

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOZUS HASTALARINDA  
KLİNİK BULGULARLA SERUM İNTERLÖKİN-17 VE  
İNTERLÖKİN-23 DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

**Dr. Onur KESKİN  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nurşen DÜZGÜN**

**Ankara  
2010**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOZUS HASTALARINDA  
KLİNİK BULGULARLA SERUM İNTERLÖKİN-17 VE  
İNTERLÖKİN-23 DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

**Dr. Onur KESKİN  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nurşen DÜZGÜN**

**Ankara  
2010**

## ÖNSÖZ

Sistemik lupus eritematozus hastalarının klinik ve laboratuvar bulgularıyla interlökin-17 ve interlökin-23 düzeylerini değerlendirdiğimiz bu tez çalışmasının tüm aşamalarında desteğini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Nurşen Düzgün'e, değerli katkılarından dolayı başta Doç. Dr. Hüseyin Tutkak olmak üzere tüm Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuvarı alışanlarına, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Selim Karayalçın ve asistanlık eğitimimde emeği olan tüm değerli hocalarıma, asistan arkadaşlarıma ve sevgili aileme teşekkürlerimi bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

<b>Kabul ve Onay</b>	<b>i</b>
<b>Önsöz</b>	<b>ii</b>
<b>İçindekiler</b>	<b>iii</b>
<b>Simgeler ve Kısaltmalar Dizini</b>	<b>iv</b>
<b>Şekiller Dizini</b>	<b>v</b>
<b>Tablolar Dizini</b>	<b>vi</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>2</b>
2.1. Sistemik Lupus Eritematozus: Sıklık ,Epidemiyoloji ve Klinik	2
2.2. Sistemik Lupus Eritematozusta Patoloji	4
2.3. Sistemik Lupus Eritematozusta Otoantikolar	5
2.4. Sistemik Lupus Eritematozus Etyopatogenezi	6
2.4.1 Genetik	7
2.4.2. Çevresel Faktörler	9
2.4.3. Hormonal Faktörler	9
2.4.4. Sistemik Lupus Eritematozus Patogenezinde T Hücreleri ve Sitokinlerin Önemi	9
2.5. Etektör T Hücreleri, IL-17 ve IL-23 Hakkında Genel Bilgiler	13
2.5.1. Th17 Hücrelerinin Keşfi	14
2.5.2. Th 17 Hücrelerinin Farklılaşması	14
2.5.3. IL-17 ve IL-23	16
2.5.4. Kronik ve Sistemik Otoimmün Hastalıklarda IL-17, IL-23 ve Th17	17
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>19</b>
3.1. Hasta ve kontrol grubu özellikleri	19
3.2. Kullanılan Gözlem ve Laboratuvar Teknikleri	19
3.3. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz Yöntemleri	21
<b>4. BULGULAR</b>	<b>22</b>
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>31</b>
<b>6. SONUÇLAR</b>	<b>36</b>
<b>ÖZET</b>	<b>37</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>39</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>41</b>
<b>EKLER</b>	
Ek 1.Etik kurul onayı	48
Ek 2. Systemic lupus erythematosus Disease Activity Index	50

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ACR:** American College of Rheumatology  
**ANA:** Anti Nükleer Antikor  
**ASH:** Antijen Sunan Hücreler  
**C3:** Kompleman 3  
**C4:** Kompleman 4  
**CTLA:** Sitotoksik T lenfosit antijen  
**EAE:** Deneysel otoimmün ensefalit  
**Foxp3:** Forkhead box p3  
**GFH:** Glomerüler Filtrasyon Hızı  
**IFN:** Interferon  
**IL:** İnterlökin  
**IRF5:** Interferon regülatuar faktör 5  
**MBP:** Mannoz Bağlayıcı Protein  
**ROR:** Retinoid ilişkili orfan reseptörler  
**SLE:** Sistemik lupus eritematozus  
**SLEDAI:** Sistemik lupus eritematozus hastalık aktivasyon indeksi  
**TCR:** T hücre reseptörleri  
**TGF- $\beta$ :** Transforme edici büyüme faktörü-  $\beta$   
**TNF- $\alpha$ :** Tümör Nekrozis Faktör  $\alpha$

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2.1.</b> Antijen Sunan hücreler ile T hücreler arasındaki iletişim	<b>11</b>
<b>Şekil 2.2.</b> T - B hücre ilişkisi	<b>12</b>
<b>Şekil 2.3.</b> Farelerde Th 17 hücrelerinin farklılaşması	<b>15</b>
<b>Şekil 2.4.</b> Th17 hücrelerinin insanlarda gelişimi	<b>16</b>
<b>Şekil 4.1.</b> Kontrol ve hasta grubunun IL-23 düzeyleri	<b>25</b>
<b>Şekil 4.2.</b> Aktif böbrek patolojisi olan ve olmayan hasta gruplarının IL-23 düzeylerinin grafiksel değerlendirmesi	<b>26</b>
<b>Şekil 4.3.</b> Aktif cilt lezyonu olan ve olmayan hasta gruplarının grafiksel görünümü	<b>27</b>
<b>Şekil 4.4.</b> Lökopenisi olan ve olmayan hasta gruplarının IL-23 düzeylerine göre değerlendirilmesi	<b>28</b>
<b>Şekil 4.5.</b> IL-23 düzeyinin kontrol grubunda ve hasta grubunda SLEDAI skoruna göre noktasal grafik dağılımı	<b>30</b>
<b>Şekil 4.6.</b> SLEDAI skoruna göre hastaların IL-23 düzeyinin grafiksel görünümü	<b>30</b>

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 2.1</b> SLE Tanı Kriterleri	<b>3</b>
<b>Tablo.2.2</b> Sistemik Lupus Eritematozusta patojenik antikörler	<b>6</b>
<b>Tablo 2.3</b> SLE hastalarında sitokinler	<b>12</b>
<b>Tablo 4.1</b> Grupların yaş açısından değerlendirilmesi	<b>22</b>
<b>Tablo 4.2</b> Grupların cinsiyet açısından değerlendirilmesi	<b>22</b>
<b>Tablo 4.3</b> SLE hasta grubunun özellikleri	<b>23</b>
<b>Tablo 4.4.</b> Kontrol ve hasta grubunun IL-23 düzeyleri	<b>24</b>
<b>Tablo 4.5</b> Aktif böbrek patolojisi olan ve olmayan hasta grubunun IL-23 değerlerinin değerlendirilmesi	<b>26</b>
<b>Tablo 4.6</b> Aktif cilt tutulumu olan ve olmayan hasta grubunun IL-23 değerlerinin değerlendirilmesi	<b>27</b>
<b>Tablo 4.7</b> Lökopenisi olan ve olmayan hasta grubunun IL-23 değerlerinin değerlendirilmesi	<b>28</b>
<b>Tablo 4.8</b> Hasta grubunun SLEDAI skorları ile kontrol grubundaki bireylerin IL-23 düzeylerinin karşılaştırılması	<b>29</b>



## 1. GİRİŞ

Sistemik lupus eritematozus (SLE), otoimmün, inflamatuvar, multisistemik ve kronik seyirli bir hastalık olup, patogenezi hakkındaki bilgiler hala kesin olarak bilinmemektedir. Farklı klinik bulguların görüldüğü bu hastalığın gelişiminde farklı patogenetik süreçler rol oynamaktadır. Son yıllarda yeni tanımlanan bir yardımcı T hücre alt tipi olan Th17 ve ilişkili sitokinler birçok çalışmanın konusunu oluşturmaktadır. Th17 hücrelerinin ürettiği en önemli efektör sitokin interlökin (IL)-17'dir. Th17 hücrelerinin stabilizasyonu ve gelişiminde ise IL-23 molekülüne gereksinim vardır. Çalışmalarda birçok hastalığın patogenezinde IL-23 ve IL-17'nin etkin rol aldığını destekleyen bulgular vardır. Deneysel oluşturulan SLE modelleri de IL-17 ve IL-23'ün hastalık patogenezinde etkin olduğunu destekler niteliktedir. Son yıllarda tanımlanmış olan bu sitokinler SLE'li hastalarda araştırılmıştır. Küçük hasta gruplarında yapılan az sayıdaki çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir.

Çalışmamızda SLE hastalarında IL-17 ve IL-23 düzeylerinin tayini ve bu sitokinlerin klinik ve laboratuvar verileri ile olası ilişkilerinin araştırılması hedeflenmiştir. Çalışma sonuçlarının SLE patogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunacağını, ayrıca bu konuda bir çalışmanın ülkemizde henüz yapılmamış olduğundan elde edilecek sonuçların önemli olacağını ümit ediyoruz.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sistemik Lupus Eritematozus: Sıklık ,Epidemiyoloji ve Klinik

Sistemik lupus eritematozus (SLE) farklı klinik bulguların bir arada görülebildiği, multisistemik, otoimmün, inflamatuvar, kronik seyirli, zaman zaman hayatı tehdit eden bir bağ dokusu hastalığıdır. Hastalık kadınlarda erkeklere oranla yaklaşık 9 kat fazla görülmektedir (1). Hastaların %65'inde hastalığın başlangıç yaşı 16-55 yaş arasındadır. Hastaların %20'si 16 yaş altında ve %15'i 55 yaş üstünde tanı almaktadır (2-4). Etnik farklılıklar ve coğrafi faktörler SLE sıklığını, SLE'nin klinik ve laboratuvar bulgularını ve prognozunu etkilemektedir. Hastalık kentsel bölgelerde kırsal bölgelere göre daha sık görülmektedir (5). SLE sıklığı bölgeden bölgeye ciddi farklılıklar göstermekle birlikte en fazla İtalya, İspanya ve İngiltere'de yaşayan Afrikalılar'da görülmektedir (1). Ayrıca hastalığın klinik bulgularının ve otoantikör sıklığının da bölgeden bölgeye değiştiği bildirilmiştir (6). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada, hastalık prognozunun siyah ırkta ve Meksika Hispanikleri'nde beyaz ırktakilere göre daha ağır olduğu saptanmış ve siyah ırkta daha sık oranda anti-Sm, anti-RNP, diskoid deri lezyonları, proteinüri, psikoz ve serozit görüldüğü bildirilmiştir (7-8).

Günümüzde SLE'nin hafif formlarının erken dönemde tanınmasıyla SLE tanısı daha sık görülmeye başlanmıştır. Hastalığın 1950-79 yılları arasındaki insidansı 100.000'de 1,51 olarak 1980-92 yılları arasında ise 3 katından daha fazla artarak 100.000'de 5,56 olarak saptanmıştır (9). Günümüzde lupus hastalığının sağ kalım oranı geçmişe göre daha iyidir. Dört yıllık sağ kalım oranı 1950'lerde %50'lerde iken (10), günümüzde 15 yıllık sağ kalım oranı %80 civarındadır (11). Hastaların hafif hastalık dönemlerinde tanınarak takip edilmesi sağ kalım oranındaki düzelmeyi açıklayabilmektedir. Ancak sağ kalım oranlarında düzelmeler olsa da hastaların hayat kalitelerinde halen istenen düzeyde iyileşme sağlanamamıştır.

Sistemik lupus eritematozus özellikle deri, eklem, böbrek ve seröz yüzeylerin tutulumu ile karakterize bir hastalıktır. American College of Rheumatology (ACR) tarafından 1982'de belirlenen SLE tanı kriterleri daha sonradan gözden geçirilmiş ve tanımlanan on bir kriterden dördünün varlığı tanı koydurucu olarak kabul edilmiştir. Bu kriterler tablo 2.1'de gösterilmiştir (12).

**Tablo 2.1 SLE Tanı Kriterleri (On bir kriterden dördünün varlığı tanı koydurucudur)**

1- Malar raş
2- Diskoid raş
3- Güneş duyarlılığı (Fotosensitivite)
4- Ağız ülserleri
5- Artrit
6- Serozit
Plörit
Perikardit
7- Renal tutulum
Proteinüri (>0.5 gr/gün)
İdrarda hücre silendirlerinin varlığı
8- Nörolojik bulgular
Nöbetler
Psikoz
9- Hematolojik bulgular
Hemolitik anemi veya
Lököpeni: <4000/mm <sup>3</sup> (en az iki defa) veya
Lenfopeni: <1500/mm <sup>3</sup> (en az iki defa) veya
Trombositopeni: <100000/ mm <sup>3</sup>
10- İmmünolojik bulgular
Anti-DNA antikor varlığı
Anti-Sm antikorunun pozitif olması
Antifosfolipid antikor pozitifliği: i) Artmış antikardiyolipin IgG ya da Ig M antikor düzeyi ii) Pozitif lupus antikoagülan testi iii) Yalancı sifiliz testi pozitifliği (en az 6 ay süreyle)
11- ANA pozitifliği

SLE'nin remisyon dönemleri ve relapslarla karakterize değişken bir seyri vardır. Hastaların büyük çoğunluğunda yorgunluk, ateş, kas ağrıları ve kilo kaybı

veya kilo alımı gibi semptomlar vardır. Fakat bunların yanında spesifik organ tutulumlarına ait semptom ve bulgular da olmaktadır (2).

Eklemler yakınmaları hastaların %90'ında hastalık süresince görülmektedir ve sıklıkla hastalığın en erken bulgusudur (13). Özellikle el eklemleri olmak üzere birkaç eklemi tutar, gezici karakterde, simetrik veya asimetrik eklem tutulumu görülmektedir. Hastalıkta en sık görülen cilt lezyonları yüzde kelebek tarzı raş olarak bilinen yanaklarla burun sırtı üzerindeki (nazolabial oluklar korunmuş) eritemlerdir. Özellikle güneşe maruziyet lezyonları alevlendirmektedir. Bazı hastalarda ise diskoid lezyonlar görülür. Bunlar daha inflamatuvar lezyonlardır ve sıklıkla skar bırakırlar. Saç kaybı da (alopesi) sıklıkla görülen semptomlardandır. Ağız içi ülserleri ağrısızdır. Raynaud fenomeni de SLE hastalarında sıklıkla görülebilmektedir (2).

Renal tutulum hastaların yaklaşık %50'sinde klinik olarak belirgin hale gelir. Kalan hastaların çoğunda ise subklinik bir hastalık olarak renal biyopsi ile gösterilebilir. Genellikle hastalığın ilk birkaç yılında gelişir ve sık idrar analizleri, proteinüri ve glomerüler filtrasyon hızı (GFH) takibi ile erken dönemde tespit edilebilir. Değişik glomerülo nefrit tipleri görülebilmektedir ve böbrek tutulumunun tipini saptamak ve hastalık prognozunu tayin etmek için böbrek biyopsisi yapmak gereklidir (1).

SLE hastalarında plörezi, plevral efüzyon, pnömonitis, interstisyel akciğer hastalığı, pulmoner hipertansiyon ve alveolar hemorajiler şeklinde akciğer tutulumu olabilir. Antifosfolipid antikoru pozitif olanlarda tromboembolik olaylar daha sıktır (1).

Psikoz, deliryum, nöbetler, baş ağrısı, kranial nöropatikler, myelit ve menenjit şeklinde nörolojik komplikasyonlar hastalık prognozunu ağırlaştırmaktadır.

Lökopeni, trombositopeni ve immün hemolitik anemi gibi hematolojik bulgular SLE hastalarında görülmektedir (1).

## **2.2. Sistemik Lupus Eritematozusta Patoloji**

SLE'nin temel patolojik özellikleri inflamasyon ve vasküler patolojidir (okluzif vaskülopati, vaskülit ve immün kompleks birikimi). Bugüne kadar en iyi araştırılmış ve karakterize edilmiş organ patolojisi böbrektir. Işık ve immünfloresans mikroskopisi ile değerlendirilen renal biyopsilerde, mezangial hücre proliferasyonu, inflamasyon,

bazal membran anormallikleri, immün kompleks birikimleri (immünglobulin ve kompleman) saptanmaktadır. Elektron mikroskopunda bu immün depozitler mezangiumda ve subendotelyal-subepitelyal bazal membranda görülebilmektedir. SLE’de etkilenen diğer organlarda genellikle spesifik olmayan inflamasyon veya vasküler anormallikler görülmektedir. Patolojik bulgular minimal olabilmektedir. Santral sinir sistem hastalığında kortikal mikroinfarktlar ve dejeneratif-proliferatif değişikliklerle birlikte hafif şiddette vaskülopati görülebilmektedir. Nekrotizan vaskülit nadiren bulunabilmektedir. Oklüzif vaskülopati, antifosfolipid antikörlerin varlığında sık görülen bir patolojik bulgudur. Uzun süreli SLE hastalarında hipertansiyon, kortikosteroid ve diğer ilaçlara bağlı olarak hızlanmış ateroskleroz ve doku hasarı da saptanabilmektedir (14,15).

### **2.3. Sistemik Lupus Eritematozusta Otoantikörler**

Bugüne kadar SLE’nin organ veya doku tutulumları arasında üstünde en fazla çalışılan böbrek ve deridir. Bu dokularda inflamasyon ve otoantikör ve kompleman birikimi mevcuttur. Özellikle lupus için yüksek derecede spesifik olan anti-dsDNA antikörlerinin lupus patogenezinde önemi gösterilmiştir (16). Lupus hastalarının %60-70’inde pozitif saptanırken sağlıklı bireylerin ve diğer otoimmün hastalığı olanların ancak %0.5’inde pozitif saptanabilmektedir. Serumdaki anti-dsDNA düzeyi her hastada geçerli olmamakla birlikte hastalık aktivitesini yansıtabilmektedir. Klinik olarak sessiz dönemde olan ve yüksek anti-ds DNA düzeyi olan bireylerin izleyen 5 yıl içinde %80 oranında klinik olarak aktifleştiklerini saptanmıştır (17). Eritrosit, lökosit, lenfosit ve trombosit hücre yüzey antijenlerine karşı antikörler sitopenilere yol açarak immün hemolitik anemi, trombositopeni, lenfopeni ve lökopeniye neden olabilmektedir. SLE’deki bazı otoantikörler ve klinik etkileri tablo 2.2’de özetlenmiştir (18).

**Tablo.2.2 Sistemik Lupus Eritematozusta patojenik antikorlar**

Antijen spesifitesi	Sıklık (%)	Temel Klinik Etkisi
Anti-double-stranded DNA	70-80	Böbrek hastalığı, cilt bulguları
Nükleozomlar	60-90	Böbrek hastalığı, cilt bulguları
Ro	30-40	Cilt bulguları, böbrek hastalığı, fetal kalp hastalıkları
La	15-20	Fetal kalp hastalıkları
Sm	10-30	Böbrek hastalığı
NMDA reseptörü	33-50	Beyin tutulumu
Fosfolipidler	20-30	Tromboz, abortus
$\alpha$ -aktinin	20	Böbrek hastalığı
C1q	40-50	Böbrek hastalığı

#### **2.4. Sistemik Lupus Eritematozus Etyopatogenezi**

Birçok organı hedef alabilen, çok hafif hastalık tablosundan major organ tutulumlarına kadar değişik klinik durumlara neden olabilen SLE'nin etyopatogenezi hala aydınlatılamamıştır. Etyopatogeneze yönelik mekanizmaların daha iyi anlaşılabilmesi, benzer hastalıkların ayırıcı tanılarının daha iyi yapılmasına ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Nükleer protein komponentlerine karşı yüksek titrede otoantikorların varlığı, dolaşımda immün kompleks bulunması ve komplemanların tüketimi hastalığın temel özelliğidir.

Patogeneze yönelik ileri sürülen teorilerden biri SLE'nin apoptotik hücrelerin klirensindeki bozukluğa bağlı geliştiği düşüncesidir. Otoantijenler hem nekrotik hem de apoptotik hücrelerden salınmaktadır. Bu hipoteze göre apoptotik hücrelerin klirensindeki yetersizlik ve bunların makrofajlar tarafından uygunsuz şekilde alınması ve T ve B hücrelere sunulmasıyla gelişen otoimmün süreç hastalığın

gelişiminden sorumlu tutulmuştur (19). Bu konuyla ilgili ileri çalışmalar apoptotik yapıların temizlenmesindeki bozuklukları aydınlatmaya çalışmıştır. Kompleman eksiklikleri, makrofaj fonksiyonlarındaki bozukluklar ve antijenlerin immün sisteme sunumundaki olası patolojiler üzerinde çalışılmıştır.

Sonuçta immün toleransın kaybı, antijenik yükün artması, aşırı yardımcı T hücre aktivitesi, defektif B hücre süpresyonu ve Th1'in Th2 immün cevaba kayması, B hücre hiperreaktivitesine ve patolojik antikörlerin üretimine neden olmaktadır (18).

Lupus patogenezinde sitokinlerin önemli yeri olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar, daha çok hastalarda tip-1 interferon yolunun aşırı aktivasyonu üzerine yoğunlaşmıştır. Hastalıkta genetik risk faktörü olarak kabul edilen Interferon regülatuar faktör 5'in (IRF5) artmış ekspresyonu gösterilmiştir (20).

Güneş ışığına maruziyet ve bazı ilaçların hastalığı tetiklediği bilirse de hastalığın gelişim süreci açık bir şekilde ortaya konabilmiş değildir ve kompleks bir genetik temeli olduğu düşünülmektedir. SLE ve antifosfolipid sendromlu hastalarda, otoantikörlerin hastalığın klinik olarak ortaya çıkmasından yıllar önce var olduğu saptanmıştır. SLE klinik bulgularının gelişiminden ortalama 2,7 yıl önce anti-DNA antikörlerinin geliştiği gösterilmiştir. Antinükleer antikörlerin (ANA), anti-DNA antikörlerinden daha önce var olduğu, ANA alt tiplerinden olan anti-Sm ve anti-RNP antikörlerin hastalık gelişiminden hemen önce pozitif olduğu bildirilmiştir (21,22). Bu çalışmalar otoantikör varlığının hastalık gelişimi için tek başına yeterli olmadığını, genetik ve çevresel faktörlerin de hastalık gelişiminde etkin olabileceğini göstermektedir. Aşağıda hastalık gelişiminden sorumlu olabilecek faktörler özetlenmiştir.

#### **2.4.1 Genetik**

SLE, birinci derece akrabalar arasında daha sık olup güçlü bir ailesel yatkınlık göstermektedir. SLE'nin hemolitik anemi, idiyopatik trombositopenik purpura (ITP) ve tiroidit gibi çeşitli otoimmün hastalıklarla birliktelik gösterdiği de bilinmektedir. Tek yumurta ikizlerinde hastalığın birlikte görülmesi yaklaşık %25 bulunmuştur. Bu oran çift yumurta ikizlerinde %5 civarındadır (23). Bu durum hastalığa yatkınlıkta genetik faktörlerin önemli rol oynadığını göstermektedir. Ancak çoğu SLE hastasında tanımlanmış genetik yatkınlık faktörleri gösterilememekte ve hastalık sporadik olarak görülmektedir. Bu da hastalığın gelişiminde genetik faktörlerin

yeterli olmadığını ve çoklu çevresel ya da bilinmeyen faktörlerin sorumlu olabileceğini düşündürmektedir.

Hastalığa yatkınlık yarattığı düşünülen birçok gen tanımlanmıştır. Hastaların küçük bir kısmında (<5%) tek bir gen hastalıktan sorumlu olabilmektedir. Örneğin kompleman proteinin erken komponentlerinin homozigot eksikliği olan bireylerde SLE ya da lupus benzeri hastalık gelişme riski vardır (24). Diğer birçok hastada hastalığın gelişimi için çoklu genler gereklidir. Birden fazla SLE hastası olan ailelerde hastalık gelişiminde 8 yatkınlık lokusunun var olduğu bildirilmiştir (18). SLE'ye yatkınlıkta en az 4 gen kombinasyonunun gerekli olduğu hesaplanmıştır (14). Her bir gen, immün regülasyonun, protein yıkımının, hücre membranından peptid geçişinin, komplemanların, retikuloendotelyal sistemin, immünglobulinlerin, apoptozisin ve cinsiyet hormonlarının bazı yönlerini etkilemektedir. Bunların değişik kombinasyonları anormal cevaplara neden olmakta ve değişik patolojik süreçlerin ve değişik klinik bulguların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Son dönemde yapılan bir çalışma SLE gelişimine katkısı olan iki yeni genetik lokusun daha varlığını göstermiştir. Bunlar *C8orf13-BLK* ve *ITGAM-ITGAX* lokuslarıdır (25).

Genetik bileşenlerden MHC genleri, insanda SLE gelişimi ile ilgili en fazla çalışılan genlerdir. Popülasyon çalışmaları SLE'ye yatkınlıkta HLA Class II gen polimorfizmlerinin etkili olduğunu göstermiştir. HLA DR2 ve DR3'ün SLE ile ilişkisi değişik etnik gruplarda ortak bir bulgu olarak çıkmaktadır. Hastalığın gelişiminde rölatif riski 2-5 kat arasında arttırmaktadır. HLA Class II genleri ile bazı otoantikorların (anti-Sm, anti-Ro, anti-La, anti-RNP ve anti DNA antikorları) ilişkisi gösterilmiştir (14).

MHC Class III gen bölgesinde konjenital kompleman eksiklikleri de hastalığa yatkınlığı etkilemektedir. Özellikle de C2 ve C4'ü kodlayan Class III genleri bazı etnik gruplarda SLE gelişiminde risk oluştururlar. Homozigot C4A null aleller, etnik temelden bağımsız olarak SLE gelişiminde yüksek risklidir (14). Ayrıca SLE gelişimi C1q, C1 R/S, C2, C4 'nin konjenital eksiklikleri ve C3 polimorfizmleri ile de ilişkilidir (26). Kompleman aktivitesindeki azalma yabancı ve patojenik self antijenlerin temizlenmesini ve nötralizasyonunu bozarak hastalığa yatkınlığı arttırmakta ve antijenik yükün immün sistemin klirensini aştığı durumlarda otoimmünite gelişmektedir. Ek olarak, birçok polimorfik non-MHC genler SLE ile

ilişkili bulunmuştur. Bunlar mannoz bağlayıcı protein (MBP), tümör nekrozis faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), T hücre reseptör, interlökin-6 (IL-6), CR1, immünglobulin Gm ve Km allotipleri, Fc $\gamma$ RIIA ve Fc $\gamma$ RIIIa (her ikisi de IgG Fc reseptörüdür) ve ısı şok protein 70'tir (23,27). Ancak değişik etnik gruplarla yapılan genetik çalışmalarda değişik sonuçlar elde edilebilmektedir.

Sonuçta olarak SLE için risk oluşturabilecek çoklu kromozom bölgelerinin keşfedilmiş olması SLE'nin polijenik bir hastalık olduğunu destekler niteliktedir.

#### **2.4.2.Çevresel Faktörler**

Çevresel faktörlerin immün sisteme etkileri SLE gelişimine katkı sağlamaktadır. Güneş ışığı hastalığın ortaya çıkmasını tetikleyen en belirgin çevresel faktördür. Buna ek olarak silika maruziyetinin ve sigara içiminin SLE gelişiminde risk oluşturabileceği ortaya konmuştur (28,29). Virüsler immün sistemde bazı hücreleri tetikleyebilmektedir. SLE'de EBV'ye karşı antikorların titresi daha yüksektir. Bu hastaların EBV viral yükü artmıştır. Çocuklarda yapılan çalışmalar EBV enfeksiyonunun SLE gelişimi için bir tetikleyici olabileceğini ortaya koymuştur (30).

#### **2.4.3.Hormonal Faktörler**

SLE kadınlarda daha sık görülmektedir ve genelde hastalığın başlangıcı puberte öncesi ya da menapoz sonrası dönemde daha az olmaktadır. Ayrıca östradiol, testosteron, progesteron, DHEA, ve prolaktin ve pitüiter hormonların immün sistemi düzenleyici rolleri olduğu bilinmektedir. Bu hormonların SLE insidansı ve ciddiyeti üzerine etkilerini gösteren çalışmalar da mevcuttur (31). Östrojen içeren kontraseptif ilaç kullanan kadınların SLE geliştirme riski %50 civarında artmıştır. Ayrıca erken menarş ve postmenapozal dönemde östrojen kullananlarda da risk artmaktadır (32). Ek olarak Klinefelter Sendromlu (hipergonadotropik hipogonadizmle karakterize) bireyler SLE gelişimine yatkınlık göstermektedir (33). Tüm bunlar hastalığa yatkınlıkta cinsiyet hormonlarının rolüne işaret etmektedir.

#### **2.4.4.Sistemik Lupus Eritematozus Patogenezinde T Hücreleri ve Sitokinlerin Önemi**

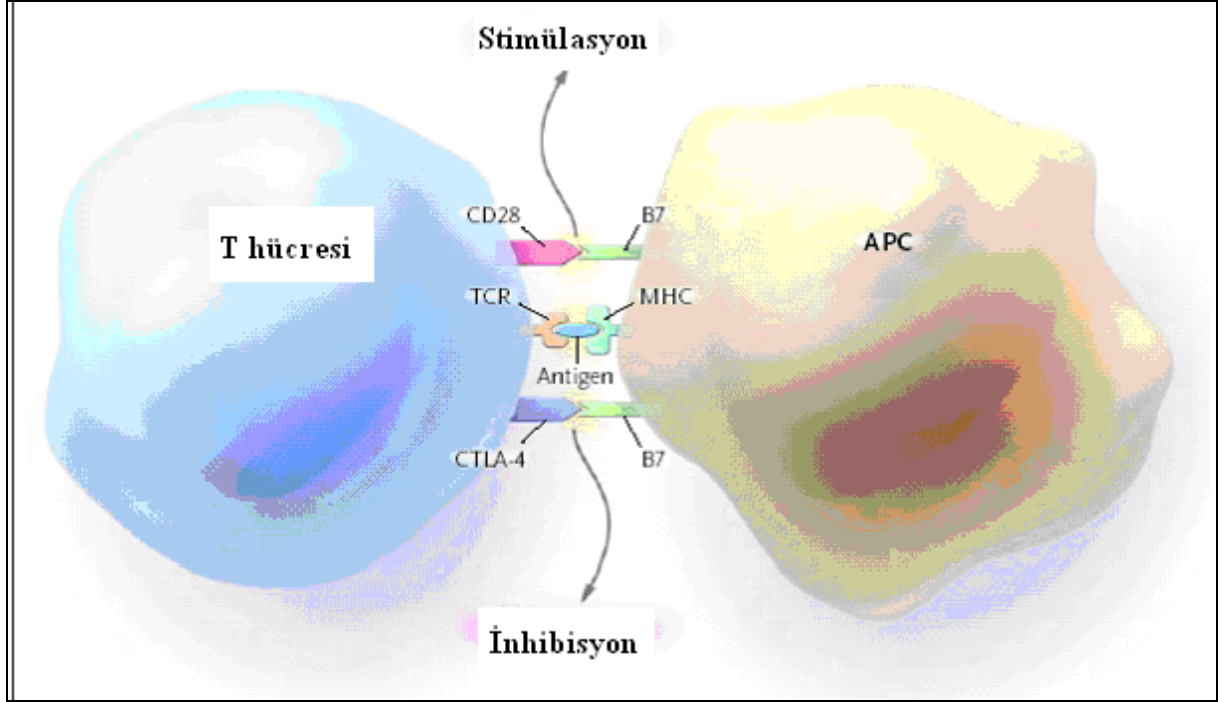
SLE, B ve T hücreleri ile monositer seri hücrelerinin katıldığı, poliklonal B hücre aktivasyonu, hipergamaglobulinemi, otoantikor ve immün kompleks üretimiyle karakterize bir hastalıktır. Otoantikor üreten B hücrelerinin gelişiminde ve

aktivasyonunda yardımcı T hücrelerin aşırı ve kontrolsüz aktivasyonu muhtemelen ortak son yoldur. B ve T hücre aktivasyonu için spesifik antijenlerle stimülasyon gereklidir. Farelerde pristin, bakteriyel DNA, hücre duvarı fosfolipidleri ve viral antijenler anti-DNA antikorlarının oluşumunu indükleyebilir. DNA protein ve RNA protein kompleksler gibi self antijenler de otoantikor üretimini indükleyebilmektedir. Çevresel antijenler ve self-antijenler, antijen sunan hücreler (ASH) tarafından alınır ve B hücrelerin yüzeyindeki indüklenmiş antikorlara bağlanırlar. Hem ASH'lerde hem de B hücrelerde antijenik peptidler parçalanır ve yüzey HLA molekülleri aracılığıyla T hücrelerine sunulur ve aktive T ve B hücreler patolojik antikor üretimi için uyarılır. Bu süreç T hücre yardımı olarak da adlandırılmaktadır (18). B ve T hücre ilişkileri çeşitli sitokinler tarafından da kolaylaştırılır. Ancak tüm bunlar T hücre stimülasyonu için yeterli değildir. Antijen sunucu hücrelerin T hücreleriyle kostimülasyon yoluyla ikinci bir moleküler etkileşime girmesi gerekmektedir. Çeşitli kostimülatör molekül çiftleri mevcuttur. CD40/CD40L ve B7/CD28/CTLA4 sistemleri T hücre aktivasyonunda ikinci sinyali başlatmak için gereklidir (14). Lupusta T hücre yardımı kritik bir aşama olduğundan hem Anti-CD40 ligand (34) hem de CD28-B7 ilişkisini bozan sitotoksik T-lenfosit ilişkili protein 4 IgG1 (CTLA-4Ig) (35) potansiyel tedavi seçenekleri olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca şekil 2.1 ve 2.2'de de görüldüğü gibi T hücre sitokinleri B hücre proliferasyonunu stimüle ederler ve antikor üretiminin IgM'den IgG'ye kaymasını sağlarlar. Sonuçta T hücre yardımı yüksek afiniteli IgG otoantikorlarının üretimini sağlar. Bu antikorlar doku hasarıyla yakından ilişkilidir (24).

SLE hastalarında artmış B hücre aktivasyonu vardır. Aktif SLE hastalarının periferik kanlarında B hücre sayısı artmıştır (36). Bu B hücre anormallikleri SLE gelişimine öncülük edebilmektedir. SLE hastalarının B hücrelerinin IL-6 gibi çeşitli sitokinlerin stimülasyon etkisine daha hassas olduğunu gösterir kanıtlar vardır (37). Sonuçta SLE hastalarında B hücreleri antijenler, sitokinler ve diğer stimülasyonlarla poliklonal aktivasyona daha açıktır.

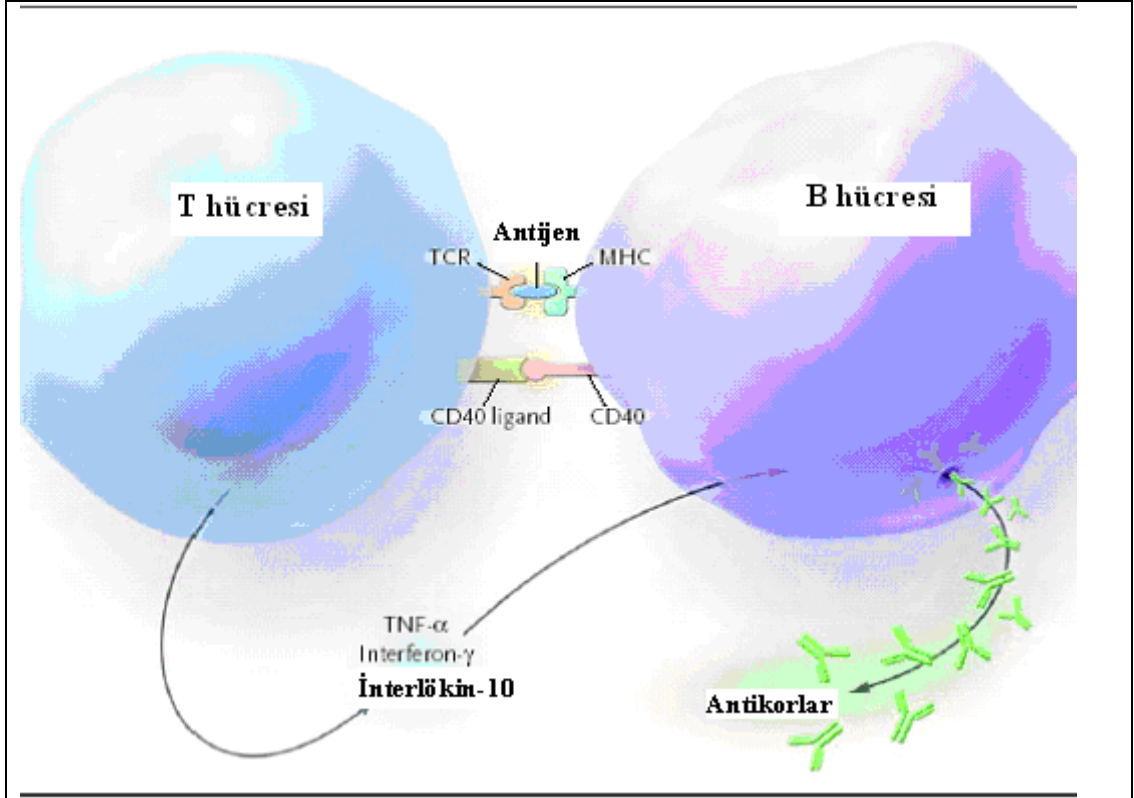
SLE hastalarında T hücre fonksiyon bozukluğu da vardır. Muhtemelen anti-lenfosit antikorların etkisiyle genellikle perifer kanı T hücrelerinin total sayısı da azalmıştır (38).

Regulatuvar T hücreleri hem fareler hem de insanlarda yardımcı T hücreleri ve B hücrelerini baskılamaktadır. SLE hastalarında ve bazı SLE hayvan modellerinde regülatuar T hücrelerinin hem sayısının hem de fonksiyonunun azaldığına işaret eden yayımlar vardır (39,40).



**Şekil 2.1.** Antijen Sunan hücreler ile T hücreler arasındaki iletişim

Antijen sunucu hücre, üzerindeki MHC molekülü ile antijeni bağlar. Ardından bu kompleks TCR ile etkileşir girer. Bunun sonucunda T hücrenin aktifleşmesi, her iki hücrenin yüzeyindeki diğer moleküllerin birbirleri ile etkileşimi gereklidir. B7 ile CD28 arasında etkileşim, stimülasyon sağlarken B7 ile CTLA arasında etkileşim inhibisyon yapar. CD28-B7 etkileşimi baskın gelirse T hücre aktivasyonu ve buna bağlı sitokin salınımı, B hücre yardımı ve inflamasyona neden olur. CTLA-4-B7 etkileşimi baskın gelirse aktivasyon inhiye olur.



**Şekil 2.2.** T - B hücre ilişkisi

CD40 ve CD40 ligandı arasındaki ilişki ile başlayan kostimülatuar etki altında B hücresi antijen sunucu hücre gibi davranır. Bu etkileşim T hücrelerinden sitokin yapımını sağlar. Bu sitokinlerden bazıları B hücrelerinden daha fazla antikor üretilmesini sağlar.

Lupus hastalarında sitokin profilleri bugüne kadar birçok çalışmaya konu olmuştur. Bu çalışmalarla ilgili bilgiler tablo 2.3'te özetlenmiştir (14).

**Tablo 2.3** SLE hastalarında sitokinler

SLE hastalarında sitokinler	
IL-2	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mononükleer hücrelerde IL-2 ekspresyonu artmıştır</li> <li>Lenfositlerde IL-2 mRNA ekspresyonu artmıştır</li> <li>Serum sIL-2 reseptör ekspresyonu artmıştır</li> <li>T hücrelerinde antijenik ya da mitojenik uyarıyla IL-2 üretimi azalmıştır</li> </ul>
IL-6	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mononükleer hücrelerde IL-6 mRNA ekspresyonu artmıştır</li> <li>Stimüle edilmiş tüm hücre kültürlerinde IL-6 üretimi artmıştır</li> <li>Serum IL-6 konsantrasyonları artmıştır</li> </ul>
IL-10	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mononükleer hücrelerde spontan olarak IL-10 üretimi artmıştır</li> </ul>

Mononükleer hücrelerde IL-10/IFN  $\gamma$  sekrete eden hücre oranı artmıştır  
Mononükleer hücrelerde IL-10 mRNA ekspresyonu artmıştır  
Serum IL-10 konsantrasyonu artmıştır ve hastalık aktivitesi ile koreledir.

#### IL-12

Uyarılmış mononükleer hücrelerde IL-12 üretiminde bozulma  
Mononükleer hücrelere IL-12 eklenmesiyle Ig ve anti-DNA üretimi inhibisyonu  
IL-12; IL-10'un mononükleer hücreler üzerine etkisini azaltmaktadır

#### Diğer sitokinler

Serum IL-15, IL-16 ve IL-18 düzeyleri artmıştır  
Mononükleer hücrelerde IFN- $\gamma$  mRNA ekspresyonu artmıştır  
Serum IFN  $\gamma$  düzeyi artmıştır

### 2.5. Efektör T Hücreleri, IL-17 ve IL-23 Hakkında Genel Bilgiler

CD4+ T hücrelerin efektör T hücrelerine farklılaşması, çeşitli patojenlerle karşılaşan doğal bağışıklık sistemi hücrelerinin ürettiği spesifik sitokinlerin varlığında T hücre reseptörleriyle (TCR) (sinyal 1) kostimulatuar moleküllerin (sinyal 2) etkileşmesiyle başlar. Interferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) ve IL-12, Th1 hücrelerine farklılaşmayı başlatır. Th1 hücreler ise yüksek miktarda IFN $\gamma$  üretirler ve hücre içi patojenlerin temizlenmesinde etkindirler. Aksine IL-4 ise Th2 hücrelerinin farklılaşmasını sağlar. Th2 hücreleri ise IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 üretirler ve ekstraselüler patojenlerin temizlenmesinde, allerjik durumlarla mücadelede anahtar rol oynar. Bunun yanında B hücrelerinin antikor üretimine de yardımcı olur (41). T hücre farklılaşmasındaki Th1/Th2 paradigması ilk olarak yaklaşık 25 yıl önce Mosman ve Coffman tarafından ortaya atılmış ve yıllarca bağışıklık sisteminde birçok olayın aydınlatılmasına yardımcı olmuştur (42). Günümüzde yardımcı T hücre farklılaşmasında Th1/Th2 paradigması geliştirilmiş ve IL-17 üreten, Th1 ve Th2'den farklı özelliklerde, Th17 olarak adlandırılan üçüncü bir yardımcı efektör T hücresi keşfedilmiştir. Th17 hücrelerinin primer fonksiyonları Th1 ve Th2 hücreleri tarafından tam olarak kontrol altına alınamamış patojenlerin yok edilmesini sağlamaktır. Ancak Th17 hücreler doku inflamasyonunun temel tetikleyicilerindendir ve çoğu deneysel otoimmün hastalıkların ve insanlarda çeşitli inflamatuvar durumların patogeneziyle ilişkili olduğu saptanmıştır (41).

### 2.5.1. Th17 Hücrelerinin Keşfi

Th17 hücreleri ilk olarak farelerde tanımlanmıştır. Th17 hücrelerinin insanlarda gelişimi farelerinki ile büyük ölçüde benzese de bazı farklılıklar gözlenmiştir. Doğal bağışıklık sisteminin hücreleri tarafından üretilen sitokinler yardımcı T hücrelerinin farklılaşma sürecini yönetmektedirler. Doğal bağışıklık sistemi hücreleri vücudumuzda patojenlere karşı ilk yanıtı vermektedir. IFN $\gamma$  ve IL-12, naif T hücrelerini Th1 yolunda ve IL-4 ise naiv T hücrelerinin Th2 yolunda farklılaşmasını sağlamaktadır (43).

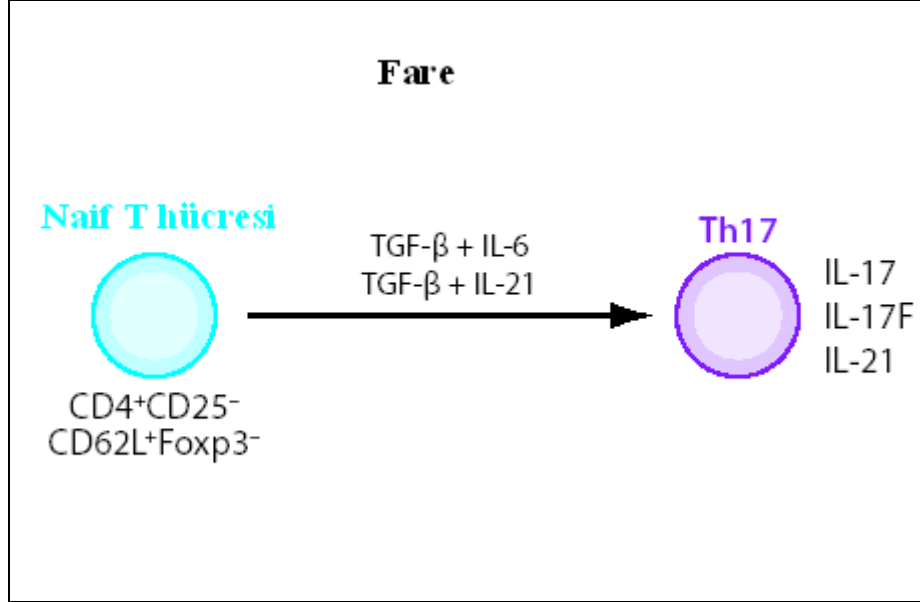
Yapılan çalışmalarda 2000 yılında yeni bir sitokin zinciri olan p19 keşfedilmiştir ve p19'un IL-12'nin de yapısında olan p40 ile heterodimer oluşturduğu saptanmıştır. Bu yeni sitokin IL-23 olarak adlandırılmıştır (44).

Takip eden çalışmalarda IL-17 üreten T hücrelerinin elde edildiği ve IL-23'ün bu hücrelerin çoğalmasında etkin olduğu görüldü (45). Yapılan çalışmaların sonunda IL-17 üreten T hücreleri ayrı bir Th alt tipi olarak kabul edildi ve Th17 olarak isimlendirildi. Artık Th1 ve Th2 hücrelerine ek olarak yeni bir efektör Th alt tipi tanımlanmış oldu.

### 2.5.2. Th 17 Hücrelerinin Farklılaşması

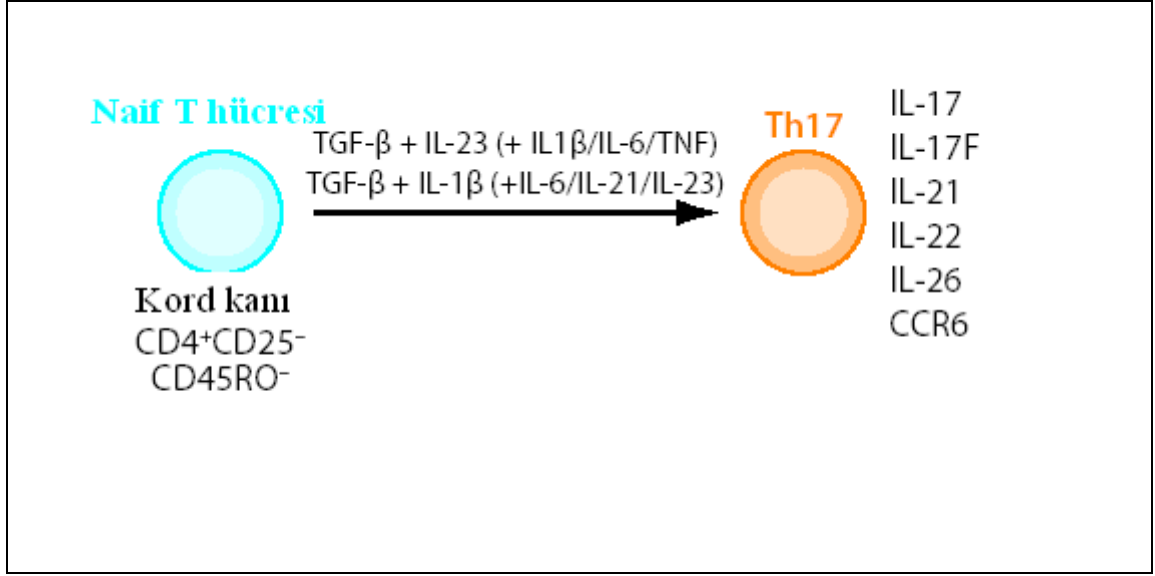
Th17 hücrelerinin kendilerine özgü farklılaşma ve transkripsiyon faktörlerinin tanımlanmasıyla ayrı bir yardımcı T hücre sınıfı olarak kabul edilmişlerdir. Bu konudaki çalışmalar daha çok fare modellerinde yapılmıştır. İmmün düzenleyici bir sitokin olan transforme edici büyüme faktörü-  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ile proinflamatuvar ve pleiotropik bir sitokin olan IL-6 kombinasyonu naif T hücrelerinin Th17'e farklılaşması için gerekli olduğu çeşitli çalışmalarla tespit edilmiştir (46,47). TGF- $\beta$  immünsüpresif bir sitokin olarak bilinmektedir ve TGF- $\beta$ 'ya maruz kalan naif T hücreleri foxp3 (forkhead box P3) ekspres etmekte ve bu da inflamasyonu baskılayan ve otoimmüniteyi inhibe eden regülatuar T hücrelerinin indüksiyonuna neden olmaktadır (48). IL-6 ise TGF- $\beta$  aracılı Foxp3+ regülatuar T hücre indüksiyonunu güçlü bir şekilde inhibe etmektedir. IL-6 bu hücrelerin oluşmasını inhibe etmekte aynı zamanda TGF- $\beta$  ile birlikte naif T hücrelerinin IL-17 ekspres etmelerini ve Th17'ye farklılaşmalarını tetiklemektedir (Şekil 2.3). Sonuçta TGF- $\beta$  naif T hücrelerinin regülatuar hücrelere farklılaşmasını indüklemekte ancak IL-6,

TGF- $\beta$  tarafından başlatılan bu transkripsiyonel süreci bir şekilde Th17 gelişimi yönünde değiştirmektedir (49).



**Şekil 2.3.** Farelerde Th 17 hücrelerinin farklılaşması

Th17 fenotipinin gelişimi çeşitli transkripsiyon faktörleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Bunlardan ikisi retinoid ilişkili orfan reseptörler (ROR $\gamma$ T ve ROR $\alpha$ ) ailesine aittir. ROR $\gamma$ T, Th 17 hücrelerinde selektif olarak ekspres edilmektedir ve IL17A ve IL17F üretimi için gereklidir. ROR $\alpha$  ise Th17 farklılaşmasını gerçekleştirmektedir. Her iki faktör de TGF- $\beta$  ve IL-6 tarafından sinyal iletimi ve aktivatör transkripsiyon-3-bağımlı mekanizmalarla indüklenmektedir. ROR $\gamma$ T'nin aktivasyonu interlökin-23 reseptörünün ekspresyonuna da neden olur. Bu durum IL-23'ün zaten Th17'ye farklılaşmakta olan T hücrelerine etki ettiğine işaret etmektedir. Gelişmekte olan Th17 hücreleri IL-23 etkisiyle IL-17 ekspresyonunu arttırmakta ve Th17 fenotipiyle ilişkisi olmayan IL-10 ve IFN- $\gamma$  baskılamaktadır. Dolayısıyla IL-23, Th17 fenotipinin stabilizasyonunda önemlidir. Bu konudaki insan çalışmalarında ise; TGF- $\beta$  ve IL-21 birlikteliği veya IL-6, IL-23, IL-1 $\beta$  ve TNF $\alpha$ 'nın değişik kombinasyonlarının ROR-c (insanda ROR $\gamma$ T'nin eşdeğeri) aktivasyonuna ve böylece Th17 gelişimine neden olduğu saptanmıştır (49). (Şekil 2.4)



**Şekil 2.4.** Th17 hücrelerinin insanlarda gelişimi

Th17 hücrelerinin tipik yüzey belirleyicileri yoktur. Fakat RANKL ve kemokin reseptörlerin çeşitli kombinasyonları Th17 ile ilişkilidir. İnsanlarda kemokin reseptörü CCR4 ve CCR6 ko-ekspresyonu (50) veya CCR5 yokluğunda CCR2 ekspresyonu (51) Th17'leri tanımlayabilmektedir.

### 2.5.3. IL-17 ve IL-23

Orijinal olarak sitotoksik T lenfosit antijen 8 (CTLA-8) olarak tanımlanan IL-17, bir 17kDa'luk tip-1 transmembran proteindir. İlk olarak fare CD4 T hücrelerden izole edilmiştir. Altı üyesi (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F) ve 5 reseptörü (IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD, IL-17RE) olan bir sitokin ailesinin prototipini temsil etmektedir. Bu ailenin birbirleriyle en ilişkili üyeleri IL-17A ve IL-17F'dir. Her ikisi de başlıca aktif T hücrelerden sentezlenmekte ve aynı reseptörlere (IL-17RA ve IL-17RC) bağlanmaktadır. Her birinin normal ve anormal immün cevaplara nasıl katıldığı tam olarak aydınlatılamamıştır (52).

IL-17 çeşitli hücre tipleri tarafından üretilir. Bunlar CD4+ T hücreler, CD8+ T hücreler, CD3+CD4-CD8 T hücreler,  $\gamma\delta$  T hücreler, doğal öldürücü hücreler ve nötrofillerdir (49).

IL-23 daha önce de bahsedildiği gibi 2000 yılında p19'un keşfi ile tanımlanmış iki alt birimi olan bir heterodimerdir (p19 ve p40). P19, IL-23'e özgü olmasına rağmen p40 IL-12'nin de bir parçasıdır (p35 ile kombine edilir) (44).

IL-23 ile Th17 hücreleri arasındaki ilişkiyi gösteren kuvvetli delillerden birisi IL-23'ün aktive T hücrelerinden IL-17 salınımını arttırmasıdır (53).

IL-23 reseptörü (IL-23R) naif T hücrelerinde bulunmamaktadır. Th17 farklılaşmasını sağlayan sitokinlerin (IL-6, TNF $\alpha$  ve IL-21) tespitinden sonra IL-23'ün Th17 hücrelerine farklılaşma sürecinin başlangıç aşamalarına katılmadığı tespit edilmiştir. IL-23 farklılaşmanın tamamlanmasında ve kalıcı olmasında etkilidir (41).

Ek olarak IL-23 proinflamatuvar efektör sitokinlerin salınımını indükleyebilir ve Th17 hücrelerinden IL-10 gibi anti inflamatuvar sitokinlerin salınımını baskılayabilmektedir (54). Ancak IL-23R'in T hücrelerinde ne zaman ve hangi yoğunlukta eksprese edildiği ve bunun T hücre fonksiyonlarına etkisi net bir şekilde bilinmemektedir.

#### **2.5.4. Kronik ve Sistemik Otoimmün Hastalıklarda IL-17, IL-23 ve Th17**

Th17 hücreleri ayrı bir Th sınıfı olarak ilk kez organ spesifik otoimmün hastalıklarda gösterilmiştir.

Th17 hücreleri ve bununla ilişkili sitokinlerin bazı hastalıklar için önemli olduklarını gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Bunlar psöriazis (55), romatoid artrit (56), multiple skleroz (57), inflamatuvar barsak hastalıkları (58) ve astımdır (59).

Romatoid artrit hastalarında, TNF, IL-1 ve IL-17 sitokin ekspresyonlarının eklem hasarı için belirleyici olduğu, IFN- $\gamma$ 'nın ise koruyucu olduğu saptanmıştır (56). Hatta Th17 hücrelerinin romatoid artritte direkt efektör fonksiyonları olduğunu düşündürür kanıtlara da ulaşılmıştır.

Multiple skleroz hastalarında IL-17 ve IL-6 ilişkili genler en fazla eksprese edilen genlerdendir (60) ve multiple skleroz hastalarının beyin omurilik sıvılarında ve serumlarında yüksek düzeyde IL-17 saptanmıştır (61).

İnflamatuvar barsak hastalıklarının patogeneğinde Th17 ve IL-23'ün rollerini gösteren kanıtlar vardır. Crohn hastalarının kolonik lamina proprialarında IL-12, IFN- $\gamma$ , IL-23 ve IL-17 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (62-64). Yapılan bir

genetik çalışmada IL-23 R gen polimorfizminin Crohn hastalığına yatkınlık yarattığı ortaya konmuştur (65).

Ankilozan spondilitte IL-23/IL-17 aksının rolü olabileceğini gösterir kanıtlar vardır. Aktif dönemdeki Ankilozan spondilit hastalarının serum IL-23 ve IL-17 düzeyleri yüksek saptanmıştır (66). Ayrıca bu hastalarda Crohn hastalığında olduğu gibi IL-23 reseptör polimorfizmi de saptanmıştır (67).

Yapılan çalışmalar otoimmün hastalıkların patogeneğinde IL-17 üreten hücrelerin rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca çeşitli otoimmün hayvan modelleri de bu bulguları desteklemiştir (52). Kronik otoimmün bir hastalık olan SLE’de IL-17’nin, bu sitokini üreten Th17 hücrelerinin ve bu hücrelerin gelişiminde önemli rol oynayan IL-23’ün rolleri ve davranışları günümüzde hala araştırılmaktadır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Hasta ve Kontrol Grubu Özellikleri

Çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Bilim Dalı kliniği ve polikliniğinde takip edilen SLE hastaları ile yaş ve cinsiyet olarak hasta grubuyla uyumlu olan, bilinen hiçbir hastalığı olmayan ve herhangi bir ilaç kullanmayan sağlıklı gönüllüler dahil edildi.

Çalışmamız için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 29.06.2009 tarih ve 154-4934 karar numarasıyla araştırma onayı alınmıştır (Ek1).

ACR kriterlerine göre (Tablo 2.1) SLE tanısı olan 80 hasta Mayıs 2008 ile Ekim 2009 tarihleri arasında çalışmaya alındı. Hastaların SLE açısından klinik bulguları, organ tutulumları ve diğer takip parametreleri ve bunlara göre hesaplanan SLE hastalık aktivasyon skorları (SLEDAI) değerlendirildi (Ek 2).

#### 3.2. Kullanılan Gözlem ve Laboratuvar Teknikleri

Tüm hastaların SLE'nin olası organ tutulumları dikkate alınarak anamnezleri alınıp fizik muayeneleri yapıldı.

Cilt tutulumu açısından ciltte döküntü, alopesi ve mukozal ülserler anamnez ve fizik muayeneyle değerlendirildi. Merkezi sinir sistemi tutulumuna bağlı olabilecek semptomlar sorgulandı. Hastaların vücut sıcaklıkları ölçüldü ve  $>38$  °C ateş olarak kabul edildi.

İkiden fazla eklemdede ağrı ve inflamasyon bulgularının (hassasiyet, şişlik veya efüzyon) olması artrit olarak değerlendirildi.

SLE'ye bağlı böbrek tutulumunu değerlendirebilmek için hastaların tam idrar tetkiki ve 24 saatlik idrar tetkikleri dikkate alındı. Taş, enfeksiyon ve diğer nedenler dışlandıktan sonra büyük büyütmede 5 ya da daha fazla eritrosit görülen hastalar hematurik kabul edildi. Günde 500 mg'dan fazla proteinürisi olan hastalar ve daha önceki incelemelerine göre protein atılımı  $>500$  mg artan hastalar proteinürik kabul edildi. Enfeksiyon dışlandıktan sonra mikroskop altında büyük büyütmede 5 ya da daha fazla beyaz küre görülmesi piyüri olarak kabul edildi.

Hastaların serum kompleman (C3, C4) düzeyleri nefelometrik yöntemle (normal değerleri C3: 0.9-2 g/L, C4: 0.1-0.4 g/L), anti-dsDNA düzeyleri ELISA tekniği

(Euroimmune Anti-ds DNA ELISA kit, Almanya) ile ölçüldü (normal değer: 0-100 IU/ml).

Aktif hematolojik bulguların tespiti için tüm hastalarda yapılan tam kan tetkikinde trombosit  $<100.000/\text{mm}^3$  trombositopeni olarak kabul edilirken, ilaçlara bağlı nedenler dışlandıktan sonra  $<4000/\text{mm}^3$  beyaz küre sayımı lökopeni olarak kabul edildi. Anemisi saptanan hastaların immün hemolitik anemi açısından ileri incelemeleri (direkt ve indirekt Coombs testleri) yapıldı.

Elde edilen tüm bu laboratuvar ve klinik verilerin ışığında hastaların SLEDAI'leri (SLE Disease Activity Index) hesaplandı.

Kontrol grubu bilinen hiçbir hastalığı olmayan ve düzenli bir ilaç kullanmayan, yaş ve cinsiyet özellikleri bakımından hasta grubuyla uyumlu bireylerden oluşturuldu.

Çalışmamıza dahil edilen hastaların 12 tanesi (%15) yeni tanı almış ve tedavisi başlanmamış hastalardan; 21 hasta (%26.2)  $>40$  mg prednizolon ve/veya diğer immün süpresif (azathioprine veya siklofosfamid) tedavi altındaki hastalardan, 31 hasta (%38.7) 10-40 mg prednizolon tedavisi alan hastalardan ve 16 tanesi (%20) kortikosteroid ya da immünsüpresif tedavi almayan hastalardan oluşmaktaydı

Hastaların ve kontrol grubundaki bireylerin bilgilendirilmiş onamları yapıldıktan sonra serum IL-17 ve IL-23 düzeylerini saptamak için serum örnekleri alındı. Santrifüj edilen serum örnekleri kullanılan kitlerin kataloglarında önerildiği şekilde plastik tüplerde  $-20$  derecede saklandı.

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin serum IL-17 düzeyleri Ray Bio Tech Human ELISA kiti (Amerika Birleşik Devletleri) ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji ve Alerji Hastalıkları Bilim Dalı İmmünoloji Laboratuvarında çalışıldı. İşlemden önce çalışılacak tüm serum örnekleri oda sıcaklığına taşındı. Ardından kuyucuklara  $100 \mu\text{l}$  standart ve serum örnekleri eklendi ve kuyucuklar kapatılarak oda sıcaklığında 2.5 saat inkübe edildi. Ardından  $100 \mu\text{l}$  biyotinli antikorlar her bir kuyucuğa eklendi. Bir saat süreyle hafif karıştırılıp sallanarak oda sıcaklığında inkübe edildi. Bir saatlik inkübasyonun ardından solüsyonlar yıkandı ve  $100 \mu\text{l}$  streptavidin solüsyonu eklenip oda sıcaklığında 45 dakika inkübe edildi. Solüsyonlar uygun şekilde yıkandıktan sonra  $100 \mu\text{l}$  TMD One-Step Substrate isimli bileşim her bir kuyucuğa eklenip oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Son

olarak 50 µl reaksiyonu durdurma solüsyonu kuyucuklara eklendi ve spektrofotometrede 450 nm'de okuma işlemi yapıldı. Ardından standart eğrileri çizildi. Buna göre saptanabilecek minimum IL-17 dozu 10 pg/ml idi. Hasta ve kontrol grubunun serum IL-17 düzeyleri yukarıda tarif edildiği şekilde hesaplandı.

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin serum IL-23 düzeyleri ise BioVendor Human IL-23 ELISA kiti (Çek Cumhuriyeti) ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuvarında çalışıldı. Benzer şekilde tüm serum örnekleri ve standartlar çıkarıldıktan ve uygun şekilde yıkandıktan sonra sırasıyla 100 µl Biotin-Conjugate, 100 µl streptavidin-HRP ve 100 µl TMB Substrate solüsyonları eklendi. Ardından her bir plakanın renk değişimi değerlendirildi ve 100 µl reaksiyonu durdurma solüsyonu eklenerek absorbanslar spektrofotometrede 450 nm'de okunarak saptandı. Standart eğrileri çizildi ve burada okunan sonuçlar dilüsyon faktörü dikkate alınarak 2 ile çarpıldı. Bu şekilde hasta ve kontrol grubunun serum IL-23 düzeyleri hesaplandı.

### **3.3. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz Yöntemleri**

Tüm veriler hasta ve sağlıklı kontrol grubunun serum IL-17 düzeyleri ve serum IL-23 düzeyleri karşılaştırıldı.

Ardından da hasta grubunun klinik, laboratuvar ve SLEDAI skorları IL-23 düzeyleri ile karşılaştırıldı. Hastalar SLEDAI skorlarına göre 3 gruba ayrıldı. SLEDAI 0-3; 4-10 ve  $\geq 11$  olan hasta gruplarının IL-23 düzeyleri istatistiki olarak karşılaştırıldı (68).

SLE hastalığının klinik ve laboratuvar verileriyle IL-23 düzeyleri arasındaki olası ilişki araştırıldı. Cilt, böbrek, hematolojik bulguları olan hasta grubunun IL-23 düzeyleri diğer hastaların IL-23 düzeyleriyle istatistiki olarak karşılaştırıldı. Ayrıca hastaların serum kompleman (C3, C4) ve anti-dsDNA düzeyleri ile IL-23 düzeyleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirildi.

Sonuçların istatistiki değerlendirmesinde Pearson korelasyon analizi, bağımsız örneklem testi, ANOVA, Mann-Whitney Test ve Kruskal-Wallis test kullanılmış olup  $p < 0.05$  olduğu durumlar istatistiki olarak anlamlı kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya 1982 ACR kriterlerine göre SLE tanısı almış 80 hasta dahil edildi. Seksen hastanın 12'si erkek (%15) ve 68'i (%85) kadındı. Hasta grubun yaş ortalaması ise 36,9 yıldır. Ortalama hastalık süresi ise 9,47 yıldır (0-30 yıl, medyan 9.0 yıl).

Kontrol grubundaki 72 kişinin 19'u erkek (%26,4) ve 53'ü kadındı (%73,6). Kontrol grubunda çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş ortalamaları ise 33,9 yıldır.

İki grup arasında gerek cinsiyet (p:0,08) gerekse de yaş açısından (p:0,32) istatistiksel anlamlı bir farklılık yoktu (tablo 4.1 ve tablo 4.2).

**Tablo 4.1 Grupların yaş açısından değerlendirilmesi**

Gruplar	N	Ortalama Yaş	Ortanca Yaş	Standart sapma	Minimum	Maksimum	P: 0.32
Kontrol	72	33.9	33.0	9.7	17	60	
Hasta	80	36.9	36.0	13.5	14	71	

**Tablo 4.2 Grupların cinsiyet açısından değerlendirilmesi**

		Cinsiyet		Toplam	P:0.08
		Kadın	Erkek		
Sağlıklı Kontrol	n (%)	53 (%73.6)	19 (%26.4)	72	
Hasta	n (%)	68 (%85)	12 (%15)	80	

Yeni gelişen döküntüler, alopesi ve mukozal ülserlerle karakterize aktif cilt lezyonları 22 hastada (%27,5) mevcutken 58 hastanın (%72,5) aktif cilt lezyonu yoktu.

Hastaların 22'sinde (%27,5) yukarıda belirtilen kriterlere göre (hematürisi ve/veya günde >500 mg proteinürisi olan hastalar ve daha önceki incelemelerine göre protein atılımı >500 mg/gün artan hastalar) aktif böbrek patolojisi varken 58 hastada (%72,5) aktif böbrek patolojisi yoktu. On hastada değerlendirme sürecinde hastalığa bağlı hematüri saptandı.

Hastalardan 8'inde (%10) >2 eklemdede ağrı ve inflamasyon bulguları (hassasiyet, şişlik veya efüzyon) ile karakterize aktif artrit vardı. Aktif serozit sadece 3 hastada saptandı. Hastalardan hiçbirinin aktif merkezi sinir sistemi tutulumunu düşündüren bulgusu yoktu.

Anormal hematolojik bulgu, 22 hastada (%27,5) mevcuttu. Hastalığa bağlı trombositopeni (<100.000/mm<sup>3</sup>) 3 hastada (%3,75), lökopeni (<4000/mm<sup>3</sup>) ise 14 hastada (%17,5) vardı. Hastalığa bağlı Coombs pozitif hemolitik anemi ise 7 hastada (%8,75) saptandı.

Aktif vasküler lezyonlar 11 hastada (%13,75) saptanabildi.

Yetmişbir hastanın kompleman düzeyi ölçülmüştü. Hastaların ortalama C3 düzeyinin 0.813 (0.9-2.0) ve ortalama C4 düzeyinin ise 0.15 (0.1-0.4) olduğu görüldü. Kırkdört hastanın (%55) C3 düzeyi normal referans aralıklarına göre düşük saptanırken, 23 hastanın (%28,75) C4 düzeyi düşük saptandı (tablo 4.3)

**Tablo 4.3 SLE hasta grubunun özellikleri**

<b>SLE Hastalarının Özellikleri</b>	<b>Hasta n=80 (%100)</b>
Aktif Cilt Tutulumu (Yeni gelişen döküntü, alopesi ve mukozal ülserler)	22 (%27.5)
Aktif Böbrek Tutulumu (hematüri ve/veya günde 500 mg'dan fazla protein atılımı olanlar ve daha önceki incelemelerine göre protein atılımı >500 mg artan hastalar)	22 (%27.5)
Artrit	8 (%10)
Serozit	3 (%3.75)
Lökopeni	14 (%17.5)
Trombositopeni	3 (%3.75)
Hemolitik anemi	7 (%8.75)
Vaskülopati (dijital ülser, Raynoud fenomeni)	11 (%13.75)
Hipokomplementemi (C3<0.9 gr/l; C4<0.1)	44/71 (%61)
Anti-ds DNA>100 IU/ml	28/74 (%37.8)

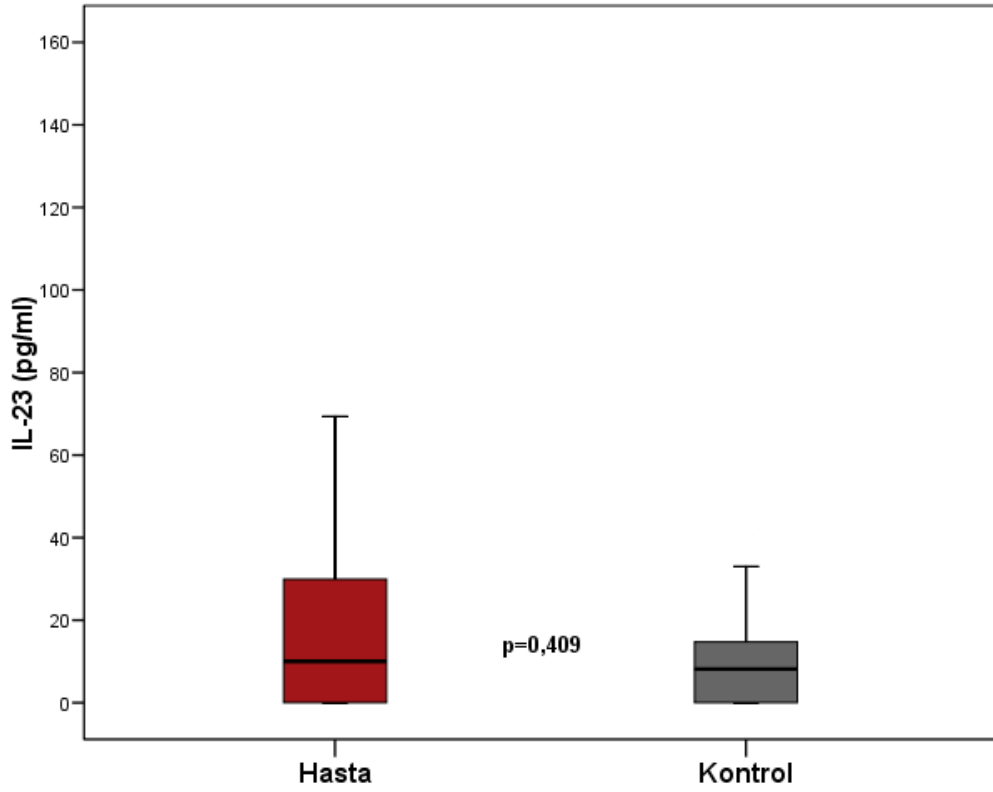
Bu veriler kullanılarak tüm hastaların SLEDAI skorları hesaplandı. Hastaların ortalama SLEDAI skorları 4,72 saptandı. Hastaların 38'nin (%47,5) SLEDAI skoru 0-3 arasında iken 31 hastanın (%38,75) skoru 4-10 arasında ve 11 hastanın (%13,75) skoru ise  $\geq 11$  olarak hesaplandı.

Hastaların ve kontrol grubundaki bireylerin takip süresince alınan ve uygun şartlarda saklanan serumlarından IL-17 ve IL-23 düzeyleri ELISA yöntemiyle çalışıldı. Çalışılan kit ile IL-17'nin saptayabileceği minimum IL-17 düzeyi 10 pg/ml idi. SLE hasta grubunda sadece 5, kontrol grubunda da 2 hastada  $>10$  pg/dl değerleri elde edildi. 5 hasta dışında tüm hastaların IL-17 düzeyleri  $<10$  pg/dl idi. Bu durumda hasta ve kontrol grubu arasında IL-17 düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği görüldü ve bununla ilgili ileri istatistiksel incelemeler yapılmadı.

Kontrol ve hasta grubunun IL-23 düzeyleri değerlendirildiğinde ise kontrol grubunun ortalama IL-23 düzeyi 10,33 pg/ml (standart sapma:10.587, medyan: 8.14, değer aralığı:0-40) ve hasta grubunun ortalama IL-23 düzeyi 21,86 pg/ml (standart sapma: 32.247, medyan: 10.01, değer aralığı: 0-135) saptandı. Mann-Whitney Testi ile yapılan istatistiki değerlendirme sonucunda kontrol grubuyla hasta grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı (p:0.409). (Tablo 4.4 ve Şekil 4.1)

**Tablo 4.4. Kontrol ve hasta grubunun IL-23 düzeyleri**

Gruplar	N	Ortalama IL-23 pg/ml	Ortanca IL-23 pg/ml	Standart sapma	En düşük	En yüksek	p:0.40
Kontrol	72	10.33	8.1	10.587	0	40	
Hasta	80	21.86	10.01	32.247	0	135	

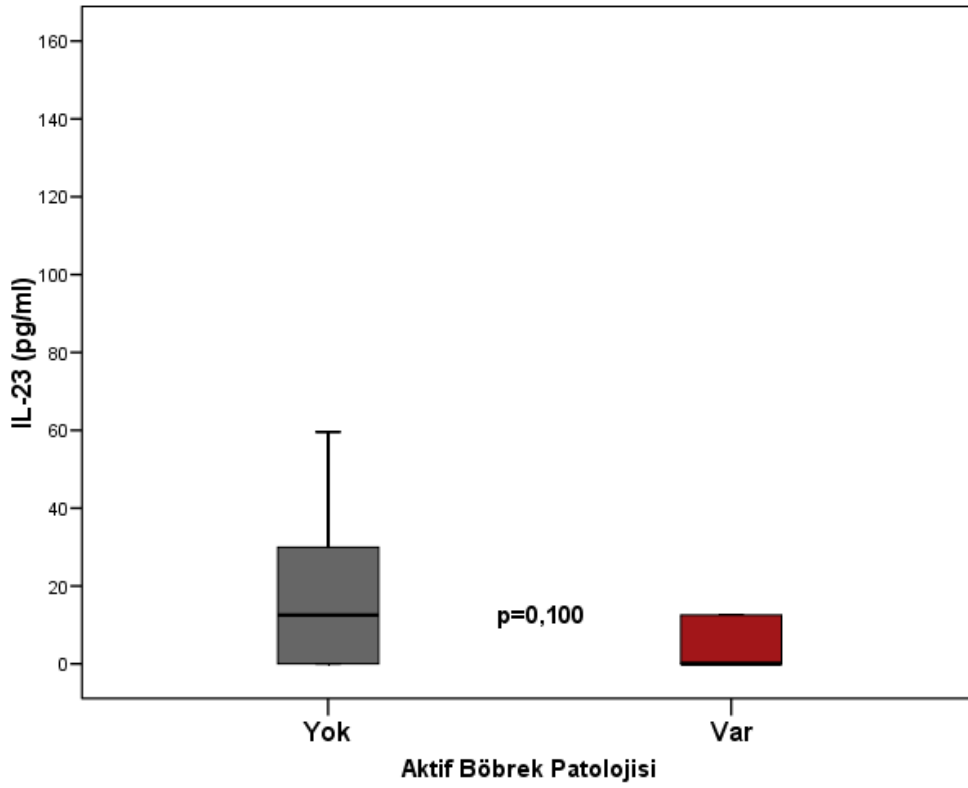


**Şekil 4.1.** Kontrol ve hasta grubunun IL-23 düzeyleri  
(Not: Uç değerler grafikte gösterilmemiştir)

Hasta grubunun IL-23 düzeyleri hastalık tutulumları, laboratuvar verileri ve SLEDAI skorları açısından istatistiki olarak değerlendirildi. Hematüri ve/veya proteinüriyle karakterize aktif böbrek patolojisi olan hastaların ortalama IL-23 düzeyleri, olmayanlara göre daha düşük saptandı. Aktif böbrek patolojisi olmayan 58 hastanın ortalama IL-23 düzeyi 24,38 pg/ml iken aktif böbrek tutulumu olan 22 hastanın ortalama IL-23 düzeyi 15,23 pg/ml saptandı. Fakat gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmadı (p:0.1) (Tablo 4.5 ve şekil 4.2).

**Tablo 4.5 Aktif böbrek patolojisi olan ve olmayan hasta grubunun IL-23 değerlerinin değerlendirilmesi**

Aktif Böbrek Patolojisi	N	Ortalama IL-23 pg/ml	Ortanca IL-23 (pg/ml)	Standart Sapma	En Düşük	En Yüksek	p:0.100
Yok	58	24.38	12.51	34.20	0	135	
Var	22	15.23	0.00	25.80	0	82	



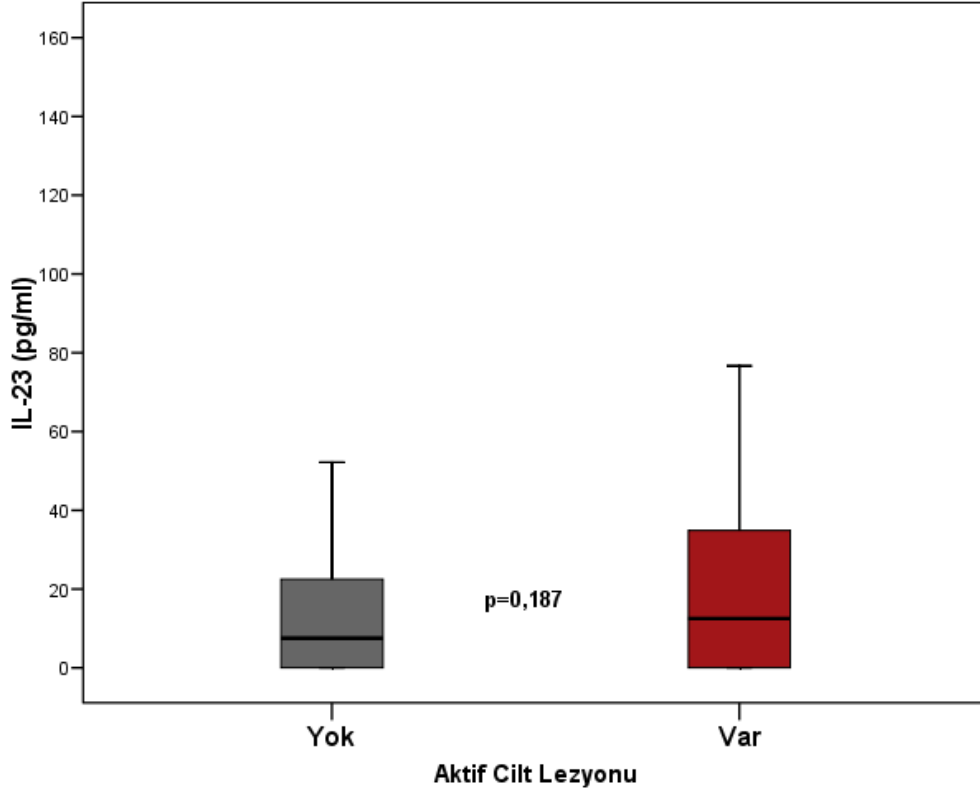
**Şekil 4.2.** Aktif böbrek patolojisi olan ve olmayan hasta gruplarının IL-23 düzeylerinin grafiksel değerlendirilmesi

(Not: Uç değerler grafikte gösterilmemiştir)

Yeni gelişen tipik döküntü ve mukozal ülserlerle karakterize aktif cilt lezyonu olan 22 hastanın ortalama IL-23 düzeyi 26.17 pg/ml iken aktif cilt lezyonu olmayan hastaların ortalama IL-23 düzeyi 18.72 pg/ml saptandı. Ancak gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır (p:0.187). (Tablo 4.6 ve şekil 4.3)

**Tablo 4.6 Aktif cilt tutulumu olan ve olmayan hasta grubunun IL-23 değerlerinin değerlendirilmesi**

Aktif Cilt Tutulumu	N	Ortalama IL-23 pg/ml	Ortanca IL-23 pg/ml	Standart Sapma	En Düşük	En Yüksek	P:0.187
Yok	58	18.72	7.51	30.2	0	135	
Var	22	26.17	12.51	33.1	0	130	



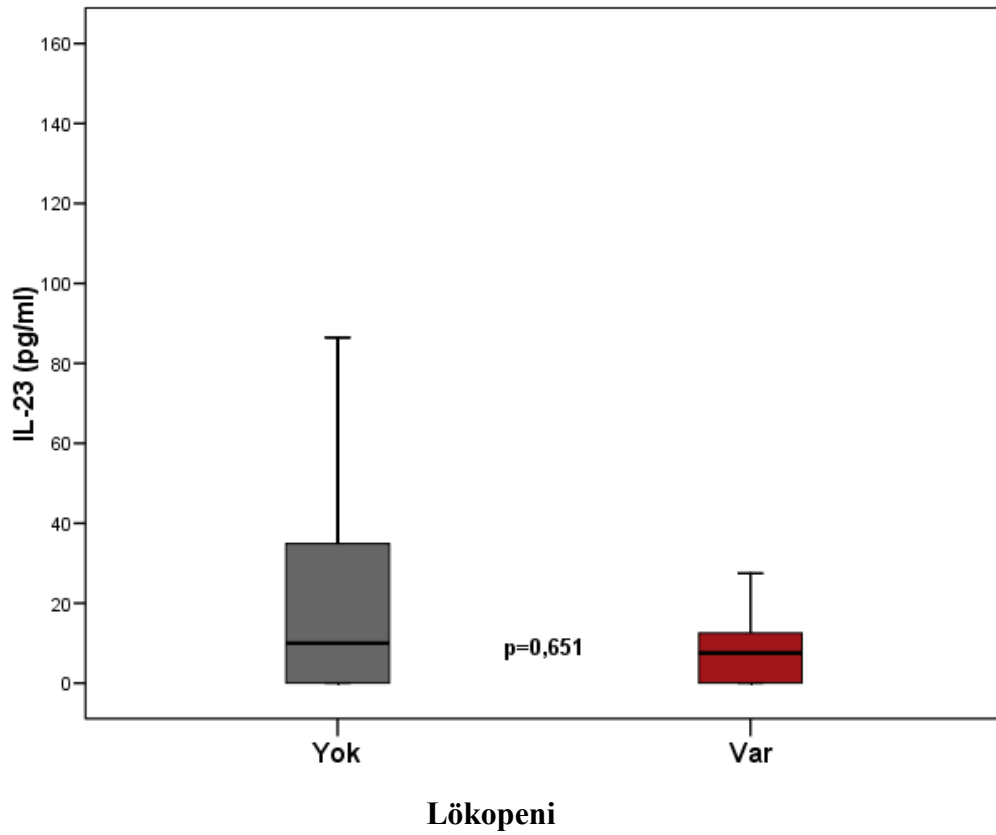
**Şekil 4.3.** Aktif cilt lezyonu olan ve olmayan hasta gruplarının grafiksel görünümü  
(Not: Uç değerler grafikte gösterilmemiştir)

Hastalığa bağlı lökopenisi olan 14 hastanın ortalama IL-23 düzeyi 11.75 pg/ml iken lökopenisi olmayanların ortalama IL-23 düzeyi 24.01 pg/ml saptanmıştır. Ancak

lökopenisi olan ve olmayanların IL-23 düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p:0.651) (Tablo 4.7 ve Şekil 4.4)

**Tablo 4.7 Lökopenisi olan ve olmayan hasta grubunun IL-23 değerlerinin değerlendirilmesi**

Lökopeni	N	Ortalama IL-23 pg/ml	Ortanca IL-23 pg/ml	Standart Sapma	En Düşük	En Yüksek	p:0.651
Yok	66	24.01	10.01	34.4	0	135	
Var	14	11.75	7.51	15.77	0	60	



**Şekil 4.4.** Lökopenisi olan ve olmayan hasta gruplarının IL-23 düzeylerine göre değerlendirilmesi

(Not: Uç değerler grafikte gösterilmemiştir)

C3 ve C4 düzeyleriyle IL-23 arasında yapılan non-parametrik korelasyon analizinde istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanamadı (sırasıyla p:0.484 ve p:0.629)

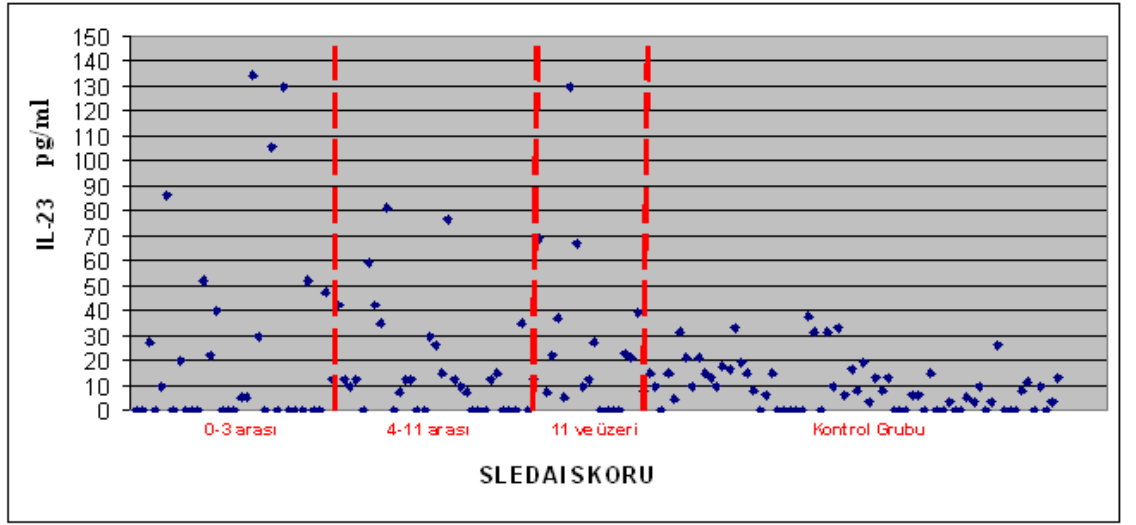
Benzer şekilde hastalık aktivasyonun diğer bir göstergesi olan anti-ds-DNA titresiyle IL-23 düzeyi arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (p: 0.775)

Kontrol grubundaki bireylerin ortalama IL-23 düzeyi 10.33 pg/ml iken SLEDAI skoru 0-3 aralığında olan hafif derecede aktivasyon gösteren olguların ortalama IL-23 düzeyi 22.56 pg/ml; SLEDAI skoru 4-10 arasında olan orta derecede aktif hastalığı olan olguların ortalama IL-23 düzeyi 19.44 pg/ml ve SLEDAI skoru >11 olan ciddi hastalık aktivasyonu olan hasta grubunun ise ortalama IL-23 düzeyi 26.27 pg/ml saptandı. Hastaların SLEDAI skorlarının IL-23 düzeyi ile karşılaştırıldığı istatistiksel analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılıklar gözlenmemiştir (0.679).

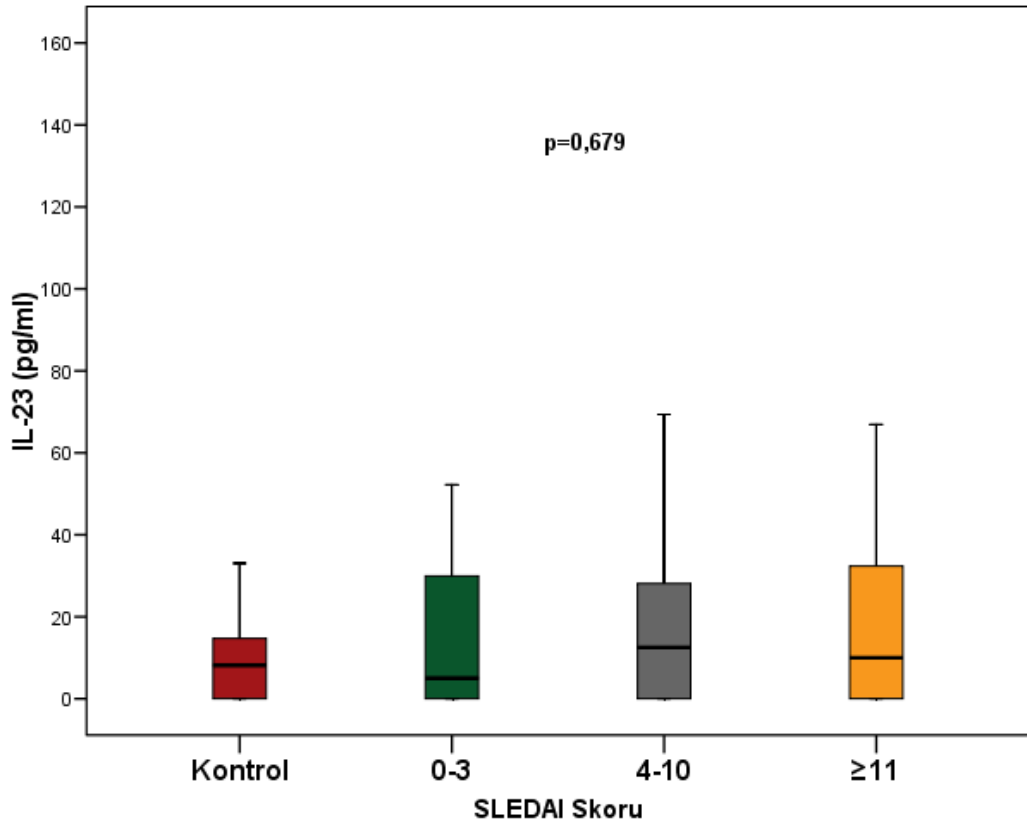
**Tablo 4.8. Hasta grubunun SLEDAI skorları ile kontrol grubundaki bireylerin IL-23 düzeylerinin karşılaştırılması**

SLEDAI skoru	N	Ortalama IL-23 pg/ml	Ortanca IL-23 pg/ml	Standart Sapma	En Düşük	En Yüksek	
Kontrol	72	10.33	8.14	10.58	0	40	p:0.679
0-3	38	22.56	5.01	36.24	0	135	
4-10	31	19.44	12.51	23.78	0	82	
≥11	11	26.27	10.01	40.20	0	130	

Bu değerlerin SLEDAI skorları da dikkate alınarak noktasal dağılımı ve grafiksel gösterimi aşağıdaki gibi oldu (Şekil 4.5 ve şekil 4.6).



**Şekil 4.5.** IL-23 düzeyinin kontrol grubunda ve hasta grubunda SLEDAI skoruna göre noktasal grafik dağılımı



**Şekil 4.6.** SLEDAI skoruna göre hastaların IL-23 düzeyinin grafiksel görünümü

## 5.TARTIŞMA

SLE yakın zamana kadar self antijenlere karşı otoantikör üretiminin olduğu Th2 aracılı bir hastalık olarak değeriendirilmektedir. Ancak SLE’de IFN- $\gamma$  ve IL-12’nin yüksek düzeylerde saptanması hastalık gelişiminde Th1 cevabının da etkili olduğunu göstermiştir. Th1 aracılı immün cevaplar, inflamatuvar reaksiyonu indükleyerek otoimmün hastalıkların gelişimine katkıda bulunmaktadır. IL-12, 70 kDa’luk birbirine kovalent bağılı p40 ve p35 alt birimlerinden oluşan heterodimerik bir sitokindir ve IL-12 proinflamatuvar Th1 ilişkili IFN- $\gamma$ ’yı indüklemektedir (69). IL-23 ise p19 altbiriminden oluşan bir heterodimerik bir sitokindir. IL-23, IL-12 ile ortak p40 alt birimi içermektedir. IL-23, IL-12’den farklı olarak IFN- $\gamma$  ve Th1 aktivitesini arttırıcı etki göstermemektedir. IL-23, IL-17 üreten ayrı bir T hücre alt tipi olan Th17 hücrelerinin gelişiminde rol oynamaktadır (70).

Yapılan ilk çalışmalar deneysel otoimmün ensefalit (EAE) ve RA hayvan modelleri üzerine odaklanmış ve IL-17 blokajının ve IL-17 üreten hücrelerin inhibisyonunun faydalı etkileri gözlenmiştir (71,72). Th17 hücreler ürettiğı kemokinler ve sitokinlerle organ spesifik destrüktif inflamatuvar süreçleri tetikleyerek bu hastalıkların gelişimine neden olmaktadır. SLE klasik olarak otoantikör ve immün kompleks aracılı bir hastalık olarak kabul edilmesine rağmen bazı çalışmalar IL-17’nin güçlü proinflamatuvar kapasitesi ile hastalığın patogenezinin çeşitli aşamalarına katıldığını düşündürmüştür.

Lupus-prone fareler (Mrl/lpr) iskemik müdahalelerle indüklenen inflamasyon gelişimine açıktır (73). İskemi ve reperfüzyonu takip eden intestinal hasarda IL-17 üreten CD4+ T hücrelerin de etkili olduğu gösterilmiştir. Bu durum MRL/lpr farelerde daha belirgin bir şekilde gösterilmiştir. Buna uygun olarak CD4+ T hücre ve IL-17 eksikliği (IL-23p19 -/- fareler) olan farelerde iskemi tarafından indüklenen hasar süprese olmakta ve doku hasarı ciddi olarak azalmaktadır. IL-17 yokluğunda doku hasarındaki azalma MRL/lpr farelerde otoimmün olmayan B6 farelere göre daha belirgin gözlenmiştir (74). Bu etki MRL/lpr farelerin daha fazla IL-17 üreten T hücrelere sahip olmasına bağlanmıştır.

Lupus prone SNF-1 fare splenositlerinin nükleozom varlığında kültüre edildiğinde non-otoimmün splenositlere (C57BI6J-B6) göre daha fazla IL-17 ürettiğı

saptanmıştır. IL-17 üreten T hücreler nefritli SNF1 farelerin böbreklerinde de tespit edilmiştir (75).

Spontan olarak artrit, glomerülonefrit ve otoantikor geliştiren bir lupus modeli olan BXD2 sıçanlarının (76) serumlarında yüksek IL-17 düzeyleri ve dalaklarında artmış IL-17 (+) hücre tespit edilmiştir (77). Bu farelerde humoral cevapta da artış gözlenmiştir (78). Bunlar dalaklarında spontan olarak germinal merkezler geliştirmişlerdir. Bu süreçte IL-17'nin önemi B6 ve hastalık öncesi BXD farelerinin IL-17 kodlayan bir adenovirüsle enfekte edilmesiyle IL-17 düzeylerinin artması ve her iki fare dizininde germinal merkez oluşumlarının indüklenmesiyle gösterilmiştir. BXD2 IL-17R yoksun farelerde germinal merkez gelişimi, anti-DNA, anti histon antikor üretimleri olmamıştır (77). Bu çalışma IL-17'nin inflamasyonda bir medyatör olmasının yanında, B hücrelerine de yardım ettiğini göstermiştir. Yapılan başka çalışmalarda da IL-17'nin SLE hastalarından alınan mononükleer hücrelerde IgG ve antiDNA üretimini artırdığını gösterilmiştir (79).

Yapılan başka bir çalışma da TNF $\alpha$ 'nın SLE'de koruyucu rolüne işaret etmektedir. NZM2328 fareleri her iki tip TNF $\alpha$  reseptöründen defisitli olarak çalışıldığında hastalık aktivitesinin (nefrit ve anti DNA antikorları) arttığı gösterildi. Bu etki Th17 gen profili gösteren CD4+ T hücrelerin varlığına dayandırılmıştır. Bu durum SLE'de nefrit alevlenmesinin IL17/Th17 yoluyla ilişkili olduğunu düşündürmüştür (80).

İnsanlarda yapılan çalışmalarda ise SLE patogenezinde IL-17'nin rolü olduğunu düşündürür bulgular saptanmıştır. Literatürde SLE hastalarının IL-17 ve IL-23 düzeyleri sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunduğu çeşitli çalışmalar vardır (81-82). IL-17 düzeyi ile hastalık aktivasyonu arasında korelasyon olduğunu gösterir çalışma da mevcuttur (81). 2000 yılında yapılan bir çalışmada 36 Çinli lupus hastasıyla yapılan bir çalışmada serum IL-17 düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Fakat araştırmacılar hastalık aktivitesiyle (SLEDAI) serum IL-17 düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptamamıştır (82). Başka bir çalışmada ise lupus hastalarının %25-30'unda artmış serum IL-17 düzeyleri saptanmış ve serum IL-17 düzeyleri serum IL-6 ve anti-histon, anti-insülin antikorlar ve romatoid faktör düzeyleriyle ilişkili bulunmuştur (83).

Çalışmamızda yaş ve cinsiyet olarak birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermeyen hasta ve kontrol gruplarının serum IL-17 ve IL-23 düzeyleri ölçülmüştür. IL-17 ölçümünde kullanılan kitin saptayabileceği en düşük düzey 10 pg/ml idi. IL-17 düzeyi SLE hasta grubunda sadece 5, kontrol grubunda da 2 hastada >10 pg/ml değeri saptandı. Kalan 75 hastanın IL-17 düzeyleri <10 pg/dl idi. Bu nedenle hasta grubu ile kontrol grubunun IL-17 düzeylerinin farklılık göstermediği görüldü. Hasta grubunun IL-17 düzeyi kontrol grubundan farklı saptanmadığı için hastaların klinik ve laboratuvar verileriyle serum IL-17 düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirilemedi. Hasta grubunun ortalama IL-23 düzeyi kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı saptandı. Bu sonuçlar daha önce konuyla ilgili yapılan bazı çalışma sonuçlarından farklı bulunmuştur. Wong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SLE hastalarının kontrol grubuna göre plazma IL-12, IL-17, IL-23 ve CXCL10 konsantrasyonları anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Yapılan bu çalışmada özellikle IL-17, kontrol grubuna göre yüksek düzeylerde anlamlı farklılık gösteren sitokin olmuştur ( $p<0.001$ ). IL-23 ise IL-17'yi takip etmektedir ( $p<0.01$ ). SLE hastalarının IL-17A sentezleyen Th17 hücre sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artma göstermiştir. Hastaların IL-17 düzeyleriyle hastalık aktiviteleri arasında da istatistiksel anlamlı bir korelasyon gözlenmişken, IL-23 düzeyi ile SLEDAI skoru arasında tüm hasta gruplarında anlamlı farklılık gözlenmemiştir (81). Çalışmamızın sonuçları, bu çalışmanın sonuçlarından farklıdır. Wong ve arkadaşlarının çalışmasında hasta grubunun %90'ı steroid tedavisi almakta ve hastaların ortalama SLEDAI skoru 8 iken bizim çalışmamızda hastaların 12'si (%15) yeni tanı almış ve tedavisi başlanmamış idi. Yirmibir hasta (%26.2) >40 mg prednizolon ve/veya diğer immün süpresif (azathioprine veya siklofosfamid) tedavi altında ve geri kalan 31'i (%38.7) 10-40 mg prednizolon tedavisi altında idi. Onaltı hasta (%20) çalışmaya alındığı sırada kortikosteroid ya da immünsüpresif tedavi almıyordu. Hastaların ortalama SLEDAI skoru ise 4.7 saptanmıştı. Hastaların ortalama SLEDAI skorunun 4.7 olmasının (orta düzeyde aktif) ve aldıkları immünsüpresif tedavilerin IL-23 sonuçlarını etkilediği düşünülebilir. Dolayısıyla daha aktif dönemdeki hastaların çalışmaya alınması sonucu değiştirir mi sorusu akla gelebilir. Ancak SLEDAI skoru  $\geq 11$  olan hasta grubunun IL-17 ve IL-23 düzeyleri

ile kontrol grubunun IL-17 ve IL-23 düzeyleri istatistiksel anlamlı farklılık göstermemektedir. SLEDAI skoru  $\geq 11$  olan 4 hastanın IL-23 düzeyi ölçülemeyecek kadar düşük saptanmıştır. Kontrol grubunun ortalama IL-23 düzeyi 10.33 pg/dl ve ortanca IL-23 düzeyi 8,14 pg/dl iken; SLEDAI skoru  $>10$  olan hasta grubunun ortalama IL-23 düzeyi 26.2 pg/dl ve ortanca değer ise 10.01 pg/dl'dir. Ancak bu grubun hasta sayısının da 11 olduğunu göz önünde bulundurmalıyız. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (p:0.6). Bu gözlem ve bulgular serum IL-23 düzeyinin hastalık aktivasyonu için önemli bir ipucu verip veremeyeceği sorusunu yanıtlamak zor görünmektedir.

Çalışmamızda hasta grubunun ortalama IL-23 düzeyi kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat yüksek saptanmıştır (sırasıyla 21,86 ve 10,33 pg/dl). Kontrol grubundaki hastaların ortanca IL-23 değeri 8,1 pg/dl iken hasta grubunun ortanca IL-23 düzeyi 10,01 pg/dl olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Hasta grubunun IL-23 düzeyi aktif böbrek, cilt tutulumları ve anormal hematolojik bulgusu olanlarda olmayanlara göre istatistiksel anlamlı farklı bulunmamıştır. Bu sonuç Wong ve arkadaşlarının çalışmasıyla uyumlu görünmektedir. Ayrıca hastalık aktivasyonu bulgularından olan anti-ds DNA, C3 ve C4 düzeyleriyle de IL-23 düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Kurosawa ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmanın sonuçları çalışmamızın sonuçlarına benzer niteliktedir. Bu çalışmada 16 Japon SLE hastasının ve sağlıklı gönüllülerin IL-17 düzeyleri normal sınırlarda saptanmıştır (84).

Sonuçta, IL-17 ve Th17 hücrelerinin SLE hastalığı gelişiminde ve progresyonunda rol aldığını düşündürür kanıtlar olsa da hastalığın gelişiminde ve aktivasyonunda Th17 hücrelerinin her zaman gerekli olduğunu gösterir kanıt yoktur (83). Lupus hastalığı heterojen bir hastalık olduğundan değişik patogenez mekanizmalarının olması da beklenen bir durumdur. Yapılan hayvan ve bazı insan çalışmaları özellikle IL-17'nin hastalığın gelişimindeki olası rolü hakkında bilgi verse de bunu desteklemeyen çalışmalar da vardır. Bizim çalışmamızda ise SLE hastalarının IL-17 ve IL-23 düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. Ayrıca hastalığın klinik ve laboratuvar verileri ile bu sitokinlerin düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Seksen hasta ve yetmiş iki sağlıklı bireyi kapsayan çalışmamızda, hasta sayısının literatürdeki benzer çalışmalar dikkate alındığında yeterli olduğu kabul edilebilir. IL-17 ve IL-23'ün, SLE hastalığının patogenezinin katkısı olabilir, ancak bu sitokinlerin serum düzeylerinin SLE klinik ve laboratuvar bulguları ile ve de hastalık aktivitesi ile ilişkisi gösterilememiştir. Bu konuyla ilgili aktif dönemde olan daha fazla sayıda hastanın dahil edildiği ileri çalışmalar yapılabilir.

## 6. SONUÇLAR

- 1- Çalışmamızda sistemik otoimmün bir hastalık olan SLE'da yakın dönemde tanımlanan yeni bir yardımcı T hücre alt tipi olan Th17 ile ilgili sitokinlerin serum düzeyleri araştırılmıştır. Hasta grubunda IL-17 düzeyi kontrol grubundan farklı bulunmamıştır. Hasta grubunda IL-17 düzeyi sadece 5 hastada kullanılan kitin ölçebileceği en düşük düzeyin üstünde saptanmıştır.
- 2- Hasta grubunun ortalama IL-23 düzeyi kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat yüksek olup hasta grubuyla kontrol grubunun IL-23 düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p:0.40).
- 3- Hasta grubunun klinik ve laboratuvar bulgularıyla IL-23 düzeyi karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılıklar saptanmadı. Aktif böbrek, cilt tutulumu ve lökopenisi olan hastaların olmayanlar göre IL-23 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi (sırasıyla p: 0,10, p:0,18 ve p:0,65).
- 4- Tüm hastaların SLEDAI skorları hesaplandı ve SLEDAI skorlarına göre hastalar gruplandı. Grupların kendi arasında ve kontrol grubuyla karşılaştırılmasında IL-23'ün istatistiksel anlamlı farklılıklar göstermediği saptandı.
- 5- Çeşitli SLE hayvan modelleri ve bazı insan çalışmaları IL-17 ve IL-23'ün hastalığın patogenezinde önemli olduğunu desteklemiştir ancak çalışma grubumuzda elde ettiğimiz sonuçlar bu verileri destekler nitelikte değildir.

## 6. ÖZET

### SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOZUS HASTALARINDA KLİNİK BULGULARLA SERUM İNTERLÖKİN-17 VE İNTERLÖKİN-23 DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

**Giriş:** SLE, kronik, otoimmün, inflamatuvar ve birçok organı tutabilen bir hastalıktır. Patogenezi hala kesin olarak bilinmemektedir. Yakın dönemde tanımlanmış olan yeni bir yardımcı T hücre alt tipi olan Th17 ve bu hücrelerin ürettiği başlıca sitokin olan IL-17'nin çeşitli otoimmün hastalıklar ile SLE patogenezinde rolü olabileceği çeşitli deneysel otoimmün hastalık modellerinde gösterilmiştir. IL-23, Th17 hücrelerinin farklılaşma sürecinin tamamlanmasında ve devamlılığında gereklidir.

**Gereç ve Yöntemler:** SLE tanısı almış 80 hasta ve herhangi bir hastalığı olmayan 72 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların hastalıklarıyla ilgili organ tutulumlarına yönelik öykü, fizik muayene ve laboratuvar bulguları kaydedildi. Tüm hastaların ve kontrol grubunun IL-17 ve IL-23 düzeyleri ELISA yöntemiyle saptandı ve kontrol ve hasta grubunun IL-17 ve IL-23 değerleri istatistiki olarak karşılaştırıldı. Bu sitokinlerin düzeyleri aktif böbrek tutulumu, aktif cilt lezyonu ve lökopenisi olan hastalarda olmayanlarla karşılaştırıldı.

**Bulgular:** 80 hastanın 12'si erkek (%15) ve 68'i (%85) kadındı. Çalışmaya dahil edilen 80 hastanın yaş ortalaması ise 36.9 yıldır. Ortalama hastalık süresi ise 9.47 yıldır. İki grup arasında gerek cinsiyet (p:0.082) gerekse de yaş açısından (p:0.320) istatistiksel anlamlı bir farklılık yoktu. SLE hasta grubunda IL-17 düzeylerinin yükselmediği görüldü. Sadece 5 hastanın IL-17 düzeyi minimum ölçülebilecek düzeyin üstünde saptandı. IL-23 düzeyi hasta ve kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık göstermedi (p:0.409). Ayrıca aktif cilt, böbrek tutulumu ve anormal hematolojik bulguları olan hastaların IL-23 düzeyleri bu tutulumları olmayanlara göre istatistiki olarak farklı bulunmadı (sırasıyla p: 0.187, p:0,1 ve p:0.65). Ayrıca SLEDAI skoruna göre hasta grupları arasında ve kontrol grubuyla istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. Diğer laboratuvar bulgularıyla (anti-ds DNA antikor ve kompleman düzeyi) IL-23 arasında da istatistiksel anlamlı korelasyon bulunamadı.

**Tartışma:** IL-17 ve IL-23 sitokinlerinin SLE hastalığının patogenezinde etkili olduğunu destekler kanıtlar olsa da çalışmamızda hastaların IL-17 ve IL-23 düzeyleri

kontrol grubundan farklı saptanmamıştır. Ayrıca hastalarda hastalık aktivasyon bulguları ile de IL-23 düzeyi arasında ilişki bulunmamıştır.

**Anahtar Sözcükler:** SLE, IL-17, IL-23, SLEDAI

## 6. SUMMARY:

### SERUM INTERLEUKIN-17 AND INTERLEUKIN-23 LEVELS OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS PATIENTS AND THE RELATION WITH CLINICAL FINDINGS

**1. Introduction:** Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic, autoimmune, inflammatory and multisystem disease and its exact pathogenesis is not completely known. Some experimental autoimmune disease models showed that newly defined helper T cell subtype Th17 and its major cytokine IL-17 played a role in pathogenesis of several autoimmune diseases and SLE and IL-23 is required for the full and sustained differentiation of Th17 cells.

**2. Materials and Methods:** 80 SLE patients and 72 healthy controls were included our study. We obtained all laboratory and clinical data of patients related with SLE. We detected IL-17 and IL-23 levels of patients and healthy controls by ELISA and serum IL-17 and IL-23 levels of patients and control subjects were compared by statistically. We also analysed whether there were any correlations between serum IL-17 and IL-23 levels and disease parameters (complement, anti-ds DNA levels and SLEDAI scores). IL-17 and IL-23 levels were also evaluated in patients with active renal disease, active skin lesions and abnormal hematological findings.

**3. Results:** 68 patients (85%) were female and 12 (15%) were male and mean age was 33.9 years. Mean disease duration was 9.47 years. Age and sex of patients and healthy controls didn't show any statistically significant difference (p:0.32 and p:0.08 respectively). We found that serum IL-17 levels of patients didn't increase in patient population. Only 5 patients had more than 10 pg/ml that was the minimum detectable level of ELISA kit. There was no statistically significant difference at serum IL-23 levels of patients and healthy controls (p:0.409). We also showed that serum IL-23 levels didn't show any statistically significant difference in patients with active renal disease, active skin lesions, and leukopenia (p: 0.187, p:0.100 and p:0.650 respectively). No correlation was found between disease activity parameters (anti-ds DNA, complement level and SLEDAI scores) of SLE and IL-23 levels.

**4. Discussion:** Although some animal SLE models and limited number of human studies supported the idea that IL-17 and IL-23 played a role in SLE pathogenesis, we found that serum IL-17 and IL-23 levels of patients and healthy controls didn't

show any statistically significant difference and serum levels of these cytokines are not correlated with clinical and laboratory findings and disease activity of SLE.

**Key words:** SLE, IL-17, IL-23, SLEDAI

## KAYNAKLAR

- 1- D'Cruz DP, Khamashta MA, Hughes GR. Systemic Lupus Erythematosus. *Lancet*. 2007; 369: 587-596
- 2- Rothfield N. Clinical Features of systemic lupus erythematosus. In: *Textbook of Rheumatology*, Kelley WN, Haris ED, Ruddy S, Sledge CB (Eds), WB Saunders, Philadelphia, 1981
- 3- Schaller J. Lupus in childhood. *Clin Rheum Dis* 1982; 8: 219-228
- 4- Ballau SP, Khan MA, Kushner I. Clinical Features of systemic lupus erythematosus. Differences related to race and age of onset. *Arthritis Rheum* 1982; 25:55-60
- 5- Petri M. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2002; 16: 847-858
- 6- Chung SA, Tian C, Taylor KE, Lee AT, Ortmann WA, Hom G, Graham RR, Nititham J, Kelly JA, Morrisey J, Wu H, Yin H, Alarcón-Riquelme ME, Tsao BP, Harley JB, Gaffney PM, Moser KL, Manzi S, Petri M, Gregersen PK, Langefeld CD, Behrens TW, Seldin MF, Criswell LA. European population substructure is associated with mucocutaneous manifestations and autoantibody production in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 2448-2456
- 7- Fernandez M, Alarcón GS, Calvo-Alén J, Andrade R, McGwin G Jr, Vilá LM, Reveille JD; LUMINA Study Group. A multiethnic, multicenter cohort of patients with systemic lupus erythematosus (SLE) as a model for the study of ethnic disparities in SLE. *Arthritis Rheum* 2007; 57: 576-584
- 8- Ward MM, Studenski S. Clinical manifestations of systemic lupus erythematosus. Identification of racial and socioeconomic influences. *Arch Intern Med* 1990;150: 849-853
- 9- Uramoto KM, Michet CJ, Thumboo J, Sunku J, O'Fallon WM, Gabriel SE. Trends in the incidence and mortality of systemic lupus erythematosus, 1952-1992. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 46-50
- 10- Merrell M, Shulman LE. Determination of prognosis in chronic disease, illustrated by systemic lupus erythematosus. *J Chronic Dis* 1955; 1: 12-32
- 11- Abu-Shakra M, Urowitz MB, Gladmann DD, Gough J. Mortality studies in systemic lupus erythematosus: results from a single center. II. Predictor variables for mortality. *J Rheumatol* 1995; 22: 1265-1270
- 12- Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725
- 13- Greco CM, Rudy TE, Manzi S. Adaptation to chronic pain in systemic lupus erythematosus: applicability of the multidimensional pain inventory. *Pain Med* 2003; 4: 39-50
- 14- Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol* 2003; 56: 481-490
- 15- Roman MJ, Shanker BA, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantov R, Crow MK, Schwartz JE, Paget SA, Devereux RB, Salmon JE. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 2407-2415

- 16- Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 1052-1056
- 17- Ng KP, Mnason JJ, Rahman A, Isenberg DA. Association of antinucleosome antibodies with disease flare in serologically active clinically quiescent patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006; 55: 900-904
- 18- Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2008; 358: 929-939
- 19- Munoz LE, Gaipf US, Franz S, Sheriff A, Voll RE, Kalden JR, Hermann M. SLE- a disease of clearance deficiency? *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 1101-1107
- 20- Graham RR, Kozyrev SV, Baechler EC, Reddy MV, Plenge RM, Bauer JW, Ortmann WA, Koeuth T, González Escribano MF; Argentine and Spanish Collaborative Groups, Pons-Estel B, Petri M, Daly M, Gregersen PK, Martín J, Altshuler D, Behrens TW, Alarcón-Riquelme ME. A common haplotype of interferon regulatory factor 5 (IRF5) regulates splicing and expression and is associated with increased risk of systemic lupus erythematosus. *Nat Genet* 2006; 38: 550-555
- 21- Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, Harley JB. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 1526-1533
- 22- McClain MT, Arbuckle MR, Heinlen LD, Dennis GJ, Roebuck J, Rubertone MV, Harley JB, James JA. The prevalence, onset, and clinical significance of antiphospholipid antibodies prior to diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1226-1232
- 23- Sullivan KE. Genetics of systemic lupus erythematosus: clinical implications. *Rheum Dis Clin North Am* 2000;26: 229-256
- 24- Walport MJ, Davies KA, Botto M. C1q and systemic lupus erythematosus. *Immunobiology* 1998; 199: 265-285
- 25- Hom G, Graham RR, Modrek B, Taylor KE, Ortmann W, Garnier S, Lee AT, Chung SA, Ferreira RC, Pant PV, Ballinger DG, Kosoy R, Demirci FY, Kamboh MI, Kao AH, Tian C, Gunnarsson I, Bengtsson AA, Rantapää-Dahlqvist S, Petri M, Manzi S, Seldin MF, Rönnblom L, Syvänen AC, Criswell LA, Gregersen PK, Behrens TW. Association of Systemic Lupus Erythematosus with C8orf-BLK and ITGAM-ITGAX. *N Engl J Med* 2008; 358: 900-909
- 26- Miyagawa H, Yamai M, Sakaguchi D, Kiyohara C, Tsukamoto H, Kimoto Y, Nakamura T, Lee JH, Tsai CY, Chiang BL, Shimoda T, Harada M, Tahira T, Hayashi K, Horiuchi T. Association of polymorphisms in complement component C3 gene with susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47:158-164
- 27- Schur PH. Genetics of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1995; 4: 425-437
- 28- Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, St Clair EW, Parks CG, Gilkeson GS. Hormonal, environmental, and infectious risk factors for developing systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1714-1724

- 29- Ghaussy NO, Sibbitt WL Jr, Qualls CR. Cigarette smoking, alcohol consumption, and the risk of systemic lupus erythematosus: a case-control study. *J Rheumatol* 2001; 28: 2449-2453
- 30- James JA, Harley JB, Scofield RH. Epstein-Barr virus and systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18: 462-467
- 31- McMurray RW, May W. Sex hormones and systemic lupus erythematosus: review and meta analysis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2100-2110
- 32- Costenbader KH, Feskanich D, Stampfer MJ, Karlson EW. Reproductive and menopausal factors and risk of systemic lupus erythematosus in women. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 1251-1262
- 33- Lahita RG. Role of sex hormones in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 1999; 11: 352-356
- 34- Sidiropoulos PI, Boumpas DT. Lesions learned from anti-CD40L treatment in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2004; 13: 391-397
- 35- Davidson A, Diamond B, Wofsy D, Daikh D. Block and tackle: CTLA4Ig takes on lupus. *Lupus* 2005; 14: 197-203
- 36- Klinman DM, Shirai A, Ishigatsubo Y, Conover J, Steinberg AD. Quantitation of IgM and IgG-secreting B cells in the peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 1404-1410
- 37- Linker-Israeli M, Deans RJ, Wallace DJ, Prehn J, Ozeri-Chen T, Klinenberg JR. Elevated levels of endogenous IL-6 in systemic lupus erythematosus. A putative role in pathogenesis. *J Immunol* 1991; 147: 117-123
- 38- Bakke AC, Kirkland PA, Kitridou RC. T lymphocytes subsets in systemic lupus erythematosus. Correlations with corticosteroid therapy and disease activity. *Arthritis Rheum* 1983;26: 745-750
- 39- Mudd PA, Teague BN, Farris AD. Regulatory T cells and systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol* 2006; 64: 211-218
- 40- Valencia X, Yarboro C, Illei G, Lipsky PE. Deficient CD4+CD25 (high) T regulatory cell function in patients with active systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2007; 178: 2579-2588
- 41- Korn T, Betteli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 cells. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 485-517
- 42- Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 145-173
- 43- Glimcher LH, Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up. *Genes Dev* 2000; 14: 1693-1711
- 44- Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y Hunte B, Vega F, Yu N, Wang J, Singh K, Zonin F, Vaisberg E, Churakova T, Liu M, Gorman D, Wagner J, Zurawski S, Liu Y, Abrams JS, Moore KW, Rennick D, de Waal-Malefyt R, Hannum C, Bazan JF, Kastelein RA. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity*; 13: 715-725
- 45- Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Matson J, Basham B, Sedgwick JD, McClanahan T, Kastelein RA, Cua DJ. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201: 233-240

- 46- Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006; 441: 231-234
- 47- Betteli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441: 235-238
- 48- Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2006; 24: 99-146
- 49- Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med* 2009; 361: 888-898
- 50- Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat J, Jarrossay D, Gattorno M, Lanzavecchia A, Sallusto F, Napolitani G. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 639-646
- 51- Sato W, Aranami T, Yamamura T. Cutting edge: human Th17 cells are identified as bearing CCR2+CCR5- phenotype. *J Immunol* 2007; 178: 7525-7529
- 52- Nalbandian A, Crispin JC, Tsokos GC. Interleukin-17 and systemic lupus erythematosus: current concepts. *Clin Exp Immunol*; 2009; 157: 209-215
- 53- Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, de Sauvage FJ, Gurney AL. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *J Biol Chem* 2003; 278: 1910-1914
- 54- McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Blumenschein W, McClanahan T, Cua DJ. TGF- $\beta$  and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain TH-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol* 2007; 8: 1390-1397
- 55- Krueger GG, Langley RG, Leonardi C, Yeilding N, Guzzo C, Wang Y, Dooley LT, Lebwohl M; CNTO 1275 Psoriasis Study Group. A human interleukin-12/23 monoklonal antibody for the treatment of psoriasis. *N Engl J Med* 2007; 356: 580-592
- 56- Kirkham BW, Lassere MN, Edmonds JP, Juhasz KM, Bird PA, Lee CS, Shnier R, Portek IJ. Synovial membrane cytokine expression is predictive of joint damage progression in rheumatoid arthritis: a two-year prospective study (the DAMAGE study cohort) *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1122-1131
- 57- Matusevicius D, Kivisakk P, He B, Kostulas N, Ozenci V, Fredrikson S, Link H. Interleukin-17 mRNA expression in blood and CSF mononuclear cells is augmented in multiple sclerosis. *Mult Scler* 1999; 5: 101-104
- 58- Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, Abraham C, Regueiro M, Griffiths A, Dassopoulos T, Bitton A, Yang H, Targan S, Datta LW, Kistner EO, Schumm LP, Lee AT, Gregersen PK, Barnada MM, Rotter JJ, Nicolae DL, Cho JH. A genome-wide association study identifies *IL-23R* as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006; 314: 1461-1463
- 59- Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Taha R, Pagé N, Olivenstein R, Elias J, Chakir J. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human

- bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 430-438
- 60- Lock C, Hermans G, Pedotti R, Brendolan A, Schadt E, Garren H, Langer-Gould A, Strober S, Cannella B, Allard J, Klonowski P, Austin A, Lad N, Kaminski N, Galli SJ, Oksenberg JR, Raine CS, Heller R, Steinman L. Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med* 2002; 8: 500-508
- 61- Matusiewicz D, Kivisakk P, He B, Kostulas N, Ozenci V, Fredrikson S, Link H. Interleukin-17 mRNA expression in blood and CSF mononuclear cells is augmented in multiple sclerosis. *Mult Scler* 1999; 5: 101-104
- 62- Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M, Klein JS, de la Motte C, Strong SA, Fiocchi C, Strober W. Disparate CD4+ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J Immunol* 1996; 157: 1261-1270
- 63- Fuss IJ, Becker C, Yang Z, Groden C, Hornung RL, Heller F, Neurath MF, Strober W, Mannon PJ. Both IL-12p70 and IL-23 are synthesized during active Crohn's disease and are down-regulated by treatment with anti-IL-12 p40 monoclonal antibody. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 9-15
- 64- Nielsen OH, Kirman I, Rudiger N, Hendel J, Vainer B. Upregulation of IL-12 and -17 in active inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 180-185
- 65- Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, Abraham C, Regueiro M, Griffiths A, Dassopoulos T, Bitton A, Yang H, Targan S, Datta LW, Kistner EO, Schumm LP, Lee AT, Gregersen PK, Barnada MM, Rotter JJ, Nicolae DL, Cho JH. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006; 314: 1461-1463
- 66- Wang X, Lin Z, Wei Q, Jiang Y, Gu J. Expression of IL-23 and IL-17 and effect of IL-23 on IL-17 production in ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2009; 29: 1343-1347
- 67- Karaderi T, Harvey D, Farrar C, Appleton LH, Stone MA, Sturrock RD, Brown MA, Wordsworth P, Pointon JJ. Association between the interleukin 23 receptor and ankylosing spondylitis is confirmed by a new UK case control study and meta-analysis of published series. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48: 386-389
- 68- Bombardieri C, D.D. Gladman, M.B. Urowitz, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI: a disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 630-664.
- 69- Langrish CL, McKenzie BS, Wilson NJ, de Waal Malefyt R, Kastelein RA, Cua DJ. IL-12 and IL-23: master regulators of innate and adaptive immunity. *Immunol Rev*; 2004: 202: 96-105
- 70- Boniface K, Blom B, Liu YJ, de Waal Malefyt R. From IL-23 to T-helper 17 cells: human T-helper cell differentiation revisited. *Immunol Rev* 2008; 226: 132-146
- 71- Sato K, Suematsu A, Okamoto K, Yamaguchi A, Morishita Y, Kadono Y, Tanaka S, Kodama T, Akira S, Iwakura Y, Cua DJ, Takayanagi H. Th17

- functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med* 2006; 203: 2673-2682
- 72- Nakae S, Nambu A, Sudo K, Iwakura Y. Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice. *J Immunol* 2003; 171: 6173-6177
- 73- Fleming SD, Monestier M, Tsokos GC. Accelerated ischemia/reperfusion-induced injury in autoimmunity-prone mice. *J Immunol* 2004; 173: 4230-4235
- 74- Edgerton C, Crispin JC, Moratz CM, Bettelli E, Oukka M, Simovic M, Zacharia A, Egan R, Chen J, Dalle Lucca JJ, Juang YT, Tsokos GC. IL-17 producing CD4+ T cells mediate accelerated ischemia/reperfusion-induced injury in autoimmunity-prone mice. *Clin Immunol* 2009; 130: 313-321
- 75- Kang HK, Liu M, Datta SK. Low-dose peptide tolerance therapy of lupus generates plasmacytoid dendritic cells that cause expansion of autoantigen-specific regulatory T cells and contraction of inflammatory Th17 cells. *J Immunol* 2007; 178: 7849-7858
- 76- Hsu HC, Zhou T, Kim H, Barnes S, Yang P, Wu Q, Zhou J, Freeman BA, Luo M, Mountz JD. Production of a novel class of polyreactive pathogenic autoantibodies in BXD2 mice causes glomerulonephritis and arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 343-355
- 77- Hsu HC, Yang P, Wang J, Wu Q, Myers R, Chen J, Yi J, Guentert T, Tousson A, Stanus AL, Le TV, Lorenz RG, Xu H, Kolls JK, Carter RH, Chaplin DD, Williams RW, Mountz JD. Interleukin 17-producing T helper cells and interleukin 17 orchestrate autoreactive germinal center development in autoimmune BXD2 mice. *Nat Immunol* 2008; 9: 166-175
- 78- Hsu HC, Wu Y, Yang P, Wu Q, Job G, Chen J, Wang J, Accavitti-Loper MA, Grizzle WE, Carter RH, Mountz JD. Overexpression of activation-induced cytidine deaminase in B cells is associated with production of highly pathogenic autoantibodies. *J Immunol* 2007; 178: 5357-5365
- 79- Dong G, Ye R, Shi W, Liu S, Wang T, Yang X, Yang N, Yu X. IL-17 induces autoantibody overproduction and peripheral blood mononuclear cell overexpression of IL-6 in lupus nephritis patients. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116: 543-548
- 80- Jacob N, Yang H, Pricop L, Liu Y, Gao X, Zheng SG, Wang J, Gao HX, Putterman C, Koss MN, Stohl W, Jacob CO. Accelerated pathological and clinical nephritis in systemic lupus erythematosus-prone New Zealand Mixed 2328 mice doubly deficient in TNF receptor 1 and TNF receptor 2 via a Th17-associated pathway. *J Immunol* 2009; 182: 2532-2541
- 81- Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, Wong PT, Lam CW. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity. *Clin Immunol* 2008; 127: 385-393
- 82- Wong CK, Ho CY, Li EK, Lam CW. Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2000; 9: 589-593
- 83- Garrett-Sinha LA, John S, Gaffen SL. IL-17 and the Th17 lineage in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20: 519-525

- 84-** Kurosawa K, Hirose K, Sano H, Endo H, Shinkai H, Nawata Y, Takabayashi K, Iwamoto I. Increased interleukin-17 production in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2455-2463

EK-1

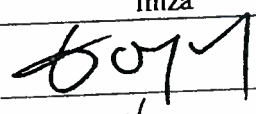
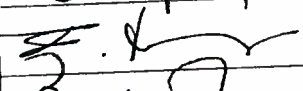
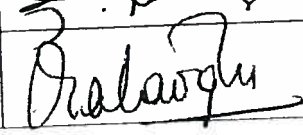
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ETİK KURULU  
RESEARCH ETHICS COMMITTEE OF MEDICAL FACULTY, ANKARA UNIVERSITY  
ANKARA-TÜRKİYE  
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	
	PROTOKOL ADI	Sistemik lupus eritematozus hastalarında klinik bulgularla serum IL-23 ve IL-17 değerlerinin incelenmesi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Prof.Dr.Nurşen Düzgün
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Ankara Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Klinik İmmünoloji ve Romatoloji Bilim Dalı
	DESTEKLEYİCİ FİRMA	

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BİLGİLER	Belge Adı	Değişiklik No. / Tarihi	Dili
	PROTOKOL		
	ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ		
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLURU		
	OLGU RAPOR FORMU		

ÇALIŞMA ESASI İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 154-4934	Tarih: 29 Haziran 2009
	Araştırma protokolüne tamamen uyulmak, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Yönergesinde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve Yönergenin 11/h maddesi gereği sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere bütçesi temin edildiği takdirde laboratuvar çalışmasının fakültemizde yürütülmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan öğretim üyelerinin oybirliği ile karar verildi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ				İmza
Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	
Prof. Dr. İsmail Hakkı Ayhan Başkan	Farmakoloji	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof. Dr. Efser Kerimoğlu Başkan Yardımcısı	Çocuk Psikiyatrisi	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Özden Palaoğlu Sekreter	Farmakoloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	

Hasan TUNA  
A. Ü. Tıp Fakültesi  
İdari Personel Bürosu Şefi



16 Temmuz 2009

Prof. Dr. Handan Onur Üye	Tıbbi Onkoloji	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof. Dr. Ajlan Tükün Üye	Tıbbi Genetik	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Esra Erden Üye	Patoloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Aydan İkinciogulları Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Ethem Geçim Üye	Genel Cerrahi	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof. Dr. Erdal Onar Üye	Hukuk	Ankara Üniv. Hukuk Fakültesi	E	
Prof. Dr. Yasemin Oğuz Üye	Deontoloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Bülent Gümüşel Üye	Farmakoloji-Eczacı	Hacettepe Üniv. Eczacılık Fakültesi	E	
Doç. Dr. Ashıhan Avcı Üye	Biyokimya	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Gülsüm Aslan	Sağlık Mesleği Dışı	Emekli	K	



16 Temmuz 2016

## EK 2. SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOZUS HASTALIK AKTİVASYON İNDEKSİ

PUAN	BULGU	TANIM
8	Nöbet	Yeni başlangıçlı. Metabolik, infeksiyöz ve ilaçlara bağlı nedenler dışlanmalı
8	Psikoz	Gerçeği değerlendirme yetisinde normal aktivitelerini devam ettiremeyecek kadar ciddi bozulma olması. Halüsinasyonlar, tutarsız davranışlar, düşünce içeriğinde gerileme olması, mantıksız düşünceler, tuhaf, organize olamayan, katatonik davranışları kapsamaktadır. Üremi ve ilaçlara bağlı nedenler dışlanmalıdır.
8	Organik Beyin Sendromu	Mental durum değişiklikleri. Bozulmuş oryantasyon, hafıza veya diğer entellektüel fonksiyonlar. Dikkat dağınıklığını da içerecek şekilde bilinç bulanıklıkları, çevreye karşı duyarlılık bu kapsamda değerlendirilmelidir. Ayrıca bunlara ek olarak aşağıda belirtilen bulgulardan en az ikisi bulunmalıdır: Algı bozukluğu, tutarsız konuşma, insomnia veya gün içinde sürekli uyuklama hali, artmış ya da azalmış psikomotor aktivite. Metabolik, enfeksiyöz ve ilaçlara bağlı nedenler dışlanmalıdır.
8	Görme Bozuklukları	SLE'nin retinal değişiklikleri. Sitoid cisimler, retinal hemorajiler, seröz eksudalar veya koroidlerde hemoraji, veya optik nöriti içermektedir. Hipertansiyon, enfeksiyon veya ilaçlara bağlı nedenler dışlanmalıdır.
8	Kranial Sinir Bozuklukları	Kranial sinirleri de içerecek şekilde yeni gelişen motor ve duyuşal nöropati
8	Lupus Başağrısı	Ciddi persistan başağrısı: Migrenöz bir ağrı olabilir, fakat kesinlikle narkotik analjeziklere yanıtız olmalıdır.
8	SVO	Yeni gelişimli serebrovasküler olay(lar). Arterioskleroz dışlanmalıdır.
8	Vaskülit	Ülserasyon, gangren, hassas parmak nodülleri, periungal infarkt, splinter hemorajiler, veya vaskülitin biyopsi veya anjiyogram ile kanıtlanması
4	Artrit	İkiden fazla eklemdede ağrı ve inflamasyon bulgularının olması (hassasiyet, şişlik veya efüzyon)
4	Myozit	Kreatin fosfokinaz/aldolazlarda yükselme ile birlikte proksimal kas ağrısı/güçsüzlüğü veya elektromyogram değişiklikleri veya myoziti gösteren biyopsi
4	İdrar tortuları	Heme-granüler veya eritrosit tortuları
4	Hematüri	Büyük büyütmelerde her alanda >5 beyaz kan hücresi.

		Enfeksiyon dışlanmalıdır
4	Proteinüri	>0.5 gr/gün. Yeni gelişimli veya bir öncekine göre 0.5 g/gün artış olması.
4	Piyüri	Büyük büyütme alanında >5 lökosit görülmesi. Enfeksiyon dışlanmalıdır.
2	Yeni gelişimli raş	Yeni gelişimli veya inflamatuvar tipte raşın tekrarlama
2	Alopesi	Yeni gelişimli veya anormal, bölgesel veya yaygın saç kaybının tekrarlama
2	Mukozal ülserler	Yeni gelişimli veya oral veya nazal ülserasyonların tekrarlama
2	Plörezi	Plevral sürtünme veya efüzyonla birlikte plöretik göğüs ağrısı veya plevral kalınlaşma
2	Perikardit	Perikardiyal ağrı ve aşağıdakilerden en az birinin varlığı: sürtünme, efüzyon veya elektrokardiyografik doğrulama
2	Düşük kompleman	CH50, C3, veya C4'ün normal sınırların altında olması
2	DNA bağlanmasındaki artış	Farr değerlendirmesiyle >%25 bağlanma veya testi yapan laboratuvarın normalinin alt sınırında olması
1	Ateş	>38°C. Enfeksiyöz nedenler dışlanmalıdır.
1	Trombositopeni	<100000 platelet/mm <sup>3</sup>
1	Lökopeni	< 3000 lökosit/ mm <sup>3</sup> İlaçlara bağlı nedenler dışlanmalıdır.
0-3	Doktorun hastayı genel olarak değerlendirmesi	0                      1                      2                      3 Normal   Hafif                      Orta                      Ağır

TOPLAM SKOR: