

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
ROMATOLOJİ BİLİM DALI

142455

SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOZDA
ANTİNÜKLEOSOM ANTİKORLAR

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. DEMET ATAMAN TAŞAN

(Tez danışmanı Doç. Dr. ŞULE YAVUZ)

İSTANBUL
2005

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
GİRİŞ	4
GENEL BİLGİLER	5
ARAÇLAR VE YÖNTEM	24
BULGULAR	26
TARTIŞMA	30
SONUÇ	37
ÖZET	38

TEŞEKKÜR

Üst ihtisasım süresince üstün bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, sonsuz bir sabırla düşüncelerime yön veren değerli Hocam Marmara Ü. Tıp Fakültesi Romatoloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Haner Direskeneli'ye,

Tez çalışmamın her aşamasında desteğini esirgemeyen ve düşünce hızına her zaman hayranlık duyacağım Sayın Doç. Dr. Şule Yavuz'a,

Çok değerli bilgilerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Tülin Ergun'a ve Sayın Doç. Dr. Serhan Tuğlular'a

Yoğun çalışma temposu içinde, özveriyle çalışmamın laboratuvar bölümünü üstlenen Sayın Dr. Yeşim Elbir'e

Üç yıl boyunca hayatı ve dostluğu paylaştığım tüm çalışma arkadaşlarıma ve Yaşamdaki en büyük desteğime, Dr. Güralp Taşan'a teşekkür ederim.

GİRİŞ

Sistemik Lupus Eritematozus (SLE), hücre çekirdeğinin çeşitli komponentlerine karşı oluşan antikörlerin varlığı ile karakterize kronik, inflamatuvar, otoimmün bir hastalıktır. Böbrek yetmezliği, vaskülit, tromboz, iskemik kalp hastalığı, inme ve diğer nörolojik komplikasyonlara neden olabildiği için, tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur (1).

SLE nin etyolojisi bilinmemekle birlikte hücre içi-antijenlere, özellikle anti-histon, anti-ssDNA (Anti-single-stranded DNA) ve anti-dsDNA (anti-double-stranded DNA) gibi nükleer antijenlere karşı oluşan antikörlerin varlığı ile karakterize bir seyri vardır (2). Anti-dsDNA antikörler hastalığın tanısı ve aktivitesinin belirlenmesinde önemli bir gösterge olarak kabul edilirler. Ancak lupus hastalarının yalnızca yarısında bulunurlar ve her zaman hastalık aktivitesi ile ilişki göstermezler (3). Buna karşılık son yıllarda, apoptoz sırasında nukleosomal bölünme sonucu ortaya çıkan nukleosomun (2) SLE etyopatogenezinde temel antijen olduğu ve anti-nukleosom antikörlerin hastalık aktivitesini daha iyi yansıttığı bildirilmektedir (4-9). Ayrıca anti-nukleosom antikörlerin, SLE tanısında sensitivite ve spesifitesinin anti-dsDNA antikörlere göre daha yüksek olduğu öne sürülmektedir (4-9). Ancak uzun hastalık süresine sahip hastalarda bu antikörlerin anti-dsDNA antikörlardan daha sensitif ve spesifik oldukları kesin olarak gösterilememiştir (5, 90). Bu çalışmanın amacı, lupus hastalarında anti nukleosom antikör sıklığını ve bu antikörler ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi araştırmak olarak belirlenmiştir.

GENEL BİLGİLER

SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOSUS

Epidemioloji

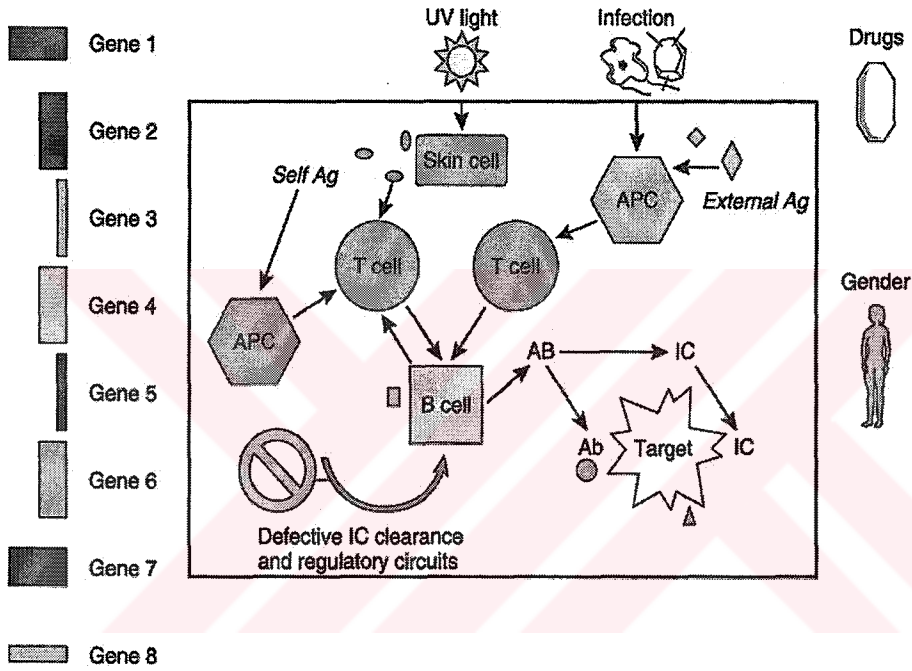
SLE sıklıkla 40 yaş altı genç erişkinlerde görülen bir hastalıktır (10,11). Bu yaş grubundaki kadınlarda erkeklere göre 9 kat daha sıktır (12). İnsidans ve prevalans Amerika'da yaşayan siyahlarda beyazlarla karşılaştırıldığında en az 4 kat daha yüksektir ve hastalık sıklığı ve şiddeti açısından ırklar arasında belirgin farklılıklar gözlenir (13). Uramato ve ark. 1999'da SLE insidansını önceki dört dekaddakinden daha yüksek olarak bulmuşlardır (14). 1982 ACR (American College of Rheumatology) kriterleri (81) kullanılarak yapılan diğer bir araştırmada 1950-1979 yılları arasında SLE insidansı her 100.000 kişide 1.51 iken, 1980-1992 yılları arasında 100.000'de 5,56 bulunmuştur. Daha önceki 19 araştırmanın sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, insidans 100.000 de 7,3 dür (15). Hastalığın prevalansı 100.000'de 14,6 ile 50,8 arasında değişir (15). Ancak Amerika Birleşik Devletleri'nde telefon görüşmesi ile yapılan iki çalışmada insidans beklenenden yüksek bulunmuştur (16,17). Bu çalışmalardan birinde hastalar hekim tarafından değerlendirilerek tanı doğrulandığında prevalans 100.000 de 124 olarak tespit edilmiştir (17).

SLE'de 10 yıllık yaşam süresi 1950-1980 yılları arasında, % 65-76 olarak bildirilmiştir (18). 1970 li yılların sonunda Urowitz ve ark., lupusda bimodal survi eğrisi tanımladılar. Buna göre lupus hastalarında ölümlerin yarısı tanının konulduğu ilk yıllarda aktif hastalığa bağlı, diğer yarısı ise ilerleyen dönemlerde enfeksiyona ve tedavi komplikasyonlarına bağlı olarak meydana gelmekteydi (19). 1980 li yıllarda yeni antibiyotik, antihipertansif, antihiperlipidemik ve diabetes mellitus tedavilerinin geliştirilmesiyle 10 yıllık yaşam süresi % 85-93 düzeyine yükselmiştir (18). Sonraki yıllarda aterosklerozun hastalığın geç döneminde en önemli ölüm nedeni olduğu bildirilmiştir (20). Manzi ve ark.(21), Petri (22) ve Toronto Grubu (19) kardiyak görüntüleme ve karotis doppler görüntülemesi ile subklinik aterosklerozun saptanabileceğini göstermişlerdir.

Patogenez

SLE'nin patogenezini kompleks bir mekanizmadır (Şekil 1)(23). Patojenik otoantikorlar, immün kompleksler ve T lenfositleri hedef hücre hasarından sorumludurlar. Patojenik T ve B

hücrelerinin oluşmasına izin veren anormal immün yanıt, birden fazla komponentten oluşur. Hem eksternal, hem de self antijenler, antijen sunan hücreler aracılığı ile T ve B hücrelerinin hiperaktivasyonuna ve bu süreci durdurmaya çalışan regülatuar sistemin yetmezliğine neden olurlar. İmmunolojik anormallikler birden fazla duyarlı gen ve muhtemelen yetersiz koruyucu genler (25) ile çevresel uyaranlar arasındaki etkileşim sonucunda oluşurlar. Çevresel faktörlerden en azından bir tanesi (ultraviyole ışınlar), dermal hücrelerde apoptoz yoluyla DNA-protein, RNA protein ve fosfolipid self antijenlerinin immün sisteme sunulmasına neden olabilir (26).



Şekil 1. SLE patogenezi (Ref. 28).

Patojenik otoantikorlar :

Tüm bireylerde self moleküller ile reaksiyona giren antikor yapımı vardır. Dolayısıyla otoreaktif B lenfositleri normalde de bulunabilir. B lenfositlerin, Ig hafif ve ağır zincirleri rastlantısal olarak düzenlenmektedir. Bunların bir kısmı self antijene reaksiyon verebilir. Böyle çok sayıda otoreaktif B hücre klonu oluşabilir ve otoimmüniteden koruyucu klonal delesyon mekanizmalarına rağmen, periferde çıkabilir. Ig genlerinin fazla değişken bölgelerindeki somatik mutasyonlar da yeni antikor spesifitelerinin oluşumuna yol açmaktadır. Otoreaktif B lenfositlerin varlıklarının kanıtı, ürettikleri IgM tipindeki doğal otoantikorlardır. Bunlar patojenik özellikleri olmayan, düşük titrede ve düşük afiniteli antikorlardır. Otoreaktif B lenfositler tek başlarına otoimmüniteyi başlatamazlar. Her B lenfositin, antikor üretebilmek için CD4+ T lenfositlerden “başla” sinyalini alması gerekir.

Başka bir deyişle, otoantikor yapımı için, otoreaktif yani kendisine sunulan self peptidi tanıyıp reaksiyon verebilen T lenfositlere gerek vardır.

SLE'de çok sayıda otoantikor olmakla beraber Tan ve Hardy tarafından yapılan sınıflamada 3 ana grup oluşturulmuştur. En yüksek patojeniteye sahip grup; hastaların çoğunluğunda bulunan, DNA ve polimeraz, histon gibi DNA bağlayan proteinlere karşı olan antikorlardır. Özellikle çift sarmal DNA ya karşı gelişen antikorların glomerülonefritlerle ilişkisi gösterilmiştir. İkinci önemli grup; RNA ve U1-U6 olarak adlandırılan RNA'ya bağlı ribonükleoproteinleri tanıyan antikorlardır. U1RNP'ye karşı oluşan antikorlar mikst konnektif doku hastalığında görülürken, anti-Sm lupusa özgü kabul edilmektedir. Üçüncü grubu oluşturan anti-Ro ve anti-La antikorların da Sjögren sendromu, yeni doğan lupusu ve kutaneöz lupus ile ilişkili olduğu bilinmektedir.

Self peptidi tanıyabilen T lenfositler de her insanda bulunabilir. T lenfositlerin timustaki eğitimleri sırasında, self peptidlerin tamamı ile karşılaşma şansları yoktur. Bunun için potansiyel olarak self peptide reaktif T lenfosit klonlarının tamamı saptanıp ortadan kaldırılamaz ve bunların bir kısmı perifere çıkabilir. Bu otoreaktif T lenfositlerin otoimmünite oluşturmaları, klonal anergi mekanizmaları ile önlenmiştir. Sonuç olarak otoreaktif T lenfositler self peptide tolerandırlar ve inaktif halde tutulurlar. Otoimmüniteye duyarlılık vardır ancak otoimmünite gelişmez.

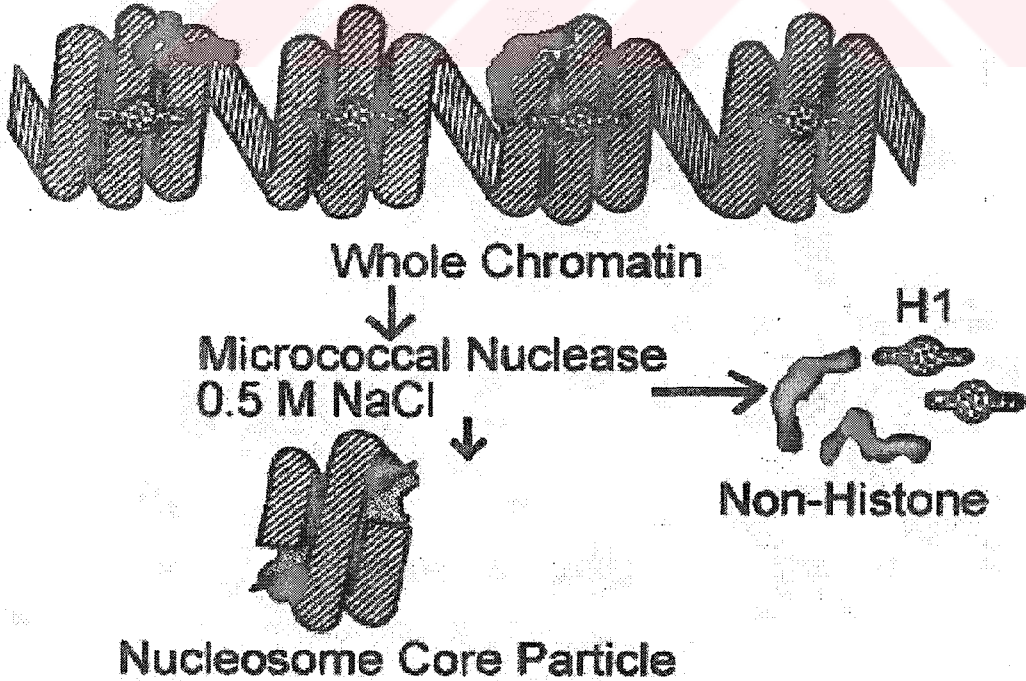
Otoimmüniteyi başlatan esas olayın, inaktif olması gereken hücre kolonlarının aktifleşmesi olduğu düşünülmektedir. Bir çok faktör otoreaktif T lenfositlerin aktifleşmesinden sorumlu olabilir:

- Ekzojen antijene verilen immün yanıt, moleküler benzerlik yoluyla, self antijene spesifik klonları harekete geçirebilir.
- Normal koşullarda self peptidi sunan B lenfositler, ko-stimülatuar sinyal göndermezler. Bu da pasif anerjiye neden olur ve yardımcı T lenfositleri harekete geçemez. Bilinmeyen nedenlerle, self peptidin ko-stimülatuar sinyal eşliğinde sunulmaya başlanması otoimmüniteyi başlatabilir.
- Self peptidin işlenip sunulması aşamasında oluşan bir değişiklik, self peptidin yeni bir antijen gibi algılanmasına yol açabilir veya self peptidin değişik bir şekilde sunulması toleransı bozabilir.
- Bir topluma sonradan eklenen genler, self-nonsel self ayırımını bozabilir. Afrikalı siyahlarda SLE nadir görülürken, ABD'ye göç etmiş siyahlarda çok sık görülmesi belki de bu şekilde açıklanabilir (27-29).

Anti-dsDNA antikorlar SLE' nin önemli belirteçlerinden olup, anti-dsDNA/DNA immün kompleksleri uzun zamandır lupus nefriti gelişimi için neden olarak gösterilirler (30). Son yıllarda elde edilen kanıtlar kromatinin temel ünitesi olan nukleosomun lupus patogeneğinde önemli rol oynadığını göstermektedir (2).

Anti nukleosom antikorlar:

Nukleosom, hücre apoptozu sırasında endonukleazlar ile internukleosomal bölünme sonucu ortaya çıkar. Helikal DNA'nın çevrelediği H2A, H2B, H3 ve H4 histonlarının ikişer kopyalarının birer oktomerinden oluşan çekirdek partikülünü içerir (Şekil 2)(2). Nukleosomların anti-dsDNA lupus antikorlarının hedefi olabileceği görüşü, nukleosomların substrat olarak kullanıldığı ELİSA ile yapılan poli- veya monoklonal antikor testleri ile desteklenmiştir (31). İnsan ve murin lupusunda nukleosom ve dsDNA'ya karşı serum antikor aktivitesinin analizi, serum anti-dsDNA reaktivitesinin daima antinukleosom reaktivitesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (ancak tersi geçerli değildir) (2, 6, 31-32). Bu antinukleosom reaktivitesindeki ilave antikor populasyonlarının dışlanması ile elde edilen yüksek derecede saflaştırılmış mono ve poliklonal anti-dsDNA antikorlar, izole dsDNA yanında ayrıca nukleosomlara da bağlanırlar (6).



Şekil 2. Nukleosomun yapısı

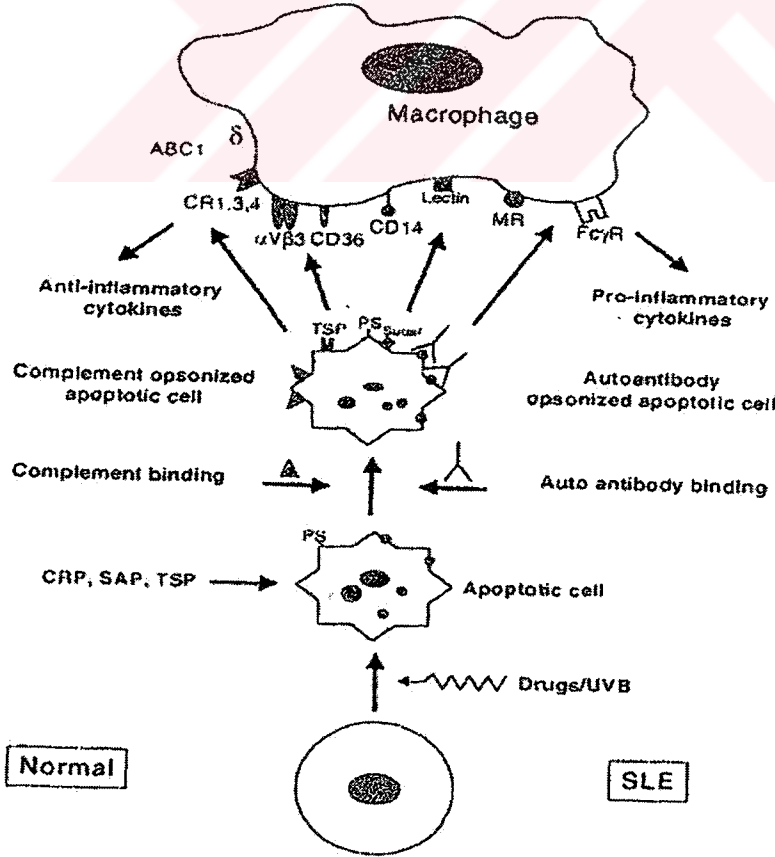
Aynı kişide histon ve DNA'nın her ikisine birden antikorların gelişmesi "erken hipotez" e yol açmıştır. Bu antikor seti dsDNA ve histonların her ikisinden oluşan tek bir antijen (nukleosom) ile uyarılır (33). Lupus serumlarında yapılan çalışmalar lupus antihiston antikorlarının esas olarak nukleosom partikülündeki en ulaşılabilir histon komponentleri olan H1 ve H2B ye karşı oluştuğunu göstermiştir. Bu antikorlar nukleosomun dış bölümünde lokalize olan sınırlı histon epitoplarnı tanırlar (2). Amoura ve ark., purifiye antihiston lupus antikorlarının yalnızca izole histonlar ile değil, nukleosomlarla da reaksiyona girdiğini gösterdiler (32). Bu gözlemler yıllar içinde diğer gruplar tarafından genişletilmiş ve tüm bu çalışmaların sonucunda, nukleosomun lupus anti-dsDNA ve anti histon antikorların temel hedefi olduğu kabul edilmiştir (2).

Bazı lupus prone farelerde yapılan kinetik analizlerde, antinukleosom antikorların henüz anti-dsDNA ve anti histon antikorlar ortaya çıkmadan önce, yaşamın erken yıllarında oluştuğu gösterilmiştir (32). Bu antikorlar native nukleosom partiküllerini tanıır, ancak onun kişisel partiküllerini (DNA ve histonlar) tanımazlar. Nukleosom spesifik bu antikorlar hastalık seyri boyunca uzun süre kanda kalırlar (32). Sonuçta nukleosom spesifik antikor ile onun DNA ve histon komponentlerine karşı oluşan otoantikorların hep birlikte büyük bir "antinukleosom antikor ailesi" oluşturduğu bildirilmektedir (32).

SLE' de antinukleosom antikorların ortaya çıkmasına neden olan mekanizmalar iyi bilinmemektedir, ancak otoimmün yanıtın anlaşılmasındaki temel adım SLE otoantijenlerinin ana kaynağı olan apoptoza giden hücrelerin bulunmasıdır. Bunlar hücre yüzeyinde iki ayrı yapıda grup oluştururlar: Nukleosom içeren apoptotik cisimcikler ve diğer nukleer veya sitoplasmik ribonukleoproteinler (Ro, La ve RNP) (2). SLE'de artmış düzeyde dolaşan oligonukleosomların varlığı (9,34), nukleosomların kaynağının apoptoz olduğunu güçlü bir şekilde destekler. Hem lupus'lu fare, hem de SLE hastalarının lenfositlerinde artmış apoptoz gösterilmiştir (35,36), ancak hastalığa spesifitesileri yoktur. Son dönemde nötrofil apoptozu ile ilgili çalışmalar ön plana çıkmıştır. Kan nötrofil sayısı mononükleer hücre sayısından daha fazla olup, yaşam süreleri de mononükleer hücrelerden uzundur. Bu nedenle nötrofil apoptozunun lupusa spesifik otoantijenler için daha büyük bir kaynak olabileceği öne sürülmüştür (37,38). Lupusta artmış apoptoz olması dışında, apoptotik hücrelerin ortamdan uzaklaştırılmasındaki bir bozukluk, olası immün reaktif proteinlerin serbestlenmesine neden olan apoptotik materyalin dokularda ve/veya dolaşımında birikmesini sağlayarak SLE'de major rol oynayabilir (2). Lupusta azalmış fagositik aktivite 1970'li yılların başlarından beri bildirilmektedir (39,40). Yakın zamanda Herrmann ve ark. ve Ren ve ark. da lupusta apoptotik hücrelerin fagositozunun bozuk olduğunu gösterdiler (38, 41). İlginç olarak,

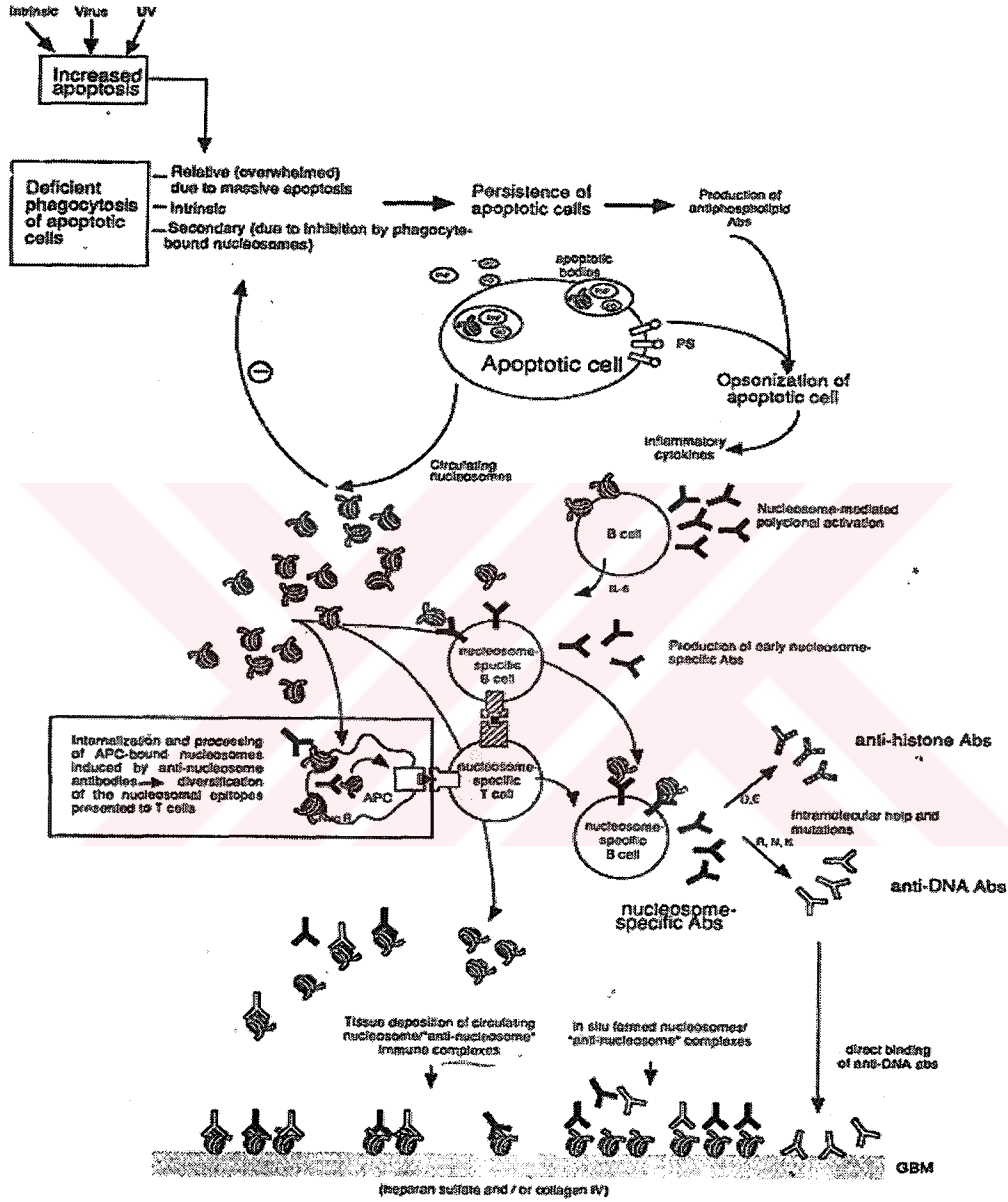
otoimmün olmayan farelerin apoptotik hücrelerle sistemik olarak karşılaşması, immünizasyondan birkaç ay sonra glomerullerde IgG depolanması ve otoantikör yapımına neden olmaktadır (anti-dsDNA, ACA). Apoptotik hücrelerin fagositozundaki bir intrinsek defekt, bu hücrelerin persistansına yol açarak etkili olabilir.

Son olarak, apoptotik hücrelerin fagositoz süreçleri sırasındaki inflamasyon, otoantijenlerin olası immünojenitesini artırabilir. Normalde apoptotik hücrelerin fagositozu inflamatuvar mediatörlerin yapımına yol açmayan sessiz bir süreçtir (2). Son çalışmalar apoptotik hücrelerin fagositler tarafından uzaklaştırılmasının inflamatuvar yanıtı aktif olarak baskıladığını göstermiştir. Bu etki proinflamatuvar sitokin yapımının down regülasyonu (TNF-alfa, IL1, IL12) ve antiinflamatuvar ve immünoregülatuar (TGF-beta, IL10) sitokinlerin yapımının artırılması ile gerçekleşmektedir (2). Bunun aksine apoptotik hücrelerin makrofajlar ile opsonizasyonu, inflamatuvar yanıtı tetikleyebilir. Gerçekten de son kanıtlar, ACA ların apoptotik hücrelere bağlandığını ve bu bağlanmanın makrofajlar tarafından yapılan opsonizasyon sonucu apoptotik hücre klirensini kolaylaştırdığını göstermektedir (42,43)(Şekil 3).



Şekil 3. Apoptotik hücrelerin makrofajlar tarafından fagositozu.

Amoura ve ark.nın lupus etyopatogenezinde nukleosomların rolü ile ilgili modeli şöyle özetlenebilir (2) (şekil 4).



Şekil 4. SLE etyopatogenezinde nukleosomların rolü ile ilgili hipotetik model (Ref. 2).

Apoptozda artış ve/veya fagositozdaki yetersizlik, dolaşımdaki nukleosom düzeylerini arttırabilir. Bu apoptotik hücrelerin persistansı poliklonal B hücrelerini uyarabilir. Bunu nukleosomların nukleosom spesifik B hücrelerine bağlanması izler ve nukleosom spesifik T hücreleri ile etkileşim nukleosom spesifik antikorların yapımına neden olur. Lupusta hem B

ve T hücreleri arasındaki intra ve intermoleküler etkileşim, hem de B hücrelerinin gelişimi sırasında uygun mutasyonların olması bireysel nukleosom komponentlerine (anti-DNA ve anti-histon) karşı antikor yapımına neden olabilir.

Genetik faktörler

SLE etyolojisinde çevresel, hormonal ve genetik faktörlerin rol oynadığı biliniyor. Diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi lupusa duyarlılıkta da multipl genlerin etkisi vardır (25). Özellikle MHC Sınıf II bölgesi ile SLE arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir. İnsanlarda genetik predispozisyonu gösteren kanıtlar şöyle özetlenebilir:

- Dizigot ikizlerle karşılaştırıldığında monozigot ikizlerde hastalık 3-10 kat artmıştır (44).
- Lupuslu hastaların birinci derece akrabaları lupus için 8 kat veya daha fazla relatif riske sahiptirler (45).
- Belirli gen ve haplotipe sahip hastalıklarla ilişkili çalışmalar (25).

Bu genetik çalışmalar sonucunda SLE'de kalıtım indeksinin 0,5'ten, konkordans oranının da 10'dan büyük olduğu hesaplanmıştır. Bu sayılar SLE'nin kalıtsal bir hastalık olduğunu ve kalıtımda en az 3-4 genin rol oynadığını göstermektedir. Henüz SLE kalıtımından sorumlu tüm genler bulunamamıştır. SLE'e yatkınlık sağladıkları bilinen genler olarak HLA-DR2,-DR3 ve bu genlerin sık olarak birlikte bulunduğu alleller (DR2 için HLA-A3-B7, DR3 için HLA-A1-B8-DQw2.01) sayılabilir. MHC kompleksi içindeki başka bazı genlerin de SLE ile ilişkisi gösterilmiştir. Klasik kompleman yolunun proteinlerinden c1q, c1r, c1s, c4 ve c2 eksikliğunun SLE ile ilişkisi vardır. MHC genlerinin hastalık etyopatogenezindeki rolü üstüne çeşitli hipotezler vardır. MHC genlerince sentezlenen HLA molekülleri, antijenik peptitler ve T hücre reseptörü ile beraber antijenik tanıma ve T hücre aktivasyonunun temel unsurunu oluştururlar. Hem ekzojen, hem de oto-antijenlerin timusta tanınması ve pozitif ve negatif seçimlerinde HLA molekülleri ile etkileşim belirleyicidir ve her HLA molekülü farklı bir T hücre repertuarı oluşumunu sağlar. Bu antikorlar kromatin ve onun dsDNA, histon gibi bazı bölümlerine ve yine bazı ribonükleoproteinlere karşı oluşabilirler.

Çevresel faktörler

Monozigot ikizlerin birçoğunda klinik olarak lupus gelişimi açısından diskordans olması nedeniyle çevresel faktörlerin de hastalık patogenezinde rol oynadığı düşünülmüştür (44). Bu faktörler tablo1 de özetlenmiştir.

Tablo 1. Sistemik Lupus Eritematosus patogenezinde Rol Oynayabilen Çevresel Faktörler

Kesin Olanlar

Ultraviole B ışığı

Olası Olanlar

Seks hormonları: insanda, menarş ve menapoz arasında kadın-erkek oranı 9:1, gençlerde ve yaşlılarda 3:1

Düşük Olasılıkla İlişkili Olanlar

Diyet ile ilişkili Faktörler

L-canavanine içeren yeni filizlenmiş gıdalar
Pristane ve benzer maddeler
Satüre yağların yüksek oranda alınımı

İnfeksiyöz ajanlar

Bakteri DNA'sı
İnsan retrovirusları
Endotoksinler, bakteriyel lipopolisakkaridler

Bazı ilaçlara maruz kalma*

Hidralazin
Prokainamid
Izoniazid
Hidantoinler
Klorpromazin
Metildopa
D-Penisilamin
Minosiklin
Tümör nekroz faktör- α 'ya karşı oluşan antikorlar
İnterferon- α

* Yukarıda listelenen ve daha birçok ilaca karşı duyarlı kişilerde lupus benzeri semptomlar olmasına rağmen gerçek SLE oluşması veya daha önce SLE tanısı almış kişilerde hastalığın alevlenmesine dair az sayıda veri vardır. Bu yüzden SLE'lu hastanın klinik tedavisinde bu ilaçlardan fayda göreceği düşünülüyorsa ilaç kesilmemelidir.

Çevresel faktörler içinde lupusla ilişkisi açık olarak bilinenler ultraviole (UV) ışınlar ve cinsiyettir. UV ışın ile temas SLE hastalarının %70 inde hastalığın alevlenmesine neden olur (29). İnsanlarda UV nin B spektrumu, hastalığın aktivasyonu açısından A spektrumundan daha önemli olabilir. UV nin DNA nın yapısını değiştirerek antijenik hale gelmesine yol açtığı bilinmektedir (46). Ayrıca keratinositlerin UV ile teması apoptoza neden olur (26). Apoptoz sırasında self molekülün immün sisteme sunulmasını sağlayan üç olay gerçekleşir:

- 1- Nukleer antijenlerin ve sitoplasmik DNA, RNA-protein antijenlerinin, üzeri membranla örtülü bleblerde hücre yüzeyine hareketi (Nukleosomlar, Ro ve U1 RNP antijenleri).
- 2- Normalde hücre membranının iç yüzünde lokalize olan membran fosfolipidlerinin, dış yüze hareketi ve böylece hücre yüzeyinde antijenik olarak sunulmaları.
- 3- Hücre içi proteinlerin modifikasyonu (Bu değişimler proteinlerin antijenik özellik kazanmalarına neden olabilir).

Ayrıca UV ışık, otreaktif T hücre aktivasyonuna neden olan ısı şoku proteinlerinin serbestlenmesini arttırabilir (26).

Seks hormonlarının SLE seyrini etkilediğini gösteren çok sayıda veri bulunmaktadır. Östrojenler B hücrelerinin antikör yapımını ve T hücrelerinin antijenik uyarıya yanıtlarını arttırırlar, dolaşan immün komplekslerin klirensini de azaltırlar. Androjenlerin ise supressör / ,sitotoksik T hücre aktivitesini arttırdığı ve antijene yanıtı baskıladığı gösterilmiştir. SLE hastalarında azalmış androjen düzeyleri, artmış 16-alfa-hidroksiesteron ve artmış prolaktin düzeyleri bildirilmiştir (47-49). Son yıllarda lupus hastalarında androjen replasman tedavisi ile ilgili çalışmalar vardır (50, 51, 64). Androjen uygulaması özellikle SLEDAI skoru 2'den yüksek olan hastalarda kortikosteroid dozunu azaltma açısından başarılı bulunmuştur (51).

Hormon replasman tedavisi alan menopoz dönemindeki kadınlarla, hormon replasman tedavisi almayanlar karşılaştırıldığında lupus gelişimi açısından, ilk grupta daha yüksek bir risk bildirilmektedir (52). Aynı şekilde östrojen içeren oral kontraseptif alan kadınlar lupus geliştirme açısından daha yüksek risk taşırlar (52).

Genetik yatkınlığı olan bireylerde lupus gelişimine yardımcı olabilecek bir diğer faktör diettir. L-canavanine, bir cins maymunda SLE benzeri bir hastalığa yol açmaktadır. Poliansatüre yağlar ve balık yağında bulunan omega-3 yağ asitleri, deneysel fare modellerinde olumlu etki yapmaktadır (29). Ancak diyetle ilgili bu gözlemlerin insanlardaki anlamı iyi bilinmemektedir. Lupusda infeksiyon ajanları ile ilgili yapılmış bir çok çalışma mevcuttur. Ancak hiçbir infeksiyöz ajanın lupusa yol açtığı kanıtlanamamıştır. İnfeksiyonlar, immün yanıtın istenmeyen şekilde artmasına sebep olabilirler. Örneğin lupusu olan farelere bakteri lipopolisakkaridinin uygulanması, hastalığı hızlandırır. Çocuklarda yapılan bir çalışmada SLE olanların, SLE olmayanlara göre Epstein-Barr virüsü ile infeksiyon sıklıkları anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (53). Başka bir araştırmada BK polyoma virüsü, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SLE hastalarında daha sık bulunmuştur (54). Tüm bu gözlemlerin başka çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir. Sonuçta; monositleri, T ve B hücreleri aktive edebilen infeksiyon ajanları (ve lipopolisakkaridler, superantijenler gibi ürünleri),

olasılıkla proinflamatuvar sitokinlerin salınımını sağlayarak uygun genetik zemini olan kişilerde hastalığa neden olabilir ya da daha kötü bir seyre yol açabilirler (29).

Lupus benzeri hastalığa sebep olabilen ilaçlar, lupus etyopatogenezinde çevresel faktörler içinde yer alırlar. Tablo1 de belirtilen bu ilaçların oluşturduğu lupus tablosu, olasılıkla gerçek SLE den farklıdır. İlaça bağlı lupusun kliniğini artrit, serözit, halsizlik ve hafif ateş oluşturur. Nefrit ve merkezi sinir sistemi tutulumu çok nadirdir. Bu klinik tablo hastaların çoğunda ilacın kesilmesi ile birlikte kaybolur. Anti nukleer antikorlar tüm hastalarda ortaya çıkmasına rağmen, yüksek titrede anti-dsDNA görülmez.

SLE patogenezinin teorik aşamaları:

SLE seyriinde 4 teorik aşama tanımlanmıştır (55).

- 1- Yatkinlık dönemi: SLE'e eğilim yaratan MHC veMHC dışı genlerin varlığı, timusta self peptidler ve HLA ile şekillenen T hücre repertuarı mevcuttur. Bu devreye örnek olarak, eşinde SLE gelişmiş tek yumurta ikizi verilebilir.
- 2- Başlangıç dönemi: Otoreaktif B hücrelerine T hücre yardımının başladığı dönemdir. Ancak klonal proliferasyon ve diferansiasyon gerçekleşmez. Bu dönemde düşük afiniteli az miktarda IgM sınıfı otoantikor yapımı vardır. Klinik olarak hastalık yoktur, yalnızca serumda otoantikor varlığı saptanabilir.
- 3- Genişleme dönemi: Bu dönemde otoantijene spesifik B veT hücre klonlarında proliferasyon vardır, B hücre farklılaşması ve antikor maturasyonu gerçekleşir. IgG sınıfı, yüksek afiniteli, somatik mutasyon gösteren otoantikorların yapımı söz konusudur. Başka bir deyişle, başlangıçtaki doğal otoantikorlar patojenik özellik kazanmıştır. Henüz klinik belirtiler ortaya çıkmamıştır, ancak tam gelişmiş otoimmünite vardır. Pratikte, immünolojik testleri bozuk olan ancak hiçbir yakınması olmayan kişiler bu dönemi yansıtır.
- 4- Yıkım dönemi: Otoantikorların antijen fonksiyonlarını etkilemeleri ve immün kompleks depolanması sonucu hücre ve doku hasarının olduğu dönemdir.

Özetle; SLE' deki klinik tabloların çoğunluğu patojenik otoantikorlar, immün kompleksler ve T hücreleri ile ilişkilendirilir.

Belirli immün kompleksler, DNA veya Ro' ya karşı oluşan antikorlar ve yine böbrek glomerular yapılarına bağlanabilen antikorlar nefrite neden olabilirler. Ayrıca fetüs ileti sistemine veya hücre membranlarına (lenfositler, eritrositler, trombositler, nöronlar) bağlanan antikorlar da hastalık açısından potansiyel oluştururlar. Endotel hücrelerine karşı oluşan antikorlar, immün kompleksler, anti-nötrofil sitoplazmik antikorlar ve T hücreleri vaskülit

gelişiminde rol oynayabilirler. Endotel hücre hasarı ateroskleroz oluşumunu hızlandırarak, fosfolipidlere karşı oluşan antikorların protrombotik etkileri ile birlikte kardiyovasküler hastalık açısından risk oluştururlar.

Klinik özellikler

Genel belirtiler:

Yorgunluk en sık (%80-100) görülen yakınmadır. Aktif hastalığın diğer bulguları yokken bile olabilir. Kilo kaybı ve ateş SLE'nin diğer bulgularındandır.

Deri belirtileri:

SLE'de değişik patogenezlere bağlı olarak çok çeşitli deri lezyonları gelişebilir. Bu lezyonlar 4 grupta toplanabilir:

- 1- Akut kutanöz lupus lezyonları: Aktif lupuslu olgularda, deri inflamasyonu sonucu gelişen, güneş ışınlarına duyarlılık gösteren, eritemli papüломaküler lezyonlardır. İz bırakmadan iyileşirler. En iyi bilineni malar raş (kelebek eritem) dir. Malar raş lupus ile en güçlü ilişkisi olan deri bulgusu olarak bildirilmektedir (56,57).
- 2- Subakut kutanöz lupus lezyonları: Genellikle güneş gören yerlerde gelişir ve kırmızı makül veya papüller olarak başlar. Ardından psöriasiform veya anüler plaklar halinde gelişir. Tedaviye yanıtları iyi değildir, iyileştiklerinde yerlerinde pigmentasyon kalabilir.
- 3- Kronik kutanöz lupus lezyonları: Kalın adherent plaklar olarak görülür ve skar, depigmentasyon, telenjektaziler bırakarak iyileşirler. Tipik bir lezyonun etrafı eritemli ve deriden kabarıktır. Merkezi bölgeleri ise atrofik ve fildişi rengindedir.
- 4- Kutanöz vaskülit lezyonları: Aktif sistemik hastalıkla ilişkili olan lezyonlardır. Başlıcaları parmaklarda periungal eritem, ağrılı eritematöz nodüller ve splinter hemorajiler ile deride palpabl purpura'dır.

SLE'de ayrıca Raynaud fenomeni, akrosiyanoz, livedo retikularis ile gövde ve ekstremitelerde makülopapuler raş görülebilir. Alopesi ve saçların inceliş seyrekleşmesi hastalığın alevlenmesi sırasında veya kullanılan immünsupresif ilaçların etkisiyle olabilir.

Mukoza tutulumu:

Hastaların %27-41 inde görülür. Genellikle oral kavitede bazen de nazal ve vaginal kavitede gelişirler. Lupusun oral lezyonları genellikle ağrısızdır.

Kas iskelet sistemi tutulumu:

Kas iskelet sistemi, SLE'de en sık tutulan sistemdir. Genellikle bilateral, simetrik ve sabah tutukluğunun eşlik ettiği eklem ağrıları vardır. Artrit çoğu kez poliartiküler, simetrik ve gezici karakterdedir. En sık el küçük eklemlerini tutar. RA'dan farklı olarak eroziv değildir, ancak eklem dışı nedenlere bağlı olarak ellerde kuğu boynu deformitesi ve ulnar deviasyon gibi deformiteler gelişebilir. SLE'de anti-fosfolipid antikorlar, steroid tedavisi ve lokalize vaskülit nedenleriyle avasküler nekroz sıklığı artmıştır. Lupusda monoartiküler bir artrit varlığında septik artrit akıla gelmelidir.

Hematolojik tutulum:

Hastaların % 80 kadarında anemi saptanabilir. Anemi nedenleri, kronik hastalık, demir eksikliği, inflamasyon, böbrek yetmezliği ve otoimmün hemoliz olarak özetlenebilir. Lökopeni sık görülen bir bulgudur ve daha çok lenfosit sayısındaki azalmadan kaynaklanır. Hastalığın kendisi veya uygulanan tedavi lenfopeniye neden olabilir. Trombositopeni, antifosfolipid antikorlara, aktif hastalığa, ilaçlara veya böbrek bozukluğuna bağlı olabilir. Antifosfolipid sendromda trombosit sayısı genellikle 50000'in altına inmez. Daha düşük değerler anti-trombosit antikorların varlığını işaret edebilir. İdiopatik trombositopenik purpura hastaların %3-15'inde başlangıç bulgusudur. Trombotik trombositopenik purpura daha nadir görülen yaşamı tehdit eden bir komplikasyondur.

Böbrek tutulumu:

SLE'de böbrek tutulumu daha çok hastalığın ilk yıllarında görülür. Ancak uzun zaman sonra da gelişebilir. İdrar sedimentinde büyük büyütme ile, her alanda 5 ve üzerinde eritrosit veya lökosit görülmesi, silendirüri, günde 0,5 gramdan fazla proteinüri ve üre- kreatin yüksekliği hastada böbrek tutulumuna işaret eden bulgulardır. Lupus nefritine klinik gözle bakıldığında 5 farklı tip ayırt edilebilir: Sessiz nefrit, ılımlı giden ancak aktif bulgularla seyreden nefrit, hızlı ilerleyen glomerulonefrit, nefrotik sendrom ve normal idrar sedimenti ile giden progresif renal bozukluk. Sessiz nefritlerin tanısı ancak biopsi ile konulur. Bu grup için genel görüş klinik bulgu ortaya çıkarsa tedavi etmek şeklindedir. Hızlı ilerleyen glomerulonefritlerde biopsi ile genellikle fokal veya diffüz proliferatif lezyonlar tesbit edilir. Klinikteki nefrotik sendrom tablolarının altında ise çoğunlukla membranöz glomerulonefrit vardır. Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar ve hipertansiyon, normal idrar sedimentinin eşlik ettiği renal fonksiyonlarda bozulmaya neden olabilir.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) lupus nefriti sınıflaması, biopsi bulgularına dayanır. Bu sınıflama sıklıkla klinik, laboratuvar bulgular ile uyumludur ve esas olarak hastaların renal prognozunu belirlemek için kullanılır.

Klas I lupus nefriti; Biopside normal bulgular vardır.

Klas II lupus nefriti; Lupus nefritlerinin %25'ini oluşturur. Biopside mezanjyoproliferatif glomerulonefrit tesbit edilir. Klinik olarak minimal proteinüri, hafif hematüri ve lökositüri görülebilir. Ancak bazen hiçbir klinik bulgu olmayabilir. Genel olarak iyi prognoza sahiptir.

Klas III lupus nefriti Lupus nefritlerinin yaklaşık %20'sinde görülür. Histopatolojik olarak fokal proliferatif glomerulonefrit vardır. Klinikte değişen derecelerde hematüri, lökositüri ve proteinüri bulunur.

Klas IV lupus nefriti; En sık görülen (%40) ve en kötü prognoza sahip olan tiptir. Histopatolojik olarak diffüz proliferatif glomerulonefrit mevcuttur. Aktif idrar sedimenti, böbrek fonksiyonlarında bozulma, nefrotik düzeye varabilen proteinüri klinik bulguları oluşturur.

Klas V lupus nefriti; Olguların %15'ini oluşturur. Tedaviye yanıtı iyi değildir. Biopside membranöz glomerulonefrit vardır. Hastaların üçte ikisinde nefrotik sınırlarda proteinüri bulunur, buna karşılık kreatinin klirensi sıklıkla normaldir.

Klas VI lupus nefriti; Biopside sklerozan glomerulonefrit tespit edilir. Klinik olarak son dönem böbrek yetmezliği bulguları görülür.

Kalp akciğer tutulumu:

Lupus, kalp ve akciğerlerde çeşitli hastalık tablolarına yol açabilir.

Akciğerlerde immün kompleks hastalığının neden olduğu inflamatuvar süreç dışında serözit, pulmoner emboli veya kapiller kanama görülebilir. Ayrıca, kronik plevral skarlaşmanın geç dönem komplikasyonu olan büzüşen akciğer sendromu nadir olarak görülebilir. Akciğer tutulumunun klinik bulgusu öksürük veya göğüs ağrısı olabilir. Göğüs ağrısı hastaların yaklaşık %50'sinde vardır ancak çoğunlukla fibromyalji ile ilişkilidir. Öksürük en sık viral kökenli üst solunum yolu enfeksiyonundan kaynaklanır. Akut lupus pnömonisi, yüksek doz kortikosteroid ile tedavi edilmezse mortalitesi çok yüksek olan önemli bir komplikasyondur. Enfeksiyona bağlı olmayan ateş, öksürük, dispne, hemoptizi ve interstisyel infiltrasyonlar ile karakterize bir tablodur.

SLE'nin klinikte en sık görülen kalp tutuluşu perikardittir. Perikardial sıvı genellikle az miktardadır ve tamponada yol açmaz. Myokardit ve koroner vaskülit seyrek olarak görülür

ancak agresif tedavi gerektiren tutuluşlardır. Endokardit (Libman-Sacks) antifosfolipid antikorlar ile ilişkilidir. Lezyonlar aort ve mitral kapaklarda yerleşebilirler.

Lupusda erken ateroskleroz ve buna bağlı kardiovasküler hastalıklar hastalığın geç döneminde en önemli ölüm nedeni olarak bildirilmektedir.

Nöropsikiyatrik tutulum:

SLE'de farklı mekanizmalarla organik beyin sendromları, psikoz, konvülsiyon, inme ve koma gibi ağır klinik tablolar, ayrıca zihinsel disfonksiyon ve konsantrasyon yeteneğinde azalma gibi daha hafif bulgular görülebilir. Bu belirtilerin patogenezleri de komplekstir ve çoğu kez içiçe geçmiştir. Olguların yaklaşık %10'unda periferik sinir sistemi tutulumu olabilir.

Gastrointestinal sistem belirtileri:

Lupusun en korkulan gastrointestinal komplikasyonu ateş, kusma ve kanlı ishal ile giden mezenter vaskülitidir. Aktif hastalığı olan olgularda bulantı, kusma, ishal veya kabızlık görülebilir. Pankreatit, otoimmün hepatit, antifosfolipid sendromuna sekonder Budd-Chiari sendromu daha nadir görülen komplikasyonlardır.

SLE sınıflama kriterleri:

SLE sınıflaması için, ACR'ın (American College of Rheumatology) getirdiği ve 1982 yılında gözden geçirilerek son halini alan kriterler kullanılmaktadır (81).

Tablodaki 2'deki 11 kriterden 4'üne sahip olgular, çalışmalarda SLE tanısı ile kullanılabilirler.

Tablo 2 ACR'ın 1982 Yılında Yeniden Gözden Geçirilmiş SLE Sınıflama Kriterleri

KRİTER	TANIMLAMA
1. Kelebek döküntü	Yanaklarda ve burun sırtında düz veya kabarık, nazo-labial olukları koruyan sabit eritem
2. Diskoid döküntü	Keratotik skarlar ve folliküler tıkaçlar gösteren, deriden kabarık eritemli plaklar
3. Fotosensitivite	Güneş ışığına reaksiyon olarak gelişen döküntü ve/veya hastalık belirtilerinde ağırlaşma
4. Oral ülserler	Ağrısız, mum alevi şeklinde oral veya nazofarengeal ülserasyon
5. Artrit	İki veya daha fazla eklemden erozyon oluşturmayan artrit
6. Serozit	Plörit: tipik plöritik ağrı öyküsü veya plöral frotman veya plöral efüzyon bulguları Serozit: perikart frotmanı veya EKG'de veya EKO'da perikart efüzyon bulguları
7. Böbrek Hastalığı	Günde yarım gramın üzerinde veya 3 pozitiften fazla persistan proteinüri VEYA Hücre silendirler (eritrosit, hemoglobin, granüller, tübüler veya kanışık)
8. Nörolojik Tutulum	Konvülsiyonlar (metabolik bozukluğa veya bir ilaca bağlı olmamalı) Psikoz (metabolik bozukluğa veya bir ilaca bağlı olmamalı)
9. Hematolojik Bozukluk	a) Hemolitik anemi VEYA b) Lökopeni (en az iki kez <4.000) VEYA c) Lenfopeni (en az iki kez <1.500) VEYA d) Trombositopeni (<100.000, ilaca bağlı olmamalı)
10. İmmünolojik Bozukluk	a) anti-dsDNA pozitifliği VEYA b) anti-Sm pozitifliği VEYA c) 6 aydan beri devam eden yalancı pozitif sifiliz testleri (VDRL pozitif, TPHA negatif)
11. ANA Pozitifliği	1/80 ve üzerindeki titreler, ANA pozitifliği yapabilecek bir ilaç olmamalı

SLE' de laboratuvar:

SLE'de sık görülen laboratuvar anormallikleri Tablo 3'de gösterilmiştir.

CRP; Lupusta genelde CRP yanıtı iyi değildir. Yalnızca artrit, enfeksiyon veya serozit varlığında yükselir. Romatoid faktör (RF) SLE olgularının üçte birinde pozitif bulunur. Bu RF RA' dakinden farklı olarak IgG'nin Fc kısmına değil, F(ab')₂ fragmanına yöneliktir. Hipokomplementemi olguların yarısında saptanır. Kompleman düşüklüğünün tek nedeni immün kompleks hastalığına bağlı tüketim değildir. Aktif hastalığa bağlı kompleman faktörleri yapımının azalması ve daha önemlisi SLE etyolojisinde yer aldığı bilinen kompleman faktörlerinin herediter eksiklikleri de hipokomplementemi nedeni olabilir.

Tablo 3 SLE'lu Olgularda Sık Görülen Laboratuvar Bulguları

	Sıklık (%)
ANA Pozitifliği	>95
Kompleman Düşüklüğü	50
Lökopeni	50
Anti-dsDNA	50
Anemi	45
Proteinüri	42
Anti-fosfolipid Antikorlar	35
Poliklonal Gamopati	33
Anti-Sm Antikorlar	20

Tedavi

Koruyucu stratejiler:

Sağlık politikası, sosyoekonomik durum ve fiziksel koşullar SLE'de prognozu etkiler. Bunlar üzerinde çalışmak, ilaç tedavileri üzerinde çalışmak kadar önemlidir (18). Aterosklerotik ve ateroembolik komplikasyonlar SLE hastalarında en sık ölüm nedenidir. Gerekli durumlarda düşük kolesterol diyeti, statin kullanımı ve kilo kaybı gibi önlemler hem erken ateroskleroz gelişimini yavaşlatacak, hem de kortikosteroid tedavisinin komplikasyonlarını azaltacaktır (20).

Lokal Tedaviler:

UVA1 dalga boyundakilerin koruyucu olduğuna dair bazı kanıtlar olmakla birlikte (61), hem UVA hem de UVB ışınlarının lupus hastalığı için zararlı olduğu bilinmektedir (18). Bu nedenle UV'den kaçınmak, güneşten koruyucu kozmetikler kullanmak, güneş koruyucu giysiler önerilir. Kutanöz lupusta lokal terapötiklerin stratum corneumdan emilimini arttırmak için çalışmalar bulunmaktadır (18).

Sistemik tedaviler:

SLE’de tedavi, istenmeyen yan etkilerin sıklığı nedeniyle zordur. Bundan dolayı “konservatif tedavi yeterli mi?”ve ”agresif immünsupresyon gerekli mi?” sorularına yanıt aramak önemlidir.

Organ tutulumu olmayan lupusta sistemik tedaviler:

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların lupus tedavisinde kullanımları ile ilgili FDA onayları yoktur. Daha önce celecoxib kullanırken tromboemboli gelişen az sayıda lupus olgusu bildirilmiştir (59).

Antimalaryal ilaçların kutanöz lupusta etkinlikleri iyi biliniyor. Yakın zamanda 2 ayrı çalışmada gebelikte kullanımının anne ve fötüs için güvenli olduğu (60) ayrıca lipid düzeyleri üzerine olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (61).

Talidomid ise yan etki ve relapslar nedeniyle SLE’de etkisiz kabul edilmektedir (62,63).

Son yıllarda hormonal tedaviler ile ilgili çalışmalarda, androjen replasmanının hastalık aktivitesinin azalttığı ve kortikosteroid dozlarının azaltılmasına olanak sağladığı gösterilmiştir (50, 51, 64).

Organ tutulumu olmayan lupus tedavisinde; maksimum doz antimalaryal + günlük 10mg’ın üzerinde prednisone gereksinimi varsa, bir çok araştırmacı kortikosteroid dozunu azaltıcı rejimlerin eklenmesini önermektedir (18). Bu amaçla 3 ajan kullanılmıştır: Methotrexate(MTX), azathioprine ve leflunomide. MTX’in deri lezyonlarında etkili olduğu ve steroid ihtiyacını azalttığı (65), leflunomide’in hastalık aktivitesini azalttığı (66) yakın zamanda gösterilmiştir. MTX ayrıca eklem tutulumunda da etkilidir.

Organ tutulumu olan SLE’nin tedavisi:

Glukokortikoidler ile lupusta yapılan prospektif kontrollü çalışmaların çoğu nefrit ile ilgili olanlardır. Bu nedenle lupusun tüm ağır tutulumları ile ilgili tedavi kılavuzları nefritli hastalarda yapılan çalışmalardan gelmektedir. Yüksek doz KS’nin yaşam kurtarıcı etkisini gösteren inandırıcı ilk kanıtlar, diffüz proliferatif glomerulonefriti olan hastaların retrospektif çalışmalarından gelmiştir (67,68). Başlangıç tedavisi günlük bölünmüş olarak yüksek doz kortikosteroid (40-100 mg/gün prednisone veya 1-1,5 mg/kg) veya yüksek doz metil prednisolone pulse, ardından 1 mg/kg ile devam şeklindeki uygulamalardır.

Siklofosfamid (cyclophosphamide)(CyP), ağır lupus tedavisinin temel ilacıdır. Lupus için kullanılan diğer tüm girişimlerin etkinliğini değerlendirme çalışmalarında kaynak olarak gösterilmekte ve karşılaştırılmaktadır. Başlıca etkili olduğu tutulumlar nörolupus, lupus nefriti ve lupusa sekonder vaskülit tablolarıdır. Lupus nefriti olan hastalarda NIH (National Institutes of Health) grubunun yapmış olduğu randomize kontrollü çalışmalarda CyP ve kortikosteroid

kombinasyonunun beş yıllık izlemde tek başına kortikosteroid tedavisinden üstün olduğu (69,70), CyP nin uzun dönemde tek başına prednisone tedavisinden daha üstün olduğu (71) ve uzun süreli CyP tedavisinin(30 ay) kısa süreli CyP (6 ay) tedavisine göre renal relapsları önlemede daha etkili olduğu (72) gösterilmiştir. Ancak yakın zamanda Euro-Lupus Nefrit çalışmasında, düşük doz IV CyP ile klasik NIH tedavi protokolü karşılaştırılmış ve 41 ayın sonunda etkinlik açısından iki grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır (97). Bu çalışmanın 73 aylık takip sonuçları yeni yayınlanmış olup, remisyon indüksiyonunda düşük ve yüksek doz CyP tedavi protokollerinin karşılaştırılabilir olduğu tekrarlanmış ayrıca tedaviye erken başlanması ile daha iyi tedavi yanıtı arasında ilişki gözlenmiştir (98). CyP'nin kesilmesinden sonra nefritin alevlenmesi sık karşılaşılan bir durumdur. Bu nedenle daha az toksik ilaçlarla idame tedavisine gereksinim vardır. Son yıllarda CyP ile immünoablatif tedavi çalışmaları mevcuttur (73).

CyP'dan sonra renal relapsların önlenmesi için uzun süreli azathioprine (AZA) tedavisi geçerli bir stratejidir (74-76). Mycophenolate mofetil SLE'de yeni kullanılmaya başlanan bir immünsupresiftir. Proliferatif lupus nefritinde oral CyP ve ardından uygulanan AZA tedavisi ile karşılaştırıldığında, remisyonun sağlanmasında 12 ayın sonunda benzer etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (77). Ancak 36. ayın sonunda MMF grubunda relapslar anlamlı olarak sık bulunmuştur (78). Buna karşılık proliferatif lupus nefritinde CyP ile indüksiyon sağlandıktan sonra idamede MMF'nin AZA veya quarterly pulse CyP tedavilerinden daha üstün olduğu da gösterilmiştir (96).

Cyclosporin A ile ilgili olarak klas V nefritinde kontrolsüz çalışmalar mevcuttur (79). NIH den bildirilen kontrollü bir çalışmada membranöz glomerulonefritte cyclosporinin CyP'den üstün olduğu gösterilmiştir (80). Ayrıca SLE ile ilişkili pansitopenilerde etkili olduğunu bildiren olgu sunumları vardır.

İntravenöz İmmünglobülin, biyolojik ajanlar(antiCD20, LJP394), kök hücre nakli lupus tedavisinde kullanılan veya çalışmaların devam ettiği diğer tedavi yöntemleridir.

ARAÇLAR VE YÖNTEM

Hasta ve kontroller:

Aralık 2003 – Aralık 2004 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji polikliniğine başvuran toplam 122 SLE hastası çalışmaya alındı. Tüm hastalar ACR'nin 1982 SLE sınıflama kriterlerinden (81) en az 4 tanesini tamamlıyordu.

Kontrol grubunu ise 59 RA hastası ve 59 sağlıklı gönüllü oluşturdu. RA hastaları 1987 ARA (95) sınıflama kriterlerine uygundu.

Tüm SLE hastalarının aynı doktor tarafından öyküleri alındı ve fizik muayeneleri yapıldı. Klinik ve serolojik karakteristikleri bir protokol formunda toplandı. SLE Hastalık Aktivite İndeksine (SLEDAI)(94) göre hastalık aktiviteleri belirlendi. Ayrıca aynı vizitte her hastadan immünolojik testler için kan örneği alındı. Elde edilen kanlar 1500 devirde 10 dakika santrifüje edilerek serumlarına ayrıldı ve -20 derecede saklandı. Aynı şekilde RA hastaları ve sağlıklı gönüllülerden alınan kan örnekleri de serumlarına ayrılarak -20 derecede saklandı.

Antinukleosom ve anti-dsDNA antikörlerin saptanması:

Antikörlerin belirlenmesi, klinik bilgiler açısından kör olan tek bir uzman tarafından yapıldı. Otoantikör aktiviteleri, ELİSA (Enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi kullanılarak ölçüldü.

Antinukleosom antikörlerin belirlenmesi: Serumlarına ayrılarak -20 derecede saklanan örnekler çalışma öncesi 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek çözdürüldü. ELISA kiti (IMTEC Immundiagnostika GmbH) kuyucuklarının her birine 100 mikrolitre örnek konuldu ve 1 saat oda ısısında inkübe edildi. Üç kere yıkama solüsyonu ile yıkandıktan sonra her kuyucuğa bu kez 100 mikrolitre POD MB solüsyonu konularak 10 dakika karanlıkta bırakıldı. Son olarak her kuyuya 100 mikrolitre sonlandırma solüsyonu konulup sonraki 30 dakika içinde sonuçlar okundu (450nm de).

Anti-dsDNA antikörlerin belirlenmesi : -20 derecede saklanan serumlar 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra serumlar dilüsyon sıvısı ile 1/100 oranında dilüe edildi. ELISA kiti (GENESIS Diagnostics) kuyularının her birine 100 mikrolitre örnek konularak 30 dakika oda ısısında bekletildi. Üç kere yıkama solüsyonu ile yıkandıktan sonra her kuyuya 100 mikrolitre konjugat konularak 30 dakika oda ısısında bekletildi ve ardından 3 kere yıkandı.

Her kuyuya bu kez 100 mikrolitre TMB solüsyonu konularak 10 dakika inkübe edildi. Son olarak kuyulara 100 mikrolitre sonlandırma solüsyonu eklenerek sonuçlar 450nm de (single wavelength) okundu.

İstatik analizi:

Veriler Excel 2003 ve SPSS v13 programlarına girilerek değerlendirildi. SLE, RA ve kontrol grubundaki nicel değişkenler student t testi, Ki-kare testi, nitel değişkenler Ki-kare testi (gerektiğinde Yates düzeltmeli şekli ve Fisher's kesin Ki-kare testi), değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon testi ile yapıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.



SONUÇLAR

Hasta ve kontrol gruplarının özellikleri Tablo 4 de özetlenmiştir.

SLE grubunda 114 ü kadın, 8 i erkek olmak üzere toplam 122 hasta vardı ve yaş ortalamaları $39,8 \pm 12,5$ yıl idi. Bu hastaların cinsiyetlere göre yaş ortalamaları ise kadınlarda $40,4 \pm 12,5$ yıl, erkeklerde $30,9 \pm 10,4$ yıl idi.

Tablo 4. Vakaların Özellikleri

	SLE	RA	Kontrol	p
Vaka sayısı (n)	122	59	59	
Yaş (yıl)	$39,8 \pm 12,5$	$42,2 \pm 9,6$	$40,5 \pm 9,6$	(ns)
Tanı Yaşı (yıl)	$34,6 \pm 12,9$	-	-	
Geçen süre(yıl)	$5,2 \pm 4,5$	-	-	
Anti-dsDNA (IU/ml)	$150,21 \pm 218,2$	-	-	
Anti nükleosom (U/ml)	$27,12 \pm 48,59$	$7,59 \pm 3,60$	$7,15 \pm 4,41$	(p=0,001)
SLEDAI (ortalama)	$3,28 \pm 3,76$			

Romatoid artrit (RA) grubundaki 59 olgunun 55 i kadın, 4 ü erkekti. Ortalama yaşları $42,2 \pm 9,6$ yıl idi.

Kontrol grubundaki 59 sağlıklılarının 53 ü kadın, 6 sı erkekti. Yaş ortalamaları $40,5 \pm 9,6$ yıl idi. Yaş göz önüne alındığında SLE ile RA grubu ($t=-1,419$, $p=0,158$) ve sağlıklı kontrol grubu ($t=-0,453$, $p=0,652$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

SLE hastalarının tanı yaşlarının ortalaması $34,6 \pm 12,9$ yıl olarak bulundu. Cinsiyete göre bakıldığında ise kadınlarda $35,1 \pm 13,0$ yıl, erkeklerde $26,7 \pm 8,9$ yıl idi. Tanıdan araştırmanın yapıldığı zamana kadar geçen sürenin ortalaması $5,2 \pm 4,5$ yıl olarak saptandı (kadınlarda $5,3 \pm 4,6$ yıl, erkeklerde $4,1 \pm 2,9$ yıl).

Anti-dsDNA antikörler:

SLE hasta grubunda anti-dsDNA antikörlerinin ortalaması $150,2 \pm 218,3$ IU/ml idi (median $47,3$ IU/ml) (Tablo 4). Kit eşik (cut-off) değeri olan 50 IU/ml değerine göre, 122 SLE'lu hastanın 68 inde (%55,7) anti-dsDNA pozitif idi.

Anti nukleosom antikorlar:

SLE'lu hastalardaki anti nukleosom antikor ortalaması $27,1 \pm 48,5$ U/ml idi (median 8,5 U/ml). 122 lupus hastasının 25 inde (% 20,5) anti nukleosom antikor pozitif bulundu (eşik değer: 25 U/ml).

RA grubunda anti nukleosom antikor değerlerinin ortalaması $7,6 \pm 3,6$ U/ml idi.

Kontrol grubunda anti nukleosom antikor ortalaması $7,2 \pm 4,4$ U/ml bulundu.

Anti nukleosom antikor düzeyleri açısından SLE ile RA grubu ($t=4,414$, $p<0,001$) ve SLE ile kontrol grubu ($t=4,500$, $p<0,001$) arasında ileri derecede anlamlı fark vardı. Kontrol grubu ile RA grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Buna göre RA hastalarında antinükleosom sıklığı %0 iken, sağlıklı kontrollerde % 1,7 (1/59), SLE grubunda ise %20,5 (25/122) olarak bulundu.

SLEDAI:

122 SLE vakasının SLEDAI değerlerinin ortalaması $3,3 \pm 3,8$ idi (median:2, min:0, max:20) ve cinsiyetlere göre bakıldığında kadınlarda $3,1 \pm 3,6$, erkeklerde $5,2 \pm 5$ olarak bulundu.

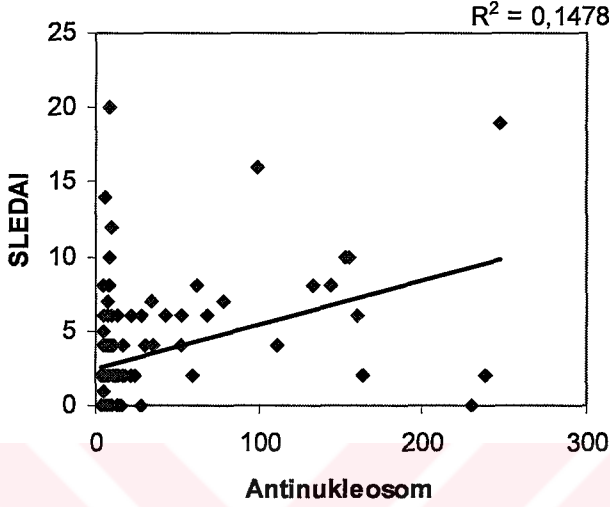
SLEDAI 6 ve üzerindeki değerler aktif hastalık göstergesi olarak alındığında 122 olgunun 27 si (% 22,1) aktif hasta olarak belirlendi. Aktif SLE hastalarının ortalama SLEDAI skorları $8,8 \pm 4,0$ idi. Bu olguların 15 inde anti nukleosom antikorlar pozitif iken (% 55,5), 25 inde anti-dsDNA pozitif (%92,6) saptandı. SLEDAI <6 olan hasta sayısı 95 olup, bu grupta anti nukleosom antikor ve anti-dsDNA antikor pozitif hasta sayısı sırasıyla 10 (% 10,5) ve 43 (% 45,3) idi. Aktif grup içinde hem anti nukleosom antikorları, hem de anti-dsDNA antikorları pozitif olan toplam 14 hasta (% 51,9) vardı. (Tablo 5). Tüm lupus hastaları içinde toplam 54 hastada anti-dsDNA negatif bulunmuş olup, bunların 3 tanesinde anti nukleosom antikor pozitif tesbit edildi.

Tablo 5 Aktif ve inaktif SLE hastalarında otoantikor dağılımı

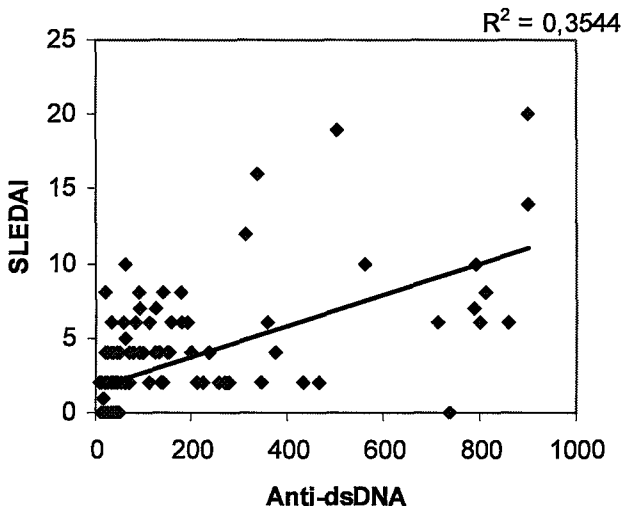
	SLEDAI ≥ 6 (n:27)	SLEDAI < 6 (n:95)
Antinükleosom	+	15
	-	12
Anti-dsDNA	+	25
	-	2

SLE hastalarında yaş, tanı yaşı, tanıdan itibaren geçen süre, anti-dsDNA, anti nukleosom ve SLEDAI değerlerinin karşılıklı korelasyonlarına bakıldığında; yaş ile anti-dsDNA ($r=-0,314$,

$p < 0,001$) ve SLEDAI ($r = -0,0350$, $p < 0,001$) arasında negatif korelasyon vardı. Anti nukleosom ile SLEDAI ($r = 0,384$, $p < 0,001$) arasında pozitif korelasyon (Şekil 5), yaş ve tanı yaşı arasında $r = -0,301$, $p < 0,001$) negatif korelasyon vardı. Anti-dsDNA ile anti nukleosom ($r = 0,300$, $p < 0,001$) ve SLEDAI ($r = 0,595$, $p < 0,001$) arasında da pozitif korelasyon (Şekil 6) gözlemlendi.



Şekil 5. SLEDAI aktivitesi ile antinukleosom düzeyleri arasında anlamlı derecede ilişki gözlemlendi (Pearson korelasyon katsayısı $r = 0,384$, $p < 0,001$)



Şekil 6. SLEDAI ile anti-dsDNA düzeyleri arasında anlamlı derecede ilişki vardı (Pearson korelasyon katsayısı $r = 0,595$, $p < 0,001$)

SLE hastalarının organ tutulumları Tablo 6 da gösterilmiştir. Buna göre deri-mukoza ve eklem en sık tutulan sistemler olarak görülmektedir.

Tablo 6 SLE hastalarının sistem tutulumlarına göre dağılımları

Tutulan organ no. (%)	n=122
Deri-mukoza tutulumu	109 (89)
Eklem	108 (88)
Böbrek	29 (24)
Hematolojik	23 (19)
Serozit	14 (12)
SSS tutulumu	12 (10)
Kardiyovasküler sistem	3 (3)
APS	3 (3)
Akciğer	1 (1)
Psikoz	1 (1)

Aktif hastalarda böbrek ve santral sinir sistemi tutulumları ile anti nukleosom ve anti-ds DNA antikorlar arasında herhangi bir ilişki bulunamadı (sırasıyla Pearson ki-kare testi, $p=0,278$, $p=0,944$, Fisher's kesin ki-kare testi, $p=1,000$, Pearson ki-kare testi, $p=0,673$)

Lupus nefriti olan tüm hastaların ortalama anti nukleosom antikor düzeyi $32,9 \pm 53,3$ (median 9,0; min: 4,3 max:247,3), ortalama anti-dsDNA antikor düzeyi $105,0 \pm 122,3$ (median 40,4; min 10,8- max 502,4) olarak tespit edildi. Buna göre lupus nefriti olanlarda anti nukleosom antikor ile anti-dsDNA antikorlar arasında pozitif korelasyon bulundu (Spearman korelasyon katsayısı $r = 0,498$, $p = 0,006$). Böbrek tutulumu olan 29 hastanın 7 tanesinde (% 24) antinukleosom antikorlar, 14 tanesinde (% 48) de anti-dsDNA antikorları pozitif idi.

Santral sinir sistemi tutulumu olan hastalarda ise anti nukleosom antikorlar ile anti-dsDNA antikor düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon görülmedi (Spearman korelasyon katsayısı $r = 0,531$, $p = 0,075$).

TARTIŞMA

SLE; aktivasyonlarla seyreden, morbidite ve mortalitesi yüksek sistemik bir hastalıktır. Özellikle erken dönemde bazı klinik ve biyolojik tablolarda ayırıcı tanısı güç olabilir.

Anti dsDNA antikorlar lupusun ACR (American College of Rheumatology Criteria) sınıflama kriterleri içinde yer alıp (81), hastalığın tanısı ve aktivitesinin belirlenmesinde kullanışlı bir belirteç olarak kabul edilirler. Ancak bu antikorlar lupus hastalarının ancak %50'sinde bulunurlar ve her zaman hastalık aktivitesi ile ilişkili değildirler (3). Ayrıca yeni anti dsDNA antikor ölçme tekniklerinin geliştirilmesiyle (82,83) birlikte, önceden kullanılan bazı testlerde biyolojik anlamı olmayan anti DNA antikorların da saptanabildiği ortaya çıkmıştır (84). Bu da SLE de bu antikorların tekrar gözden geçirilmesine yol açmıştır (85).

Lupus tanısında kullanılan diğer bir antikor grubu anti nukleer antikorlardır. Ancak bu antikorlar bir çok sistemik otoimmün hastalıkta ve sağlıklı kişilerde de bulunabilirler, bu nedenle SLE tanısında spesifiteleri düşüktür (4).

Anti-nukleosom antikorlarla yapılan çalışmalarda, iki önemli tekrarlayan gözlem mevcuttur: SLE için yüksek sensitivite ve spesifite; sıklıkla lupus glomerulonefriti ile ilişki.

Biz bu çalışmada toplam 122 SLE hastasında ve kontrol grubu olarak 59 RA hastası ile 59 sağlıklıda antinukleosom antikor varlığına baktık. Ayrıca SLE hastalarında anti-nukleosom antikor varlığını, anti-dsDNA antikor reaktivitesi ile karşılaştırdık.

Lupus hastalarında antinukleosom antikor sıklığı RA ve sağlıklılardan anlamlı olarak yüksek bulundu (SLE % 20,5, RA % 0, sağlıklı % 1,7). SLE ve RA hastaları ile sağlıklı kontrollerde ortalama anti nukleosom antikor değerleri sırasıyla; 27,1 ; 7,6 ve 7,2 U/ml olarak tespit edildi (SLE vs RA: $p < 0,001$; SLE vs sağlıklı: $p < 0,001$). Anti-nukleosom antikorların SLE için sensitivitesi % 20,5, spesifitesi % 99,2 olarak belirlendi. Daha önceki araştırmalarda anti nukleosom antikorların SLE dışında, sistemik skleroz ve mikst konnektif doku hastalığı tanısında karşılaştırmada değil diğer bağ dokusu hastalıkları ile ayırıcı tanıda da kullanılabileceği önemli bir belirteç olabileceği bildirilmiş ve bu nedenle yalnızca sağlıklılar ile vurgulanmıştır (4, 5, 7, 8, 90). Bizim RA ve sağlıklı kontrollerden elde ettiğimiz sonuçlar da bu bilgilerin tekrarı niteliğindedir. Buna karşılık lupus hastalarında bulduğumuz antinukleosom antikor sıklık oranları, daha önceki çalışmalarda bildirilen oranlardan düşüktür (4-8, 86-90). Ancak hastalık aktivitesine göre bakıldığında aktif hastalığı olan lupuslarda

(SLEDAI ≥ 6) antinukleosom antikor sıklığı % 55,5 (27 hastanın 15'i) iken, inaktif hastalığı olanlarda (SLEDAI <6) bu değer % 10,5 (95 hastanın 10'u) olarak bulunmuştur.

Amoura ve ark. 13 ü bağ dokusu hastalığı olmak üzere 14 farklı hastalık grubunda (Toplam 596 hasta), anti nukleosom antikor sıklığına baktılar ve 406 sağlıklı kontrolden elde edilen verilerle karşılaştırdılar (5). Sonuçta bu antikorların yalnızca 3 bağ dokusu hastalığında (SLE, sistemik skleroz ve mikst konnektif bağ dokusu hastalığı) iyi bir belirteç olduğunu bildirdiler. Bu çalışmada SLE de antinukleosom antikor (IgG) sıklığı % 71,7 iken RA hastalarında % 0, sağlıklılarda % 3,4 olarak bulundu. Bu antikorların SLEDAI ile ilişkisine baktıklarında, toplam 120 lupus hastasından aktif hastalığı (SLEDAI ≥ 6) olan 29 hastanın tamamında, inaktif hastalığı (SLEDAI < 2) olan 91 hastanın %62,6 sında anti nukleosom antikorların varlığını gösterdiler. Aktif hasta grubunda ortalama SLEDAI skoru 17,8 idi (SLEDAI 6-32). Bizim grubumuzdaki aktif hastalarda ortalama SLEDAI skorunun daha düşük olması ($8,8 \pm 4,0$) bu grubun anti nukleosom antikor sıklığındaki azalmayı açıklayabilir. Ancak her iki grubun inaktif hastaları arasındaki belirgin farklılığı bu yolla açıklamak mümkün değildir.

Aynı grup daha önceki bir çalışmasında, anti nukleosom antikor sıklığını % 47 olarak bildirmiştir (6). Bu çalışmada da antikor varlığı ile hastalık aktivitesi arasında ilişki bulunmuştur. Aktif hastalığı olanların % 100 ünde (12 hastanın 12 si), inaktif hastalığı olanların ise % 25 inde (28 hastanın 7 si) antikor pozitifliği mevcuttu.

Başka bir araştırmada 136 lupus hastasının %56 sında antinukleosom antikor pozitif bulunurken, sistemik otoimmün hastalığı olan 309 hastanın ancak % 3'ünde bildirilmiştir (90). Hastalık süresi 1 yıldan kısa olan SLE hastalarında yapılan değerlendirmede ise, antinukleosom antikor prevalansı %100, bu antikorların lupus tanısı için sensitivitesi % 100, spesifitesi % 97 olarak belirlenmiştir (4). SLE ile kontrol grubunu oluşturan 261 sistemik otoimmün hastalığı olan olgu (mikst konnektif doku hastalığı hariç) karşılaştırıldığında, lupus tanısı için anti-nukleosom antikor sensitivitesi % 93, spesifitesi % 97 bulunmuştur. Bu çalışmada SLE grubundaki hastaların ortalama SLEDAI skoru $5,3 \pm 5,9$ du ve anti-nukleosom antikorlar ile hastalık şiddeti arasında güçlü bir ilişki tespit edilmişti. Literatürde bu konu ile ilgili bildirilen araştırmalarda, SLE hastalarının ortalama hastalık süreleri 8 yıl ($5,9$) olup, bizim SLE grubumuzda bu süre $5,2 \pm 4,5$ yıldır. Tanıdan sonra geçen sürenin kısa olması hem tedavi, hem de hastalık aktiviteleri açısından fark yaratabilir. Gerçekten de uzun hastalık süresi ve dolayısıyla uzun tedavi süresi beraberinde otoantikor yapımında baskılanmayı getirebilir. Aynı şekilde araştırmanın tanı sırasında veya hemen tanı sonrası SLE hastalarında yapılmış olması, bunların yüksek hastalık aktivitesine sahip olduklarını düşündürmektedir (SLEDAI $5,3 \pm 5,9$).

Yakın zamanda Schett ve ark. çeşitli romatolojik hastalıkları olan 394 hasta serumunda H1, dsDNA ve nukleosoma karşı ELISA yöntemi ile antikor varlığına baktıklarında, SLE için antinukleosom antikor sensitivitesini % 95, spesivitesini % 85 olarak buldular. Ancak SLE hastalık aktivitesi ile en güçlü ilişkiyi anti H1 antikorlarının gösterdiğini bildirdiler (7). Buna karşılık Carvera ve ark., SLE de anti-nukleosom antikor sıklığını % 69 olarak bulurken (Primer Sjögren de % 8, Sistemik skleroz da % 10, primer APS de % 7, sağlıklılarda % 0), hastalık aktivitesi ile bu antikor düzeyleri arasında anlamlı ilişki olduğunu da gösterdiler (8). Anti-nukleosom antikorların SLE için sensitivitesi % 69 olarak belirlenirken, spesifite sağlıklı kontrollarda % 100, hasta kontrol grubunda ise % 92 olarak bulunmuştur.

Ayrıca bir İtalyan (86), bir Macaristan (87), bir İngiliz (88) ve bir Çek grup (89) anti-nukleosom antikorları pozitif olan lupus hastalarının, bu antikorları olmayanlara göre daha yüksek hastalık aktivite skoruna sahip olduklarını belirlemişlerdir.

Amoura ve grubunun inaktif lupus hastalarının yaklaşık üçte ikisinde anti-nukleosom antikorların pozitif olmasına dayanarak ileri sürdükleri “anti-nukleosom antikorlar hem aktif, hem de inaktif SLE hastalarında yüksek sıklıkta bulunabilirler” gözlemi (5), daha önce de bir çalışmalarında bildirilmişti (6). Ancak hastalığı inaktif olan lupuslarda anti-nukleosom antikor sıklığı bu çalışma dışında (5) literatürdeki diğer çalışmalarda düşük düzeylerde kalmıştır.

Buraya kadar özetlenecek olursa, çeşitli ülkelerdeki laboratuvarlarda farklı etnik kökenli SLE hastalarında yapılan çalışmalarda, anti-nukleosom antikorlar ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişki belirgindir. Tüm bu araştırmalarda 1147 SLE hastası ve 1434 diğer sistemik otoimmün hastalığı olanlar anti-nukleosom antikor için test edilmiştir. SLE de anti-nukleosom antikor için ortalama sensitivite % 63, spesifite ise % 95 olarak bulunmuştur. Yine bu çalışmalarda sağlıklı normal kontroller için ortalama spesifite % 100 dür (90). Bizim elde ettiğimiz değerler de bu sonuçları doğrulamaktadır.

Biz ayrıca SLE hasta grubumuzda anti-dsDNA antikor varlığını araştırdık ve antinukleosom antikor sonuçlarımız ile karşılaştırdık. 122 hastadan oluşan lupus grubumuzda anti-dsDNA sıklığı %55,7 (68/122)olarak bulundu. Aktif hastalığı olan SLE hastalarında (SLEDAI \geq 6) anti-dsDNA sıklığı % 92,3 (25/27), inaktif hastalığı olanlarda ise (SLEDAI <6) %45,3 (43/95) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar literatürde daha önce bildirilenlerden farklı olarak (4-8), anti-dsDNA antikorların SLE için anti nukleosom antikorlardan daha iyi bir belirteç olduğunu göstermektedir. Hastalığı aktif ve inaktif olan tüm hastalar birlikte değerlendirildiğinde, anti-nukleosom antikoru pozitif olan SLE hastalarının % 80,8 i (22/25), ayrıca anti-dsDNA aktivitesine sahipti. Buna karşılık anti-dsDNA antikorları pozitif olan SLE hastalarının % 32,3 ünde (22/68) anti-nukleosom antikor varlığı mevcuttu. Bu

sonuçlar daha önce Amoura ve ark. nın öne sürdüğü ve bazı araştırmacılar tarafından da desteklenen “erken hipotez” den (2, 6, 9) uzaktır. Bu görüş anti nukleosom aktivitesi olmaksızın hiçbir hastada anti-dsDNA veya anti histon aktivitesi saptanmayacağını öngörür. Biz ayrıca anti-dsDNA antikoru negatif olan lupus hastalarında anti-nukleosom antikorların tanı ve hastalık aktivite göstergeci olarak etkinliğini belirlemek için, anti-dsDNA antikoru negatif olan bir alt grubu analiz ettik. Toplam 54 hastada anti-dsDNA antikor bulunmazken, bu gruptaki 3 hastada anti-nukleosom antikor pozitif olarak belirlendi. Bu sonuç anti-dsDNA antikorunun negatif olduğu durumlarda anti nukleosom antikorların tanısal değeri olmadığını düşündürmektedir.

1990 lı yılların ortalarında Chabre ve ark., küçük bir SLE hasta grubunda (40 hasta) anti-nukleosom, anti-dsDNA ve anti-histon antikor aktivitesine baktıklarında, bu antikor sıklıklarını sırasıyla; % 47.5, % 37.5 ve % 32.5 olarak buldular (6). Ayrıca hastalık aktivitesi ile antikor oluşumu arasında ilişki mevcuttu. Aktif hastalığı olan SLE hastalarının %92 sinde anti-dsDNA antikor varlığı tespit edildi (Anti-nukleosom antikor %100, Anti-histon antikor %83). Buna karşılık inaktif hastalarda bu oran %14 olarak bulundu (Anti-nukleosom antikor %25, anti-histon antikor %11). Anti-nukleosom antikoru pozitif olanların %84 ü, beraberinde anti-dsDNA ve/veya anti-histon aktivitesi göstermekteydi. %16 sı ise yalnızca nukleosoma karşı reaksiyon geliştirmişti. Ayrıca anti-dsDNA veya anti-histon aktivitesi gösteren tüm hastalarda, nukleosomlara karşı da reaktivite görüldü. Araştırmacılar elde ettikleri bu sonuçları, anti-dsDNA ve anti-histon antikor yapımının anti-nukleosom antikor yapımı ile yakından ilişkili olduğu şeklinde yorumladılar.

Aynı çalışmada araştırmacılar, bu anti-nukleosom reaktivitesinin anti-dsDNA ve anti-histon antikorlar nedeniyle mi yoksa nukleosomun kendisine karşı ortaya çıkan antikorlardan mı kaynaklandığını araştırdılar. Sonuçta SLE’de histon veya dsDNA ya karşı bireysel olarak gelişen antikorların, anti-nukleosom IgG yanıtının ancak küçük bir bölümünü oluşturabildiğini gösterdiler (6). Bu sonuçlar daha önce Burlingame ve ark. nın bildirdikleri sonuçlar ile benzerdi (92). Gerçekten de anti-dsDNA antikorlar, anti-nukleosom aktivitesinin %25 inden daha azını oluşturmaktaydı ve lupus hastalarının yaklaşık üçte biri yüksek miktarda anti-nukleosom antikor ile az miktarda antidsDNA veya anti-histon antikora sahipti. Anti-nukleosom antikorların konnektif doku hastalıklarında varlığının araştırıldığı çalışmada bu antikorların tersine, anti-dsDNA antikorlar ile hastalık aktivitesi arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir (5). Yalnızca aktif SLE olan hastalarda değil, inaktif lupusu olan hastaların da yaklaşık üçte ikisinde anti-nukleosom antikorların gösterilmesi nedeniyle araştırmacılar anti nukleosomun anti-dsDNA dan daha duyarlı bir marker olduğunu öne

sürdüler. Bu çalışmada anti nukleosom antikoru pozitif olan inaktif lupusların çoğunluğunda anti-dsDNA antikor negatif bulunmuştur.

Hastalık süresi 1 yıldan kısa olan SLE grubunda yapılan bir araştırmada, anti-dsDNA antikor prevalansı % 63, sağlıklı kontrollerde % 5 bulunmuştur (anti-nukleosom antikor % 100, anti-histon antikor %15) (4). SLE ile sistemik otoimmün hastalık grubu karşılaştırıldığında lupus için anti-dsDNA antikor sensitivitesi % 71 iken (antinukleosom ve anti-histon antikorlar için sırasıyla % 93 ve % 40), spesifite % 98 idi (Antinukleosom ve anti-histon için sırasıyla % 97 ve % 98). Yine bu çalışmada anti-nukleosom antikor düzeyleri ile SLE aktivitesi arasındaki ilişki anti-dsDNA ve anti-histon antikor düzeyleri ile aktivite arasındaki ilişkiden daha güçlü olarak tespit edilmiştir. Buna karşılık daha uzun hastalık süresine (ortalama 8 yıl) sahip SLE hastalarında yapılan diğer çalışmalarda (5,8,90), antinukleosom prevalansının anti-dsDNA prevalansından daha yüksek olduğu gösterilememiştir. Araştırmacılar kendi sonuçları ile önceki çalışmaların sonuçları arasındaki farkı açıklayamamakla birlikte, hastalık aktivitesi veya tedavi etkisine bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir.

Avusturya'dan bildirilen çalışmada SLE için anti dsDNA ile anti-histon antikorların sensitivite ve spesifiteleri karşılaştırılabilir bulunurken (% 45, % 98), anti-nukleosom antikorlar için bu değerler % 95 ve % 85 olarak bulunmuştur (7). Buna göre anti-nukleosom antikorların SLE için sensitivitesi yüksek, ancak spesifitesi anti-dsDNA antikorlardan daha düşük olmaktadır.

Carvera, Burlingame grubunun anti-nukleosom antikor varlığına baktıkları lupus hastalarında, anti-dsDNA antikor sıklığı % 55 bulunmuştur (Anti-nukleosom antikor sıklığı % 69) (8). Bu araştırmada toplam SLE hasta sayısı 100 olup, bunların 52'si lupus nefriti tanısı almış hastalardı. Lupus nefropatisi için bu antikorların sensitivitesi % 75, spesifitesi % 63 olarak bildirilmiştir. Buna karşılık lupus nefropatisi olan hastaların %42'sinde anti-nukleosom antikor pozitif bulunmuştu. Buna göre sensitivite % 81, spesifite % 39 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızdaki lupus grubunun organ tutulumuna göre dağılımları açısından bakıldığında deri-mukoza % 89, eklem % 88, hematolojik tutulum % 19, nörolupus % 10, kalp % 3, böbrek % 24, akciğer % 1, serözit %12 olarak bulundu. Aktif hastalarda lupus nefriti ile anti-nukleosom antikor ve anti-dsDNA antikor düzeyleri arasında herhangi bir ilişki bulunamadı. Lupus grubumuzdaki böbrek tutulumu olan hastaların yalnızca 6'sında, santral sinir sistemi tutulumu olan hastaların ise 5' inde hastalık aktif olarak saptanmıştır.

Bu açıdan literatüre bakılacak olursa, Singapurda SLE hastalarında yapılan çalışmada kromatine karşı gelişen otoantikorlar ile proteinüri arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (91). Ancak aynı ilişki anti-DNA antikorlar ile proteinüri arasında gösterilememiştir.

Fransız lupus hastalarında ise, hastalık alevlenmesi esnasında anti-nukleosom antikor IgG3 izotipinin varlığı gözlemlendi ve varyans analizi yapıldığında nefrit ile bu antikorlar arasında anlamlı bir ilişki bulundu (5). Buna karşılık anti-DNA antikorların alt sınıfları ile nefrit arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşan herhangi bir ilişki görülmedi. Alman lupus hastalarından oluşan 136 kişilik bir hasta grubunda ise anti-nukleosom antikor varlığı ile hastalık aktivitesi ($p<0.001$) ve nefrit ($p<0.002$) arasında yine anlamlı bir ilişki bildirilmiştir (90).

Katalan lupus hastalarından nefropatisi olanlar nefropatisi olmayanlara göre, hem daha yüksek anti-nukleosom antikor prevalansına (% 58 vs % 29), hem de daha yüksek serum antikor (ortalama 68 U vs 42 U) düzeylerine sahiptiler (8).

Meksikalı 73 SLE hastasında, antinukleosom antikorlar böbrek tutulumu ile güçlü bir ilişki göstermiştir ($p=0.01$) (4). Ayrıca serumda yüksek düzeyde anti-nukleosom varlığı hematüri, malar raş, artrit ve oral ülser ile ilişkili bulunmuştur. Buna karşılık anti-dsDNA yüksek titreleri, oral ülser ile ilişkili bulunmuştur.

Önceki yıllarda LE hücresi, SLE nin tanısı için bilinen en iyi testi (81). Bunun nedeni antikorların saptanmasını sağlayan immunfloresan ve enzimatik temelli testlerin henüz yaygınlaşmaması idi. LE hücresi amorf bir cisim içeren polimorf nüveli lökositir ve bu amorf bölüm başka bir hücreden fagosite edilen nukleus ile kompleman ve nukleoproteinlere karşı gelişen antikorlardan oluşur (92). Sonraki yıllarda LE hücre fenomenine neden olan antikorların spesifikliğini keşfetmek için, pek çok araştırma yapılmıştır. En çok kabul gören yöntem immunoabsorbsiyondur (DNP). Genel olarak anti-kromatin antikorların LE hücre fenomenine neden olduğu düşünülür. Bu antikorları ölçmek için daha sonra başka teknikler de geliştirilmiştir (Aglütinasyon, immünopresipitasyon ve ELİSA). Ancak bu testler asla klinik laboratuarlarda yaygınlaşmamıştır. Nedeni ise, anti-DNA antikorların SLE tanısında ve hastalık aktivitesinin belirlenmesinde önemli yeri olmasıdır (93). Ayrıca anti-DNA yı saptamak için birçok metod geliştirilmiştir. Kromatinin fizyolojik tuz solüsyonlarında erimemesi, buna karşılık saf DNA nın eriyebilir olması ve bazı fiziksel, biokimyasal özellikleri DNA yı immünolojik testlere daha açık hale getirmiştir. Sonuç olarak anti-DNA, SLE tanısında LE hücresinin yerini almıştır. Yakın zamanda Amerikan Sağlık Dairesi (FDA) anti-kromatin ELISA yı onayladığı için bu otoantikorları tekrar test etmek kolaylaşmıştır.

Anti-dsDNA antikor popülasyonu SLE için önemli bir gösterge olarak bilinir. Ancak yukarıda da sözü edildiği gibi, yeni anti-dsDNA antikor ölçüm teknikleri ile biyolojik anlamı olmayan anti-DNA antikorlarının saptanabilmesi bu antikorların yeniden gözden geçirilmesine neden olmuştur (84). SLE ile SLE olmayan durumlar karşılaştırıldığında anti-DNA antikor oluşumundaki farklı potansiyellerin belirlenmesi için yeterli bilgi yoktur. Bu farkın

anlaşılması için, nukleosom- spesifik T ve B hücrelerinin uyarılmasında DNA ve nukleosomlara izin veren genetik veya edinilmiş süreçlerin belirlenmesi önemlidir. Anti-DNA gelişimi, enfeksiyon veya moleküler benzerlik modelleriyle ilişkili olabilir. Bu mekanizmalar geçici ve antijenik baskının daha az olduğu süreçler olabilir. Böylece daha zayıf ve kısa süreli antikor yapımı (daha az sayıda ds-DNA için spesifik B hücre klonu) gerçekleşebilir. Bu antikorlar antijenik uyarının geçici olması nedeniyle, immunglobulin ağır zincirinin değişken bölgesinde (Variable heavy chain regions) daha az mutasyona neden olabilirler, bu da dsDNA ya ilgisi az olan antikorların yapımına neden olabilir. Bu senaryo SLE olmayan ancak anti-dsDNA antikor taşıyan kişiler için geçerli kabul edilebilir. Buna karşılık bazı fare modellerinde ve insanlarda anti-dsDNA antikor artışı kalıcı olabilir. Bu artışın temelinde genetik mekanizmaların yattığı düşünülmektedir. Antijenik uyarının kalıcı doğası, antikorun VH CDR3 bölgesinde daha çok mutasyon oluşumuna neden olabilir ve böylece dsDNA ya daha çok ilgisi olan antikor yapımı gerçekleşebilir. Sonuç olarak, antijenik uyarının özelliği (genetik veya edinilmiş süreçte kalıcı yada geçici), otoimmün yanıtın geçici veya kalıcı olup olmayacağını belirleyebilir. Bundan dolayı anti-dsDNA antikorların lupusun belirleyici bir markını olabilmesi için, patolojik potansiyellerini saptayabilecek laboratuvar testlerine gereksinim vardır (84).

SONUÇ

Sonuç olarak biz kendi SLE popülasyonumuzda anti-nukleosom antikorlar ile hastalık aktivite skoru "SLEDAI" arasında iyi bir korelasyon olduğunu gördük. Ancak anti-dsDNA ile SLEDAI arasındaki ilişki çok daha güçlüydü. Anti-dsDNA antikorlar hastalığı aktif olan lupusların hemen tamamında, inaktif lupus hastalarının ise yaklaşık yarısında pozitif olarak bulunmuştur. Bu sonuç, anti-dsDNA antikorların hem hastalığın tanısında hem de hastalık aktivitesinin belirlenmesinde halen kullanışlı bir belirteç olduğunu düşündürmektedir . Ancak patojenik potansiyele sahip olabilecek anti-dsDNA antikorların anlaşılmasını sağlayacak yeni metodların geliştirilmesine hala ihtiyaç vardır.



ÖZET

Ön bilgi: Sistemik Lupus Eritematozus (SLE), hücre çekirdeğinin çeşitli komponentlerine karşı oluşan anti-dsDNA, anti histon gibi otoantikörlerin varlığı ile karakterize otoimmün bir hastalıktır. Anti-dsDNA antikörler hem hastalığın tanısında hem de hastalık aktivitesinin belirlenmesinde önemli bir araç olarak kabul edilirler. Ancak SLE hastalarının yalnızca %50'sinde pozitif olarak bulunurlar ve her zaman hastalık aktivitesi ile uyumlu olmayabilirler. Kromatinin temel ünitesi olan nukleosoma karşı oluşan anti-nükleozom antikörler son yıllarda SLE tanısı ve hastalık seyrinin belirlenmesinde önemli bir belirteç olarak bildirilmektedir.

Amaç: SLE hastalarında serum antinukleosom sıklığını ve bu antikörler ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi belirlemek.

Yöntem: 122 SLE, 59 Romatoid artrit (RA) hastası ve 59 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 240 serum örneğinde ELISA yöntemi ile anti-nukleosom antikör, ayrıca 122 SLE hastasında yine ELISA yöntemi ile anti-dsDNA antikör çalışıldı. Sonuçlar hastalık aktivitesi ile karşılaştırıldı. Hastalık aktivitesini belirlemek için SLE Aktivite İndeksi (SLEDAI) kullanıldı.

Bulgular: SLE (114 kadın, 8 erkek) ve RA (55 kadın, 4 erkek) hastaları ile sağlıklı kontrollerin (53 kadın, 6 erkek) yaş ortalamaları sırası ile $39,8 \pm 12,5$ yıl, $42,2 \pm 9,6$ yıl ve $40,5 \pm 9,6$ yıl idi. SLE hastalarının demografik ve klinik özellikleri Tablo 4 ve 6' da özetlendi.

SLE hastalarında anti nukleosom ve anti-dsDNA antikor sıklığı sırasıyla % 20,5 (25 hasta) ve % 55,7 (68 hasta) idi. Anti nukleosom antikor sıklığı RA hastalarında %0, sağlıklılarda ise % 1,7 (1hasta) olarak bulundu. SLE hastalarının anti nukleosom antikor ortalaması $27,12 \pm 48,59$ U/ml (median 8,5 U/ml), RA hastalarının anti nukleosom antikor ortalaması $7,59 \pm 3,60$ U/ml, sağlıklı kontrollerin anti nukleosom antikor ortalaması $7,15 \pm 4,41$ U/ml olarak bulundu. Aktif lupus hastalarının (SLEDAI ≥ 6) % 55,5'inde anti nukleosom antikor aktivitesi varken, inaktif lupus hastalarında (SLEDAI < 6) bu değer %10,5'di. Buna karşılık anti-dsDNA antikorlar aktif lupus hastalarının % 92,6' sında pozitif iken, inaktif hastaların %45,3' ünde pozitif olarak bulunmuştur. Anti-nukleosom antikorlar ile SLEDAI arasında pozitif bir korelasyon ($p < 0.001$) vardı. Ancak anti nukleosom antikorlar ile SLEDAI arasında bu ilişki çok daha güçlüydü.

Sonuç: SLE 'de antinukleosom antikorlar hastalık aktivitesi ile ilişkili olarak serumda belirlemekle birlikte, anti-dsDNA antikorlar hastalık tanısında ve aktivitenin belirlenmesinde daha duyarlı gibi görünmektedir.

ANTI-NUCLEOSOME ANTIBODIES IN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

OBJECTIVE

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease of unknown aetiology, characterized by the presence of autoantibodies against cellular antigens, mainly nuclear antigens, such as antidouble-stranded DNA (anti-dsDNA), anti-single-stranded DNA and anti-histones (anti-HST) antibodies. These autoantibodies are key markers of SLE, and evidence has accumulated to suggest that their production is driven by antigen. On the other hand, nucleosome, the fundamental unit of chromatin and ubiquitous product of cell apoptosis, plays a key role in the pathogenesis of SLE.

In particular studies on apoptosis and clearance of apoptotic cells in lupus have shed a new and intriguing light on the development and course of the disease.

Increased apoptosis or impaired clearance of apoptotic cell material has been implicated in the pathogenesis of human SLE. Serum antinucleosome reactivity was shown, in inhibition and adsorption studies, to be due to antibodies that recognize the native nucleosome particle but not its individual components (DNA and histones). These nucleosome-specific antibodies persist later in the course of disease when anti-dsDNA and antihistone antibodies develop. However, the sensitivity and specificity of anti-nucleosome antibodies for the diagnosis of SLE in patients with long disease duration have not been shown to be better than those of anti-dsDNA antibodies. Recently, Amoura et al have found that antinucleosome antibody activities correlated with scores on the SLEDAI, a validated index of SLE.

In this study we investigated the presence of antinucleosome antibody reactivity in large series of patients with long disease duration SLE, Rheumatoid Arthritis and in healthy controls, and compared with the SLEDAI.

PATIENTS AND METHODS

Patient sera : All of the patients enrolled in the study were selected at out or in patient clinics of Rheumatology Department, University of Marmara, Istanbul, between December 2003- December 2004. We examined the presence of antinucleosome antibody reactivity in the sera of 122 patients with SLE, RA 59 and 59 healthy controls. SLE and RA were diagnosed according to the American College of Rheumatology criteria(13,14). Patient and healthy control sera were obtained by centrifugation after blood coagulation. Sera were kept

frozen at -20 C and thawed only once, for determinations of antinucleosome antibody reactivity.

Definition of clinical features and disease activity

Clinical and biologic information in patient with SLE was obtained at each visit, and this information was used to determine the score on the SLE Disease Activity Index (SLEDAI). 27 of the patients had active SLE (SLEDAI score ≥ 6) and 95 had inactive SLE (SLEDAI score < 6) (15).

Determination of antinucleosome, anti-dsDNA reactivities : Autoantibody activities were assessed by ELISA according to the manufacturer's recommendations

RESULTS

We included 122 SLE patients with age 39.8 ± 12.5 yr and SLE duration 5.2 ± 4.5 yr. The SLEDAI score at clinical evaluation was mean 3.28 ± 3.76 . The mean antinucleosome antibody reactivity was significantly increased in patients with SLE versus RA and normal controls. Further analysis of the frequency of antinucleosome antibodies in relation to the SLEDAI score revealed that, in our cohort of 122 SLE patients, 15 of 27 with active disease (55.5 %) had positive antinucleosome reactivity. And, among them, 25 (% 92.6) had positive anti-dsDNA antibody activity. In inactive SLE, very few patients (10 of 95) had positive antinucleosome antibody reactivity, while, in contrast, 43 of 95 (45.3 %) were positive for anti-dsDNA antibody.

DISCUSSION

We may conclude that antinucleosome antibodies could be a useful marker of disease activity. But, our data suggest that determination of anti-dsDNA reactivity is also a useful marker for diagnosis of SLE and disease activity.

REFERANSLAR

1. Mills JA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 1994;330:1871-9
2. Amoura Z, Piette J C, Bach J-F, Koutouzov S. The key role of nucleosomes in lupus. *Arthritis Rheum* 1999;42:833-43.
3. Pisetsky DS. Anti-DNA and autoantibodies. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12:364-8.
4. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as diagnostic tool and disease activity marker. *Rheumatology* 2004;43:220-224.
5. Amoura Z, Koutouzov S, Chabre H et al. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue disease. *Arthritis Rheum* 2000;43:76-84.
6. Chabre H, Amoura Z, Piette JC, Godeau P, Bach JF, Koutouzov S. Presence of nucleosome- restricted antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1995;38:1485-91.
7. Schett G, Smole J, Zimmerman C et al. The autoimmune response to chromatin antigens in systemic lupus erythematosus: autoantibodies against histone H1 are a highly specific marker for SLE associated with increased disease activity. *Lupus*. 2002;11:704-15.
8. Carvera R, Vinas O, Ramols- Casals M, Font J et al. Anti- chromatin antibodies in systemic lupus erythematosus: a useful marker for lupus nephropathy. *Ann Rheum Dis* 2003;62:431-434.
9. Amoura Z, Piette JC, Chabre H et al. Circulating plasma levels of nucleosomes in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997 Dec;40(12):2217-25.
10. Hochberg MC. The incidence of systemic lupus erythematosus in Baltimore, Maryland, 1970-1977. *Arthritis Rheum*. 1985;28:80-6.
11. McCarty DJ, Manzi S, Medsger TA Jr et al. Incidence of systemic lupus erythematosus: race and gender differences. *Arthritis Rheum* 1995;38:1260-70.
12. Wallace DC. The clinical presentation of systemic lupus erythematosus. In: Wallace DC, Hahn B, editors. *Dubois lupus erythematosus*. 5th ed. Williams & Wilkins; 1997. p.627-33.

13. Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, et al. Hormonal environmental and infectious risk factors for developing systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1998;41:1714-24.
14. Uramato KM, Michet CJ, Thumboo J, Sunku J, O'Fallon WM, Gabriel SE. Trends in the incidence and mortality of systemic lupus erythematosus, 1950-1992. *Arthritis Rheum* 1999;42:46-50.
15. Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NMH. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune disease in the United States. *Clin Immunol Immunopathol* 1997;84:223-43.
16. Lahita RG. Special report: adjusted lupus prevalence. Results of a marketing study by the Lupus Foundation of America. *Lupus* 1995;4:450-53.
17. Hochberg MC, Perlmutter DL, Medsger TA, et al. Prevalence self reported physician-diagnosed systemic lupus erythematosus in the USA. *Lupus* 1995;4:454-56.
18. Wallace DJ. Management of lupus erythematosus: recent insights. *Curr Opin Rheumatol* 2002;14:212-219.
19. Urowitz MB, Gladman DD: Prognosis of lupus. In *Dubois Lupus Erythematosus*, edn 6. Edited by Wallace DJ, Hahn BH. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002:1255-1274.
20. Urowitz MB, Bookman AA, Koehler BE, Gordon DA, Smythe HA, Ogryzlo MA. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1976;60:221-5.
21. Manzi S, Selzer F, Sutton-Tyrell, et al. Prevalence and risk factors of carotid plaque in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999;42:51-60.
22. Petri M. Hopkins Lupus Cohort 1999 Update. *Rheum Dis Clin North Am* 2000;26:199-213.
23. Boumpas DT, Fesler BJ, Austin HA, et al. Systemic lupus erythematosus: Emerging concepts. *Ann Intern Med* 1995;123:42.
24. Harley JB, Moser KL, Gaffney PM, et al. The genetics of human systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Immunol* 1998;10:690.
25. Casciola-Rosen A. Ultraviolet light- induced keratinocyte apoptosis: A potential mechanism for the induction of skin lesions and autoantibody production in LE. *Lupus* 1997;6:175.
26. Tsokos GC. Lymphocytes, cytokines, inflammation and immune trafficking. *Curr Opinion in Rheumatology* 1995;7:376-83.

27. Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. Immunopathogenesis and the card game analogy. *J Rheumatol* 1997;24:supp 48:62-66.
28. Hahn BH: Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. In Kelley's *Textbook of Rheumatology*, sixth edition. Edited by Ruddy S, Haris, JR ED, Sledge CB; 2001:1089-1103.
29. Oksel F. Sistemik lupus eritematoz. *Klinik Romatoloji*. Editör Gümüşiş G, Doğanavşargil E. 1999. p.287-302.
30. Tan EM, Schur PH, Carr RI, Kunkel HG. Deoxybonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invesr* 1966;45:1732-40.
31. Burlingame RW, Rubin RL. Subnucleosome structures as substrates in enzyme-linked immunosorbent assays. *J Immunol Methods* 1990;134:187-99.
32. Amouro Z, Chabre H, Koutouzov S, Lotton C, Cabrespines A, Bach J-F, et al. Nucleosome-restricted antibodies are detected before anti-dsDNA abd/or antihistone antibodies in serum of MRL-Mp lpr/lpr and +/+ mice, anda re present in kidney eluates of lupus mice with proteinuria. *Arthritis Rheum* 1994;37:1684-8.
33. Hardin JA. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1986;29:457-60.
34. Rudi Licht, Mieke C.J. van Bruggen, Birgitte Oppers-Walgreen, Truus P. M. Rijke, and Jo H.M. Berden. Plasma levels of Nucleosomes and Nucleosome-Autoantibody Complexes in Murine Lupus. Effects of disease progression and lipopolysaccharide administration. *Arthritis Rheum*2001;44:1320-1330.
35. Elmen W, Niebur J, Kadera R. Accelerated programmed cell death of MRL-lpr/lpr T lymphocytes. *J Immunol* 1992;149:2513-7.
36. Lorenz H-M, Grünke M, Hieronymus T, Herrmann M, Kühnel A, Manger B, et al. In vitro apoptosis and expression of apoptosis-related moluculos in lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. *Arthritis Rheum* 1997;40:306-17.
37. Courtney PA, Crockard AD, Williamson K, Irvine AE, Kennedy RJ, Bell AL. Increased apoptoticpripheral blood neutrophils in systemic lupus erythematosus: relations with disease activity, antibodies to double stranded DNA, and neutropenia. *Ann Rheum Dis* 1999;58:309-314.
38. Yi Ren, Jinling Tang, Mok MY, Albert WK Chan, Adrian Wu, Lau CS. Increased apoptotic neutrophils and macrophages and impaired macrophage phagocytic clerance of apoptotic neutrophils in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2003;48:2888-2897.

39. Brandt L. Impaired phagocytosis in lupus. *Scand J Hemat* 1969.
40. Svensson BO. Serum factors causing impaired macrophage function systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol* 1975;4(2):145-50.
41. Herrmann M, Voll RE, Zoller OM, Hagenhofer M, Ponner BB, Kalden JR. Impaired phagocytosis of apoptotic cell material by monocyte-derived macrophages from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1998;41:1241-50.
42. Manfredi AA, Rovere P, Galati G, Heltai S, Bozzolo E, Soldini et al. Apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus. I Opsonization by antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum* 1998;41:205-14.
43. Manfredi AA, Rovere P, Heltai S, Galati G, Nebbia G, Tincani, et al. Apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus. II Role of β 2-glycoprotein I. *Arthritis Rheum* 1998;41:215-23.
44. Deapen D, Escalante A, Weinrib L, et al: A revised estimate of twin concordance in SLE. *Arthritis Rheum* 1992;35:311.
45. Lawrence JS, Martins CL, Drake GL. A family survey of lupus erythematosus. Heritability. *J Rheumatol* 1987;14:913.
46. Natali PG, Tan EM. Experimental skin lesions in mice resembling SLE. *Arthritis Rheum* 1973;16:579.
47. Lahita RG, Bradlow HL, Ginzler E, Pang S, New M. Low plasma androgens in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1987; 30:241-8.
48. Lahita RG, Bradlow HL, Fishman J, Kunkel HG. Estrogen metabolism in systemic lupus erythematosus: patients and family members. *Arthritis Rheum* 1982;25:843-6.
49. Jara LJ, Lavalle C, Espinoza LR. Does prolactin have a role in the pathogenesis systemic lupus erythematosus? *J Rheumatol* 1992;19:1333-6.
50. Van Vollenhoven RF, Engleman EG, McGuire JL. Dehydroepiandrosterone in systemic lupus erythematosus: results of a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Arthritis Rheum* 1995;38:1826-31.
51. Petri MA, Lahita RG, Van Voolehoven RF, Merrill JT, et al. Effects of Prasterone on corticosteroid requirements of women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002;46:1820-1829.
52. Cooper SG, Dooley MA, Treadwell EL, St.Clair EW, Gilkeson GS. Hormonal and reproductive risk factors for development of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002;1830-1839.

53. Harley JB, James JA. Epstein-Barr virus infection may be an environmental risk factor for systemic lupus erythematosus in children and teenagers (letter). *Arthritis Rheum* 1999;42:1782.
54. Sundsfjord A, Osei A, Rosengvist H et al. BK and JC viruses in patients with systemic lupus erythematosus: Prevalent and persistent BK viremia, sequence stability of the viral regulatory regions, and nondetectable viremia. *J Infect Dis* 1999;180:1.
55. Winchester RJ. Systemic lupus erythematosus: Pathogenesis, Arthritis and Allied Conditions (ed: Koopman WJ). Williams and Wilkins, Pennsylvania, 1997:1361-1391.
56. Werth VP, Dutz JP, Sontheimer RD. Pathogenetic mechanisms and treatment of cutaneous lupus erythematosus (review). *Curr Opin Rheumatol* 1997;9:400.
57. Edworthy SM, Zatarain E, McShane DJ, Bloch DA. Analysis of the 1982 ARA lupus criteria data set by recursive partitioning methodology: New insights into the relative merit of individual criteria. *J Rheumatol* 1988;15:1493.
58. Polerman MCA, Huizinga TWJ, Le Cessie, et al. UVA-1 cold light treatment of SLE: a double blind, placebo controlled crossover trial. *Ann Rheum Dis* 2001;60:112-115.
59. Crofford LJ, Oates JC, McCune WJ, et al. Thrombosis in patients with connective tissue disease treated specific cyclooxygenase 2 inhibitors. *Arthritis Rheum* 2000;43:1891-1896.
60. Levy RA, Vilela VS, Cataldo MJ, et al. Hydroxychloroquine in lupus pregnancy: double-blind and placebo-controlled study. *Lupus* 2001;10:401-404.
61. Borba EF, Bonfa E. Longterm beneficial effect of chloroquine diphosphate on lipoprotein profile in lupus patients with and without steroid therapy. *J Rheumatol* 2001;28:780-785.
62. Ordi-Ros J, Cortes F, Cucurull E, et al. Thalidomide in the treatment of cutaneous lupus refractory to conventional therapy. *J Rheumatol* 2000;27:1429-1433.
63. Kyriakis KP, Kontochristopoulos GJ, Pantelos DN. Experience with low-dose thalidomide therapy in chronic discoid lupus erythematosus. *Int J Dermatol* 2000;39:218-222.
64. Deh-Ming Chang, Joung-Liang Lan, Hsiao-Yi Lin, Shue-Fen Luo. Dehydroepiandrosterone treatment of women with mild-to-moderate systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002;46:2924-2927.
65. Carneiro JR, Sato EL. Double blind, randomized, placebo controlled clinical trial of methotrexate in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1999;26:1275-1279.
66. Remer CF, Weisman MH, Wallace DJ. Benefits of leflunomide in systemic lupus erythematosus: a pilot observational study. *Lupus* 2001;10:480-483.

67. Pollak VE, Pirani CL, Kark LM. Effect of large doses of prednisone on the renal lesions and life span of patients with lupus glomerulonephritis. *J Lab Clin Med* 1961;57:495.
68. Pollak VE, Dosekun AK. Evaluation of treatment in lupus nephritis: Effects of prednisone. *Am J Kidney Dis* 2 (suppl 2) 1982;170.
69. Austin HA III, Klippel JH, Balaw JE, et al. Therapy of lupus nephritis: controlled trial of prednisone and cytotoxic drugs. *N Eng J Med* 1986;314:614-19.
70. Gourley MF, Austin HA 3rd, Scott D, et al. Methylprednisolone and cyclophosphamide, alone or in combination, in patients with lupus nephritis. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1996;125:549-57.
71. Steinberg AD, Steinberg SC. Long-term preservation of renal function in patients with lupus nephritis receiving treatment that includes cyclophosphamide versus those treated with prednisone only. *Arthritis Rheum* 1991;34:945-50.
72. Boumpas DT, Austin HA, Vaughn EM, et al. Controlled trial of pulse methylprednisolone versus two regimens of pulse CYC in severe lupus nephritis. *Lancet* 1992;340:741-5.
73. Petri M, Jones RJ, Brodsky RA. High-dose Cyclophosphamide without stem cell transplantation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2003;48:166-173.
74. Houssiau FA, Vascoocelas C, D'Cruz D, Sebastiani GD, et al. Immunosuppressive therapy in lupus nephritis. The Euro-lupus Nephritis Trial, a randomized trial of low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide. *Arthritis Rheum* 2002;46:2121-31.
75. Mok CC, Ho CTK, Chan KW, Lau CS, et al. Outcome and prognostic indicators of diffuse proliferative lupus glomerulonephritis treated with sequential oral cyclophosphamide and azathioprine. *Arthritis Rheum* 2002;46:1003-1013.
76. Mok CC, Ying KY, Tang CW, et al. Role of azathioprine in the prevention of renal relapses after successful cyclophosphamide induction of diffuse proliferative lupus glomerulonephritis (abstract). *Arthritis Rheum* 2002;46(suppl):S289.
77. Chan TM, Li FK, Tong CS, Wong RWS, et al. Efficacy of mycophenolate mofetil in patients with diffuse proliferative lupus nephritis. Hong Kong Guangzhou Nephrology Study Group. *N Eng J Med* 2000;343:1156-62.
78. Chan TM, Wong EWS, Lau CS, Tsang EW, et al. Prolonged follow-up of patients with diffuse proliferative lupus nephritis treated with prednisolone and mycophenolate mofetil (abstract). *J Am Soc Nephrol* 2001;12:A1010.
79. Hallegua D, Wallace DJ, Metzger AL, et al. Cyclosporine for lupus membranous nephritis: experience with ten patients and review of the literature. *Lupus* 2000;9:241-251.

80. Austin HA, Vaughan EM, Balow JE. Lupus membranous nephropath: randomized, controlled trial of prednisone, cyclosporine and cyclophosphamide. *J Am Soc Nephrol* 2000;11(9. suppl):81A.

81. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF et al. The 1992 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982;25:1271-7.

82. Hylkema MN, Huygen H, Kramers C, van der Wal TJ, et al. Clinical evaluation of a modified ELISA using photobiotinylated DNA, for the detection of anti-DNA antibodies. *J Immunol Methods* 1994;170:93-102.

83. Rekvig OP, Nossent JC. Anti-double-stranded DNA antibodies, nucleosomes, and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2003;48:300-312.

84. Nossent JS, Husyen V, Smeenk RJ, Swaak AJ. Low avidity antibodies to dsDNA as a diagnostic tool. *Ann Rheum Dis* 1989;48:748-52.

85. Smeenk RJ, van den Brink HG, Brinkman K, Termaat RM, Berden JH, Swak AJ. Anti-dsDNA: choice of assay in relation to clinical value. *Rheumatol Int* 1991;11:101-7.

86. Benucci M, Gobbi FL, Del Rosso A, Cesaretti S, Niccoli L, Cantini F. Disease activity and antinucleosome antibodies in systemic lupus erythematosus (abstract). *Scan J Rheumatol* 2003;32:42-5.

87. Kiss E, Lakos G, Nemeth J, Sipka S, Szegedi G. Significance of anti-nucleosome (antichromatine) auto-antibodies in systemic lupus erythematosus (abstract) (article in Hungarian). *Orv Hetil* 2001;142:1731-6.

88. Horak P, Scudla V, Hermanov Z, Pospisil Z, et al. Clinical utility of selected disease markers in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2001;20:337-44.

89. Ravirajan CT, Rowse L, MacGowan JR, Isenberg DA. An analysis of clinical disease activity and nephritis-associated serum antibody profiles in patients with systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study. *Rheumatology (Oxford)* 2001;40:1404-12.

90. Bruns A, Blass S, Hausdorf G, Burmester GR, Hiepe F. Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000;43:2307-15.

91. Burlingame RW, Boey ML, Starkebaum G, Rubin RL. The central role of chromatin in autoimmune responses to histones and DNA in systemic lupus erythematosus. *L Clin Invest* 1994;94:184-92.

92. Burlingame RW, Cervera R. The clinical utility and of anti-chromatin (antinucleosome) antibodies. From <http://rheuma21st.com>.

93. Tan EM, Schur RL, Carr RI, Kunkel HG. Deoxyribonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1966;45:1732-40.

94. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH, and the Committee on prognosis studies in SLE: Derivation of the SLEDAI: a disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum* 1992;35:630-640.

95. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-24.

96. Conteras G, Pardo V, Leclercq B et al. Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. *N Engl J Med* 2004;350:971-980.

97. Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Sebastiani GD, de Ramon Garrido E, Danieli MG, et al. Immunosuppressive therapy in lupus nephritis: the Euro-Lupus Nephritis Trial, a randomized trial of low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide. *Arthritis Rheum* 2002;46:2121-31.

98. Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Sebastiani GD, de Roman Garrido, Danieli MG, et al. Early response to immunosuppressive therapy predicts good renal outcome in lupus nephritis: Lessons from long-term followup of patients in the Euro-Lupus Nephritis Trial. *Arthritis Rheum* 2004;50:3934-3940.