Koné-Paut I, Bensman A, Cochat P, et al. Rituximab therapy for childhood-onset systemic lupus erythematosus. *J Pediatr* 2006; 148: 623–627.
94. Marks SD, Patey S, Brogan PA, Hasson N, Pilkington C, Woo P, Tullus K. B lymphocyte depletion therapy in children with refractory systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3168–3174.
95. Mease PJ. B cell-targeted therapy in autoimmune disease: rationale, mechanisms, and clinical application. *J Rheumatol* 2008; 35: 1245–1255.
96. Kimby E. Tolerability and safety of Rituximab (MabThera). *Cancer Treat Rev* 2005; 31: 456–473.

97. Salliot C, Dougados M, Gossec L. Risk of serious infections during rituximab, abatacept and anakinra therapies for rheumatoid arthritis: meta-analyses of randomized placebo-controlled trials. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 25–32
98. Molloy ES, Calabrese LH. Progressive multifocal leukoencephalopathy inpatients with rheumatic diseases: are patients with systemic lupuserythematosus at particular risk *Autoimmunity Rev* 2008; 8: 144–146.
99. Calabrese LH, Molloy ES. Progressive multifocal leukoencephalopathy in the rheumatic diseases: assessing the risks of biological immunosuppressive therapies. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 64–65.
100. Sera T, Hiasa Y, Michitaka K, Konishi I, Matsuura K, Tokumoto Y, et al. Anti-HBs-positive liver failure due to hepatitis B virus reactivation induced by rituximab. *Intern Med* 2006; 45: 721–724
101. Hasegawa M, Hamaguchi Y, Yanaba K, Bouaziz JD, Uchida J, Fujimoto M, et al. B-lymphocyte depletion reduces skin fibrosis and autoimmunity in the tight-skin mouse model for systemic sclerosis. *Am J Pathol* 2006; 169: 954–966.
102. Smith V, Van Praet JT, Vandooren B, Van der Cruyssen B, Naeyaert JM, Decuman S, et al. Rituximab in diffuse cutaneous systemic sclerosis: an open-label clinical and histopathological study. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 193–197
103. Daoussis D, Liossis SN, Tsamandas AC, Kalogeropoulou C, Kazantzi A, Sirinian C, et al. Experience with rituximab in scleroderma: results from a 1-year, proof-of-principle study. *Rheumatology* 2010; 49: 271–280.
104. Lafyatis R, Kissin E, York M, Farina G, Viger K, Fritzler MJ, et al. B cell depletion with rituximab in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 578–583.
105. Kisseleva T, Brenner DA. Fibrogenesis of parenchymal organs. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5: 338–342.

106. Baxter RM, Crowell TP, McCrann ME, Frew EM, Gardner H. Analysis of the tight skin (Tsk1/+) mouse as a model for testing antifibrotic agents. *Lab Invest* 2005; 85: 1199–1209
107. Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K, Tedder TF. Altered B lymphocyte function induces systemic autoimmunity in systemic sclerosis. *Mol Immunol* 2004; 41: 1123–1133.
108. Whitfield ML, Finlay DR, Murray JI, Troyanskaya OG, Chi JT, Pergamenschikov A, et al. Systemic and cell type-specific gene expression patterns in scleroderma skin. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100: 12319–12324.
109. Gu YS, Kong J, Cheema GS, Keen CL, Wick G, Gershwin ME. The immunobiology of systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2008; 38: 132–160.

## **6. ÖZGEÇMİŞ**

1981 yılında Tunceli ili Pertek ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Elazığ'da tamamladım. 2004 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 2005 yılında İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda başladığım uzmanlık eğitimime halen devam etmekteyim. Orta derecede İngilizce bilmekteyim.