

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

**SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOZUSTA SERUMDA
SOLUBL FAS, SOLUBL FASL DÜZEYLERİ VE FAS,
FASL GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Cemile KARADENİZ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Eren ERKEN

ADANA-2008

TEŞEKKÜR

Prensipieri olan, erdemli, yardımsever ve kendini mesleğine adayan, çalışmamın her aşamasında desteklerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Eren ERKEN' e,

Tıp Fakültesini bitirdikten sonra Dahiliye uzmanlığını tercih etmeme neden olan ve Tıp sanatını bizlere özveri ile aktaran başta Dahiliye ABD başkanı Prof. Dr. Hikmet AKKIZ olmak üzere tüm Dahiliye ABD' nin değerli Öğretim Üyelerine,

Laboratuvar çalışmalarında bana her türlü desteği veren Biyolog Suzan DİNKÇİ'ye ve Ramazan GÜNEŞAÇAR' a, Romatoloji-İmmünoloji Çalışanlarına,

Kardeşçe pek çok şeyi paylaştığım Asistan Arkadaşlarıma,

Hayatımın her aşamasında beni destekleyen, bana olan inançlarını kaybetmeyen ve her türlü fedakarlıkları gösteren Aileme

Teşekkür ederim.

Cemile KARADENİZ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
KISALTMA LİSTESİ	VI
ÖZET VE ANAHTAR SÖZCÜKLER	VII
ABSTRACT- KEYWORDS	VIII
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1 Sistemik Lupus Eritematozis	2
2.1.1 Tarihçe	2
2.1.2 Epidemiyoloji	3
2.1.3 Etyoloji ve patofizyoloji	4
2.1.4 Klinik Bulgular	5
2.1.5 Sınıflama Kriterleri	12
2.1.6 Aktivasyon İndeksleri	13
2.1.7 Laboratuvar	16
2.1.8 Ayırıcı Tanı	17
2.1.9 Tedavi	18
2.1.10 Prognoz	22
2.2 Apoptozis	22
2.3 Fas ve FasL	27
2.3.1 Tek Nükleotid Polimorfizmleri ve Klinik Önemleri	29
2.3.2 Fas, FasL Polimorfizmleri	30
2.4 Apoptozis ve SLE	31
2.4.1 Apoptozis ve Hayvan modelleri	31
2.4.2 Apoptozis ve İnsan Modelleri	33
2.4.3 Apoptotik hücrelerin fagositozu	35
3. GEREÇ ve YÖNTEM	38
3.1 Serum Fas ve FasL Düzeylerinin Ölçümü	39
3.1.1 Serum Fas Düzeyinin Ölçümü	39
3.1.1.1 Serum Fas Düzeyi için Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması	39
3.1.1.2 Deneyin Yapılışı	39
3.1.2 Serum FasL Düzeyinin Ölçümü	40
3.1.2.1 Serum FasL Düzeyi için Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması	40
3.1.2.2 Deneyin Yapılışı	40
3.2 Fas-670A/G ve FasL-844T/C Polimorfizmlerinin Belirlenmesi	41
3.2.1 Polimorfizmlerin PCR-RFLP Tekniği ile Saptanması	42
3.2.2 Amplifikasyon Ürünlerinin Kesilmesi	44
3.3 İstatistiksel Analizler	45

4. BULGULAR	46
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	70

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo-1: SLE ‘ de görülen nöropsikiyatrik sendromlar	9
Tablo-2: SLE sınıflama kriterleri	14
Tablo-3: SLEDAİ	15
Tablo-4: SLE ayırıcı tanısında yer alan hastalıklar	18
Tablo-5: Apoptozis ve Genler	25
Tablo-6: Optimum amplifikasyonun gerçekleştirildiği PCR reaksiyonu karışımı	43
Tablo-7: Fas-670A/G ve FasL-844T/C polimorfizmleri için PCR sıcaklıkları	43
Tablo-8: Fas-670A/G ve FasL-844T/C tek nükleotid polimorfizmlerinin kesim reaksiyonu	44
Tablo-9: Grupların demografik özellikleri	46
Tablo-10: SLE’ li hastalarda klinik özelliklerin varlığı	48
Tablo-11: SLEDAİ değerleri	48
Tablo-12: Fas ve FasL düzeyleri	49
Tablo-13: Fas-670A/G polimorfizmi için kıkare testi	50
Tablo-14: Hasta ve kontrol gruplarında Fas-670A/G polimorfizminin çapraz tablosu	51
Tablo-15: Her iki grupta A allellerinin dağılımı (p=0,062)	52
Tablo-16: FasL-844T/C polimorfizmi için kıkare testi	53
Tablo-17: Hasta ve kontrol gruplarında FasL-844T/C polimorfizminin çapraz tablosu	54
Tablo-18: FasL ve SLE’li hastalardaki hematolojik tutulumun ilişkisi	55
Tablo-19: Her iki grupta C allellerinin dağılımı (p=0,066)	56
Tablo-20: Fas düzeyi ve SLEDAİ arasındaki ilişki	57
Tablo-21: FasL düzeyi ve SLEDAİ arasındaki ilişki	57

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil-1: Apoptozis	23
Şekil-2: Apoptotik mekanizmalar	24
Şekil-3: FasL genlerinin bulunduğu kromozom	28
Şekil-4: Makrofajda apoptotik hücrelerin fagositozu	37
Şekil-5: Grupların yaş dağılımı	47
Şekil-6: Fas düzeyinin gruplardaki grafiksel görünümü	49
Şekil-7: FasL düzeyinin gruplardaki grafiksel görünümü	50
Şekil-8: Fas-670A/G polimorfizminin genotiplere göre gruplarda dağılımı	52
Şekil-9: FasL-844T/C polimorfizminin genotiplere göre gruplarda dağılımı	55
Şekil-10: FasL ve SLE' li hastalardaki hematolojik tutulumun ilişkisi	56

KISALTMA LİSTESİ

A: Adenin nükleotidi
ACR: *American Collage of Rheumatology*
AFA: Antifosfolipit antikorlar
ALPS: Otoimmün lenfoproliferatif sendrom
ANA: Antinükleer antikor
ANCA: Antinötrofilik sitoplazmik antikorlar
AntidsDNA: Çift sarmallı DNA antikoru
Apaf : Apoptotik proteaz aktive edici faktör
C: Kompleman (C3, C4, C1q)
C: Sitozin nükleotidi
Fas: *Fascicled ear, fibroblast associated*
FasL: Fas ligand
G: Guanin nükleotidi
Gld: Yaygın lenfoproliferatif hastalık (generalized-lymphoproliferative-disease)
HLA: *Human leukocyte antigen*
Lpr: Lenfoproliferasyon (*lymphoproliferation*)
MHC: Major histokompatibilite kompleksi
NPSLE: Nöropsikiyatrik lupus
NSAİİ: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar
PARP: PoliADP riboz polimeraz
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP: *Restriction fragment length polymorphism*
RNP: Ribonükleoproteinler
SAP: Serum amiloid protein
SLE: Sistemik lupus eritematozus
SLEDAİ: SLE disease activity index
SLICC: *Systemic lupus erythematosus international collaborating clinics*
SNP: Tek nükleotid polimorfizmleri
T: Timin nükleotidi
TILs: Tümör infiltrat lenfosit
TNF: Tümör nekroz faktör
VDRL: Yalancı pozitif sifiliz testi
WHO: Dünya sağlık örgütü

ÖZET

Sistemik Lupus Eritematozusta serumda solubl Fas, solubl FasL düzeyleri ve Fas, FasL gen polimorfizmlerinin araştırılması

Amaç: Sistemik Lupus Eritematozus hastalarında sFas, sFasL düzeylerinin hastalığın klinik bulguları ile olan ilişkisini incelemek ve Fas-670A/G, FasL-844T/C tek nükleotid polimorfizmlerinin sıklığı ve bu polimorfizmlerin hastalığın aktivasyonu ve klinik bulguları ile olan ilişkisini araştırmak.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya Sistemik Lupus Eritematozus tanısı alan 67 hasta (56/11, K/E) ve 30 sağlıklı kontrol grubu (17/13, K/E) alındı. Hastaların yaş ortalaması (33,5±10,8) ve sağlıklı kontrol grubunun 33,4±7,2 idi. sFas ve sFasL düzeylerine ELİSA yöntemi ile bakıldı. Fas-670A/G ve FasL-844T/C polimorfizmlerinin belirlenmesinde PCR-RFLP tekniği uygulandı. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında sFas, sFasL düzeyleri ve polimorfik genlerin ilişkisine bakıldı. Hasta grubu içinde bu değerlerin hastalığın klinik ve laboratuvar verileri ile olan ilişkisi araştırıldı. Sonuçların değerlendirilmesi için veriler SPSS 16 paket programına aktarıldı.

Bulgular: Sistemik Lupus Eritematozus' lu hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında sFas, sFasL düzeyleri ve polimorfik genlerin sıklığı karşılaştırıldığında, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edildi. sFas, sFasL düzeyleri ile hastalığın klinik bulguları kıyaslandığında hematolojik tutulumu olan Sistemik Lupus Eritematozus' lu hastalarda sFasL düzeyinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi (p=0,007). Fas-670A/G ve FasL-844T/C polimorfizmleri ile hastalığın aktivasyonu yada klinik bulguları ile ilişkisinin olmadığı gözlemlendi.

Sonuç: Sistemik Lupus Eritematozus hastalarında sFas düzeyleri ile Fas-670A/G ve FasL-844T/C polimorfizmlerinin hastalık patogeneze katkısı gösterilememiştir. sFasL düzeyi ile hastalığın hematolojik tutulumu arasında saptadığımız ilişkinin daha geniş vaka-kontrol gruplarında araştırılması uygun olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Fas-670A/G ve FasL-844T/C polimorfizmleri, serum solubl Fas ve FasL, Sistemik Lupus Eritematozus.

ABSTRACT

Analysis of serum levels and gene polymorphisms of soluble Fas and soluble FasL in Systemic Lupus Erythematosus

Objective: The aim of this study is investigating the relationship of sFas and sFasL levels with clinical findings and determining the frequency of Fas-670A/G and FasL-844T/C single nucleotide polymorphisms together with the relevance of these polymorphisms with disease activity and clinical signs in patients with systemic lupus erythematosus.

Material and Method: Sixtyseven (67) patients (56/11, F/M) taken with the diagnosis of systemic lupus erythematosus and 30 healthy controls were included into the study. Mean age of the patients 33.5 ± 10.8 and the healthy controls $33,4 \pm 7,2$ respectively. sFas and sFasL levels were studied with ELISA method. PCR-RFLP technique was applied to detect the Fas-670A/G ve FasL-844T/C polymorphisms. sFas and sFasL levels and gene polymorphisms were studied in both Systemic Lupus Erythematosus patients and healthy controls. Corelation of these levels with clinical and laboratory findings was investigated in patient group. Data was enrolled into SPSS 16 packet program for statistictical analysis.

Results: For sFas and sFasL levels and frequencies of gene polymorphisms, statistically significant difference was not detected between Systemic Lupus Erythematosus patients and healthy controls. In comparison of sFas and sFasL levels with disease activity, sFasL level was shown to be higher in patients with hematological involvement of the Systemic Lupus Erythematosus and this increase was found to be statistically significant ($p: 0.007$). It was observed that Fas-670A/G and FasL-844T/C gene polymorphisms do not have any correlation with disease activity or clinical findings.

Conclusion: In conclusion, the effects of sFas and sFasL levels and Fas-670A/G and FasL-844T/C gene polymorphisms on disease pathogenesis could not be demonstrated in Systemic Lupus Erythematosus patients. Correlation of sFas levels with hematological involvement of the disease need to be further evaluated with extended case control studies.

Key words: Fas-670A/G and FasL-844T/C polymorphism, serum soluble Fas and FasL levels, Systemic Lupus Erythematosus.

1. GİRİŞ

Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) etyolojisi halen bilinmeyen, patojenik otoantikorların ve immün komplekslerin birçok organda doku hasarına yol açtığı sistemik, kronik, otoimmün, inflamatuvar bir hastalıktır.

SLE'nin etyolojisinde genetik, hormonal, immün ve çevresel faktörler sorumludur. Serumda birçok otoantikor pozitifliği ile karakterizedir. SLE hastalarında periferik kan mononükleer hücrelerinde apoptozisin hızlandığına dair veriler olup hastalık seyrinde görülen lenfopeni patogenezinde artmış apoptozisin etkili olduğuna inanılmaktadır.

Apoptozis programlanmış hücre ölümü yada intiharı olarak bilinir. Apoptotik yollarda yer alan çeşitli moleküllerin, özellikle *Fas* veya *fibroblast associated* (Fas) ve Fas' ın çapraz bağlantılı formu (Fas ligand, FasL) sinyali defektlerinin otoimmün hastalıklardaki önemi son zamanlardaki ilgi konusudur. Yapılan deneysel çalışmalarda farelerde Fas ligandının defektif ekspresyonunun sistemik otoimmüniteye ve lenfoproliferasyona neden olduğu gösterilmiştir. Fas veya Fas-ligandı olmayan farelerde otoreaktif T lenfosit apoptozisi gerçekleşmemekte ve Sistemik Lupus benzeri bir tablo ortaya çıkmaktadır. Fas, tümör nekroz faktör (TNF) reseptör ailesinin bir üyesidir. Fas, lenfoid hücrelerde, hepatositlerde, bazı kanser hücrelerinde ve akciğerde bulunur. FasL'nin reseptörü olan Fas, APO-1 veya CD-95 adıyla da bilinen bir tip-1 membran proteinidir. Polimorfizmler insan genetik araştırmalarında anahtar bir fonksiyon üstlenmiştir. Birçok çalışmada Fas ve FasL tek nükleotid polimorfizmleri incelenmiştir.

Çalışmamızda, ölüm reseptörleri yolağında yer alan solubl Fas ve solubl FasL serum düzeylerini; Fas-670A/G ve FasL-844T/C polimorfizmlerini normal sağlıklı popülasyonda ve SLE' li hastalarda araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sistemik Lupus Eritematozus

Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) hücre nükleus elemanlarına karşı antikor yapımı ile karakterize, çeşitli organların kapillerlerinde immün komplekslerin ve patojen otoantikorların çökmesiyle ortaya çıkan ve bunlara bağlı belirtilerle seyreden, nedeni henüz tam olarak anlaşılamamış otoimmün, kronik, inflamatuvar, multisistemik bir hastalıktır.^{1,2} Çok hafif formlarından, major organ tutulumu ile seyreden, önemli morbidite ve mortaliteye neden olabilen sistemik tutulumuna kadar giden geniş bir klinik spektrumu vardır. Alevlenme ve remisyon dönemleri ile seyreder.^{1,3}

2.1.1 Tarihçe

İlk defa M.Ö. 400 yılında Hipokrat tarafından SLE ile ilişkili olabilecek kırmızı deri lezyonlarından söz edilmiş. M.S. 1200 yılında SLE' nin ilk tanımı yüzde kırmızı ülserasyon şeklinde olmuştur ve bu lezyona lupus=wolf yani kurt adı verilmiştir. 1800 yılında İngiliz Dermatolojist Dr. Willan cilt hastalıklarının sınıflamasına lupus' u dahil etmiştir. Lupus' u tedavisi olmayan, yıkıcı bir hastalık olarak tanımlamıştır. 1875 yılında Viyanalı doktor Kaposi, lupus eritematozusun ciltteki raşlar kadar tehlikeli yapısal semptomlara yol açtığını belirtmiştir. Dr.Kaposi SLE' nin ilk tanımını yapan kişi olarak kabul edilmiştir. Ayrıca SLE' li hastaların yüzündeki kelebek raşı ilk açıklayan kişidir. 1885-1903 yılları arasında Sir William Osler SLE' nin cilt tutulumu olmaksızın kalp, akciğer, eklem, beyin, böbrek ve mide ile ilgili semptomlara yol açtığını vurgulamıştır. 1920' li ve 1930' lu yıllarda New York Mt. Sinai Hastanesinde çalışan Patologlar tarafından SLE' nin kalp tutulumu için patognomonik olan Libman –

Sacks endokarditi tanımlanmış. Dr Klemperer tarafından ilk defa kollajen doku hastalığı terimi kullanılmıştır. 1922 yılında SLE'li hastaların % 30' unda yalancı Sifiliz testi (VDRL) pozitif bulunmuş. 1948 yılında Mayo Klinikten Dr. Hargraves SLE teşhisi için temel olan hızlı bir yöntem geliştirmiştir. Diğer hücrelerin nükleuslarını fagosit eden beyaz kan hücrelerinde LE fenomenini bulmuştur. LE hücresinin keşfi SLE' nin otoimmün hastalık olabileceğinin ilk göstergesidir. 1950' li yıllarda hücrelerin nükleuslarına karşı oluşan antikörleri bulmak için, floresan testler geliştirilmiştir. SLE' li hastaların % 95' inde Anti-nükleer antikör (ANA) testi pozitifliğinden söz edilmiştir. Kortikosteroidler ilk kez SLE' nin semptomlarını kontrol etmek için kullanılmıştır. 1959 yılında Otago Medical okulunda beyaz ve kahverengi farelerin hibridlerinde lupus nefritine benzer öldürücü böbrek hastalığının geliştiği keşfedilmiştir. 1960' lı yıllarda SLE' nin teşhisi kolaylaşmış ve ilaçlar bilinçli kullanılmıştır. 1970' li yıllarda Amerika' da, dünyada SLE' li hastalar ve ailelerine destek veren Lupus Vakfı kurulmuştur. 1982 yılında *American Collage of Rheumatology* (ACR) tarafından SLE sınıflama kriterleri tanımlanmış ve 1997 yılında güncelleştirilmiştir. 2004 yılında 10 Mayıs Dünya Lupus Günü olarak kabul görmüştür.⁴

2.1.2 Epidemiyoloji

SLE her yaşta ve her iki cinsten de görülebilmesine rağmen 20-40 yaşları arasında ve kadınlarda daha sıktır.⁵ SLE özellikle doğurganlık çağındaki kadınların hastalığıdır. Tanı konduğunda ortalama yaş 30' dur. Kadın erkek oranı bu yaşlarda 9:1' dir.^{6,7} Çocuklarda ve ileri yaşlarda kadın erkek oranı 3:1' dir.^{1,7} Prevalans 100 000 kişide 4-250 arasında değişmektedir. İnsidans ise 100.000 kişide 15-50 arasında olduğu bildirilmektedir.^{1,7,8}

Hastalığın daha iyi tanınması ve laboratuvar olanaklarının gelişmesiyle sıklığı giderek artmaktadır. SLE İngiltere' de daha seyrek, Güney Asya ve Çin' de daha sıktır. Amerika' da Kızılderililerde, Asya' lı göçmenlerde, zencilerde beyazlardan daha sıktır. SLE' nin şehirlerde, kırsal kesimlerden daha sık olarak görülmesi, hastalık sıklığında sosyo-ekonomik koşulların da etkili olduğunu düşündürmektedir.⁸

2.1.3 Etyoloji ve Patofizyoloji

SLE' nin etyolojisinde çevresel, hormonal, immünolojik ve genetik faktörler sorumlu tutulmakla birlikte, hastalık nedeni bugün kesin olarak bilinmemektedir. Bunlardan belirleyici olanı, genetik faktörlerdir. Genetik duyarlılık için deliller: monozigot ikizlerde konkordansın (% 24- 58), dizigot ikizlere göre yüksek olması (% 0- 6), aile bireylerinde hastalığın daha sık (% 10-15) görülmesi ve özellikle major histokompatibilite kompleks (MHC) klas II, III genleri gibi bazı genlerle, hastalık ve antikor korelasyonunun bulunması şeklinde sıralanabilir.^{8,10} SLE etyolojisindeki diğer faktörler şunlardır:

a- Çevresel Faktörler: Güneş ışığına maruz kalma, sülfam antibiyotikleri gibi bazı ilaçlar, psikolojik stres veya fiziksel travma, bazı besinler ve enfeksiyonlar bu faktörler arasında yer alır.⁹

Enfeksiyonların, SLE' yi tetiklediği ve klinik tabloyu alevlendirdiği bilinmektedir, ancak SLE' ye yol açan özgün bir enfeksiyon ajanı tespit edilememiştir.⁹ EBV, HTLV-1 ve HIV virüslerinin SLE' ye neden olabileceği söylenmiştir.⁸

SLE' de ultraviyole (UV) ışınlarının, deri lezyonlarını aktive ettiği bilinmektedir. Etki mekanizmasının, DNA' nın antijenik yapısını değiştirmek veya dermal-epidermal yapıyı etkilemek olduğu düşünülmektedir. UV ışınları ile yoğun karşılaşma sonrası, keratinositlerde apoptozisin arttığı ve sitoplazmik antijenlerin hücre yüzeyine taşındıkları gösterilmiştir.⁹

b- Hormonal Faktörler: Özellikle SLE' de olmak üzere otoimmün hastalıklar kadınlarda erkeklerden daha sıktır.¹¹ Gebelikte veya doğum sonrası dönemde SLE' nin alevlenmesi hormonal faktörlerin önemli olduğunu düşündürür.

Östrojenler, B hücrelerinin antikor yapımını ve T hücrelerinin antijenik uyarıya yanıtlarını artırır. Androjenler ise immün yanıtı baskılayıcı ters role sahiptir.^{11,12} Örneğin genetik olarak Klinifelter Sendromlu erkeklerde hiperöstrojenemi SLE gelişimine önemli katkıda bulunmaktadır.^{13,14}

Prolaktin düzeyi, SLE' li bazı hastalarda artmıştır. Aktif SLE' li hastaların yaklaşık % 15' inde hiperprolaktinemi olduğu tahmin edilmektedir. Yapılan çalışmalar ve klinik gözlemler sonucu prolaktinin bu hastaların patogeneğinde önemli rol alabileceği ileri sürülmüştür ancak tam olarak aydınlatılamamıştır.¹⁷

c- Genetik ve İmmün Faktörler: Henüz SLE kalıtımından sorumlu bütün genler bulunamamıştır. SLE' nin çeşitli allellerin birlikteliğine dayanan karmaşık bir kalıtım modeli vardır.^{9,15,16} SLE kalıtımından sorumlu bütün genler tam olarak belli olmadığı gibi bilinen genlerin ağırlıklı rollerinin de ne olduğu bilinmemektedir. SLE' ye yatkınlık sağladıkları bilinen genler ; HLA-DR2, HLA-DR3 ve bu genlerin sık olarak birlikte bulunduğu alleller HLA-A3, HLA-B7, HLA-A1, HLA-B8, HLA-DQW2.01 sayılabilir. TNF, mannoz bağlayan protein, kompleman reseptörleri, interlökinler, T-cell reseptör genleri (Fcγ reseptörleri (FcγR) IIA) gibi HLA dışı genler de SLE kalıtımında rol oynar.^{9,15}

SLE, patojen otoantikorların ve immün komplekslerin neden olduğu doku harabiyeti sonucu gelişir. T ve B lenfositlerin poliklonal hiperaktivitesi, bu aktivitenin yetersiz kontrolü anormal immün yanıtı açar. SLE' li hastaların serumlarında hücre yüzeyi, intrastoplazmik veya çift sarmallı DNA, histon, kromatin komponentleri gibi solubl nükleer antijenler, nükleer ribonükleoproteinler (RNP) gibi otoantijenlere karşı otoantikorlar bulunur. SLE' de immün sistemin yetersiz regulasyonu karakteristik bir bulgudur. Genetik olarak duyarlı olan bir kişide apoptozisin, antijen sağlanmasını kolaylaştırarak otoimmüniteye neden olması söz konusudur. SLE' de apoptozis artmıştır ve muhtemelen stres varlığında , apoptotik hücrelerin temizlenmesinde kısmi yetersizlik veya temizlenme işlemi sırasındaki mekanizmalarda patoloji söz konusudur. Homozigot veya fonksiyonel C1q eksikliği buna katkıda bulunabilir.^{8,16}

Bugün için bilinenlerle SLE, genetik yatkınlığa sahip kişilerde, uygun çevresel koşulların bir araya gelmesi ile ortaya çıkan patojenik otoantikor ve immün kompleks hastalığıdır.¹⁶

2.1.4 Klinik Bulgular

SLE' de klinik bulgular oldukça heterojendir.

Konstitüsyonel Semptomlar: Halsizlik, yorgunluk, ateş, kilo kaybı gibi nonspesifik semptomlar hastaların öncü semptomlarıdır ve genellikle aktif sistemik hastalığa eşlik ederler.

Kas İskelet Sistemi Bulguları: SLE'de en çok tutulan sistemdir. Genellikle iki taraflı, simetrik ve sabah tutukluğunun eşlik ettiği artrit vardır.⁹ Artrit, genellikle

poliartiküler, simetrik, gezici karakterde ve non erozivdir.⁹ En sık el küçük eklemleri, el bilekleri ve dizler tutulur.¹⁸ Eklem dışı nedenlere bağlı olarak ellerde kuğu boynu ve ulnar deviasyon gibi deformiteler gelişebilir. Bir yada iki eklem tutulumunda avasküler nekroz veya septik artrit düşünülmelidir. SLE’ de seyrek olarak cilt altı nodülü, karpal tünel sendromu ve baker kisti gelişebilir.⁹

Hafif şiddette miyozit, miyalji bazı hastalarda bulunabilir. Kortikosteroid kullanımına bağlı proksimal kas güçsüzlüğü ve antimalaryal ilaçlara bağlı vaküolar myopati görülebilir.¹⁹ Fibromiyalji, SLE’ de sık gözlenen bir durumdur.⁹ Hastalık fibromiyalji ile karıştırılabilecek yaygın ağrılarla başlayabileceği gibi, % 20 kadar olguda SLE, ikinci bir patoloji olarak fibromiyalji ile birlikte olabilir.⁹

Cilt Bulguları: SLE fotosensitivite, malar raş, diskoid raş, raynaud fenomeni, akral siyanoz, periungual eritem, livedo retikularis ve alopesi gibi cilt bulguları yönünden zengin bir hastalıktır.¹⁸

SLE’ de en sık görülen lezyon, malar raştır. Malar raş, kelebek benzeri, malar bölgelerde simetrik, burun sırtına yayılan, nazolabial sulkusları açık bırakan eritemdir ve sınıflandırma kriterlerine de alınmıştır. Malar raş skar bırakmaz.¹⁹ Diffüz yada yamalı tarzda alopesi, aktif hastalığın tipik bulgularından birisidir.^{18,19}

Vasküler Lezyonlar: SLE’ li hastalarda vaskülitik deri lezyonları (purpura, tırnak dibi infarktları, ürtikeryal vaskülit, livedo retikularis) oluşabileceği gibi, poliarteritis nodoza tipinde vaskülit, mezenterik infarkt yada santral sinir sistemi gibi sistemik tutulumlar gözlenebilir. Vaskülit, SLE hastalarında önemli mortalite ve morbidite nedenidir.¹⁹

Pulmoner Bulgular: SLE’ de plevra ve akciğer tutulumu sıktır. En sık plörezi gözlenir. Plevral hastalık değişik serilerde % 30-60 arasında rapor edilmiştir.¹⁹ Plörezi, tek yada iki taraflı olabilir. Plevral sıvı, eksuda karakterindedir. Sıvıda, ANA (+) olabilir ve kompleman değerleri düşüktür. SLE’ de nefrotik sendroma veya konjestif kalp yetmezliğine bağlı transuda tarzında plevral sıvı gözlenebilir.¹⁷

Lupus pnömonisi, alveolar hemoraji, büzüşen akciğer sendromu, pulmoner emboli ve pulmoner hipertansiyon diğer pulmoner tutulum şekilleridir. Akut lupus pnömonisinde prognoz kötüdür ve mortalite % 50’ dir. Ateş, öksürük, hemoptizi, dispne ve radyolojik olarak interstisyel infiltrasyonlar ile karakterize tablodur. Klinik olarak pnömoniden ayırt edilmesi zordur.^{17,19}

Kardiyovasküler Bulgular: Perikardit en sık görülen kardiak tutulum şeklidir. Asemptomatik olabilir, nadiren tamponad veya konstrüktif perikardit görülebilir. Perikardiyal sıvı, SLE' nin pulmoner tutulumundaki plevral sıvıya benzer özellikler gösterir. Miyokardit, miyokardite bağlı aritmi, ileti defektleri, kapak lezyonları (en sık mitral kapak), endokardit, koroner arter tutulumları olabilir. Libman Sacks endokarditi, SLE için tipiktir, postmortem % 15-60 arasında bildirilmiştir.¹⁹

SLE'deki mortalite ve morbiditenin önemli nedenlerinden biriside ateroskleroza bağlı koroner arter hastalığıdır.^{19,20} Son yıllarda yapılan çalışmalarda 30' lu ve 40' lı, yaşlardaki SLE' li kadın hastalar, kendi yaş ve cinsiyetindeki kontrol gruplarına göre kıyaslandığında koroner arter hastalığı riskinin % 50 arttığı saptanmıştır.^{19,20} Aterosklerozun nedeni açık değildir. Steroid kullanımı, hiperlipidemi (steroid kullanımı), renal tutulum, hipertansiyonun yanısıra damarlarda biriken immün komplekslerin oluşturduğu inflamasyona bağlı olarak aterosklerozun gelişebileceği gösterilmiştir.²¹

Hematolojik Bulgular: Anemi, lökopeni, trombositopeni, lenfopeni, pıhtılaşma ve fibrinolitik sistem anormallikleri SLE' nin sık görülen bulgularındandır.

Anemi olguların % 80' inde saptanmaktadır. Anemi nedenleri; kronik hastalık, demir eksikliği anemisi, böbrek yetmezliği, otoimmün hemolitik anemi ve ilaçlara bağlı gelişen anemidir .

Lökopeni ve lenfopenide sık görülen bulgudur. Hastalığın kendisine veya kullanılan ilaçlara bağlı olabilir. Eğer hastalar immunsupresif tedavi veya steroid almıyorsa lenfopeni immünolojik aktiviteye bağlıdır.¹⁸ Lökositoz, enfeksiyonu veya steroid kullanımını yansıtır.⁹

Trombositopeni, sistemik hastalığın bir parçası veya izole bir bulgu olarak ortaya çıkabilir. Aktif hastalığa veya antifosfolipit sendromuna (AFA) bağlı trombositopenide, trombosit sayısı genellikle 50.000 mm^3 altına inmez.⁹ Bu düzeyin altındaki değerler anti-trombosit antikorların varlığını düşündürür. İdiopatik trombositopenik purpura (İTP) SLE' nin ilk bulgusu olabilir. Trombositopeni ile birlikte, tromboembolik olaylara bağlı sekel mevcutsa, genellikle antifosfolipid sendromu (AFA) düşünülmelidir.¹⁸ Fulminan trombotik trombositopenik purpura, nadiren gözlenir ancak yaşamı tehdit eden bir komplikasyondur.^{9,18}

SLE' li hastalarda faktör VIII, IX, XI, XII ve XIII gibi pıhtılaşma faktörlerine karşı antikorlar oluşabilir.²²

Splenomegali hastaların % 10-20' sinde ortaya çıkar.²² Dalakta soğan zarı şeklinde periarteriyal fibrozis, SLE için patognomonik bulgulardan biri olarak kabul edilmektedir. Lenfadenopati SLE'de sık gözlenir.¹⁹

Gastrointestinal Bulgular: Lupusta gastrointestinal semptomlara sık rastlanır. Anoreksi, bulantı, kusma, karın ağrısı hastaların yaklaşık % 50' sinde görülür. Bu semptomlar hastalığın kendisine, üremiye veya ilaçlara bağlı olabilir.⁹ Boğaz ağrısı ve oral ülserler sıktır. Disfaji, hastaların % 2-6' sında mevcuttur. Farenjit ve özafajit gözlenebilir.

Lupusun en korkulan gastrointestinal komplikasyonu; ateş, kusma ve kanlı ishal ile kendini gösteren mezenter vaskülit olup % 80 mortalite riski taşır.⁹ Hastaların % 8' ine kadar pankreatit görülebilir.^{19,22}

Hepatomegali ve asit sıklığı % 10 kadardır. Asit ağrısızdır ve transuda karakterindedir. SLE' deki inflamasyona bağlı olarak gelişir. Eksudatif nedenler ağırlıdır.⁹

Aktif hastalığı olan veya nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanan hastalarda karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluklar görülebilir.^{19,22}

Seyrek olarak SLE' de, kronik inflamatuvar barsak hastalıkları (ülseratif kolit), otoimmün hepatit ve AFA sendromuna sekonder Budd-Chiari sendromu görülebilir.^{19,22}

Nöropsikiyatrik Bulgular: Nöropsikiyatrik Lupus (NPSLE); santral, periferik ve otonomik sinir sistemini tutan nörolojik ve psikiyatrik sendromları içerir. Semptomlar SLE' nin ilk bulgusu olabileceği gibi hastalığın seyri esnasında herhangi bir zamanda da ortaya çıkabilir. SLE' de nöropsikiyatrik hastalıktan ölüm, % 7-40 arasında değişmektedir. Geçici nörolojik defisitlerden, kronik beyin hasarına kadar değişen klinik tablolar görülebilir. Bunlar tablo-1' de gösterilmiştir.¹⁹

SLE' de baş ağrısı sıktır. Tipik lupus baş ağrısı; nonspesifik, şiddetli, fonksiyonel durumu etkileyen, süreklilik gösteren ve narkotik analjeziklere yanıt vermeyen karakterdedir.¹⁹ Hastaların % 10-37' sinde migren gözlenir.²²

Tablo-1: SLE’ de görülen nöropsikiyatrik sendromlar

Santral Sinir Sistemi	Periferik Sinir Sistemi
Aseptik menenjit	Akut inflamatuvar demyelizan poliradikülopati
Serrovasküler olay	(Gullian Barre sendromu)
Demiyelinizasyon sendromu	Otonom nöropati
Baş ağrısı	Mononöropati
Hareket bozukluğu (Kore)	Myastenia gravis
Myelopati	Kranial nöropati
Epilepsi	Polinöropati
Akut konfüzyon durumu	
Anksiyete	
Kognitif disfonksiyon	
Duygu bozukluğu	
Psikoz	

Nöropsikiyatrik lupusun en agresif şekli diffüz santral sinir sistemi tutulumudur. Tedavi edilmezse genellikle ölümcül seyirlidir. Ateş, baş ağrısı ve konfüzyon ile başlar. Saatler-günler içinde menenjizm bulguları, konvülsiyonlar ve psikoz tablosu eklenir. Ayırıcı tanıda mutlaka santral sinir sistemi enfeksiyonları ekarte edilemelidir.⁹

Kognitif disfonksiyon, baş ağrısından sonra en sık görülen bulgulardandır. Düşünme ve anlatımda güçlük, konfüzyon, yorgunluk ve bellek bozukluğu ile kendini gösterir. Klinik genellikle siliktir. Algılamada değişiklikler dalgali seyir gösterir.⁹

Psikozun SLE’ li hastaların yaklaşık % 24’ünde ortaya çıktığı söylenmektedir. Psikoza böbrek yetmezliği, hipertansiyon, metabolik bozukluklar, infeksiyon veya ilaçlar neden olabilir.²²

Antifosfolipit antikorların nöropsikiyatrik hastalık ile ilgisinin saptanması, SLE’ de inflamatuvar olmayan, fokal, trombotik lezyonların ayırt edilmesine neden olmuştur. Sneddon sendromu, transvers miyelopati, inme ve kore gibi patolojik olaylar bu çerçeve içerisinde ve doğrudan antifosfolipit sendromu ile ilgili olabilirler.¹⁹

SLE' de, her türlü nöbet görülebilir.⁹ Nöbetler SLE' li hastaların % 15-20' sinde görülür.²² Genelde, lupus nöbetlerinin % 25' i grand mal tipidir; çoğunluğu aktif lupuslu olgularda ve preterminal dönemde gözlenir. Antifosfolipit antikorlar, hipertansiyon, üremi, önceki vaskülit veya tromboembolizme bağlı skar odakları, enfeksiyonlar ve ilaçlar nöbet nedeni olabilir.⁹

Kranial ve periferik nöropatiler hastaların % 10-15' inde gelişir.^{18,22} Periferik nöropati genellikle asimetriktir ve birden fazla siniri etkileyebilir.²²

Gastrointestinal, kardiyovasküler, genitoüriner ve pupil anormallikleri ile seyreden otonomik nöropatiler de gözlenebilir.^{9,22}

Göz Bulguları: SLE' de sık tutulan hedef organlardan biridir.⁹ Primer göz tutulumları olarak; konjonktivit, keratokonjonktivit, episklerit ve orbital miyozit sayılabilir. Sekonder olarak Sjögren sendromu (Sicca sendromu) yada ilaçlara bağlı (Kortikosteroidler, Antimalaryal ilaçlar) glokom, katarakt ve görme alanı defektleri sayılabilir. Fundoskopik muayenede genellikle diskin kenarında retinal pamuk atılması tarzındaki eksudalar (sitoid cisimler) karakteristik bir bulgudur. Retinal vaskülit veya AFA sendromuna bağlı olarak, retinal enfarktler ve görme defektleri gelişebilir.^{9,19,22}

Renal Bulgular: SLE' de renal tutulum "Lupus Nefriti" olarak tanımlanmaktadır. Hastalığın ilk yıllarında lupus nefriti ve enfeksiyonlar en önemli mortalite nedenleridir. SLE' li hastaların % 50' sinde renal tutulum görülür.^{9,22} İlk bulgu olarak görülebildiği gibi yıllar sonrada gelişebilir. Klinik genellikle asemptomatik olduğundan hastaların yakından takip edilmesi gerekir. Hipokomplementemi ile birlikte yüksek titrede anti-dsDNA antikorları olan SLE' li hastalar glomerulonefrit açısından riskli gruptadırlar.

American College of Rheumatology (ACR) kriterlerine göre renal tutulum; günde 0,5 gram üzerinde veya tam idrar tetkikinde 3 pozitif proteinüri olması, idrar sedimentinde her alanda 5 ve üzerinde hücresel elemanların (eritrosit, lökosit) ve silendirlerin (granüler, tübüler, karışık) görülmesi şeklinde tanımlanmıştır.^{8,9,18}

Nöktüri ve yeni gelişen hipertansiyon renal tutulum yönünden uyarıcıdır.⁹ Klinik takiplerinde hastalardan tam idrar tetkiki, 24 saatlik idrarda esbach, idrar mikroskopisi, üre ve kreatinin değerleri istenmelidir.

Renal biyopsi; hücreler ve silendirler açısından idrarın direk bakışı, proteinürinin bakılması ve azotemi için serum analizinden sonra üçüncü sırada yer alır. Renal biyopsi;

lupus nefritinin sınıflandırılmasını, hastalığın seyrini, renal tutulumun derecesini ve hastalığın aktivitesini değerlendirmek açısından önemlidir. Lupus nefriti Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından sınıflandırılmıştır.²³

Modifiye WHO Klasifikasyonu:²³

KLAS 1: Normal glomerül (ışık, immunfloresan, elektron mikroskopide)

KLAS 2: Mezangial Glomerülonefrit

a- Işık mikroskopisinde normoselüler mezangium fakat immunfloresan ve/veya elektron mikroskopisinde mezangial depozitler

b- İmmunfloresan ve/veya elektron mikroskopisinde mezangial hiperselülarite ile birlikte mezangial depozitler

KLAS 3: Fokal segmental glomerülonefrit

a- Aktif nekrozitan lezyonlar

b- Aktif sklerozan lezyonlar

c- Sklerozan lezyonlar

KLAS 4: Diffüz glomerülonefrit (ciddi mezangial, endokapiller veya mezangiokapiller proliferasyon ve/veya geniş subendotelyal depozitler)

a- Segmental lezyonlar olmaksızın

b- Aktif nekrozitan lezyonlar ile

c- Aktif ve sklerozan lezyonlarla birlikte

d- Sklerozan lezyonlarla birlikte

KLAS 5: Diffüz membranöz glomerülonefrit

a- Pür membranöz glomerülonefrit

b- Klas 2' deki lezyonlarla birlikte (a veya b)

c- Klas 3' deki lezyonlarla birlikte (a-c)

d- Klas 4' deki lezyonlarla birlikte (a-d)

KLAS 6: İlerlemiş sklerozan glomerülonefrit

Klas 1 lupus nefritinde; ışık (IM), immünfloresan (IF), elektron (EM) mikroskopilerinde histopatolojik bulgular normaldir. Klinik bulgu gözlenmez, prognozu çok iyidir.

Klas 2 lupus nefritinde; IF veya EM' de mezangiumda immün birikimler veya hiperselülarite gözlenir. Klinik bulgu yoktur yada minimal proteinüri, hematüri,

lökositüri olabilir. Glomerüler filtrasyon hızı normaldir, kompleman düzeyleri azalmış olabilir. Prognozu iyidir.

Klas 3 lupus nefritinde; % 50'den az glomerül tutulumu mevcuttur. Mezengium ve kapillerde immün birikimler, hiperselülarite veya skleroz görülebilir. Klinik olarak değişen derecelerde hematüri, proteinüri ve aktif idrar sedimi gözlenir, orta derece prognoza sahiptir.

Klas 4 lupus nefritinde; % 50' den fazla glomerül tutulumu mevcuttur. İmmün birikimler, skleroz ve kresent formasyonu ile sonuçlanabilen hücre proliferasyonu mevcuttur. Klinik olarak aktif idrar sedimi, nefrotik düzeye varan proteinüri, azotemi ve hipertansiyon görülür. Kompleman düzeyleri anlamlı olarak düşmüştür. Anti-DNA düzeyi artmıştır (özellikle aktif nefrit esnasında). Kötü prognoza sahiptir ve agresif immunosupresif tedavi ile yanıt alınabilir.

Klas 5 lupus nefritinde; epimembranöz ve sıklıkla intramembranöz immün birikimler ve bazal membran kalınlaşması, bazen mezengial hiperselülarite görülür. Klinik olarak hafiften nefrotik düzeye kadar değişen proteinüri olabilir. Kompleman düzeyi, anti-DNA düzeyi ve glomerüler filtrasyon hızı normaldir. Serum lipid düzeyleri artmıştır. Prognoz iyi olmakla birlikte nefrotik sendrom gelişirse prognoz kötüdür.

Klas 6 lupus nefritinde; glomerüloskleroz vardır, inflamasyona rastlanmaz. Klinik olarak kronik böbrek yetmezliği tablosu vardır.

Hastalarda glomerülopatilere ek olarak, vasküler ve tübülointertisyel patolojiler de gözlenebilir. Vasküler lezyonlar intravasküler trombozis, ateroskleroz ve nekrotizan vaskülitir. Genellikle intertisyel inflamasyon, fibrozis ve tübüler epitel değişiklikleri lupus nefritinin tüm formlarına eşlik eder, fakat ciddi aktif tübülointertisyel nefrit genellikle Klas 3 ve 4 glomerüler lezyonlara eşlik eder^{9,23}

SLE' li hastalarda idrar yolu enfeksiyonu sıktır ve NSAİİ'lere bağlı olarak azotemi görülebilir.²²

2.1.5 Sınıflama Kriterleri

SLE sınıflama kriterleri 1971' de *American College of Rheumatology* (ACR) tarafından belirlenmiş,⁹ 1982 yılında ve daha sonra 1997 yılında revize edilmiş kriterlerdir.^{8,9} Hastalığın seyri esnasında tablo-2' deki 11 bulgudan 4 veya daha

fazlasına sahip olan hastalar çalışmalarda SLE olarak kabul edilir. Spesifitesi % 95, sensitivitesi % 75'dir.⁸

2.1.6 Aktivasyon İndeksleri

Aktivasyon indeksleri, hastalığın aktivitesinin belirlenmesini, tedaviye yanıtın değerlendirilmesini, ilaç toksisitesini, hastaların yaşam kalitesini, çalışmalarda hastalardaki farklılıkların standardize edilmesini sağlar. Birçok aktivite indeksi belirlenmiş. Ancak kullanım kolaylığı açısından bazı indekslerin üzerinde durulmuştur. Bunlar; SLEDAİ (*SLE disease activity index*), SLAM (*Systemic Lupus Activity Measure*), BILAG (*British Isles Lupus Assessment Group*), ECLAM (*European Consensus Lupus Activity Measure*), LAI (*San Francisco/John Hopkins University Lupus Activity Index*)' dir.^{8,9,18,22} Çalışmamızda kullandığımız aktivasyon kriteri olan SLEDAİ tablo-3' te gösterilmiştir.^{8,9}

Tablo-2: SLE sınıflama kriterleri ⁹

KRİTER	TANIMLAMA
1-Malar raş	Yanak ve burun sırtında düz veya kabarık eritem
2-Diskoid raş	Keratotik skar veya folliküler tıkaç gösteren eritemli plaklar
3-Fotosensitivite	Ultraviyole ışığa maruziyet sonrası reaksiyon olarak gelişen döküntü
4-Oral ülserler	Hekim tarafından saptanan oral ve nazofarengial ülserler
5-Artrit	İki veya daha fazla eklemden noneroziv artrit
6-Serozit	Plevra ve/veya perikard efüzyonu bulguları
7-Böbrek tutulumu	Günde 0,5 gr/dl'nin üzerinde veya 3+ ve üzerinde proteinüri veya selüler silendirler (eritrosit, granüler, tübüler veya karışık)
8-Nörolojik tutulum	Konvülsiyonlar (metabolik bozukluğa veya ilaca bağlı olmamalı), Psikoz (metabolik bozukluğa veya ilaca bağlı olmamalı)
9-Hematolojik bozukluk	a)Hemolitik anemi (retikülositozla birlikte olan) veya b)Lökopeni (En az 2 kez < 4000/mm ³) veya c)Lenfopeni (En az 2 kez <1500/mm ³) veya d)Trombositopeni (En az 2 kez <100.000/mm ³ , ilaca bağlı olmamalı)
10-İmmünolojik bozukluk	a)AntidsDNA(+) VEYA b)AntiSm(+) VEYA c)Antifosfolipid antikorları(+)'liği (*ACA, Lupus antikoagülan, VDRL)
11-ANA pozitifliği	1/80 ve üzerindeki titreler (İlaca bağlı olmamalı)

* ACA: Antikardiyolipin antikorlar, VDRL: yanlış (+) sifiliz testi

Tablo-3: SLEDAI^{8,9}

BULGU	PUAN
Epilepsi	8
Psikoz	8
Organik beyin sendromu	8
Görme ile ilgili bulgular	8
Kranial sinir tutulumu	8
Lupus başağrısı	8
İnme	8
Vaskülit	8
Artrit	4
Miyozit	4
Silendirler	4
Hematüri	4
Proteinüri	4
Püyiri	4
Yeni malar raş	2
Alopesi	2
Mukoza lezyonları	2
Plörezi	2
Perikardit	2
Kompleman değerlerinin düşük olması	2
Anti-dsDNA antikorlarının artması	2
Ateş	1
Trombositopeni	1
Lökopeni (3000 / mm ³ altında)	1
Toplam Skor	105

2.1.7 Laboratuvar

SLE, multisistemik bir hastalıktır. Hastalık belirtileri intermittan seyirlidir, yani bulgular aynı anda değil belli bir zaman dilimine yayılarak gelişir.⁹ Dikkatli bir sorgulama ve fizik muayene sonrası temel laboratuvar tetkikleri istenmelidir. Laboratuvar tetkiklerinde; tam kan sayımı, eritrosit sedimantasyon hızı (ESR), periferik yayma, C-reaktif protein (CRP), tam idrar tetkiki, 24 saatlik idrarda protein, sistem tutulumuna veya ilaç toksisitesine göre diğer gerekli biyokimyasal tetkikler istenmelidir. Klinik tanıyı desteklemek, tedaviyi düzenlemek, hastalığın seyri ve prognozunu belirlemek için anti-dsDNA, C1q, C3, C4 gibi tetkikler istenmelidir. ESR; aktif SLE' li hastalarda artar. CRP; genellikle enfeksiyon, artrit, serozit varlığında yükselir. Aktif lupuslu hastalarda CRP düzeyi genellikle normal sınırlardadır.^{8,9}

Kompleman sistemi, aktif lupus esnasında aktive olur. Kompleman faktörlerinin herediter eksiklikleri, kompleman yapımının azalması, tüketimin artması hipokomplementemiye yol açar. Kompleman seviyeleri özellikle nefritik aktiviteyi yansıtır.^{9,22,23} Bu amaçla en sık kullanılan C3, C4' tür. Ancak olguların % 50' sinde hipokomplementemi gözlenir.⁹

Anti-nükleer antikor (ANA), otoimmün patoloji düşünülen hastalarda tarama testi olarak kullanılır. SLE' li hastaların tanısında önemli rolü vardır. Ancak pozitif ANA testi, SLE için spesifik değildir. ANA titresi; otoimmün hastalıklarda, viral enfeksiyonlarda, kronik inflamasyonda, bazı ilaçlara bağlı olarak ve yaşla birlikte artar. SLE' li hastalarda ANA pozitifliği % 95' in üzerindedir.²²

Anti-dsDNA; çift sarmallı doğal DNA antikor olarak bilinir, SLE için oldukça özgüldür. Klinik önemi lupus nefriti için risk oluşturmaktadır. SLE' li hastaların % 70' inde pozitif saptanır.⁸ Bu antikorun yüksek titreleri % 90' ın üzerinde SLE için spesifiktir ve özellikle düşük kompleman düzeyiyle birlikteyse lupus nefriti riskini arttırdığını ve vaskülit düşündürmelidir.^{8,9}

Anti-Sm antikor; ribonükleoproteine (RNP) karşı oluşur. SLE' li hastaların % 10-30' unda pozitif saptanır.⁹ Klinik önemi tartışmalıdır. Genellikle AntiRNP pozitifliği ile birlikte dir. AntiRNP; RNA transkripsiyonunda görevlidir. SLE' de % 30, mikst bağ doku hastalığında % 100 sıklığında rastlanır.⁹

Anti-Ro ve anti-La antikorlar; SLE’de pozitifliği saptanan diğer otoantikorlardır. Anti-Ro, RNP yapıda antijendir. Anti-Ro antikorlar SLE’ de % 35 oranında pozitif saptanır. Bu oran anti-La için ise % 15’ tir. Anti-Ro tek başına pozitif olabilir. Anti-La ise genellikle anti-Ro ile birlikte pozitifdir. Anti-Ro ve La antikorların pozitif olduğu SLE hastalarında; Sikka kompleksi, konjenital hipokomplementemi, konjenital kalp bloku, fotosensitivite, cilt lezyonları, lenfopeni daha sık gözlenir. Konjenital kalp blokları yenidoğanların annelerinde, anti-Ro ve La antikorların pozitifliği % 90’ ın üzerindedir.⁹

Antifosfolipit antikorlar; heterojen bir grup antikordur. Fosfolipitleri bağlayan plazma proteinlerine veya protein-fosfolipit komplekslerine karşı oluşur. En karakteristik antijenik hedef β_2 glikoprotein-1’ dir. Bu antikorlar, başta SLE olmak üzere otoimmün hastalıklarda, enfeksiyonlarda, bazı ilaçların kullanımı ile birlikte ve malignitelerde görülebilir. Antifosfolipit sendromu; rekürren tromboz, rekürren fetal kayıp, trombositopeni ve antifosfolipit antikorların bulunması ile karakterize klinik bir tablodur. % 50 oranında gözlenir.^{8,9} Hastalarda, antifosfolipit antikorlarının varlığına bağlı olarak yalancı pozitif VDRL testi saptanabilir.⁹

Antinötrofilik sitoplazmik antikorlar (ANCA); özellikle Wegener Granülomatozu ve mikroskopik polanjit gibi, sistemik küçük damar vaskülitlerinin göstergesidir. Nötrofil, monosit ve immatür makrofajların primer granüllerindeki serin proteinaz III ve miyeloperoksidaz gibi lizozomal enzimlere karşı oluşmuş antikorlardır. SLE’ de (özellikle lupus nefriti olan bireylerde), % 0–93 arasında değişen oranlarda pozitifliği saptanmıştır.²⁴

Nöropsikiyatrik lupus tanısında görüntüleme yöntemleri önemlidir. Bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans (MR), tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi (SPECT), pozitron emisyon tomografi (PET), anjiyografi yöntemleri kullanılabilir. MR, lezyonların anatomik özelliklerini ve fokal nörolojik defektleri saptamada BT’ ye göre daha duyarlıdır. Nöropsikiyatrik lupuslu hastalarda anti-ribozomal antikorlar, anti-nöronal antikorlar, antifosfolipit antikorlar pozitif bulunabilir.^{8,9}

2.1.8 Ayırıcı Tanı

Birçok hastalık (Tablo-4) SLE ile karışabilir. Özellikle erken dönem hastalık, hafif seyirli SLE veya geç başlangıç gösteren vakalarda tanıda zorluk olabilir.^{8,9,22}

Tablo 4: SLE ayırıcı tanısında yer alan hastalıklar ^{8,9,22}

İlaçlara bağlı Lupus
Sjögren sendromu
Skleroderma
Mikst bağ doku hastalığı
Antifosfolipit antikor sendromu
Fibromiyalji-ANA (+) / Kronik yorgunluk sendromu
Erken Romatoid artrit
İdiopatik trombositopenik purpura
Vaskülit
Wegener Granülomatozu

2.1.9 Tedavi

SLE' li hastalarda tedavinin her hasta için özel olması gerekir. Tedaviye karar vermede; klinik bulgular, aktif hastalık, major organ tutulumu, sonraki alevlenmeler, ilaçların toksisitesi, hastanın lupus dışındaki diğer sistemik hastalıkları ve komplikasyonlar göz önünde bulundurulmalıdır.

Psikolojik destek ve koruyucu önlemler, lupusta hastalık seyrini etkilemektedir. Psikolojisi iyi olan lupus hastası, tedaviye ve hastalığa uyum sağlar, buda ilaçla tedavinin başarısını artırır. Koruyucu önlemler şunlardır:^{9,19}

1- Ultraviyole ışınlarından korunma: Hastalara güneş ışınlarının fazla olduğu saatlerde dolaşmamaları, koruyucu olarak en az 15 koruma faktörlü güneş kremleri önerilmelidir.⁹

2- Aşırı fiziksel aktivitelerden kaçınmaları. Kas gücünün korunması için, yürüme ve yüzme gibi aktiviteler önerilir.

3- Diyet: SLE' li hastalarda özel diyet tedavisi yoktur. Ancak steroid tedavisi alan, hipertansif veya renal tutulumu olan hastalarda tuz ve protein kısıtlaması gibi diyet tedavisi önerilebilir.

- 4- Psikik stresten kaçınılması.
- 5- Hepatit B, İnfluenza, Pnömonokok aşılarını yaptırmaları.
- 6- Tedaviye uyum ve ilaç yan etkilerinin takibi için düzenli poliklinik kontrolüne gelmeleri.

SLE' li hastalarda tedaviye karar verirken, en ağır tutulum gözönüne alınmalı ve tedaviye klinik tablo düzelinceye kadar devam edilmelidir.⁹

SLE' de kullanılan ilaçlar ve etkileri aşağıda sıralanmıştır:^{8,9,19}

a- Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ): Ateş, artralji, artrit, miyalji ve serozit bulunan olgularda kısa süreli kullanılabilir. Renal bozukluğu olanlarda, diüretik alan kalp yetmezliği bulunan vakalarda dikkatli kullanılmalıdır. NSAİİ alan hastalarda karaciğer fonksiyon testlerinde (KCFT) yükselme, aseptik menenjit ve renal bozukluk olabilir.

b- Kortikosteroidler: Kortikosteroidler, lupusun birçok semptom ve bulgularında kullanılan ilaçlardır. Özellikle major organ tutulumu olan aktif lupus vakalarında hayat kurtarıcıdır. Artrit, serozit, miyozit gibi hafif lupus vakalarından, nefritik lupus, lupus pnömonisi, otoimmün hemolitik anemi, trombotik trombositopenik purpura (TTP), vaskülit ve katastrofik antifosfolipit sendromu gibi ağır seyirli lupus vakalarına kadar geniş spektrumda kullanılırlar. Kortikosteroidlerin uzun süreli kullanımı hastalarda cushingoid görünüm, kilo alma, enfeksiyon, akne, kılınma artışı, osteoporoz, osteonekroz, katarakt, glokom, lipid ve glukoz metabolizma bozuklukları, miyopati, peptik ülser, elektrolit bozuklukları, hipotalamus-hipofiz-sürrenal aksın supresyonu, irritabilite, kardiyak aritmiler, ani ölüm, erken ateroskleroz, steroid psikozu gibi birçok istenmeyen yan etkilere neden olur. Bu yüzden, hastalığı kontrol altına alan en düşük dozda verilmeli ve en kısa zamanda steroid tedavisi kesilmelidir.^{8,9,19}

Ağır SLE vakalarında, hastalık belirtilerinin kontrol altına alınması için 3-5 gün arka arkaya pulse steroid denilen 10-15 mg/kg/gün dozunda steroid verilir. Ardından 1 mg/kg/gün dozunda, 18-12 saatte bir bölünmüş dozlarla devam edilir. Bulguların kontrol altına alınmasından sonra, steroid dozu günde bir defa ve sabah olmak üzere haftada % 10 oranında azaltılarak kesilir.^{8,9}

Steroid alan hastalarda hiperglisemiye, lipid yüksekliklerine, hipertansiyona, hipokalemiye dikkat edilmeli. Varsa enfeksiyonun tedavisi erken yapılmalı. Osteoporoz

riskini azaltmak için günlük 1000 mg kalsiyum desteği verilmelidir (Kalsiyuma D vitamini eklenebilir).^{8,9}

c- Antimalaryal ilaçlar: Antimalaryal ilaçlar major organ tutulumu olmayan, artrit, artralji, halsizlik, cilt tutulumu ile seyreden durumlarda kullanılır. Antimalaryal ajan olarak en çok hidroksiklorokin kullanılır. Başlama dozu 400 mg/gün' dür. Ciddi yan etkilerinden birisi, retinal toksisitedir. Hastalara tedavi başlamadan önce, göz muayenesi, görme alanı ile birlikte yapılmalı ve yılda bir defa düzenli olarak kontrol edilmelidir. Antimalaryal ilaçların; antiinflamatuvar, antitrombotik ve LDL seviyelerini düşürücü etkileri vardır. Bu nedenle erken ateroskleroza karşı koruyucu etkisi bulunmaktadır.^{8,9,19}

d- Sitotoksik ilaçlar: Sitotoksik ilaçlar; aktif hastalığı kontrol etmede ve hastalığın alevlenme sıklığını azaltmada oldukça yararlı ilaçlardır.

Siklofosfamid; ciddi nefriti olan veya yaşamı tehdit eden progresif organ tutulumu olanlarda, başlangıç tedavi seçeneğidir. Steroid ile birlikte kullanılır. Yerleşmiş tedavi uygulamasında siklofosfamid; 500-600 mg/m² dozunda intravenöz (İV) infüzyon yolu ile verilir. Klinik bulguların ağırlığına göre ayda bir pulse siklofosfamid tedavisi uygulanır. 6. aydan sonra iki ayda bir/ 2-3 kez, ardından 3 ayda bir 2-3 kez uygulanır.^{8,9,19} Alternatif olarak 6. aydan sonra 1 mg/kg/gün dozunda oral tedaviye geçilebilir. İntrvenöz (İV) verilen siklofosfamidin mesane toksisitesinden kaçınmak için üromiteksan, uygulanan siklofosfamid dozunun yarısı kadar verilir. Siklofosfamid tedavisinde ağır enfeksiyonlar, gonadal yetersizlik ve hemorajik sistit komplikasyonları görülebilir.^{9,19}

Azothioprine; aktif hastalıktan çok idame tedavisinde kullanılan ajandır. Steroid dozunun azaltılması yada siklofosfamidin kontrendike olduğu vakalarda kullanılır. Otoimmün hepatit, nefrit, cilt lezyonlarında kullanılır.⁹ Azothioprine dozu; oral, 1-3 mg/kg/gün dozundadır.^{8,9} Fırsatçı enfeksiyonlar (özellikle herpes zoster), ovarian yetmezlik, kemik iliği supresyonu, hepatik toksisite ve sekonder malignansiler gibi komplikasyonlara yol açabilir. Ancak yan etki bakımından siklofosfamidden daha güvenilirdir.^{8,9}

Mycophenolate Mofetil (MMF): Pürin sentezinde rol oynayan bir enzim olan inozin monofosfat dehidrogenazı inhibe ederek etkisini gösterir. Lenfositler üzerinde antiproliferatif etkileri mevcuttur. Deneysel aşamada olan bu tedavi, nefriti ve pulmoner

hemorajisi olan SLE' li hastalarda iyi tolere edilmiştir.¹⁹ Yüksek doz steroid ve siklofosfamide yanıt vermeyen hastalar, MMF' e yanıt verebilir. Oral olarak, bölünmüş dozlarda 1-2.5 gr/gün dozunda verilir.⁸

Methotrexate (Mtx): Lupusun artiküler ve kütanöz semptomlarında etkilidir. Hepatotoksite ve sitopeni gibi yan etkileri vardır. Haftada bir gün 5-20 mg dozunda oral veya subkutan kullanılır.⁸

e- Diğer tedaviler:^{8,9,19,96,97}

Plazmaferez; TTP, kryoglobulinemi, hiperviskozite sendromu gibi durumlarda kullanılır. Sitotoksik ilaçlar ve steroid tedavisine yanıt vermeyen, ciddi organ tehditi olan hastalarda, klinik olarak endikasyon mevcutsa uygulanır.

İntravenöz immunglobulin tedavisi, lupusun trombositopenisinde etkindir.

Ağır nötropenisi olan hastalarda rekombinan G-CSF (granülosit-koloni stimüle edici faktör) kullanılabilir.

Thalidomid ve α interferon dirençli cilt lezyonlarında kullanılırlar.⁹

Siklosporin membranöz lupus nefritinde uygulanabilen bir ajandır.^{9,19}

Deneyisel tedavi yöntemleri olarak; B, T hücresi ve kompleman sistemine yönelik tedaviler mevcuttur. Anti-CD20 monoklonal antikor, Anti-CD40 ligand monoklonal antikor, CTLA-4 immunglobulin, Anti IL-10 monoklonal antikor, AntiBLys monoklonal antikor, AntiC5b monoklonal antikor tedavileri, deneyisel tedavilerdir.⁹⁷ Rituximab, B lenfositlerindeki Anti-CD20 reseptörlerine karşı doğrudan etkili, kimerik, monoklonal bir antikordur. Konvansiyonel tedaviye dirençli lupus nefritli hastalarda kullanılabilir.⁹⁶

SLE' de son zamanlarda kök hücre transplantasyonu, IL-10 antikorları ve gen nakli üzerinde yapılan çalışmalar bulunmaktadır.^{8,9,19,98}

2.1.10 Prognoz

Genel popülasyona göre mortalite oranları, SLE' de 3 kat artmıştır.⁸ En önemli ölüm nedeni aktif hastalık ve enfeksiyondur. Günümüzde beklenen 10 yıllık yaşam süresi yaklaşık % 90' dır. Kötü prognoz nedenleri: tanı anında yüksek serum kreatinin düzeyleri (>1,4 mg/dl), hipertansiyon, nefrotik sendrom (24 saatlik idrarda protein düzeyi > 2,6gr), anemi (hemoglobin<12,4gr/dl), hipokomplementemi, hipoalbuminemi, kadın cinsiyet ve genç yaştır. Zamanında ve agresif tedavi ile morbidite azaltılıp, organ yetmezliği önlenebilir. SLE' de klinik; kronik, intermittan bir seyir göstermekle birlikte tedavi ile hastalarda remisyonlar görülebilir.²²

2.2 Apoptozis

İmmün sistemin hemostazının ve maturasyonunun temel bir başlangıcı olan apoptozis, biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlanmış hücrelerin, zararsız bir biçimde ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür.^{25,26}

Yunancada yaprak dökümü anlamına gelen apoptozis terimi, ilk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie adındaki patologlar tarafından kullanılmıştır. 1983 yılında Duke ve arkadaşları, jel elektroforezi ile apoptoziste endonükleazların aktive olarak DNA kırıklarına neden olduğunu göstermiştir. Böylece apoptotik hücre ölümünün ilk biyokimyasal kanıtı elde edilmiştir.^{27,28}

Apoptozis, intrauterin dönemden itibaren başlar. Fizyolojik ve patolojik birçok olayda önemli rol oynar. Bunlar:

1- Embriyonal ve fetal gelişimde; immün sistemin ve sinir sisteminin gelişmesi için önemli role sahiptir. İntrauterin dönemde, immün sistemin maturasyonu esnasında, santral lenfoid organlardaki otoreaktif lenfositlerin ortadan kaldırılmasını sağlar. Böylece periferik lenfoid ve myeloid kompartmanların aşırı büyümesi kısıtlanır.²⁵ Sinir sistemi gelişirken; aksonları hedef organlara ulaşamayan nöronların ortadan kaldırılmasını ve nöronlarla hedef organlar arasında oluşan bağlantı hatalarının onarılmasını sağlar.²⁶

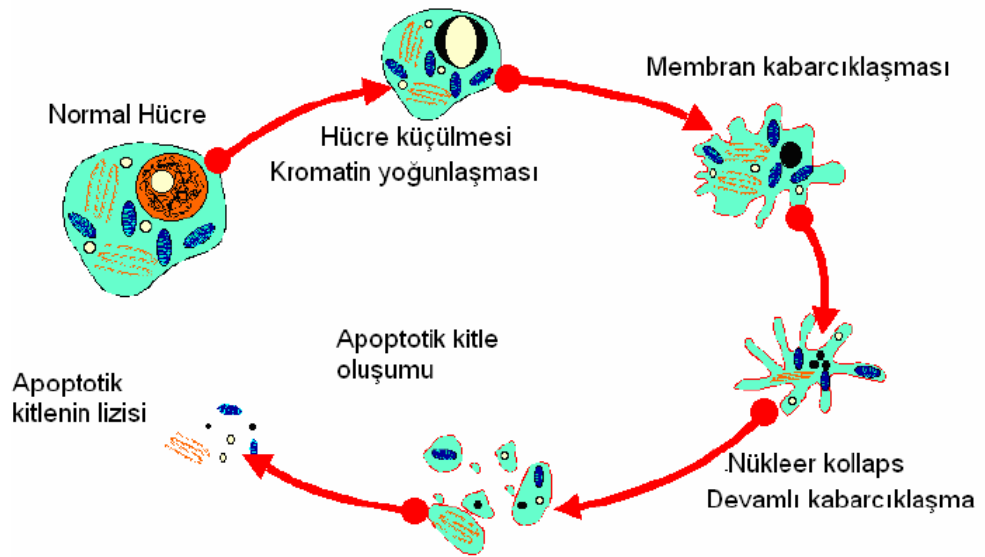
2- Hormon salgısının azalmasına bağlı olarak gelişen involüsyonlarda; örneğin menstruasyonda endometrial dokunun yıkılması, laktasyon sonrası meme atrofisi.^{26,29}

3- Dokularda hücre hemostazının sağlanması: bağırsaktaki kript epitellerinin sürekli yenilenmesi gibi.^{26,29}

4- İmmün reaksiyonlarda; Viral hepatitte karaciğerde oluşan apoptotik hücreler (Concilman cisimcikleri) veya graft versus host reaksiyonları gibi.²⁹

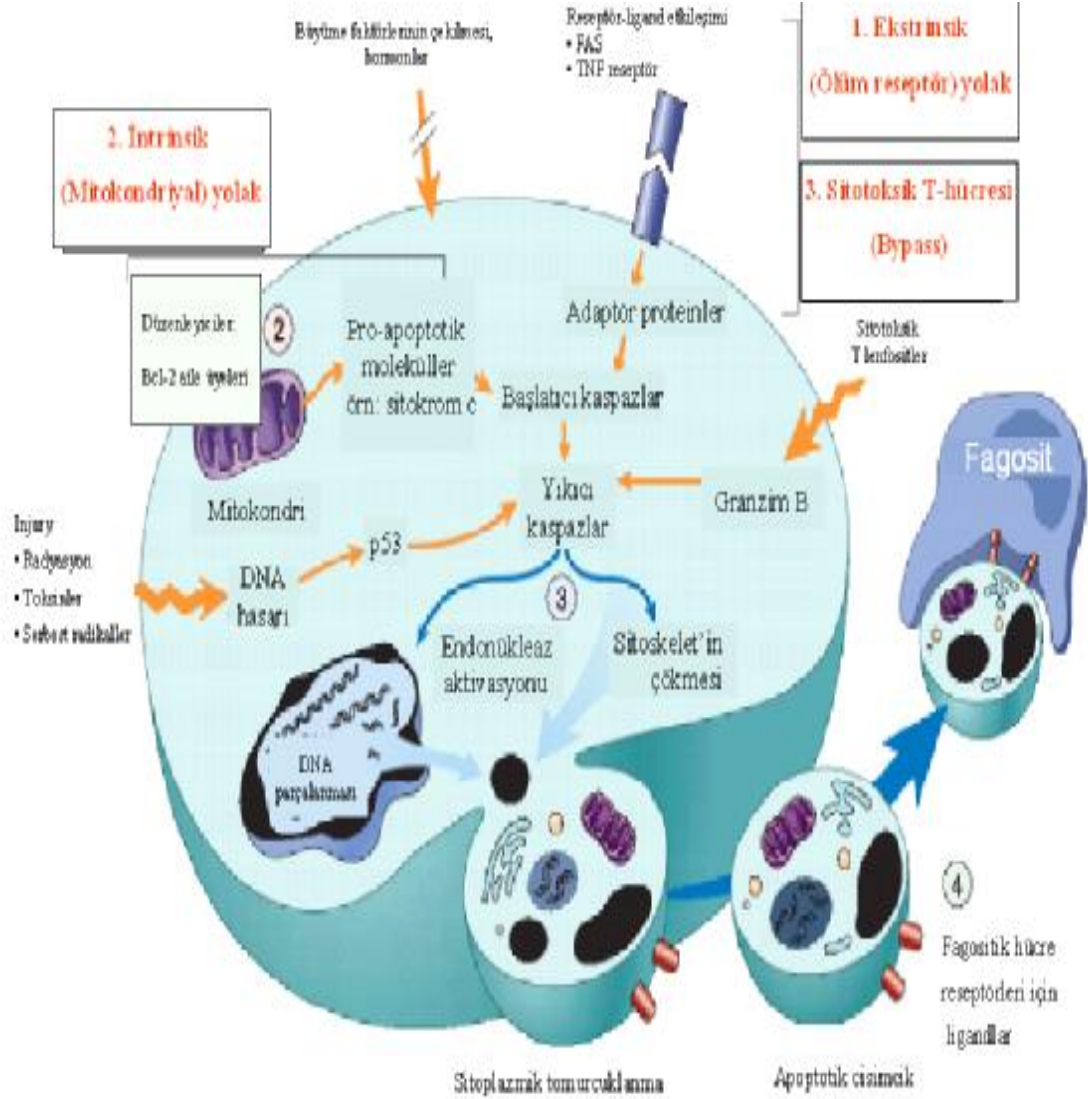
5-Hücrelerin herhangi bir nedenle hasarlanmaları durumunda veya yaşlılıkta; örneğin ısı, radyasyon, antikanser ilaçlar, hipoksi gibi durumlarda.²⁹

Apoptozis hücre yüzeyine spesifik ölüm reseptörlerinin bağlanması ile başlar. Hücrenin apoptozise gidebilmesi için ilk önce, ilgili genetik mekanizmayı harekete geçirecek bir sinyalle karşılaşması gerekir. Bu sinyal hücre içinden veya dışından gelebilir. DNA hasarı, hücre içi kalsiyum seviyesinde artış, hücre içi pH değişiklikleri, hücre siklus bozuklukları hücreyi apoptozise götüren hücre ölüm sinyallerini başlatır. Ölüm reseptörlerinin hücre yüzeyinde spesifik ligandlarına bağlanması sonucu hücre içi proteazlar yani kaspazlar aktive olur. Aktive olan kaspazlar hedef proteinleri yıkarak, hücre içi değişikliklere neden olur. Apoptotik süreç ilerledikçe hücrelerde sitoplazmik çıkıntılar oluşur. Hücre daha sonra membranla çevrili küçük parçalara bölünür. Bunlara “apoptotik cisim” adı verilir.^{25,26,31} Apoptotik cisimler çevredeki parankim hücreleri ve fagositler tarafından fagosit edildikçe yok edilir (şekil-1).



Şekil-1: Apoptozis³⁰

Apoptozis 3 farklı mekanizma ile gerçekleşir (Şekil-2).



Şekil-2: Apoptotik mekanizmalar³¹

1- Mitokondriyal stres durumlarında açığa çıkan ve kofaktör nükleotid trifosfat (ATP ve dATP) ile aktiflenen sitokrom-c, sitoplazmada apoptotik proteaz aktive edici faktör (Apaf-1) ve kaspaz 9 ile birleşerek kaspaz-3' ü aktive eder ve kaspaz kaskadının sürdürülmesi ile hücrel proteoliz gelişir.³¹

2- Ölüm aktivatorlarının (FasL ve TNF) hücre yüzeyindeki Fas ve TNF reseptörlerine bağlanması ve sitoplazmada kaspaz-8' i aktive etmesiyle apoptotik döngü başlar.³¹

3- Endoplazmik retikulumda bulunan prokaspaz 12' nin, yüksek kalsiyum seviyeleri, kalsiyum bağımlı bir tiyol-proteaz olan, hücre iskeleti ve sinyal iletiminde görev alan kalpainin endoplazmik retikulumu etkilemesi ile aktif hale geçmesi, aktiflenmiş kaspaz 12, kaspaz 9 ile sitoplazmada etkileşerek kaspaz kaskadını aktifler ve apoptozis oluşumuna neden olur.³¹

Apoptozis, antiapoptotik ve proapoptotik proteinler arasındaki denge tarafından düzenlenir. Organizmada apoptozisi uyaran ve engelleyen çok sayıda gen ve protein bulunmaktadır (Tablo-5).¹⁰⁰

Tablo-5: Apoptozis ve Genler¹⁰⁰

Apoptozisi baskılayan genler	Apoptozisi indükleyen genler
Ø Bcl-2 grubundan	Ø Bcl-2 grubundan
BHRL-1, Bcl-xl, Bcl-w, Bfl-1, Brag-1	Bad, Bax, Bak, Bcl-xS, Bid, Bik, Hrk-1
Ø c-abl geni	Ø c-myc
Ø ras onkogeni	Ø p53, p21
Ø p35	Ø Fas, FADD

Apoptozis Bcl-2 grubu dimerize proteinler tarafından kontrol edilir. Bcl-2 geni, bir proto-onkogendir. Bazı antiapoptotik (bcl-2, bcl-xl...) ve pro-apoptotik (bax, bad...) proteinler bu grupta yer almaktadır. Çalışmalarda “Bcl-2/Bax” oranı “ölüm anahtarı” (death switch) olarak değerlendirilmektedir. Apoptozisle ilgili diğer önemli bir protein de p53 geni ile ilişkilidir. İnsan p53 tümör baskılayıcı geninin sentezlettiği bir fosfoprotein, doğrudan DNA'ya bağlanabilmekte ve değişik hücresel veya viral proteinlerle ilişkiye girebilmektedir. p53 geni, insan malignitelerinde en sık mutasyonu gösterilmiş gendir. Aberan hücre büyümesi ve hücre bölünmesini azaltıcı önemli görevleri olan bu onko-supresör gen, DNA hasarı ile aktive olur ve apoptozisi

başlatabilir. Ölüm reseptörü (death receptor) olarak adlandırılan bir membran proteini olan Fas antijeni, apoptozisin diğer bir kilit noktasını oluşturmaktadır. Fas antijeninin hücre yüzeyinde ilgili ligandına bağlanması ile intra-sitoplazmik Fas ile ilişkili hücre ölümü zinciri kompleksi (FADD) oluştuğu gösterilmiştir.

İmmün sistemin homeostazının korunmasında büyük öneme sahip olan apoptozis hem lenfosit birikimine engel olmakta hem de otoantijenlere karşı olabilecek ve otoimmüniteye yol açacak reaksiyonları minimuma indirmektedir. Antijen bağlantılı lenfosit ölümü başlıca Fas (CD95/APO-1) ve tümör nekrozis faktör reseptörü (TNFR) ile regüle edilir. Apoptozisin immün sistemde 2 önemli fonksiyonu vardır: 1- Timus ve kemik iliğinde otoreaktif olan hücrelerin temizlenmesini sağlar, 2- Periferik immün sistemde lenfositlerin birikimini engeller. Lenfosit apoptozisinden sorumlu olan esas ajan Fas reseptör ve onun ligandı olan FasL (CD95L)' dir. Karşılaşılan antijen miktarı apoptozisin başlatılmasında etkilidir. Ne kadar çok antijen varsa, TNF gibi ölüm sitokinleri ve bu sitokinlerin reseptörlerinin ekspresyonu da o kadar artar. Ortamda sürekli antijen olmasının lenfositlerin aşırı çoğalmasına yol açması apoptozisin başlaması ile engellenir. Hücre yüzeyinde bulunan TNF reseptörleri (TNFRs) ve Fas, belli aminoasid dizilimi ve homolojiyi paylaşırlar. Bu proteinlerin hücre dışı kısımları ligand bağlanma için önemlidir. Sitoplazmik bölümleri, ölüm bölgeleri içerir ve bu bölgeler apoptozisin başlaması için gerekli olan sitoplazmik sinyal proteinlerinin bağlandığı yerlerdir. Kaspazlar sistein içeren proteinazlardır ve kendilerini aspartat rezidülerinden bölerek aktif matür enzimleri oluştururlar. Bu aktif enzimlerde proteolitik olarak kaskattaki diğer protezları aktive eder. Bu kaskad mekanizmasının son üyeleri ise mitokondri ve kromozomal DNA'yı parçalar. Apoptotik hücredeki morfolojik değişiklikleri saptamak için ışık mikroskobu (IM), elektron mikroskobu (EM), flowsitometri (*Flow-cytometry*) kullanılmaktadır.

Apoptozis yaşamın sürdürülmesinde temel mekanizma olarak görülmektedir ve bu yüzden etyolojisini tam olarak açıklayamadığımız pek çok hastalığın aydınlatılmasında ve belki de tedavisinde ileride anahtar rol oynayabilecektir. Bugüne kadar yapılan çalışmalar apoptoziste oluşan bozuklukların nörodejeneratif hastalıklara, malignitelere ve otoimmün hastalıklara yol açabileceğini göstermiştir.

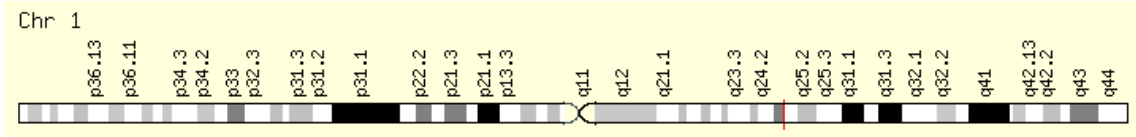
2.3 Fas ve FasL

Fas yani Apo-1 veya CD95 tip I hücre yüzey proteini olup 45-48 kDa büyüklüğünde TNF reseptör süper ailesinin bir üyesidir. 10. kromozomun uzun kolunda bulunur (10q24).^{77,88,98} 1989 yılında Trauth ve arkadaşları Apo-1 adını verdikleri bu proteinin lenfosit apoptozisini başlattığını buldular. 1992 yılında farelerde bu protein eksikliği gösterildi ve Fas (CD95) olarak adlandırıldı.⁸⁸ 1994 yılında Fas proteinini kodlayan gen klonlandı. CD34⁺ kök hücre, fibroblast, keratinosit, hepatosit, T ve B hücrelerinde bulunur. Aktive T hücrelerinde özellikle yüksek miktarlardadır.⁷⁷ Fas' ın çözünür formu yani solubl Fas dolaşımında dimer ve trimer şeklinde düşük konsantrasyonlarda bulunur (ng/ml konsantrasyonunda). Fas ligand (FasL), Fas' ın çapraz bağlantılı formudur. 40 kDa büyüklüğünde tip II membran proteinidir.^{77,88,98} Tam biyolojik aktivitede 26 kDa' lık monomer, proteolitik aktivitede 70kDa' lık homotrimer yapıda dolaşımında bulunur. FasL sitoplazmik, nükleer kondensasyon ve DNA fragmentasyonu ile karakterize apoptotik hücre ölümüne yol açan formudur. TipII pnömosit, bronşial epitel hücreleri, makrofaj, T ve B hücrelerinden eksprese edilir. FasL' nin extrasellüler bölgesi Fas (CD95)' a bağlanır ve bu bağlanma aktive edilmiş hücrede Fas ekspresyonunu başlatarak apoptozisi indükler. FasL ve Fas etkileşimi immün özelliklerin ve önceliğin korunmasında çok önemli rol oynar. Buna ek olarak kanser hücrelerinin bağışıklık sistemine yönelik davranışını da etkiler ve periferik immün toleransın sürdürülmesine yardımcı olur. FasL' nin rolü yapılan çalışmalara rağmen tamamıyla anlaşılamamıştır.⁷⁸ Aktive hücrelerin apoptozis yoluyla yok olmaları immün sistemde potansiyel otoreaktif T ve B lenfositlerini önceden elimine etme şeklinde algılanmalıdır. Buna ek olarak testisteki sertoli hücreleri ve gözün anterior tabakasındaki parankimal hücreler gibi immünolojik öncelikli bölgelerde yerleşmiş hücrelerin FasL eksprese ettikleride tespit edilmiştir. Üzerinde Fas taşıyan aktif T hücrelerinden herhangi biri böyle bir bölgeye girerse hemen FasL salgılayan hücreler tarafından fark edilir ve bir ölüm sinyali olur, böylece immün cevap korunmuş olur. İmmün toleransın sürdürülmesinde ve otoimmün hastalıklardan korunmada FasL ve Fas etkileşiminin oynadığı kritik rol, Fas veya FasL genlerindeki mutasyonların lpr/lpr (*lymphoproliferation*) ve gld/gld (*generalised lymphoproliferative disease*) farelerde otoimmün hastalık başlatıcı olarak etkili olduklarının gösterilmesi ile aydınlatılmıştır.

İnsan otoimmün lenfoproliferatif sendromu (ALPS veya Canale Smith sendromu) lenfosit apoptozisinin defekt işlemesiyle (hatalı ve eksik) lenfosit akümüasyonu ile karakterize olup hümmoral otoimmünite olgusunda Fas' taki mutasyonlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir.^{41,102} FasL gen mutasyonu bir hastada SLE ile birlikte gösterilebilmiştir.⁴¹ Bu bulgular immün toleransın sürdürülmesi ve insanda otoimmün hastalıklara karşı korunmanın gerçekleştirilmesi yönünden Fas ve FasL etkileşiminin nedenli önemli olduğunu vurgulamaktadır.

Otoimmün hastalıklar anormal miktarlarda immün kompleks birikimleri ile karakterizedir. Bu tip birikimler aşırı immün kompleks oluşmasından, dengesiz antikor üretiminden, FasL eksikliğinden, Fas reseptör anomalilerinden kaynaklanıyor olabilir. FasL' yi tutma veya bırakma yönünde yetersiz kalan reseptörler T hücre aktivitesini baskılamakta yetersiz kalarak sonuçta immün kompleks birikintisi oluşmasına yol açabilirler. Bu tip anormal immün kompleks birikimleri Fas defekti sonucu ortaya çıkan yetersiz apoptozis ile ilişkili olabilir.^{40,44}

İnsan FasL genleri 4 ekzon taşır ve 1q23 kromozomu üstünde yaklaşık 8 kba' lık bir alan kapsar (Şekil-3).⁸⁸



Şekil-3: FasL genlerinin bulunduğu kromozom⁸⁸

Bu bölge 1q kromozomunun üzerinde fare lupus hassasiyeti lokusu ile benzerdir. Bir çok gende ki bunlar arasında CRI, FcyRIIA, FcyRIIIA, PARP gibi çok önemli immünolojik fonksiyonlar veya DNA tamir mekanizması ile ilgili aktivite gösterenlerde bulunur polimorfizm görülmektedir. 1q kromozomundaki bu genlerin SLE ile ilişkisi ispat edilmiştir. Kısa bir süre önce insan melanom, hepatosellüler karsinom, akciğer kanseri, astrositom, özefagus karsinomu, mide adenokarsinomu ve kolon karsinomlarında da FasL' nin eksprese edildiği gösterilmiştir.^{39,40,79,80,81} Yine kısa bir süre önce elde edilen bulgulara dayanılarak tümör infiltre lenfositlerin (TILs) Fas aracılığı ile gerçekleştirilen karşı ataklara hassas oldukları kabul edilmektedir. Özefagus

kanseri dokusunda TILs' in apoptozisinin kapsamının tümör ile ilgili çok bölgesel bir olgu olarak gerçekleştiği ve bunun lokal FasL ekspresyonunun bir sonucu olduğu bulunmuştur.^{39,44} FasL' nin tümör hücrelerinin bulunduğu bölgede lokal eksprese edilmesi TILs' in apoptotik depleasyonu ile bağlantılıdır. Bu lokal savunmaya ek olarak FasL ekspresyonu karaciğer gibi dokularda metastaz gelişmesine de olumsuz etki yapmaktadır. Çünkü bu bölgelerde de normal hücrelerin kendileri de FasL' ye hassastırlar. Tümörögenesitik özelliklerle FasL ekspresyonu arasındaki bu belirgin ilişki FasL' nin malign melenomanın teşhisinde bir marker olarak kullanılabileceği yönünde düşünceleri kuvvetlendirmiştir.¹⁰¹ Her ne kadar iyi hemostazis ve immün öncelikli yerler ile kanser immünitesi konularında FasL' nin fizyolojik önemi tam olarak anlaşılmamış ise de bu hücre tiplerindeki FasL ekspresyonunun regülasyonu hakkındaki bilgilerimiz de çok azdır. Bildirildiğine göre NF-kB, NF-AT, Egr-3 ve birkaç bilinmeyen regülatuar elemanlarının FasL promoterindeki etkinliklerinin Jurkat T hücrelerinde Fas-L ekspresyonunun regülasyonunda etkili oldukları görülmektedir. Fas-L promotor bölgesinin hem T hücrelerinde hemde kanser hücrelerinde Fas-L ekspresyonunu etkileyebilecek doğal genetik varyasyonları hakkında da bilgimiz azdır. Dolayısıyla Fas-L ekspresyonu kolon tümörlerini Fas sensitive antitümör immün efektör hücrelere karşı, karşı atak yapma şansı kazandırır ki bu hücreler Fas ilişkili apoptotik ölüm sinyali yayarlar. Fas-L eksprese eden kolon kanseri hücreleri normal hepatositlerin apoptotik ölümlerini indükleyerek lokal tümör oluşumunu destekledikleri ve bilhassa kolorektal hepatik metastazların tümör kökenli hepatositlerinde etkili oldukları gösterilmiştir.^{80,81,103,104}

2.3.1 Tek Nükleotid Polimorfizmleri ve Klinik Önemleri

Bir genin belli bir lokusta yer alan alternatif kopyalarından her birine allel adı verilir. Alleller genel popülasyonda % 1' den daha fazla sıklıkta bulunuyorsa, bu durum “genetik çeşitlilik (genetik polimorfizm)” olarak adlandırılır. Aksine, alleller % 1' den daha az sıklıkta ise “nadir değişimler” olarak isimlendirilir. Tek nükleotid polimorfizmleri (*single nucleotide polimorfizm*, SNP) genomda spesifik bir bölgedeki tek bir bazda meydana gelen değişikliktir.⁹⁹ SNP insan genomundaki en basit ve en yaygın genetik polimorfizm çeşididir. Çoğunlukla her iki allelde de meydana gelir.

İnsanlarda her 1000 bazda bir görölme sıklığı vardır. Varyasyonun SNP olduğunun düşünölebilmesi için, populasyonun en az % 1' inde bulunması gerekmektedir.⁹⁹ SNP' ler insan genetik varyasyonlarının % 90' ını oluştururlar. Genelde her üç SNP' den ikisi Sitozin' in (C) Timin' e (T) değışimini içermektedir.⁹⁹ Polimorfizimler genin farklı kalıtsal formlarını veya genomun farklı bölgelerini ayırt edebilmek için kullanılmaktadır. Genetik belirleyiciler tıbbi genetikte kullanılırlar. Polimorfizm bu açıdan bir genetik marker gibi görev yapmaktadır: Genlerin haritalanması, genetik hastalıkta doğum öncesi tanı, genetik hastalıklarda heterozigot taşıyıcıların belirlenmesi, koroner kalp hastalığı, kanser, diyabet, otoimmün hastalıkların değerlendirilmesi gibi. Yapılan çalışmaların bir diğer hedefi teşhis veya önceden ortaya konabilecek bir bulgu şeklinde bir metod geliştirmektir.⁹⁹

2.3.2 Fas, FasL Polimorfizmleri

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda (otoimmün hastalıklar, infeksiyon hastalıkları, transplant redleri, immün sisteme dirençli tümörler gibi) Fas veya Fas ligand promotor bölgelerinin nükleotid dizilerinin tanımlanması ile tek nükleotid polimorfizminin varlığını araştırmak hedefi güdülmektedir.

Fas üzerinde tek nükleotid polimorfizmi olarak 30' a yakın polimorfizmler bildirilmiştir.⁸⁸ (19364A>T, 14234A>G 11686A>T, 10132A>G, 9680A>C, 9259G>A, 5503C>T, 3464A>C, 1897T>C, 690C>T, 670A>G, 663T>C, IVS1+853....gibi) Her SNP' nin klinik önemi ayrıdır. Fas CD95 geninin 5' promotor bölgesindeki 670A>G tek nükleotid polimorfizmi bir A/G transisyonudur (A → G). Fas-670A/G' deki bu tek nükleotid polimorfizmi transkripsiyon aktivatör ve sinyal transduceri (signal transducer and activator of transcription-1, STAT-1) protein bağlayan elementi parçalar. Böylece hem promotor aktivitesi hemde FasL ekspresyonu azalır. Kanemitsu ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 109 SLE' li hasta ve 140 sağlıklı kontrol grubu alınmış. Bu çalışmada 670-A/G polimorfizmi olan SLE' li hastalarda A allelinin sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek frekansta bulunduğu saptanmış.⁸⁵ FasL için 18581T>G, 15100A>G, 844T/C, 9210C>T, 2384T>C, IVS2-1417A>G, IVS2-871A>C, IVS2-124A>G gibi tek nükleotid polimorfizmleri bulunmuştur. FasL 5' promotor bölgesinin -

844. nükleotid pozisyonunda T/C transisyonu saptanmıştır (T → C).⁸⁷ Bu bölge transkripsiyon faktörü olan CAAT/ protein β bağlayan arttırıcı faktör için bir bağlayıcı motiftir ve bu transisyon sonucu sentezlenen protein CAAT/ protein β bağlayan arttırıcı faktör (CAAT/Enhancer binding protein β=C/EBP β) için yıkıcı etki yaratır.⁸⁷ Chen JY ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Tayvan' lı 260 SLE' li hasta ile 280 sağlıklı kontrol grubu FasL-844C/T polimorfizmi araştırılmak üzere karşılaştırılmış. Bu çalışmada CC genotipinin SLE' li hastalarda predominant olduğu ve FasL-844C/T polimorfizminin hastalıkla ilişkili bulunduğu saptanmış.¹⁰⁵ Jiaming Wu ve arkadaşları FasL-844T/C polimorfizmini Afrika kökenli Amerikalı 211 SLE' li hastada ve 150 aynı etnik gruptaki sağlıklı kontrol grubunda çalışmışlar. Bu çalışmada 844C genotipinin 844T genotipine göre 2 kat daha fazla bazal aktivite gösterdiği ve buna bağlı olarak FasL' nin bazal ekspresyonunun periferik kan fibrositlerinde arttığını bulmuşlar. FasL' nin bu artışının FasL ilişkili sinyalleşmeyi değiştirdiği ve otoimmünite için artmış bir risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir.⁸⁷ Diğer taraftan Takeshi Kojima ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada FasL polimorfizminin yada FasL mutasyonunun SLE' de tanımlanmış ve SLE patogenezi için katkıda bulunan major faktör olmadığını göstermişlerdir.⁴⁴ Fas-L promotörü yüksek düzeyde polimorfik olup bu polimorfizm çeşitliliği kanser hücrelerinde Fas-L ekspresyonunun regülasyonunda da etkilidir.^{43,80,81}

2.4 Apoptozis ve SLE

2.4.1 Apoptozis ve Hayvan Modelleri

Fonksiyonel etkin apoptotik metabolizma yoluyla immün hemostazın korunması ve otoimmünitenin önlenmesi ile ilgili birçok çalışmalar yapılmış. Bu çalışmalarda farelerde oluşturulan lupus incelenmiştir. Geçmişte hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda SLE' nin patojenitesi araştırılırken fare modellerinde MRL-1pr/1pr (*lymphoproliferation*), CBA-1pr^{cg}/1pr^{cg} ve C3H/Hej-gld/gld (*generalised lymphoproliferative disease*) baz olarak kullanılmıştır. Spontan olarak lenfadenopati ve otoimmün bozukluklar gösteren hayvanlarda nükleer antijenlere karşı otoantikorların mevcudiyeti gösterilmiştir.³² Bu anormalliklerin moleküler temelinde Fas aracılığıyla

ortaya çıkan bir apoptozis defekti yatmaktadır. MRL-1pr/1pr farelerde Fas molekülünde bir mutasyon vardır ve genetik şekli ne olursa olsun bu mutasyon sonucunda bir yerdan anormal *spliced* mRNA ürettiği gibi, yine fonksiyonel Fas mRNA miktarında aşırı azalma görülmektedir. C3H/Hej-gld/gld (*generalised lymphoproliferative disease*) farelerde fonksiyonel Fas ligandı (FasL) eksikliği vardır. Bunun tek baz mutasyonundan kaynaklandığı kabul edilir.^{33,34} Fas ve FasL’deki hasarlar sonuçta periferik otoreaktif hücre eliminasyonunda yetersizliğe yol açar.³⁵ Fas tarafından indüklenen apoptozisin otoimmün hastalıkların gelişmesini ortaya koyan bulguda, çözümler Fas (solubl Fas, sFas) grubunun keşfedilmesi ile ortaya çıkarılmıştır.³⁶ Çözümler Fas, Fas mRNA’ının transmembran parçası olmayan bir transkript şeklindedir. Çünkü bu molekülde bu bölgeyi kodlayan ekzon delesyonuyla kaybolmuştur. CD1 gibi bazı fare suşlarının dışı olanlarına sFas enjekte edildiği zaman Fas tarafından indüklenen apoptozisin bloke olması nedeni ile otoimmün rahatsızlık gelişmeye başlar.³⁶ Özet olarak hayvan modellerinden elde edilen veriler göstermektedir ki apoptozis oluşumundaki değişiklikler (indüksiyon) otoimmün hastalığın gelişmesini desteklemektedir. Özellikle otoreaktif lenfositlerin apoptozisinin yokluğu belirli hayvan modellerinde otoimmüniteyi tetiklemektedir. Bu çalışmalar apoptotik hücreler ve bunların dağılım düzeyinin otoimmün fenomenin gelişmesindeki rollerinin daha iyi anlamamıza yardımcı eder. Önce şunu belirtmeliyiz ki; apoptotik hücre sayısında fazla miktarda artış görülmesi bağışık cevapta bir bozukluğa neden olur. Mevorach ve arkadaşları göstermiştir ki, normal farelerin büyük bir kısmında intravenöz verilmiş apoptotik timositler nükleer antijenlere karşı otoantikor üretimine yol açmaktadır.⁷⁰ Buna ek olarak bazı çalışmalarda apoptotik hücre eliminasyonunun oluşum şekillerinde belirginleşmiştir. Bazı serum proteinleri apoptotik hücrelerin yüzeyindeki bölgelere (blep) bağlanmaktadır.⁷¹ Serum amiloid protein (SAP) extrasellüler çift iplikli DNA ve kromatine bağlanır. Bunlar normal fizyolojik koşullarda apoptotik bleplerde de vardır.⁷¹ Bu bulguların fonksiyonel önemleri ve davranışları selektif gen delesyonu taşıyan farelerde gösterilmiştir.^{72,73} Kısa bir süre önce yapılan bir çalışmada apoptotik hücrelerin eliminasyonu ile onlara ait antijenik yapıların SLE’ nin patojenitesi yönünden ilişkisi DNase I eksik farelerde gösterilmiştir.⁷⁵ DNase I, DNA’ının nükleoprotein kompleksinden sökülmesini koruyucu bir etken olarak önlemekte, böylece bağışık cevap uyarısının oluşmasını engellemektedir. Zira DNase I’ in

delesyonu klasik SLE semptomlarının ortaya çıkmasına neden olur ki bunlar arasında antinükleer antikorlar ve glomerulonefrit vardır.⁷⁵

2.4.2 Apoptozis ve İnsan Modelleri

1pr (*lymphoproliferation*) ve gld (*generalised lymphoproliferative disease*) farelerinde otoimmün lenfoproliferatif sendromların sadece bir tek gen defektine bağlı olabileceği gösterildikten sonra, insandaki Fas veya FasL fonksiyonel defektlerinin ortaya çıkarılması ile ilgili çalışmalar başlatılmıştır. Aslında bazı ailelerin Fas^{38,39} veya FasL⁴⁰ ile ilgili mutasyonlar gösterdiği kaydedilmiştir. İnsanlarda Fas apoptotik metabolizmasında defekt olduğu zaman otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS) adı da verilen splenomegali ve lenfadenopati ortaya çıkmaktadır. Bu bulguya Canale-Smith sendromu da denir.^{38,42} ALPS malign olmayan lenfadenopati, hepatosplenomegali, otoimmün bulgularla giden bir hastalıktır. Lenfositlerin hücre yüzey reseptörü Fas' ın ligandı olan FasL ile etkileşmesiyle indüklenen ve lenfosit apoptozisini sağlayan genlerdeki kalıtsal mutasyonlar sonucu hücre ölümündeki bozuluktan kaynaklanan bir hastalıktır. Bunun sonucu olarak lenfoid kitlede artış ve dolaşımda otoreaktif hücreler bulunur. ALPS' si olan çoğu hastada Fas geninde defekt vardır. Bu güne kadar üç farklı proteini kodlayan 3 farklı mutasyon tanımlanmıştır. ALPS' nin en sık rastlanan şekli heterozigot fas mutasyonları olandır. Fas geninin en çok mutasyona uğrayan bölümü ölüm bölgelerini kodlayan kısmıdır. Farelerdeki modellerin aksine insanlarda otoimmün fenomen ender görülmektedir.⁴³ Toplam 218 lupus hastasında iki araştırma süresince Fas genlerinde defekt taraması yapılmış, bir tek hastada mutasyon bulunmuş ve buda mutasyonla hastalığın ortaya çıkışının son derece alışılmadık bir durum olarak değerlendirilmiştir.^{41,44}

SLE' nin apoptotik mekanizmasındaki fonksiyonel defektlerin araştırıldığı diğer birçok çalışmada da herhangi bir anormallik gösterilememiştir.^{45,46} SLE hastalarında sFas' ın araştırıldığı ve ölçüldüğü çok sayıda çalışma vardır. SLE hastalarında sFas' ın düzeyinin ölçüldüğü çalışmalar, lupus hastalarında sFas düzeyinin arttığını göstermiştir. Dolayısıyla hastalığın aktivitesi ile sFas düzeyi arasında bir ilişki bulunmaktadır.^{47,48} sFas düzeyinde yükselmenin hastalığın ortaya çıkmasından önce saptanabilecek bir

parametre olduğu ve B lenfositlerin aktivasyon düzeyi ile ilişki kurmamızı sağladığı bulunmuştur.^{48,49}

Cheng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda sFas' ın Fas aracılı apoptozisi inhibe ettiği yönündeki bulguların aksine SLE hastalarında sFas' ın Fas tarafından indüklenmiş apoptozisi önemli ölçüde bloke etmediği görülmüştür.³⁶ Apoptotik lenfositlerin sayıları SLE hastalarında hem invivo hemde invitro olarak sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunmaktadır.^{45,50,51} Dolayısıyla sFas' ı yüksek olan hastaların periferik kanlarında da apoptotik lenfosit sayılarında artış olduğu gösterilebilir.⁵² Belki de sFas düzeyi, artmış lenfosit aktivasyonunun bir yansımasıdır. Farklı olarak, hastalığın inaktif devresinde de gerek B lenfositlerin, gerekse T lenfositlerin aktive olmuş şekillerinin oranlarında bir artış olduğu ve SLE hastalarının periferik kanlarında bu durumun gösterilmesi mümkün olmuştur.^{46,53} Bu hastalığa tutulabilecek hastalardaki en önemli bulgu budur. Lenfosit aktivasyonu membran Fas' ların ve alternatif *splice* form şeklindeki sFas' ların transkripsiyonunda artış sonucunu doğurmaktadır. Bu sebepten bu hastalığın aktivitesi ile sFas düzeyi arasında ilişki doğmaktadır. Dolayısıyla uzun süreç içerisinde sFas düzeyleri ile organ hasarları arasında gelişen bir ortaklık ve paralellik şeklinde ortaya çıkan bir durum hastalarda, bu hastalığın aktivitesini belirleyici olmaktadır. sFas düzeyleri ile organ hasarları arasındaki ilişki *SLICC* (*Systemic lupus erythematosus international collaborating clinics*) skoru ile ölçülür.⁵⁴ sFas' ın sadece lenfosit aktivasyonunu yansıtan bir molekül olduğu hipotezi çerçevesinde düşünüldüğünde bunun SLE için spesifik olmayıp, Romatoid artrit hastalarında da yükselmiş sFas düzeyinin olması nedeniyle bu düşüncenin desteklendiği görülür.^{52,55} Sonuç olarak özellikle SLE hastalarında lenfosit aktivasyonu sFas ve apoptozis arasındaki kompleks mekanizmaya bağlı olduğu kabul edilmelidir. Birçok faktörün bu ilişkiyi etkilediği farz edilir. SLE hastalarında Bcl-2 gibi protoonkogenlerin arttığı gösterilmiştir.^{37,38,56,57} Buna ek olarak sFasL düzeyindeki artış ve poliADP riboz polimeraza (PARP) karşı antikörlerin varlığı SLE hastalarındaki apoptozis ile ilgili bulguları etkileyebilir.⁵⁸ PARP DNA kopuklarının tamiri için gereklidir ve apoptotik mekanizmanın çalışması için apoptozisin erken verilerinde inaktif hale getirilir. Eğer PARP' a karşı antikör varsa bu aktivasyon bloke olur ve gerçekte bu olgu SLE hastalarında gösterilebilmektedir.⁵⁹ Şu anda her ne kadar hayvan çalışmalarında başka düşünceler ve bulgular ortaya konmuş ise de insanda SLE' nin apoptotik

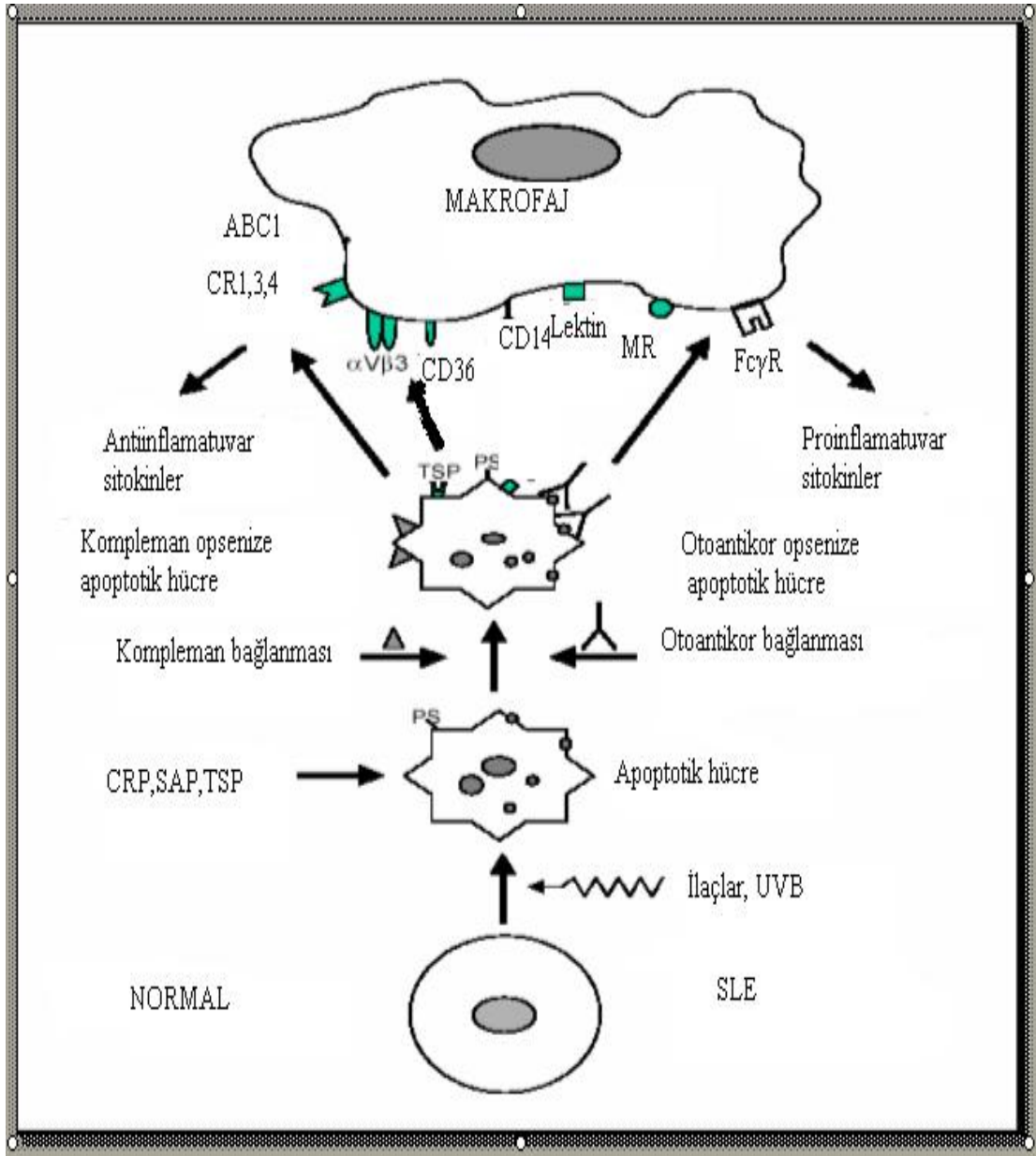
metabolizmasında (Fas aracılı) genetik bir eksiklik tespit edilememiştir. Dolayısıyla otoreaktif lenfositlerin eliminasyon mekanizmasının en etken faktörü olarak apoptozisin indüklenmesinde kalıtsal herhangi bir eksikliğin insan otoimmün hastalıklarının gelişmesinde bir ön koşul oluşturmadığı açıktır. Bunun aksine insan SLE' si ile yapılan çalışmalar göstermiştir ki özellikle artmış sFas düzeyleri ve artmış Bcl-2 ekspresyonu gibi apoptozis indüksiyonunu inhibe edebilecek faktörlerin bulunduğu ortamda bile apoptotik hücre düzeyinde artış olduğu gösterilmektedir.^{56,57} Apoptotik hücre düzeyinin arttığına dair bulgu muhtemelen invivo aktivasyonunun artması ve Fas aracılı lenfosit apoptozisinin bir sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır. Kısa bir süre önce klorpromazini Fas' a bağlı olmaksızın lenfosit apoptozisinde artış yaratarak lupus eritematozusu indüklediği bulunmuştur.⁶⁰ Birlikte düşünülürse lupus hastalarından elde edilen verilerle Fas aracılığıyla veya diğer bir yolla apoptoziste bir artış ortaya çıkmasının otoimmüniteyi tetikleyebileceği kabul edilir.

2.4.3 Apoptotik Hücrelerin Fagositozu

SLE hastalarının periferik kanında gösterildiği gibi, apoptotik hücrelerin düzeyindeki artış indüklenmiş hücre ölümünün aktivasyonunda bir artış anlamında gelebilir. Ancak apoptozis fizyolojik bir mekanizma olup belirli düzeyde sürekli cereyan eden bir olaydır. Örneğin hergün vücut ağırlığımızın kilogram başına 2×10^9 apoptotik nötrofil dolaşım kanından uzaklaştırılmaktadır.⁶¹ Apoptotik hücrelerin yok edilmesi, profesyonel veya yarı profesyonel fagositler örneğin monosit ve makrofajlar tarafından fagositoz yoluyla gerçekleşmektedir.⁶² Sitolitik enzim benzeri toksik hücre içeriğinin dışarıya kaçması tehlikesi olduğunda apoptotik hücrelerin hızla yok edilmesi çok önemlidir. Üstelik apoptotik hücrenin hücre membranından henüz serbest kalmış apoptozis antijenlerin bu süreç sırasında ortamda bulunacağı da unutulmamalıdır.⁶³ Şu halde apoptotik hücrelerin uygun hız ve miktarda dolaşımdan uzaklaştırılmaları otoantijenik etkiye karşı korunmak için çok önemlidir. Apoptotik hücrelerle diğer hücreler arasındaki etkileşim çok karmaşık bir olgudur ve apoptotik hücrelerin eliminasyonu için elzemdir.⁶⁴ Monositler ve makrofajlar sürekli olarak CD14, CD36 ve çöpçü (scavenger) reseptörleri gibi birkaç reseptörü salgılamaktadır. Bunların hepsi

apoptotik hücrelerin tanınması, bunlara bağlanma ve bunların nötralizasyonu için önemlidirler.^{64,65} Apoptotik hücreler bu reseptörlere bağlanır bağlanmaz serumda bulunan birkaç protein eliminasyon prosesinde rol oynamaya başlarlar.(şekil-4)⁴⁶ Henüz apoptotik kaskadın başlangıcında hücre membranları değişir. Örneğin; fosfatidil serin hücre membranının dış yüzeyine aktarılır, bu gibi değişikliklere bağlı olarak C1q, C3, C4 ve C reaktif protein (CRP), serum amiloid protein P (SAP) ve fosfolipaz A2 gibi bazı serum elemanları apoptotik hücreye bağlanarak henüz anlayamadığımız bir mekanizma ile fagositler ile bu hücreler arasındaki etkileşimi idare ederler.^{66,67} Bunun ötesinde fagositoz olayı kendi fagosit davranışını modüle etmektedir. İn vitro olarak apoptotik hücrelerin yutulması insan makrofajlarında antiinflamatuvar sitokinlerin salınımını başlatmaktadır.⁶⁸ Buna ek olarak makrofajlar tarafından apoptotik nötrofillerin alınması 48 saat sonra oluşabilecek diğer bir uyarıda alınan hücre sayısını düşürmektedir.⁶⁹ Bu açıdan apoptozis hızındaki artışın fagositik sistemin apoptotik hücre ile dolup taşmasını engelleyen bir negatif feedback etkisi bulunduğu kabul edilebilir. Böylece apoptotik hücre düzeyindeki artışın yanında olumsuz düzeyde fagositik sistem kapasite düşüklüğü ve belkide bunlarla kombine olarak makrofajlar tarafından üretilen antiinflamatuvar mediatör düzeyinde üretim defekti bulunması SLE' nin ortaya çıkmasında önemli bir patojenik faktör anlamına gelmektedir. Apoptotik hücrelerin dağınık fagosit edilmesi insan otoimmün hastalıkları için belirleyici bir faktördür ve bu durum Hermann ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir.⁹² Bu araştırmacılar, SLE hastalarından aldıkları farklılaşmış makrofajların normal insanlardan alınan farklılaşmış makrofajlara göre çok yetersiz ve rastgele apoptotik hücre fagositozu yaptıklarını göstermişlerdir.⁹² C1q, C2 veya C4 gibi kompleman faktörlerinin genetik eksikliği bulunan ailelerde hasta üyelerinin büyük bir kısmında SLE spontan şekilde oluşmaktadır.

Marc Bijl ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda aktif lupusta T hücrelerinin apoptozisinin hızlanmasının genellikle Fas' ın hücrel ekspresyonunun artması ile ilişkili olduğu bulunmuş ve aktivasyon markeri olarak SLE' de FasL düzeyinin arttığı kabul edilmiştir.⁷⁶



Şekil-4: Makrofajda apoptotik hücrelerin fagositozu⁴⁶

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji-İmmünoloji Bilim Dalı'nda takip edilen 66 SLE'li hasta ve 30 sağlıklı kontrol grubu alındı.

SLE'li hastaların, hastalık aktivasyon düzeyini belirlemek için SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) kriterleri kullanıldı. Hastalık aktivite derecesi bu kriterlere göre 5 gruba ayrıldı. Bunlar:

0 puan: İnaktif

1-5 puan: Hafif derecede aktif

6-10 puan: Orta derecede aktif

11-19 puan: Yüksek derecede aktif

20 ve üzeri: Çok yüksek derecede aktif olarak kabul edildi.

Ayrıca hastalar; SLEDAI: 0 puan olanlar aktivasyonu olmayan ve SLEDAI > 0 puan olanlar aktivasyonu olan grup olmak üzere 2'ye ayrıldı.

SLE'li hastalarda, klinik parametreler olarak fotosensitivite, malar raş, diskoid raş, oral ülser, artrit, serozit, böbrek tutulumu ve hematolojik tutulumu bakıldı.

Hastalarda böbrek tutulumunun varlığının saptanması için, Esbach yöntemi ile 24 saatlik idrarda 0.5 gr/ gün üzerinde proteinüri olup olmadığına bakıldı.

Hastalarda eritrosit sedimantasyon hızı (ESR) ve C reaktif protein (CRP) ölçümü yapıldı. CRP, BNII (Dade Behring) marka cihazla, nefelometrik yöntemle; ESR, Alifax cihazıyla çalışıldı. Kompleman C3 ve C4 düzeylerine immunoturbidometrik yöntemle, Cobos Integra 800 (Roche) cihazıyla bakıldı.

ANA Hep-2 substratı içeren ticari kit (ASTRA, Italy) Anti-DNA Crithidia lucilia substratı içeren kit (Zeus Scientific Inc. NJ, USA) kullanılarak, immunfloresan yöntemle ölçüldü.

3.1 Serum Fas ve FasL Düzeylerinin Ölçümü

3.1.1 Serum Fas Düzeyinin Ölçümü

Serum solubl Fas (Apo1, CD95) düzeyinin ölçümü için, mikroelisa kiti (Biosource) kullanıldı.

3.1.1.1 Serum Fas Düzeyi için Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması

Yıkama solusyonu (25X): 100 ml konsantre yıkama solusyonu, 2.5 litre su içinde dilue edilerek hazırlandı.

Tüm serum örnekleri, sample dilüent ile 1/100 oranında sulandırıldı. (20 µl serum/ 180 µl sample dilüent)

3.1.1.2 Deneyin Yapılışı

Çalışmaya başlamadan önce, kit buzdolabından alındı ve oda ısısına gelmesi için 30 dk bekletildi.

1- Elisa plağının tüm kuyucuklarına 100' er µl kit kalibratörleri, kontrol ve hasta serumları konuldu.

2- Elisa plağının ilk kuyucuğu (blank) hariç tüm kuyucuklara 50 µl biotinli konjugat eklendi. Plağın üstü kapatıldı.

3- Plak oda ısısında 1 saat bekletildi.

4- 1 saatin sonunda, semiotomatik elisa yıkayıcısında, bütün kuyucuklar en az 400µl yıkama solusyonu ile 4 kez yıkandı. Son yıkamadan sonra, plak ters çevrilip, kurutma kağıdı üzerinde çırpılarak kuyucuklardaki sıvı tamamen uzaklaştırıldı.

5- 12 strip için; 120 µl HRP-Streptavidine 12 ml diluent buffer eklenen solüsyonu blank hariç tüm kuyucuklara 100 µl konularak üzeri kapatıldı. Oda ısısında 30 dk. bekletildi.

6- Tekrar yukarıda anlatılan yıkama işlemi yapıldı.

7- Bütün kuyucuklara, 100'er µL TMB (tetrametil benzidin) substrat solusyonu kondu , karanlıkta, oda ısısında30 dakika inkübe edildi.

8- Reaksiyonu durdurmak için, bütün kuyucuklara 100'er µl Stop solüsyonu ilave edildi.

9- Daha sonra, kalibratörlerin konsantrasyonlarına karşı mikroeliza cihazında (Bio –Tek Instruments INC, Winooski, VT, USA) otomatik olarak okunan optik dansite (OD) değerleri ile çizilen grafikten örneklerin serum Fas düzeyleri ng/ml cinsinden hesaplandı.

3.1.2 Serum FasL Düzeyinin Ölçümü

Serum solubl FasL düzeylerinin ölçümü için, mikroelisa kiti (Biosource) kullanıldı.

3.1.2.1 Serum FasL Düzeyi için Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması

Yıkama solusyonu (25X) : 50 ml konsantre yıkama solusyonu, 950 ml su içinde dilue edilerek hazırlandı. Solüsyonun Ph' sı 7,4 olarak ayarlandı.

Assay Buffer: 5 ml Assey buffera 95 ml distile su konularak 100 ml Assey buffer hazırlandı.

Substrat solüsyonu: Substrat solüsyonu 1' den 6 ml, substrat solüsyonu 2' den 6 ml alındı. Bunlar karıştırılarak 12 ml substrat solüsyonu hazırlandı.

Biotinli konjugat: 60 µl biotinli konjugata 5,94 ml assey buffer eklenerek 6 ml' lik biotinli konjugat hazırlandı.

Streptavidinli HRP için 60 µl HRP ve 12 ml'lik assey buffer karışımı kullanıldı.

3.1.2.2 Deneyin Yapılışı

Çalışmaya başlamadan önce, kit buzdolabından alındı ve oda ısısına gelmesi için 30 dk bekletildi.

1- Plak boşken hazırlanan yıkama solüsyonu ile tüm kuyucuklar 300 µl ile 2 defa yıkandı. Son yıkamadan sonra, plak ters çevrilip, kurutma kağıdı üzerinde çarpılarak kuyucuklardaki sıvı tamamen uzaklaştırıldı.

2- Blank ve standartlara 100 µl sample dilüent konuldu.

3- Stok solüsyonundan 1. standart kuyucuğuna 100 µl konuldu. Ardından geri kalanlara önceki kuyucuklardaki örnekten 100 µl konularak dilüsyon yapıldı.

4- Hasta ve kontrol serumlarının olduğu diğer kuyucuklara 50 µl sample dilüent konuldu.

5- Hazırlanan Biotinli konjugattan 50 µl, blank dahil tüm kuyucuklara eklendi, üzeri kapatıldı ve oda ısısında 100 rpm’de yatay çalkalayıcıda 2 saat inkübasyona bırakıldı.

6- 2 saatin sonunda 300 µl yıkama solüsyonu ile 4 kez yıkama işlemi yapıldı. Son yıkamadan sonra, plak ters çevrilip, kurutma kağıdı üzerinde çırpılarak kuyucuklardaki sıvı tamamen uzaklaştırıldı.

7- Yıkama işlemi sonrası blank dahil tüm kuyucuklara hazırlanan 100 µl Streptavidin HRP eklenerek üzeri kapatıldı. Oda ısısında 1 saat yatay çalkalayıcıda bekletildi.

8- Tekrar yıkama işlemi yapıldı.

9- Yıkama sonrası TMB substrat solüsyonundan blank dahil tüm kuyucuklara 100 µl konuldu. Oda ısısında 20 dk. Bekletildi.

10- Reaksiyonu durdurmak için, bütün kuyucuklara 100’er µl Stop solüsyonu ilave edildi.

11- 30 dk. içinde, kalibratörlerin konsantrasyonlarına karşı mikroeliza cihazında (Bio –Tek Instruments INC, Winooski, VT, USA/ 450 nanometrede) otomatik olarak okunan optik dansite (OD) değerleri ile çizilen grafikten örneklerin serum FasL düzeyleri ng/ml cinsinden hesaplandı.

3.2 Fas-670A/G ve FasL-844T/C Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

DNA izolasyonu için, Miller ve arkadaşlarının tuz çöktürme (salting out) yöntemi modifiye edilerek aşağıdaki şekilde uygulandı.⁹⁵

1- Laboratuvara, mor kapaklı tüp içinde gelen, antikoagülanlı kan, yaklaşık 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildikten sonra, plazması atıldı, geriye kalan kısmı pipetle iyice homojen hale getirildi.

2- 1,5 ml'lik bir ependrof tüpe, 900 µl 1X eritrosit lizis buffer ve üzerine, 600 µl plazması uzaklaştırılmış kan ilave edilerek, iyice pipetlendi ve tüp arada bir alt üst edilerek, oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi.

3- 7000 rpm'de, 5 dakika santrifüj edildi ve üst sıvı atıldı.

4- Dipte kalan pellet üzerine, 900 µl X lizis buffer kondu ve iyice pipetlenerek pellet dağıtıldı.

5- 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve üst sıvı atıldı.

6- Pellet üzerine, 0,5 ml % 10 SDS ve 10 µl proteinaz K kondu, köpürtmeden iyice pipetlendi.

7- 65 °C'de yaklaşık 30 dakika, arada bir alt üst edilerek inkübe edildi.

8- Buzdolabında, 3-5 dakika beklettikten sonra, tüpe 200 µl 6M NaCl kondu ve iyice vortekslendi.

9- 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

10- Üst sıvı steril bir tüpe alındı ve üzerine 300 µl kloroform/izoamil alkol karışımı (24:1 oranında kloroform: izoamil alkol) konularak vortekslendi.

11- 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve üst sıvı döküldü.

12- Üst sıvı steril bir tüpe alındı ve üzerine 1:1 oranında % 100'lük etil alkol eklendi ve tüp altüst edildi. Bu arada, genomik DNA görüldü.

13- 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi, üst sıvı döküldü.

14- Tüpe 1 ml % 70'lik alkol kondu ve birkaç kez altüst edildi.

15- 14.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Ve tüp ters çevrildi, alkol döküldü. (Bu aşamada, DNA'nin kaymamasına dikkat edildi).

16- Tüp ters çevrildi, bir kurutma kağıdı üzerine konuldu ve alkolün uzaklaştırılması için yaklaşık 15 dakika bekletildi.

17- DNA üzerine, yeterince enjeksiyonluk su kondu, vortekslendi ve kısa bir süre santrifüj edildikten sonra 75-80 °C'de inkübe edildi.

18- DNA konsantrasyonu ölçüldükten sonra, elde edilen genomik DNA'lar kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

3.2.1 Polimorfizmlerin PCR-RFLP Tekniği ile Saptanması

Fas-670A/G polimorfizminin belirlenmesi için, Huang ve arkadaşlarının PCR-RFLP yöntemi ve FasL-844T/C polimorfizminin belirlenmesi için Sun ve arkadaşlarının PCR-RFLP yöntemi aşağıda belirtildiği şekilde modifiye edilerek uygulandı.^{93,94}

Bu polimorfizminin belirlenmesi için, gerekli primer dizileri (Fas-670A/G Forward: 5'-CTA CCT AAG AGC TAT CTA CCG TTC-3'', Fas-670A/G Reverse: 5'-GGC TGT CCA TGT TGT GGC TGC-3') (FasL -844T/C Forward: 5'-CAG CTA CTC GGA GGC CAA G-3', FasL -844T/C Reverse: 5'-GCT CTG AGG GGA GAG ACC AT-3') ve restriksiyon enzimleri Wang ve arkadaşlarının, Sun ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalardan seçilmiştir. Bu primerler ve elde edilen genomik DNA kullanılarak, incelenen bu 2 polimorfizm için PCR reaksiyon karışımları Tablo-6' da ve amplifikasyon sıcaklıkları ise Tablo 7 'de verilmiştir.

Tablo-6: Optimum Amplifikasyonun Gerçekleştirildiği PCR Reaksiyonu Karışımı

Reaksiyon karışımı	Miktar	Final konsantrasyon
10X PCR tamponu	2,5	1X
Magnezyum klorür (25Mm)	2,5	2,5 mM
Forward primer (5pmol)	1	5 pmol
Reverse primer (5pmol)	1	5 pmol
DeoksiNTP mix (25Mm)	0,2	0,2 mM
Tag DNA polimeraz (5U/µl)	0,2	1 U
DNA	1	200-500 ng
Steril bidistile su	16,6	

Tablo-7: Fas-670A/G ve FasL-844T/C Polimorfizmleri için PCR sıcaklıkları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık °C	Süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	94	2 dk	1
Denatürasyon	94	30sn	35
Annealing (primer bağlanması)	68/62*	1dk	
Extension (Zincir uzaması)	72	2dk	
Final extension	72	5dk	1

* Fas-670A/G için 68 °C, FasL -844T/C 62°C primer bağlanma sıcaklığı kullanılmıştır.

3.2.2 Amplifikasyon Ürünlerinin Kesilmesi

Fas-670A/G ve FasL-844T/C Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin belirlenmesi için sırasıyla, MvaI ve BsrDI restriksiyon enzimleri kullanıldı. Kesim reaksiyonu Tablo-8'de verilmiştir.

Tablo-8: Fas-670A/G ve FasL-844T/C tek nükleotid polimorfizmlerinin kesim reaksiyonu

Reaksiyon Karışımı	Miktar (µl)
Amplifiye ürün (PCR ürünü)	10
Steril bidistile su	7,5
10X tampon	2
Restriksiyon enzim (10U/µl)	0,5

Her bir mutasyon için, ayrı ayrı hazırlanan kesim reaksiyonu karışımı 37 °C’de bir gece inkübe edildikten sonra, 65 °C’ de 20 dakika bekletilerek enzim inaktive edildi. Elde edilen 20 µl’ lik ürün üzerine 3 µl 5X loading dye (bromfenol blue) ilave edildi ve ürünler % 3’ lük agaroz jeline yüklenerek 150 V’ da yaklaşık olarak 30 dakika elektroforeze tabi tutuldu. Daha sonra, agaroz jeline etidyum bromür ile muamele edildikten sonra DNA fragmanları UV ışık altında değerlendirildi. Fas-670A/G polimorfizminin tesbitinde kullanılan, primer çiftiyle yapılan amplifikasyon sonucu 332 baz çiftlik (bç) PCR ürünü elde edildi. İlgili restriksiyon enzimleri ile kesim sonucunda Fas-670GG örneklerde 189, 99 ve 44 bç’ lik üç bant, heterozigot (AG) olanlarda 233, 189, 99 ve 44 bç’ lik dört bant, homozigot AA örneklerde ise 233 ve 99 bç’ lik iki bant gözlemlendi. Fas-844T/C polimorfizminin tesbitinde kullanılan, primer çiftiyle yapılan amplifikasyon sonucu 401 baz çiftlik (bç) PCR ürünü elde edildi. İlgili restriksiyon enzimleri ile kesim sonucunda Fas-844 CC örneklerde 233 ve 168 bç’ lik iki bant, heterozigot (TC) olanlarda 401, 233 ve 168 bç’ lik üç bant, homozigot TT örneklerde ise BsrDI restiriksiyon endonükleaz enziminin tanıma bölgesi bulunmadığından 401 bç’ lik tek bant olarak amplifikasyon ürünü gözlemlendi.

3.3 İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel analizinde ‘SPSS (Statistical Packages of Social Sciences, SPSS for Windows, Version 16.0, Chicago, IC, USA) paket programı’ kullanıldı. Kesikli değişkenler (FAS, FASL, İlaç kullanımı gibi) sayı ve yüzde olarak, sürekli değişkenlerse (yaş, hastalık yaşı, FAS düzeyi gibi) ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum) olarak özetlendi. Kesikli değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Bazı sürekli değişkenlerin normal dağılım varsayımı sağlamaması nedeniyle bu sürekli değişkenler arasındaki korelasyon Spearmann Korelasyon katsayısı ile incelendi. Normal dağılım göstermeyen değişkenleri iki grup arasında karşılaştırmada Mann Whitney U testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 ($p < 0,05$) olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmaya 67 SLE' li hasta ve 30 sağlıklı kontrol alındı. Fas-670A/G, FasL-844T/C polimorfizmleri çalışılan SLE' li hastaların 1' inde ve sağlıklı kontrollerin 1' inde FasL-844T/C polimorfizmi bakılamadı. Hastaların 11' i erkek, 55' i kadındı. Kontrol grubunun 13' ü erkek, 17' si kadındı. (Şekil 5) Hasta grubunda ortalama yaş $33.5 \pm 10,8$, kontrol grubunda $33.4 \pm 7,2$ olarak hesaplandı. Tanı konulan yaş hasta grubunda ortalama 29, hastalığın süresi ortalama 57 ay olarak bulundu. Tüm grupların, demografik özellikleri Tablo 9'te gösterilmiştir.

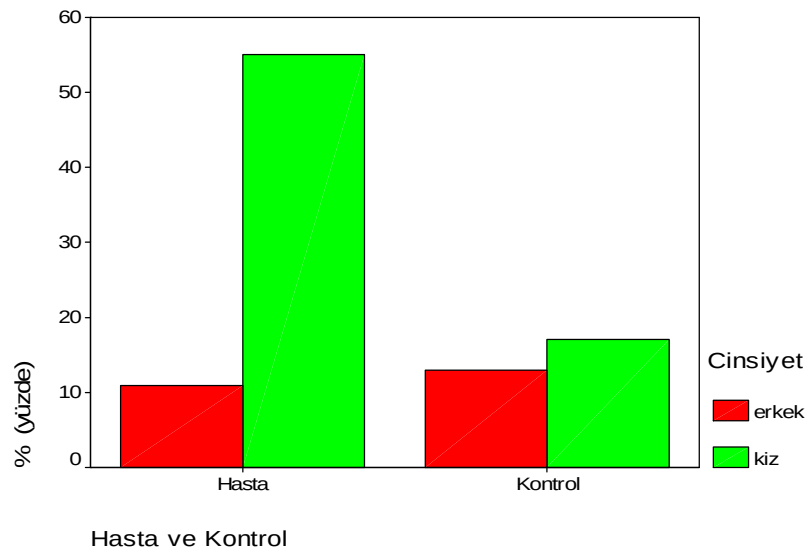
Tablo-9: Grupların Demografik Özellikleri

	Hasta	Kontrol
Yaş* (yıl)	$33,5 \pm 10,8$ 32 (18-58)	$33,4 \pm 7,2$ 34 (18-49)
Cinsiyet (E/K)	11/56 (% 16,7 / % 83,3)	13/17 (% 43,3 / % 56,7)
Hastanın Tanı Yaşı* (yıl)	$29 \pm 10,3$ 26 (14-53)	
Hastalık Süresi* (ay)	$57,9 \pm 73$ 36 (1-300)	

* Ortalama $\pm$ Standart Sapma, Ortanca Değer (Alt Değer-Üst Değer olarak gösterilmiştir).

Çalışmaya alınan SLE hastalarında klinik özelliklerin varlığına ve hastalık aktivasyon indeksine (SLEDAI) bakıldı. Bu parametreler tablo-10 ve tablo-11’ de gösterilmiştir.

Çalışmaya alınan SLE’ li 66 hasta ve sağlıklı 23 kontrolde Fas ve FasL düzeyleri ölçüldü. Tablo-12’ de değerler gösterilmiştir. Her iki grupta bakılan Fas, FasL düzeyleri arasında Mann-Whitney U testine göre istatistiksel farklılık saptanmadı.



Şekil-5: Grupların yaş dağılımı

Tablo-10: SLE' li hastalarda klinik özelliklerin varlığı

Klinik Özellikler	Yok n (%)	Var n (%)
Fotosensitivite	27 (% 40,9)	39 (% 59,1)
Malar Raş	25 (% 37,9)	41 (% 62,1)
Diskoid Raş	60 (% 90,9)	6 (% 9,1)
Oral Ülser	56 (% 84,8)	10 (% 15,2)
Artrit	26 (% 39,4)	40 (% 60,6)
Serozit	50 (% 75,8)	16 (% 24,2)
Böbrek Tutulumu	38 (% 57,6)	28 (% 42,4)
Nörolojik Tutulum	62 (% 93,9)	4 (% 6,1)
Hematolojik Tutulum	29 (% 43,9)	37 (% 56,0)

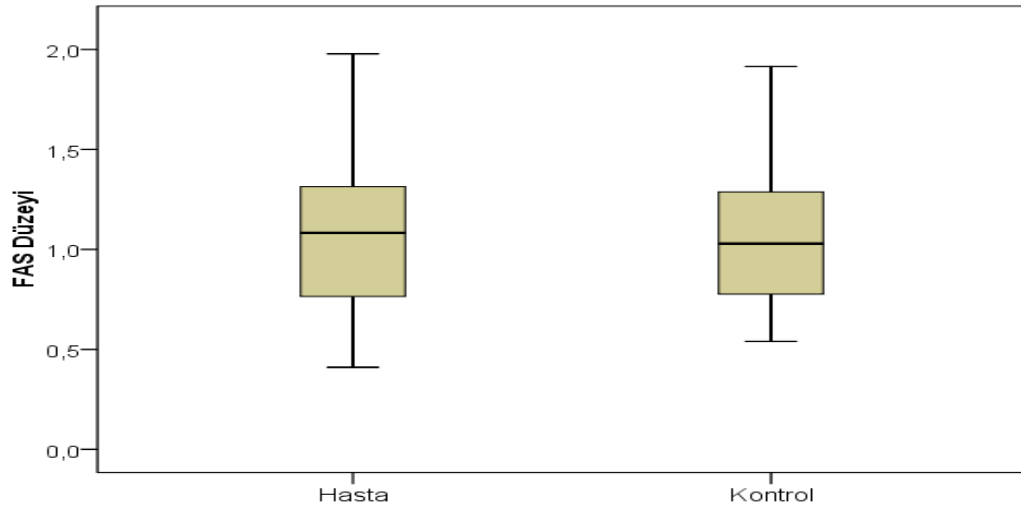
Tablo-11: SLEDAİ Değerleri

	Hasta (n:66) Ortalama değer±Standart sapma Ortanca değer(Minimum ve Maximum değerler)
SLEDAİ	1,15±1,29 1,0 (0,0-4,0)

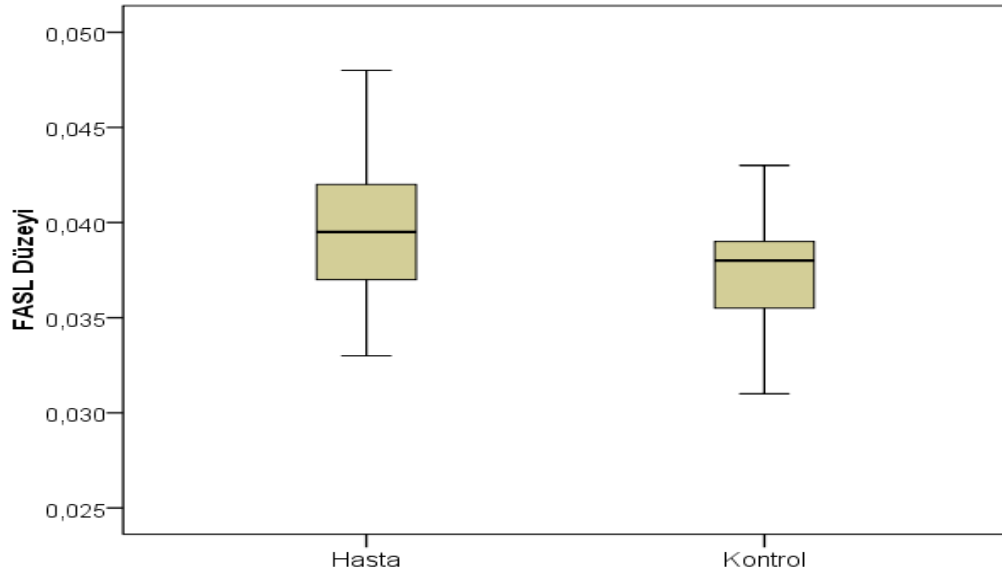
Tablo -12: Fas ve FasL düzeyleri

	Hasta (n=66) Ortalama değer±Standart sapma Ortanca (Min-Max)	Kontrol (n=23) Ortalama değer±Standart sapma Ortanca (Min-Max)
Fas düzeyi (ng/ml)	1,14±0,55 1,082 (0,41-3,039)	1,75±2,84 1,02 (0,54-14,3)
FasL düzeyi (ng/ml)	0,038±0,05 0,039(0,027-0,048)	0,037±0,038 0,038 (0,029-0,045)

Hasta ve kontrol grubu arasında Fas düzeyleri için t test yapıldı. p değeri 0,097 olarak bulundu. Bu da istatistiksel olarak anlamlı değildi. FasL için p değeri 0,606 olarak bulundu. Bu da istatistiksel olarak anlamlı değildi. SLE' li hasta ve sağlıklı kontrol grubunda şekil-6' da Fas düzeyinin ve şekil-7' de FasL düzeyinin grafiksel değerleri verilmiştir.



Şekil-6: Fas düzeylerinin gruplardaki grafiksel değeri (Fas düzeyi ng/ml, p:0,097)



Şekil-7: FasL düzeylerinin gruplardaki grafiksel değeri (FasL düzeyi ng/ml, p:0,606)

Hasta ve kontrol grubu arasında Fas-670A/G polimorfizmi yönünden yapılan ki kare analizi sonucunda istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır, p değeri 0,117’ dir. Tablo-13’ te Ki kare testi sonuçları gösterilmiştir.

Tablo-13: Fas-670A/G polimorfizmi için kıkare testi

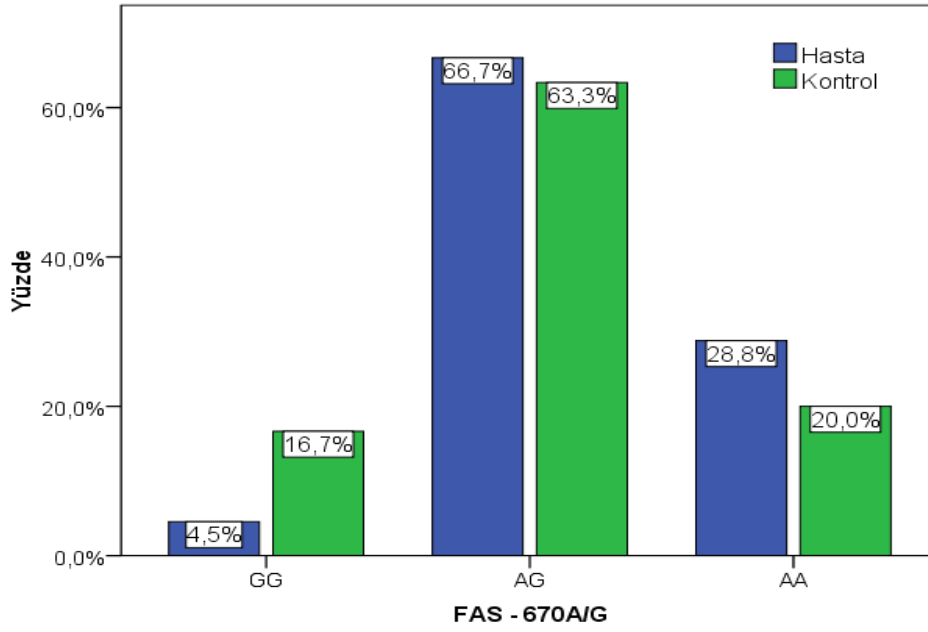
	Değer	df	p değeri
Pearson Chi-Square	4,283	2	,117
Likelihood Ratio	3,972	2	,137
Linear-by-Linear Association	2,856	1	,091
N of Valid Cases	96		

Fas-670A/G polimorfizmi için genotiplerin hasta ve kontrol grubundaki dağılımının çapraz tablosu tablo-14’ te gösterilmiştir. Her iki grupta da genotip oranları ortalama olarak birbirine benzer sonuçlardaydı.

Tablo-14: Hasta ve kontrol gruplarında Fas -670A/G polimorfizminin çapraz tablosu

			FAS			Toplam
			GG	AG	AA	
Hasta ve Kontrol Grupları	Hasta	n	3	44	19	66
		Beklenen Değerler	5,5	43,3	17,2	66,0
		% Hasta ve Kontrol Grupları içinde	4,5%	66,7%	28,8%	100,0%
		% FAS içinde	37,5%	69,8%	76,0%	68,8%
		% Toplam	3,1%	45,8%	19,8%	68,8%
	Kontrol	n	5	19	6	30
		Beklenen Değerler	2,5	19,7	7,8	30,0
		% Hasta ve Kontrol Grupları içinde	16,7%	63,3%	20,0%	100,0%
		% FAS içinde	62,5%	30,2%	24,0%	31,3%
		% Toplam	5,2%	19,8%	6,3%	31,3%
Toplam		n	8	63	25	96
		Beklenen Değerler	8,0	63,0	25,0	96,0
		% Hasta ve Kontrol Grupları içinde	8,3%	65,6%	26,0%	100,0%
		% FAS içinde	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% Toplam	8,3%	65,6%	26,0%	100,0%

Hasta ve kontrol grupları arasındaki Fas-670 A/G polimorfizminin genotip oranları şekil 8’ de gösterilmiştir.



Şekil 8: Fas-670A/G polimorfizminin genotiplere göre gruplarda dağılımı

SLE' li hasta ve sağlıklı kontrol grupları A alleli taşıyan ve taşımayan olarak iki gruba ayrıldı. SLE' li hastalarda A alleli taşıyanlar: 63 kişi, A alleli taşımayanlar: 3 kişi hasta, kontrol grubunda A alleli taşıyanlar: 25 kişi, A alleli taşımayanlar: 5 kişi olarak bulundu (Tablo-15). GG genotipine göre AG+AA genotipi yani A alleli taşıyanlarda SLE riski 4.2 kat artmıştır. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.062$).

Tablo-15: Her iki grupta A allellerinin dağılımı ($p=0,062$)

	SLE' li hasta	Sağlıklı kontrol
A alleli taşıyanlar	63	25
(AG+AA)	(% 95,5)	(% 83,3)
A alleli taşımayanlar	3	5
(GG)	(% 4,5)	(% 16,7)

SLE' li hasta grubunda Fas-670A/G genotipleri ile fotosensitivite varlığı, diskoid raş varlığı, malar raş varlığı, C3-C4 düzeylerinin düşük olup olmaması, ANA pozitifliği, Anti-DNA pozitifliği, hematolojik tutulum, nörolojik tutulum, artrit varlığı, hastalık aktivasyonu, proteinüri, ilaç kullanımları arasındaki ilişki için çapraz tablo yapıldı. Ki-kare testine göre p değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.($p>0,05$)

Hasta ve kontrol grubu arasında FasL-844 T/C polimorfizmi yönünden yapılan Ki kare analizi sonucunda istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır, p değeri 0,814' tür. Tablo 16' da ki kare testi sonuçları gösterilmiştir.

Tablo-16: FasL-844T/C polimorfizmi için ki kare testi

	Değer	df	p değeri
Pearson Chi-Square	,412	2	,814
Likelihood Ratio	,416	2	,812
Linear-by-Linear Association	,401	1	,527
N of Valid Cases	94		

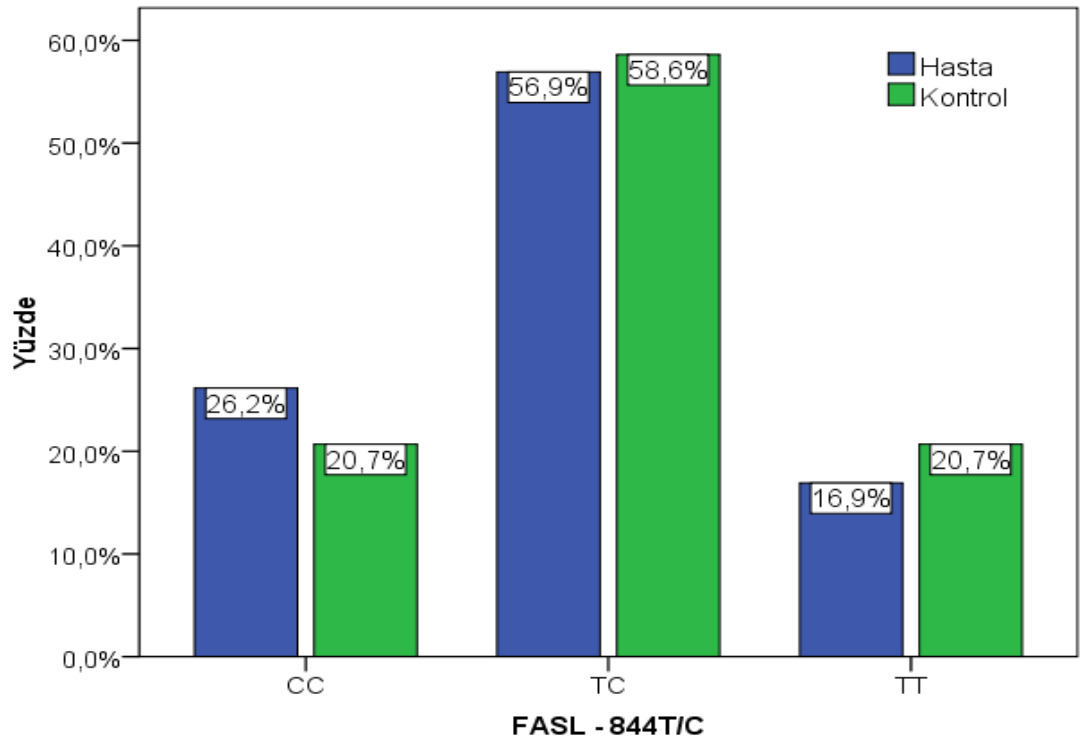
FasL-844T/C polimorfizmi için genotiplerin hasta ve kontrol grubundaki dağılımının çapraz tablosu tablo-17' de gösterilmiştir.

Tablo-17: Hasta ve kontrol gruplarında FasL -844T/C polimorfizminin çapraz tablosu

			FASL			Toplam
			CC	TC	TT	
Hasta ve Kontrol Grupları	Kontrol	n	6	17	6	29
		Beklenen Değer	7,1	16,7	5,2	29,0
		% Hasta ve Kontrol Grupları içinde	20,7%	58,6%	20,7%	100,0%
		% FASL içinde	26,1%	31,5%	35,3%	30,9%
		% Toplam	6,4%	18,1%	6,4%	30,9%
	Hasta	n	17	37	11	65
		Beklenen Değer	15,9	37,3	11,8	65,0
		% Hasta ve Kontrol Grupları içinde	26,2%	56,9%	16,9%	100,0%
		% FASL içinde	73,9%	68,5%	64,7%	69,1%
		% Toplam	18,1%	39,4%	11,7%	69,1%
Toplam		n	23	54	17	94
		Beklenen Değer	23,0	54,0	17,0	94,0
		% Hasta ve Kontrol Grupları içinde	24,5%	57,4%	18,1%	100,0%
		% FASL içinde	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% Toplam	24,5%	57,4%	18,1%	100,0%

SLE' li hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında FasL-844T/C genotip oranları şekil-9' da gösterilmiştir.

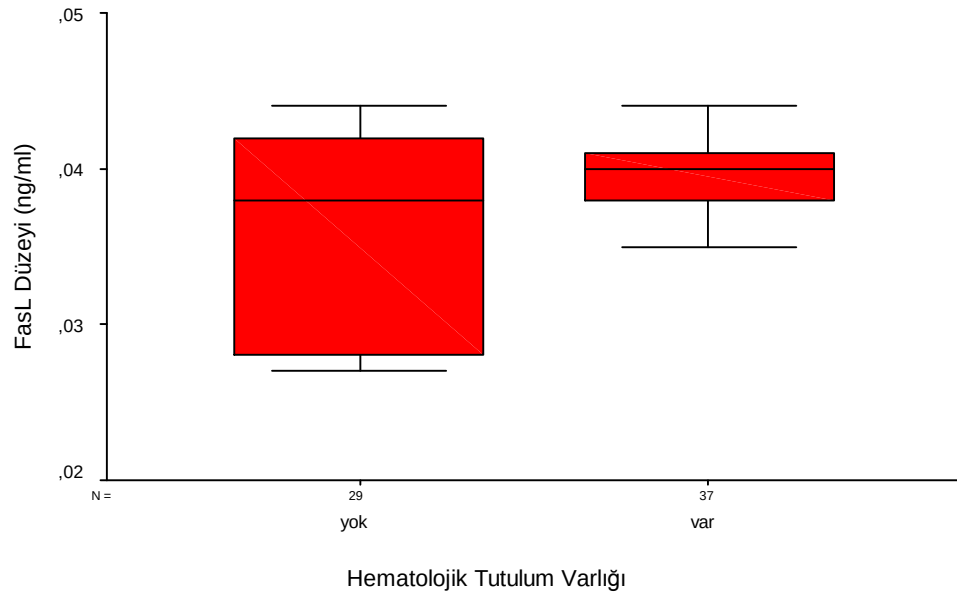
SLE' li hasta grubunda FasL-844T/C genotipleri ile fotosensitivite varlığı, diskoid raş varlığı, malar raş varlığı, C3-C4 düzeylerinin düşük olup olmaması, ANA pozitifliği, Anti-DNA pozitifliği, nörolojik tutulum, artrit varlığı, hastalık aktivasyonu, proteinüri, ilaç kullanımları arasındaki ilişki için T-testi yapıldı. İstatistiksel olarak anlamlı değer bulunmadı. Ancak FasL düzeyi ile hematolojik tutulum (anemi, trombositopeni, lökopeni gibi) olması arasında istatistiksel olarak p değeri:0,007 bulundu (Şekil 10 ve tablo-18).



Şekil-9: FasL-844T/C polimorfizminin genotiplere göre gruplarda dağılımı

Tablo-18: FasL düzeyi ile hematolojik tutulum

	Hematolojik tutulum	FasL düzeyi (ng/ml)	p değeri
Var	37 hasta (% 56,06)	0,0036	0,007
Yok	29 hasta (% 43,93)	0,0039	



Şekil-10: FasL ve SLE' li hastalardaki hematolojik tutulumun ilişkisi

SLE' li hasta ve sağlıklı kontrol grupları C alleli taşıyan ve taşımayan olarak iki gruba ayrıldı. SLE' li hastalarda C alleli taşıyanlar: 54 kişi, C alleli taşımayanlar: 11 kişi hasta, kontrol grubunda C alleli taşıyanlar: 23 kişi, C alleli taşımayanlar: 6 kişi olarak bulundu (Tablo-19). TT genotipine göre TC+CC genotipi yani C alleli taşıyanlarda SLE riski 1.28 kat artmıştır. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.066$).

Tablo-19: Her iki grupta C allellerinin dağılımı ($p=0,066$)

	SLE' li hasta grubu	Sağlıklı kontrol grubu
C alleli taşıyanlar	54	23
(TC+CC)	(% 83,1)	(% 79,3)
C alleli taşımayanlar	11	6
(TT)	(% 16,9)	(% 20,7)

SLE' li hasta grubunda Fas düzeyi ile SLEDAİ hastalık aktivasyon indeksi arasındaki ilişki incelendi.(Tablo-20) Sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,219).

Tablo-20: Fas düzeyi ve SLEDAİ arasındaki ilişki

FAS_DUZ					
	n	Ortalama	Standart Sapma	Ortalama Değer için %95 Güven Aralığı	
				Minimum	Maximum
inaktif	28	1,10154	,43312	,93359	1,26948
hafif derecede aktif(1-5)	16	1,20338	,58608	,89108	1,51567
orta derecede aktif(6-10)	12	,91192	,48036	,60671	1,21712
yüksek aktivite(11-19)	4	1,43800	,73811	,26350	2,61250
20 ve üzeri çok yüksek aktivite	6	1,47700	,87068	,56327	2,39073
Toplam	66	1,14627	,55393	1,01010	1,28245

SLE' li hasta grubunda FasL düzeyi ile SLEDAİ aktivasyon indexi arasındaki ilişki incelendi (Tablo-21). Sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,074).

Tablo-21:FasL düzeyi ve SLEDAİ arasındaki ilişki

FASL_DUZ					
	n	Ortalama	Standart Sapma	Ortalama Değer için %95 Güven Aralığı	
				Minimum	Maximum
inaktif	28	3,9000E-02	4,9925E-03	3,7100E-02	4,0972E-02
hafif derecede aktif(1-5)	16	3,4875E-02	6,6521E-03	3,1330E-02	3,8420E-02
orta derecede aktif(6-10)	12	3,8417E-02	3,6045E-03	3,6126E-02	4,0707E-02
yüksek aktivite(11-19)	4	3,8750E-02	1,5000E-03	3,6363E-02	4,1137E-02
20 ve üzeri çok yüksek aktivite	6	4,0333E-02	2,2509E-03	3,7971E-02	4,2696E-02
Toplam	66	3,8015E-02	5,1664E-03	3,6745E-02	3,9285E-02

SLE' li hastalarda Fas ve FasL polimorfizmleri ve SLEDAİ arasındaki ilişkiye bakıldı. Ancak istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı (p değeri>0,05).

Fas ve FasL düzeyleri ile hastalık süresi, proteinüri, ESR düzeyi, CRP düzeyi, C3 düzeyi, C4 düzeyi arasındaki ilişkiye Spearman Sıra Farkları Korelasyon Katsayısı ile bakıldı. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı.

Fas ve FasL düzeyleri ile Fas-670A/G ve FasL-844T/C polimorfizmleri arasındaki ilişkiye bakıldı. Ancak polimorfizmler ile düzeyler arasında ilişki saptanmadı.

5. TARTIŞMA

SLE' nin patogenezi multifaktöriyel ve multigenetiktir. Fas ve FasL genleri apoptotik genler olup SLE başta olmak üzere birçok otoimmün hastalığın patogenezinde önemli rol oynadıkları düşünülmektedir. FasL ekspresyonu aracılığı ile gerçekleşen tümör dirençliliği, otoimmün hastalık oluşumu ve enfeksiyon hastalıklarına dayanıksızlık gibi durumlar Fas veya FasL promotorlerindeki tek nükleotid polimorfizmi ile ilişkilendirilebilir. Bu polimorfizmler ile yapılan çalışmaların amacı immün cevabın feedback kontrolünde Fas ve FasL' nin oynadığı role dayanarak otoimmün hastalıkların erken teşhisi, yüksek risk taşıyan bireylerin tanımlanması, böylece erken ve agresif tedavinin yapılmasıdır. Otoimmün hastalıkların teşhisine yönelik yapılan bu çalışmalar ile aralarında SLE, Sistemik vaskülit, Otoimmün lenfoproliferatif Sendrom, Glomerulonefrit, Sjögren sendromu ve IgA nefropatisinde bulunduğu hastalıklarda bir teşhis olasılığı doğmaktadır. Bizim çalışmamızda amacımız Fas ve FasL düzeyinin hastalıkla ilişkisini, Fas-670A/G ve FasL-844T/C polimorfizmlerinin SLE' deki rolünü bulmaktır.

Çalışmamızda Fas ve FasL düzeyleri, SLE' li hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında kıyaslandı. İki grup arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığı tespit edildi. Courtney ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada SLE' li ve Romatoid artritli hastalarda artmış apoptotik lenfositlerin ve artmış lenfosit Fas ekspresyonunun SLE için spesifik olmadığı öne sürülmüştür.⁸³ Fas ve FasL' nin SLE aktivasyonu ile olan ilişkisine bakıldığında hastalık aktivasyonu ile ilişki saptanmadı. Marc Bijl ve arkadaşlarının 33 SLE' li hastada yapmış olduğu çalışmada Fas ve FasL ile hastalığın aktivasyonu arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir.⁸² Bu çalışmada 20 inaktif, 13 aktif SLE' li hasta alınmış ve sonucunda aktif SLE' de Fas ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Marc Bijl' in bu sonucu Jia Hu Hao ve arkadaşlarının yapmış olduğu

çalışma ile benzer sonuçtaydı.⁸³ Jia Hu Hao' nun yaptığı çalışmada farklı olarak Fas düzeyi ile SLE' nin organ tutulumları arasındaki ilişki de araştırılmış, Fas düzeyi santral sinir sistemi tutulumu, böbrek tutulumu ve serozit olan SLE' li hastalarda artmış olarak bulunmuştur. Çalışmamızda FasL düzeyi ile hematolojik tutulum arasında ilişki saptandı.(p=0,007)

Fas-670A/G polimorfizmine bakıldığında SLE' li hasta ile normal sağlıklı grup arasında istatistiksel olarak önemli farklılık tespit edilmedi. Ayrıca çalışmamızda Fas-670A/G polimorfizminin SLE hastalık aktivasyonu ile ilgisi olmadığı tespit edildi. Buna ek olarak Fas-670A/G polimorfizmi ile organ tutulumuna yönelik yapılan istatistiksel analizde de anlamlı sonuç bulunmadı. Kanemitsu S ve arkadaşlarının Japon popülasyonunda 109 SLE'li ve 140 sağlıklı kontrol grubunda yapmış olduğu çalışmada Fas-670A/G polimorfizminin A allelinin SLE' nin patogeneziinde önemli bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir.⁸⁵ Huang ve arkadaşları Avustralyalı 79 SLE hastası ve 86 sağlıklı kontrol grubunda Fas-670A/G polimorfizminin AA genotipinin SLE hastalarında oral ülser ve fotosensitivite ile ilişkisi olduğunu bildirmişlerdir. Daha önce Japon, Kore ve Avustralya popülasyonlarında yapılmış olan benzer çalışmalarda Fas-670A/G tek nükleotid polimorfizminin SLE fenotipi ile belirgin bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir.^{86,89} Çalışmamızda A allelerinin SLE için 4,2 kat risk arttırdığı saptandı. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bizim çalışmamızın Kanemitsu S- arkadaşları ve Huang-arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalarla farklılık göstermesi popülasyon farklılığından kaynaklanmış olabilir. Çünkü bu çalışmalar SLE' li Japon popülasyonu ve Avustralya popülasyonu ile yapılmıştır. Japon popülasyonunda SLE' li hastaların Fas-670A/G polimorfizminde genotip oranları; % 25' inde GG homozigotu, % 28 AA homozigotu, % 47 AG heterozigotları şeklindedir. Bizim çalışmamızda bu oranlar sırası ile % 8,3 GG, % 26 AA ve % 65,6 AG şeklindedir.

Çalışmamızda SLE' li hasta grubu ile kontrol grubu FasL-844T/C polimorfizmi açısından kıyaslandığında, iki grup arasında istatistiksel farklılık saptanmadı. Daha önceki çalışmalarda Fas/FasL sisteminin aşırı immün cevap supresyonu ve periferik toleransın devamı için önemli ve kritik bir rol oynaması nedeni ile -844' teki polimorfizmin otoimmün hastalıkların patogenezi ve bu hastalıklara duyarlılığın düzeyi açısından önemli olduğu kabul edilmiştir.^{87,92} Ancak Nolsøe RL ve arkadaşları 70 Avrupa kökenli Amerikalı ve 40 Afrika kökenli Amerikalı SLE' li hastalar ve

ailelerinde FasL-844T/C polimorfizminin SLE ile ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir.⁸⁹ Çalışmamızda FasL-844T/C polimorfizminde TT genotipi % 18,1 TC genotipi % 57,4 ve CC genotipi % 24,5 oranlarında saptandı. Bu sonuçlar sağlıklı kontrol grubu ile benzer orandaydı. Chen JY ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Tayvan' lı 260 SLE' li hasta ile 280 sağlıklı kontrol grubu FasL-844T/C polimorfizmi araştırılmak üzere karşılaştırılmış. Bu çalışmada CC genotipinin SLE' li hastalarda predominant olduğu ve TC genotipinin Amerika, Afrika ve Kafkas ırkları ile benzer oranda bulunduğunu tespit etmişler. FasL-844CC genotipini SLE' ye yatkınlık olarak değerlendirmişler. Çalışmamızda C allelinin SLE için riski 1,2 kat arttırdığı ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi.

Sonuç olarak çalışmalardaki bu farklılıklar populasyon farklılığından, çalışmaya alınan birey farklılığından, genotiplerin farklı dağılımından ve bilinmeyen diğer nedenlerden kaynaklanabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Hem Fas-670A/G ve FasL-844T/C polimorfizmlerinin hemde Fas ve FasL düzeylerinin Türk populasyonundaki SLE' li hasta ve sağlıklı kontrol bireylerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermediği çalışmamızda saptanmıştır. FasL düzeyi ile SLE' nin hematolojik tutulumu arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Fakat, Fas-670A/G ve FasL-844T/C polimorfizmleri ile Fas ve FasL düzeylerinin Türk populasyonundaki SLE' li hastalarda kesin olarak önemini gösterebilmek için daha geniş vaka-kontrol gruplarında çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

- 1- **Boumpas DT et al.** Systemic lupus erythematosus: emerging concepts. Part 1: Renal, neuropsychiatric, cardiovascular, pulmonary and hematologic disease. *Ann Intern Med* **1995**; 122(12):940-950
- 2- **Boumpas DT et al.** Systemic lupus erythematosus: emerging concepts. Part 2: Dermatologic and joint disease, antiphospholipid antibody syndrome, pregnancy and hormonal therapy, morbidity and mortality, and pathogenesis. *Ann Intern Med* **1995**; 123(1):42-53
- 3- **Merrel M, Shulman LE.** Determination of prognosis in chronic disease, illustrated by systemic lupus erythematosus. *J Chronic Dis* **1955**; 1:12-32.
- 4- **Dr. Wolfe J Blotzer.** Assistant Professor of Medicine University of Maryland School of Medicine and Dr. B. Rose, Rheumatologist, Waikato Hospital, New Zealand
Erişim: <http://www.lupus.org.nz/history.html> 2008 Erişim tarihi: 18.05.2008
- 5- **Inman R D.** Immunologic sex differences and the female preponderance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **1978**; 21: 849-52.
- 6- **Mary K. Crow.** Collaboration, Genetic Associations, and Lupus Erythematosus *N Engl J Med* **2008**; 358 (9): 956-961. PMID 18204099.
- 7- **Wallace DJ.** Genetic of Systemic Lupus Erythematosus ,*Curr Opin Rheumatol*,**1977**
- 8- **Hahn BH. Systemic lupus erythematosus.** Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, Eds. Harrison's Principles of Internal Medicine 16th Ed. London: McGraw-Hill, **2005**: 1960-1968
- 9- **Dođanavřargil E,** Klinik Romatoloji el kitabı. 1. Baskı,İzmir:İzmir Güven Kitabevi Yayıncılık Tic Ltd şti, **2003**:238-265
- 10 - **Vyse TJ, Kotzin BL.** Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Annu Rev Immunol.* **1998**;16:261-92
- 11- **Lahita R G.** Sex steroids and the rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* **1985**; 28:121- 6
- 12- **Lahita R.** Sex and age in systemic lupus erythematosus. In: Lahita R G, ed.Systemic lupus erythematosus. *New York: Wiley*, **1986**: 523-9)
- 13- **Stern R, Fishman J, Brusman H, Kunkel H G.** Systemic lupus erythematosus associated with Klinefelter's syndrome. *Arthritis Rheum* **1977**; 20: 18-22
- 14- **French M A H, Hughes P.** Systemic lupus erythematosus and Klinefelter's syndrome. *Ann Rheum Dis* **1983**; 42: 471
- 15- **Benjamin Rhodes & Timothy J Vyse** Systemic lupus erythematosus genetics: what's new? *Future Rheumatology*. April **2008**, Vol. 3, No. 2, Pages 103-107

- 16- **Hochberg MC** The application of genetic epidemiology to systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* **1987**;14, 867–869
- 17- **Cahit Kaçar, Erdal Gilgili, Tiraje Tuncer.** Romatoid artrit ve Sistemik lupus eritematozuslu hastalarda serum prolaktin seviyesi ve hastalık aktivitesi ile ilişkisi. *Romatizma*, **2002** Cilt: 17, Sayı: 2
- 18- **Edworthy SM**, Clinical Manifestations of Systemic lupus erythematosus . In Haris Jr ED, Budd RC, Firestein GS, Genovese MC, Sargent JS, Ruddy S, Sledge CB, Eds: *Kelley's Textbook of Rheumatology* 7th Ed, USA: Elsevier Saunders, **2005**: 1201-1223
- 19- **İliçin, Biberoğlu Ü, Süleymanlar A, Temel İç Hastalıkları**, Güneş Kitabevi Ltd.Şti. Ankara, **1996**; 1916-1929
- 20- **Bevra Hannahs Hahn, M.D.** "Systemic lupus erythematosus and accelerated atherosclerosis". *New England Journal of Medicine* **2003** 349 (Dec. 18): 2379–2380
- 21- Ohlenschlaeger T, Garred P, Madsen HO, Jacobsen S. Mannose binding lectin variant alleles and the risk of arterial thrombosis in systemic lupus erythematosus. *N Eng J. Med*, **2004**: 14; 351 (3): 260-267.
- 22- **Goldman Lee, Ausiello Dennis.** Cecil textbook of Medicine 22. Baskı, Ankara: Güneş kitapevi Ltd. Şti. **2006**: 1660-1670
- 23- **Appel GB, Radhakrishnan J, D'Agati V.** Secondary Glomerular Disease. In: Brenner BM, Rector FC, Eds. Brenner's and Rector's The Kidney 6th Ed. Boston: WB Saunders Company, **2004**: 1350-1366.
- 24- **Spronk PE, Bootsma H, Horst G et al.** Antineutrophil cytoplasmic antibodies in systemic lupus erythematosus. *B J Rheum*, **1996**: 35: 625-631.
- 25- **Bijl M., Limburg P.C., Kallenberg C.G.M.** New insights into the pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE): the role of apoptosis
Erişim: www.dissertations.ub.rug.nl/FILES/faculties/medicine/2001/m.bijl/c10_on.pdf Erişim tarihi: 20.06.2008
- 26- **Öztürk F.,** Apoptoz İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 9(2) **2002**: 143-148
- 27- **Thompson CB.** Apoptosis. In: Paul WE, ed. Fundamental Immunology. Lippincott-Raven Publishers. **1999**.
- 28- **Wyllie AH, Duvall E.** Cell death. In: McGee JO'D, Issacson PG, Wright N, eds. Oxford Textbook of Pathology, vol 1. USA, Oxford University Press **1992**: 142-147.
- 29- **Mountz JD, Zhou T.** Apoptosis and Autoimmunity. In: Koopman WJ ed. A Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions. Lippincott Williams & Wilkins **2001**.
- 30- Microbiology Bytes: Virology: Baculoviruses Updated: January 28, 2007
Erişim: <http://www.microbiologybytes.com/virology/kalkmakoff/baculo/pics/Apoptosis.gif> Erişim tarihi: 05.07.2008
- 31- **Keane R W and et.al,** Apoptotic and anti-apoptotic mechanisms following spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol* **2001**.60: 422-429,
- 32- **Cohen PL, Eisenberg RA.** The lpr and gld genes in systemic autoimmunity: life and death in the Fas lane. *Immunol Today* **1992**;13:427-8.

- 33- **Watanabe-Fukunaga R, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA, Nagata S.** Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. *Nature* **1992**;356:314-7.
- 34- **Takahashi T, Tanaka M, Brannan CI et al.** Generalized lymphoproliferative disease in mice, caused by a point mutation in the Fas ligand. *Cell* **1994**;76:969-76.
- 35- **Russell JH, Rush B, Weaver C, Wang R.** Mature T cells of autoimmune lpr/lpr mice have a defect in antigen-stimulated suicide. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1993**;90:4409-13.
- 36- **Cheng J, Zhou T, Liu C et al.** Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* **1994**;263:1759-62.
- 37- **Lopez-Hoyos M, Carrio R, Merino R et al.** Constitutive expression of Bcl-2 in B cells causes a lethal form of lupuslike autoimmune disease after induction of neonatal tolerance to H-2b alloantigens. *J Exp Med* **1996**;183:2523-31.
- 38- **Adams JM, Cory S.** The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* **1998**; 281: 1322-6
- 39- **Fisher GH, Rosenberg FJ, Straus SE et al.** Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell* **1995**;81:935-46.
- 40- **Vaishnaw AK, Toubi E, Ohsako S et al.** The spectrum of apoptotic defects and clinical manifestations, including systemic lupus erythematosus, in humans with CD95 (Fas/APO-1) mutations. *Arthritis Rheum* **1999**;42:1833-42.
- 41- **Wu J, Wilson J, He J et al.** Fas ligand mutation in a patient with systemic lupus erythematosus and lymphoproliferative disease. *J Clin Invest* **1996**;98:1107-13.
- 42- **Ashkenazi A, Dixit VM.** Death receptors: signaling and modulation. *Science* **1998**;281:1305-8.
- 43- **Bettinardi A, Brugnani D, Quiros-Roldan E et al.** Missense mutations in the Fas gene resulting in autoimmune lymphoproliferative syndrome: a molecular and immunological analysis. *Blood* **1997**;89:902-9.
- 44- **Kojima T, Horiuchi T, Nishizaka H et al.** Analysis of fas ligand gene mutation in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **2000**;43:135-9.
- 45- **Mysler E, Bini P, Drappa J et al.** The apoptosis-1/Fas protein in human systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* **1994**;93:1029-34.
- 46- **Bijl M, Horst G, Limburg PC, Kallenberg CGM.** Anti-CD3-induced and anti-Fas-induced apoptosis in systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin Exp Immunol* **2001**;123:127-32.
- 47- **Papo T, Parizot C, Ortova M et al.** Apoptosis and expression of soluble Fas mRNA in systemic lupus erythematosus. *Lupus* **1998**;7:455-61.
- 48- **Bijl M, van Lopik T, Limburg PC et al.** Do elevated levels of serum-soluble fas contribute to the persistence of activated lymphocytes in systemic lupus erythematosus? *J Autoimmun* **1998**;11:457-63.
- 49- **Van Lopik T, Bijl M, Hart M et al.** Patients with systemic lupus erythematosus with high plasma levels of sFas risk relapse. *J Rheumatol* **1999**;26:60-7.

- 50- **Emlen W, Niebur J, Kadera R.** Accelerated in vitro apoptosis of lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* **1994**;152:3685-92.
- 51- **Perniok A, Wedekind F, Herrmann M, Specker C, Schneider M.** High levels of circulating early apoptic peripheral blood mononuclear cells in systemic lupus erythematosus. *Lupus* **1998**;7:113-8
- 52- **P A Courtney, K Williamson, A D Crockard, and A L Bell** Apoptotic lymphocytes in SLE *Lupus*, **1998**, Vol. 7, No. 7, 498
- 53- **Spronk PE, Horst G, Van Der Gun BT, Limburg PC, Kallenberg CG.** Anti-dsDNA production coincides with concurrent B and T cell activation during development of active disease in systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin Exp Immunol* **1996**;104:446-53.
- 54- **Al Maini MH, Mountz JD, Al Mohri HA et al.** Serum levels of soluble Fas correlate with indices of organ damage in systemic lupus erythematosus. *Lupus* **2000**;9:132-9.
- 55- **Nozawa K, Kayagaki N, Tokano Y et al.** Soluble Fas (APO-1, CD95) and soluble Fas ligand in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* **1997**;40:1126-9.
- 56- **Ohsako S, Hara M, Harigai M, Fukasawa C, Kashiwazaki S.** Expression and function of Fas antigen and bcl-2 in human systemic lupus erythematosus lymphocytes. *Clin Immunol Immunopathol* **1994**;73:109-14.
- 57- **Gatenby PA, Irvine M.** The bcl-2 proto-oncogene is overexpressed in systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* **1994**;7:623-31.
- 58- **Suzuki N, Ichino M, Mihara S, Kaneko S, Sakane T.** Inhibition of Fas/Fas ligand-mediated apoptotic cell death of lymphocytes in vitro by circulating anti-Fas ligand autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **1998**;41:344-53.
- 59- **Decker P, Isenberg D, Muller S.** Inhibition of caspase-3-mediated poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) apoptotic cleavage by human PARP autoantibodies and effect on cells undergoing apoptosis. *J Biol Chem* **2000**;275:9043-6.
- 60- **Hieronimus T, Grotsch P, Blank N et al.** Chlorpromazine induces apoptosis in activated human lymphoblasts: a mechanism supporting the induction of drug-induced lupus erythematosus? *Arthritis Rheum* **2000**;43:1994-2004
- 61- **Cohen JJ, Duke RC, Fadok VA, Sellins KS.** Apoptosis and programmed cell death in immunity. *Annu Rev Immunol* **1992**;10:267-93:267-93.
- 62- **Rose LM, Latchman DS, Isenberg DA.** Elevated soluble fas production in SLE correlates with HLA status not with disease activity. *Lupus* **1997**;6:717-22.
- 63- **Casciola-Rosen LA, Anhalt G, Rosen A.** Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J Exp Med* **1994**;179:1317-30
- 64- **Aderem A, Underhill DM.** Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu Rev Immunol* **1999**;17:593-623:593-623
- 65- **Moffatt OD, Devitt A, Bell ED, Simmons DL, Gregory CD.** Macrophage recognition of ICAM-3 on apoptotic leukocytes. *J Immunol* **1999**;162:6800-10.

- 66- **Pepys MB, Butler PJ.** Serum amyloid P component is the major calcium-dependent specific DNA binding protein of the serum. *Biochem Biophys Res Commun* **1987**;148:308-13.
- 67- **Korb LC, Ahearn JM.** C1q binds directly and specifically to surface blebs of apoptotic human keratinocytes: complement deficiency and systemic lupus erythematosus revisited. *J Immunol* **1997**;158:4525-8.
- 68- **Fadok VA, Bratton DL, Konowal A et al.** Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest* **1998**;101:890-8.
- 69- **Erwig LP, Gordon S, Walsh GM, Rees AJ.** Previous uptake of apoptotic neutrophils or ligation of integrin receptors downmodulates the ability of macrophages to ingest apoptotic neutrophils. *Blood* **1999**;93:1406-12.
- 70- **Mevorach D, Zhou JL, Song X, Elkon KB.** Systemic exposure to irradiated apoptotic cells induces autoantibody production. *J Exp Med* **1998**;188:387-92.
- 71- **Korb LC, Ahearn JM.** C1q binds directly and specifically to surface blebs of apoptotic human keratinocytes: complement deficiency and systemic lupus erythematosus revisited. *J Immunol* **1997**;158:4525-8.
- 72- **Mitchell DA, Taylor PR, Cook HT et al.** Cutting edge: C1q protects against the development of glomerulonephritis independently of C3 activation. *J Immunol* **1999**;162:5676-9.
- 73- **Taylor PR, Carugati A, Fadok VA et al.** A hierarchical role for classical pathway complement proteins in the clearance of apoptotic cells in vivo. *J Exp Med* **2000**;192:359-66.
- 74- **Botto M, Dell'Agnola C, Bygrave AE et al.** Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies. *Nat Genet* **1998**;19:56-9.
- 75- **Napirei M, Karsunky H, Zevnik B et al.** Features of systemic lupus erythematosus in Dnase1-deficient mice. *Nat Genet* **2000**;25:177-81.
- 76- **Nozowa K, Kayagaki N, Tokano Y et al.** Soluble Fas (Apo-1, CD95) and soluble Fas ligand in rheumatic disease. *Arthritis Rheum* **1997**;40:1126-1129
- 77- **F C Kischkel, S Hellbardt, I Behrmann, M Germer, M Pawlita, P H Krammer, and M E Peter** Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *EMBO J.* **1995** November 15; 14(22): 5579–5588.
- 78- **Leithauser F et al.** Downregulation of Fas ligand by shedding *Lab. Invest* **1993**;69:415-419
- 79- **Hubert Hug, Susanne Strand et al.** Reactive Oxygen Intermediates Are Involved in the Induction of CD95 Ligand mRNA Expression by Cytostatic Drugs in Hepatoma Cells **1997**
- 80- **M W Bennett, J O'Connell,** Expression of Fas ligand by human gastric adenocarcinomas: a potential mechanism of immune escape in stomach cancer. *GUT* **1999**;44:156-162
- 81- **Joe O'Connell, Michael W. Bennett.** The Fas counterattack: cancer as a site of immune privilege. *Immunology today*. **1999** (20): 46-52

- 82- **Marc Bijl et al.** Fas expression on peripheral blood lymphocytes in Systemic Lupus Erythematosus (SLE): relation to lymphocyte activation and disease activity
Erişim:www:dissertations.ub.rug.nl/FILES/faculties/medicine/2001/m.bijl/c4.
Erişim tarihi:15.07.2008
- 83- **P A Courtney et al** Lymphocyte apoptosis in systemic lupus erythematosus: relationships with Fas expression, serum soluble Fas and disease activity *Lupus* **1999** , Vol. 8, No. 7, 508-513
- 84- **Jia Hu Hao et al** Elevated levels of serum soluble Fas are associated with organ and tissue damage in systemic lupus erythematosus among Chinese .*Journal article*.**2005** V:297 (7):329-332
- 85- **Kanemitsu S et al** A functional polymorphism in fas (CD95/APO-1) gene promoter associated with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* **2002** Jun;29(6):1183-8.
- 86- **Qi Rong Huang, D. Morris and N. Manolios.**Identification and characterisation of polymorphisms in the promoter region of the human Apo-1/Fas (CD95) gene .*Molecular Immunology* Volume 34, Issues 8-9, **1997**, Pages 577-582
- 87- **Jianming Wu, Christine Metz.**A Novel Polymorphic CAAT/Enhancer-Binding Protein β Element in the FasL Gene Promoter Alters Fas Ligand Expression: A Candidate Background Gene in African American Systemic Lupus Erythematosus Patients *The Journal of Immunology*, **2003**, 170: 132-138.
- 88- GeneCards, Fas ligand (TNF superfamily, member 6)
Erişim:http://www.genecards.org/cgi-bin/ Erişim tarihi:16.08.2008
- 89- **Nolsøe RL, Kelly JA,** Functional promoter haplotypes of the human FAS gene are associated with the phenotype of SLE characterized by thrombocytopenia. *Genes Immun.* **2005** Dec;6(8):699-706.
- 90- **T Pappo** Apoptosis and expression of soluble Fas mRNA in systemic lupus erythematosus *Lupus*, Vol. 7, No. 7, **1998**:55-461
- 91- **Herrmann M, Voll RE, Zoller OM et al.** Impaired phagocytosis of apoptotic cell material by monocyte-derived macrophages from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **1998**;41:1241-50.
- 92- **Huang QR, Manolios N.** Investigation of the -1377 polymorphism on the Apo-1/Fas promoter in systemic lupus erythematosus patients using allele-specific amplification. *Pathology.* **2000** 32(2):126-30.
- 93- **Sun T, Miao X, Zhang X, Tan W, Xiong P, Lin D.** Polymorphisms of death pathway genes FAS and FASL in esophageal squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* **2004**;96:1030–6.
- 94- **Miller SA, Dykes DD, Polesky HF.** A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, **1988**: 16 (3): 1215.
- 95- **Leandro MJ, Edwards JC, Cambridge G, et al.** An open study of B lymphocyte depletion in systemic lupus erythematosus.*Arthritis and Rheumatism*, **2002**; 46: 2673–2677.
- 96- **GS Early, W Zhao and CM Burns.** Anti-CD40 ligand antibody treatment prevents the development of lupus- like nephritis in a subset of New Zealand black x New Zealand white7mice. Response correlates with the absence of an anti-antibody response *The Journal of Immunology*,**1996**, Vol 157, Issue 7 3159-3164

- 97- **D Emilie.**Interleukin 10 in disseminated lupus erythematosus. *J Soc Biol*, January 1, **2002**; 196(1): 19-21.
- 98- Human Genome Project Information.SNP Fact Sheet. What's are SNP?
Eriřim:(http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/faq/snps)2000.
Erişim tarihi:27.08.2008
- 99- **Öktem S, Özhan M.** Apoptozisin önemi. *Toraks dergisi*, **2001**; 2(1): 91-95
- 100- **Wu F, Qu YB, Sun P, Ji F, Qiu YL, Miao WB, Wang W, Jin RF, Xia ZL.** Polymorphisms of FAS and FASL genes and susceptibility of silicosis. **2008** Jan;26(1):7-11
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18302883> Erişim tarihi:19.08.2008
- 101- **Erb P, Ji J, Kump E, Mielgo A, Wernli M.** Apoptosis and pathogenesis of melanoma and nonmelanoma skin cancer *Adv Exp Med Biol*. **2008**;624:283-95
- 102- **Jackson CE, Puck JM.** Autoimmune lymphoproliferative syndrome, a disorder of apoptosis *Curr Opin Pediatr*. **1999** 11(6):521-7.
- 103- **Hofmanova J et al.** Response of normal and colon cancer epithelial cells to TNF-family apoptotic inducers. *Oncol Rep*. **2008** ;19(2):567-73.
- 104- **Houston AM, Michael-Robinson JM.** The "Fas counterattack" is not an active mode of tumor immune evasion in colorectal cancer with high-level microsatellite instability.*Hum Pathol*. **2008** ;39(2):243-50.
- 105- **Chen JY, Wang CM, Ma CC, Chow YH, Luo SF.** The -844C/T polymorphism in the Fas ligand promoter associates with Taiwanese SLE. *Genes Immun*. **2005** ;6(2):123-8
- .
- .
- .

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Cemile KARADENİZ

Doğum Tarih ve Yeri : 30.06.1978 - İskenderun / HATAY

Medeni Durum : Bekar

Adres : Mahfesiğmaz mah, 3.sokak Metin Apt. Kat:1
Seyhan / ADANA

Telefon : 03222327624

E. posta : ckaradeniz@cu.edu.tr

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

Görev Yerleri : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

Yabancı Dil : İngilizce